

蓝塘仔猪 IGF-1 水平与组织 IGF-1、GHR 基因的表达

高萍, 傅伟龙*, 朱晓彤, 刘丽, 江青艳

(华南农业大学动物科学学院, 广州 510642)

摘要: 32 头不同日龄(出生 3、21、35 d)蓝塘仔猪, 由前腔静脉采血后剖杀, 取肝脏、背最长肌样品。用 RIA 法测血液、组织中 IGF-1 浓度, 用放射受体法(RBA)检测肝脏、肌肉组织中 GHR 结合活性, 用实时荧光定量 PCR 法检测 IGF-1、GHR mRNA 的表达水平。结果表明: (1) 血液中 IGF-1 在出生日显著高于其它时期($P < 0.05$)。肌肉组织中 IGF-1 含量高于肝脏组织, 肌肉组织 IGF-1 含量在 3、21、35 日龄时都显著高于出生日($P < 0.05$)。 (2) 肝脏细胞膜 GHR 结合活性在出生日显著高于 3、21 日龄($P < 0.05$), 肝脏细胞膜 GHR 结合活性高于肌肉组织。 (3) 肝脏组织 IGF-1、GHR mRNA 的表达量均显著高于肌肉组织($P < 0.05$)。肝脏 IGF-1 mRNA 的表达在出生日、21 日龄时显著高于 3、35 日龄($P < 0.05$), GHR mRNA 的表达在出生日显著高于其它日龄($P < 0.05$)。肌肉 IGF-1、GHR mRNA 的表达在出生日均显著高于其它日龄($P < 0.05$)。

关键词: 仔猪; 类胰岛素生长因子 1; 生长激素受体

中图分类号: S828.1

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2005)01-0038-05

在哺乳动物的生长轴中, 由垂体分泌的生长激素(GH), 具有促进物质代谢与生长发育的作用, 但 GH 的促生长作用除直接作用于靶细胞外, 主要是通过类胰岛素生长因子(IGFs)介导而实现。GH 与 IGFs 可通过其靶细胞膜上各自的特异性受体而发挥其作用。因此研究生长轴中主要激素、受体结合活性及其基因表达, 对阐明生长轴在动物生长发育的调控作用有重要意义。在猪的研究方面, 已有不少报道^[1-3], 但对我国优良地方猪种的研究甚少^[4,5]。蓝塘猪是我国优良地方品种, 具有肉质鲜美、遗传性能稳定、与一些外来猪种杂交有显著的杂交优势^[6]。本文以蓝塘仔猪为研究对象, 研究仔猪在不同生长阶段血液及组织中 IGF-1 水平, 组织中生长激素受体(GHR)结合活性以及 IGF-1、GHR 基因表达的差异, 旨在揭示蓝塘仔猪生长轴的发育规律, 为进一步调节猪生长轴功能, 促进仔猪生长提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用广东省东莞市板岭原种猪场饲养的 8 头经

产纯种蓝塘母猪所产的第 2、3 胎仔猪共 32 头。饲养试验期从出生至 35 日龄。试验猪饲养于半封闭猪舍, 水泥地面, 按猪场常规饲养方法饲养, 母猪的饲料组成为: 玉米 72%、豆粕 11%、麸皮 13%、预混料 4%。仔猪于 28 日龄断奶, 仔猪日粮为该场生产的 13311 乳猪料(消化能为 13.17 kJ/kg, 粗蛋白为 19%, 赖氨酸 0.998%)。分别在出生日(0)、3、21、35 日龄 4 个阶段称重, 前腔静脉采血, 制血清, -20℃保存待测。然后各剖杀 8 头, 取肝脏、背最长肌样本, 置液氮速冻, -70℃保存待测。

1.2 血液及组织中 IGF-1 测定

血清或组织液预处理按酸醇抽提法, 取 40 μL 血清或组织液至 1.5 mL Eppendorff 管, 加 360 μL 酸醇(2 mol/L 盐酸: 无水乙醇=1:7)混合液, 混匀, 盖上盖, 25℃放置 30 min, 10 000 g 4℃离心 2 min, 取上清 0.2 mL 加 0.1 mL Tris-Base(pH 11)混匀, 直接取 50 μL 采用放射免疫双抗法测定血清和组织中的总 IGF-1 含量。试剂盒购自天津九鼎医学生物工程公司, 操作按说明书进行。组织中激素含量测定时先制备组织匀浆液。测其总蛋白的含量, 以匀浆液中每 mg 总蛋白含 IGF-1 的量计算肝脏、背最长肌组织的 IGF-1 含量。

1.3 组织中 GHR 结合活性测定

参照 Tsushima 及 Breier 等方法^[7,8]先分别制备肝脏、肌肉膜蛋白, 用放射受体分析法(RBA)测定肝脏、背最长肌膜蛋白中的 GHR 受体结合活性。

收稿日期: 2003-07-14

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(39830290)

作者简介: 高萍(1969), 女, 云南陆良人, 硕士, 高级实验师, 从事动物营养生理的研究。

* 通讯作者: 傅伟龙

1.4 组织中 IGF-1 和 GHR 基因表达的定量检测

1.4.1 引物合成 根据方美英等^[9]报道, 合成 IGF-1 引物, IP1: 5'-AGCCACAGGGTACGGCTC-3', IP2: 5'-CTTCTGAGCCTTGGGCATGTC-3'。扩增的基因片段长度为 179bp。根据 GenBank 发表的猪 GHR cDNA 序列, 自行设计 GHR 引物, GP1: 5'-GAG ATG CCT GTC CCA GAC TAT AC-3', GP2: 5'-TAC CAA AGA AAG GCT AAG GCA T-3'。扩增的基因片段长度为 166bp。引物均由上海生物工程有限公司合成。

1.4.2 组织总 RNA 的抽提、反转录、PCR 扩增、产物的分离纯化 总 RNA 提取试剂盒购自 Promega 公司。参照试剂盒说明提取肝脏、背最长肌中总 RNA, 用核酸蛋白检测仪检测 RNA 样品的浓度及纯度。反转录 (RT) AMV 逆转录酶、RNAsin 与常规 PCR 所用试剂为 Takara 公司产品。用 Oligo dT (18) 对样品总 RNA 进行反转录, 建立各样品 RNA 的 cDNA (RT product)。反转录体系为: 5 μ g 总 RNA, 4 μ L 5 \times Buffer (含 Mg^{2+}), 2 μ L 10 mmol/L 4dNTPs 混合液, 0.5 μ L Oligo dT (18), 0.5 μ L RNasin (40 U/ μ L), 1 μ L AMV RTase (5 U/ μ L) 加 DEPC 水至 20 μ L。反转录反应在 42 $^{\circ}$ C, 1 h; 95 $^{\circ}$ C, 5 min; 冰浴 2 min 进行。产物于 -20 $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增: 在 25 μ L 的反应体系中含 10 \times PCR Buffer (含 Mg^{2+}) 2.5 μ L, 2.5 mmol/L 4dNTPs 混合液 1.5 μ L, P1 (5 μ mol/L), P2 (5 μ mol/L), cDNA 模板 (RT 产物) 2 μ L, rTaq DNA 聚合酶 (5 U/ μ L) 0.2 μ L, 加灭菌双蒸水至 25 μ L。IGF-1 cDNA 反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 4 min; 95 $^{\circ}$ C 45 s, 58 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s 共进行 32 个循环; 72 $^{\circ}$ C, 10 min。GHR cDNA 反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 4 min; 95 $^{\circ}$ C 45 s, 61.5 $^{\circ}$ C 59 s, 72 $^{\circ}$ C 59 s 共进行 32 个循环; 72 $^{\circ}$ C, 10 min。PCR 反应在梯度基因扩增仪上进行。PCR 产物回收: 取干净的 0.5 mL Eppendorff 管, 用 1.5 mL 一次性注射器针头在管底扎一小孔。放入玻璃棉, 压紧, 使充满离心管体积的一半。放入含目的条带的凝胶。将一 1.5 mL 的 Eppendorff 管套住 0.5 mL Eppendorff 管, 12 000 r/min, 4 $^{\circ}$ C 离心 2 min, 收集凝胶中的缓冲液 (含目的 DNA), 再按常规方法进行抽提。纯化的 PCR 产物在分光光度计上测回收产物的 OD₂₆₀ 与 OD₂₈₀, 检测其浓度与纯度。

1.4.3 实时荧光定量 PCR 在 25 μ L 的反应体系中含 10 \times SYBR Green PCR Buffer 2.5 μ L, dNTP

Blend: (dATP, dCTP, dGTP, each 2.5 mmol/L; dUTP 5.0 mmol/L) 2 μ L, 25 mmol/L $MgCl_2$ 2 μ L, P1 (5/8 μ mol/L) 2 μ L, P2 (5/8 μ mol/L) 2 μ L, cDNA 模板 (RT 产物) 1 μ L, Ampli Taq Gold DNA Polymerase (5 U/ μ L) 0.125 μ L, AmpErase UNG (1 U/ μ L) 0.25 μ L, 加灭菌双蒸水至 25 μ L。IGF-1 cDNA 反应条件为: 50 $^{\circ}$ C 2 min; 94 $^{\circ}$ C 10 min, 95 $^{\circ}$ C 30 s, 59 $^{\circ}$ C 1 min 共进行 36 个循环。GHR cDNA 反应条件为: 50 $^{\circ}$ C 2 min, 94 $^{\circ}$ C 10 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 61.5 $^{\circ}$ C 59 s, 72 $^{\circ}$ C 30s 共进行 38 个循环。PCR 反应在 Rotor-gene 2000 Real-time Cycler 仪上进行。反应结束后, 对获得的信号、数据进行处理。以获得各样品、标准管的实时监测曲线和标准曲线 (将纯化的 PCR 产物稀释成不同的浓度梯度与待测样品一同扩增, 以绘制标准曲线)。单链的 cDNA 拷贝数计算时应为标准 DNA 拷贝数的 2 倍。

1.5 数据统计与处理方法

全部数据均采用 SPSS (10.0) 统计处理软件进行方差分析, 用邓肯氏新复极差法进行多重比较。试验数据采用平均数 \pm 标准误表示。

2 结果

2.1 不同日龄蓝塘仔猪体重的变化

由表 1 可知, 蓝塘仔猪初生重较小, 随着日龄的增长, 仔猪体重不断增大。

表 1 不同日龄蓝塘仔猪体重的变化

Table 1 Body weight variations of Lantang piglets at different days of age

日龄 Days/d	动物数 Number	体重 Body weight/kg
0	8	0.57 \pm 0.12 ^a
3	8	0.92 \pm 0.14 ^b
21	8	3.51 \pm 0.81 ^c
35	8	6.03 \pm 0.79 ^d

同列不同小写字母表示不同日龄间差异显著 ($P < 0.05$), 字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$), 下表同

Different letter within a column are significantly different from each other ($P < 0.05$), same letter within a column are not significantly different from each other ($P > 0.05$). The same below

2.2 不同日龄蓝塘仔猪血清及肝脏、背最长肌组织中 IGF-1 浓度

由表 2 可知: 蓝塘仔猪出生日血液中 IGF-1 含量显著高于其它时期 ($P < 0.05$)。背最长肌组织中 IGF-1 含量高于肝脏组织。肝脏组织中 IGF-1 含量

各日龄之间差异不显著 ($P > 0.05$)。背最长肌组织中 IGF-1 含量在出生日显著低于其它日龄 ($P < 0.05$)，3 日龄时显著高于其它日龄 ($P < 0.05$)。

表 2 不同日龄蓝塘仔猪血清及肝脏、背最长肌组织中 IGF-1 浓度

Table 2 IGF1 concentrations in serum, liver and longissimus muscle of Lantang piglets at different days of age

日龄 Days /d	血清 Serum IGF-1 /(ng/mL)	肝脏 Liver IGF-1/(ng/mg)	背最长肌 Longissimus dorsi IGF-1/(ng/mg)
0	356.5 ± 13.3 ^a (8)	1.72 ± 0.11 ^a (8)	3.37 ± 0.25 ^a (8)
3	143.5 ± 26.7 ^b (8)	1.82 ± 0.26 ^a (8)	7.84 ± 0.29 ^b (6)
21	156.6 ± 17.6 ^b (7)	1.73 ± 0.10 ^a (8)	5.59 ± 0.35 ^c (7)
35	151.6 ± 10.3 ^b (8)	2.08 ± 0.08 ^a (8)	5.78 ± 0.26 ^c (7)

2.3 不同日龄蓝塘仔猪肝脏、背最长肌细胞膜 GHR 结合活性

由表 3、4 可知：蓝塘仔猪出生日肝脏细胞膜 GHR 结合活性显著高于 3、21 日龄 ($P < 0.05$)。但背最长肌细胞膜 GHR 结合活性各日龄间差异不显著 ($P > 0.05$)。肝脏细胞膜 GHR 结合活性高于肌肉组织。

表 3 不同日龄蓝塘仔猪肝脏细胞膜 GHR 结合活性

Table 3 GHR specific binding activity in the membrane of liver cell of Lantang piglets at different days of age

日龄 Days /d	特异结合率 Rate of specific binding /%	受体结合容量 Volume of receptbinding /(10 ⁻⁹ nmol/μg 膜蛋白)	受体结合位点数 Site of receptbinding /(10 ⁶ 个/μg 膜蛋白)
0	28.97 ± 1.21 ^a (8)	11.02 ± 0.64 ^a (8)	6.85 ± 0.39 ^a (8)
3	24.74 ± 1.19 ^b (8)	8.88 ± 0.59 ^b (8)	5.52 ± 0.36 ^b (8)
21	23.57 ± 1.14 ^b (6)	8.31 ± 0.55 ^b (6)	5.17 ± 0.34 ^b (6)
35	25.97 ± 1.51 ^{ab} (8)	9.51 ± 0.74 ^{ab} (8)	5.92 ± 0.46 ^{ab} (8)

表 5 不同日龄蓝塘仔猪肝脏、背最长肌中 GHR IGF-1 mRNA 的表达量

Table 5 GHR and IGF1 mRNA levels in liver and longissimus muscle of Lantang piglets at different days of age

日龄 Days/d	IGF-1 mRNA/(10 ⁷ copy/μg RNA)		GHR mRNA/(10 ⁵ copy/μg RNA)	
	肝脏 Liver	背最长肌 Longissimus muscle	肝脏 Liver	背最长肌 Longissimus muscle
0	14.9 ± 2.1 ^a (8)	9.79 ± 1.33 ^a (8)	38.9 ± 5.4 ^a (8)	9.62 ± 1.61 ^a (8)
3	11.3 ± 2.1 ^b (8)	4.31 ± 0.23 ^b (8)	22.3 ± 2.3 ^b (8)	4.84 ± 0.46 ^b (8)
21	13.8 ± 2.0 ^a (8)	3.04 ± 0.54 ^b (8)	22.1 ± 2.9 ^b (8)	3.37 ± 0.68 ^b (8)
35	9.60 ± 1.1 ^b (8)	3.53 ± 0.69 ^b (8)	20.2 ± 3.3 ^b (8)	4.98 ± 1.01 ^b (8)

表 4 不同日龄蓝塘仔猪背最长肌细胞膜 GHR 结合活性
Table 4 GHR specific binding activity in the membrane of longissimus muscle cell of Lantang piglets at different days of age

日龄 Days /d	特异结合率 Rate of specific binding /%	受体结合容量 Volume of receptbinding /(10 ⁻⁹ nmol/μg 膜蛋白)	受体结合位点数 Site of receptbinding /(10 ⁶ 个/μg 膜蛋白)
0	21.18 ± 1.88 ^a (6)	7.30 ± 0.79 ^a (6)	4.54 ± 0.49 ^a (6)
3	22.73 ± 1.29 ^a (6)	7.94 ± 0.59 ^a (6)	4.94 ± 0.37 ^a (6)
21	22.15 ± 1.59 ^a (6)	7.71 ± 0.74 ^a (6)	4.79 ± 0.46 ^a (6)
35	21.54 ± 4.38 ^a (6)	7.37 ± 0.19 ^a (6)	4.58 ± 0.12 ^a (6)

2.4 不同日龄蓝塘仔猪肝脏、背最长肌中 IGF-1、GHR mRNA 的表达

从表 5 可知：在整个试验期，肝脏组织 GHR、IGF-1 mRNA 的表达量均高于背最长肌组织。肝脏 IGF-1 mRNA 的表达在出生日和 21 日龄时显著高于 3、35 日龄。背最长肌 IGF-1 mRNA 的表达则在出生日显著高于其它日龄。肝脏和肌肉 2 种组织中 GHR mRNA 的表达在不同日龄的变化趋势一致，均为出生日显著高于其它日龄。

3 讨论

IGF 对肌肉有很强的合成代谢效应，能抑制蛋白质分解，增加氨基酸的摄取和细胞增生，是合成代谢的直接效应物质，已发现的 IGFs 有 2 种，即 IGF-1 和 IGF-2。IGF-1 对动物胚胎以及出生后的生长发育有重要作用，肝脏是产生 IGF-1 的主要场所，但许多组织细胞均可产生 IGF-1 与 IGF-2，从而发挥自分泌、旁分泌作用^[10]。有关血液及组织中 IGF-1 的含量，以往的研究报道不太一致，Louveau 等发现长白猪和梅山猪在 10~45 日龄时血液 IGF-1 含量低，45 日龄后升高^[11]。Buonomo 等发现仔猪初生时血中 IGF-1 含量最高，生后第 1 周开始下降^[1]。

Peng 等发现血清 IGF-1 水平在胎儿期较低, 出生后开始升高, 肾脏 IGFs 新生时最高, 而肝脏中 IGF-1 水平在 3 周龄时达峰值^[12]。而本研究发现蓝塘仔猪血液中 IGF-1 在出生日最高, 3 日龄后下降至较低水平并持续波动至 35 日龄, 以上提示不同品种猪血中 IGF-1 的分泌模式可能有差异。本研究还发现蓝塘仔猪肝脏组织 IGF-1 水平显著低于背最长肌; 肝脏组织中 IGF-1 含量在不同日龄之间虽有一定的差异, 但不显著; 而背最长肌组织中 IGF-1 水平在出生的当天均显著低于其它日龄, 说明仔猪不同组织中 IGF-1 的含量存在着组织差异性, 同一组织在不同日龄 IGF-1 水平也有差异。IGF 不仅作为 GH 发挥作用的介导者, 而且具有独立于循环水平的局部效应。转基因鼠的试验发现, 使用促进剂使 IGF-I 基因表达限制在骨骼肌时, 出现显著的肌肉营养过多现象, 但体重与血清 IGF-I 浓度没有增加, 表明局部产生的 IGF-I 在调节动物生长过程中也发挥了重要作用。本试验发现蓝塘仔猪肌肉中 IGF-1 含量在 3~21、35 日龄时都显著高于出生日, 且与 3 日龄后仔猪机体表现出快速生长相一致, 提示 IGF 对蓝塘仔猪肌肉生长的调节可能通过 IGF 的旁分泌或自分泌而实现。

GHR 分布于肝脏、骨骼肌、脂肪、胃肠道、心脏等各种组织之中, 其中以肝脏含量最高^[13]。本研究发现, 蓝塘仔猪肝脏、肌肉细胞膜 GHR 结合活性在仔猪不同日龄都较高, 但各日龄肌肉中总体水平均低于肝脏, 提示 GHR 在肝脏组织与在肌肉组织表达的差异性。有报道, 猪血清 IGF-1 浓度与肝脏 GHR 结合活性高度相关^[7]。本研究也有类似的结果, 肝脏 GHR 结合位点数与血清 IGF-1 水平呈正相关($r=0.8973$)。Majlis 等报道肝脏 GHR 基因表达是骨骼肌的 10 倍^[13]。蓝塘仔猪在不同日龄肝脏组织 IGF-1、GHR mRNA 表达均显著高于背最长肌组织。Dauncey 等认为肝脏 GHR 的主要作用可能是产生 IGF-1, 肝脏 GHR mRNA 水平可能直接影响动物的生长, 因为肝脏 GHR mRNA 水平和血浆 IGF-1 水平及生长率呈显著的正相关($P<0.001$), 肝脏是循环中 IGF 的主要来源^[14]。但也有报道, 猪循环 IGF 的主要来源可能是骨骼肌^[12, 15]。本研究结果发现, 肝脏组织 GHR mRNA 表达水平与肝脏 IGF-1 mRNA 表达水平呈正相关($r=0.7525$); 与 GHR 结合活性正相关($r=0.8598$); 与血清 IGF-1 水平($r=0.9909$) 高度相关, 提示, 肝脏是循环中

IGF-1 的主要来源。但本研究也发现肌肉 GHR mRNA 水平与肌肉中 IGF-1 mRNA 水平呈强正相关($r=0.9832$, $P<0.05$), 与血液 IGF-1 呈强正相关($r=0.9513$, $P<0.05$)。提示, 肌肉可能也是血液 IGF-1 的来源之一。

参考文献:

- [1] Buonomo F C, Klindt J. Ontogeny of growth hormone, insulin like growth factors (IGF-1 and IGF-2), and IGF-binding protein 2 in genetically lean and obese swine [J]. *Domest Anim Endocrinol*, 1993, 10(3): 257~ 265.
- [2] Brameld J M, Atkinson T J, Budd J C, et al. Expression of IGF-I and GHR mRNA in liver skeletal muscle and adipose tissue of different breeds of pig [J]. *Animal Science*, 1996a, 62: 555~ 559.
- [3] Peng M, Abribat T, Calvo E, et al. Ontogeny of insulin like growth factors (IGF), IGF-binding proteins, IGF receptors and growth hormone receptor mRNA levels in porcine pancreas [J]. *J Anim Sci*, 1998, 76: 1178~ 1188.
- [4] 夏 东, 赵茹茜, 胥清富, 等. 猪胃组织中生长激素受体基因表达的发育性变化及品种特点 [J]. *遗传学报*, 2002, 29(6): 492~ 496.
- [5] 周 杰, 赵茹茜, 韦习会, 等. 二花脸和大白猪的脂肪组织中 GH-R、IGF-1 和 IGF-1R 基因表达的发育性变化 [J]. *遗传学报*, 2003, 30(7): 657~ 662.
- [6] 《中国家畜家禽品种志》编委会, 《中国猪品种志》编写组. *中国猪品种志* [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 59~ 62.
- [7] Tsushima T, Murakami H, Wakai K, et al. Analysis of hepatic growth hormone binding sites of pregnant rabbit crosslinked to ¹²⁵I-labelled human growth hormone [J]. *FEBS L*, 1982, 147(1): 49~ 53.
- [8] Breier B H, Gluckman P D, Blair H T, et al. Somatotrophic receptors in hepatic tissue of the developing male pig [J]. *Endocrinol*, 1989, 123: 25~ 31.
- [9] 方美英, 刘红林, 姜志华, 等. 6 个猪种胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 基因座位遗传多态性检测 [J]. *畜牧兽医杂志*, 1999, 31(1): 12~ 15.
- [10] Menuelle P, Babajko S, Plas C. Insulin-like growth factor (IGF) binding proteins modulate the glucocorticoid-dependent biological effects of IGF- II in cultured fetal rat hepatocytes [J]. *Endocrinology*, 1999, 140(5): 2232~ 2240.
- [11] Louveau I, Bonneau M, Salter D N. Age-related changes in plasma porcine growth hormone (GH) profiles and insulin-like growth factor I (IGF-1) concentrations in Large White and Meishan pigs [J]. *Reprod Nutr Dev*, 1991, 31

- (3): 205~ 16.
- [12] Peng M, Pelletier G, Palin M F, et al. Ontogeny of IGFs and IGFs mRNA levels and tissue concentrations in liver, kidney and skeletal muscle of pig [J]. *Growth Dev Aging*, 1996, 60(3~ 4): 171~ 187.
- [13] Majlis H, Ruth B W, Folke H, et al. Measurement of human growth hormone receptor messenger ribonucleic acid by a quantitative polymerase chain reaction-based assay: Demonstration of reduced expression after elective surgery [J]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1997, 82(2): 421~ 428.
- [14] Dauncey M J, Burton K A, White P. Nutritional regulation of growth hormone receptor gene expression [J]. *Faseb J*, 1994, 8: 81~ 88.
- [15] Lee P D, Conover C A, Powell D R. Regulation and function of insulin-like factor-binding protein 1 [J]. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1993, 204(1): 4~ 29.

Expression of IGF-1 and GHR in Tissue and IGF-1 Concentrations of Lantang Piglets

GAO Ping, FU Weirong*, ZHU Xiaotong, LIU Li, JIANG Qingyan

(College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Thirty-two purebred Lantang piglets of the same age derived from multiparous sow were slaughtered at the newborn, 3, 21 and 35 d of age respectively. Blood sample and tissues samples including liver and longissimus muscle were collected each time. Concentrations of IGF-1 in serum and in liver and muscle were determined by radio-immunoassay (RIA). Growth hormone receptor (GHR) specific binding activity in the membrane of liver cell and in muscle cell was determined by the method of radioligand binding assay (RBA). Real-time polymerase chain reaction (PCR) quantifications of IGF-1 mRNA and GHR mRNA from liver, muscle were carried out by DNA binding dye method using SYBR Green PCR Core Reagents Kit in Rotor-gene 2 000 Real-time Cycler. The results showed that: 1. Serum IGF-1 levels of newborn piglets were significantly higher than any other days observed ($P < 0.05$). Concentrations of IGF-1 in longissimus muscle were higher than in liver per micrograms protein, longissimus muscle IGF-1 levels were higher at 3, 21 and 35 d than that of newborn ($P < 0.05$). 2. Growth hormone receptor (GHR) specific binding activity in the membrane of liver cell was highest at newborn ($P < 0.05$). Growth hormone receptor (GHR) specific binding activity in the membrane of liver cell was higher than in the membrane of longissimus muscle cell. 3. IGF-1 and GHR mRNA levels in liver were significantly higher than longissimus muscle ($P < 0.05$). Liver IGF-1 mRNA levels in newborn and 21 d were significantly higher than 3 d and 35 d ($P < 0.05$). Liver GHR mRNA levels of newborn were significantly higher than any other days observed ($P < 0.05$). Longissimus muscle IGF-1 and GHR mRNA levels of newborn were significantly higher than any other days observed ($P < 0.05$).

Key words: piglet; insulin like growth hormone 1 (IGF-1); growth hormone receptor (GHR)

* Corresponding author