

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00913

# 革胡子鲶生长激素 cDNA 克隆与蛋白质结构分析

杨学明<sup>1,2</sup>, 何荆洲<sup>1</sup>, 黄雄军<sup>1</sup>, 李芳芳<sup>1</sup>, 郭亚芬<sup>1</sup>, 蒋和生<sup>1</sup>

1. 广西大学动物科技学院, 南宁 530005;

2. 广西水产研究所, 南宁 530021

**摘要:** 从革胡子鲶(*Clarias lazera*(Burchell))的脑垂体组织中提取总 RNA, 应用 RT-PCR 方法, 扩增得到了革胡子鲶生长激素(Growth hormone, GH)基因 cDNA 的开放阅读框(Open reading frame, ORF)序列。ORF 全长为 603 nt, 编码由 22 个信号肽氨基酸和 178 个成熟肽氨基酸共同组成的生长激素前体蛋白。序列同源比较结果表明, 研究中得到的革胡子鲶生长激素氨基酸序列与 GenBank 中已报道的其他 6 种鲶形目鱼类的氨基酸序列同源性高达 95.8%。二级结构预测分析结果表明, 革胡子鲶生长激素蛋白中含有 $\alpha$ 螺旋、 $\beta$ 折叠和 $\beta$ 转角以及无规卷曲等二级结构, 以 $\alpha$ 螺旋为主, 是典型的 $\alpha$ 型结构蛋白质。此外, 抗原性分析表明, 在氨基酸序列中的 4 个区域均可形成优势抗原表位, 其结构特点非常适合改造成为重组生长激素疫苗或单克隆抗体制剂加以开发利用。

**关键词:** 革胡子鲶; 生长激素; cDNA 克隆; 二级结构

## cDNA cloning and protein structure analysis of growth hormone from *Clarias lazera*

YANG Xue-Ming<sup>1,2</sup>, HE Jing-Zhou<sup>1</sup>, HUANG Xiong-Jun<sup>1</sup>, LI Fang-Fang<sup>1</sup>, GUO Ya-Fen<sup>1</sup>, JIANG He-Sheng<sup>1</sup>

1. College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China;

2. Guangxi Fisheries Institute, Nanning 530021, China

**Abstract:** Total RNA was isolated from pituitary gland of *Clarias lazera*, and the cDNA encoding growth hormone (GH) protein was amplified and cloned by reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR). The open reading frame (ORF) of cDNA is of 603 nt which encodes GH precursor consisted of a signal peptide with 22 amino acid residues and a mature peptide with 178 amino acid residues. Sequence alignment indicated that the amino acid sequence homology approached to 95.8% between *C. lazera* and other 6 species of Siluriforms catfish. Secondary structure assessment showed that the GH protein contained different structural regions of  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet,  $\beta$ -turn and random coil, among which  $\alpha$ -helix has main proportion. Antigenicity analysis indicates that there exist 4 domains in amino acid sequence where B cell dominant epitopes could form. Summarily, the structure characteristics of *C. lazera* GH should provide a great benefit in its modification into recombinant vaccine or monoclonal antibody for future application.

**Keywords:** *Clarias lazera*; growth hormone; cDNA cloning; secondary structure

鱼类生长激素(Growth hormone, GH)是由鱼脑 垂体腺分泌的一种单链多肽类激素, 是与鱼类生长

收稿日期: 2007-11-23; 修回日期: 2008-02-02

基金项目: 广西自然科学基金项目(编号: 桂科自 0542035)资助[Supported by the Natural Science Foundation of Guangxi Province (No. 0542035)]

作者简介: 杨学明(1969-), 男, 副研究员, 研究方向: 水产生物技术与遗传育种。E-mail: nnyxm@sina.com

通讯作者: 蒋和生(1962-), 男, 研究员, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: hsjiang@tom.com

发育关系密切的最重要的激素之一。它具有促进个体生长发育、调节新陈代谢和提高食物转化率等重要作用<sup>[1]</sup>, 并参与蛋白质、脂肪的合成和代谢<sup>[2]</sup>; 此外, 还能调节体内渗透压, 使海河洄游型的鱼类适应高盐和低盐环境的转换<sup>[3]</sup>。大量实验已经证实, 外源性生长激素具有与鱼体内天然激素相同的生物活性, 对鱼体具有明显的促生长作用<sup>[4-6]</sup>。因此, 从功能上说, 鱼类生长激素是一种重要的生长促进剂, 具有广泛的开发应用前景。一直以来, 鱼类生长激素制剂都是国内外水产界研究的热点。

目前国内外对鱼类生长激素制剂开发的一般思路是首先克隆得到不同鱼类的 *GH* 基因, 应用分子生物学手段对得到的基因序列加以重新设计, 然后在原核或真核生物体内大量表达生产, 再进行加工提纯, 开发成饲料添加剂或生长激素疫苗产品投喂或注射鱼体, 从而达到加快鱼体生长、提高养殖产量的目的。因此, 生长激素的基因克隆是开发利用的关键。经作者初步统计, 截至目前为止, 在全球最大的核苷酸数据库 GenBank 中已经发布了 100 多种鱼类的 *GH* 基因序列。

革胡子鲶(*Clarias lazera*)属鲶形目、胡子鲶科、胡子鲶属鱼类, 原产非洲尼罗河流域, 80 年代初从埃及引进我国, 又称埃及胡子鲶或埃及塘角鱼。其主要特点是生长速度快, 抗病力强, 肉质细腻, 营养丰富。目前革胡子鲶已成为我国广大农村地区普遍养殖的重要淡水鱼类品种。

目前, 国内外已经公开报道了 4 种鲶形目鱼类的 *GH* 基因序列<sup>[7-10]</sup>, 但尚无胡子鲶科胡子鲶属鱼类 *GH* 的报道。为此, 本研究克隆了该属革胡子鲶的 *GH* 基因, 得到了 *GH* 基因的 cDNA 序列和氨基酸序列。以往研究都侧重于对基因序列和氨基酸序列进行分析, 极少的文献对鱼类生长激素蛋白质的二级结构进行分析。本文在基因克隆和测序的基础上, 同时对其蛋白质二级结构、抗原表位和亲水性等结构特征进行了预测, 评估其结构特点, 以期今后开发这一品种的生长激素疫苗或单克隆抗体等其他生物制剂奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实验鱼: 革胡子鲶活鱼购自南宁市五里亭农贸市场。健康无病害, 体表完整无损伤。

宿主菌和质粒: 大肠杆菌 *E. coli* DH5 $\alpha$  为广西

大学动物繁殖研究所保存。克隆质粒 pMD18-T Vector 购于宝生物工程(大连)有限公司。

酶和主要试剂: RT-PCR 使用 RNA PCR Kit (AMV) Ver 3.0 试剂盒, Trizol 试剂、质粒小量提取试剂盒、DNA 胶回收纯化试剂盒、T4 DNA 连接酶、限制性内切酶 *Bam*H 和 *Sal* 均购自宝生物(大连)生物工程有限公司; 其他试剂为国产分析纯。

引物: 由上海鼎安生物科技有限公司合成。

### 1.2 方法

引物设计: 根据 GenBank 中本地胡子鲶(*Clarias batrachus* (Linnaeus))生长激素基因编码区序列(AF416486), 设计并合成一对特异性引物。上游引物: 5'-ATGGCTCGAGTTTGGTGCTGCT-3', 下游引物: 5'-CTACAGAGTGCAGTTGGAATCCA-GGG-3'。上下游引物序列跨度为 603 bp, 理论上包含了革胡子鲶生长激素 cDNA 编码区完整序列。

总 RNA 的提取: 实验鱼运回实验室后处死, 迅速从脑颅内取出脑垂体, 立即用 Trizol 试剂严格按照操作步骤提取总 RNA, 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。如完整性好则立即用于反转录, 或 -70 $^{\circ}$ C 保存备用。

目的基因片段的 RT-PCR: 按 RNA PCR Kit (AMV) Ver 3.0 试剂盒说明的方法合成单链 cDNA。然后以该单链 cDNA 为模板直接进行 PCR。PCR 扩增参数设置为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 61 $^{\circ}$ C 复性 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 后延伸 5 min。PCR 产物在 1% 的琼脂糖凝胶中电泳并观察结果。

目的基因片段克隆与重组子鉴定: 将 PCR 产物与 pMD18-T 载体用 T4 DNA 连接酶进行连接反应, 连接产物转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞, 涂布含有 50 mg/L 的氨苄青霉素(AMP) LB 平板培养。用 *Bam*H、*Sal* 双酶切和 PCR 两种方法筛选鉴定阳性克隆。

序列测定: 将经过阳性鉴定的菌液送上海鼎安生物科技有限公司进行测序。

序列分析: 序列的同源性比对用 DNASTar 软件包的 MegAlign 程序分析, 氨基酸序列信号肽切割位点用 SignalP 3.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP>)分析, 用 DNASTar 的 Protean 程序分析预测蛋白质的二级结构。

## 2 结果与分析

### 2.1 RT-PCR 扩增目的片段

RT-PCR 扩增后得到了长度为 600 bp 左右的单一特异性片段, 与目的序列的估计值 603 bp 十分接近。据此, 可初步确定获得革胡子鲶鱼 *GH* 基因的 cDNA 片段。

### 2.2 重组质粒的鉴定

重组质粒经 *Bam* H、*Sal* 双酶切和 PCR 鉴定后, 证明该质粒是含有外源目的片段的阳性重组子。

### 2.3 重组质粒测序

测定的革胡子鲶生长激素 cDNA 序列和推导的氨基酸序列见图 1。序列全长 603 bp, 其开放阅读框 (ORF) 亦为 603 bp。该核苷酸序列与本文的参考序列本地胡子鲶的生长激素编码序列的同源性达到 94.5%, 表明克隆得到的片段确实为革胡子鲶生长激素 cDNA 的编码序列。该序列编码 1 个由 200 个氨基酸残基组成的蛋白质多肽, 分子量 (MW) 为

22.59 kDa, 等电点 (pI) 为 6.21。推断的信号肽切割位点位于 Phe22 和 Thr23 之间, 从而产生含 22 个氨基酸的信号肽和 178 个氨基酸的成熟肽。基因序列和氨基酸序列已提交 GenBank, 登录号分别为 EF411172 和 ABN58481.1。

### 2.4 与其他几种鲶形目鱼类生长激素氨基酸序列的比较

以普通鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 为外科代表, 将革胡子鲶与其他 5 个科的 6 种鲶形目鱼类的生长激素氨基酸序列进行比较, 分别是: 鲶科的大口鲶 (*Silurus meridionalis meridionalis* Chen) 和鲶 (*Silurus asotus* Linnaeus); 胡子鲶科的本地胡子鲶 (*Clarias batrachus*); 鱼芒鲶科的越南鲶 (*Pangasius pangasius* (Hamilton)); 鲶科的黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco* (Richardson)) 和鲶科的斑点叉尾鲶 (*Ictalurus punctatus* (Rafinesque))。比较结果见图 2, 阴影部分显示与革胡子鲶 GH 不同的氨基酸残基。

比较的 7 种鲶形目鱼类生长激素前体都由 200

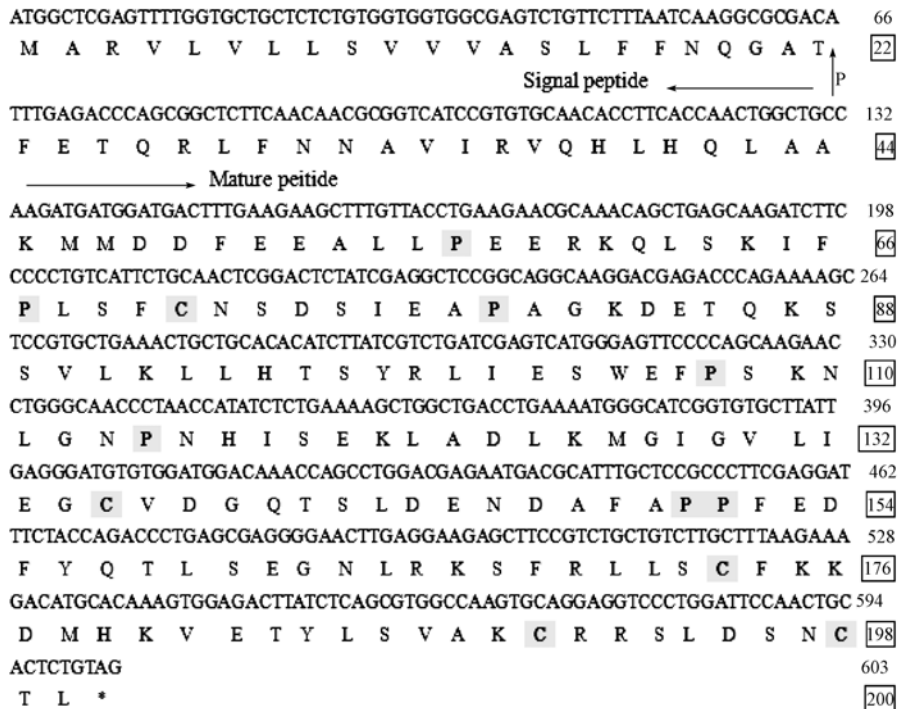


图 1 革胡子鲶 *GH* 基因 cDNA 序列及其氨基酸序列

“ ”为氨基酸序列; 阴影部分显示与结构相关的重要氨基酸残基; “ ”方向为信号肽(signal peptide)序列; “ ”方向为成熟肽(mature peptide)序列; “ P”处为信号肽切割位点。

Fig. 1 The cDNA sequence and deduced amino acid sequence of *GH* from *C. lazera*

“ ”represents amino acid sequence; shaded letters represent important amino acid residues related to structure conformation; “ ”directs the signal peptide sequence; “ ” directs the mature peptide sequence; “ P” shows the signal peptide cleavage site.

个氨基酸组成,都具有 22 个氨基酸的信号肽和 178 个氨基酸的成熟肽,信号肽切割位点相同。信号肽序列在鲶形目不同鱼类间差异较大,在 22 个信号肽氨基酸序列中,第 3、4、6、11、15、16、22 等 7 个位置的氨基酸残基不同;而不同鱼类的成熟肽氨基酸序列却高度一致,178 个残基中仅在第 24、136、148、150 位出现差异,其余 174 个氨基酸都相同。说明鲶形目鱼类生长激素的成熟肽序列在不同科属间是高度保守的。而鲤鱼与鲶形目鱼类间的序列差异显然要比不同鲶形目鱼类间大得多。此外,鲤鱼与鲶形目鱼类生长激素的氨基酸数目不同,组成鲤鱼生长激素前体的氨基酸数目是 210 个,正好在第 112~121 的连续位置多了 10 个氨基酸。

序列同源性比较表明,7 种鲶形目鱼类间 GH 氨基酸序列的同源性很高,平均为 95.8%,大口鲶和鲶之间,以及黄颡鱼与越南鲶之间的同源性最高,为 98.5%,革胡子鲶和本地胡子鲶及斑点叉尾鲶间的同源性最低,为 93.6%。鲤鱼与 7 种鲶形目鱼类间同源性平均值为 78.0%。

## 2.5 革胡子鲶生长激素蛋白质二级结构预测和分析

应用准确率较高的 Garnier-Robson 法<sup>[11]</sup>预测蛋白质分子中的卷曲螺旋(Coiled coil)、 $\alpha$ 螺旋、 $\beta$ 折叠、 $\beta$ 转角以及无规卷曲等二级结构区域,用 Kyte-Doolittle 法<sup>[12]</sup>预测蛋白质的亲水区和疏水区,Emmini 法<sup>[13]</sup>预测特定氨基酸形成蛋白质表面区域的可能性,Karplus-Schulz 法<sup>[14]</sup>预测蛋白质柔韧性,James-Wolf 法<sup>[15]</sup>预测 B 细胞抗原表位。预测结果见图 3。

## 3 讨论

本研所得到的革胡子鲶生长激素氨基酸序列,与参考序列的同源性达到 94.5%,与 7 种鲶形目鱼类间的同源性平均达到了 95.8%。因此,可以肯定地说,本文克隆得到的革胡子鲶生长激素基因序列和推导的氨基酸序列是正确的。

生长激素是典型的结构决定功能的蛋白质。氨基酸序列的线性排列属于蛋白质的一级结构,氨基酸顺序直接决定了蛋白质的二级、三级等更高级结

<i>C. lazera</i>	MARVLVLLSVVVASLFFNQGATFETQRLFNNAVIRVQHLHLQLAAKMDDFEEALLPEERKQLSKIFPLSF	70
<i>C. batrachus</i>	MARVLVLLSVVVASLFFSQGATFETQRLFNNAVIRVQHLHLQLAAKMDDFEEALLPEERKQLSKIFPLSF	70
<i>S. asotus</i>	MARVLVLLSVVVASLFFSQGATFETQRLFNNAVIRVQHLHLQLAAKMDDFEEALLPEERKQLSKIFPLSF	70
<i>S. meridionalis</i>	MARVLVLLSVVVASLFFSQGATFETQRLFNNAVIRVQHLHLQLAAKMDDFEEALLPEERKQLSKIFPLSF	70
<i>P. pangasius</i>	MARVLVLLSVVVASLFFSQGATFETQRLFNNAVIRVQHLHLQLAAKMDDFEEALLPEERKQLSKIFPLSF	70
<i>I. punctatus</i>	MARVLVLLSVVVASLFFSQGATFESQRLFNNAVIRVQHLHLQLAAKMDDFEEALLPEERKQLSKIFPLSF	70
<i>P. fulvidraco</i>	MARVLVLLSVVVASLFFSQGATFETQRLFNNAVIRVQHLHLQLAAKMDDFEEALLPEERKQLSKIFPLSF	70
<i>C. carpio</i>	MARVLVLLSVVVASLFFNQGATFETQRLFNNAVIRVQHLHLQLAAKMDDFEEALLPEERKQLSKIFPLSF	70
<i>C. lazera</i>	CNSDSIEAPAGKDETQKSSVLKLLHTSYRLIESWEFPSKNL-----GNPNHISEKLADLKMIGIV	130
<i>C. batrachus</i>	CNSDSIEAPAGKDETQKSSVLKLLHTSYRLIESWEFPSKNL-----GNPNHISEKLADLKMIGIV	130
<i>S. asotus</i>	CNSDSIEAPAGKDETQKSSVLKLLHTSYRLIESWEFPSKNL-----GNPNHISEKLADLKMIGIV	130
<i>S. meridionalis</i>	CNSDSIEAPAGKDETQKSSVLKLLHTSYRLIESWEFPSKNL-----GNPNHISEKLADLKMIGIV	130
<i>P. pangasius</i>	CNSDSIEAPAGKDETQKSSVLKLLHTSYRLIESWEFPSKNL-----GNPNHISEKLADLKMIGIV	130
<i>I. punctatus</i>	CNSDSIEAPAGKDETQKSSVLKLLHTSYRLIESWEFPSKNL-----GNPNHISEKLADLKMIGIV	130
<i>P. fulvidraco</i>	CNSDSIEAPAGKDETQKSSVLKLLHTSYRLIESWEFPSKNL-----GNPNHISEKLADLKMIGIV	130
<i>C. carpio</i>	CNSDSIEAPAGKDETQKSSVLKLLHTSYRLIESWEFPSKNL-----GNPNHISEKLADLKMIGIV	140
<i>C. lazera</i>	LIEGCVLDGQTSLDENDAFAPPFEDFYQTLSEGNLRKSFRLSCFKKDMHKVETYL SVAKCRRSLDSNCTL	200
<i>C. batrachus</i>	LIEGCVLDGQTSLDENDAFAPPFEDFYQTLSEGNLRKSFRLSCFKKDMHKVETYL SVAKCRRSLDSNCTL	200
<i>S. asotus</i>	LIEGCVLDGQTSLDENDAFAPPFEDFYQTLSEGNLRKSFRLSCFKKDMHKVETYL SVAKCRRSLDSNCTL	200
<i>S. meridionalis</i>	LIEGCVLDGQTSLDENDAFAPPFEDFYQTLSEGNLRKSFRLSCFKKDMHKVETYL SVAKCRRSLDSNCTL	200
<i>P. pangasius</i>	LIEGCVLDGQTSLDENDAFAPPFEDFYQTLSEGNLRKSFRLSCFKKDMHKVETYL SVAKCRRSLDSNCTL	200
<i>I. punctatus</i>	LIEGCVLDGQTSLDENDAFAPPFEDFYQTLSEGNLRKSFRLSCFKKDMHKVETYL SVAKCRRSLDSNCTL	200
<i>P. fulvidraco</i>	LIEGCVLDGQTSLDENDAFAPPFEDFYQTLSEGNLRKSFRLSCFKKDMHKVETYL SVAKCRRSLDSNCTL	200
<i>C. carpio</i>	LIEGCVLDGQTSLDENDAFAPPFEDFYQTLSEGNLRKSFRLSCFKKDMHKVETYL SVAKCRRSLDSNCTL	210

图 2 7 种鲶形目鱼类氨基酸序列比较

Fig. 2 Amino acid sequence alignment of 7 species of catfish

*C. lazera*: 革胡子鲶(EF411172); *C. batrachus*: 本地胡子鲶(AF416486); *S. asotus*: 鲶(AY157496); *S. meridionalis*: 大口鲶(AF530481); *P. pangasius*: 越南鲶(M63713); *I. punctatus*: 斑点叉尾鲶(AF267989); *P. fulvidraco*: 黄颡鱼(DQ112163); *C. carpio*: 鲤鱼(EU147277)。

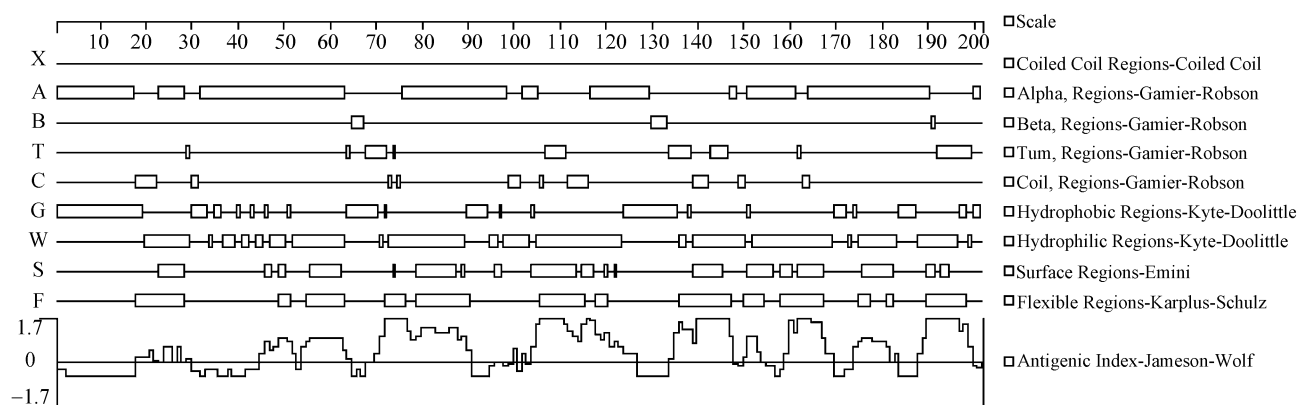


图3 革胡子鲇生长激素蛋白质二级结构及亲水性、表面可能性、抗原性预测

X: 卷曲螺旋; A:  $\alpha$ 螺旋; B:  $\beta$ 折叠; T:  $\beta$ 转角; C: 无规卷曲; G: 疏水区; W: 亲水区; S: 表面区; F: 柔韧区。

Fig. 3 Prediction of secondary structure, hydrophilicity, surface probability and antigenicity of GH

X: Coiled coil; A:  $\alpha$ -helix; B:  $\beta$ -sheet; T:  $\beta$ -turn; C: Random coil; G: Hydrophobic region; W: Hydrophilic region; S: Surface region; F: Flexible region.

构。在编码的氨基酸顺序中,某些氨基酸残基对蛋白质二、三级结构的形成起着重要的作用,如半胱氨酸(Cys, C)和脯氨酸(Pro, P)。半胱氨酸几乎在所有蛋白质中都存在。相邻的两个半胱氨酸残基经氧化反应形成一个1个二硫键,二硫键对于维持蛋白质的结构稳定和生物活性具有重要作用<sup>[16]</sup>,也是蛋白质某些特殊构象的形成,如单肽链的折叠等所必不可少的。在革胡子鲇GH氨基酸序列中,在71、135、173、190、198位含有5个半胱氨酸。从空间构象分析, $C^{135}$ 与 $C^{173}$ , $C^{190}$ 与 $C^{198}$ 的空间位置比较接近,它们之间形成2个二硫键的可能性很大,而 $C^{71}$ 的位置较远,很可能不参与二硫键的形成。

另外,革胡子鲇GH氨基酸序列中也存在类似其他物种GH的5个保守结构域(Domain)。参照Masanori的定位方法<sup>[17]</sup>,它们分别是:GD<sub>1</sub>: 28~50; GD<sub>2</sub>: 71~86; GD<sub>3</sub>: 93~111; GD<sub>4</sub>: 121~137; GD<sub>5</sub>: 170~198。这5个区域在包括人在内的不同动物间具有高度保守性,其中GD<sub>1</sub>~GD<sub>4</sub>对生长激素行使生理功能密切相关,而GD<sub>5</sub>在蛋白质特殊构象的形成和维持结构稳定性方面具有重要作用。

二级结构预测表明,革胡子鲇生长激素蛋白结构中既有 $\alpha$ 螺旋,也有 $\beta$ 折叠和 $\beta$ 转角以及无规卷曲,但以 $\alpha$ 螺旋为主, $\alpha$ 螺旋占结构的65%以上, $\beta$ 折叠很少,仅有3个区域的几个氨基酸残基形成 $\beta$ 折叠。在各 $\alpha$ 螺旋内部或邻近位置,都有至少1个脯氨酸残基(Pro, P),使螺旋段发生一定程度的弯折,形成反向平行的 $\alpha$ 螺旋结构。此外,还有一定数量的 $\beta$ 转角和无规卷曲。因此,在分类结构上,革胡子鲇生长激素是典型的 $\alpha$ 型结构。这与其他几种鲷形目和鲑形目鱼

类生长激素的结构相同<sup>[17]</sup>。已知 $\alpha$ 螺旋是最为稳定的蛋白质空间结构,普遍存在于各类蛋白质中,并常常位于蛋白质表面。由此可以推测,革胡子鲇生长激素的空间结构和理化性质是比较稳定的。

蛋白质疫苗的功能能否正常发挥,以及发挥作用的程度,与蛋白质B细胞抗原表位的形成以及抗原表位的数量多少关系十分密切。从革胡子鲇生长激素抗原表位的预测看,能够形成抗原表位的区域很多,从70~200位置都有,基本覆盖了成熟肽的全部序列,特别是在73~76、107~111、141~146、191~197这4个区域,是优势抗原表位,均存在很好的抗原结合位点。这样的结构特点,对生长激素疫苗发挥良好的促生长功能是十分有利的。同时,从图3中可以明显看出,抗原表位区域与柔性区域和表面可能性区域出现了很好的一致,上述推测的抗原表位存在的可能性很大。因为在蛋白质表面的柔性区域,肽链的氨基酸残基活动性较大,使抗原、抗体能够自由方便地结合在一起。而且,抗原表位作为功能结合位点,它一定是在蛋白质的表面。因此,从结构特点来看,革胡子鲇生长激素非常适合作为疫苗制剂或单克隆抗体进行开发利用。

## 参考文献(References):

- [1] Donaldson EM, Fagerlund UH, Higgs DA, Sumpter JP. Hormonal enhancement of growth. *Fish Physiol*, 1979, 8: 455-597. [DOI](#)
- [2] Silverstein T, William R, Shimizu M, Dickhoff W. Bovine growth hormone treatment of channel catfish: strain and temperature effect on growth, plasma IGF-I levels feed intake and efficiency and body composition. *Aquaculture*,

- 2000, 190: 77–78. [\[DOI\]](#)
- [3] Sakamoto T, Shepherd BS, Madsen SS, Nishioka RS, Siharath K, Richman NH, Bern HA, Grau EG. Osmoregulatory actions of growth hormone and prolactin in an advanced teleost. *Gen Comp Endocrinol*, 1997, 106(1): 95–101. [\[DOI\]](#)
- [4] SUN Ying, LIN Hao-Ran. Recombinant grass carp growth hormone (r-gGH) stimulates growth of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Journal of Fisheries of China*, 2006, 30(6): 740–746.  
孙颖, 林浩然. 基因重组草鱼生长激素(r-gGH)对草鱼鱼种生长的促进作用. *水产学报*, 2006, 30(6): 740–746.
- [5] Moriyama S, Yamamoto H, Sugimoto S, Abe T, Hirano T, Kawauchi H. Oral administration of recombinant salmon growth hormone to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 1993, 112: 99–106. [\[DOI\]](#)
- [6] Mclean E, Edward M, Helen M, Lawrence M. Growth acceleration of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) following oral administration of recombinant bovine somatotropin. *Aquaculture*, 1990, 91: 197–203. [\[DOI\]](#)
- [7] SONG Ping, HU Yin-Chang, XIANG Zhu, HU Jia-Rui, PAN Yun-Feng. Cloning and sequencing of full length cDNA in *Silurus meridionalis* growth hormone. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, 26(3): 273–279.  
宋平, 胡隐昌, 向筑, 胡珈瑞, 潘云峰. 南方鲇生长激素完整 cDNA 的克隆及其 DNA 序列分析. *水生生物学报*, 2002, 26(3): 273–279.
- [8] Tang Y, Lin CM, Chen TT, Wang X, Yin Y. Structure of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*) growth hormone gene and its evolutionary implications. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 1993, 2(4): 198–206.
- [9] Lemaire C, Warit S, Panyim S. Giant catfish *Pangasianodon gigas* growth hormone-encoding cDNA: cloning and sequencing by one-sided polymerase chain reaction. *Gene*, 1994, 149(2): 271–276. [\[DOI\]](#)
- [10] Anathy V, Venugopal T, Koteeswaran R, Pandian T, Mathavan S. Cloning, sequencing and expression of cDNA encoding growth hormone from Indian catfish (*Heteropneustes fossilis*). *J Biosci*, 2001, 26(3): 315–324. [\[DOI\]](#)
- [11] Garnier J, Osguthorpe DJ, Robson B. Analysis of the accuracy and implications of simple method for predicting the secondary structure of globular proteins. *J Mol Biol*, 1978, 120: 97–120. [\[DOI\]](#)
- [12] Kyte Jack, Doolittle RF. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J Mol Biol*, 1982, 157: 105–132. [\[DOI\]](#)
- [13] Emini EA, Hughes J, Perlow D, Boger J. Induction of hepatitis a virus-neutralizing antibody by a virus-specific synthetic peptide. *J Virol*, 1985, 55: 836–839.
- [14] Karplus PA, Schultz GE. Prediction of chain flexibility in proteins. *Naturwissenschaften*, 1985, 72: 212–213. [\[DOI\]](#)
- [15] Jameson BA, Wolf H. The antigenic index: a novel algorithm for predicting antigenic determinants. *CABIOS*, 1988, 4: 181–186.
- [16] Catherine L, Saradee WP. Giant catfish *Pangasianodon gigas* growth hormone-encoding cDNA cloning and sequence by one-sided polymerase chain reaction. *Gene*, 1994, 149: 271–276. [\[DOI\]](#)
- [17] Masanori W, Masanori Y, Minoru Y, Minoru T, Kunio N. Conserved and unique amino acid residues in the domains of the growth hormones. *J Biol Chem*, 1989, 264(1): 312–316.