

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0972.2012.01.032

牛生长激素释放激素基因研究进展

李 芬¹, 王文欣², 李亚芳¹, 姚 瑾¹, 郑先瑞¹, 吴海港³, 陈宁博¹, 马 云^{1*}

(1. 信阳师范学院 生命科学学院 河南 信阳 464000; 2. 信阳职业技术学院 化工系 河南 信阳 464000;
3. 信阳农业高等专科学校 动物科学系 河南 信阳 464000)

摘 要: 利用 26 篇文献, 从 *GHRH* 基因的结构、生物学功能、多态性与生产性状的关系等方面就牛 *GHRH* 基因研究进展进行了论述。

关键词: 牛; 生长激素释放激素(*GHRH*); 基因多态性; 生产性状

中图分类号: S813.3 文献标志码: A 文章编号: 1003-0972(2012)01-0137-04

Progress in Bovine Growth Hormone Releasing Hormone Gene

LI Fen¹, WANG Wen-xin², LI Ya-fang¹, YAO Jin¹, ZHENG Xian-rui¹, WU Hai-gang³, CHEN Ning-bo¹, MA Yun¹

(1. College of Life Sciences, Xinyang Normal University, Xinyang 464000, China;
2. Department of Chemical Engineering, Xinyang Vocational and Technical College, Xinyang 464000, China;
3. Department of Animal Sciences, Xinyang Agricultural College, Xinyang 464000, China)

Abstract: The progress of bovine *GHRH* gene were reviewed from the gene structure, biological function, the relationship between *GHRH* gene polymorphism and production traits with twenty-six references. The perspective of future development was also discussed.

Key words: cattle; *GHRH*; gene polymorphisms; production traits

0 引言

生长激素释放激素 (growth hormone releasing hormone, *GHRH*) 是下丘脑合成和分泌的小分子蛋白, 是一种直接或间接的免疫功能状态下维持生理和病理的下丘脑激素^[1], 其主要功能是诱导并刺激垂体促生长区的细胞合成和释放生长激素^[2]。目前, 随着动物基因组计划的深入实施, 研究 *GHRH* 基因在动物体内的作用已成为动物遗传育种研究的热点之一。本文根据前人研究结果, 对牛的 *GHRH* 基因的研究进展进行了总结, 旨在为以后 *GHRH* 基因的研究提供参考。

1 牛 *GHRH* 基因的结构与定位

1.1 牛 *GHRH* 基因的结构

Inoue 等^[3] 研究发现 *GHRH* 的前体含有 108 个氨基酸, 分为信号肽、剩余肽和 *GHRH* 前体, 进一步分解为两种类型的 *GHRH*: (1-44)-NH₂ (1-

40)-OH 和 C 末端未知功能的肽。普通牛 *GHRH* 全基因测序全长为 9 356 bp^[4]。

转基因鼠模型模拟人 *GHRH* 合成过程的研究为 (1-40)-OH 可能来源于 (1-44)-NH₂ 提供了证据。这两种形式在动物体内都具有生物学活性, 以 (1-44)-NH₂ 活性高。牛的下丘脑分泌的 *GHRH* 有 3 种形式, 分别由 44、40、37 个氨基酸组成。研究证明这 3 种 *GHRH* 均具有生物活性, 其中以 44 肽的活性最高。目前, 人、牛、猪、山羊、绵羊和鼠 *GHRH* 的一级结构很清楚, 并得出人、牛、猪和羊 *GHRH* 基因的一级结构相似, 人、猪和牛前 27 个氨基酸完全相同, 即不同来源 *GHRH* 的 N 端结构十分保守, 因此可以推测 *GHRH* 的功能部位在 N 端。Ling 等 (1984) 研究表明: 随着 C 端的缩短, 活性逐渐降低, C 端为酰氨基团比 C 端为羟基的 *GHRH* 活性要高, 并且 N 端氨基酸的缺失对 *GHRH* 的活性影响很大, 从而验证了 *GHRH* 的功能区位于

收稿日期: 2011-09-02; 修订日期: 2011-11-21; * 通讯联系人, E-mail: tmlf74@126.com

基金项目: 河南省科技攻关计划项目 (102102110106); 河南省高等学校青年骨干教师资助计划项目

作者简介: 李芬 (1976-), 女, 陕西安康人, 助理实验师, 主要从事生物技术与动物遗传育种研究。

N端^[5]。GHRH基因的功能与其二级结构有密切的关系,能形成螺旋结构,但螺旋结构功能是什么仍需进一步的深入研究。

1.2 牛 GHRH 基因的定位

O' Brierr^[6]利用比较基因组作图法将牛 GHRH 基因连锁标记进行初步定位, Barendse^[7]利用连锁分析法把牛的 GHRH 基因定位于 13 号染色体上。牛的 GHRH 基因由 5 个外显子和 4 个内含子组成 (GenBankNo: AL031659, AF242855, AH002712), 全长 10~18 kb^[8]。

1.3 牛 GHRH 的受体基因

研究表明牛的 GHRH 受体基因外显子长度是通过从牛基因库克隆得到的 cDNA 基因组序列中进行比较得到的。像其他物种一样, 牛的 cDNA 序列编码是由 423 个氨基酸组成的蛋白质, 里面含有 7 个 G 蛋白偶联受体特征疏水域^[9]。在牛的氨基酸检测中发现: 牛的氨基酸序列与绵羊、猪、人、大鼠、小鼠的相似性分别达到 93%、90%、89%、87% 和 85%, 同时也用 RT-PCR 方法对牛的回肠、卵巢、垂体前叶、睾丸、下丘脑、胰腺、肝脏等组织表达进行研究, 结果表明 GHRH 受体表达发生在垂体和下丘脑前部。

2 牛 GHRH 基因的生物学功能

GHRH 的主要功能是诱导并刺激垂体促生长区的细胞合成和释放生长激素。Al-Raheem 等 (1986) 报道了提纯的人 GHRH 和鼠 GHRH 能够促进牛生长激素的释放, 从而加快了其生长速度^[10]。研究表明 GHRH 是一种可以识别不同外源 GHRH 产物的多效性激素, 除了脑垂体, 也能在一些组织中直接起作用^[11]。GHRH 也是恶性肿瘤的增长因子, 与 GHRH 抑制剂共同调节患心肌梗死的心肌组织的恢复, 也可注入患有糖尿病的动物体内, 提高胰岛的活性和扩散^[12]。GHRH 的作用是通过与其受体结合实现的^[13], 结合后能使细胞内环磷酸腺苷 (cAMP) 增加, 活化 cAMP 依赖的蛋白激酶, 促使组蛋白磷酸化, 促进 GH 的合成与释放, 促进动物生长发育, 且无种属特异性^[14]。

3 GHRH 与 GHRPs 的协同作用

GHRH 是生长激素释放多肽 (Growth Hormone Releasing Peptides, GHRPs) 发挥最佳功效所必需的物质, 但其作用机制仍不清楚, 然而也有研究表明在狗和人体中 GHRPs 发挥最佳效应并不一定需

要 GHRH 的参与。Bowers 等^[15]认为 GHRPs 刺激了一种尚不明确的内源性下丘脑因子 (U-因子) 与 GHRH 结合, 并相互影响促使垂体释放 GH, 这种因子只有在 GHRH 存在时才能对垂体起作用, 研究证实在垂体中 GHRPs 不同于 GHRH 的作用, GHRH 不是 GHRPs 的内源性活性物质, GHRH 的拮抗剂对 GHRPs 不起作用, 但两者具有协同作用。Roh 等^[16]报道 GHRH 的受体调控了 GHRP-2 的促生长激素释放作用, 在牛的垂体细胞中 GHRH 的受体拮抗剂和生长抑素 (Somatostatin, SS) 抑制了 GHRP-2 的促生长激素释放作用。

4 牛 GHRH 基因多态性及其与生产性状的关系

在中国黄牛 GHRH 基因中, 分别在第 3 内含子和第 5 外显子发现两个多态位点, 其余位点均没有检测到多态^[4]。GHRH 基因第 3 内含子检测到 MM 和 MB 两种基因型, 该基因在第 4 823 bp 处发生 G→C 突变。研究表明 GHRH 基因第 5 外显子有 AA、AB 和 AC 三种基因型, 扩增片段有 2 个碱基突变, 分别为 9 235 bp 处的 C→A 突变和 9 243 bp 处的 T→C 突变, 证明该位点为中度多态性。南阳牛、秦川牛、郟县红牛、中国荷斯坦牛和牦牛 5 个群体 GHRH 基因第 3 外显子有限制性内切酶 Hae III 的酶切多态性。南阳牛、秦川牛、郟县红牛和中国荷斯坦牛群体中主要为 BB 型和 AB 型, 等位基因 B 为优势等位基因, 且 4 个群体处于 Hardy-Weinberg 平衡状态^[17]。Parmentier 等^[18]在奶牛中也观察 HaeIII-RFLP 多态, AA 基因型个体数量较少, 且其乳脂率显著高于 BB 基因型^[19]。GHRH 对正在泌乳的日本黑奶牛具有刺激其内源性生长激素和 IGF-1 的分泌, 不论机体的能量是否平衡, 都能引发胰岛素抗性的增强^[20]。Cheong 等^[21]检测了 GHRH 基因 9 kb 全长, 发现 12 个单核苷酸多态位点, 选择其中的 6 个多态位点对韩牛进行基因分型, 有 5 个基因标记的基因频率超过 0.1。与冷胴体和眼肌面积进行关联分析结果表明: -4241 A/T 多态与韩牛冷胴体重和眼肌面积显著相关^[16]。Curi 等^[22]研究了内络尔牛、夏洛来牛和瘤牛杂种后代, 内络尔牛和西门塔尔牛杂种后代, 内络尔牛和安格斯牛杂种后代的 GHRH 基因和 HaeIII-RFLP 多态, 结果显示其与胴体重、背膘厚度、眼肌面积和料重比等生长性状和胴体性状无显著相关^[22]。最新研究表明, GHRP-6 对 GH 的分泌时期

和剂量有一定的影响,并且有增强 GH 分泌 GHRP-6 的效应^[23]。

研究表明肉牛的生长和胴体性状是由多基因控制的重要经济性状,这与 *GHRH* 基因密切相关^[24]。通过注射 GHRH 刺激牛、羊、猪、猴和犬的研究表明,GHRH 的促 GH 释放活性较高。肌肉注射 GHRH 表达质粒,在肌肉细胞中表达产生 GH-RH,通过血液循环运输到达脑垂体,促进 GH 的合成和分泌,最终表现为提高动物的生长速度,从而实现促进动物体生长的目的^[25]。GHRH 对肉牛也有良好的效果,主要表现在:增加 N 的储留率,抑制脂肪的储存。*GHRH* 基因质粒对犊牛的生长性能有促进作用,对犊牛日增重影响在不同阶段有不同的效果,并有提高犊牛胸围、体斜长及鬃甲高的趋势,进而增强犊牛机体免疫性能^[26]。这说明此质粒能增强犊牛机体清除氧自由基的能力。在犊牛断奶前,胃促生长激素和 GHRH 能共同刺激 GH 的释

放,在断奶后这种协同作用消失^[27]。

5 小结与展望

GHRH 基因具有多种功能,但其最重要的作用是生长激素的正性调控因子,能促进垂体合成和分泌生长激素,主要表现在促进牛的生长,提高胴体瘦肉率、机体免疫功能,增加产奶量,影响肉质性状等,且无种属特异性。因此,它在畜牧业上具有广泛的应用价值。但是由于 GHRH 在体内降解快,作用时间短,商品生产比较困难,应用时必须通过注射才能发挥它的作用,这就大大限制了 GHRH 在畜牧生产中的应用。随着分子生物学技术的不断发展,通过基因工程法生产 GHRH 国内外已有报道,同时转基因技术的应用又解决使用上的不便,这为 GHRH 在畜牧生产上的应用提供了条件。因此,GHRH 在畜牧业上是应用前景将十分广阔。

参考文献:

- [1] 欧江涛,钟金城,赵益新,等.牦牛生长激素释放激素基因的克隆及序列分析[J].四川畜牧兽医,2003,5(3):4-5.
- [2] Kiaris H,Block N L,Papavassiliou A G, et al. *GHRH and wound healing*[J]. Commoun Integr Biol,2011,4(1):82-83.
- [3] Inoue S,Katakami H,Hidaka H, et al. *Peripheral plasma levels of human growth hormone releasing hormone (GHRH) during the sleep test in short children*[J]. Endocrine Journal,1998,45(S):71-75.
- [4] 杨大鹏. Calsarcin-1、GHRH 基因多态性与 4 个中国黄牛品种生长及肉质性状的关联分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2009.
- [5] 唐胜球,邹晓庭,董小英. 畜禽生长激素释放因子(GRF)的研究进展[J]. 中国兽医学报,2004,24(3):311-312.
- [6] O'Brien S J,Womack J E, Lyons L A, et al. *Anchored reference for comparative genome mapping in mammals*[J]. Nat Geenet,1993,3(2):103-112.
- [7] Barendse W, Anntitage S M, Koesark L M, et al. *A genetic linkage map of the bovine genome*[J]. Nat Geenet,1994,6(3):227-235.
- [8] Lin S K, Wajnrach M P. *Growth hormone releasing hormone(GHRH) and the GHRH receptor*[J]. Endocrine and Metabolic Disorders,2002,3(2):313-323.
- [9] Moody D E, Pomp D, Barendse W. *Rapid communication: restriction fragment length polymorphism in amplification products of the bovine growth hormone-releasing hormone gene*[J]. Anim Sci,1995,73(12):3789-3792.
- [10] Al-Raheem S N, Wheaton J E, Massri Y G, et al. *Effects of human pancreatic and rat hypothalamic growth hormone-releasing factors on growth hormone secretion in steers*[J]. Domestic Animal Endocrinology,1986,3(2):87-94.
- [11] Kiaris H,Chatzistamou I,Papavassiliou A G, et al. *Growth hormone-releasing hormone: not only a neurohormone* [J]. Trends Endocrinol Metab,2011,22(8):311-317.
- [12] Barabutis N, Schally A V. *Growth hormone-releasing hormone: extrapituitary effects in physiology and pathology*[J]. Cell Cycle,2010,20(9):4110-4116.
- [13] Granata R, Jsgaard J, Alloatti G, et al. *Cardiovascular actions of the ghrelin gene-derived peptides and growth hormone-releasing hormone*[J]. Exp Biol Med,2011,236(5):505-514.
- [14] 张存芳. 黄牛 *PTHRP*、*GHRH* 和 *GHRHR* 基因 SNP 及其与生长性状关联分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2008.
- [15] Bowers C Y, Sartor A O, Reynolds G A, et al. *On the action of the growth hormone-releasing hexapeptide, GHRP*[J]. Endocrinology,1991,128(2):2027-2035.
- [16] Roh S G, Matsunaga N, Hidaka S. *Characterization of growth hormone-releasing peptide-2 (GHRP-2 or KP 102) in calves*[J]. Endocr J,1996,43(3):291-298.
- [17] 张润峰. 牛 MRF 家族、*MSTN*、*GHRH* 和 *GHR* 基因变异及其与生长性状的相关分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2007.
- [18] Parmentier I, Portetelle D, Gengler N, et al. *Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection*[J]. Domest Anim Endo-

- crinol, 1999, 17(2/3): 139-148.
- [19] Franco M M, Antunes R C, Silva H D, et al. Association of *PIT1*, *GH* and *GHRH* polymorphisms with performance and car-cass traits in land-race pigs [J]. J Appl Genet 2005, 46(2): 195-200.
- [20] Shingu H, Hodate K, Kushibiki S, et al. Effects of growth hormone-releasing hormone treatment on milk production and plasma hormones and metabolites in lactating Japanese Black cows under negative energy balance [J]. J Anim Sci, 2009, 87(4): 1247-1253.
- [21] Cheong H S, Yoon D H, Kim L H, et al. Growth hormone releasing hormone (*GHRH*) polymorphisms associated with carcass traits of meat in Korean cattle [J]. BMC Genet 2006 3(7): 35.
- [22] Curi R A, Oliveira H N, Silveira A C, et al. Association between *IGF-1*, *IGF-IR* and *GHRH* gene polymorphisms and growth and carcass traits beef cattle [J]. Livestock Prod Sci, 2005, 94(3): 159-167.
- [23] Tian C, Ye F, Xu T, et al. *GHRP-6* induces *CREB* phosphorylation and growth hormone secretion via a protein kinase Csigma - dependent pathway in *GH3* cells [J]. Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2010, 30(2): 183-187.
- [24] 秦巧梅, 许尚忠, 高雪, 等. 牛生长激素手提基因多态性与体尺、体重指标的相关性分析 [J]. HEREDITAS (Beijing) 2007 9(2): 190-194.
- [25] Meng Q Y, Chen Z Q, Yu Z Q, et al. Increased body weight viamyogenic expression of injectable growth hormone-releasing hormone (*GHRH*) plasmid with bupivacaine as adjuvant in sheep [J]. Animal Biotechnology, 2004, 15(2): 175-192.
- [26] 王杨, 黄会玲, 孙宝忠, 等. 导入外源 *GHRH* 基因质粒对犊牛健康的影响 [J]. 上海畜牧兽医通讯 2007(4): 24-25.
- [27] Thidar Myint H, Yoshida H, Ito T, et al. Combined administration of gherkin and *GHRH* synergistically stimulates *GH* release in Holstein preening calves [J]. Domes Anim Endocrinol, 2008, 34(1): 118-123.

责任编辑:任长江

(上接第94页)

步长的选择不能太大,太大会导致调整时邻域点个数剧增,搜索时间变长甚至难以得到合适结果;步长太小会导致邻域点个数毫无变化,搜索时间变长.文中根据相点距离的差值的最大值和最小值动态地设定搜索步长,大大提高了搜索效率.

(3) 其他因素的影响.邻域的选取是影响局部投影降噪效果的关键因素,但是重构相空间时嵌入维数(m)的选择,投影过程中信号空间和噪声子空间(Q)的划分也是影响局部投影降噪效果的重要因素^[8],因此,在使用局部投影降噪过程中,如何合理地选择嵌入维数,如何合理地划分噪声子空间大小,也是局部投影降噪算法研究的难点和重点,这些都将影响局部投影的降噪效果.

参考文献:

- [1] Grassberger P, Hegger R, Kantz H, et al. On noise reduction methods for chaotic data [J]. Chaos, 1993, 3(2): 127-141.
- [2] Matassini L, Kantz H, Holyst J, et al. Optimizing of recurrence plots for noise reduction [J]. Physical Review E, 2002, 65(2): 1-6.
- [3] 王洪超, 李亚安. 局部投影降噪算法邻域半径参数的选择研究 [J]. 系统仿真学报 2007, 19(4): 805-819.
- [4] 阳建宏, 徐金梧, 杨德斌, 等. 邻域自适应选取的局部投影非线性降噪方法 [J]. 振动与冲击 2006, 25(4): 64-67.
- [5] 韩敏, 项牧. 邻域自适应选取及权值平均的投影去噪方法 [J]. 系统工程与电子技术 2008, 30(2): 205-208.
- [6] 韩敏. 混沌时间序列预测理论与方法 [M]. 北京: 中国水利水电出版社, 2007: 132-150.
- [7] 韩敏, 刘玉花, 史志伟, 等. 改进局部投影算法的混沌降噪研究 [J]. 系统仿真学报 2007, 19(2): 364-368.
- [8] 刘云侠. 含噪声混沌时序的非线性降噪方法研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2008: 20-80.
- [9] Hammel S M. A noise reduction method for chaotic system [J]. Phys Lett A, 1990, 148(8/9): 421-428.
- [10] Holger K, Thomas S. Nonlinear time series analysis [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2003: 159-161.
- [11] 韩敏, 项牧. 局部投影去噪的一种改进的邻域选取方法 [J]. 系统工程学报 2009, 24(4): 392-398.

责任编辑:任长江

5 结束语

本文使用相点距离矩阵,以相点间距离为测度,动态地设定搜索步长,设定邻域点个数范围,基于输出信噪比自适应地进行邻域搜索,最终找出最佳邻域参数.改进的自适应邻域搜索算法,不再需要估算信号的噪声强度,在工程上将有更强的实用性;直观地根据相点间距离进行邻域搜索,克服了人们在选择邻域半径时候的盲目性;算法实现简单,编程容易实现,在进行程序设计时利用 VC 和 Matlab 相结合的编程方法,提高了程序的运行效率.仿真结果表明该方法能够有效地用于混沌时间序列降噪,为混沌时间序列的进一步研究奠定了基础.