

养殖鱼类生殖内分泌调控相关功能基因的研究和应用

张勇,李水生,刘云,刘晓春,林浩然

(中山大学 有害生物控制与资源利用国家重点实验室;水生经济动物研究所暨广东省水生经济动物繁殖重点实验室,广东 广州 510275)

摘要: 新型的神经内分泌因子 kisspeptin 与 GnIH (gonadotropin-inhibitory hormone) 对哺乳动物的生殖轴起着直接而相反的调控作用, kisspeptin 刺激脑垂体促性腺激素 (GtH, gonadotropin) 的合成与释放, 而 GnIH 抑制 GtH 的合成与释放。然而, 在鱼类中, 相关研究甚少。本研究室利用比较基因组学技术, 通过同线性分析结合分子生物学手段, 在斑马鱼 (*Danio rerio*)、金鱼 (*Carassius auratus*) 中克隆得到了 kisspeptin (*kiss1*、*kiss2*) 与 GnIH 以及它们相关受体的基因 cDNA 序列。氨基酸序列同源比对结果显示: 在脊椎动物中, kisspeptin 的核心肽相对保守, 而 GnIH 的核心肽在不同物种中则有较大的差异。比较基因组分析显示 kisspeptin 与 GnIH 基因在鱼类、两栖类、鸟类和哺乳类都维持着保守的同线性结构; 并且, 同线性的结果表明, 鱼类 *kiss1* 与 *kiss2* 基因来源于早期的基因组复制, 在漫长的进化过程中, 哺乳类丢失了 *kiss2* 基因。通过配体受体结合实验, 证明 2 种 kisspeptins 均能激活其相关受体 GPR54 (GPR54a、GPR54b), 启动下游通路, 但却存在一定的配体-受体选择性差异。金鱼、斑马鱼组织表达模式研究显示: kisspeptins 与 GnIH 以及它们相关受体在生殖相关组织或区域(下丘脑、垂体、性腺)均有丰富的表达, 提示 kisspeptins 与 GnIH 可能参与鱼类的生殖调控。通过化学合成金鱼 kisspeptins 与 GnIH 的核心肽, 在体注射成熟的雌性金鱼, 发现 *kiss1* 能显著刺激金鱼 LH 的分泌, 并且能诱导金鱼排卵, 而 *kiss2* 不能; 在高剂量的状况下, GnIH 亦能有效抑制金鱼 LH 的分泌。然而, 在离体实验中, 2 种 kisspeptin 与 GnIH 对金鱼垂体细胞 LH 的分泌均没有显著的影响, 提示 kisspeptins 与 GnIH 对金鱼的 LH 调控可能发生于下丘脑水平。以上结果表明: 与哺乳动物相类似, 在鱼类生殖轴中也存在 kisspeptins 与 GnIH 的正负调控系统。本文侧重对这项研究以及相关的研究成果进行归纳与分析, 旨在为深入探讨鱼类生殖内分泌调控相关功能基因提供参考。[中国水产科学, 2010, 17(2): 363-368]

关键词: kisspeptin; GnIH; GtH; 生殖调控

中图分类号: S9

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)02-0363-07

鱼类是人类所需动物蛋白的重要来源。中国是世界第一的渔业大国和水产养殖大国, 其中, 水产养殖产量占世界总产量 70% 左右。在水产养殖品种中, 鱼类是继藻类、贝类和虾类之后的第四个发展浪潮。目前, 中国的养殖鱼类产量已占水产养殖产量的 56% 以上。鱼类养殖是中国水产业今后发展的主攻方向。养殖鱼类的生殖生长和苗种规模化繁育是鱼类养殖业持续健康发展的必要前提和关键技术基础之一。

20 世纪 80 ~ 90 年代, 本实验室系统进行鱼类生殖内分泌调控机理研究, 并运用理论研究成果, 研

制成功国内外首创的新型鱼类催产剂, 取得显著的推广应用成效, 解决了养殖鱼类人工繁殖和苗种来源的问题。进入 21 世纪后, 开发利用水产养殖动物基因资源成为建设现代养殖业的重要研究方向。本实验室系统进行鱼类生殖调控相关激素与神经内分泌因子及其受体基因的克隆和重组表达, 取得一些新的进展, 为研制新一代鱼类催产剂奠定基础。本文侧重对这方面的研究进行归纳与分析, 旨在为深入了解鱼类生殖内分泌调控相关功能基因提供基础信息。

收稿日期: 2009-08-12; **修订日期:** 2009-10-25.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30700611; U0631007); 广东省自然科学基金资助项目(9151027501000081); 高等学校博士学科点专项科研基金(20090171110031).

作者简介: 张勇(1978-), 男, 博士, 主要从事鱼类生理学研究.

通讯作者: 林浩然, 教授, 主要从事鱼类生理学研究. E-mail: lsslhr@mail.sysu.edu.cn

1 鱼类生殖活动的调控

鱼类的生殖活动主要受“脑/下丘脑-脑垂体-性腺”轴(brain-pituitary-gonad axis, BPG 轴)调控,脑/下丘脑分泌产生促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone, GnRH)刺激脑垂体促性腺激素(gonadotropin, GtH)的合成与释放,促性腺激素作用于性腺,刺激性腺类固醇激素的生成与分泌,促进性腺发育成熟、配子生成排放。脑/下丘脑分泌产生许多神经内分泌因子可以直接或间接参与生殖轴的调控,例如刺激性因子神经肽 Y (NPY),抑制性因子多巴胺(DA)等调控 GnRH 和 GtH 的合成与分泌^[1]。

2 kisspeptin/GPR54 与 GnIH/GnIHR 信号系统

随着现代生物学的发展,生物信息学和分子生物学提供了更快更有效地发现新功能基因的方法,特别是在神经内分泌研究方面,极大地加快了新型神经内分泌因子的研究^[2]。现已证明,在脊椎动物脑中普遍存在一种 C 末端为 Arg-Phe-NH₂ (RFamide) 的短肽。它们最早在软体动物(*Macrocallista nimbosa*) 中被发现,是一种心血管调节因子^[3]。近 20 年的研究发现,从鱼类、两栖类到鸟类、哺乳类,都普遍存在这种结构相似的肽类,根据结构特征可把它们归类为 RF 肽家族^[4]。研究表明,RF 肽家族对生殖系统的神经内分泌调控起着直接或间接的作用,其中, kisspeptin 和 GnIH (gonadotropin-inhibitory hormone) 这 2 种 RF 肽对生殖轴的调控起着直接而相反的作用。kisspeptin 通过刺激 GnRH 的分泌,从而控制 GtH 的合成与释放;而 GnIH 则抑制 GnRH 和 GtH 的合成与释放。

Kisspeptin 由 *kiss-1* 基因编码^[5],它的受体是一种 G 蛋白偶联受体 GPR54^[6]。2003 年的研究发现,编码 GPR54 的基因发生失活突变,将导致人类的性腺功能减退和青春期迟滞^[7-8],而且,在敲除 *kiss-1* 或 *GPR54* 基因的小鼠也发现类似的表现型^[8-9]。原位杂交和免疫组织化学显示, kisspeptin 主要分布于下丘脑的弓状核区与前腹侧室周核区,其神经纤维一直延伸到 GnRH 神经元聚集的视前区^[10-11]。研

究发现, kisspeptin 通过调控 GnRH 的释放,从而刺激脑垂体 GtH 的合成与释放,进而控制生殖轴的各种生理活动;同时,下游的性类固醇激素可以通过负反馈或正反馈途径来调控 kisspeptin 的表达,维持生殖轴上各个信号分子处于动态平衡中^[10-15]。kisspeptin/GPR54 信号系统的发现,极大地拓展了人们对神经生殖内分泌网络调控的认识,如青春期启动、性类固醇激素对 GtH 的正负反馈调控、雌性动情周期的分子调控机理、季节繁殖活动调控等方面^[16-17]。

GnIH 最先在鸟类中发现^[18],它的受体是一种 G 蛋白耦联受体^[19-20],称之为 GnIHR。在体和离体研究都表明,外源 GnIH 能以剂量依存的方式抑制 GtH 的释放^[18];在哺乳类中,同样存在 GnIH 对生殖轴的负调控作用,而且性类固醇激素对促性腺激素负反馈作用也是通过 GnIH 介导的^[21]。在鸟类和哺乳类中, GnIH 免疫阳性细胞主要集中于下丘脑的内背侧核,视前核,正中隆起等 GnRH 神经元集中的区域,双荧光免疫组织化学结果表明 GnIH 神经纤维能深入 GnRH 神经元^[21]。表明 GnIH 既可以直接作用于脑垂体抑制 GtH 分泌,也可以通过作用于 GnRH 神经元,从而抑制 GtH 合成与分泌^[22]。

kisspeptin 和 GnIH 作为脊椎动物生殖神经内分泌轴的一个重要的组成部分,可能起到精确调控生殖过程的作用,它们的发现引起了广泛的关注与讨论,成为近年来生殖生理学研究领域的热点。随着对 kisspeptin 和 GnIH 研究的深入,发现它们很可能在各个脊椎动物类群的生殖内分泌调控轴中起到重要的纽带作用。

3 鱼类 kisspeptin/GPR54 的研究

2004 年, Parhar 等^[23]在罗非鱼中首次克隆了鱼类第一个 *GPR54*, 并发现其在 GnRH 神经元上有表达,开启了鱼类 kisspeptin/GPR54 系统的研究。随后,在胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)中相继克隆了 *GPR54* 的 cDNA 序列^[24-25];在 2008 年,鱼类 kisspeptin 分别在斑马鱼、青鳉(*Oryzias latipes*)中克隆得到^[26-28],紧接着,在 2009

年又报道了鱼类存在第2种 kisspeptin^[29]。这些结果初步证明,鱼类存在 kisspeptin/GPR54 信号系统,并且在鱼类青春期启动、刺激 GtH 的合成与释放等方面具有重要的作用。

与哺乳类不同,在鱼类中存在2种 GPR54 与2种 kisspeptin 基因,通过基因共线性分析,可以发现:鱼类的2种 kisspeptin 来源于一个共同的祖先基因,在脊椎动物发生早期,通过基因组或者染色体片段的复制而形成,经过漫长的生物进化,在高等哺乳动物中已经丢失了 kiss2 基因,而在鱼类仍然保留着两个 kisspeptin 基因。以金鱼为实验模型,首先,克隆了金鱼(*Carassius auratus*)的 kisspeptin 和 GPR54 cDNA,序列分析显示:金鱼2种 kisspeptin 的氨基酸序列有着较大的差异,但是它们的核心十肽则较为保守,有3个氨基酸差异,但性质相似;金鱼的2种 GPR54 的氨基酸相似度达到56%,在胞外区差异较大,但在跨膜区极其保守。此外,它们在各个组织中的表达也有着较大的区别, kiss1 基因在视顶盖、肠、肾与精巢中表达较高,而 kiss2 基因主要在下丘脑、前脑、视顶盖、脂肪、肾、心脏及性腺中表达; GPR54a 与 GPR54b 在各个脑区都有较高的表达,但在外周组织 GPR54b 的表达比 GPR54a 要广泛。其次,为了更进一步了解 kisspeptin/GPR54 系统,本实验室将金鱼的2种 GPR54 通过瞬时转染表达达到 COS7 细胞上,研究受体-配体之间的相互关系。结果显示:金鱼2种 kisspeptin 的核心十肽均能有效地结合2种 GPR54,激活受体下游信号,但表现出一定的受体-配体选择性差异。 kiss1 能通过 GPR54a 显著地增加下游 SRE、CRE 信号,但却只能诱导 GPR54b 下游的 CRE 信号; kiss2 通过与 GPR54b 结合,激活其下游的 SRE、CRE 信号,但对 GPR54a 不敏感;提示了在鱼类中2种 kisspeptin 可能通过不同的受体、和不同的信号通路参与鱼类的生理活动调控。最后,为了揭示2种 kisspeptin 在金鱼生殖系统中的生理功能,笔者用合成的 kisspeptin 核心十肽腹腔注射金鱼,发现 kiss1 能有效地诱导性成熟金鱼的 LH 大量释放,而 kiss2 则不能;离体条件下,2种 kisspeptin 均不能刺激垂体细胞 LH 的释

放,表明了在金鱼中, kiss1 直接参与了金鱼的生殖神经内分泌调控,其诱导 LH 释放的作用可能是通过调控 GnRH 来介导的。更进一步的研究还发现 kiss1 还能刺激金鱼和泥鳅的排卵活动^[30]。

4 鱼类的 GnIH/GnIHR 信号系统

对于鱼类 GnIH/GnIHR 信号系统的研究,最早在金鱼中克隆得到 GnIH 的同源基因,原位杂交结果证明其在下丘脑大量表达^[31],然而合成的金鱼 GnIH 多肽却会刺激鲑鱼的 LH 和 GH 的释放^[32]。所以,对于鱼类是否存在 GnIH 及其确切的功能,目前尚未见报道。

本实验室利用比较基因组学技术,通过基因同线性分析,发现 GnIH 基因在脊椎动物染色体上的位置都非常保守,结合分子生物学手段,在斑马鱼中克隆得到 GnIH 的 cDNA 序列,通过与不同物种 GnIH 的氨基酸序列比对,可以看出:GnIH 的氨基酸序列并不保守,在斑马鱼、金鱼、青鳉、鸟类的 GnIH 蛋白前体中均含有3个潜在的 RFamide 的短肽,而在河鲀、三刺鱼、鼠中只含有2个,说明 GnIH 在不同物种中序列变化较大。同时,本实验室还克隆了斑马鱼3个 GnIH 的潜在受体(GnIHRs)。3个 GnIH 受体均属于7次跨膜的 G 蛋白偶联受体,在跨膜区域的氨基酸残基相当保守;进化树分析表明:3个 GnIH 受体与其他物种的 GnIH 受体聚类,处于同一个分支。组织分布的结果显示:GnIH 主要在斑马鱼的脑中表达,在外周组织如眼睛、卵巢中也有较高的表达;3个 GnIH 受体在脑、眼、腮、肾及精巢中均能检测到表达信号;值得注意的是在脑垂体,只能检测到 GnIHR1 与 GnIHR3 的表达。为了了解鱼类 GnIH 的确切功能,本实验室合成了斑马鱼的 GnIH 活性肽,腹腔注射性腺成熟的雌性金鱼,发现在注射后3h,金鱼血清中的 LH 水平显著降低,这表明:GnIH 在金鱼中同样起着抑制 LH 释放的作用,同时也说明了在鱼类的生殖轴中同样存在着 GnIH/GnIHR 的负调控系统^[33]。

本实验室对鱼类生殖内分泌调控相关功能基因的研究结果表明,在鱼类生殖轴中同样存在

kisspeptins 与 GnIH 的刺激性和抑制性的调控系统。kisspeptin 刺激 GnIH 的合成与释放, 而 GnIH 抑制 GnIH 的合成与释放。这些新发现的调控生殖轴的神经内分泌因子和它们相关的功能基因, 具有明显的应用前景, 将有助于建立调控养殖鱼类(特别是海水养殖鱼类)生殖活动和苗种繁育的新技术。

参考文献:

- [1] 林浩然. 鱼类生理学: 第2版[M]. 广东: 广东教育出版社, 2007.
- [2] Kriegsfeld L J. Driving reproduction: RFamide peptides behind the wheel [J]. *Horm Behav*, 2006, 50: 655–666.
- [3] Price D A, Greenberg M J. Structure of a molluscan cardioexcitatory neuropeptide [J]. *Science*, 1977, 197 (4304): 670–671.
- [4] Ukena K, Tsutsui K A. New member of the hypothalamic RF-amide peptide family, LPXRF-amide peptides: structure, localization, and function [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2005, 24 (4): 469–486.
- [5] Lee J H, Miele M E, Hicks D J, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1996, 88: 1731–1737.
- [6] Kotani M, Detheux M, Vandenberghe A, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54 [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 34631–34636.
- [7] De Roux N, Genin E, Carel J C, et al. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 10972–10976.
- [8] Seminara S B, Messager S, Chatzidaki E E, et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty [J]. *N Engl J Med*, 2003, 349: 1614–1627.
- [9] d' Anglemont de Tassigny X, Fagg L A, Dixon J P, et al. Hypogonadotropic hypogonadism in mice lacking a functional Kiss1 gene [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, 104: 10714–10719.
- [10] Irwig M S, Fraley G S, Smith J T, et al. Kisspeptin activation of gonadotropin-releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat [J]. *Neuroendocrinol*, 2004, 80: 264–272.
- [11] Messager S, Chatzidaki E E, Ma D, et al. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 1761–1766.
- [12] Thompson E L, Patterson M, Murphy K G, et al. Central and peripheral administration of kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis[J]. *J Neuroendocrinol*, 2004, 16: 850–858.
- [13] Shahab M, Mastronardi C, Seminara S B, et al. Increased hypothalamic GPR54 signaling: A potential mechanism for initiation of puberty in primates [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 2129–2134.
- [14] Smith J T, Cunningham M J, Rissman E F, et al. Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse [J]. *Endocrinology*, 2005, 146: 3686–3692.
- [15] Smith J T, Clay C M, Caraty A, et al. KiSS-1 mRNA expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season [J]. *Endocrinology* 2006, 148: 1150–1157.
- [16] Kauffman A S, Clifton D K, Steiner R A. Emerging ideas about kisspeptin-GPR54 signaling in the neuroendocrine regulation of reproduction [J]. *Trends in Neurosciences*, 2007, 10: 504–511.
- [17] Simina M, Popa D, Clifton D K, et al. The Role of Kisspeptins and GPR54 in the neuroendocrine regulation of reproduction [J]. *Annu Rev Physiol*, 2008, 70: 213–238.
- [18] Tsutsui, K, Saigoh E, Ukena K, et al. A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 275: 661–667.
- [19] Yin H, Ukena K, Ubuka T, et al. A novel G protein-coupled receptor for gonadotropin-inhibitory hormone in the Japanese quail (*Coturnix japonica*): identification, expression and binding activity [J]. *J Endocrinol*, 2005, 184: 257–266.
- [20] Ikemoto T, Park M K. Chicken RFamide-related peptide (GnIH) and two distinct receptor subtypes: identification, molecular characterization and evolutionary considerations [J]. *J Reprod Dev* 2005, 51: 359–77.
- [21] Kriegsfeld L J, Mei D F, Bentley E, et al. Identification and characterization of a gonadotropin-inhibitory system in the brains of mammals [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 2410–2415.
- [22] Tsutsui K, Bentley G E, Ubuka T, et al. The general and comparative biology of gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2006, 153: 365–370.
- [23] Parhar I S, Ogawa S, Sakuma Y. Laser-captured single digoxigenin-labeled neurons of gonadotropin-releasing hormone types reveal a novel G protein-coupled receptor (Gpr54) during maturation in cichlid fish [J]. *Endocrinology*, 2004, 145: 3613–3618.
- [24] Mohamed J S, Benninghoff A D, Holt G J, et al. Developmental expression of the G protein-coupled receptor 54 and three GnRH

- mRNAs in the teleost fish cobia [J]. *J Mol Endocrinol*, 2007, 38: 235–244.
- [25] Nocillado J N, Levavi-Sivan B, Carrick F, et al. Temporal expression of G protein coupled receptor 54 (GPR54), gonadotropin-releasing hormones (GnRH) and dopamine receptor D2 (drd2) in pubertal female grey mullet, *Mugil cephalus* [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2007, 150: 278–287.
- [26] Van Aerle R, Kille P, Lange A, et al. Evidence for the existence of a functional Kiss1/Kiss1 receptor pathway in fish [J]. *Peptides*, 2008, 29: 57–64.
- [27] Biran J, Ben-Dor S, Levavi-Sivan B. Molecular identification and functional characterization of the kisspeptin/kisspeptin receptor system in lower vertebrates [J]. *Biol Reprod*, 2008, 79: 776–786.
- [28] Kanda S, Akazome Y, Matsunaga T, et al. Identification of Kiss-1 Product Kisspeptin and Steroid-Sensitive Sexually-Dimorphic Kisspeptin neurons in Medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Endocrinology*, 2008, 149: 2467–2476.
- [29] Kitahashi T, Ogawa S, Pahar I S. Cloning and expression of kiss2 in the zebrafish and medaka [J]. *Endocrinology*, 2008, 150: 821–831.
- [30] Li S S, Zhang Y, Liu Y, et al. Structural and functional multiplicity of the kisspeptin/GPR54 system in goldfish (*Carassius auratus*) [J]. *J Endocrinol*, 2009, 201: 407–418.
- [31] Sawada K, Ukena K, Satake H, et al. Novel fish hypothalamic neuropeptide [J]. *Eur J Biochem*, 2002, 269: 6000–6008.
- [32] Amano M, Moriyama S, Iigo M, et al. Novel fish hypothalamic neuropeptides stimulate the release of gonadotrophins and growth hormone from the pituitary of sockeye salmon [J]. *J Endocrinol*, 2006, 188: 417–423.
- [33] Zhang Y, Li S S, Liu Y, et al. Structural diversity of the GnIH/GnIH receptor system in teleost: its involvement in early development and the negative control of LH release [J]. *Peptides*, submit.

Current research and future direction of reproductive related gene in fish farming

ZHANG Yong, LI Shuisheng, LIU Yun, LIU Xiaochun, LIN Haoran

(State Key Laboratory of Biocontrol, Institute of Aquatic Economic Animals, and the Guangdong Province Key Laboratory for Aquatic Economic Animals, School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Kisspeptin and GnIH (gonadotropin-inhibitory hormone), the RFamine peptides, play important roles in mammalian reproductive system. Kisspeptin stimulates the GtH (gonadotropin) release and synthesis via control of GnRH (gonadotropin-release hormone) secretion. In contrast, GnIH inhibits the GtH release and synthesis directly or via control of GnRH secretion. However, much less is known about these two novel neuropeptide in teleost fish. We have isoiated kisspeptide (*kiss1*, *kiss2*), GnIH and their putative receptors (GPR54a, GPR54b, GnIHR1, GnIHR2, GnIHR3) cDNAs from goldfish and zebrafish by a combination of bioinformatics method and PCR cloning. Genomic syteny analysis revealed that kisspeptin and GnIH were preserved in vertebrates during evolution, and indicated that the two Kisspeptin isoforms were created by ancient duplication events. Sequence analysis showed that the functional regions of kisspeptin (kisspeptin-10s) were relatively conserved in vertebrates, while that of GnIH varied greatly. RT-PCR analysis demonstrated that the expression of the *kiss1s*, *gpr54s*, GnIH and GnIHRs were observed in the neuronal and reproductive related tissues, including the brain, pituitary, and gonads. Subsequent studies revealed that both mature goldfish kisspeptin-10 peptides (*gfKiss1-10* and *gfKiss2-10*) are biologically active as they could functionally interact with the two goldfish receptors expressed in cultured eukaryotic cells to trigger the down-stream signaling pathways with different potencies. The actions of *gfKiss1-10*, *gfKiss2-10* and zebrafish GnIH on luteinizing hormone (LH) secretion were further investigated in vitro and in vivo. Intraperitoneal administration of *gfKiss1-10* to sexually mature female goldfish could increase the serum LH levels, indicating that this peptide is active in vivo. However, this peptide does not significantly influence LH release from goldfish pituitary cells in primary culture, indicating that the peptide does not exert its actions at the pituitary level. Whereas *gfKiss2-10* appears to be a much less potent peptide as it exhibits no significant in vivo bioactivity and is also inactive on the primary pituitary cells. On the other hand, Intraperitoneal administration of the mature zebrafish GnIH peptide (LPXRFa peptide-3) could significantly reduce the basal serum LH level in goldfish. These data indicated that kisspeptin/GPR54 and GnIH/GnIHRs systems were also operative in teleost fish. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17 (2): 363–368]

Key words: kisspeptin; GnIH; GtH; reproductive regulation

Corresponding author: LIN Haoran. E-mail: lsslhr@mail.sysu.edu.cn