

文章编号: 1000-0615(2004)05-0589-05

• 研究简报 •

蓝太阳鱼生长激素全长 cDNA 的克隆与序列分析

曹运长¹, 李文笙¹, 叶 卫², 林浩然¹

(1. 中山大学水生经济动物研究所暨广东省水生经济动物繁殖重点实验室, 广东 广州 510275;

2. 广东省番禺国家级罗非鱼良种场, 广东 广州 511453)

关键词: 蓝太阳鱼; 生长激素; 逆转录-聚合酶链式反应; cDNA 末端快速扩增

中图分类号: S917

文献标识码: A

Cloning and sequencing of full length growth hormone cDNA from *Lepomis cyanellus*

CAO Yun-chang¹, LI Wen-sheng¹, YE Wei², LIN Hao-ran¹

(1. Institute of Aquatic Economical Animal & Guangdong Provincial Key Laboratory for Aquatic Economical Animal,

Zhongshan University, Guangzhou 510275, China; 2. National Tilapia Breeding Farm

of Guangdong Province, Guangzhou 511453, China)

Abstract: The full length cDNA encoding growth hormone of a freshwater fish, *Lepomis cyanellus*, (LcGH) was cloned from pituitary RNA with RT-PCR, 3' and 5' RACE (rapid amplification of cDNA ends). The LcGH cDNA (Genbank No. AY530822), about 989nt (nucleotide) long, consisted of an open reading frame with 615nt long, 5' and 3' untranslated regions with 93nt and 224nt long respectively, and a 57nt poly (A) tail. The DNA sequence analysis showed that there are typical Kozak sequence and polyadenylation signal. The pregrowth hormone peptide of 204aa deduced from LcGH cDNA included a putative signal peptide (17aa) locating in its N-terminal. There exist an Asn-Cys-Thr glycosylation site at amino acid 201, and 4 cysteine residues (No. 69, 177, 194, 202) that are essential to construct two S-S bonds in this pregrowth hormone peptide. Homological comparison among LcGH and other species growth hormones showed that there is high homology (more than 85%) between growth hormone of *Lepomis cyanellus* and that of most perciformes fish, but low homology (less than 70%) in comparison with other species such as Siluriformes and Cypriniformes fish.

Key words: *Lepomis cyanellus*; growth hormone; RT-PCR; RACE

生长激素(growth hormone, GH)是脊椎动物脑垂体细胞合成和分泌的一种单链多肽激素,鱼类成熟的GH由173~188个氨基酸组成,分子量为20~22kD。在鱼类中,

同一目的种类,其GH的氨基酸组成有80%以上相同,而在不同目的鱼类之间,其GH就有较大的差异,大约只有49%~68%的相同,表现出明显的种属特异性^[1]。鱼类

收稿日期: 2003-07-14

资助项目: 国家自然科学基金专项基金项目(39970586)和广东省自然科学基金项目(20023002)

作者简介: 曹运长(1975-),男,湖南娄底人,在读博士,主要从事鱼类分子生物学研究。Tel: 0734-8281372

通讯作者: 林浩然(1934-),男,广东广州人,中国工程院院士、教授、博士生导师,主要从事鱼类生理学和分子生物学研究。Tel: 020-84113791, E-mail: ls32@zsu.edu.cn

GH 具有促进鱼类生长, 加快蛋白质的合成, 提高食物转化效率, 提高鲑鳟鱼类的渗透压调节能力, 被认为是最有效的生长促进剂之一, 具有重要的应用价值。早期应用各种动物的垂体抽提物或纯化的生长激素对鱼体进行处理, 能诱导鱼的快速生长^[2, 3]; 随后证实, 通过基因重组技术在原核生物中表达得到的重组 GH 对鱼体的生长也具有显著的促进作用^[4]。此后, 多种鱼类的 GH 基因被克隆并在原核中得到表达, 同时, 构建了多种全鱼 GH 重组基因并开展了转基因鱼研究^[5]。目前, 国内外已有几十种鱼类的 GH 基因被分离和克隆^[6~22]。在国内, 对鱼类 GH 的研究多集中在草鱼、鲤和鲂等少数几种鲤科和鲂科鱼类^[23], 而对鱼类最大一类的鲈形目鱼类的研究则较为少见。

蓝太阳鱼(*Lepomis cyanellus* Rafinesque) 为鲈形目、鲈总科、棘臀鲈科、太阳鲈属, 是中国新近从欧美引进的重要的淡水经济鱼类, 肉味鲜嫩脆爽, 经济价值较高, 在广东省乃至全国得到了推广养殖。本文报道了蓝太阳鱼生长激素全长 cDNA 的克隆与序列分析, 并就此推导出的氨基酸序列与其他动物生长激素进行了同源比较分析, 为作者即将进行的蓝太阳鱼转基因研究工作作基础。

1 材料与方法

1.1 实验鱼, PCR 引物和酶

实验用蓝太阳鱼产自广东省番禺国家级罗非鱼良种场; 本实验所用 PCR 简并引物和特异引物由上海博亚生物公司合成, 其余 PCR 引物由 GIBCO BRL 提供; ^{EX}Taq 酶由 TaKaRa 公司生产; 克隆用 pGEM-T Easy 载体和 T4 连接酶购自 Promega 公司。

1.2 蓝太阳鱼脑垂体 RNA 的提取及 cDNA 第一链的合成

在渔场活体解剖得到脑下垂体, 液氮速冻运回实验室, 在 Trizole 试剂中用 1 mL 一次性塑料注射器匀浆, 氯仿抽提, 异丙醇沉淀, 适量双蒸水溶解总 RNA。以 1.5 μg 总 RNA 为模板, 采用 3' AP 引物和逆转录酶 SuperScript™ II RT(GIBCO BRL) 在 20 μL 反应体系中合成第 1 链。

1.3 蓝太阳鱼 GH cDNA 部分片段的扩增

以 0.5 μL cDNA 作模板, 采用简并引物 gsGHSP 和 gsGHAP 进行 PCR 扩增。PCR 反应条件为: 50 μL 反应体积中含有 20 mmol·L⁻¹ Tris·HCl (pH 8.4)、50 mmol·L⁻¹ KCl、1.5 mmol·L⁻¹ MgCl₂、两种引物各 200 nmol·L⁻¹、四种脱氧核糖核苷三磷酸各 200 μmol·L⁻¹、2.5 个单位的 ^{EX}Taq DNA 聚合酶; 反应液在 94℃ 预变性 4min, 然后 94℃ 变性 30s、54℃ 退火 30s、72℃ 延伸 45s, 共 32 个循环, 最后 72℃ 保温 10min。

1.4 蓝太阳鱼 GH cDNA 3' 端(下游区)和 5' 端(上游区)片段的扩增

蓝太阳鱼 GH cDNA 3' 端的扩增采用 GIBCO BRL 3' RACE 试剂盒进行。以特异引物 gsGHSP1(5' ATC AGA

GCC AAT CAG GAC G 3') 和 AUAP 为引物, 以垂体 cDNA 为模板, 进行第一轮 PCR 反应, 反应体系同“1.3”, 退火温度改为 58℃, 循环数为 28, 其余相同。再以此扩增产物的稀释物(稀释 10⁴~10⁵ 倍)为模板, 采用套式特异引物 gsGHSP2(5' TGG CTC CTT ATG GAA ACT A 3') 和 AUAP 进行套式 PCR。PCR 热循环 32 次, 两次 PCR 条件相同。

蓝太阳鱼 GH cDNA 5' 端的扩增: 采用 GIBCO BRL 5' RACE 试剂盒进行扩增 GH cDNA 5' 端, cDNA 第一链合成和加尾等具体操作见试剂盒说明。用基因特异引物 GSP2(5' GCA GAA CCT CCA GAC AGA GAA CG 3') 和引物 AAP 进行第一轮 PCR 扩增; 再以此 PCR 产物的稀释物(稀释 10⁴~10⁵ 倍)为模板, 用引物 AUAP 和套式特异引物 GSP3(5' TGC GTT GTG TCT CGT GCT TGT C 3') 进行第二次 PCR, 以获得生长激素 cDNA 5' 端。第一次 PCR 退火温度为 60℃, 热循环 35 次, 第二次 PCR 退火温度为 62℃, 热循环 30 次, 除此之外, 两次 PCR 条件同“1.3”。

1.5 PCR 产物的克隆、DNA 测序及序列分析和氨基酸序列的比较

PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳后, 用 e Z. N. A. 胶回收试剂盒(Omega) 纯化目的产物, 直接克隆到 pGEM-T easy 载体(Promega)上, 具体操作见说明书。DNA 测序由上海博亚生物公司完成。采用 DNASTAR 和 Clustal 软件进行生长激素氨基酸序列的同源比较分析。

2 结果与讨论

2.1 蓝太阳鱼生长激素全长 cDNA 的克隆与序列分析

根据已报道的其他鱼类生长激素氨基酸序列保守区 DGQRLFS 和 DMHKVET, 设计出简并引物 gsGHSP 和 gsGHAP, 以蓝太阳鱼垂体 cDNA 为模板, 经 32 个循环扩增出一条约 500 bp 的单一 DNA 条带(图 1A)。经琼脂糖凝胶电泳分析, 此片段大小与其他鱼类生长激素保守区间的 DNA 片段大小相一致^[11, 12]。将此 PCR 产物克隆到 pGEM-T easy 载体上, 用简并引物筛选阳性克隆, 再经限制性内切酶酶切分析确认阳性克隆, 将阳性克隆进行双向测序, 确认此片段大小为 501bp, 经 BLAST 在 Genebank 上查询, 证实此克隆片段为生长激素 cDNA 部分同源片段。

为了获得蓝太阳鱼生长激素 cDNA 的全部信息并对其进行全面的分析, 进一步克隆了其生长激素 cDNA 的 3' 和 5' 端。采用引物 gsGHSP1 和 AUAP, 以 cDNA 为模板扩增出了约 500bp 左右的片段(图 1C, Lane 5), 但带型出现有少许涂布现象。为了增加 PCR 扩增特异性和避免非特异性扩增, 采用套式引物 gsGHSP2 和 AUAP, 以此扩增产物的稀释物(稀释 10⁴~10⁵ 倍)为模板扩增出约 450bp 的单一 DNA 片段(图 1C, Lane 6), 经克隆和 DNA 序列分析, 确认此克隆片段为完整的蓝太阳鱼生长激素 cDNA 3' 端。

同时, 根据蓝太阳鱼生长激素 cDNA 501bp 部分片段

序列设计基因特异引物 GSP1, 以实验“1.2”合成 cDNA 第一链时所剩余的总 RNA 1.5 μ g 为模板, 采用引物 GSP1 合成特异基因的 cDNA, 经纯化后在 cDNA 3' 端加上 poly (C) 接头。以此为模板, 用基因特异引物 GSP2 和引物 AAP 扩增出了一条约 480bp 的条带(图 1B, Lane 3), 然后以基因特异引物 GSP3 和 AUAP 进行套式 PCR, 得到 400bp 左右的片段(图 1B, Lane 4), 经克隆和序列分析, 证实此克隆片段为蓝太阳鱼生长激素 cDNA 5' 端。

通过 3 次扩增与克隆, 获得了蓝太阳鱼生长激素全长 cDNA(图 2), 将其命名为 LcGHc。克隆的 LcGHc 全长 989nt(nucleotides)(含 poly(A)), 5' 非编码区长 93nt, 含有在真核生物中高度保守的 Kozak 序列^[24, 25], 其序列形式为 CAG⁻³CCATGG⁺⁴。克隆的 5' 非编码区有 93nt 长, poly(A) 尾更是长达 57nt, 说明所提取的 RNA 质量是很好的, 克隆的 GH cDNA 可以认为是全长。开放阅读框(ORF)长 615nt, 3' 端非翻译区长 224nt, 在 poly(A) 上游 20nt 处有 AATAAA 序列, 为真核生物 mRNA 前体 3' 剪切和加 poly(A) 尾的信号^[26]。

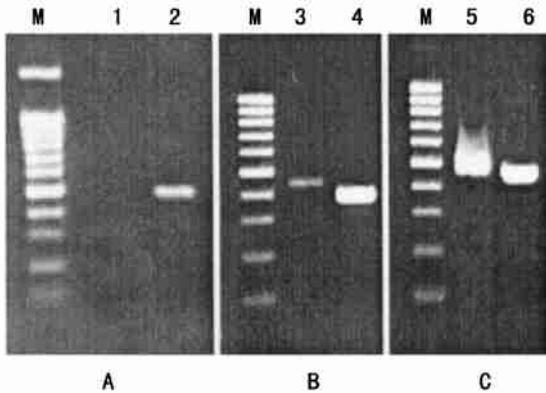


图 1 琼脂糖凝胶电泳结果

Fig. 1 Agarose gels (1.5%)

- A. 采用简并引物 RT-PCR 结果, B. 5' RACE 结果, C. 3' RACE 结果, M. A 为 100+ bp marker, B 和 C 为 100bp marker; 1. 阴性对照; 2. 采用简并引物 gsGHSP 和 gsGHAP 的 RT-PCR; 3. 5' RACE 第 1 次 PCR; 4. 5' RACE 第 2 次套式 PCR; 5. 3' RACE 第 1 次 PCR; 6. 3' RACE 第 2 次套式 PCR

A. The results of RT-PCR with degenerate primers, B. the results of 5' RACE and C. the results of 3' RACE. Lane M. 100+ bp ladder Marker in A, 100bp ladder Marker in B and C; Lane 1. negative control; Lane 2. RT-PCR product with degenerate primers gsGHSP and gsGHAP; Lane 3, the first RT-PCR product of 5' RACE; Lane 4, the nested PCR product of 5' RACE; Lane 5, the first RT-PCR product of 3' RACE; Lane 6. the nested PCR product of 3' RACE

2.2 不同鱼类生长激素氨基酸序列的比较分析

从 LcGHc 序列推导出的蓝太阳鱼生长激素前体由 204 个氨基酸组成, 其中酸性氨基酸 19 个(9.31%), 碱性氨基酸 26 个(12.74%), 不带电荷的极性氨基酸 76 个

(37.26%), 疏水性氨基酸 83 个(40.68%), 等电点为 7.4, 分子重量为 23kD。

通过蓝太阳鱼与其它脊椎动物生长激素氨基酸序列的同源性比较, 蓝太阳鱼生长激素与同一鲈形目的 *Epinephelus coioides* (AAK57697)、*Sparus aurata* (AAA03329)、*Acanthopagrus butcheri* (Q01282)^[12]、*Sciænops ocellatus* (AAF61751) 和 *Oreochromis niloticus* (M26916)^[11] 同源性分别为 97.1%、94.6%、93.7%、94.6% 和 87.8%。与 *Salmo salar* (JS0179)^[10]、*Oncorhynchus mykiss* (A31363)^[7] 等鲑鳟鱼类的同源性为 60% 以上, 与 *Cyprinus capio* (S02764)^[8]、*Ctenopharyngodon idella* (CAA43304) 等鲤科鱼类及 *Ictalurus punctatus* (P34745)^[15]、*Silurus meridionalis*^[23] 等鲇科鱼类的同源性较低, 在 55% 左右, 而与高等脊椎动物如两栖类、鸟类、哺乳类动物的同源性则在 40% 以下。

根据已知鲈形目鱼类生长激素前体信号肽的氨基酸组成特点和序列保守性^[11, 12], 推测蓝太阳鱼 GH 信号肽为 17 个氨基酸, 从起始氨基酸(M) 到第 17 位氨基酸(S) 为信号肽部分, 成熟肽为 187 个氨基酸。鲤鱼类和鲑鱼类的 GH 中, 有两个 N-糖基化位点^[18, 22], 而在蓝太阳鱼 GH 氨基酸序列中, 只在第 201 位发现有 Asn-Cys-Thr 糖基化位点。在蓝太阳鱼 GH 的成熟肽中, 有四个半胱氨酸(C), 根据已知鱼类 GH 的蛋白质结构得知, 这四个半胱氨酸的位置非常保守, 它们在成熟肽中形成两个二硫键(第 69 位与第 177 位, 第 194 位与 202 位), 对生长激素的正常折叠、维持空间结构以发挥有效的生理功能有着重要的作用^[1, 19]。

通过对蓝太阳鱼 GH 基因的克隆, 弥补了对棘臀鲈科鱼类 GH 研究的空白, 为 GH 的分子进化和同源比较研究提供了新的资料。由于蓝太阳鱼生长速度比较缓慢, 通过转生长激素基因可望解决这一难题。根据 Rahman 等^[27] 人的观点, 转植生长激素基因与受体生长激素基因的同源性越高, 转植生长激素基因促生长的作用越明显, Nam 等甚至通过自源转基因(autotransgenic) 获得了超大个体转基因鱼^[28]。因此蓝太阳鱼生长激素基因的克隆也为选择和构建合适的转植基因重组子, 以及对转基因鱼中转植基因的检测等奠定了基础。

参考文献:

- [1] Lin H R. Fish physiology[M]. Guangzhou: Guangdong High Education Press, 1999. 210-212. [林浩然. 鱼类生理学[M]. 广州: 广东高等教育出版社, 1999. 210-212.]
- [2] Higgs D A, Donaldson E M, Dye H M, et al. A preliminary investigation of the effect of bovine growth hormone on growth and muscle composition of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. Gen Comp Endocrinol, 1975, 27: 240-253.
- [3] Makert J R, Higgs D A, Dye H M, et al. Influence of bovine growth hormone on growth rate, appetite, and food conversion of yearling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed two diets of

- different composition[J]. Can J Zool, 1977, 55: 74- 83.
- [4] Agellon L B, Emery C J, Jone J M, *et al.* Promotion of rapid growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by a recombinant fish growth hormone[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1988, 45: 146- 151.
- [5] Cui Z B, Zhu Z Y. Several interesting questions about breeding transgenic fish[J]. Biotech Information, 1998, 5: 1- 10. [崔宗斌, 朱作言. 鱼类基因转移育种的几个问题[J]. 生物技术通报, 1998, 5: 1- 10.]
- [6] Sekine S, Mizukami T, Nishi T, *et al.* Cloning and expression of cDNA for salmon growth hormone in *Escherichia coli*[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1985, 82: 4306- 4310.
- [7] Agellon L B, Davies S L, Lin C M, *et al.* Rainbow trout has two genes for growth hormone[J]. Mol Rep Develop, 1988, 1: 11- 17.
- [8] Chao S C, Pan F M, Cheng W C. Purification of carp growth hormone and cloning of the complementary DNA[J]. Biochim Biophys Acta, 1989, 1007 (2): 233- 236.
- [9] Koren Y, Saril S, Ber R, *et al.* Carp growth hormone: molecular cloning and sequencing of cDNA[J]. Gene, 1989, 77: 309- 315.
- [10] Johansen B, Johnsen O C, Valla S. The complete nucleotide sequence of the growth-hormone gene from Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Gene, 1989, 77: 317- 324.
- [11] Rentier-Delrue F, Swennen D, Philippart J C, *et al.* Tilapia growth hormone: molecular cloning of cDNA and expression in *Escherichia coli*[J]. DNA, 1989, 8: 271- 278.
- [12] Knibb W, Robins A, Crocker L, *et al.* Molecular cloning and sequencing of Australian black bream *Acanthopagrus butcheri* and barramundi *Lates calcarifer* fish growth hormone cDNA using polymerase chain reaction[J]. DNA Seq, 1991, 2 (2): 121- 123.
- [13] Chang Y S, Liu C S, Huang F L, *et al.* The primary structures of growth hormone of three cyprinid species: bighead carp, silver carp, and grass carp[J]. Gen Comp Endocrinol, 1992, 87 (3): 385- 393.
- [14] Devlin R H. Sequence of sockeye salmon type 1 and 2 growth hormone gene and the relationship of rainbow trout with Atlantic and Pacific salmon[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1993, 50: 1738 - 1748.
- [15] Tang Y, Lin C M, Chen T T, *et al.* Structure of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*) growth hormone gene and its evolutionary implications[J]. Mol Marine Biol Biotechnol, 1993, 2 (4): 198- 206.
- [16] Lemaire C, Warit S, Panyin S. Giant catfish *Pangasianodon gigas* growth hormone-encoding cDNA: cloning and sequencing by one-side polymerase chain reaction[J]. Gene, 1994, 149 (2): 271- 276.
- [17] Law M S, Cheng K W, Fung T K, *et al.* Isolation and characterization of two distinct growth hormone cDNAs from the goldfish, *Carassius auratus*[J]. Arch Biochem Biophys, 1996, 330 (1): 19- 23.
- [18] May D, Alnubaian J, Patel S, *et al.* Studies on the GH/SL gene family: cloning of African lungfish (*Protopterus annectens*) growth hormone and somatolactin and Toad (*Bufo marinus*) growth hormone[J]. Gen Comp Endocrinol, 1999, 113: 121- 135.
- [19] Ayson F G, de Jesus E G T, Amemiya Y, *et al.* Isolation, cDNA cloning, and growth promoting activity of rabbitfish (*Siganus guttatus*) growth hormone[J]. Gen Comp Endocrinol, 2000, 117: 251- 259.
- [20] Anathy V, Venugopal T, Koteeswaran R, *et al.* Cloning, sequencing and expression of cDNA encoding growth hormone from Indian catfish (*Heteropneustes fossilis*) [J]. J Bio Sci, 2001, 26: 315- 324.
- [21] Venugopal T, Anathy V, Pandian T J, *et al.* Molecular cloning of growth hormone-encoding cDNA of an Indian major carp, *Labeo rohita*, and its expression in *Escherichia coli* and zebrafish[J]. Gen Comp Endocrinol, 2002, 125: 236- 247.
- [22] de Jesus E G T, Ayson F G, Amemiya Y, *et al.* Milkfish (*Chanos chanos*) growth hormone cDNA cloning and mRNA expression in embryos and early larval stages[J]. Aquaculture, 2002, 208: 177- 188.
- [23] Song P, Hu Y C, Xiang Z, *et al.* Cloning and sequencing of full length cDNA in *Silurus meridionalis* growth hormone[J]. Acta Hydrobio Sinica, 2002, 26(3): 272- 280. [宋平, 胡隐昌, 向筑, 等. 南方鲇生长激素完整 cDNA 的克隆及其 DNA 序列分析[J]. 水生生物学报, 2002, 26(3): 272- 280.]
- [24] Kozak M. Compilation and analysis of sequences upstream from the translational start site in eukaryotic mRNAs[J]. Nucleic Acids Res, 1984, 12: 857- 872.
- [25] Kozak M. An analysis of 5'-noncoding sequences from 699 vertebrate messenger RNAs[J]. Nucleic Acids Res, 1987, 15: 8125- 8148.
- [26] Fitzgerald M, Shenk T. The sequence 5'-AAUAAA-3' forms part of the recognition site for polyadenylation of late SV40 mRNAs [J]. Cell, 1981, 24: 251- 260.
- [27] Rahman M A, Mak R, Ayad H, *et al.* Expression of a novel piscine growth hormone gene results in growth enhancement in transgenic tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Transgenic Research, 1998, 7: 357- 369.
- [28] Nam Y K, Noh J K, Cho Y S, *et al.* Dramatically accelerated growth and extraordinary gigantism of transgenic mud loach *Misgurnus mizolepis*[J]. Transgenic Research, 2001, 10: 353- 362.

1	AGAACGCTCTCACTACTCAGGTACGATCAGACTAACCAGAAGTGAATCCAGCCCTG	56
57	AAACAGAACCAGGACCCGTGCTGAGTCCAGACCAGCC	93
94	ATG GAC AGA GTT ATC CTT CTG CTG TCG GTG GTG TCT CTG GGC GTT TCC TCT	144
1	M D R V I L L L S V V S L G V S S	17
145	CAG CCA ATC ACA GAT GGC CAG CGT CTC TTC TCG ATC GCA GTC AGC AGA GTT	195
18	Q P I T D G Q R L F S I A V S R V	34
196	CAA CAC CTC CAC CTG CTC GCT CAG AGA CTC TTC TCT GAC TTT GAG AGC TCT	246
35	Q H L H L L A Q R L F S D F E S S	51
247	CTG CAG ATG GAG GAG CAG CGT CAA CTC AAC AAA ATC TTC CTG CAG GAC TTC	297
52	L Q M E E Q R Q L N K I F L Q D F	68
298	TGT AAC TCT GAT TAC ATC ATC AGC CCC ATC GAC AAG CAC GAG ACA CAA CGC	348
69	C N S D Y I I S P I D K H E T Q R	85
349	AGC TCT GTT CTG AAG CTG TTG TCT ATC TCG TAT CGA CTG ATC GAG TCT TGG	399
86	S S V L K L L S I S Y R L I E S W	102
400	GAG TTT CCC AGT CGT TCT CTG TCT GGA GGT TCT GCT CCG AGG AAC CAG ATT	450
103	E F P S R S L S G G S A P R N Q I	119
451	TCC CCC AAA CTG TCA GAA CTG AAG ACT GGG ATC CTG CTG TTG ATC AGA GCC	501
120	S P K L S E L K T G I L L L I R A	136
502	AAT CAG GAC GGA GCA GAG CTG TTT CCT GAC AGC TCC GCC CTG CAG CTG GCT	552
137	N Q D G A E L F P D S S A L Q L A	153
553	CCT TAT GGA AAC TAT TAT CAG ACG CTG GGA TCC GAC GAG TCG CTG AGA CGA	603
154	P Y G N Y Y Q T L G S D E S L R R	170
604	ACG TAC GAA CTG CTG GCC TGT TTC AAG AAA GAC ATG CAC AAG GTG GAG ACC	654
171	T Y E L L A C F K K D M H K V E T	187
655	TAC CTG ACG GTT GCT AAA TGT CGA CTC TCT CCA GAA GCC AAC TGC ACC TTG	705
188	Y L T V A K C R L S P E A N C T L	204
706	TAG	708
	*	
709	CTCCGCCTCTCTACTGTAAAGCCAGGCCTCGTGTGGATGATGTAATCCTGTGTGTT	764
765	CTGTAGCTCCGCCTCCATGTTCTCTGTAAGTACGCTTAGCATTAGTGTCTGCCTCT	820
821	GTTTCAGTGTGTTTGGTGCCTGAAACCCAGCGTGATGATGAAGGTTTAAAGCTGTGAAC	876
877	AGGAAGTGATGTCGTAAGTGTGAGCTGTGTTGCATTC	932
933	AA	989

图2 蓝太阳鱼生长激素全长 cDNA 序列及其推导的氨基酸序列(位于核苷酸下面)

Fig. 2 Nucleotide sequence of *Lepomis cyanellus* growth hormone cDNA and the deduced amino-acid sequence is presented below the nucleotide sequence

(终止密码子用“*”号表示,多聚腺苷酸加尾信号用下划线表示。此处报道的蓝太阳鱼生长激素核苷酸序列正在 GeneBank、EMBL 登录,登录号待批)

(The termination codon is indicated by “*”, a putative polyadenylation signal is underlined, the nucleotide sequence data reported here has been submitted to the GeneBank and EMBL nucleotide sequence databases)