

ГЕНЫ ГОРМОНА РОСТА У РЫБ: СТРУКТУРА И ДИВЕРГЕНЦИЯ¹

© 2020 г. Д. Н. Каменская¹, В. А. Брыков^{1, 2, *}

¹Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского ДВО РАН,
Владивосток 690041, Россия

²Дальневосточный федеральный университет, Школа естественных наук,
Владивосток 690012, Россия

*e-mail: vlbrykov@mail.ru

Поступила в редакцию 04.12.2019 г.

После доработки 02.03.2020 г.

Принята к публикации 19.03.2020 г.

В обзоре приведены сведения о структуре генов гормона роста (ГПР) у рыб и о дивергенции кодирующих, интронных и прилежащих фланкирующих участков, в том числе оригинальные данные, полученные в нашей лаборатории. У большинства видов рыб ГПР представлен единственной копией, однако имеются таксономические группы с двумя паралогичными генами. Кодирующие последовательности ГПР консервативны, вариации длины генов обусловлены длиной некодирующих и фланкирующих участков и интронов. Скорость дивергенции последовательностей генов различается в разных таксономических группах и варьирует во времени внутри групп. Во фланкирующих участках консервативными являются только регуляторные элементы.

Ключевые слова: ген гормона роста, регуляторные элементы, дивергенция

DOI: 10.31857/S0134347520040038

Общие представления о структуре генов гормона роста позвоночных животных

Гормон роста (соматотропный гормон, СТГ, соматотропин) — один из гормонов передней доли гипофиза. Он относится к классу полипептидных гормонов, регулирует рост и другие физиологические процессы в организме. Гормон роста вместе с пролактином и соматолактином входит в семейство гипофизарных гормонов.

В настоящее время наиболее хорошо изучены и охарактеризованы гены гормона роста человека (ГПР, hGH), некоторых млекопитающих и других позвоночных животных. В геноме человека ГПР, hGH и плацентарные лактогены (hPL), известные также как гены хорионического соматомаммотропина (hCS), образуют кластер из пяти близко расположенных друг к другу генов. В состав этого кластера входят два гена hGH и три гена hPL (Hirt et al., 1987; Barrera-Saldaña, 1998). Ген hGH-N кодирует гипофизарный гормон роста, экспрессируется только в специализированных клетках аденогипофиза — соматотрофах. Ген hGH-V кодирует альтернативный вариант гормона роста, который заменяет гипофизарный гормон роста на поздних сроках беременности; он экспресси-

руется вместе с плацентарными лактогенами hPL в плаценте (Hirt et al., 1987; Chen et al., 1989a; Pérez-Maya et al., 2016). У всех пяти генов, включая их ближайшие фланкирующие области, были определены полные нуклеотидные последовательности (DeNoto et al., 1981; Hirt et al., 1987); они оказались консервативными больше чем на 95%. Полная нуклеотидная последовательность локуса hGH охватывает 66 495 пар нуклеотидов (п.н.) и содержит последовательности всех пяти генов. Каждый из пяти генов, входящих в кластер, состоит из пяти экзонов и четырех интронов. Гены разделены межгенными последовательностями длиной от 6 до 13 тыс. пар нуклеотидов (т.п.н.). Гены кластера экспрессируются в разных тканях и в разные временные промежутки, поэтому экспрессия находится под контролем разных регуляторных элементов, промоторов и энхансеров (Jones et al., 1995; Barrera-Saldaña, 1998; Su et al., 2000).

Организация кластера генов значительно варьирует у представителей разных групп приматов. У макаки-резус (*Macaca mulatta*), гамадрила (*Papio hamadryas*) и гориллы (*Gorilla gorilla gorilla*) в кластере шесть генов (включая псевдогены) (González-Alvarez et al., 2006; Rodríguez-Sánchez et al., 2010), у человека и шимпанзе — пять, у орангутана (*Pongo abelii*) четыре гена, но только три из них являются функциональными. У шимпанзе и орангутана, как и у человека, ген GH-N экспрессируется в ги-

¹ Публикуется в связи с 50-летием Института биологии моря (в настоящее время — ННЦМБ им. А. В. Жирмунского ДВО РАН).

пофизе, а продукт гена GH-V можно обнаружить в плаценте. Эволюция этих генов в семействе рассмотрена в обзоре Даза и Лархаммера (Daza, Larhammar, 2018).

У большинства млекопитающих, включая и большинство полубезьян, ГПР не формируют кластер гомологичных генов и в геноме можно обнаружить только одну копию. Тем не менее в разных отрядах млекопитающих встречаются виды, у которых обнаружено по два ГПР (Valinsky et al., 1990; Yamano et al., 1991; Wallis, Wallis, 2001; Maniou et al., 2004).

Структура ГПР у млекопитающих консервативна (Barta et al., 1981; Gordon et al., 1983; Wallis, Wallis, 1995; Das et al., 1996; Lioupis et al., 1999): кодирующая часть состоит из пяти экзонов, разделенных четырьмя интронами. Длина интронов у разных видов варьирует от 200 до 300 п.н.

Ген гормона роста птиц длиннее такового млекопитающих. Если средняя длина ГПР млекопитающих примерно 2 т.п.н., то длина ГПР птиц варьирует от 3 до 5 т.п.н. (Tanaka et al., 1992; Buggiotti et al., 2006; Kansaku et al., 2008). Различия в длине генов обусловлены разной длиной интронов. Несмотря на это, их количество остается таким же, как и в гене гормона роста млекопитающих: четыре интрона разделяют пять экзонов. Для представителей отряда воробьинообразные (Passeriformes) характерно наличие в геноме двух ГПР — GH1A и GH1B, и оба гена функциональны (Yuri et al., 2008; Arai, Iigo, 2010). Описание нуклеотидных последовательностей ГПР у рептилий и амфибий в литературе не встречается. Для некоторых представителей этих классов известны только аминокислотные последовательности гормона роста, количество аминокислот в которых совпадает с таковым в ГПР человека. Гормон роста у морской черепахи (*Chelonia mydas*) и крокодила (*Crocodylus novaeguineae*) состоит из 190 аминокислотных остатков. Сходство гормона роста рептилий с таковым млекопитающих составило 75–82%, птиц — 89%, костистых рыб — 33–59% (Yasuda et al., 1989; Noso et al., 1995). У амфибий аминокислотная последовательность ГПР известна только для лягушки-быка (*Rana catesbeiana*). Гормон роста у этого вида состоит из 190 аминокислот и имеет 69% гомологии с гормоном роста морской черепахи, 66% с гормоном роста курицы, 61% с гормоном роста овцы и 48% с гормоном роста человека (Kobayashi et al., 1991)

Структура генов гормона роста у рыб

Долгое время считали, что у бесчерепных рыб отсутствуют гены, кодирующие гипофизарные гормоны (Holland et al., 2008). Однако Ли с соавторами (Li et al., 2014) показали, что у ланцетника (*Branchiostoma japonicum*) имеется гормон, подоб-

ный гормону роста позвоночных (GH-like hormone), который является функциональным. Гормон роста ланцетника способен связываться с рецептором гормона роста (GHR); стимулировать экспрессию инсулин-подобного фактора роста (IGF); влиять на скорость роста рыб в условиях эксперимента и исправлять эмбриональные дефекты, вызванные нехваткой гормона роста. Последовательность кДНК гормона роста ланцетника состоит из 1646 п.н., из которых 627 п.н. приходится на открытую рамку считывания, а 1019 п.н. — на 3'-нетранслируемую область. Белок состоит из 208 аминокислот и на 14.5% идентичен другим известным гормонам роста. Это дает основание считать, что данная последовательность является предшественником для остальных генов семейства: пролактина и соматолактина (Li et al., 2014).

Полная нуклеотидная последовательность ГПР была получена для одного из самых древних представителей позвоночных — морской миноги *Petromyzon marinus* (Kawauchi et al., 2002; Moriyama et al., 2006). ГПР морской миноги является самым большим из всех известных генов GH, состоящих, как у человека, млекопитающих и птиц, из пяти экзонов и четырех интронов. Длина гена GH составляет 13 604 п.н. Он включает кодирующую и регуляторную части. Информация, которую кодирует каждый экзон, подобна информации, которую кодируют гены гормона роста млекопитающих и птиц. Первый экзон кодирует 5'-нетранслируемую область (UTR) и первые три аминокислоты сигнального пептида; а второй экзон — остальную часть сигнального пептида и N-конец (34 аминокислоты) зрелого белка. Третий и четвертый экзоны кодируют 42 и 44 аминокислоты зрелого гормона роста соответственно, а пятый экзон кодирует 61 аминокислоту и 3'-нетранслируемую область.

Ген гормона роста хрящевых рыб не отличается от такового большинства позвоночных животных. Нуклеотидные и аминокислотные последовательности известны для катрана (*Squalus acanthias*) и большой голубой акулы (*Prionace glauca*). Ген гормона роста катрана состоит из пяти экзонов и четырех интронов; количество аминокислот, которые кодирует каждый экзон, сходно с таковым у других видов костистых рыб. Сравнительный анализ аминокислотных последовательностей показал, что ГПР катрана и большой голубой акулы ближе к таковому у четвероногих, чем у костистых рыб. Степень гомологии с четвероногими животными составляет 47–68%, с костистыми рыбами — 37–52%. Данное различие между хрящевыми и костистыми рыбами указывает на быструю молекулярную эволюцию ГПР у костистых рыб по сравнению с таковой у других групп позвоночных, у которых эволюция этого гормона протекала гораздо медленнее (Yamaguchi et al., 1989; Moriyama et al., 2008). Считают, что такая

структура (пять экзонов, четыре интрона) полностью отражает структуру гена-предшественника, который дал начало современным генам. Однако встречаются виды и группы видов, у которых структура ГГР отличается.

Среди костистых рыб можно выделить отряды, у видов которых в гене имеется еще один интрон и, соответственно, еще один экзон. На основании наличия или отсутствия дополнительного интрона ГГР по своей структуре виды могут быть разделены на две группы (Moriyama et al., 2006). В первую группу входят виды, у которых гены имеют такую же структуру, как у млекопитающих и птиц, и состоят из пяти экзонов и четырех интронов. Гены с подобной структурой встречаются у представителей отрядов карпообразных (Cypriniformes) и сомообразных (Siluriformes) (см.: Chiou et al., 1990; Hong, Schartl, 1993; Rajesh, Majumdar, 2007; Panicz et al., 2012; Sekar et al., 2014). Во вторую группу объединены виды, в генах которых присутствует пятый дополнительный интрон и они состоят из шести экзонов и пяти интронов. Такой ГГР встречается у представителей отрядов лососеобразных (Salmoniformes), окунеобразных (Perciformes), иглобрюхообразных (Tetraodontiformes) и камбалообразных (Pleuronectiformes) (Ber, Daniel, 1992; Male et al., 1992; Devlin, 1993; Du et al., 1993; Tanaka et al., 1995; Ohkubo et al., 1996; Venkatesh, Brenner, 1997; Панькова и др., 2017). Среди видов, имеющих ген с дополнительным интроном, выделяются виды с небольшим пятым интроном длиной 70–100 п.н., а также виды, у которых размер пятого интрона варьирует от 200 до 600 п.н. Небольшой интрон обнаружен у нильской тилляпии (*Oreochromis niloticus*), азиатского паралихта (*Paralichthys olivaceus*) и желтохвоста (*Seriola quinqueradiata*) (Ber, Daniel, 1992; Tanaka et al., 1995; Ohkubo et al., 1996), а интрон больших размеров найден в генах гормона роста лососеобразных рыб (Du et al., 1993; Yang et al., 1997; Панькова и др., 2017). Пока остается неясным, произошел ли пятый интрон, встречающийся в гене гормона роста окунеобразных и лососеобразных, от одной и той же предковой последовательности или возник независимо в разных отрядах. Сравнение нуклеотидных последовательностей этого интрона у тилляпии и лососевых показало, что последовательности имеют очень низкую степень гомологии. Это указывает на то, что данные типы интронов, возможно, эволюционировали от разных предковых последовательностей в результате инсерций (вставок) последовательностей в ген, которые произошли независимо друг от друга (Yang et al., 1997).

Размер ГГР у рыб варьирует в достаточно широких пределах: от 1.6 т.п.н. у латеса (*Lates calcarifer*) до более чем 4 т.п.н. у желтохвоста (*S. quinqueradiata*), что в 2 раза больше размера ГГР у млекопитающих (Chen et al., 1989a; Almuly et al., 2000;

Ruynänen, Primmer, 2006). Сравнение ГГР радужной форели и человека показало, что первые четыре экзона гена радужной форели гомологичны экзонам ГГР человека. Последний (пятый) экзон в ГГР человека эквивалентен экзонам V и VI гена гормона роста радужной форели (Chen et al., 1989a, 1989b). Такое различие в размерах может быть обусловлено не только присутствием дополнительного интрона в ГГР у представителей некоторых отрядов рыб, но и наличием тандемных повторов разной длины, а также возможных инсерций или делеций. Например, у представителей отряда карпообразных и млекопитающих количество экзонов и интронов одинаковое (5 экзонов и 4 интрона). Однако размер интронов и 3'-нетранслируемых областей у карповых рыб больше, чем у млекопитающих. У рыб 3'-нетранслируемая область в среднем длиной около 500 п.н., а у млекопитающих и птиц около 100 п.н. Длина первого, третьего и четвертого интронов в гене лососевых рыб в 2–2.5 раза больше, чем в гене млекопитающих (Zhu et al., 1992; Hong, Schartl, 1993).

У бурой фугу (*Fugu rubripes*) длина первого интрона составляет 608 п.н., и он в несколько раз длиннее, чем первый интрон в генах гормона роста других рыб. Определяется это наличием сателлитной последовательности длиной 438 п.н., состоящей из элементов длиной 42 п.н. (TACCTGAGGCTGAATCCACTGTCTTCCCTACCTGTCTAACCT) и их фрагментов. Такой повтор не был найден в интронах ГГР других костистых рыб; вероятно, эта вставка в интрон бурой фугу произошла относительно недавно. Во втором и пятом интронах ГГР бурой фугу встречаются тетра- и три-нуклеотидные (CTGT)₂₈ и тринуклеотидные (GAT)₇₉ повторы соответственно. Укороченный вариант тринуклеотидного повтора обнаружен в пятом интроне нильской тилляпии (*O. niloticus*), азиатского паралихта (*P. olivaceus*) и латеса (*L. calcarifer*). Считают, что этот минисателлитный повтор присутствовал в пятом интроне у общего предка иглобрюхообразных (Tetraodontiformes), камбалообразных (Pleuronectiformes) и окунеобразных (Perciformes) (Venkatesh, Brenner, 1997). Повторы разной длины встречаются в интронах ГГР дорады (*Sparus aurata*); минисателлитные повторы, состоящие из 17 и 22 нуклеотидов, можно обнаружить в первом и третьем интронах соответственно. Разные микросателлитные повторы из ди-, три- и тетра-нуклеотидов встречаются во всех интронах с первого по пятый. Инвертированные повторы, входящие в состав второго интрона, увеличивают его размер до 1747 п.н., что делает этот интрон самым большим вторым интроном из известных ГГР костистых рыб и млекопитающих (Almuly et al., 2000).

Среди рыб можно встретить примеры, когда размер ГГР изменяется не только в результате инсерций и увеличения числа повторов, но и за счет

делеций. У разных видов рыб рода лабео (*Labeo*) ГГР различается. Это связано с небольшими делециями, которые затронули и интроны, и экзоны. Длина транскрипта у всех видов этого рода составляет 630 п.н. (210 аминокислот); исключением является роху (*Labeo rohita*), у которого из-за делеции девяти нуклеотидов в четвертом экзоне длина транскрипта сократилась до 621 п.н., что соответствует 207 аминокислотам. Из четырех интронов только третий интрон демонстрирует изменчивость между видами (от 1069 до 1255 п.н.), это также связывают с небольшими делециями (Rajesh, Majumdar, 2007).

Разное количество интронов, их варибельность и присутствие повторяющихся последовательностей в гене могут служить естественным маркером для понимания эволюционных взаимоотношений в разных группах костистых рыб. Пятый интрон, который присутствует у представителей некоторых отрядов костистых рыб, делит их филогенетическое дерево на две группы. К первой группе относится надотряд костнопузырные (*Ostariophysi*); он объединяет карпообразных и сомообразных, у которых в составе ГГР всего четыре интрона. Вторая группа включает надотряды протолучеперых (*Protacanthopterygii*) и колючеперых (*Acanthopterygii*), имеющих общее происхождение, в составе ГГР которых присутствует пятый интрон. Поскольку в линии, ведущей к четвероногим, которая дивергировала от рыб в начале эволюции, в ГГР имеется только четыре интрона, пятый интрон, возможно, либо был приобретен общим предком протолучеперых и колючеперых после отделения костнопузырных, либо присутствовал у общего предка и был утрачен в линии, ведущей к костнопузырным и четвероногим (Venkatesh, Brenner, 1997). Аргументом в пользу этой гипотезы стали результаты, полученные Раджешем и Маджумдарой (Rajesh, Majumdar, 2007), а также Секаром с соавторами (Sekar et al., 2014). На основании филогенетического анализа кДНК гормона роста разных видов рыб было показано, что виды с одинаковым количеством экзонов и интронов в гене кластеризуются вместе. Так, виды из отрядов лососеобразных, окунеобразных и камбалообразных объединялись в один кластер, а в другом кластере находились виды, принадлежавшие к отрядам карпообразных и сомообразных (Rajesh, Majumdar, 2007; Sekar et al., 2014).

Анализ сателлитных последовательностей, которые встречаются в интронах ГГР рыб, также может указывать на степень родства. Например, в четвертом интроне ГГР у щуковых (*Esocidae*) присутствует минисателлитный повтор длиной 33 нуклеотида, количество его копий варьирует от 7 до 16 у разных видов. Идентичная последовательность присутствует и в ГГР лососевых, но только в единичной копии. Это может указывать

на наличие такой последовательности у общего предка, а также на увеличение копий данной последовательности у щуковых после дивергенции щуковых и лососевых (Barnett et al., 2007).

У костистых рыб ГГР различаются не только размерами, но и количеством генов, представленных в геноме. Среди рыб встречаются виды, у которых ГГР, как и у большинства млекопитающих, представлен одной копией. Одна копия ГГР была найдена у бурой фугу (*F. rubripes*) (Venkatesh, Brenner, 1997), дорады (*S. aurata*) (см.: Almuly et al., 2000), у исследованных видов рода лабео (*Labeo*) (см.: Rajesh, Majumdar, 2007) и у некоторых представителей карпообразных: белого амура (*Ctenopharyngodon idellus*) (Zhu et al., 1992) и белого толстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Hong, Schartl, 1993).

В геномах других исследованных видов рыб ГГР представлен двумя несвязанными паралогичными генами *gh1* и *gh2*. Два гена обнаружено у нильской тилапии (*O. niloticus*). Две копии гена тилапии имеют одинаковую структуру (5 интронов, 6 экзонов) и являются функциональными, поскольку было показано, что они кодируют одинаковую белковую последовательность (Ber, Daniel, 1992). Среди карпообразных встречаются виды с двумя копиями ГГР. По две копии гена имеют все виды семейства чукучановых (*Catostomidae*) и некоторые представители семейства карповых. У большинства лососеобразных ГГР также представлен двумя копиями. Увеличение числа генов связано с полной дубликацией генома, в результате которой некоторые виды стали тетраплоидными и в их геноме присутствует по две копии ГГР, а виды, сохранившие диплоидный геном, имеют одну копию (Chiou et al., 1990; Zhu et al., 1992; Bart Jr. et al., 2010; Каменская и др., 2015, 2017; Панькова и др., 2017).

У лососевых, которые представляют собой уникальный случай автотетраплоидизации 25–100 млн лет назад, оба гена существуют на протяжении всего времени дивергенции видов в этой группе (Allendorf, Thorgaard, 1984). По две копии ГГР (*gh1* и *gh2*) были идентифицированы в геноме основных представителей семейства лососевых (*Salmonidae*): атлантического лосося (*Salmo salar*), нерки (*Oncorhynchus nerka*), кеты (*O. keta*), кижуча (*O. kisutch*), радужной форели (*O. mykiss*), чавычи (*O. tshawytscha*), а также у четырех видов гольцов рода *Salvelinus*: северной мальмы (*S. malma*), южной мальмы (*S. curilus*), гольца Леванидова (*S. levanidovi*) и гольца Таранца (*S. taranetzi*) (Kawauchi et al., 1986; Agellon et al., 1988; Johansen et al., 1989; Male et al., 1992; Devlin, 1993; Du et al., 1993; Forbes et al., 1994; Панькова и др., 2017). У всех исследованных видов рыб оба гена состоят из шести экзонов и пяти интронов. Размер экзонов двух генов у всех видов лососевых идентичен и составляет 74,

140, 117, 156, 147 и 63 п.н. для I–VI экзонов соответственно (Agellon, Chen, 1986; Male et al., 1992; Devlin, 1993; Du et al., 1993; Панькова и др., 2017). Интроны в ГГР лососевых различаются по размеру. Различия связаны с присутствием инсерций и делеций внутри последовательностей интронов. Из-за разной длины интронов размер ГГР варьирует как у разных видов лососевых, так и у двух копий гена одного вида. Интрон С в генах *gh1* тихоокеанского и атлантического лососей больше, чем в генах *gh2* у этих видов (Male et al., 1992; Yang et al., 1997). У представителей рода *Oncorhynchus* пятый интрон Е в гене *gh1* в несколько раз больше (~600 п.н.), чем в гене *gh2* (~200–250 п.н.) (Devlin, 1993).

Делеции разной длины были обнаружены в третьем и четвертом интронах в ГГР некоторых видов лососевых. В гене *gh1* в интроне С у гольцов *S. curilus* и *S. fontinalis* обнаружена делеция из шести нуклеотидов (GTCTAC), а у остальных гольцов рода *Salvelinus* присутствовали две tandemные копии этого участка. Еще одна делеция размером 9 нуклеотидов (ATCACAATC) присутствовала в интроне С у *Salvelinus namaycush*. Укороченный вариант такой делеции (ACAATC) обнаружен у *O. nerka* и *O. tshawytscha*. В интроне D гена *gh1* у *Salvelinus leucomaenis* дважды повторялась последовательность из 11 нуклеотидов (CAGTGACATGA), которая у остальных лососевых была представлена единичной копией. В третьем интроне (С) гена *gh2* у атлантического лосося (*S. salar*), нерки (*O. nerka*), чавычи (*O. tshawytscha*) и гольца *S. leucomaenis* обнаружена делеция размером 167 п.н. Подобные вставки и делеции присутствовали во всех интронах, кроме второго; его длина в обеих копиях гена была одинаковой (Панькова и др., 2013).

Структура регуляторных участков гена гормона роста у рыб

Несмотря на то, что нуклеотидные последовательности ГГР получены для большого числа видов рыб, исследования механизмов, участвующих в инициации и регуляции транскрипции, ограничены видами лососевых и окунеобразных. В промоторе ГГР рыб представлены сайты связывания с такими же транскрипционными факторами, гормонами и другими регуляторными элементами, как и у большинства позвоночных животных. Однако встречаются сайты связывания с транскрипционными факторами, которые у других позвоночных не были описаны. Это можно объяснить тем, что гормон роста у рыб помимо основной функции стимуляции роста выполняет функции, связанные с метаболизмом углеводов и липидов, с регуляцией водно-солевого баланса и процессов размножения, а также принимает участие в адаптации к различным водным средам

при миграции из морского водоема в пресный и наоборот (Almuly et al., 2005).

ТАТА-боксы присутствуют во всех известных промоторных областях ГГР рыб. Занимает консервативное положение в промоторе, располагается на расстоянии –23/–25 п.н. от точки начала транскрипции; нуклеотидная последовательность (ТАТААА) идентична у представителей разных отрядов рыб (Sekkali et al., 1999; Almuly et al., 2005; Каменская и др., 2015, 2017). В промоторах паралогичных ГГР радужной форели (*O. mykiss*) *rtGH1* и *rtGH2* было обнаружено еще два ТАТА-боксы, расположенных выше “по течению” от точки начала транскрипции. Один из этих ТАТА-боксов (ТАТААТА) находится в положении –399/–393 п.н. в гене *rtGH1* и –402/–398 п.н. в гене *rtGH2* соответственно. Второй ТАТА-боксы (ТАТААСА) в гене *rtGH1* находится на расстоянии –657/–651 п.н. от точки начала транскрипции, а в гене *rtGH2* располагается на расстоянии –615/–611 п.н. Функция этих двух консенсусных последовательностей ТАТА пока неясна (Yang et al., 1997).

Как и у большинства позвоночных животных, в промоторе ГГР рыб присутствуют сайты связывания с транскрипционным фактором Pit-1, ответственным за тканеспецифичную экспрессию ГГР. По два сайта связывания с Pit-1 было обнаружено в промоторе у желтохвоста (*S. quinquerediata*) и азиатского паралихта (*P. olivaceus*), в остальных известных промоторах ГГР рыб количество сайтов связывания с Pit-1 непостоянное. В промоторе желтохвоста первая последовательность (ТТСААТ) располагается в положении –119/–112, вторая последовательность (АССТССАТ) – на бессмысловой цепи в положении –112/–105 (Ohkubo et al., 1996). Последовательности двух сайтов связывания с Pit-1 у азиатского паралихта находятся в положении от –70 до –53 п.н. и от –133 до –144 п.н. соответственно (Tanaka et al., 1995).

У мозамбикской тилапии (*Oreochromis mossambicus*) обнаружено несколько предполагаемых последовательностей, связывающихся с Pit-1, которые отличались не больше чем на 1 или 2 нуклеотида от консенсусной последовательности, и фланкированной с 5'-конца областью, богатой нуклеотидами А/Т. Рядом с ТАТА-боксом была обнаружена высоко консервативная последовательность (5'-GATGAATTTAAACAT-3') в положении –56/–42, которая встречается в большинстве промоторов других рыб и содержит потенциальный сайт для связывания с Pit-1, ориентированный в обоих направлениях (Sekkali et al., 1999). У золотистого спара (*S. aurata*) и латеса (*L. calcarifer*) помимо основных двух сайтов связывания с Pit-1, которые являются частью палиндромного повтора из 20 нуклеотидов, в дистальной части промотора встречается и несколько дополнитель-

ных сайтов связывания. У всех исследованных представителей отряда окунеобразных расстояние между ТАТА-боксом и сайтом связывания с транскрипционным фактором Pit-1 составляет 12 нуклеотидов. При сравнении с промоторами представителей из других отрядов такой закономерности не выявлено (Yowe, Epping, 1995; Almuly et al., 2005).

Наибольшее число сайтов связывания с транскрипционным фактором Pit-1 было обнаружено в 5'-фланкирующей области гена гормона роста лососевых рыб. При исследовании транскрипционного фактора Pit-1 радужной форели (*O. mykiss*) Ямада с соавторами (Yamada et al., 1993) показали, что в промоторе гена гормона роста форели с Pit-1 связываются не два участка, как у млекопитающих, а четыре. Все четыре участка лежат в области –300 п.н. (G1 –238/–220; G2 –182/–149; G3 –145/–113; G4 –66/–15) от точки инициации транскрипции, где сконцентрированы основные сайты связывания с факторами транскрипции, которые играют ключевую роль в образовании транскрипционного комплекса. Несколько сайтов связывания с Pit-1 было обнаружено у атлантического лосося (*S. salar*), чавычи (*O. tshawytscha*) (Von Schalburg et al., 2008) и у гольцов рода *Salvelinus* (Каменская и др., 2017). Необходимо отметить, что консенсусная последовательность сайта Pit-1 у рыб отличается от консенсусной последовательности, которая встречается у млекопитающих: (T/A)(T/A)TATNCAT. Отличия в консенсусной последовательности для сайта Pit-1 встречаются и у птиц. На основании анализа (Tanaka et al., 1992; Yamada et al., 1993) было предложено ввести новую консенсусную последовательность ((T/A)NCTNCAT) для сайтов связывания Pit-1 у костистых рыб и птиц (Ohkubo et al., 1996).

У костистых рыб, как и у млекопитающих, циклический АМФ (цАМФ) принимает непосредственное участие в регуляции транскрипции. В промоторе ГПР рыб элемент ответа на цАМФ (CRE) представлен асимметричной последовательностью TGACG. В промоторе ГПР латеса (*L. calcarifer*) и в промоторе радужной форели (*O. mykiss*) этот элемент расположен между двумя функциональными сайтами связывания с транскрипционным фактором Pit-1, но относительно точки начала транскрипции элемент ответа на цАМФ у латеса и форели занимает разное положение. Положение проксимального сайта связывания с цАМФ полностью совпадает у рыб, относящихся к отряду окунеобразных: золотистый спар (*S. aurata*), латес (*L. calcarifer*) и желтохвост (*S. quinquerediata*). В промоторе золотистого спара и желтохвоста были обнаружены два дополнительных CRE элемента, которые не сопряжены с сайтами Pit-1. Вероятно, у окунеобразных взаимодействие с цАМФ происходит не напрямую, как было показано для лососевых, а с использова-

нием других механизмов. Так, в промоторе тилапии не обнаружено ни одной последовательности CRE, а белки, связывающиеся с CREB, принимают участие в транскрипции, взаимодействуя непосредственно с сайтами Pit-1 (Argenton et al., 1996; Almuly et al., 2005).

Вместе с тканеспецифичным фактором Pit-1 непосредственное участие в регуляции транскрипции ГПР у рыб принимают глюкокортикоиды, рецепторы ретиноевой кислоты и тиреоидного гормона. Регуляция транскрипции осуществляется за счет связывания комплекса рецепторов гормонов с элементами ответа на гормоны (HRE), которые встречаются не только в промоторе, но и в других участках гена (Beato et al., 1989).

В промоторе ГПР радужной форели (*O. mykiss*) была идентифицирована последовательность элемента ответа на глюкокортикоиды (GRE) (TATACTnnnTGTTCC), которая отличается дистальным гексануклеотидом от базовой известной канонической последовательности GRE (GC-TACAnnnTGTTCT). Частичная гомология этого мотива с типичной последовательностью GRE имеет сходство с такими же нестандартными последовательностями GRE, которые взаимодействуют с глюкокортикоидами в промоторе ГПР крысы и некоторых других млекопитающих. Проксимальная часть последовательности GRE (TGTTCT) в промоторе форели частично перекрывается с сайтом F2 транскрипционного фактора Pit-1, а дистальная часть GRE всего тремя нуклеотидами отделена от элемента ответа на цАМФ. Таким образом, данная область может представлять собой составной энхансер, который обеспечивает полноценную Pit-1-зависимую базальную транскрипцию ГПР радужной форели (rtGH) и регулирует его экспрессию в зависимости от физиологических потребностей (Bernardini et al., 1999; Argenton et al., 2002).

Элементы ответа на ретиноевую кислоту (RARE и RXRE) обычно состоят из двух прямых повторов (AGGTCA), разделенных пятью или двумя нуклеотидами, с которыми связывается рецептор ретиноевой кислоты. Рецептор ретиноевой кислоты может быть представлен в форме гомодимера (RXR/RXR) или гетеродимера (RAR/RXR) (Blomhoff, Blomhoff, 2006). Сайт связывания с гетеродимерной формой рецептора ретиноевой кислоты (RAR/RXR) встречается в промоторе генов *gh1* и *gh2* атлантического лосося (*S. salar*), чавычи (*O. tshawytscha*) (см.: Von Schalburg et al., 2008) и радужной форели (*O. mykiss*) (см.: Yang et al., 1997) в положении –106/–125 п.н. от точки инициации транскрипции. Практически эти же регуляторные элементы обнаружены нами в паралогичных ГПР у гольцов рода *Salvelinus*.

Последовательность TRE, с которой взаимодействует рецептор тиреоидного гормона, не была

описана для промоторов ГГР рыб. Однако в экспериментах по оценке гормонозависимой транскрипции в первичной культуре клеток гипофиза карпа при одновременной трансфекции рецепторов тиреоидного гормона, ретиноевой кислоты и гена люциферазы, находящегося под контролем промотора ГГР атлантического лосося, удалось зафиксировать достаточно высокий уровень экспрессии репортерного гена (Kliwer et al., 1992; Farchi-Pisanty et al., 1997; Sternberg, Moav, 1999).

Сайты связывания с транскрипционными факторами встречаются у рыб не только в промоторной области, но и в интронах гена гормона роста. В третьем интроне (интрон С) у радужной форели (*O. mykiss*) в составе двух АТ-богатых областей были обнаружены консенсусные последовательности (А/ТЗNCАТ), характерные для сайтов связывания с Pit-1. У разных видов рода лабео (*Labeo*) количество сайтов связывания с Pit-1, найденное в третьем интроне, варьировало (Bernardini et al., 1999; Rajesh, Majumdar, 2007). В четвертом интроне у атлантического лосося (*S. salar*) и чавычи (*O. tshawytscha*) был обнаружен элемент ответа на цАМФ, который отличался от элемента CRE в промоторе гена гормона роста и был представлен палиндромной последовательностью (ACTGCAGT) (Von Schalburg et al., 2008). Элемент ответа на эстрогены (ERE) был идентифицирован только в одном гене гормона роста (rtGH1) у радужной форели (*O. mykiss*) в интроне С (Yang et al., 1997). Однако у атлантического лосося (*S. salar*) и чавычи (*O. tshawytscha*) элемент ответа на эстрогены был обнаружен в промоторной области гена *gh2* (Von Schalburg et al., 2008). В работе Янг с соавторами (Yang et al., 1997) приведены последовательности, ответственные за связывание с рецепторами тиреоидного гормона, ретиноевой кислоты, прогестерона, андрогена и минералокортикоидов, которые встречаются в интронах гена гормона роста. В то же время положение этих сайтов в интронах, а также функция, которую они выполняют, пути их взаимодействия между собой и влияние друг на друга пока неизвестны (Yang et al., 1997).

Дивергенция генов гормона роста

Ядерные гены используются для филогенетических реконструкций и систематических построений относительно редко. Это обусловлено высокой консервативностью и, соответственно, слабым филогенетическим сигналом и низкой разрешимостью у близких видов. Еще одной проблемой для использования ГГР при филогенетических реконструкциях и систематических построениях является тот факт, что в эволюции гена во многих таксономических группах прослеживается нестандартная закономерность: медленная базальная скорость изменений прерывается периодами быстрой эволюции, которая иногда в

25–50 раз выше. Это известно для млекопитающих (Wallis, 1994; Wallis, Wallis, 1995; Wallis, 1996; Lioupis et al., 1997; Saunders et al., 1998; Wallis, Wallis, 2001; Wallis et al., 2001). ГГР у птиц характеризуется более постоянной и относительно низкой скоростью молекулярной эволюции, которая увеличивается в некоторых таксонах почти в 1.4 раза (Buggiotti, Primmer, 2006; Yuri et al., 2008).

Медленная эволюция гормона роста характерна и для большинства низших позвоночных животных: $0.19–0.39 \times 10^{-9}$ аминокислотных замен в год. Это сопоставимо с базальной скоростью эволюции млекопитающих ($0.21–0.28 \times 10^{-9}$). Однако и среди представителей низших позвоночных могли происходить вспышки быстрой эволюции. Увеличение скорости отмечается во время эволюции амфибий ($0.86 \pm 0.13 \times 10^{-9}$ аминокислотных замен на сайт в год) и хрящевых рыб ($0.54 \pm 0.10 \times 10^{-9}$ аминокислотных замен на сайт в год) (Wallis, 1996).

При сравнении последовательностей кДНК ГГР показано хорошее деление у рыб на уровне отрядов, но не внутри их (Sekar et al., 2014). Похожая картина наблюдается при сравнении аминокислотных последовательностей ГГР рыб (Deng et al., 2014). Рийнанен и Приммер (Ruunänen, Primmer, 2006) отмечают, что на уровне аминокислотных последовательностей дивергенция в разных отрядах костистых рыб варьирует четырехкратно – от 3% у сомовых до 12% у окуневых, и при сравнении всех видов в четырех отрядах достигает 29%. Средняя скорость замен аминокислот у рыб высокая ($1.15 \pm 0.01 \times 10^{-9}$ аминокислотных замен на сайт в год) по сравнению с базальной в других таксонах позвоночных. Повышенная скорость дивергенции, как правило, свидетельствует о наличии положительного (направленного) отбора, но в большинстве работ не обнаружено его влияние, в то же время выявлен эффект отрицательного (очищающего) отбора (Ruunänen, Primmer, 2006). Периодические изменения в скорости дивергенции авторы связывают со случайными факторами, которые приводят к накоплению в том числе и аминокислотных замен с ослаблением отрицательного отбора по нефункциональным участкам продуктов гена.

В нашей работе мы сравнивали нуклеотидные и аминокислотные последовательности в двух паралогичных генах *gh1* и *gh2* у видов лососевых рыб из трех родов: *Salvelinus*, *Oncorhynchus* и *Salmo* (Панькова и др., 2017). Если рассчитывать скорость дивергенции каждого из генов для всех видов, исходя из максимального времени начальной дивергенции видов, то различия в скорости невелики: 0.456×10^{-9} для *gh1* и 0.403×10^{-9} для *gh2* на сайт в год. Однако, если рассчитывать ее отдельно для каждого таксона, то выявляются неожиданные различия. У гольцов в гене *gh1* не об-

наружено аминокислотных замен; в гене *gh2*, хотя и найдены аминокислотные замены, но их скорость низкая: 0.043×10^{-9} . В гене *gh2* у лососей рода *Oncorhynchus* скорость накопления аминокислотных замен (0.272×10^{-9}) больше чем в 2 раза по сравнению с таковой в гене *gh1* (0.12×10^{-9}). У представителей рода *Salmo* обнаружена обратная картина: скорость накопления аминокислотных замен в гене *gh1* превышает таковую в гене *gh2* более чем в 6 раз. Очевидно, это обусловлено факторами отбора, при этом отбор оказывается разнонаправленным. В одном таксоне очищающий отбор более интенсивный по одному гену-паралогу, в других таксонах – по другому.

Полученные данные в определенной степени согласуются с результатами, полученными на других группах рыб и позвоночных животных. Частичная, а у ряда видов полная последовательность сравнивалась в паралогичных ГПР, *gh1* и *gh2* у чукучановых рыб (отряд Сургиниформес; семейство Catostomidae) (Bart Jr. et al., 2010). Как и в нашем случае, паралоги были сходны по аминокислотным и нуклеотидным последовательностям больше чем на 90%; было также показано, что оба гена находятся под действием очищающего отбора. Величина дивергенции между *gh1* и *gh2* больше, чем в нашем случае, и в среднем составляет 9.61%. Средняя попарная дистанция внутри паралогов по нуклеотидным последовательностям оказалась также больше и составила 4.46 и 2.43% для *gh1* и *gh2* соответственно (Bart Jr. et al., 2010). Большая величина различий связана, очевидно, с большим временем существования карповых рыб и, соответственно, паралогичных ГПР.

Дивергенция некодирующих участков

Некодирующие участки генов также нечасто используются для систематических и филогенетических исследований, хотя они накапливают мутации с большей скоростью. Различия, которые встречаются в некодирующих последовательностях, позволяют использовать интроны в качестве маркеров для оценки филогенетических межродовых и межвидовых отношений внутри семейства. Филогенетический анализ интронов гена гормона роста использовался для изучения внутривидовых отношений тихоокеанских лососей и гольцов (Devlin, 1993; McKay et al., 1996; Westrich et al., 2002; Панькова и др., 2013). На основании филогенетического анализа интронов С и D генов *gh1* и *gh2* были показаны сестринские отношения между родами *Oncorhynchus* и *Salvelinus*, но не между *Salmo* и *Oncorhynchus*, как ожидалось по аналогии с морфологическими данными (Oakley, Phillips, 1999; Phillips et al., 2004). Тем не менее, использование некодирующих последовательностей затруднено, что обусловлено наличием большого числа инделей.

Фланкирующие области двух ГПР, как и интроны, менее консервативны и демонстрируют низкий уровень гомологии. Гены *gh1* и *gh2* радужной форели имеют 78.6 и 89.2% гомологии в 3' и 5'-нетранслируемых областях соответственно по сравнению с 96.8% гомологии в кодирующих областях (Chen et al., 1989b). Анализ генов гормона роста нерки показал, что некодирующие области двух генов существенно различаются; это может быть связано с отсутствием генной конверсии между двумя генами (Devlin, 1993). Как отмечено выше, во многих случаях паралогичные гены могут кодировать почти идентичные белки. Такая картина характерна и для лососевых рыб (Каменская и др., 2017). Одна из траекторий эволюции дублированных копий генов заключается в субфункционализации генов. Субфункционализация не обязательно предполагает приобретение новой функции, но возможна дифференциальная экспрессия копий генов в разных тканях. Поэтому представляет интерес сравнительный анализ изменчивости в регуляторных цис-расположенных элементах в генах-паралогах ГПР.

В нашей работе распределение изменчивых сайтов оценивалось в 5'-фланкирующих участках длиной 300 п.н. как у гольцов рода *Salvelinus*, так и при сравнении с промоторами ГПР других видов лососевых рыб. Промоторные участки в обоих генах представителей рода *Salvelinus* очень консервативны по всей длине. В гене *gh1* выявляются два участка изменчивости: первый непосредственно прилегает к ТАТА-боксу, второй локализован между сайтами F1 и F2. Два участка изменчивости обнаруживаются и в гене *gh2*, но они различаются по своей локализации: первый участок находится в непосредственной близости к сайту F3, а второй располагается между сайтами F3 и F4. Сравнительный анализ промоторных участков ГПР показал консервативность некоторых регуляторных элементов (ТАТА-боксы, F1 сайта и CRE), но не всех последовательностей.

Промоторная последовательность гена *gh2* у всех видов лососевых рыб демонстрирует большую изменчивость, чем гена *gh1*. Консервативными участками остаются ТАТА-бокс, F1 участок, RARE/RXRE и CRE элементы. Максимально изменчивые последовательности выявлены в участках между сайтами связывания с транскрипционным фактором Pit-1 F1 и F2, а также между сайтами F3 и F4.

Ген гормона роста рыб – один из первых генов, успешно использованных для создания новых линий рыб с высокими хозяйственно-полезными признаками, в частности, с высокой скоростью роста. Поэтому представляется необходимым анализ ГПР в разных группах, в том числе и с целью геномного редактирования (Houston, Macqueen, 2019).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Каменская Д.Н., Панькова М.В., Атопкин Д.М., Брыков Вл.А. Гены гормона роста у рыб: доказательства функциональности паралогичных генов гольца *Salvelinus levanidovi* // Молекуляр. биология. 2015. Т. 49. № 5. С. 770–776.
- Каменская Д.Н., Панькова М.В., Атопкин Д.М., Брыков Вл.А. Дивергенция паралогичных генов гормона роста и цисрегуляторных участков у лососевых рыб // Молекуляр. биология. 2017. Т. 51. № 2. С. 314–323.
- Панькова М.В., Брыков Вл.А., Панькова В.В., Атопкин Д.М. Гены гормона роста рыб. Дивергенция последовательностей интронов у гольцов рода *Salvelinus* // Генетика. 2013. Т. 49. № 6. С. 1–8.
- Панькова М.В., Кухлевский А.Д., Брыков Вл.А. Гены гормона роста: дивергенция кодирующих последовательностей у лососевых рыб // Генетика. 2017. Т. 53. № 2. С. 201–213.
- Agellon L.B., Chen T.T. Rainbow trout growth hormone: molecular cloning of cDNA and expression in *Escherichia coli* // DNA. 1986. V. 5. № 6. P. 463–471.
- Agellon L.B., Davies S.L., Chen T.T., Powers D.A. Structure of a fish (rainbow trout) growth hormone gene and its evolutionary implications // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1988. V. 85. № 14. P. 5136–5140.
- Allendorf F.W., Thorgaard G.H. Tetraploidy and the evolution of salmonid fishes // Evolutionary Biology of Fishes. – N.Y.: Plenum Press. 1984. P. 1–53.
- Almuly R., Cavari B., Ferstman H. et al. Genomic structure and sequence of the gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth hormone-encoding gene: Identification of minisatellite polymorphism in intron I // Genome. 2000. V. 43. № 5. P. 836–845.
- Almuly R., Poleg-Danin Y., Gorshkov S. et al. Characterization of the 5' flanking region of the growth hormone gene of the marine teleost, gilthead sea bream *Sparus aurata*: analysis of a polymorphic microsatellite in the proximal promoter // Fish. Sci. 2005. V. 71. № 3. P. 479–490.
- Arai N., Iigo M. Duplicated growth hormone genes in a passerine bird, the jungle crow (*Corvus macrorhynchos*) // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2010. V. 397. № 3. P. 553–558.
- Argenton F., Bernardini S., Puttini S. et al. A TGACG motif mediates growth-hormone-factor-1/pituitary-transcriptional-activator-1-dependent cAMP regulation of the rainbow trout growth-hormone promoter // Eur. J. Biochem. 1996. V. 238. № 3. P. 591–598.
- Argenton F., Vianello S., Bernardini S. et al. Trout GH promoter analysis reveals a modular pattern of regulation consistent with the diversification of GH gene control and function in vertebrates // Mol. Cell. Endocrinol. 2002. V. 189. № 1–2. P. 11–23.
- Barnett K.R., Hopkins R.L., Peyton D.K. A minisatellite in the growth hormone gene of Esocidae is derived from a single copy element in the salmonid genome // Copeia. 2007. V. 2007. № 1. P. 205–211.
- Barrera-Saldaña H.A. Growth hormone and placental lactogen: biology, medicine and biotechnology // Gene. 1998. V. 211. № 1. P. 11–18.
- Bart H.L., Jr., Reneau P.C., Doosey M.H., Bell C.B. Evolutionary divergence of duplicate copies of the growth hormone gene in suckers (Actinopterygii: Catostomidae) // Int. J. Mol. Sci. 2010. V. 11. № 3. P. 1090–1102.
- Barta A., Richards R.I., Baxter J.D., Shine J. Primary structure and evolution of rat growth hormone gene // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1981. V. 78. № 8. P. 4867–4871.
- Beato M., Chalepakis G., Schauer M., Slater E.P. DNA regulatory elements for steroid hormones // J. Steroid Biochem. 1989. V. 32. № 5. P. 737–748.
- Ber R., Daniel V. Structure and sequence of the growth hormone-encoding gene from *Tilapia nilotica* // Gene. 1992. V. 113. № 2. P. 245–250.
- Bernardini S., Argenton F., Vianello S. et al. Regulatory regions in the promoter and third intron of the growth hormone gene in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum // Gen. Comp. Endocrinol. 1999. V. 116. № 2. P. 261–271.
- Blomhoff R., Blomhoff H.K. Overview of retinoid metabolism and function // J. Neurobiol. 2006. V. 66. № 7. P. 606–630.
- Buggiotti L., Hellström M.A., Primmer C.R. Characterization of the first growth hormone gene sequence for a passerine bird—the pied flycatcher (*Ficedula hypoleuca*) // DNA Sequence. 2006. V. 17. № 6. P. 401–406.
- Buggiotti L., Primmer C.R. Molecular evolution of the avian growth hormone gene and comparison with its mammalian counterpart // J. Evol. Biol. 2006. V. 19. № 3. P. 844–854.
- Chen E.Y., Liao Y.-C., Smith D.H. et al. The human growth hormone locus: Nucleotide sequence, biology, and evolution // Genomics. 1989a. V. 4. № 4. P. 479–497.
- Chen T.T., Agellon L.B., Lin C.M. et al. Evolutionary implications of two rainbow trout growth hormone genes // Fish Physiol. Biochem. 1989b. V. 7. art. ID 381. <https://doi.org/10.1007/BF00004732>
- Chiou C.-S., Chen H.T., Chang W.C. The complete nucleotide sequence of the growth-hormone gene from the common carp (*Cyprinus carpio*) // Biochim. Biophys. Acta, Gene Struct. Expression. 1990. V. 1087. № 1. P. 91–94.
- Das P., Meyer L., Seyfert H.-M. et al. Structure of the growth hormone-encoding gene and its promoter in mice // Gene. 1996. V. 169. № 2. P. 209–213.
- Daza D.O., Larhammar D. Evolution of the growth hormone, prolactin, prolactin 2 and somatolactin family // Gen. Comp. Endocrinol. 2018. V. 264. P. 94–112.
- Deng S.-P., Wu B., Zhu C.-H., Li G.-L. Molecular cloning and dimorphic expression of growth hormone (*gh*) in female and male spotted scat *Scatophagus argus* // Fish. Sci. 2014. V. 80. № 4. P. 715–723.

- DeNoto F.M., Moore D.D., Goodman H.M.* Human growth hormone DNA sequence and mRNA structure: possible alternative splicing // *Nucleic Acids Res.* 1981. V. 9. № 15. P. 3719–3730.
- Devlin R.H.* Sequence of sockeye salmon type 1 and 2 growth hormone genes and the relationship of rainbow trout with Atlantic and Pacific salmon // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1993. V. 50. № 8. P. 1738–1748.
- Du S.J., Devlin R.H., Hew C.L.* Genomic structure of growth hormone genes in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): presence of two functional genes, GH-I and GH-II, and a male-specific pseudogene, GH- ψ // *DNA Cell Biol.* 1993. V. 12. № 8. P. 739–751.
- Farchi-Pisanty O., Sternberg H., Moav B.* Transcriptional regulation of fish growth hormone gene // *Fish Physiol. Biochem.* 1997. V. 17. P. 237–246.
- Forbes S.H., Knudsen K.L., North T.W., Allendorf F.W.* One of two growth hormone genes in coho salmon is sex-linked // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. № 5. P. 1628–1631.
- González-Alvarez R., Revol de Mendoza A., Esquivel Escobedo D. et al.* Growth hormone locus expands and diverges after the separation of New and Old World monkeys // *Gene.* 2006. V. 380. № 1. P. 38–45.
- Gordon D.F., Quick D.P., Erwin C.R. et al.* Nucleotide sequence of the bovine growth hormone chromosomal gene // *Mol. Cell. Endocrinol.* 1983. V. 33. № 1. P. 81–95.
- Hirt H., Kimelman J., Birnbaum M.J. et al.* The human growth hormone gene locus: structure, evolution and allelic variations // *DNA.* 1987. V. 6. № 1. P. 59–70.
- Holland L.Z., Albalat R., Azumi K. et al.* The amphioxus genome illuminates vertebrate origins and cephalochordate biology // *Genome Res.* 2008. V. 18. № 7. P. 1100–1111.
- Hong Y., Scharl M.* Sequence of the growth hormone (GH) gene from the silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and evolution of the GH genes in vertebrates // *Biochim. Biophys. Acta, Gene Struct. Expression.* 1993. V. 1174. № 3. P. 285–288.
- Houston R.D., Macqueen D.J.* Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) genetics in the 21st century: taking leaps forward in aquaculture and biological understanding // *Anim. Genet.* 2019. V. 50. № 1. P. 3–14.
- Johansen B., Johnsen O.C., Valla S.* The complete nucleotide sequence of the growth-hormone gene from Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Gene.* 1989. V. 77. № 2. P. 317–324.
- Jones B.K., Monks B.R., Liebhaber S.A., Cooke N.E.* The human growth hormone gene is regulated by a multi-component locus control region // *Mol. Cell. Biol.* 1995. V. 15. № 12. P. 7010–7021.
- Kansaku N., Soma A., Furukawa S. et al.* Sequence of the domestic duck (*Anas platyrhynchos*) growth hormone-encoding gene and genetic variation in the promoter region // *Anim. Sci. J.* 2008. V. 79. № 2. P. 163–170.
- Kawauchi H., Moriyama S., Yasuda A. et al.* Isolation and characterization of chum salmon growth hormone // *Arch. Biochem. Biophys.* 1986. V. 244. № 2. P. 542–552.
- Kawauchi H., Suzuki K., Yamazaki T. et al.* Identification of growth hormone in the sea lamprey, an extant representative of a group of the most ancient vertebrates // *Endocrinology.* 2002. V. 143. № 12. P. 4916–4921.
- Kliwer S.A., Umesono K., Heyman R.A. et al.* Retinoid X receptor-COUP-TF interactions modulate retinoic acid signaling // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. № 4. P. 1448–1452.
- Kobayashi T., Yasuda A., Yamaguchi K. et al.* The complete amino acid sequence of growth hormone of the bullfrog (*Rana catesbeiana*) // *Biochim. Biophys. Acta, Protein Struct. Mol. Enzymol.* 1991. V. 1078. № 3. P. 383–387.
- Li M., Gao Z., Ji D., Zhang S.* Functional characterization of GH-like homolog in amphioxus reveals an ancient origin of GH/GH receptor system // *Endocrinology.* 2014. V. 155. № 12. P. 4818–4830.
- Lioupis A., Wallis O.C., Wallis M.* Cloning and characterisation of the gene encoding red deer (*Cervus elaphus*) growth hormone: implications for the molecular evolution of growth hormone in artiodactyls // *J. Mol. Endocrinol.* 1997. V. 19. № 3. P. 259–266.
- Lioupis A., Nevo E., Wallis M.* Cloning and characterisation of the gene encoding mole rat (*Spalax ehrenbergi*) growth hormone // *J. Mol. Endocrinol.* 1999. V. 22. № 1. P. 29–36.
- Male R., Nerland A.N., Lorens J.B. et al.* The complete nucleotide sequence of the Atlantic salmon growth hormone I gene // *Biochim. Biophys. Acta, Gene Struct. Expression.* 1992. V. 1130. № 3. P. 345–348.
- Maniou Z., Wallis O.C., Wallis M.* Episodic molecular evolution of pituitary growth hormone in Cetartiodactyla // *J. Mol. Evol.* 2004. V. 58. № 6. P. 743–753.
- McKay S.J., Devlin R.H., Smith M.J.* Phylogeny of Pacific salmon and trout based on growth hormone type-2 and mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 3 DNA sequences // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1996. V. 53. № 5. P. 1165–1176.
- Moriyama S., Oda M., Takahashi A. et al.* Genomic structure of the sea lamprey growth hormone-encoding gene // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2006. V. 148. № 1. P. 33–40.
- Moriyama S., Oda M., Yamazaki T. et al.* Gene structure and functional characterization of growth hormone in dogfish, *Squalus acanthias* // *Zool. Sci.* 2008. V. 25. № 6. P. 604–613.
- Noso T., Lance V.A., Kawauchi H.* Complete amino acid sequence of crocodile growth hormone // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1995. V. 98. № 3. P. 244–252.
- Oakley T.H., Phillips R.B.* Phylogeny of Salmonine fishes based on growth hormone introns: Atlantic (*Salmo*) and Pacific (*Oncorhynchus*) salmon are not sister taxa // *Mol. Phylogenet. Evol.* 1999. V. 11. № 3. P. 381–393.
- Ohkubo T., Araki M., Tanaka M. et al.* Molecular cloning and characterization of the yellowtail GH gene and its promoter: a consensus sequence for teleost and avian Pit-1/GHF-1 binding sites // *J. Mol. Endocrinol.* 1996. V. 16. № 1. P. 63–72.
- Panicz R., Sadowski J., Drozd R.* Genetic and structural characterization of the growth hormone gene and protein from tench, *Tinca tinca* // *Fish Physiol. Biochem.* 2012. V. 38. № 6. P. 1645–1653.
- Pérez-Maya A.A., Wallis M., Barrera-Saldaña H.A.* Structure and evolution of the gorilla and orangutan *growth*

- hormone loci* // Mamm. Genome. 2016. V. 27. № 9–10. P. 511–523.
- Phillips R.B., Matsuoka M.P., Konkol N.R., McKay S. Molecular systematics and evolution of the growth hormone introns in the Salmoninae // Environ. Biol. Fishes. 2004. V. 69. № 1–4. P. 433–440.
- Rajesh R., Majumdar K.C. A comparative account of the structure of the growth hormone encoding gene and genetic interrelationship in six species of the genus *Labeo* // Fish Physiol. Biochem. 2007. V. 33. № 4. art. ID 311. <https://doi.org/10.1007/s10695-007-9164-3>
- Rodríguez-Sánchez I.P., Tejero M.E., Cole S.A. et al. Growth hormone-related genes from baboon (*Papio hamadryas*): characterization, placental expression and evolutionary aspects // Gene. 2010. V. 450. № 1–2. P. 1–7.
- Ryynänen H.J., Primmer C.R. Varying signals of the effects of natural selection during teleost growth hormone gene evolution // Genome. 2006. V. 49. № 1. P. 42–53.
- Saunders M.C., Deakin J., Harrison G.A., Curlewis J.D. cDNA cloning of growth hormone from the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*) // Gen. Comp. Endocrinol. 1998. V. 111. № 1. P. 68–75.
- Sekar M., Singh S.D., Gupta S. Cloning and characterization of *Pangasianodon hypophthalmus* growth hormone gene and its heterologous expression // Appl. Biochem. Biotechnol. 2014. V. 173. P. 1446–1468.
- Sekkali B., Brim H., Muller M. et al. Structure and functional analysis of a tilapia (*Oreochromis mossambicus*) growth hormone gene: activation and repression by pituitary transcription factor Pit-1 // DNA Cell Biol. 1999. V. 18. № 6. P. 489–502.
- Sternberg H., Moav B. Regulation of the growth hormone gene by fish thyroid/retinoid receptors // Fish Physiol. Biochem. 1999. V. 20. № 4. P. 331–339.
- Su Y., Liebhaver S.A., Cooke N.E. The human growth hormone gene cluster locus control region supports position-independent pituitary- and placenta-specific expression in the transgenic mouse // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. № 11. P. 7902–7909.
- Tanaka M., Hosokawa Y., Watahiki M., Nakashima K. Structure of the chicken growth hormone-encoding gene and its promoter region // Gene. 1992. V. 112. № 2. P. 235–239.
- Tanaka M., Toma Y., Ohkubo T. et al. Sequence of the flounder (*Paralichthys olivaceus*) growth hormone-encoding gene and its promoter region // Gene. 1995. V. 165. № 2. P. 321–322.
- Valinsky A., Shani M., Gootwine E. Restriction fragment length polymorphism in sheep at the growth hormone locus is the result of variation in gene number // Anim. Biotechnol. 1990. V. 1. № 2. P. 135–144.
- Venkatesh B., Brenner S. Genomic structure and sequence of the pufferfish (*Fugu rubripes*) growth hormone-encoding gene: a comparative analysis of teleost growth hormone genes // Gene. 1997. V. 187. № 2. P. 211–215.
- Von Schalburg K.R., Yazawa R., de Boer J. et al. Isolation, characterization and comparison of Atlantic and Chinook salmon growth hormone 1 and 2 // BMC Genomics. 2008. V. 9. Art. ID 522. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-522>
- Wallis M. Variable evolutionary rates in the molecular evolution of mammalian growth hormones // J. Mol. Evol. 1994. V. 38. № 6. P. 619–627.
- Wallis M. The molecular evolution of vertebrate growth hormones: a pattern of near-stasis interrupted by sustained bursts of rapid change // J. Mol. Evol. 1996. V. 43. № 2. P. 93–100.
- Wallis O.C., Wallis M. Cloning and characterisation of the rabbit growth hormone-encoding gene // Gene. 1995. V. 163. № 2. P. 253–256.
- Wallis O.C., Wallis M. Molecular evolution of growth hormone (GH) in Cetartiodactyla: cloning and characterization of the gene encoding GH from a primitive ruminant, the chevrotain (*Tragulus javanicus*) // Gen. Comp. Endocrinol. 2001. V. 123. № 1. P. 62–72.
- Wallis O.C., Zhang Y.P., Wallis M. Molecular evolution of GH in primates: characterisation of the GH genes from slow loris and marmoset defines an episode of rapid evolutionary change // J. Mol. Endocrinol. 2001. V. 26. № 3. P. 249–258.
- Westrich K.M., Konkol N.R., Matsuoka M.P., Phillips R.B. Interspecific relationships among charrs based on phylogenetic analysis of nuclear growth hormone intron sequences // Environ. Biol. Fishes. 2002. V. 64. № 1–3. P. 217–222.
- Yamada S., Hata J., Yamashita S. Molecular cloning of fish Pit-1 cDNA and its functional binding to promoter of gene expressed in the pituitary // J. Biol. Chem. 1993. V. 268. № 32. P. 24361–24366.
- Yamaguchi K., Yasuda A., Lewis U.J. et al. The complete amino acid sequence of growth hormone of an elasmobranch, the blue shark (*Prionace glauca*) // Gen. Comp. Endocrinol. 1989. V. 73. № 2. P. 252–259.
- Yamano Y., Abe M., Mikawa S. et al. Structural analysis of repetitive DNA sequences in the goat growth hormone gene region // Agric. Biol. Chem. 1991. V. 55. № 3. P. 633–639.
- Yang B.-Y., Chan K.-M., Lin C.-M., Chen T.T. Characterization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth hormone 1 gene and the promoter region of growth hormone 2 gene // Arch. Biochem. Biophys. 1997. V. 340. № 2. P. 359–368.
- Yasuda A., Yamaguchi K., Papkoff H. et al. The complete amino acid sequence of growth hormone from the sea turtle (*Chelonia mydas*) // Gen. Comp. Endocrinol. 1989. V. 73. № 2. P. 242–251.
- Yowe D.L., Epping R.J. Cloning of the barramundi growth hormone encoding gene: a comparative analysis of higher and lower vertebrate GH genes // Gene. 1995. V. 162. № 2. P. 255–259.
- Yuri T., Kimball R.T., Braun E.L., Braun M.J. Duplication of accelerated evolution and growth hormone gene in passerine birds // Mol. Biol. Evol. 2008. V. 25. № 2. P. 352–361.
- Zhu Z., He L., Chen T.T. Primary-structural and evolutionary analyses of the growth-hormone gene from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) // Eur. J. Biochem. 1992. V. 207. № 2. P. 643–648.

Fish Growth Hormone Genes: Structure and Divergence

D. N. Kamenskaya^a and V. A. Brykov^{a, b}

^a*A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia*

^b*School of Natural Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok 690012, Russia*

The review provides information about the structure of growth hormone genes (GHG) in fish and the divergence of coding, intron, and adjacent flanking regions; original data, obtained in our laboratory, is also considered. In most fish species, GHG is represented by a single copy, while some of taxonomic groups have two paralogous genes. Coding sequences of GHGs are conservative. The gene length variations depend on the length of non-coding introns and flanking regions. The divergence rate of gene sequences varies not only between different taxonomic groups, but also in time of divergence within groups. In flanking regions, only regulatory elements are conservative.

Keywords: growth hormone gene, regulatory regions, divergence