

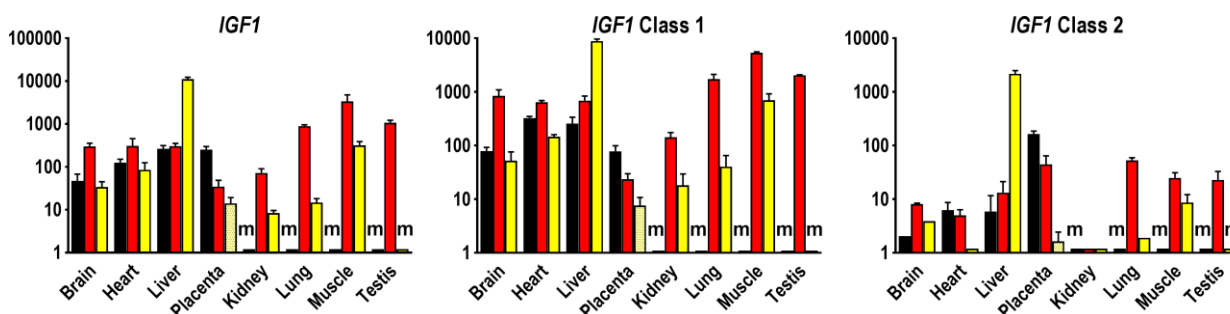
IGFBP2 هیچگونه کاهش رشدی را نشان ندادند، اما طحال کوچکتر و اندازه کبد بزرگتری نسبت به موش های سالم داشتند (Wood et al, 2000). بیان ژن هورمون رشد عمدتاً از غده هیپوفیز است که به عنوان یک محرک اصلی بر تولید IGF1 در کبد تأثیر می گذارد. شواهدی برای بیان GH در بعضی از بافت های دیگر یافت می شود، که ممکن است به عنوان یک عامل رشد پاراکرین عمل کند (Harvey, 2010). مطالعات زیادی در مورد ژن های محور GH-IGF1 در گونه های مختلف انجام گرفته، گرچه هنوز اطلاعات جامعی در مورد بیان ژن در بافت ها و مراحل مختلف رشد در گونه گاو وجود ندارد (Ghanipoor-Samami & Javadmanesh et al, 2018). هدف از انجام این تحقیق بررسی بیان ژن های محور GH-IGF1 در چهار مرحله رویانی، جنینی، هنگام تولد و یک سالگی در بافت های مغز، جفت، قلب، کلیه، کبد، ریه، ماهیچه اسکلتی و بیضه بود.

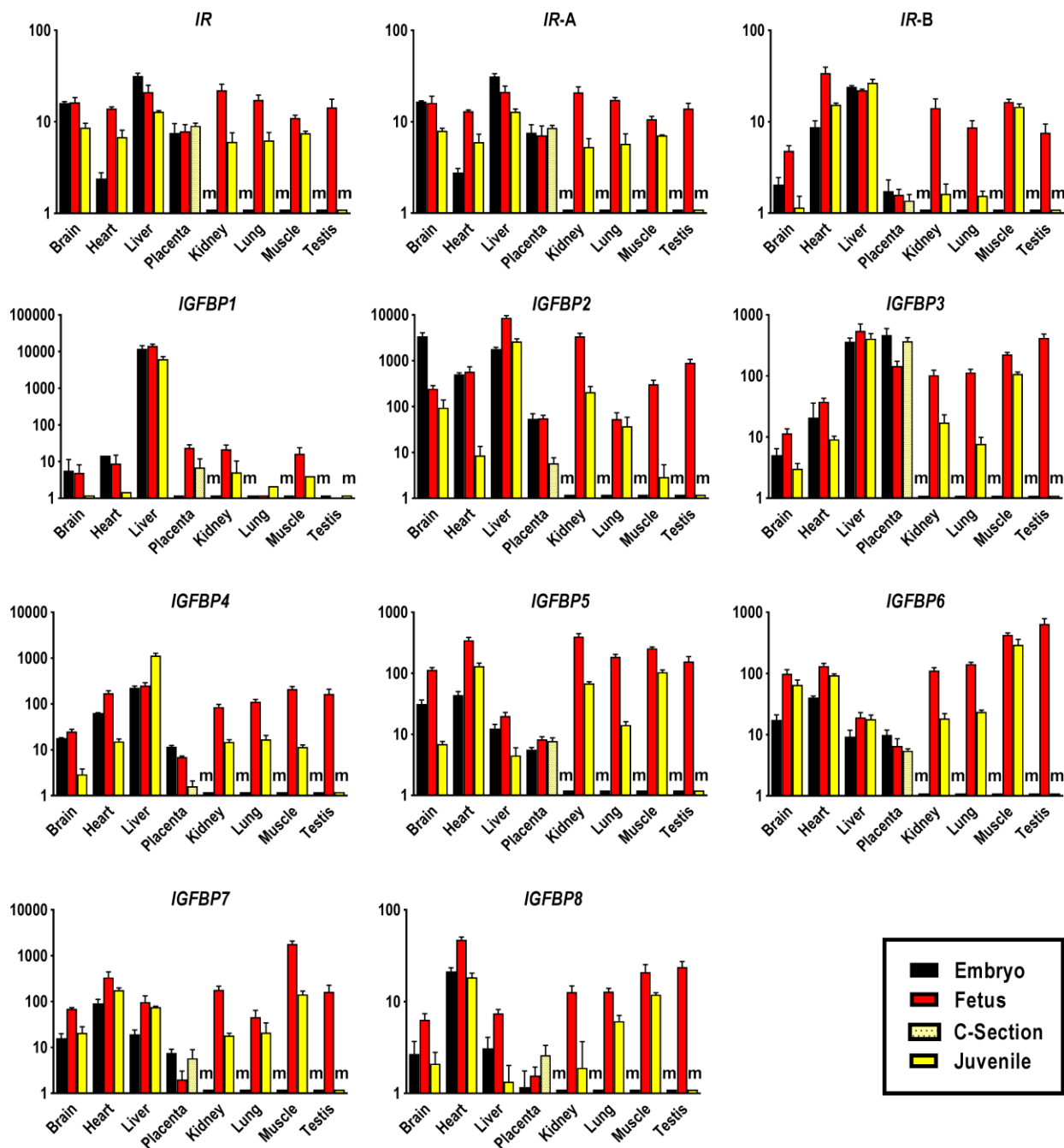
مواد و روش ها

بافت ها از سه لایه زاینده اکتودرم، مزودرم و اندودرم انتخاب شدند. نمونه ها در محلول RNAlater و در دمای -۸۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند و پس از استخراج RNA به روش ترايزول، cDNA ساخته شد. از واکنش Real time-qPCR برای اندازه گیری بیان ژن های IGF1، IGF1R، IGF1 Class 1 و IGF1 Class 2، رونوشت اصلی گیرنده انسولین (IR)، IR-A، IR-B، IR، GHR، GHR-1A، GHR-1B، GHR-1C، IGF1 Class 1، IGF1 Class 2، IGF1 Class 3، IGF1 Class 4، IGF1 Class 5، IGF1 Class 6، IGF1 Class 7، IGF1 Class 8 و IGF1 Class 9 استفاده شد. فراوانی نسبی هر رونوشت هدف با استفاده از روش منحنی استاندارد با در نظر گرفتن راندمان واکنش PCR محاسبه شد و کلیه واکنش ها تحت استاندارد MIQE انجام شد (Bustin et al, 2009).

نتایج و بحث

بیان ژن های محور GH-IGF1 الگوی بیان خاصی را در هر بافت نشان داد (شکل ۱) که در مراحل مختلف نمو نیز متفاوت بود. هیچ mRNA قابل تشخیصی GH در بافت های مورد مطالعه وجود نداشت. داده های موجود نشان می دهد که GHR در بافتهای مختلف جنینی و رویان بیان شده است. از آنجاییکه شواهد ناشی از نقش مستقیم GH در رشد و نمو قبل از تولد وجود ندارد و از آنجا که توانایی اتصال همرمون های دیگر مانند PRL و PL که مخصوص دوره آبستنی هستند، وجود دارد ممکن است دلایل دیگری برای رونویسی GHR در مراحل قبل از تولد در گاو وجود داشته باشند. سطح بیان اکثر رونوشت ها در بافت های پس از تولد پایین تر از بافت جنینی بود، به استثنای کبد، که در آن بیان IGF1، GHR و IGF1 Class 4 افزایش داشت و هیچ تغییری در بیان IR، IGF1 Class 1، IGF1 Class 2 و IGF1 Class 3 مشاهده نشد. بیان ژن های IGF1 و GHR به طور قابل توجهی در همه بافت ها و مراحل مختلف رشد همبستگی معنی داری داشتند ($P < 0.05$, 0.73-0.99) که می تواند با نقش محوری GHR-IGF1 در رشد و تکامل جنین در گاو توجیح شود.





شکل ۱- پروفایل بیان ژن های محور GH-IGF1 در بافت های مختلف و مراحل پیش و پس از تولد در گاو.



منابع

- Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, et al. 2009. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*. 55(4):611-22.
- Ghanipour Samami M., Javadmanesh, A., Burns BM, Thomsen DA, Natrass GS, Estrella CAS, Kind KL, Hiendleder SG. 2018. Atlas of tissue- and developmental stage specific gene expression for the bovine insulin-like growth factor (IGF) system. *PlosOne*. 13(7): e0200466.
- Harvey S. 2010. Extrapituitary growth hormone. *Endocrinology*, 38: 335–359.
- Kim H-S. 1997. Identification of a family of low-affinity insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs): Characterization of connective tissue growth factor as a member of the IGFBP superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(10): 5841.
- LeRoith D, Bondy C, Yakar S, Liu J L and Butler A. 2001. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocrinology Reviews*, 22: 53–74.
- Lonergan P, Gutiérrez-Adán A, Pintado B, Fair T, Ward F, Fuente J D and Boland M. 2000. Relationship between time of first cleavage and the expression of IGF-I growth factor, its receptor, and two housekeeping genes in bovine two-cell embryos and blastocysts produced in vitro. *Molecular Reproductive Dev*, 57(2): 146-152.
- Nakae J, Kido Y and Accili D. 2001. Distinct and Overlapping Functions of Insulin and IGF-I Receptors. *Endocrinology Reviews*, 22(6): 818-835.
- Wood T L, Rogler L E, Czick M E, Schuller A G and Pintar J E. 2000. Selective alterations in organ sizes in mice with a targeted disruption of the insulin-like growth factor binding protein-2 gene. *Molecular Endocrinology*, 14: 1472–1482.



A comprehensive expression analysis of GH-IGF1 axis transcripts in bovine pre- and postnatal tissues

Ali Javadmanesh¹, Brian Burns², Dana Thomsen^{3,4}, Greg Nattrass⁵, Karen Kind^{3,4}, Stefan Hiendleder^{*3,4}

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2. Centre for Animal Science, Queensland Alliance for Agriculture and Food Innovation, The University of Queensland, Rockhampton, Queensland, Australia

3. Robinson Research Institute, The University of Adelaide, Adelaide, South Australia, Australia

4. JS Davies Epigenetics and Genetics Group, Davies Research Centre, School of Animal and Veterinary Sciences, Roseworthy Campus, The University of Adelaide, Roseworthy, South Australia, Australia

5. Livestock Systems, South Australian Research and Development Institute (SARDI), Roseworthy, South Australia, Australia

* Corresponding author's email: stefan.hiendleder@adelaide.edu.au

Abstract

GH-IGF1 axis has a crucial role in growth and development in mammalian species. Genes involved in this axis have been studied extensively, although there is not a comprehensive and detailed expression data set on tissue- and developmental-stage specific expression in cattle. The present study demonstrated transcript abundance of GH-IGF1 axis genes in several bovine tissues in days 48 (60 samples) and 153 prenatal (73 samples), day 277 at birth (6 samples), and 1-year old juveniles (23 samples). Quantitative real time-PCR was used to quantify transcript abundance of IGF1 overall transcript, IGF1 class 1 and class 2, IGF1R, insulin receptor (IR) overall transcript, IR-A, IR-B, GH, GHR overall transcript, GHR-1A, GHR-1B, GHR-1C, insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP1), IGFBP2, IGFBP3, IGFBP4, IGFBP5, IGFBP6, IGFBP7 and IGFBP8, in brain, cotyledon, heart, kidney, liver, lung, skeletal muscle and testis. GH-IGF1 axis transcripts showed specific pattern of expression in each tissue that differed across developmental stages. There was no detectable GH mRNA in studied tissues. The present data showed that GHR transcript was expressed in a variety of bovine fetal and embryonic tissues. Since there is no published evidence of a direct role of GH in prenatal growth and development and since the ability of binding other ligands such as PRL and PL, which are specific to gestational age, there could be other mechanisms contributing to differential GHR transcription during bovine fetal development. The abundance of most transcripts in postnatal tissues was lower than in fetal tissue, except in liver, which showed increased IGF1, GHR and IGFBP4 expression and no change for IR, IGFBP1, IGFBP3 and IGFBP6 transcript. IGF1 and GHR transcripts were significantly correlated (0.73-0.99, $P < 0.05$) across all tissues and developmental stages which could be explained by a role of GHR-IGF1 axis in prenatal growth and development in bovine.

Keywords: IGF1, Cattle, Prenatal development, Gene expression, Liver