

РАЗВЕДЕНИЕ, СЕЛЕКЦИЯ, ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ/BREEDING, SELECTION, GENETICS AND BIOTECHNOLOGY OF ANIMALS

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.58>АНАЛИЗ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *IGF1* У ГОДОВИКОВ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

Научная статья

Николаева О.А.^{1,*}, Щербаков Ю.С.²¹ORCID : 0000-0003-3828-1111;²ORCID : 0000-0001-6434-6287;^{1,2}Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных, Санкт-Петербург, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (helgaa.nikolaeva[at]gmail.com)

Аннотация

В исследовании проанализирована тканеспецифичность экспрессии гена *igf1* у годовиков радужной форели, выращиваемых в установке замкнутого водоснабжения. Исследование учитывает сезон выращивания рыб, а также температурный режим и условия комбинированного освещения. Экспрессия оценена в печени, мышцах, сердце и мозге методом от-ПЦР-РВ. Установлено, что уровень мРНК *igf1* существенно варьирует между тканями: максимальные значения отмечены в печени, тогда как в остальных тканях уровень экспрессии намного ниже. Корреляционный анализ показал тесную взаимосвязь морфометрических показателей, однако их связь с уровнем экспрессии *igf1* была слабой или недостоверной. Полученные данные подтверждают тканевую специфичность экспрессии гена *igf1* у годовиков радужной форели и отображают уровни экспрессии *igf1* в соответствии с организованными условиями выращивания.

Ключевые слова: радужная форель, *Oncorhynchus mykiss*, РНК, экспрессия IGF1, от-ПЦР-рв.

ANALYSIS OF TISSUE SPECIFICITY OF *IGF1* GENE EXPRESSION IN RAINBOW TROUT YEARLINGS

Research article

Nikolaeva O.A.^{1,*}, Shcherbakov Y.S.²¹ORCID : 0000-0003-3828-1111;²ORCID : 0000-0001-6434-6287;^{1,2}All-Russian Scientific Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals, Saint-Petersburg, Russian Federation

* Corresponding author (helgaa.nikolaeva[at]gmail.com)

Abstract

The study analysed the tissue specificity of *igf1* gene expression in rainbow trout yearlings raised in a closed water supply system. The research took into account the fish breeding season, as well as temperature conditions and combined lighting conditions. Expression was evaluated in the liver, muscles, heart, and brain using qPCR. It was found that the level of *igf1* mRNA varies significantly between tissues: maximum values were observed in the liver, while in other tissues the level of expression was much lower. Correlation analysis showed a close relationship between morphometric parameters, but their relationship with *igf1* expression levels was weak or unreliable. The obtained data confirm the tissue specificity of *igf1* gene expression in rainbow trout yearlings and reflect *igf1* expression levels in accordance with organised breeding conditions.

Keywords: rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, RNA, IGF1 expression, qPCR.

Введение

Исследование экспрессионного профиля гена *igf1* представляет собой актуальную задачу ввиду его прямого участия в росте и развитии рыб в эмбрио- и онтогенезе [1], [4], [8]. Уровень циркулирующего инсулиноподобного фактора роста и гормона роста в крови выступает маркером и медиатором роста, интегрируя сигналы от лиганда соматотропина и метаболического статуса. Экспрессия и действие *igf1* у радужной форели зависят от сочетания гормональных (GH) и питательных сигналов, а роль *igf1* в качестве ключевого медиатора роста подтверждается как на уровне клетки, так и в организме в целом [4], [10].

Ген *igf1* и его паралог *igf2* опосредуют анаболические эффекты соматотропина на рост рыб, при этом перераспределяют между собой нагрузку в зависимости от периода жизни радужной форели и условий ее выращивания. Так, в эмбриогенезе отмечаются высокие уровни мРНК гена *igf2*, однако более высокая температура инкубации приводит к увеличению экспрессии *igf1*, а также других генов роста (*gh1*, *igfr1a/b*), особенно на стадии выклева [6]. На уровне мРНК гена *igf1* в тканях, где возможна его экспрессия, могут влиять различные факторы. При повышении температуры происходит активация транскрипции *igf1*, что определяет адаптивные возможности эмбриона к изменяющимся условиям окружающей среды уже на ранних стадиях развития. [6]. Так, при осморегуляции, повышается экспрессия *igf1* в жабрах, а естественное и искусственное изменение фотопериода не влияет существенно на средние уровни плазменного IGF-1 [2]. При негативных катаболических условиях, таких как голодание, хронический стресс на фоне плотных посадок при выращивании, у радужной форели наблюдаются физиологические и молекулярные изменения, которые ведут к снижению печеночной продукции инсулиноподобного фактора роста или снижению его действия через приобретённую резистентность к соматотропину и/или смену метаболического приоритета от роста к выживанию [3], [8]. При содержании рыб преднерестового возраста при

круглосуточном освещении и ночном кормлении уровень транскрипции *igf1* повышается в печени и мышцах [5], а у молоди радужной форели таких изменений не происходит, более того увеличенный фотопериод вызывает стресс и иммуносупрессию [11].

Большинство исследований экспрессии инсулиноподобного фактора роста у радужной форели проведено либо в раннем возрасте, либо у зрелых особей. Поэтому в этом исследовании мы сфокусировали внимание на группе рыб годовалого возраста, определили уровни экспрессии гена *igf1* и проанализировали возможное влияние внешних факторов на уровни его мРНК.

Методы и принципы исследования

Годовики радужной форели породы рофор содержались в Федеральном селекционно-генетическом центре рыбоводства при температуре выращивания 13°C и комбинированном освещении — естественное освещение с 9:00-16:00, искусственный приглушенный свет с 16:00-9:00. Суточная норма кормления на особь составляла 3.5 г. Для исследования были отобраны здоровые рыбы (n=50) в конце февраля. Анальгезия и седация рыб была произведена в отдельном резервуаре с применением трикаина метансульфоната. Были сняты размерно-весовые показатели: масса тела, длина тела до конца хвостового плавника, длина тела до конца чешуйчатого покрова, длина головы, наибольшая высота тела и толщина тела. От каждой особи были взяты образцы ткани сердца, печени, мышечной ткани и мозг целиком. Полученный биоматериал был зафиксирован РНК-стабилизатором IntactRNA («Евроген», Россия). Экстракция тотальной РНК проводилась коммерческим набором «ЛИРА+» («Биолабмикс», Россия). Концентрация и чистота растворенной РНК измерялась спектрофотометром NanoDrop2000c (Thermo Fisher Scientific, США). Синтез кДНК выполнялся с использованием коммерческого набора «M-MuLV-RN» («Биолабмикс», Россия), согласно протоколу производителя. Подбор праймеров выполнялся через онлайн-сервис PrimerBLAST базы данных NCBI (таблица 1).

Таблица 1 - Последовательности праймеров, для секвенирования и оценки относительного уровня экспрессии

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.58.1>

Название гена	Последовательность	Длина фрагмента п.н.
<i>IGF1</i>	F – GCTTCCAGAGTTGCGAGCTA R – CATGTCTGTGTGGCGTTGTG	100
<i>G6PD</i>	F – TCAAAGAGGGTCGGTTTCCG R – ACCCATCCCTCTTCCTCTCC	87

Для постановки ПЦР в реальном времени использовали готовый микс от компании Биолабмикс «БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue(2x)» («БИОЛАБМИКС», Россия) согласно инструкции производителя. Каждый образец ставился в трех повторностях. ПЦР в режиме реального времени проводили на приборе Bio-Rad CFX Opus 96 («Bio-Rad», США, программное обеспечение CFX Maestro Software) по протоколу амплификации: предварительная денатурация при 95,0 °C — 5 минут, далее следовали 40 циклов: 95°C 15 секунд, 60,0 °C 15 секунд, 72,0 °C 30 секунд. Расчет ΔC_t , $\Delta\Delta C_t$ проводились по методике Livak [7]. Для оценки достоверности использовался критерий Краскела-Уоллиса.

Основные результаты

Для сопоставления данных об уровнях мРНК гена *igf1* с метрическими показателями рыб был выполнен анализ корреляционных связей между размерно-весовыми показателями (Рисунок 1).

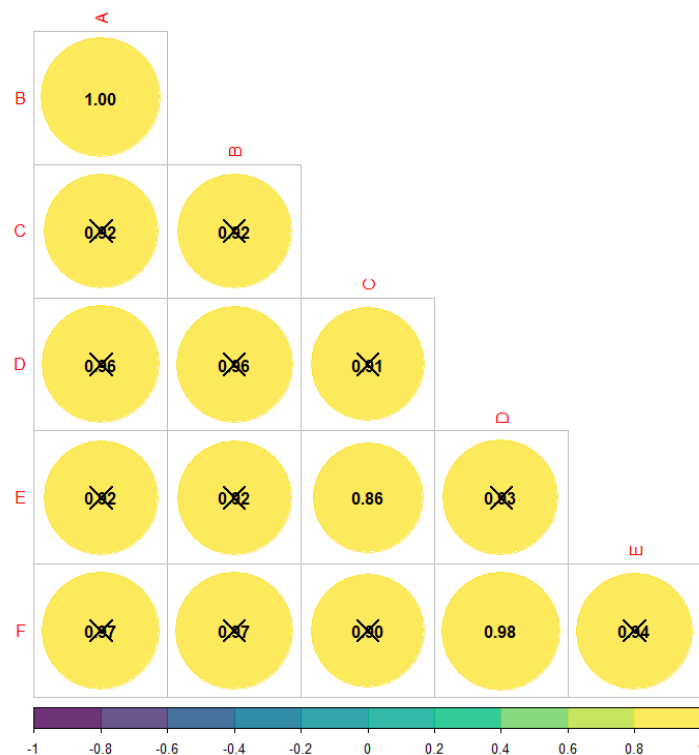


Рисунок 1 - Корреляционные связи размерно-весовых показателей годовиков радужной форели:
 A – длина тела по Смиту; B – длина тела до конца чешуйчатого покрова; C – длина головы; D – высота тела; E – толщина тела; F – масса тела; X – недостоверное значение корреляции
 DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.58.2>

Примечание: цветовая шкала отображает значения корреляции

В результате анализа корреляционных связей было выявлено, что у всех показателей высокая положительная корреляция. Также по трем корреляциям отмечены достоверные данные (длина тела по Смиту и длина тела до конца чешуйчатого покрова, толщина тела и длина головы, масса тела и высота тела).

Всего было собранно метрических данных и биологического материала от 50 особей радужной форели. Результаты анализа относительного уровня экспрессии гена *igf1* в мышцах, сердце, печени и мозге представлены на рисунке 2.

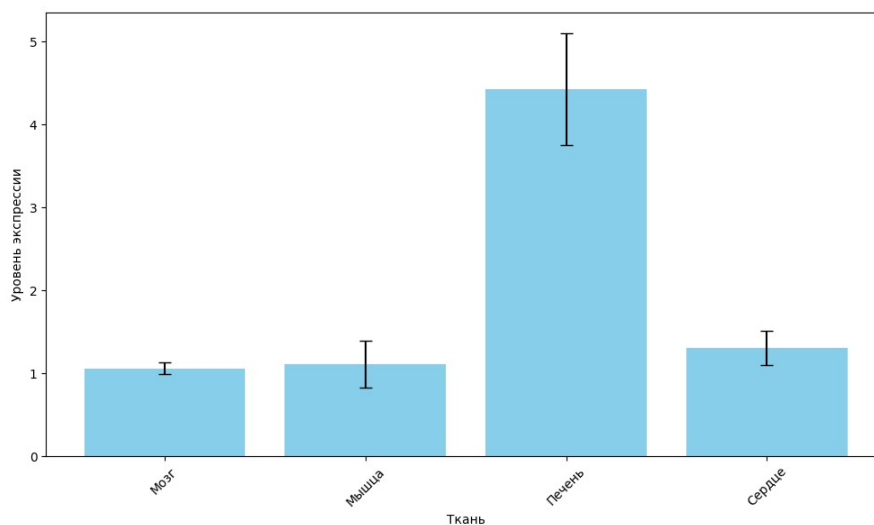


Рисунок 2 - Относительный уровень экспрессии гена *igf1* у годовиков радужной форели
 DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.58.3>

Примечание: $n=50$

В каждой ткани были зафиксированы экспрессионные уровни. Наивысшего значения он достиг в печени радужной форели. В тканях сердца, мозга и мышц отмечается одинаковый незначительный уровень относительной экспрессии. По всем группам отмечаются достоверные различия относительного уровня экспрессии по критерию Краскела-Уоллиса, кроме различий ткани мозга и сердца ($p\text{-value}=7.726e-01$).

Чтобы установить связь уровня экспрессии в разных тканях с метрическими данными был проведен корреляционный анализ (Рисунок 3).

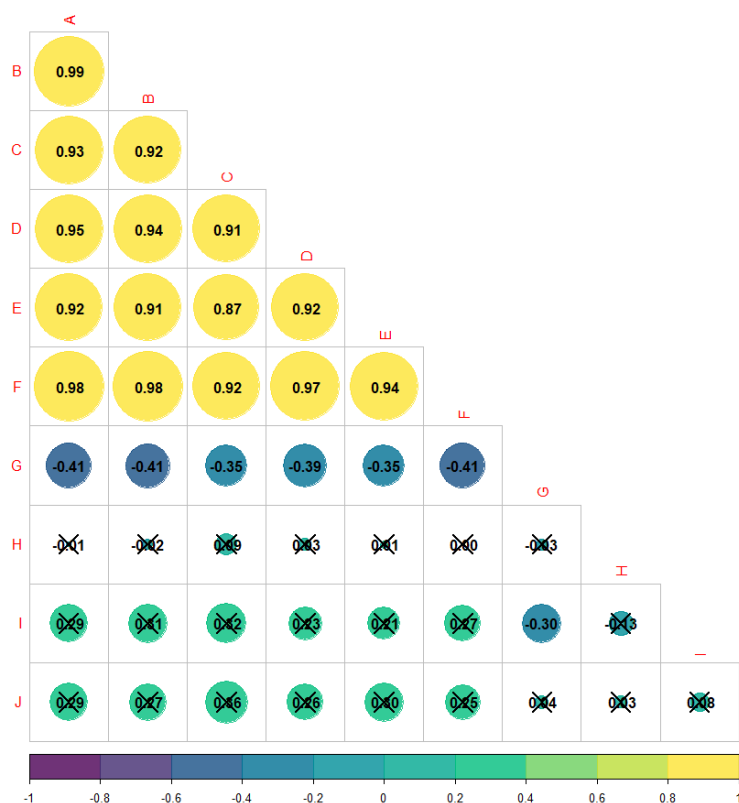


Рисунок 3 - Корреляционные связи размерно-весовых показателей относительного уровня экспрессии у годовиков радужной форели:

A – длина тела по Смиту; B – длина тела до конца чешуйчатого покрова; C – длина головы; D – высота тела; E – толщина тела; F – масса тела; G – относительный уровень экспрессии IGF1 в ткани печени; H – относительный уровень экспрессии *igf1* ткани сердца; I – относительный уровень экспрессии *igf1* в мышечной ткани; J – относительный уровень экспрессии *igf1* в мозге

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.58.4>

По полученным результатам отмечается средняя отрицательная корреляция метрических показателям с показателем относительного уровня экспрессии гена *igf1* в ткани печени. По экспрессии гена *igf1* в ткани мозга и мышечной ткани, отмечается средняя положительная корреляция с метрическими показателями, но данные были не достоверными. Также не было отмечено корреляции между метрическими показателями и относительным уровнем экспрессии *igf1* в ткани сердца, но данные были не достоверными.

Закключение

Проведенное исследование показало, что у годовиков радужной форели, содержащихся в зимний период при температуре 13 °C и укороченном естественном фотопериоде в комбинировании с приглушенным искусственным освещением, экспрессия гена *igf1* демонстрирует четко выраженную тканеспецифичность. Максимальный уровень транскрипции был зарегистрирован в печени — основном органе синтеза инсулиноподобного фактора роста у рыб, тогда как в мышцах, сердце и мозге экспрессия оставалась низкой и статистически сравнимой между собой.

Несмотря на высокую взаимосвязанность морфометрических характеристик рыб, их связь с уровнем экспрессии *igf1* в разных тканях оказалась неоднозначной. В печени обнаружена средняя отрицательная корреляция, что может отражать снижение чувствительности соматотропной оси или перераспределение метаболических ресурсов при данных параметрах освещения. Положительные корреляции, выявленные в мышцах и мозге, статистически не подтверждены и требуют дальнейшего изучения.

Полученные результаты указывают на то, что в условиях зимнего выращивания (умеренная температура и ограниченный фотопериод) регуляция *igf*-зависимых процессов у годовиков радужной форели определяется сочетанием сезонных физиологических адаптаций и тканеспецифичных механизмов экспрессии. Эти данные подчеркивают необходимость учитывать температурно-световые условия при интерпретации активности компонентов GH-IGF оси и планировании дальнейших исследований роста рыб в УЗВ.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания № 124020200114-7.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Funding

The study was carried out within the framework of the state assignment No. 124020200114-7.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Bertucci J.I. Nutrient regulation of endocrine factors influencing feeding and growth in fish. / J.I. Bertucci, A.M. Blanco, L. Sundarajan et al. // *Frontiers in Endocrinology*. — 2019. — № 10. — DOI: 10.3389/fendo.2019.00083
2. Cui W. Changes in circulating insulin-like growth factor-1 and its binding proteins in yearling rainbow trout during spring under natural and manipulated photoperiods and their relationships with gill Na⁺, K⁺-ATPase and body size / W. Cui, E. Takahashi, B. Morro et al. // *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. — 2022. — № 268. — URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1095643322000630?via%3Dihub> (accessed: 13.09.23). — DOI: 10.1016/j.cbpa.2022.111205
3. Gong N. Roles of leptin in initiation of acquired growth hormone resistance and control of metabolism in rainbow trout. / N. Gong, J. Lundin, D. Morgenroth et al. // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. — 2022. — № 5. — P. 434–444. — DOI: 10.1152/ajpregu.00254.2021
4. Izutsu A. Evaluation of circulating insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding proteins as growth indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / A. Izutsu, D. Tadokoro, S. Habara et al. // *General and Comparative Endocrinology*. — 2022. — № 320. — URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016648022000338?via%3Dihub> (accessed: 14.09.23). — DOI: 10.1016/j.ygcen.2022.114008
5. Kuznetsova M.V. Gene Expression of GH/IGF Axis Components and Myogenic Regulatory Factors in Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walb) under the Influence of Continuous Lighting / M.V. Kuznetsova, M.A. Rodin, N.S. Shulgina et al. // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. — 2025. — № 61. — P. 162–176. — URL: <https://link.springer.com/article/10.1134/S0022093025010132> (accessed: 01.11.25). — DOI: 10.1134/S0022093025010132
6. Li M. Expression profiles of growth-related genes during the very early development of rainbow trout embryos reared at two incubation temperatures / M. Li, J.C. Raine, J.F. Leatherland // *General and Comparative Endocrinology*. — 2007. — № 153. — P. 302–310. — URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016648007000755?via%3Dihub> (accessed: 14.09.23). — DOI: 10.1016/j.ygcen.2007.02.012
7. Livak K.J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method / K.J. Livak, K.J. Schmittgen // *Methods*. — 2001. — № 25. — P. 402–408. — DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
8. Naderi M. Effects of chronic high stocking density on liver proteome of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / M. Naderi, S. Keyvanshokoo, A.P. Salati et al. // *Fish Physiology and Biochemistry*. — 2017. — № 43. — P. 1373–1385. — URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10695-017-0378-8> (accessed: 15.09.23). — DOI: 10.1007/s10695-017-0378-8
9. Pourkhazaei F. Expression of growth and immunity genes during early developmental stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta*) hybrids / F. Pourkhazaei, Y. Keivany, S. Dorafshan et al. // *Aquaculture*. — 2025. — № 606. — URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848625004818?via%3Dihub> (accessed: 02.11.25). — DOI: 10.1016/j.aquaculture.2025.742595
10. Reid R.M. Direct actions of growth hormone in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, skeletal muscle cells in vitro. / R.M. Reid, S. Turkmen, B.M. Cleveland et al. // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. — 2024. — № 297. — DOI: 10.1016/j.cbpa.2024.111725
11. Valenzuela A. Escobar-Aguirre S. 2022. Effects of continuous light (LD24:0) modulate the expression of lysozyme, mucin and peripheral blood cells in rainbow trout / A. Valenzuela, I. Rodríguez, B. Schulz et al. // *Fishes*. — 2022. — № 7. — URL: <https://www.mdpi.com/2410-3888/7/1/28/xml> (accessed: 15.09.23). — DOI: 10.3390/fishes7010028