

# 行政院國家科學委員會研究計畫成果報告

計畫編號：NSC89-2317-B-002-005

執行期限：89年1月1日至89年12月31日

主持人：廖文亮

執行機構及單位名稱：國立台灣大學漁業科學研究所

E-mail: wlliao@ccms.ntu.edu.tw

題目：重組類胰島素成長因子對笛鯛魚類成長之研究

Title: Studies on the recombinant insulin-like growth factor of growth performance of snapper

## 一、中文摘要

此研究利用大腸桿菌生產吳郭魚的重組類胰島素成長因子，以飼料添加的方式，飼養成長遲緩之笛鯛類，探討成長促進的效果。以魚粉為主要蛋白源添加0,0.5,1.0,2.5及5.0%的含吳郭魚重組類胰島素成長因子的乾燥 *E.coli* 飼養赤鰭笛鯛六週後以增重率及飼料效率評估成長效果，結果最適添加量為0.5%。利用最適添加量0.5%與無添加評估持續或間斷添加對赤鰭笛鯛成長效果。飼養九週後結果持續添加較無添加組增重率及飼料效率高出50%及20%。

**關鍵詞：**重組類胰島素成長因子、飼料、赤鰭笛鯛、成長促進

## Abstract

These studies were conducted in Tilapia insulin-like growth factor from *Escherichia coli* and supplemented diets on the growth promotion of snappers. Red striped snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) were fed with diets containing 0, 0.5, 1.0, 2.5 and 5 % five levels recombinant Tilapia insulin-like growth factor, respectively. After 6 Weeks of feeding, the optimal amount of recombinant Tilapia insulin-like growth factor added in feed is 0.5%. The group continuous fed with 0.5% recombinant Tilapia insulin-like growth factor diet, a higher growth rate 50% and feed efficiency 20% were found than the control group.

**Keywords:** Recombinant Insulin-like growth factor, feed, red striped snapper (*Lutjanus argentimaculatus*, growth promotion

## 二、緣由與目的

脊椎動物腦下腺前葉所分泌的成長激素(Growth hormone, GH)經血液送至肝臟結合後而分泌的 Insulin-like growth factor, IGF 又稱為促生長因子，具有合成代謝及促進有絲分裂的生物效應 (Daughaday et al.,1989)。IGF- 被證實存在鮭魚、吳郭魚及虹鱒(Lindahl et al.,1985, Drakenberg et al.,1989, Moriyama et al.,1995)，在魚類中 IGF- 的感受體 (Gutierrez et al.,1993, Maestro et al.,1997) 及結合蛋白 (Anderson et al., 1993, Niu and LeBail 1993, Fukazawa et al.,1995, Moriyama et al.,1997) 也有許多的報告。在哺乳類之研究，成長激素與 IGF 對生物體之成長調控具有相關性(Bern et al.,1991) 魚類最早由虹鱒選殖出 IGF- 及 IGF- 與人類比較有 43.3% 及 53.6% 的相似性(Shablott and Chen,1992)。利用哺乳類 IGF- 對鮭魚有刺激成長及軟骨硫化作用的效果 (McCormick et al.,1992)。鮭魚 IGF- 可由大腸桿菌表現重組蛋白 (Moriyama et al.,1993)。在本土性的研究以中研院動物所研究群，選殖吳郭魚的 IGF 基因(Chen, et al.,1998) 吳郭魚的 IGF- 利用大腸桿菌生產重組蛋白，在吳郭魚卵巢細胞株中具有劑量依存之關係(Chen, et al.,1997) 吳郭魚的 IGF- 重組蛋白以魚體重每克腹腔注射 2  $\mu$ g 對吳郭魚幼魚有促進幼魚成長之效果(Chen, et al.in press)。

笛鯛主要分布於印度洋至太平洋海域，在台灣以高雄、東港及恆春沿岸為其棲息地。笛鯛屬中的銀紋笛鯛 (*Lutjanus argentimaculatus*)、赤鰭笛鯛 (*Lutjanus erythropterus*) 及白星笛鯛 (*Lutjanus stellatus*) 經人工繁殖成功，成為箱網海水

魚養殖的主要經濟性魚種，因成長較遲緩，約要兩年才達市場需求 600g~1000g 的大小，為加速成長以縮短上市時間，不僅可減少天候因素的損失，更能增加市場競爭力。本研究將以吳郭魚的類胰島素成長因子 IGF 利用大腸桿菌的生產重組蛋白，以飼料添加的方式，飼養成長遲緩之笛鯛類，探討成長促進的效果。

### 三、結果與討論

#### (一) 添加量的飼養實驗

經初步添加量之研究，以平均體重 7g 的赤鰭笛鯛 12 尾於室內黑色塑膠桶注水量約 100 公升，飼養四週雙重複，每 100g 飼料中添加 0.4g 含有重組吳郭魚 IGFs 的乾燥 *E.coli* 在增重率及飼料效率為佳，較對照組高出 27 % 增重率及 16 % 飼料效率。

每 100g 飼料中無添加與添加 0.25、0.5、1.0、2.5 及 5.0g 含有重組吳郭魚 IGFs 的乾燥 *E.coli*，飼養於室內黑色塑膠桶注水量約 100 公升，平均體重 12g 的赤鰭笛鯛 10 尾飼養六週雙重複，結果添加 0.5g 在增重率及飼料效率為佳，較對照組高出 50 % 增重率及 14 % 飼料效率。經 CAP 包覆 0.25 及 0.5g 含有重組吳郭魚 IGFs 的乾燥 *E.coli*，較對照組高出 17 % 增重率及 1 %、5 % 飼料效率。

每 100g 飼料中無添加與添加 0.5g 含有重組吳郭魚 IGFs 的乾燥 *E.coli* 於室外土池置八個小型浮水箱網 (120 × 70 × 70cm) 以平均體重 23g 的赤鰭笛鯛 15 尾飼養六週四重複，結果添加 0.5g 在增重率及飼料效率為佳，較無添加組高出 18 % 增重率及 16 % 飼料效率。飼養九週後結果持續添加 0.5g 較無添加組高出 50 % 增重率及 20 % 飼料效率。

#### (二) 自評

研究內容與計畫相符合，預期目標為加速成長 20 %，每 100g 飼料中添加 0.4g 含有重組吳郭魚 IGFs 的乾燥 *E.coli*，初步

飼養四週的資料，已較對照組高出 27 % 增重效果。每 100g 飼料中添加 0.5g 含有重組吳郭魚 IGFs 的乾燥 *E.coli* 較對照組高出 50 % 增重效果。每 100g 飼料中添加 0.5g 為最適添加量，持續性的添加無負作用，效果不錯。此成果可提供菌產含有重組吳郭魚 IGFs 的乾燥 *E.coli* 於水產餌料之重要根據及基礎。

#### (三) 參考文獻

- Anderson, T.A., Bonnet, L.R., Conlon, M.A. and Owens, P.C., 1993. Immunoreactive and receptor active Insulin-like growth factor- and IGF-binding protein in blood plasma from the freshwater fish *Macquaria ambigua* (golden perch). *J. Endocrinol.*136:191-198.
- Bern, H.A., McCormick, S.D., Kelley, K.M., Gray, E.S., Nishioka, R.S., Madsen, S.S. and Tsai, P.I., 1991. Insulin-like growth factors under water : Role in growth and function of fish and other poikilothermic vertebrates. In "Modern Concepts of Insulin-like Growth Factors" (Spencer, E.M., ed.), pp.85-96 Elsevier, New York.
- Chen, J.Y., Chang, C.Y., Chen, J.C., Shen, S.C. and Wu, J.L., 1997. Production of biologically active Recombinant Tilapia Insulin-like growth factor - polypeptides in *Escherichia coli* cells and Characterization of the genomic structure of the coding region. *DNA Cell Biol.*16:883-892.
- Chen, J.Y., Tsai, H.L., Chang, C.Y., Wang, J.I., Shen, S.C. and Wu, J.L., 1998. Isolation and Characterization of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Insulin-like growth factors gene and Proximal

- promoter region. *DNA Cell Biol.*17:359-376.
- Daughaday, W.H. and Rotwein, P., 1989. Insulin-like growth factors and peptide messenger Ribonucleic acid and gene structures serum and tissue concentrations. *Endocr.Rew.*10:68-91
- Drakenberg, k., Sara, V.R., Lindahl, k. and Kewish, B., 1989. Study of Insulin-like growth Factors in Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 74:173-180.
- Fukazawa, Y., Siharath, K., Iguchi, T. and Bern, H.A., 1995. In vitro secretion of Insulin-like growth Factor-binding protein from liver of striped bass, *Morone saxatilis*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 99:239-247.
- Gutierrez, J., Parrizas, M.,Carneiro, N., Maestro, M.A. and Planas, J., 1993. Insulin and IGF- receptors and tyrosine kinase activity in carp ovaries: Changes with reproductive cycle . *Fish Physiol. Biochem.* 11:247-254.
- Lindahl, K.I., Sara, V.R., Friberg, G. and Nishimiya, T., 1985. The presence of somatomedin in the Baltic Salmon, *Salmo salar*, with special reference to smoltification. *Aquaculture* 45:177-183.
- Maestro, M.A., Planas, J.V., Moriyama, S., Gutierrez, J., Planas, J. and Swanson, P., 1997. Ovarian Receptors for insulin and Insulin-like growth factor (IGF- ) and effects of IGF- on steroid Production by isolated follicular layers of the preovulatory coho salmon ovarian follicle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 106:189-201.
- McCormick, S.D., Kelley, K.M.,Young, G., Nishioka, R.S. and Bern, H.A., 1992. Stimulation of coho Salmon growth by Insulin-like growth factor . *Gen. Comp. Endocrinol.* 86:398-406.
- Moriyama, S., Duguay, S.J., Conlon, J.M., Duan, C., Dickhoff, W.W. and Plisetskaya, E.M., 1993. Recombinant coho salmon Insulin-like growth factor- : expression in *Escherichia coli*, Purification and characterization.*Eur.J.Biochem.*218:205-212.
- Moriyama, S., Dickhoff, W.W. and Plisetskaya, E.M., 1995. Isolation and characterization of Insulin-like Growth factor- from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 99:221-229.
- Moriyama, S., Kagawa, H., Duan, C., Dickhoff, W.W. and Plisetskaya, E.M., 1997. Characterization of two forms of recombinant salmon Insulin-like growth factor- : Activities and complexing with Insulin-like growth factor- binding proteins. *Comp. Biochem. Physiol.* 117C: 201-206.
- Niu, P.-D. and LeBail, P.-Y., 1993. Presence of insulin-like growth factor binding protein in rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) serum. *J. Exp. Zool.* 265: 627-636.
- Shamblott, M.J. and Chen T.T., 1992. Identification of a second insulin-like growth factor in fish species. *Proc.Nat.Acad.Sci., USA* 89: 8913-8917.