

# 读书报告

职韶阳

2019年1月13日



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

## General and Comparative Endocrinology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ygcn](http://www.elsevier.com/locate/ygcn)



Research paper

### Ctrp9 and adiponectin receptors in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Molecular cloning, tissue distribution and effects on reproductive genes

Guokun Yang, Qinqin Song<sup>1</sup>, Caiyun Sun, Jingkai Qin, Jirong Jia, Xi Yuan, Yazhou Zhang,  
Wensheng Li\*

State Key Laboratory of Biocontrol, Institute of Aquatic Economic Animals and Guangdong Province Key Laboratory for Aquatic Economic Animals, Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center for Healthy Breeding of Important Economic Fish, School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China



尼罗罗非鱼中Ctrp9，脂联素受体：  
分子克隆，组织分布以及对繁殖基因的影响

IF=2.564

**目录**  
CONTENTS



**目录**  
CONTENTS





## 研究背景

-C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白（C1q/TNF-related proteins, CTRPs）家族

CTRPs家族成员已有15个

CTRP9在进化过程中高度保守

AdipoR1和AdipoR2是7-跨膜受体，属于PAQR（孕激素AdipoQ受体）蛋白家族，在多种生物体中广泛表达。

AdipoR1主要在骨骼肌和肝脏中表达，通过AMPK途径调节葡萄糖和脂质代谢

AdipoR2主要在白色脂肪组织和肝脏中表达，参与调节脂肪酸代谢和炎症反应

## 研究背景

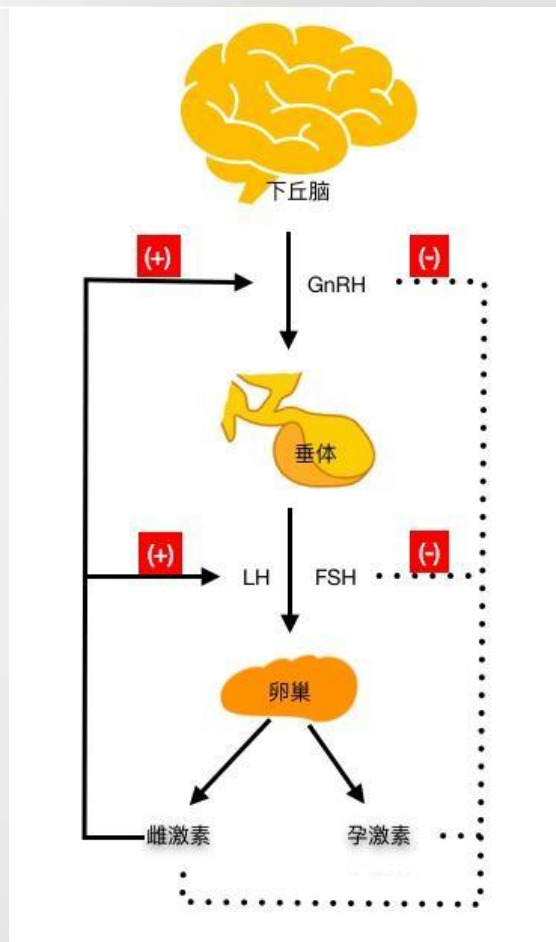
Ctrp9

### Ctrp9是脂联素的紧密旁系同源物

- 脂联素在骨骼肌，心肌和肝脏中脂肪酸和葡萄糖代谢的调节中起重要作用，以维持能量稳态。
- 脂联素还具有胰岛素增敏，抗糖尿病，抗动脉粥样硬化和抗炎、抗凋亡等多种生物学特性
- 脂联素已被证明参与大鼠垂体中生殖和促性腺激素合成/释放的调节，在血浆中含量丰富。

## 研究背景

CTRP9是否参与  
生殖调节?



HPG轴在调节脊椎动物的  
繁殖中起关键作用

对相关基因进行  
研究

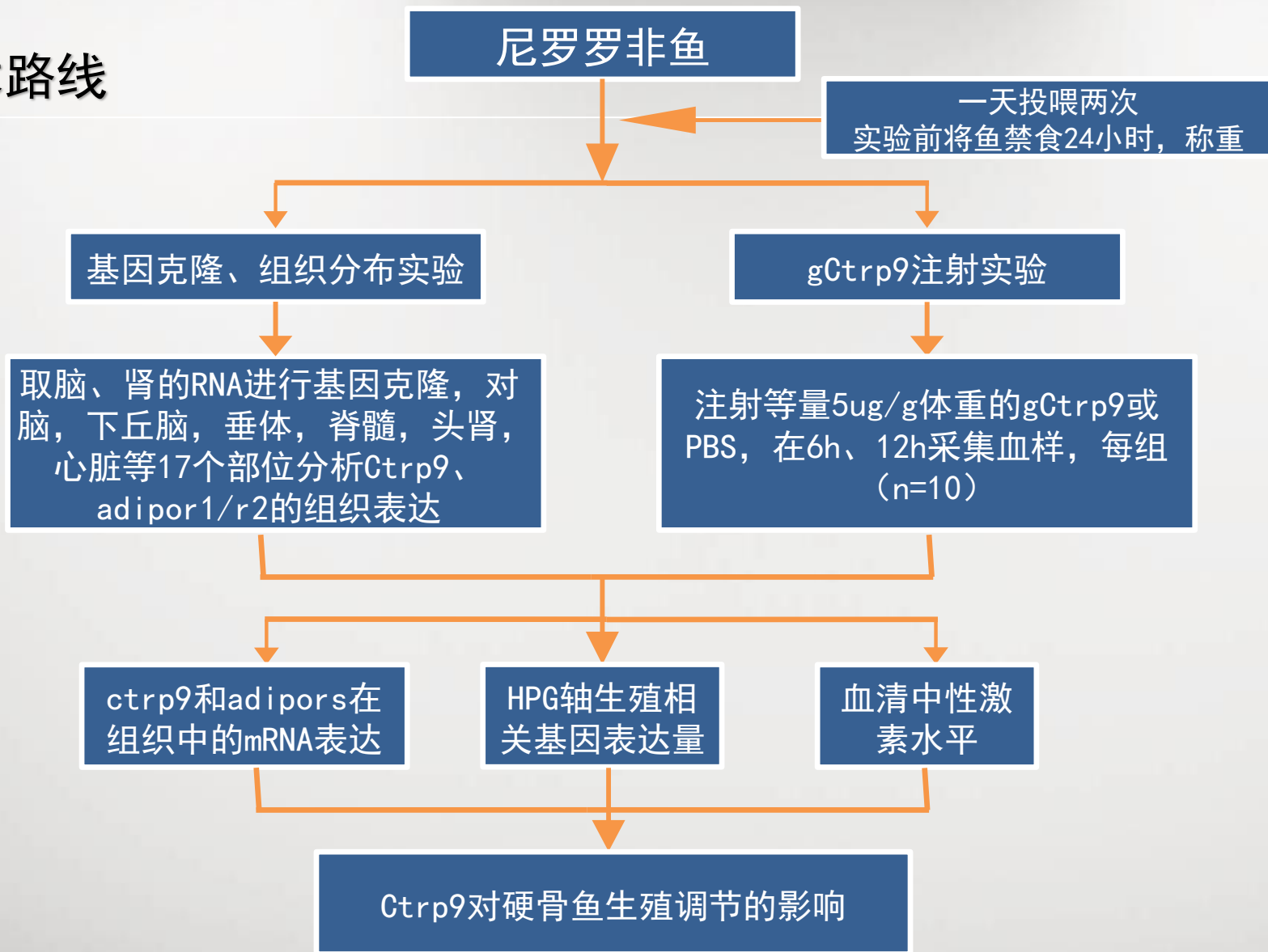


**目录**  
CONTENTS





## 02 技术路线



**目录**  
CONTENTS





# 03-1 罗非鱼ctrp9, adipor1和adipor2的克隆及序列分析

```

1  ATG AGT CCA CGG GAG AAA GGA GAC TTG CCC ACC TCA GGT TCT TCA ACC AGT CAC CTC AGC 60
1  M  S  P  R  E  K  G  D  L  P  T  S  G  S  S  T  S  H  L  S  20
61  ACC GCA GAG TGC CCC TCA CAC AGT GGG AGC GTC CGA GAG TGC GAC GAC AAG AAA AGG GTA 120
21  T  A  E  C  P  S  H  S  G  S  V  R  E  C  D  D  K  K  R  V  40
121 AGC GAA GAG GAT GAC GGA GGA AGA AAA GAG GAG GAA ACG GAG CAG GAG GAG GAT GAG AGG 180
41  S  E  E  D  D  G  G  R  K  E  E  E  T  E  Q  E  E  D  E  R  60
181 AAC AGT GAT GAA GGC TTC ATG GGA ATG ACT CCA CTC CTG CAA GCA CAC CAC GCC ATG GAG 240
61  N  S  D  E  G  F  M  G  M  T  P  L  L  Q  A  H  H  A  M  E  80
241 AAG ATG GAG GAG TTT GTA CAC AAG ATG TGG GAG GGT CGG TGG CGC GTC ATT CCT CAC GAC 300
81  K  M  E  E  F  V  H  K  M  W  E  G  R  W  R  V  I  P  H  D  100
301 GTA CTC CCC GAT TGG CTG AAG GAC AAC GAC TTC CTG CTT CAC GGC CAC AGG CCT CCC ATG 360
101 V  L  P  D  W  L  K  D  N  D  F  L  L  H  G  H  R  P  P  M  120
361 CCT TCG TTT CGC GCC TGC TTC AAG AGC ATC TTT AGA ATC CAC ACA GAG ACG GGA AAC ATC 420
121 P  S  F  R  A  C  F  K  S  I  F  R  I  H  T  E  T  G  N  I  140
421 TGG ACA CAC CTG CTA GGC TGT TTG TTT TTC CTC TGT CTG GGC CTG ATG TAC ATG TTC AGA 480
141 W  T  H  L  L  G  C  L  F  L  C  L  G  L  M  Y  M  F  R  160
481 CCC AAC ATG TCT TTT GTG GCT CCG GTC CAA GAG AAG GTG GTG ATC GGG ATG TTT TTC CTG 540
161 P  N  M  S  F  V  A  P  V  Q  E  K  V  V  I  G  M  F  F  L  180
541 GGA GCC ATC CTC TGC CTC TCG TTC TCC TGG CTC TTC CAC ACA GTC TAC TGC CAC TCT GAG 600
181 G  A  I  L  C  L  S  F  S  W  L  F  H  T  V  Y  C  H  S  E  200
601 GGC GTA TCC AAA GTC TTC TCC AAG TTG GAC TAC AGT GGG ATC GCC TTC CTG ATC ATG GGC 660
201 G  V  S  K  V  F  S  K  L  D  Y  S  G  I  A  F  L  I  M  G  220
661 TCC TTT GTC CCC TGG TTG TAT TAT TCC TTC TAC TGC TCC CCT CAG CCC TGC TTC ATC TAC 720
221 S  F  V  P  W  L  Y  Y  S  F  Y  C  S  P  Q  P  C  F  I  Y  240
721 CTG ATA GTG GTG TGT GTA CTA GGA CTG GCC GCC ATC ACC GTG TCA CAG TGC GAC TTC TTC 780
241 L  I  V  V  C  V  L  G  L  A  A  I  T  V  S  Q  C  D  F  F  260
781 GCT ACT CCG GAC TAC AGA GGA GTC AGA GCA GGC GTG TTT GTG GGC CTC GGT CTG AGC GGC 840
261 A  T  P  Q  Y  R  G  V  R  A  G  V  F  V  G  L  G  L  S  G  280
841 GTG GTT CCC ACC CTG CAC TTT GTC ATC AGT GAG GGT CTG ATC AAG GCG ACC ACC ATC GGC 900
281 Y  V  P  T  L  H  F  V  I  S  E  G  L  I  K  A  T  T  I  G  300
901 CAG ATG GGC TGG CTG TTC CTC ATG GCC ACT CTC TAC ATC ACC GGA GCC TGC CTG TAC GCC 960
301 Q  M  G  W  L  F  L  M  A  T  L  Y  I  T  G  A  C  L  Y  A  320
961 GCC CGA ATC CCC GAG AGG TTC TTC CCC GGC AAG TGT GAC ATC TGG TTT CAC TCC CAT CAG 1020
321 A  R  I  P  E  R  F  F  P  G  K  C  D  I  W  F  H  S  H  Q  340
1021 TTG TTC CAC ATC TTG GTG GTC GCC GGG GCT TTC GTT CAC TTC CAC GGC GTC TCC AAC CTG 1080
341 L  F  H  I  L  V  V  A  G  A  F  V  H  F  H  G  V  S  N  L  360
1081 CAG GAG TTT CGC TAC ACG GCA GGA GGA GGC TGC ACT GAG GAT GGC AAT CTC TAA 1134
361 Q  E  F  R  Y  T  A  G  G  G  C  T  E  D  G  N  L  *  377

```

信号肽：黑色下划线

可变域：红色框

胶原结构域：双下划线部分

球状结构域：黑色边框

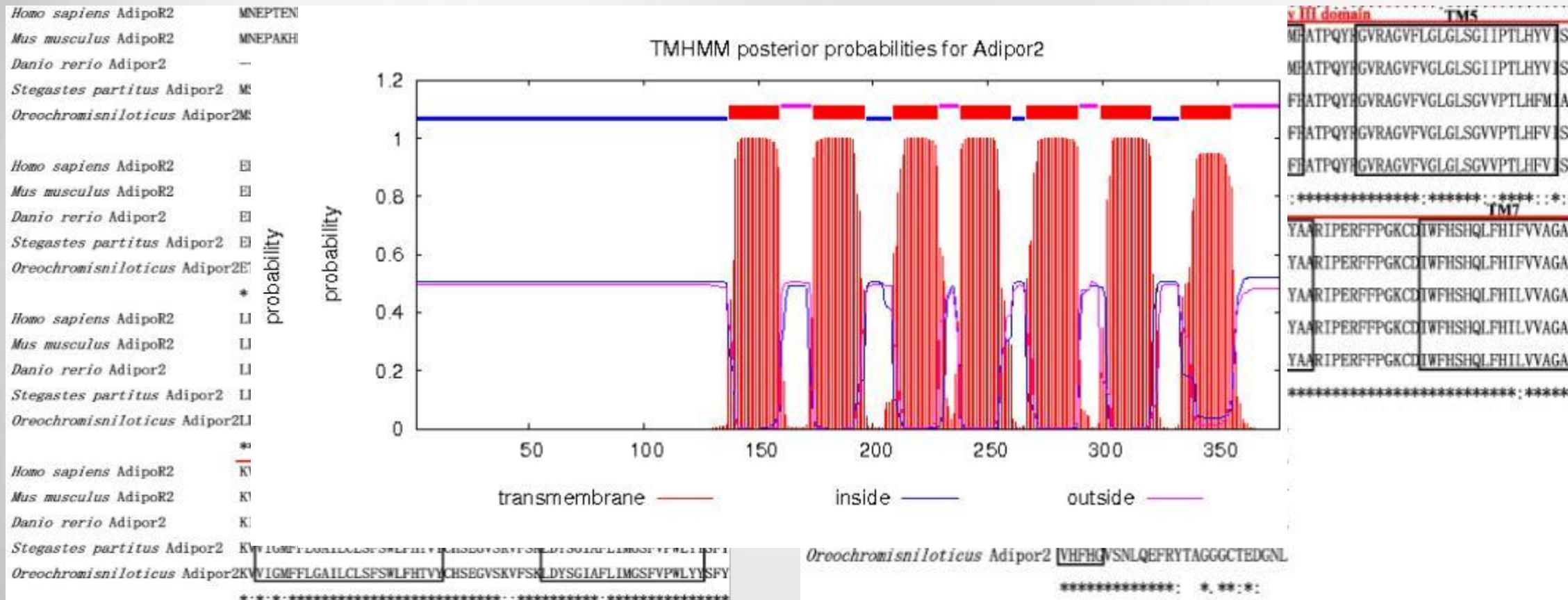
※：终止密码子

○：糖基化位点

跨膜结构域：单下划线



# 03-1 罗非鱼ctrp9, adipor1和adipor2的克隆及序列分析



相同的氨基酸 (\*)  
 高度保守的氨基酸 (:)  
 较少保守的氨基酸 (.)

罗非鱼 Ctrp9, Adipor1和Adipor2  
 与其他物种的氨基酸序列比对

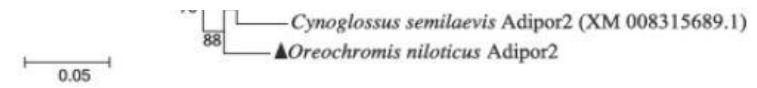


# 03-1 罗非鱼ctrp9, adipor1和adipor2的克隆及序列分析

Table 2. Amino acids identities of *Oreochromis niloticus* Ctrp9, Adipor1 and Adipor2 compared to other species.

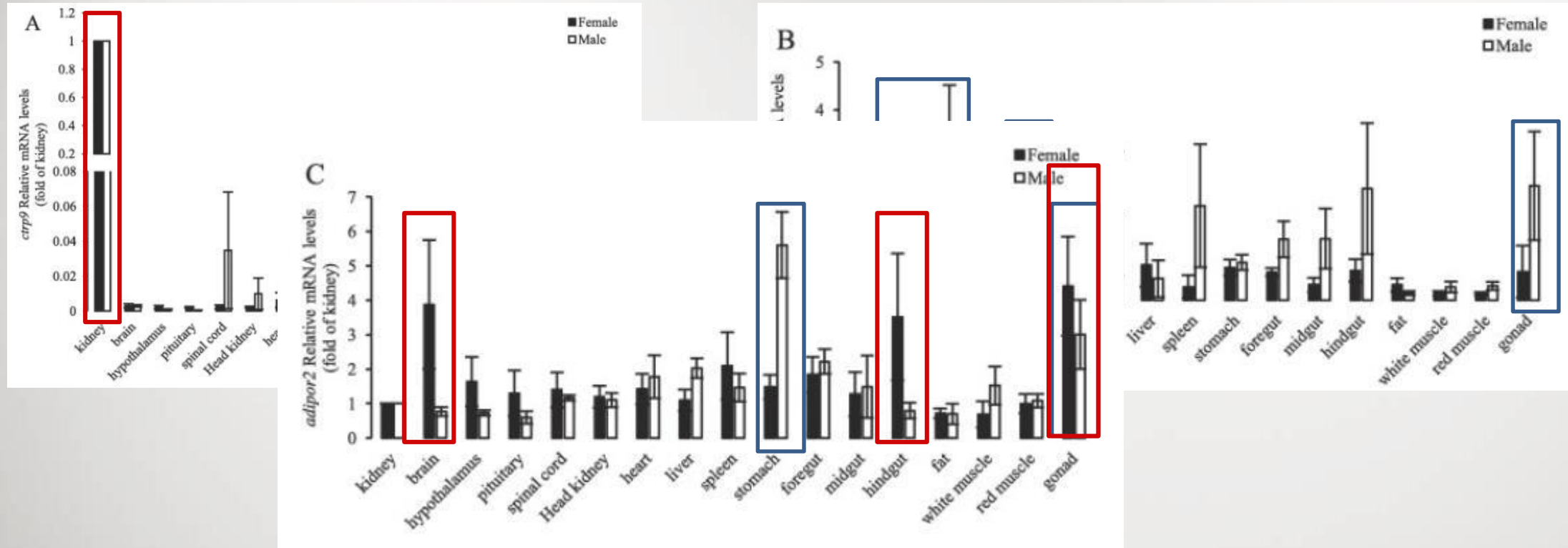
<i>Oreochromis niloticus</i>	CTRP9	AdipoR1	AdipoR2
	100%	100%	100%
<i>Pundamilia nyererei</i>	XM 005722624.1	XM 005739511.1	XM 005725290.2
M	Grouper gCtrp9 LVISKSAFSVGLTAQSKLPTNPAPIRFDKIIYVQNHYPQTGRFTCSAAGAYFFTYHIT Tilapia gCtrp9 FVISKSAFSVGLTTQTKLPAANAPIRFDKIIYNEQNHYPQTGRFTCSAAGAYFFTYHIT :*****:*:**: ***** *****		
S	Grouper gCtrp9 VFSRNKVALVKNGAKIIHTTDNYQSSDAQAGGAVLNLDVGDVWLVQVTGGELYNGLFA C Tilapia gCtrp9 VFSRNKVALVKNGAKIIHTTDNYQGSSEQAAGGAVLNLDVGDVWLVQVVGGETFNGLFA *****:*****: *****: *****: *****: *****: *****		
D		Identity	
	Grouper gCtrp9 DEDDDTTFSGFLIFGA	100%	
	Tilapia gCtrp9 DEDDDTTFSGFLIFEA	91.18%	
G	***** * 56.02%	81.77%	76.00%
<i>Mus musculus</i>	DQ002401.1 55.72%	BC014875.1 82.57%	NM_197985.3 75.86%
<i>Homo sapiens</i>	BC040438.1 57.23%	BC001594.2 82.04%	BC051858.2 74.80%

Tilapia Adipor1	MSGRN-----GSASDADCRISEDCQVPDVELMELGPLLEEGGARQAVSKSVHPE	4.1)
Tilapia Adipor2	MSPREKGLPTSGSSTSHLSTAECPSHSGS-VRECDKRVSEEDDGRKEE-----	)
	** *: . **:* ... * : : : : ** :	
Tilapia Adipor1	GAAMLADEEEEEDEVEVLTLPQAHAMEKMEEFVHKVWEGRWVIFPHVLPWLKND	94562.1)
Tilapia Adipor2	-ETEQEEDERNSEDFMGMTPLQAHAMEKMEEFVHKVWEGRWVIFPHVLPWLKND	1)
	: : * : . ** : * *****:*****: *****: *****	1.1)
Tilapia Adipor1	YLLHGHRPMPMSFRACFGSIFRIHTEGNIWTHLLGLILFLCLGLTMLRPNMYFMAPLQ	1)
Tilapia Adipor2	FLFHGHRPMPMSFRACFKSIFRIHTEGNIWTHLLGCLFFLCLGLMYMFRPNMSFVAPVQ	5.2)
	:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****	
Tilapia Adipor1	EKVVFVGMFLGAVLCLSFSLFHTVYCHSEKVSRTFSKLDYSGIALLIMGSFVPWLYYSF	
Tilapia Adipor2	EKVVIGMFLGAILCLSFSLFHTVYCHSEGVSKVPSKLDYSGIAFLIMGSFVPWLYYSF	
	****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****	
Tilapia Adipor1	YCSPQRLIYLTIVCILGIAAIIVAQWDRFSTPRHRPTRAGVFMGLGSGIVPTMHFTIE	1)
Tilapia Adipor2	YCSPQPCFIYLIIVCVLGLAAITVSQCDFFATPQYRGVAGVFGVGLGSGVPTLHFVIS	1.1)
	***** :*** :**:*:** *:* * *:*:* : *****:*****:***:*, *	1345.1)
Tilapia Adipor1	EGFVKATTVGQMGWFYLMGAMYITGAGLYAARIPERYFPGKCDIWFHSHQIPHVLVAAA	
Tilapia Adipor2	EGLIKATTIGQMGWFLMATLYITGACL YAARIPERFFPGKCDIWFHSHQLFHILVVAGA	
	**::****:*****:***: :***** *****:*****:*****:*****:*****: *	
	Identity	
Tilapia Adipor1	FIHFYGVSNLQEFRYGLEGGCTDSSL	100%
Tilapia Adipor2	FVHFHGVSNLQEFRYTAGGCTEDGNL	69.67%
	*:**:***** *****:*, *	1)

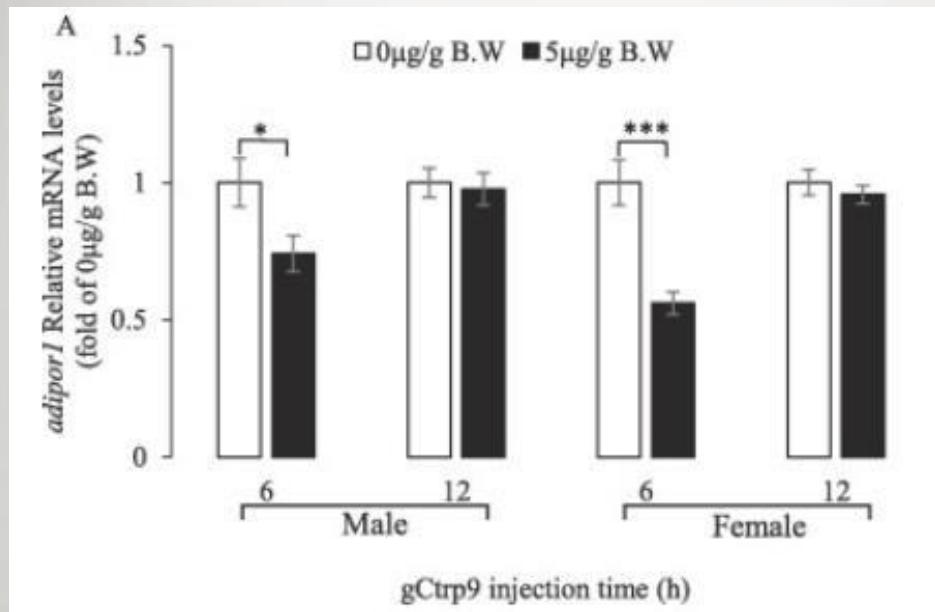




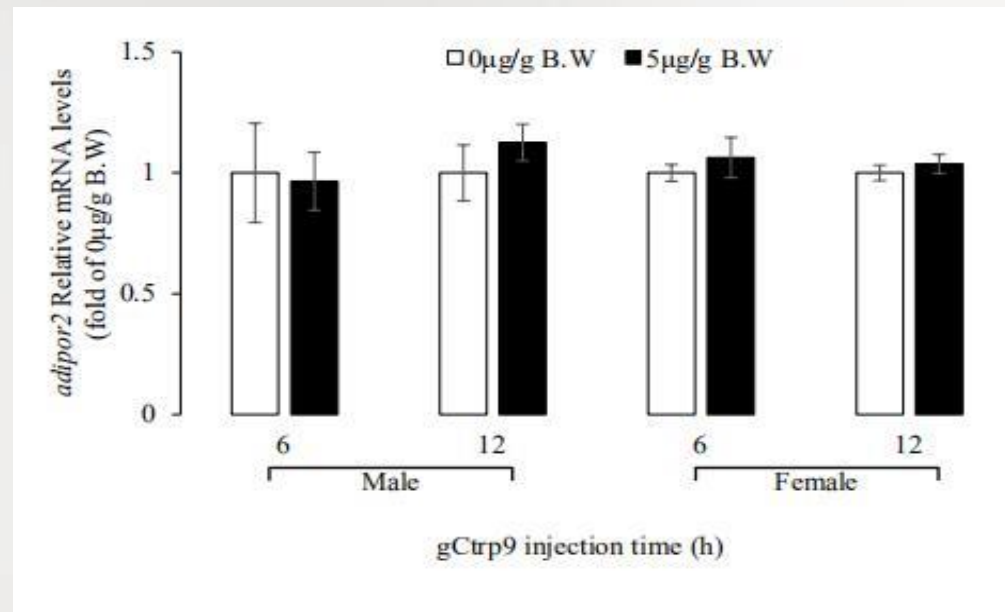
### 03-1 罗非鱼中ctrp9, adipor1和adipor2的组织分布



### 03 gCtrp9对罗非鱼繁殖的功能分析

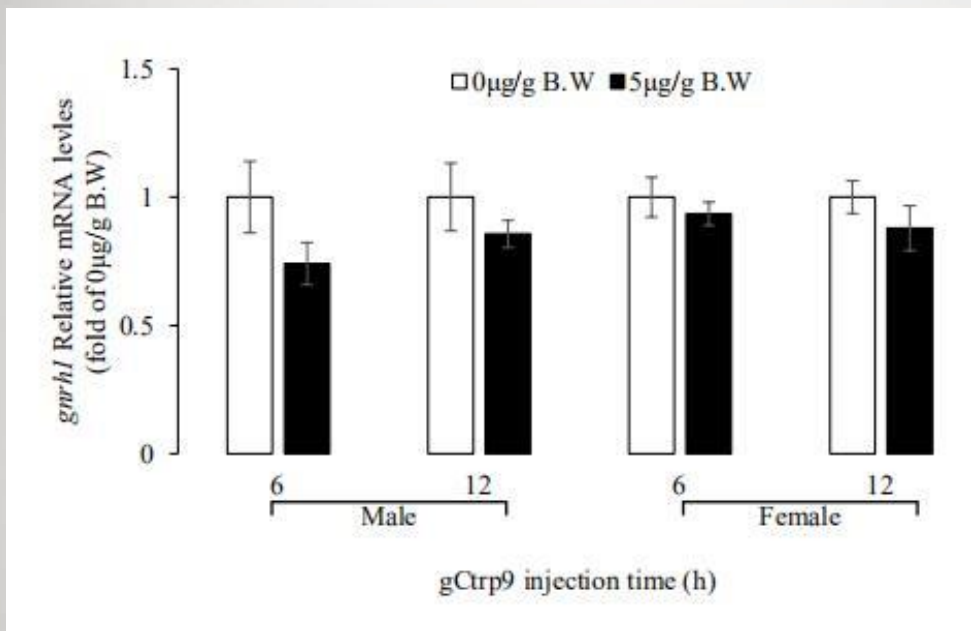


gCtrp9 在注射后6小时显著降低雄性和雌性下丘脑中的 *adipor1* mRNA水平

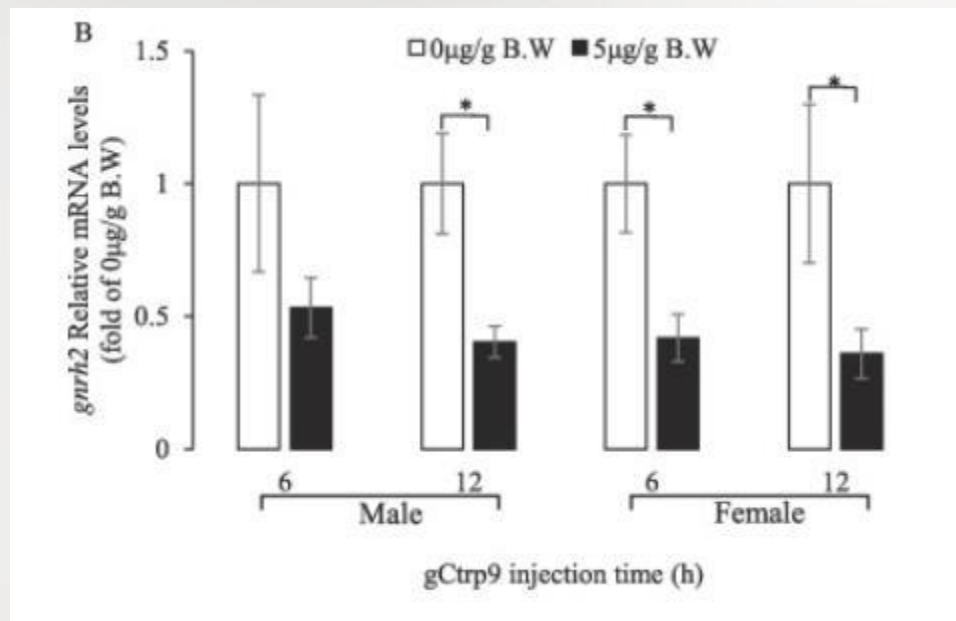


gCtrp9 在注射后6、12小时 *adipor2* mRNA水平没有明显改变

### 03 gCtrp9对罗非鱼繁殖的功能分析

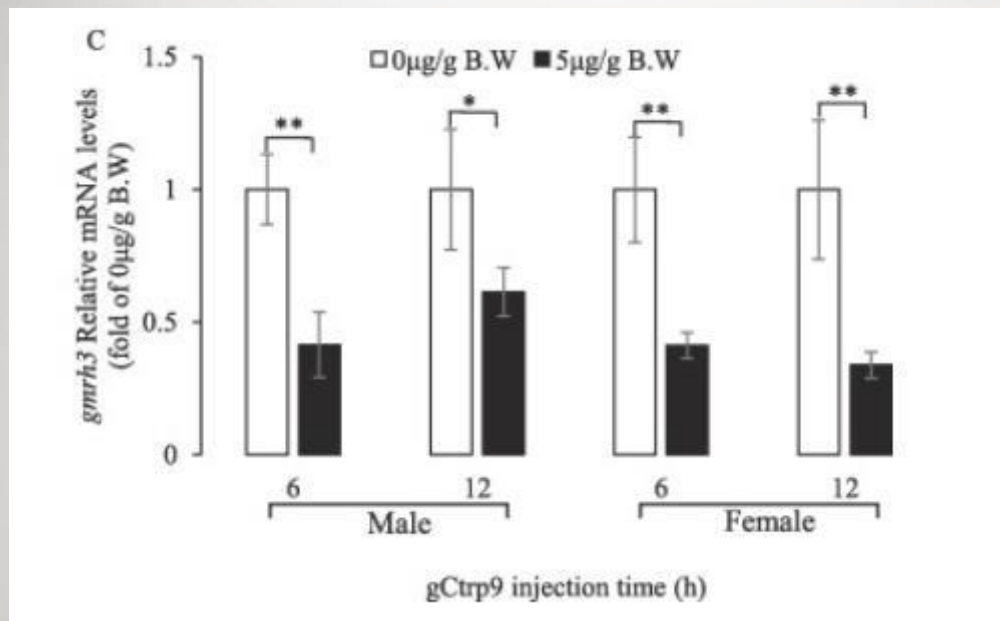


gnrh1 mRNA的表达在两种性别中都没有改变

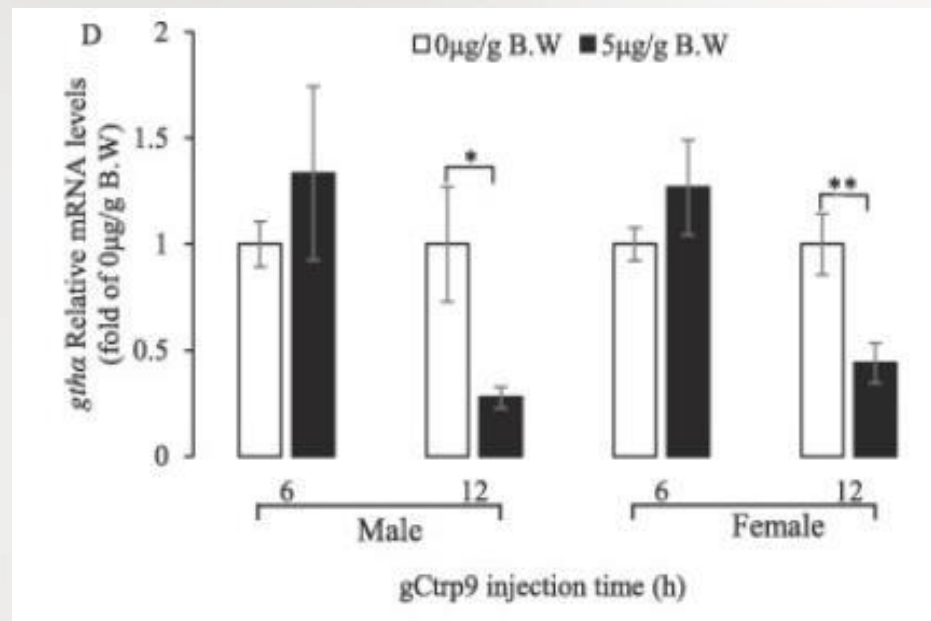


gnrh2 mRNA的表达在雌性中产生明显抑制，雄性仅在注射后12小时被抑制

### 03 gCtrp9对罗非鱼繁殖的功能分析

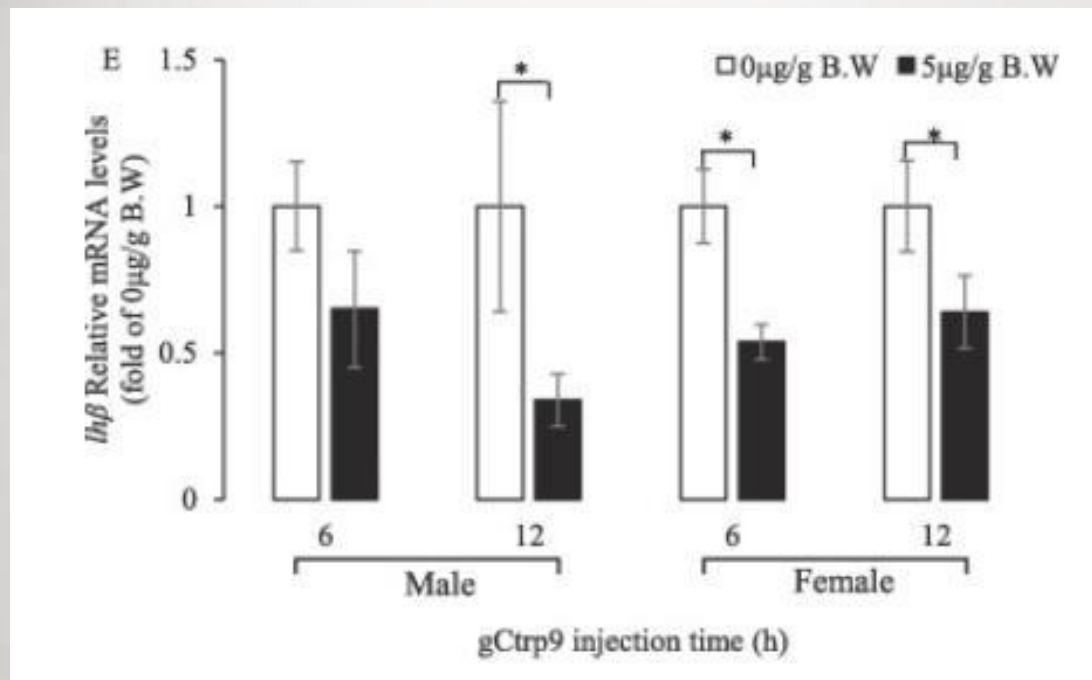


gnrh3 mRNA的表达在6、12小时表达被显著抑制

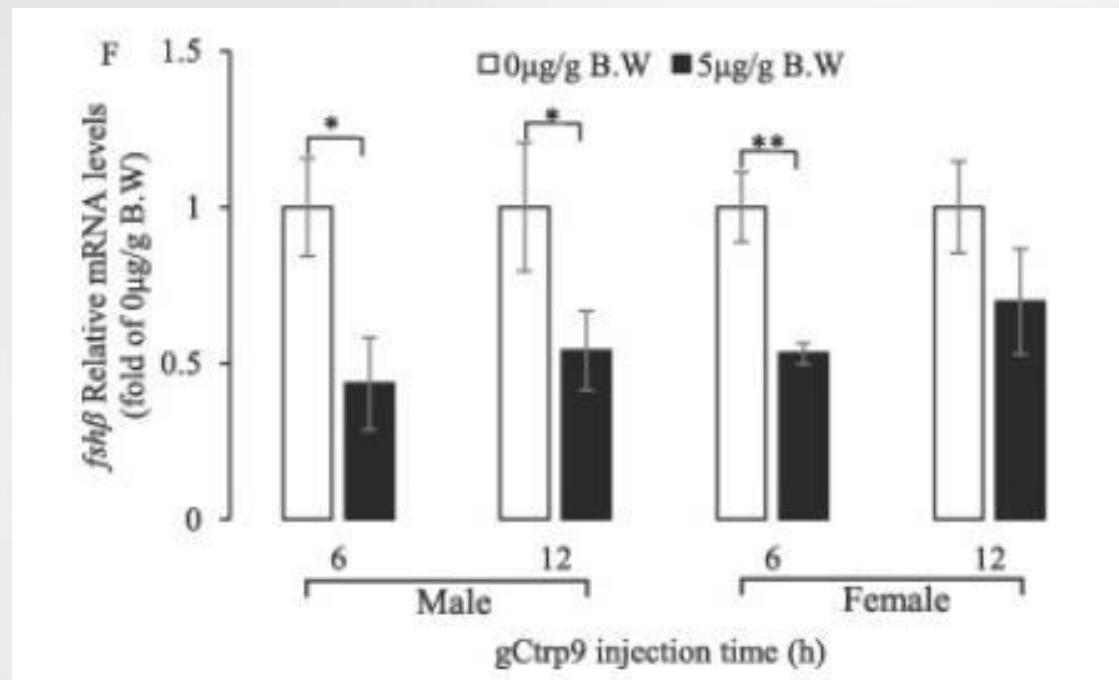


垂体促性腺激素的亚基基因表达在12小时存在显著抑制

### 03 gCtrp9对罗非鱼繁殖的功能分析



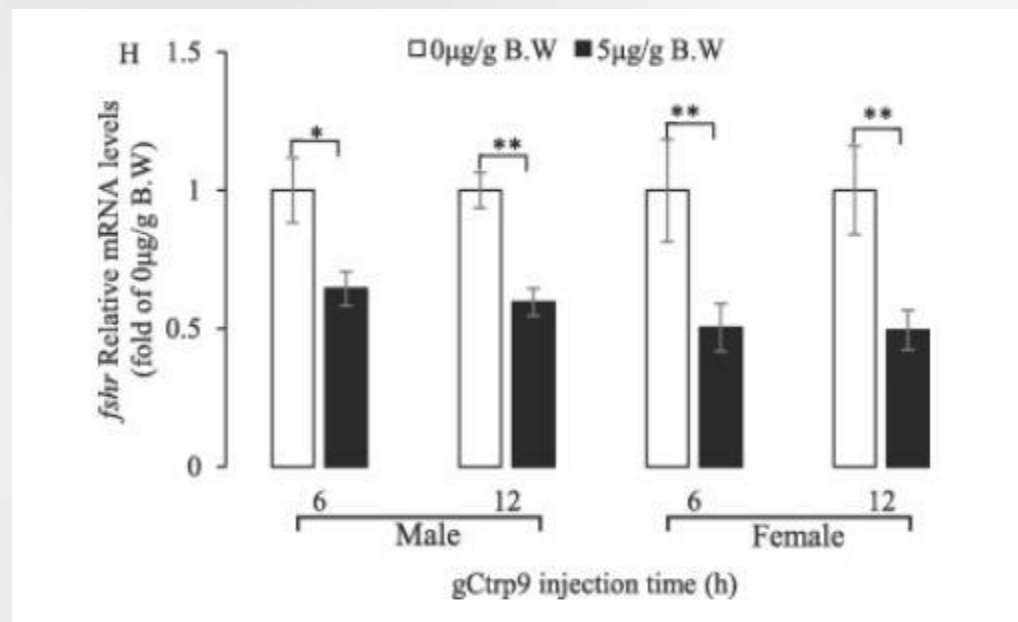
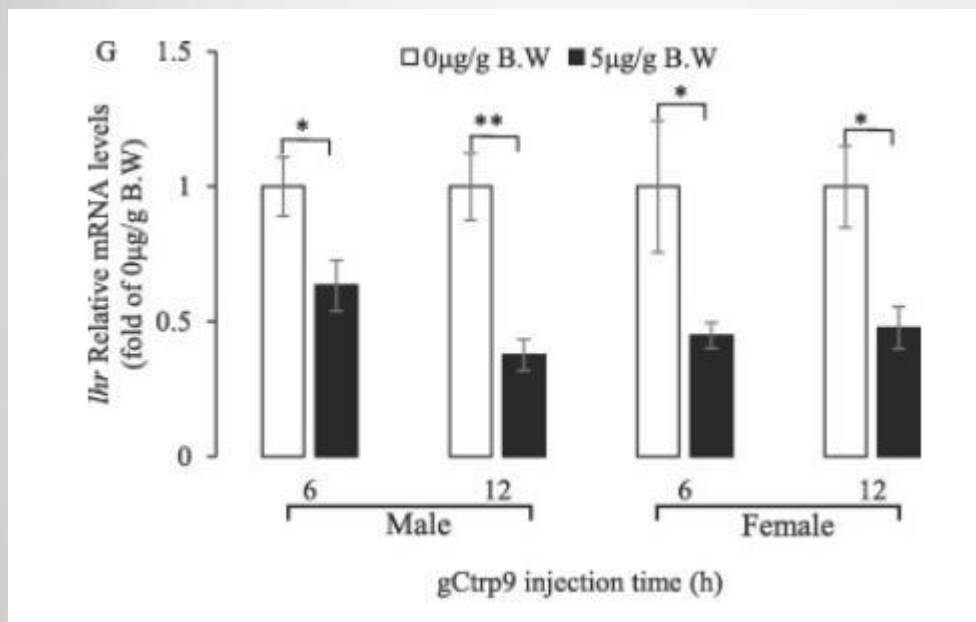
gCtrp9注射后在雄性中12小时存在显著抑制，在雌性中6、12小时均有抑制。



gCtrp9注射6和12小时后，雄性的fsh β 表达受到抑制，雌性在6小时后表达水平显著降低。



### 03 gCtrp9对罗非鱼繁殖的功能分析



在性腺中，gCtrp9注射后6和12小时显著降低了Ihr和fshr两种性别的mRNA水平

### 03 gCtrp9对罗非鱼血清T和E2水平的影响

Table 3. Concentrations of serum E2 in female tilapia and serum T in male tilapia after injection of gCtrp9. All data are shown as mean  $\pm$  S.E.M.

	Injection time (h)	0 $\mu$ g/g B.W	5 $\mu$ g/g B.W	P Value
E2 (pg/ml)	6	784.24 $\pm$ 137.69	382.17 $\pm$ 104.36	$P < 0.05$
	12	683.54 $\pm$ 101.58	336.50 $\pm$ 91.49	$P < 0.05$
T (ng/ml)	6	5.18 $\pm$ 1.65	1.47 $\pm$ 0.43	NS
	12	5.87 $\pm$ 2.58	1.15 $\pm$ 0.47	NS

在注射后6和12小时，雌性中的血清雌二醇浓度显著降低。在男性中，在gCtrp9注射组中6小时和12小时后睾酮的浓度具有显著下降趋势。

**目录**  
CONTENTS



## 04 结论

解决： 01

02

03

确定罗非鱼中Ctrp9, Adipor1和Adipor2的序列并分析

04

检测了两种性别罗非鱼中Ctrp9, Adipor1和Adipor2的组织分布

05

重组gCtrp9显著降低与HPG轴生殖相关的基因表达

未解决： 01

降低腹腔注射后罗非鱼血清中的性激素水平

02

首次为Ctrp9对硬骨鱼生殖的调节作用提供了证据

Ctrp9对罗非鱼生殖调节影响的潜在机制尚不明确

## 读书收获

通过SignalP 4.1服务器 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 预测Ctrp9的信号肽

通过NetPhos 2.0服务器 ( <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 预测磷酸化

NetNGlyc 1.0服务器 (<http://www.cbs.dtu.dk/services>) 分析Ctrp9前激素原位点和糖基化位点

TMHMM服务器2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 预测AdipoR1 / R2的跨膜螺旋区域

Adfor1 / 2的HlyIII区域由Pfam数据库预测 (<http://pfam.xfam.org/search#tabview=tab0>)

蛋白质序列比对通过ClustalW2软件 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>)

系统发育树使用MEGA6.0软件和Neighbor-Joining方法构建Ctrp9和AdipoR1 / 2



**汇报完毕**  
**请老师同学批评指正**

职韶阳

2019年1月13日