

文章编号: 1674 - 5566(2014)06 - 0820 - 06

盐度梯度介导 mTOR 信号通路对尼罗罗非鱼生长的影响

王 飞, 庄青青, 梁从飞, 颜 标, 赵金良

(上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306)

摘 要: mTOR 信号通路是动物生长发育的重要调控通路之一。以尼罗罗非鱼为实验材料, 研究了不同盐度梯度对尼罗罗非鱼生长的影响, 以及 mTOR 通路下游调节因子 p70s6k 和 4ebp1 的 mRNA 与蛋白表达水平变化。30 d 养殖结果显示, 盐度增加对尼罗罗非鱼生长具有明显抑制作用, 0、15、20、25 盐度下, 尼罗罗非鱼日均增重率分别为 $(0.48 \pm 0.13) \text{ g/d}$ 、 $(0.31 \pm 0.09) \text{ g/d}$ 、 $(0.14 \pm 0.08) \text{ g/d}$ 、 $(0.09 \pm 0.03) \text{ g/d}$ 。荧光定量 PCR 显示, p70s6k mRNA 相对表达量随着盐度梯度升高而下降, 0 盐度组中表达量最高, 显著高于其他盐度组 ($P < 0.05$), 25 盐度组最低; 4ebp1 mRNA 相对表达量随着盐度梯度升高而升高, 0 盐度组中表达量最低, 25 盐度组最高, 0 盐度组与 25 盐度组间差异显著 ($P < 0.05$)。Western blot 结果显示, 0 盐度组中 p70s6k 蛋白含量显著大于其他高盐度组, 而 25 盐度组中 4ebp1 蛋白含量显著大于其余低盐度组 ($P < 0.05$)。结果表明, 盐度可能通过介导 mTOR 信号通路参与尼罗罗非鱼的生长调节。

研究亮点: 首次尝试利用 mTOR 信号通路研究盐度调节鱼类生长的分子机理, 通过对 mTOR 信号通路下游调控因子 mRNA 和蛋白水平的表达变化分析, 确定了它们的表达变化与盐度变化间存在明显关联性, 研究结果为鱼类生长发育和环境适应的分子机理提供新的研究方向。

关键词: 尼罗罗非鱼; 盐度; 生长; p70s6k; 4ebp1

中图分类号: S 917

文献标志码: A

mTOR (mammalian target of rapamycin) 是雷帕霉素 (rapamycin) 的靶蛋白, 属苏氨酸/丝氨酸激酶。mTOR 信号通路首先是在酵母突变株中发现, 随后引起了广泛的关注^[1]。后期研究表明, mTOR 信号通路是一个非常保守的信号通路, 在大鼠、果蝇、斑马鱼、鲤中都有报道^[2-5], 且鲤和斑马鱼 mTOR 基因 cDNA 序列同源性达到 97% 以上^[6]。作为调节细胞行为的枢纽, 其整合了细胞外生长因子、营养以及环境等的压力信号, 通过胞内信号传递, 在调节细胞凋亡和增殖中起着决定性的作用^[7-9]。mTOR 信号通路最终是由下游两个重要的调节蛋白 4ebp1 和 p70s6k 来实现的。真核翻译起始因子 4E (eukaryotic translation initiation factor, eif-4e) 结合蛋白 4ebp1 是翻译的负调控因子, 当接受外界信号刺激时, mTOR 磷酸

化 4ebp1 而使其失活, 引起与 eif-4e 的解离, 游离的 eif-4e 则结合到 mRNA 5' 末端的帽结构上, 从而促进帽结构依赖性翻译起始; 而 p70s6k 的磷酸化则直接促进翻译的起始过程^[10]。在果蝇中, 敲除 mTOR 基因会导致果蝇胚胎细胞形态的缩小; mTOR 基因敲除的小鼠胚胎早期死亡, 而在恶性增殖的癌细胞中发现 mTOR 表达量异常增高^[11-13]。

尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 原产于非洲, 生长快速、耐低氧、抗病力强, 现已成为世界性养殖的主要种类之一。但是其耐盐能力较差, 即使通过慢性驯化使其适应不同盐度梯度, 其生长也会受到明显抑制^[14-15]。早期研究表明, 高盐度可引起鱼体渗透压升高、内分泌系统失衡, 这可能是罗非鱼生长受抑制的主要原因^[16]。为

收稿日期: 2014-03-12 修回日期: 2014-05-19

基金项目: 现代农业产业技术体系专项资金 (CARS - 49 - 4B); 上海高校知识服务平台上海海洋大学水产动物遗传育种中心 (ZF1206)

作者简介: 王 飞 (1988—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物遗传育种与繁殖。E-mail: wangfei18051988@163.com

通信作者: 赵金良, E-mail: jlzhao@shou.edu.cn

进一步理解盐度对生长抑制作用的内在分子机制,通过观察不同盐度梯度对 mTOR 信号通路下游调控因子 p70s6k、4ebp1 mRNA 和蛋白水平影响与变化关系,探讨盐度是否通过介导 mTOR 信号通路影响尼罗罗非鱼生长。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

尼罗罗非鱼幼鱼取自上海海洋大学鱼类种质资源试验站,运回实验室后,在室内淡水循环控温水族箱(60 cm × 50 cm × 40 cm)中暂养适应一周。共设置了 0、15、20、25 四个盐度组,每组 15 尾,3 个重复。幼鱼进入各盐度组前,均通过每 3 天提高 5 盐度的方法使其慢性驯化,驯化过程中各实验组均不喂食。各盐度梯度组是通过在淡水中添加海水晶配制而成。驯化到各盐度梯度后,每天早、晚各投喂大江牌罗非鱼饲料一次,每隔两天清理粪残物,每周换水一次,每次换 1/3。试验期间养殖水体水温 22 ~ 28 °C,溶氧质量浓度为 5.8 ~ 8.0 mg/L,氨氮含量 0.2 ~ 0.4 mg/L。养殖实验持续一个月。分别测量实验鱼的初始体重与试验末重。养殖结束后,各盐度组中随机取 5 尾鱼,取背部肌肉于 -80 °C 低温冻存。

Trizol 购自 invitrogen; RT-PCR 试剂盒 RNA PCR Kit(AMV) V3.0,实时荧光定量 RT-PCR 试剂盒 PrimeScript[®] RT reagent Kit With gDNA Eraser(perfect real time),SYBR[®] Primix EX Taq[™] (Tli RNaseH Plus)购自宝生物工程(大连)有限公司;Western blot actin、p70s6k 一抗、二抗购自博士德生物工程有限公司;4ebp1 一抗、二抗购自北京博尔迈生物技术有限公司;蛋白提取、标准曲线制作以及 Western Blot 相关试剂购自 Thermo;其余试剂均为国产分析纯。

1.2 荧光定量 PCR 分析

1.2.1 总 RNA 的提取

取低温冻存的肌肉,于盛有液氮的研钵中,快速研成粉末,按 Trizol(Invitrogen, USA)说明书提取总 RNA,用 RNase free ddH₂O 溶解 RNA,2% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,并检验 RNA 浓度与 A₂₆₀/A₂₈₀。样品稀释到 500 ng/μL 后于 -80 °C 保存。

1.2.2 引物的设计与合成

参照 GenBank 中尼罗罗非鱼 4ebp1、p70s6k、β-actin cDNA 序列,用 Primer premier 5.0 软件设计引物(表 1),所用引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 1 引物序列及退火温度
Tab.1 Primer sequences and their annealing temperatures

| 引物 | 核酸序列(5' - 3') | 退火温度/°C |
|-----------|------------------------|---------|
| β-actin F | AGCAGATCTGGATCAGCAAGC | 60 |
| β-actin R | TGAAGTTGTTGGCCGTTTGG | 60 |
| p70s6k F | ACCGTGAACAAGGGAACAGAGC | 60 |
| p70s6k R | TGACCCAGCGCCATTGAGAT | 60 |
| 4ebp1 F | TGGGATGACTGGCAGGTTGG | 59.5 |
| 4ebp1 R | GGAGGGACTCTGTTTCAGCACG | 59.5 |

1.2.3 荧光定量 PCR

第一条 cDNA 的合成按照 PrimerScript[®] RT reagent Kit With gDNA Eraser(TaKaRa, Japan)说明书进行,以 5 倍稀释的盐度为 0 的样品制作荧光定量标准曲线,反应试剂为 SYBR[®] Premix Ex Taq(TaKaRa, Japan)进行,预变性 95 °C 10 min,95 °C 15 s,60 °C 1 min,39 个循环,熔解曲线检测引物扩增特异性。使用 β-actin 作为内参基因。荧光定量数据分析按照 2^{-ΔΔCt} 法计算^[17],SPSS 11.5 进行单因素方差分析。

1.3 Western Blot 分析

1.3.1 样品制备

称量 1 g 肌肉组织,加入 10 mL 蛋白提取液,并加入蛋白酶抑制剂,于冰浴匀浆,分装 1.5 mL EP 管中,4 °C 下,10 000 r/min 离心 10 min,吸上清分装待用,-20 °C 保存。

1.3.2 蛋白浓度的测定

采用 BCA 法测定蛋白浓度,配置成工作液。利用 2 000 μg/mL BSA 标准蛋白制作标准曲线,梯度分别为 2 000、1 500、1 000、750、500、250、125、25 μg/mL,工作液 200 μg 与 25 μL 标准 BSA 血清混合在 37 °C 烘箱中放置 30 min 后,于 Synergy H1 型酶标仪吸光值 562 nm 下测量吸光度。样品蛋白浓度的测定与标准曲线过程相同。

1.3.3 Western Blot

取 60 μg 总蛋白配制上样缓冲体系,于沸水中 10 min。配制 10% 的 V(丙烯酰胺):V(双丙烯酰胺) = 29:1 分离胶和基层胶。上层胶 80 V 恒压,下层用 120 V 恒压,用半干转膜仪(FAST

SEMI-DRY BLOTTTER) 将蛋白转移到 PVDF 膜上,恒压 18 V。脱脂奶粉封闭 1 h 后一抗孵育,一抗稀释比例为 actin 1:1 000,4ebp1 和 p70s6k 均为 1:500,孵育过夜。次日,用 TBST (Tris-HCl, NaCl, Tween 20 混合) 洗净后孵育二抗,稀释比例均为 1:2 500,孵育 2 h;再用 TBST 洗净后,用 Supersignal West Pico 发光试剂反应, Bio-Rad ChemiDoc XRS 凝胶成像仪拍摄底片,并用 Quantity One 图像分析系统分析条带光密度,用 SPSS 11.5 进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 不同盐度下尼罗罗非鱼体重增长变化

不同盐度组尼罗罗非鱼的初始体重与终末体重见表 2。在初始体重无显著性差异的情况下,终末体重和日均增长率均随着盐度升高而下降,0 和 15 组的终末体重显著大于 20、25 组的终

末体重。0 组的日均增长率为 (0.48 ± 0.13) g/d,15 盐度组次之,为 (0.31 ± 0.09) g/d,均显著大于 20、25 组的日均增长率。20、25 组的日均增长率间差异不显著。实验中,低盐度组(0、15)成活率较高,随着盐度梯度的升高,成活率也明显下降,0、15、20 组的成活率显著高于 25 组的成活率。

2.2 不同盐度下尼罗罗非鱼肌肉 p70s6k 和 4ebp1 mRNA 相对表达水平变化

不同盐度梯度下,尼罗罗非鱼肌肉 p70s6k 和 4ebp1 的 mRNA 相对表达量见图 1。p70s6k mRNA 相对表达量随着盐度梯度的升高而下降,0 盐度组中相对表达量最高,显著高于 15、20 和 25 盐度组 ($P < 0.05$),约为 25 盐度组的 6.45 倍;15、20 和 25 盐度组间表达量差异不显著。4ebp1 mRNA 相对表达量随着盐度梯度的升高而升高,其中,0 组表达量最低,低于 15、20、25 盐度组;25 盐度组表达最高,约为 0 盐度组的 2.76 倍。

表 2 不同盐度梯度下尼罗罗非鱼的日均增重率以及存活率
Tab.2 Initial and final weight and survival rate of *Oreochromis niloticus* at different salinities

| 盐度 | 初始体重/g | 终末体重/g | 日均增长率/(g/d) | 成活率/% |
|----|--------------|---------------------------|--------------------------|------------------|
| 0 | 15.90 ± 2.20 | 30.20 ± 3.84 ^a | 0.48 ± 0.13 ^a | 100 ^a |
| 15 | 15.57 ± 0.89 | 24.88 ± 2.79 ^b | 0.31 ± 0.09 ^b | 100 ^a |
| 20 | 16.01 ± 2.11 | 20.33 ± 2.41 ^c | 0.14 ± 0.08 ^c | 90 ^a |
| 25 | 15.67 ± 1.13 | 18.38 ± 0.95 ^c | 0.09 ± 0.03 ^c | 70 ^b |

注:同一列内平均值后字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

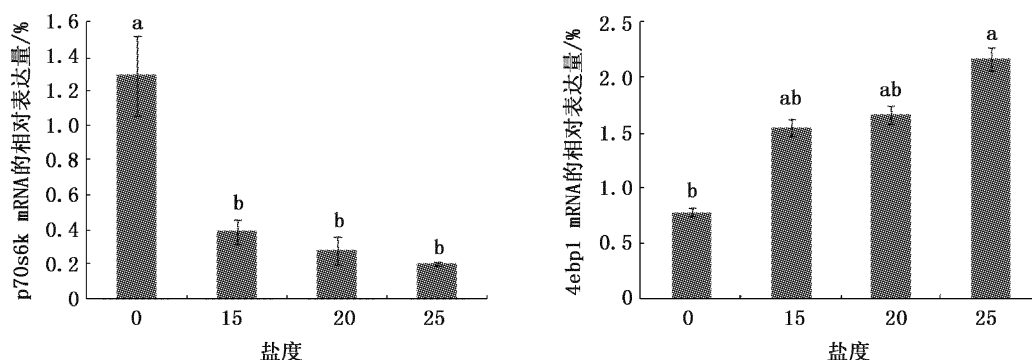


图 1 不同盐度下尼罗罗非鱼肌肉中 p70s6k 和 4ebp1 mRNA 的相对表达量

Fig.1 Relative expressions of p70S6k and 4ebp1 mRNA in muscle of *Oreochromis niloticus* at different salinities

柱状图上字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 不同盐度下肌肉 p70s6k 和 4ebp1 蛋白相对表达变化

不同盐度梯度下,尼罗罗非鱼肌肉中 p70S6k 和 4ebp1 蛋白表达量见图 2。p70s6k 蛋白表达量随着盐度梯度的升高而下降,0 盐度组中 p70s6k

蛋白含量最高,25 盐度组最低。其中,0 盐度组与 25 盐度组组间差异显著 ($P < 0.05$)。4ebp1 蛋白含量随着盐度梯度的升高而升高,0 盐度组中 4ebp1 蛋白含量表达最低,显著低于其余盐度组;25 盐度组最高,显著高于 0、15 和 20 盐度组 ($P <$

0.05)。

3 讨论

盐度是影响鱼类生长的重要环境因子之一。早期研究表明,盐度可直接影响鱼类体内渗透压,导致内分泌系统紊乱,进而再通过影响摄食水平、饵料利用率、新陈代谢速率等影响鱼类生

长^[18-20]。本研究中,尼罗罗非鱼体重日增长率随着盐度梯度的升高而下降,0 组生长最快,显著高于其余盐度组($P < 0.05$),25 组生长最慢;成活率也随着盐度梯度的升高而下降,表明盐度增加对尼罗罗非鱼生长与存活率均有明显的抑制作用。

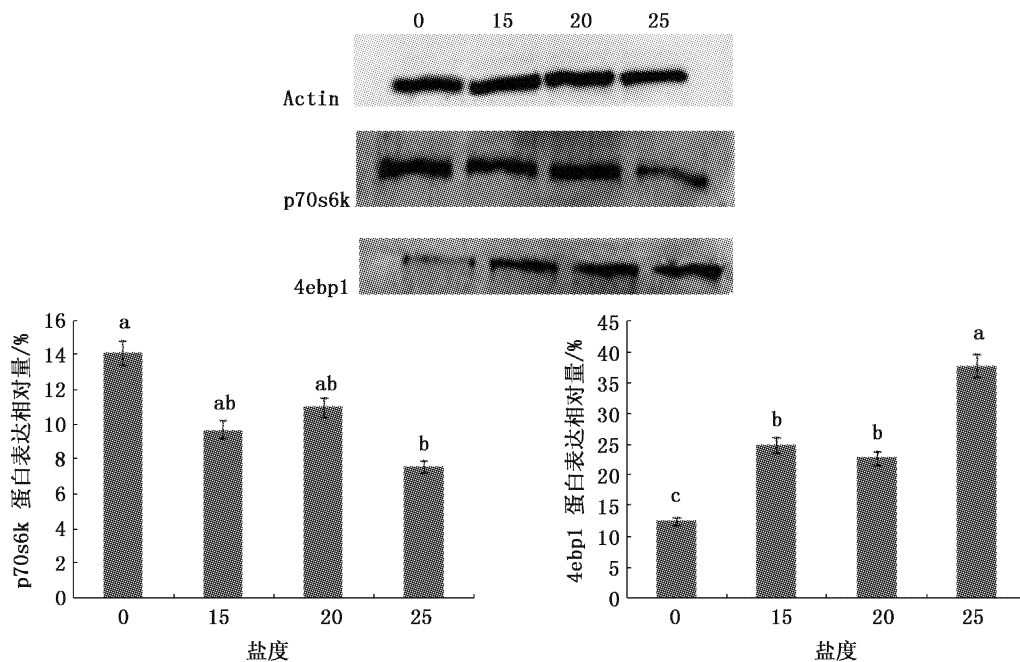


图 2 不同盐度下尼罗罗非鱼 p70s6k 和 4ebp1 的蛋白表达相对量

Fig. 2 Relative protein expression of p70s6k and 4ebp1 in muscle of *O. niloticus* at different salinities

柱状图上字母相同表示差异不显著($P > 0.05$)。

本研究中,盐度增加对 mTOR 信号通路下游调控因子 p70s6k 和 4ebp1 表达变化有显著影响作用,p70s6k mRNA 和蛋白相对表达量均随着盐度的升高而下降,0 组显著高于其他盐度组,25 组最低,在盐度影响罗非鱼生长中起着正调控因子的作用。而 4ebp1 mRNA 及其蛋白表达水平则随着盐度的升高而升高,25 组相对表达最高,0 组最低,在盐度影响罗非鱼生长的过程中起着负调控因子的作用。由于 mTOR 信号通路下游调控蛋白变化与盐度变化间有密切相关性,推测 mTOR 信号通路可能是盐度抑制尼罗罗非鱼生长的重要调控通路之一。

研究表明,盐度刺激后的尼罗罗非鱼血清渗透压要明显高于淡水组^[16]。mTOR 信号通路可以通过感受外来渗透压并作出反应。在体外培

养的人肾脏细胞中,己六醇和甘露醇可引起细胞内渗透压的升高,当渗透压升高时,mTOR 蛋白活性降低,从而阻止 p70s6k 磷酸化,导致细胞蛋白合成减少,抑制细胞的生长^[21-22]。本研究中,高盐度下尼罗罗非鱼 p70s6k 表达量最低、4ebp1 表达水平最高,渗透压升高可能是导致 mTOR 信号通路受抑的主要原因之一。

罗非鱼中,盐度升高、血清渗透压变化还会引起体内激素含量的变化,如导致体内胰岛素和生长激素含量的降低^[23-24]。胰岛素和生长激素都是多效性的内分泌激素,均能促进机体细胞有丝分裂和正常生长发育^[25]。当细胞膜表面受体酪氨酸激酶感受到胰岛素激素信号后,可引起 PI3K 合成与磷酸化程度增加,促使 AKT 富集在细胞膜表面,再将信号传递给 mTOR,从而引起下

游 p70s6k 的含量升高以及 4ebp1 含量减少,促进细胞生长^[26]。生长激素刺激 mTOR 信号通路的方式与胰岛素作用相似,生长激素受体(GHR)接受生长激素信号后,也会导致 PI3K 磷酸化程度增高,从而影响整个信号通路^[27]。在干扰生长激素作用的实验中发现,无论是在预先经过处理的巨噬细胞中,还是在小鼠脂肪细胞中,加入 PI3K 抑制剂都可以降低依赖生长激素的蛋白合成能力,表明了生长激素促生长作用会介导 PI3K-AKT-mTOR 途径来实现^[27]。因此,盐度也可能首先通过引起其他因子(激素)的变化,再间接作为影响 mTOR 信号通路,参与尼罗罗非鱼生长抑制调控。

参考文献:

- [1] HEITMAN J, MOVVA N R, HALL M N. Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast [J]. *Science*, 1991, 253(5022): 905-909.
- [2] PENDE M, KOZMA S C, JAQUET M. Hypoinsulinaemia, glucose intolerance and diminished β -cell size in S6K1-deficient mice[J]. *Nature*, 2000, 408(6815): 994-997.
- [3] WEINKOVE D, NEUFELD T P, TWARAZIK T. Regulation of imaginal disc cell size, cell number and organ size by *Drosophila* class I_A phosphoinositide 3-kinase and its adaptor [J]. *Current Biology*, 1999, 9(18): 1019-1029.
- [4] DIBELLA L M, PARK A. Zebrafish Tsc1 reveals functional interactions between the cilium and the TOR pathway [J]. *Human Molecular Genetics*, 2009, 18(4): 595-606.
- [5] CHEN G, EENG L, KUANG S. Effect of dietary arginine on growth, intestinal enzyme activities and gene expression in muscle, hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. *British Journal of Nutrition*, 2012, 108(2): 195-207.
- [6] JUN J, LIN F, YANG L. Mechanistic target of rapamycin in common carp: cDNA cloning, characterization and tissue expression[J]. *Gene*, 2013, 512(2): 566-572.
- [7] SCHMELZIE T, HALL M N. TOR, a central controller of cell growth[J]. *Cell*, 2000, 103(2): 253-262.
- [8] GLASS D J. Signaling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy [J]. *Nature Cell Biology*, 2003, 5(2): 87-90.
- [9] BODINE S C, STITT T N, Gonzalez M. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo [J]. *Nature Cell Biology*, 2001, 3(11): 1014-1019.
- [10] WULLSCHLEGER S, LOEWITH R, HALL M N. TOR signaling in growth and metabolism [J]. *Cell*, 2006, 124(3): 471-484.
- [11] 彭贵主, 吴波, 单人锋. mTOR/P70S6K 信号通路在肝细胞肝癌中的表达及临床意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(29): 3279-3292.
- [12] TAKAHASHI K, MURAKAMI M, YAMANAKA S. Role of the phosphoinositide 3-kinase pathway in mouse embryonic stem (ES) cells [J]. *Biochemical Society Transaction*, 2005, 33(6): 1522-1525.
- [13] 曾波航, 庄莹, 陈静琦. 雷帕霉素对肺癌细胞 mTOR 信号通路相关蛋白表达的作用[J]. *肿瘤防治研究*, 2011, 38(10): 1105-1108.
- [14] 李思发, 颜标, 蔡完其. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼正反交鱼自繁后代 F₂ 耐盐性、生长性能及亲本对杂种优势贡献力的评估[J]. *水产学报*, 2008, 32(3): 335-341.
- [15] 颜标, 李思发, 蔡完其. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼及其正反杂交后代的微卫星分析[J]. *水产学报*, 2007, 31(3): 411-415.
- [16] BREVES J P, HASEGAWA S, YOSHIOKA M. Acute salinity challenges in Mozambique and Nile tilapia: Different responses of plasma prolactin, growth hormone and branchial expression of ion transporters [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2010, 167(1): 135-142.
- [17] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻($\Delta\Delta C_T$) Method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [18] 强俊, 王辉, 李瑞伟. 盐度对奥尼罗非鱼仔、稚鱼生长、存活及其消化酶活力的影响[J]. *南方水产*, 2009, 5(5): 9-14.
- [19] BOEUF G, PAYAN P. How should salinity influence fish growth? [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology Pharmacology*, 2001, 130(4): 411-423.
- [20] LIKONGWE J S, STECKO T D, STAUFFER J R. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) [J]. *Aquaculture*, 1996, 146(1/2): 37-46.
- [21] SABORIO J L, PONG S S, KOCH G. Selective and reversible inhibition of initiation of protein synthesis in mammalian cells [J]. *Journal of Molecular Biology*, 1974, 85(2): 195-211.
- [22] PARROTT L A, TEMPLETON D J. Osmotic Stress Inhibits p70/85 S6 kinase through activation of a protein phosphatase [J]. *The Journal of Molecular Biological Chemistry*, 1999, 274(35): 24731-24736.
- [23] PELIS R M, MCCORMICK S D. Effect of growth hormone and cortisol on Na⁺-K-2Cl⁻ cotransporter localization and abundance in the gills of Atlantic Salmon [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2001, 124(2): 134-143.
- [24] MCCORMICK S D, SAKAMOTO T, HASEGAWA S. Osmoregulatory actions of insulin-like growth factor-1 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Journal of Endocrinology*, 1991, 130(2): 87-92.
- [25] SALTIEL A R. Diverse signaling pathways in the cellular actions of insulin [J]. *American Journal of Physiology*,

- 1996, 270: 375–385.
- [26] POTTER C J, PEDRAZA L G, XU T. Akt regulates growth by directly phosphorylating Tsc2 [J]. *Nature Cell Biology*, 2002, 4(9): 658–665.
- [27] TRIPATHI A, SODHI A. Growth hormone-induced production of cytokines in murine peritoneal macrophages in vitro: Role of JAK/STAT, PI3K, PKC and MAP kinases [J]. *Immunobiology*, 2009, 214(6): 430–440.

Effects of salinity on growth of *Oreochromis niloticus* through mTOR signal pathway

WANG Fei, ZHUANG Qing-qing, LIANG Cong-fei, YAN Biao, ZHAO Jin-liang

(Laboratory of Freshwater Fisheries Germplasm Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: mTOR signal pathway plays a vital role in the regulation of animal growth and development. In this study, growth rates of *Oreochromis niloticus* at different salinities were compared in a 30-day experiment; in the meantime, expression changes of downstream pathway regulation factors p70s6k and 4ebp1 were evaluated at both mRNA and protein levels. The results showed that salinity significantly inhibited the growth of Nile tilapia, the final body weight decreased with the salinity increase, and average body weight at 0, 15, 20, 25 salinity was (0.48 ± 0.13) g/d, (0.31 ± 0.09) g/d, (0.14 ± 0.08) g/d, (0.09 ± 0.03) g/d, respectively. The p70s6k mRNA expression level decreased with salinity increasing, the highest was detected at 0 salinity, while the lowest was at 25 salinity, which was significantly lower than that at 0, 15 and 20 salinities. The 4ebp1 mRNA expression at 25 salinity was significantly higher than 0, 15, 20 salinity, increasing with salinity levels. Western blot results showed the protein level of p70s6k at 0 salinity was significantly higher than that at other higher salinities, while 4ebp1 at 25 salinity was significantly higher than that at other lower salinities. Our result suggested salinity may affect growth of *O. niloticus* through mTOR signaling pathway.

Key words: *Oreochromis niloticus*; salinity; growth; P70s6k; 4ebp1