

动物 *MSTN* 基因作用机制及突变研究

王真, 潘赞, 毕谊, 雷初朝, 陈宏, 蓝贤勇*

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:肌肉生长抑制素(myostatin, *MSTN*)又称生长分化因子8,是TGF- β 超家族成员,也是肌肉发育的负调控因子。*MSTN*在家畜出生前、出生后都起到关键作用,并且决定家畜的整体肌肉含量,由于*MSTN*基因突变,导致牛和羊等许多物种表现出“双肌”现象。因此,一直以来,*MSTN*多态性及其对肉类产量的遗传效应研究是动物育种领域的热点。因此,本文首先介绍*MSTN*调控肌肉发育的机制通路,然后再探讨*MSTN*突变及其与相关表型的关系,以及改变*MSTN*表达对家养动物(牛、马、山羊、绵羊、猪、鸡和兔)的生理影响,最后,综述了*MSTN*基因多态在国内外畜禽中的研究进展。

关键词:动物;生长抑制素(*MSTN*)基因;双肌;单核苷酸多态性(SNP)

中图分类号:Q953;Q78 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-9111(2019)04-0022-11

肌肉生长抑制素(myostatin, *MSTN*)又称生长分化因子8(growth and differentiation factor 8, GDF8),是骨骼肌发育的主要调节因子之一^[1]。*MSTN*在家畜出生前、出生后都起到关键作用,并且决定家畜的整体肌肉含量,由于*MSTN*基因突变,导致牛和羊等许多物种表现出“双肌”现象。因此,一直以来,*MSTN*多态性及其对肉类产量的遗传效应研究是动物育种领域的热点。研究表明:*MSTN*基因在哺乳动物中高度保守,过表达会减少肌肉重量;*MSTN*缺失型家畜骨骼肌重量增加,即所谓的“双肌(双肌)”表型。*MSTN*突变已经在许多物种中被报道过,包括羊^[2]、牛^[3]、猪^[4]、兔^[5-6]以及人类^[7]等。因此,本文首先介绍*MSTN*调控肌肉发育的机制通路,然后再探讨*MSTN*突变及其与表型的关系,以及改变*MSTN*表达对家养动物(牛、马、山羊、绵羊、猪、鸡和兔)的生理影响,最后,综述了*MSTN*基因多态在国内外畜禽中的研究进展。

1 *MSTN* 信号通路及其对动物骨骼肌发育的调控

人、牛、绵羊、山羊的*MSTN*基因定位在2号染色体,兔和鸡的*MSTN*基因定位在7号染色体,马*MSTN*基因定位在18号染色体上,猪的*MSTN*基因定位在15号染色体。研究表明:*MSTN*在许多组织

(包括乳腺)中表达,但主要在骨骼肌中表达^[8]。*MSTN*基因高度保守,包括3个外显子和2个内含子,外显子编码一种375个氨基酸的潜在蛋白,该蛋白进行翻译后修饰从而具有生物活性^[9]。首先,多肽通过形成二硫键在细胞内进行同源二聚化,然后裂解形成N-端前肽区和C-端成熟区。*MSTN*的C-端成熟片段通过结合和激活细胞表面激活素II型受体启动细胞内的信号级联,随后激活素受体IIB(ActRIIB)自磷酸化导致低亲和力I型受体招募激活素激酶受体4(Activin receptor-like kinase 4, ALK4)或激活素激酶受体5(activin receptor-like kinase 5, ALK5);活化的I型受体激酶磷酸化转录因子Smad2和Smad3,使其与Smad4相互作用,并转移到细胞核中激活靶基因转录。*MSTN*受体的激活也抑制了蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/Akt)的活性,而肌肉纤维的增大和纤维肥大(简称肥大)的过程在很大程度上是由Akt活性控制的^[10]。*MSTN*在产前胎儿的肌肉发育过程的关键点调控肌肉发育,包括调控肌肉前体细胞增殖、成肌细胞增殖和分化^[11]。Amthor等^[12]的研究表明:*MSTN*的异位表达可下调肌肉前体增殖的关键标志物Pax-3基因表达^[12];也可上调p21表达,最终抑制成肌细胞的增殖^[13]。*MSTN*上调可检测过度活跃的成肌分化抗原(myogenic differentiation antigen, MyoD)诱导的

收稿日期:2019-05-16 修回日期:2019-05-27

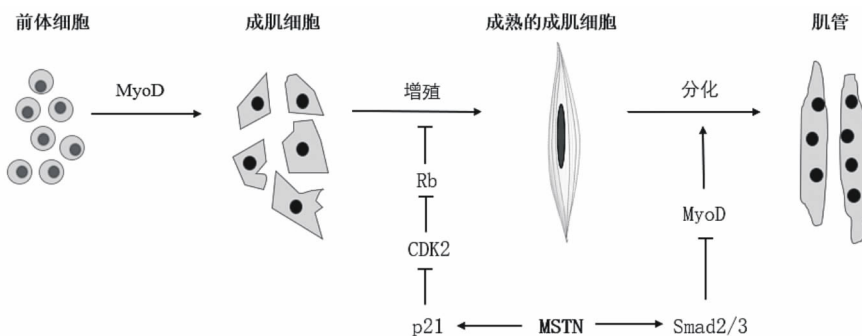
基金项目:国家自然科学基金项目(31872331);国家肉牛牦牛产业体系项目(CARS-37);大学生省级科创项目(S201910712052)

作者简介:王真(1993—),女,安徽阜阳人,在读硕士,主要从事动物遗传育种研究。

*通讯作者:蓝贤勇(1979—),男,江西赣州人,教授,博士生导师,主要从事生物技术与动物育种、动物表观遗传学研究。

错误分化,因此, *MSTN* 可以抑制成肌细胞前体 ($\text{Pax3}^+/\text{MyoD}^+$) 和成肌细胞 ($\text{Pax3}^-/\text{MyoD}^+$) 的增殖;下调 *MSTN* 表达可导致上述细胞数量增加^[14]。小鼠的研究表明, *MSTN*^{-/-} 小鼠表现为肌细胞增多导致肌肉增生^[15],在出生前不久, *MSTN*^{-/-} 小鼠肌

肉中不仅肌肉纤维增多,而且每一根纤维都有明显的增大(18%)。提示在小鼠中肌肉体积增加是由于出生前纤维数量增加(增生)和出生后纤维体积增大(肥大)的结果^[16]。综合已有研究,成肌细胞增殖和分化过程中 *MSTN* 作用可绘制成图 1。



注:视网膜母细胞瘤蛋白(Rb)处于低磷酸化状态,抑制细胞分裂,由于重组人周期蛋白依赖性激酶 2 (CKD2) 激酶过磷酸化 Rb 使其活性减弱, *MSTN* 作用诱导的 p21 抑制 CDK2 的活性; *MSTN* 还激活 Smad2/3 信号,抑制正常成肌细胞分化所需的 MyoD 表达。

图 1 成肌细胞增殖和分化过程中肌肉生长抑制素(*MSTN*)的作用

2 动物“双肌”表型

肌肉肥大一词常被用来描述哺乳动物在解剖后表现的肌肉增大;但是,一般来说,这个术语的使用并不严格,因为在许多情况下,肌肉增大仅仅是由于出生前肌肉增生导致,而不包括出生后纤维肥大。具有重要商业价值的大型双肌表型动物,特别是牛,具有极高的胴体产量,同时体内器官质量较低^[17],然而,这些动物更容易患呼吸道疾病、尿石症、跛行、营养不良、发热和难产,导致体能较差^[18];此外,也会影响繁殖性能^[19]。

在强迫运动时,双肌肉牛比正常牛表现出更快的疲劳迹象,这与新陈代谢性酸中毒有关,因为血液循环减少导致氧气输送不足和肌肉有氧代谢活动减少^[18]。事实上,双肌肉牛的快速抽动糖酵解纤维比例增加,导致糖酵解表型更快、更明显^[20]。在美国 whippet 赛狗品种中,人们发现 *MSTN* 第三外显子中 2-bp 的缺失与双肌表型有关,这种缺失使第 3 外显子的 939 和 940 nt 消失,导致 313 位 aa 处代替正常的半胱氨酸而提前出现终止密码子,相比较原来的 375 个 aa 减少了 63 个 aa^[21]。使用 CRISPR/Cas9 系统的基因定位方法已被用于创建敲除 *MSTN* 小猎犬^[22]。 *MSTN* 突变也会导致其他动物包括人出现双肌现象: Schuelke 等人^[7] 观察到 *MSTN* 存在 SNP 突变 (g. IVS1 + 5G > A) 导致一个小男孩的肌肉异常发达,尤其是大腿和上臂,但患者无健康问题,睾酮和 IGF-1 水平正常。由于 *MSTN* 对肌肉质量、生长等性状的影响,利用 *MSTN* 多态性可

来提高肉牛和羊等家畜的选择^[23],故骨骼肌 *MSTN* 基因研究一直是动物育种领域的研究热点。

3 动物 *MSTN* 基因突变研究

3.1 牛 *MSTN* 多态性

位于比利时蓝牛上的 *MSTN* 基因功能缺失突变最早由 Grobet 等人^[24]报道,随后不久, McPherron 和 Lee^[16] 不仅证实了 Grobet 的发现,也报道了皮埃蒙特牛 *MSTN* 的外显子 3 存在无义突变。目前,大约有 20 种不同类型的遗传变异在牛 *MSTN* 基因中已被鉴定,包括缺失、插入和单核苷酸多态性 (SNPs),一些 *MSTN* 等位基因突变和低表达与动物生长速度和胴体性状有显著的相关性^[25],且 *MSTN* 的缺失和抑制是导致肌肉质量增加和脂肪质量减少的主要原因^[26],因此这些多态性可用于提高肉牛肉质和产量。但是在双肌肉牛身上经常出现与难产相关的问题,例如出生前由于纤维增生导致的小牛变大,进而导致难产^[27],且纯合子双肌肉牛比杂合子表现出更多的难产问题。因此,为了在产生纯合子动物的同时降低成本,降低幼崽死亡率,值得考虑交配杂合子动物^[28]。

在皮埃蒙特牛中,双肌表型是由第 3 外显子 g. 938G > A 位置发生替换发生的遗传表型,此突变改变了 *MSTN* 的功能,破坏了蛋白质的二硫键^[29]。目前,该品种已被系统地选择为双肌肉牛,在许多畜群中固定(意大利的皮埃蒙特地区 > 96% 为纯合子)。一些研究表明,即与没有突变的动物相比,杂合双肌表型对胴体的影响相对较大,对产犊没有负

面影响^[30]。

Marchigiana 牛第 3 外显子存在 g. 874G > T 的突变,此突变导致 291 位谷氨酸改变为 1 个终止密码子^[31]。杂合子动物常被选为父系^[32],因为杂合动物比其他纯合基因型动物的肉质量也更好,且拥有更为良好的健康状况^[33]。此外,在启动子区域 g. -371T > A 和 g. -805G > C (相对于起始密码子的基因组编号)中发现了两种不同的 SNP 突变。

在 Blonde d'Aquitaine、Limousine Parthenaise 和 Rubia Gallega 牛中均发现了 11-bp 的缺失(c. 821_831del11)^[29,34]。Limousine 牛品种中存在 1 个颠换突变(g. 433C > A),该突变在功能上与肌肉质量和胴

体产量增加有关,且不导致生殖劣势^[35];在皮埃蒙特牛中,存在 1 个 g. 938G > A 的替换^[29,34];在 Maine-Anjou 牛中存在 1 个 indel(c. 419_421del7ins10),导致 140 位氨基酸处提前出现终止密码子^[16],此外,1 个 c. 676G > T 替换,也导致在 p. Glu226Thr 位置提前出现终止密码子^[24]。Charolaise 和 Limousine 牛都有 1 个 c. 610C > T 的替换,在 204 位氨基酸处提前出现终止密码子^[32]。此外,在瘤牛基因组的 *MSTN* 编码部分也已经报道了 14 个多态性(3 个在外显子 1,7 个在外显子 2,4 个在外显子 3)。然而,这些多态性是否为功能突变仍有待阐明^[36]。表 1 报告了牛 *MSTN* 基因的遗传变异。

表 1 牛 *MSTN* 基因突变

品种	多态性		参考 文献	品种	多态性		参考 文献
	位置	突变			位置	突变	
秦川牛	nt938	G > A	[37-38]	曼安茹牛	c. 419	del7ins10	[16]
南阳牛	nt938	G > A	[37-38]		c. 676	G > T	[24]
草原红牛	nt282	C > A	[39-40]	内洛尔牛	g. 76	A > T	[36]
辽育白牛	nt805	G > C	[41]		g. 111	G > T	
	nt571	A > G			g. 267	A > G	
牦牛	nt192	A > G	[42]		g. 374	del16	
天祝白牦牛	nt417	C > T	[43]		g. 414	C > T	
甘南白牦牛	nt417	C > T	[43]		g. 420	T > G	
Asturiana de los Valles	c. 821	del11	[24]		g. 433	A > T	
比利时蓝牛	c. 821	del11	[16]		g. 445	A > T	
阿奎坦牛	c. 821	del11	[29]		g. 527	T > A	
d'Aquitaine	g. 3811	T > G	[44]		g. 641	G > A	
夏洛来牛	c. 610	C > T	[29]		g. 694	G > A	
Gasconne	c. 938	G > A	[29,34]		g. 840	A > G	
利木赞牛	c. 821	del11	[29]		g. 951	T > G	
	c. 610	C > T	[32]		g. 1083	C > T	
	g. 433	C > A	[35]	Parthenoise	c. 821	del11	[29]
Marchigiana	g. 874	G > T	[32]	皮埃蒙特牛	c. 938	G > A	[29]
Rubia Gallega	c. 821	del11	[29]				

3.2 马 *MSTN* 基因突变研究

Hosoyama 等人^[45]从纯种马中分离并测序了 *MSTN* 基因的 cDNA 序列。Dall'Olio 等人^[46]对 16 个马品种进行测序后,共发现 7 个 SNP;2 个位于起始密码子上游启动子 646 bp (GQ183900:g. 26T > C) 和 156 bp (GQ183900:g. 156T > C) 位置;其余 5 个 SNP 位于内含子区域,4 个位于内含子 1,1 个位于内含子 2。其中位于内含子 1 的 g. 2115A > G 突变与纯血马的短跑能力和赛跑耐力有关。随后,在 15 个中国马品种的研究,发现 *MSTN* 中有 6 个不同的 SNP;2 个 SNP (g. 26T > C 和 g. 156T > C) 在启动子区,2 个 SNP (g. 587A > G 和 G. 598C > T) 在 5' - UTR 区域;另外 2 个 SNP (G. 1485 C > T 和 g. 2115A

> G) 在第 1 内含子中,其中 g. 587A > G 和 g. 598C > T 突变为新发现的 SNP 突变,而其他均是先前报道的^[47]。

最近在 4 个波兰马品种中检测到 5 个多态性 (g. 66495826T > C、g. 66495696T > C、g. 66493737T > C、g. 66495254C > T 和 g. 66490010T > C)^[48]。g. 66495254C > T 多态性 (又称 g. 598C > T)^[49] 在中国马品种、波兰科尼克马和阿拉伯马中均有描述,此突变与纯血马的最佳奔跑距离相关^[50]。在纯血马中首次报道 *MSTN* 基因存在 g. 66495326_66495327ins227 位点多态^[47]。表 2 报告了马 *MSTN* 基因的遗传变异。

表 2 马 *MSTN* 基因突变

品种	多态性		参考 文献	品种	多态性		参考 文献
	位置	突变			位置	突变	
焉耆马	g. 2115	A > G	[51]	Lipizzan	g. 26	T > C	[46]
伊犁马	g. 2115	A > G	[51]	Maremmano	g. 156	T > C	[46]
美国夸特马	g. 66495326_66495327	INS227	[47]	Murgese	g. 156	T > C	[46]
Andalusian	g. 26	T > C	[46]		g. 26	T > C	[46]
	g. 156	T > C			g. 156	T > C	
	g. 1634	T > G		Polish Heavy Draft	g. 26	T > C	[48]
	g. 2024	G > A			g. 66495254	C > T	
	g. 2115	A > G			g. 66495696	T > C	
	g. 2327	A > C			g. 66493737	T > C	
	g. 4230	T > A			g. 66490010	T > C	
阿拉伯马	g. 2279	A > C	[48, 52]	Rapid Heavy Draft	g. 26	T > C	[46]
	g. 66495696	T > C			g. 156	T > C	
	g. 66495254	C > T		Salernitano	g. 156	T > C	[46]
巴迪奇诺马	g. 156	T > C	[46]		g. 2478	G > C	[52]
哈福林格马	g. 156	T > C	[46]	纯血马	g. 156	T > C	[46]
胡克尔马	g. 26	T > C	[48]		g. 1634	T > G	[47]
	g. 66495696	T > C			g. 2115	A > G	[47]
	g. 66493737	T > C			g. 2327	A > C	[47]
	g. 66490010	T > C		Tolfetano	g. 156	T > C	[46]
				Uruguayan Creole	g. 156	T > C	[46]
Italian Saddle	g. 26	T > C	[46]	Ventasso	g. 26	T > C	[46]
	g. 156	T > C					
Italian trotter	g. 26	T > C	[46]				
Polish Konik	g. 66495254	C > T	[48]				
	g. 66495696	T > C					
	g. 66493737	T > C					
	g. 66495254	C > T					
	g. 66490010	T > C					

3.3 山羊 *MSTN* 基因突变研究

在山羊 *MSTN* 基因多态性研究,刘铮铸等^[53-54]发现在 19 个山羊品种中发现 *MSTN* 基因在内含子 2 存在 SNP 位点,且与生长性状显著相关。在波尔山羊、马头山羊、海门山羊和努比山羊在 5'-UTR 区域内均存在 5-bp indel (c. 12561260delinsTTTTA) 多态,但仅在波尔山羊中检测到外显子 1 的 1 个 SNP 替换 (g. 1388T > A)^[55],在波尔山羊和安徽白山羊中发现了位于 5'UTR 区域 (g. 197G > A) 和第 1 外显子 (g. 345A > T) 的 2 个新的 SNP^[56]。在中国 22 个不同山羊品种共发现 8 个 SNP 多态性 (g. 1980A > G、g. 1981G > C、g. 1982A > G、g. 1984G > T、g. 2121A > G、g. 2124T > C、g. 2174G > A 和 g. 2246A > G)^[57]。最近,Nguluma 等^[58]在波尔山羊中发现了 1 个新的多态性位点 (g. 298T > C)。表 3 总结了山羊 *MSTN* 基因的遗传变异。

表 3 山羊 *MSTN* 基因突变

品种	多态性		参考 文献
	位置	突变	
波尔山羊	c. -662	C > T	[59]
	g. 1256	TTTTA/-	[58]
	g. 197	G > A	
	g. 1388	T > A	
	nt345	A > T	
	nt298	T > C	
安徽白山羊	g. 197	G > A	[56]
	g. 345	A > T	[58]
海门山羊	nt1256	TTTTA/-	
马头山羊	nt1256	TTTTA/-	
努比山羊	nt1256	TTTTA/-	

3.4 绵羊 *MSTN* 基因突变研究

表 4 报道了绵羊 *MSTN* 基因的遗传变异。除了在挪威白绵羊 *MSTN* 基因中发现存在 1 - bp 缺失 (*MSTN*:c. 960delG) 和罗姆尼羊存在 1 - bp 插入 (c. 120insA) 突变^[60-61]外,其他 SNP 突变多位于基

因的非编码区域。

贺三刚等^[62]报道在 *MSTN* 基因启动子区域,陶赛特羊、美利奴羊、巴音布鲁克羊、多浪羊、阿勒泰羊存在 -959T>C 突变;在美利奴羊、巴什拜羊、巴音布鲁克羊、多浪羊、阿勒泰羊中存在 -784G>A 突变。在国外的研究中,特塞尔绵羊肌纤维肥大,故特塞尔绵羊作为一种终端杂交品种被广泛利用,它们具有特殊的构造和潜力,可以在增加瘦肉和减少脂肪含量的情况下产生产量更高的胴体^[63]。数量性状位点分析鉴定了特塞尔绵羊 2 号染色体 *MSTN* 基因 3'-UTR 存在 1 个对肌肉质量有影响的变异 (g.6723G>A),可为骨骼肌中高度表达的 microRNAs(miR1 和 miR206)创建了靶点^[64]。

挪威白羊双肌表型表现为肌肉、尤其是后腿的过度发育。序列分析显示双肌个体 *MSTN* 基因缺失 1-bp(c.960delG),G 碱基的缺失破坏了阅读框,并在 359 氨基酸处提早产生终止密码子(野生型动物的终止密码子在 375 氨基酸)^[60]。在挪威白羊中也发现了特塞尔绵羊中发现的 3'-UTR 突变(c.*2360G>A),但此突变对于挪威白羊的肌肉含量影响不大^[60],对 *MSTN* 编码区域进行测序,结果发现

双肌动物体内存在 1 个插入突变(c.120insA),导致在 49 位氨基酸位置提前产生终止密码子^[60]。

在新西兰不同绵羊品种 *MSTN* 的多态性研究,从核苷酸 c.-1199(启动子区域)到 3'-UTR 的 c.*1813 区域中共鉴定出 28 个 SNP,其中 3 个位于启动子区域,3 个位于 5'-UTR,11 个位于内含子 1,5 个位于内含子 2,5 个位于 3'-UTR。共新发现 10 种新的替换突变:c.-959C>T、c.-784A>G、c.373+563A>G、c.373+607A>G、c.374-654G>A、c.374-54T>C、c.748-54T>C、c.*83A>G、c.*455A>G 和 c.*709C>A^[65];其他 18 例替换突变之前已被报道,在新西兰杂交绵羊中观察到的 c.*123A 突变和在特塞尔绵羊中报道的 c.373+18T>G 突变均与双肌表型有显著的联系^[66]。

泽尔羊是伊朗北部的一个肉羊品种,和伊朗的 Iranian Baluchi sheep 一样,在第 2 内含子中存在 1 个多态位点^[67]。在 5'-UTR、外显子 1 和外显子 2 区域发现了印度绵羊的 3 个多态性位点,其中外显子 1(c.539T>G)和外显子 2(c.821T>A)的 2 个 SNP 是非同义突变^[68],这些基因变异与双肌表型均不显著相关。

表 4 绵羊 *MSTN* 基因突变

品种	多态性		参考 文献	品种	多态性		参考 文献
	位置	突变			位置	突变	
杂交羊	3'UTR	delA	[69]	白萨福克羊	c.*123A		[64]
杜泊绵羊	5'UTR	A>G	[70]	林肯羊	c.*123A		[64]
小尾寒羊	5'UTR	A>G	[70]	新西兰罗姆尼羊	c.101	G>A	[64]
晋中绵羊	5'UTR	C>A	[70]		c.-959	C>T	[71]
特塞尔绵羊	g.6723	G>A	[64]		c.-784	A>G	
	g.391	G>T			c.373+18	A>G	
	g.2449	C>G			c.373+563	A>G	
	g.2379	C>T			c.373+607	G>A	
	g.1405	A>T			c.373-654	T>C	
	g.1402	G>A			c.373-54	T>C	
	g.1214	C>T			c.748-54	A>G	
	g.1129	C>T			c.*83	A>G	
	g.41	A>C			c.*455	C>A	
	g.39	T>C			c.*709	insA	
	g.474	C>T			c.*123A	T>G	
	g.613	T>C			c.-2449	G>C	
	g.616	G>A			c.-2379	T>C	
	g.619	T>C		无角陶赛特羊	c.*123A		[64]
	g.622	T>C		印度羊	c.539	T>G	[68]
	g.632	G>T			c.821	T>A	
	g.696	C>T		美利奴羊	c.373+396	T>C	[72]
	g.3135	C>T			c.374-362	A>T	
	g.4036	A>C			c.374-16	delT	
	g.4044	C>T			c.747+185	C>A	
挪威白绵羊	c.960	delI	[71]		c.748-194	C>A	
	c.2360	G>A			c.782-783	insT	
夏洛莱羊	c.*123A		[64]		c.940	G>T	
					c.*310	G>T	

3.5 猪 *MSTN* 基因突变研究

易恒洁等^[73]鉴定出高坡猪 *MSTN* 基因存在 c.63C>Tde SNP 位点,刘晓琴等^[74]在长白猪、大白猪、杜长大、通城猪、莱芜猪、五指山猪 6 个不同猪种中,共发现 16 个 SNPs。Jiang 等^[75]在猪 *MSTN* 基因报道了 3 种 SNP (登录号分别为 AF393396、AF393397 和 AF393398),其中只有 1 个突变 (*MSTN*:g.383T>A)与育成期约克郡猪(活体重 60~100 kg)的平均日增重有关,并且杂合突变型猪体重更大^[75]。Stinckens 等^[76]将肌肉发达的皮特兰猪的 *MSTN* 序列与其他 5 个品种(皮特兰猪、长白猪、大白猪、眉山猪和野猪)进行比较后,共发现 15 个多态性位点,但这些 *MSTN* 基因中自然发生的突变与肌肉表型没有显著的相关性;然而 Qian 等^[77]采用锌指核酸酶技术和体细胞细胞核转移技术制备了 *MSTN* 缺失型眉山猪,由此产生的后代表现出显著的双肌表型(尤其是在后躯)。缺失型 *MSTN* 猪的肌肉重增加了 50%~100%,且证明是由于纤维增生导致肌肉增重。表 5 报告了在猪 *MSTN* 中检测到的遗传变异。

表 5 猪 *MSTN* 基因突变

品种	多态性		参考文献
	位置	突变	
高坡猪	c.63	C>T	[73]
大白猪	c.480	G>T	[78]
大白猪	c.1008	A>G	[78]
比利时猪	g.435	G>A	[76]
	g.447	A>G	
	g.879	T>A	
眉山猪	g.879	T>A	[77]
约克夏猪	g.383	T>A	[75]

3.6 鸡 *MSTN* 基因突变研究

在鸡中,*MSTN* 基因与哺乳动物相似,由 3 个外显子(分别为 373,374,1 567 bp)和 2 个内含子组成。Gu 等^[79]的研究表明,鸡 *MSTN* 基因不仅具有调节骨骼肌发育的作用,还参与脂肪代谢和分布,并在不同品系鸡中确定了 7 个 SNP:5 个在 5'调控区域(g.167G>A、g.177T>C、g.304G>A、g.322A>G 和 g.334C>T),2 个在 3'调控区(g.7263A>T 和 g.6935A>G)。Ye 等人^[80]究发现了 14 个 SNP:7 个 SNP(g.2100G>A、g.2109G>A、g.2244G>C、g.2283A>G、g.2346C>T、g.2373C>T 和 g.2416A>G)位于外显子 1,1 个 SNP(g.4842T>G)位于外

显子 2,3 个 SNP(g.7434C>G、g.7435A>G 和 g.7436C>A)位于外显子 3,3 个 SNP(g.4405G>C、g.4405A>T 和 g.4954A>G)位于内含子 1 或 2,同时研究了 *MSTN* 多态性与 3 种商品肉用鸡品系的死亡率、生长速率、饲料转化率、超声乳腺深度、乳腺百分率、内脏重量、腿部缺陷、血氧水平的相关性影响。由于 *MSTN* 的主要功能是调节骨骼肌生长,Ye 等^[80]认为 1 个非同义 SNP(g.4842T>G)通过导致 *MSTN* 的一个氨基酸的变化,可能与体重的变化有关。文献报道 4 个中国鸡品种 *MSTN* 基因存在 SNP 多态,且可能影响腹部脂肪重量、乳房肌肉重量、出生体重和成年体重^[81]。Gu 等^[82]在 *MSTN* 基因的 5'调控区鉴定了 3 个 SNP,在 3'调控区鉴定了 2 个 SNP,且在 5'调控区域的 1 个位点上,纯合子基因型腹部脂肪重量和脂肪百分比均高于杂合基因型^[82]。

对鸭子 *MSTN* 的 5'调控区域进行分析,发现 3 个 SNP 多态性(g.753G>A、g.658G>T 和 g.235G>C)与乳房肌肉百分比和腹部脂肪率相关^[83],此外,Xu 等^[84]研究了北京鸭 *MSTN* 的多态性,发现了 3 个显著的突变,第 1 个是位于开放阅读框内的 c.129T>C 突变,与乳房肌肉厚度相关,第 3 个 SNP(c.952T>C)与龙骨长度有显著相关性。在高邮鸭中,1 个位于外显子 3 的 SNP(g.2701G>A)突变与腹部脂肪率相关^[85];在三穗鸭中,发现 4 个突变可能与腿部肌肉重量、腿部肌肉百分比和屠宰率有关^[86]。表 6 为鸡 *MSTN* 基因的多态性。

3.7 家兔 *MSTN* 基因突变研究

Fontanesi 等^[91]研究了 *MSTN* 多态性对家兔生产性状影响。通过对 14 个不同的体型和肌肉重的兔子代表品种或品系进行测序后,在比利时兔、Burgundy fawn、巨型格仔兔和大灰兔中确定了 4 个 SNP 多态:位于外显子 1 的罕见的 SNP 同义突变(c.108 C>T)、位于外显子 2 的 SNP 同义突变(c.713T>A)、位于 3'-UTR 的 SNP 突变(c.*194A>G)和位于内含子 2 的 SNP 突变(c.747+34C>T)。在商品杂交兔中,Qiao 等人^[92]在 5'调控区检测到 1 个 SNP 突变(g.476T>C),但在外显子中未检测到突变位点,相关分析显示,SNP 多态与肝脏和胴体量增加有关。这些结果表明,*MSTN* 上游调控区域的 SNPs 对家兔体细胞发育有利,可作为家兔肉质选择的分子标记。Sternstein 等人^[93]在大灰兔和新西兰兔 *MSTN* 基因中发现了多态性,对这些品种进行测序,发现 2 个 SNP 分别位于调控区(c.-125T>C)和内含子 1(c.373+234T>C)。表 7 为家兔 *MSTN* 基因的多态性。

表 6 鸡 *MSTN* 基因突变

品种	多态性		参考 文献	品种	多态性		参考 文献
	位置	突变			位置	突变	
拜城油鸡	c. 234	G > A	[87]	边鸡	g. 234	G > A	[81]
盐城地方鸡	g. 2283	G > A	[88]	高邮鸭	g. 2701	G > A	[85]
	g. 2100	G > A	[88]	北京鸭	c. 129	T > C	[84]
	g. 2109	G > A	[89-90]		c. 708	T > C	
Arbor Acre	g. 2244	C > G	[90]		c. 952	T > C	
	g. 167	G > A	[80-81]	三穗鸭	g. 106	G > A	[86]
	g. 177	T > C			g. 120	A > G	
	g. 304	G > A			g. 159	G > A	
	g. 322	A > G			g. 5368	G > A	
	g. 326	A > G		尤溪鸡	g. 5389	A > C	
	g. 334	C > T			g. 5410	G > A	
	g. 334	C > G			g. 326	A > G	[81]
	g. 1346	C > T			g. 334	C > G	
	g. 1375	G > A			g. 1346	C > T	
	g. 6935	A > G			g. 1375	G > A	
	g. 7263	A > T					
京海鸭	g. 326	A > G	[81]				
	g. 334	C > G					
	g. 1346	C > T					
	g. 1375	G > A					

表 7 家兔 *MSTN* 基因突变

品种	多态性		参考 文献	品种	多态性		参考 文献
	位置	突变			位置	突变	
比利时兔	c. 108	C > T	[91]	巨型格仔兔	c. 108	C > T	[91]
	c. 713	T > A			c. 713	T > A	
	c. * 194	A > G			c. * 194	A > G	
	c. 747 + 34	C > T			c. 747 + 34	C > T	
Burgundy fawn	c. 108	C > T	[91]	商业品种(不具体)	g. 476	T > C	[92]
	c. 713	T > A		大灰兔	c. 108	C > T	[91]
	c. * 194	A > G			c. 713	T > A	
	c. 747 + 34	C > T			c. * 194	A > G	
大灰兔	c. - 125	T > C	[91]		c. 747 + 34	C > T	
	c. 373 + 234	T > C		新西兰兔	c. - 125	T > C	[93]
					c. 373 + 234	T > C	

4 *MSTN* 基因及其研究前景

MSTN 基因变异是肌肉肥大的主要原因,而其它基因变异所起的作用较小^[94]。许多研究,尤其是在小鼠上,报道了抑制 *MSTN* 表达可促进肌肉生长,在缺失突变体中,一些肌肉大约是正常体重的 3 倍,

因此,使 *MSTN* 失活的手段被认为是一种改善食用动物肌肉生长和治疗与肌肉无力和营养不良相关的人类疾病的策略^[95],故研究和确定 *MSTN* 基因不同突变的分子基础是重要且必要的。

2018 年 12 月国际知名期刊《Animal Genetics》发表的一篇文章指出:损害 *MSTN* 功能的突变会导

致家畜肌肉纤维增生,然而,小鼠和大型动物(牛和猪)之间的明确差异之一是出生后的表型^[96]。小鼠显示出相当大的纤维肥大,而牛和猪的纤维大小没有增加。这些发现可作为今后在大型动物身上进行双肌现象研究的基准。因此,使用正确的术语来描述动物的表型是非常重要的。双肌动物通常被称为肌肉“肥大”,但在牛和猪的情况下,没有出现纤维肥大,所以笔者建议在建立机制时使用正确的术语描述。Aiello 等^[96]建议使用以下4个术语:(i)肌肉增生导致的肌肉增大;(ii)肌肉肥大导致的肌肉增大;(iii)肌肉增生和肥大导致的肌肉增大;(iv)未知细胞机制导致的肌肉增大。今后研究中需要了解 *MSTN* 在哺乳动物产后肌肉发育中的作用机制。小动物和大动物的功能缺失突变都会导致增生,然而,只有在小鼠中, *MSTN* 突变才会对肌肉纤维的大小产生影响,表现为肥大,但为什么在没有 *MSTN* 的情况下,老鼠的纤维会肥大,而大型哺乳动物的纤维却不会。解决这一问题的线索可能来自于最近在猴子身上的研究,研究表明, *MSTN* 和激活素协同作用,抑制成年期猴子的纤维肥大^[97]。笔者建议可以通过量化大型和小型动物在不同发育阶段的 *MSTN* 和激活素水平来验证,这是继针对 *MSTN* 和激活素的特异性 ELISAs 开发之后,现在可能的一种方法^[97]。

最后, *MSTN* 是旨在提高家畜肉类生产的主要目标^[23],包括产生 *MSTN* 敲除动物。此外,还需要考虑更精细的转基因方法,例如针对产后或性别特异性抑制 *MSTN*。Wang 等^[98]报道了 CRISPR/Cas9 系统在山羊胚胎中通过靶向 *MSTN* 的 Cas9 mRNA 和 sgRNA 微注射成功构建山羊基因组,他们通过干扰 *MSTN* 证明了这种方法的有效性,从而在 Cas9 介导的基因修饰山羊中提高了体重和更大的肌纤维尺寸;最近研究发现,利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术可成功获得牛 *MSTN* 基因编辑胚胎^[99],利用 CRISPR-Cas9 系统定点突变可获得 *MSTN* 基因突变猪^[100]。

5 结 论

简言之,损害 *MSTN* 功能的突变会导致多余的肌肉纤维增生,在商用动物中存在大量的 *MSTN* 基因变异,其多态性在动物育种领域具有重要意义,可用于育种选择进而提高家畜肉品生产。

参考文献:

- [1] Beyer T A, Narimatsu M, Weiss A, et al. The TGF β superfamily in stem cell biology and early mammalian embryonic development [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 2013, 1830 (2): 2268-2279.
- [2] 魏海霞,罗健,郭延华,等. CRISPR/Cas9 介导绵羊成纤维细胞 *MSTN* 基因突变系统的构建[J]. *农业生物技术学报*, 2018, 26 (8): 1440-1448.
- [3] 高丽,胡思敏,谷明娟,等. 反义 RNA 干扰 *MSTN* 对牛肌肉卫星细胞脂肪生成相关基因的影响[J]. *农业生物技术学报*, 2016, 24 (12): 1846-1854.
- [4] 张斌,相德才,赵智勇,等. *IGFs* 和 *MSTN* 基因表达量与种猪生长性状的相关性研究[J]. *云南农业大学学报(自然科学版)*, 2019, 34 (2): 263-270.
- [5] 陈冬金,桑雷,孙世坤,等. 福建白兔 Myostatin (*MSTN*) 基因的克隆及序列分析[J]. *福建农业学报*, 2018 (8): 771-776.
- [6] 尤双,曹洋,李村院,等. 靶向兔肌肉生长抑制素基因 CRISPR/Cas9 载体的构建和活性分析[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46 (6): 34-36.
- [7] Schuelke M, Wagner K R, Stolz L E, et al. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child [J]. *New England Journal of Medicine*, 2004, 351 (10): 1030-1031.
- [8] 刘瑞茜,刘真,吴明明,等. 绵羊胚胎发育中后期骨骼肌 BTG2/3 的表达动态及其与 Myostatin 的关系[J]. *畜牧兽医学报*, 2015, 46 (11): 1916-1923.
- [9] Wolfman N M, Mcpherron A C, Pappano W N, et al. Activation of latent myostatin by the BMP-1/tolloid family of metalloproteinases [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2003, 100 (26): 15842-15846.
- [10] Trendelenburg A U, Meyer A, Rohner D, et al. Myostatin reduces Akt/TORC1/p70S6K signaling, inhibiting myoblast differentiation and myotube size [J]. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2009, 296 (6): 1258-1270.
- [11] 王红娜,孙洪新,张英杰,等. 干扰 *MSTN* 对绵羊成肌细胞增殖分化及相关基因表达的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2017, 49 (1): 46-54.
- [12] Amthor H, Huang R, McKinnell I, et al. The regulation and action of myostatin as a negative regulator of muscle development during avian embryogenesis [J]. *Developmental Biology*, 2002, 251 (2): 241-257.
- [13] Thomas M, Langley B, Berry C, et al. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275 (51): 40235-40243.
- [14] Amthor H. A molecular mechanism enabling continuous embryonic muscle growth: A balance between proliferation and differentiation [J]. *Development*, 1999, 126 (5): 1041-1053.
- [15] Matsakas A, Otto A, Elashry M I, et al. Altered primary and secondary myogenesis in the myostatin-null mouse [J]. *Rejuvenation Research*, 2010, 13 (6): 717-727.
- [16] Mcpherron A C, Lee S J. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, 94 (23): 12457-12461.
- [17] Fiems L O. Double muscling in cattle: Genes, husbandry, carcasses and meat [J]. *Animals*, 2012, 2 (4): 472-506.
- [18] Holmes J H G, Ashmore C R, Robinson D W. Effects of stress on cattle with hereditary muscular hypertrophy [J]. *Journal of Ani-*

- mal Science, 1973, 36(4): 684-694.
- [19] Wiener P, Smith J A, Lewis A M, et al. Muscle-related traits in cattle: The role of the myostatin gene in the South Devon breed [J]. Genetics Selection Evolution, 2002, 34: 221-232.
- [20] Girgenrath S, Song K, Whittemore L A. Loss of myostatin expression alters fiber-type distribution and expression of myosin heavy chain isoforms in slow- and fast-type skeletal muscle [J]. Muscle & Nerve, 2005, 31(1): 34-40.
- [21] Mosher D S, Quignon P, Bustamante C D, et al. A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs [J]. PLoS Genetics, 2007, 3(5): e79.
- [22] Zou Q, Wang X, Liu Y, et al. Generation of gene-target dogs using CRISPR/Cas9 system [J]. Journal of Molecular Cell Biology, 2015, 7(6): 580.
- [23] Clop A, Marcq F, Takeda H, et al. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep [J]. Nature Genetics, 2006, 38(7): 813-818.
- [24] Grobet L, Martin L J, Poncelet D, et al. A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle [J]. Nature Genetics, 1997, 17(1): 71-74.
- [25] Mirhoseini S Z, Zare J. The role of myostatin on growth and carcass traits and its application in animal breeding [J]. Life Science Journal, 2012, 9: 2353-2357.
- [26] Deng B, Zhang F, Wen J, et al. The function of myostatin in the regulation of fat mass in mammals [J]. Nutrition & Metabolism, 2017, 14(1): 29.
- [27] Deveaux V, Cassar-Malek I, Picard B, et al. Comparison of contractile characteristics of muscle from Holstein and double-muscling Belgian Blue fetuses [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology, 2001, 131(1): 21-29.
- [28] Bellinge R H, Liberles D A, Iaschi S P, et al. Myostatin and its implications on animal breeding: A review [J]. Animal Genetics, 2015, 36(1): 1-6.
- [29] Kambadur R, Sharma M, Smith T P L, et al. Mutations in myostatin (*GDF8*) in double-muscling Belgian blue and Piedmontese cattle [J]. Genome Research, 1997, 7(9): 910-916.
- [30] Casas E, Keele J W, Shackelford S D, et al. Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle [J]. Journal of Animal Science, 1998, 76(2): 468-473.
- [31] Marchitelli C, Savarese M C, Crisà A, et al. Double muscling in Marchigiana beef breed is caused by a stop codon in the third exon of myostatin gene [J]. Mammalian Genome, 2003, 14(6): 392-395.
- [32] Cappuccio I, Marchitelli C, Serracchioli A. A G-T transversion induces a stop codon at the mh locus in hypertrophic Marchigiana beef subjects [J]. Animal Genetics, 1998, 29(1): 51.
- [33] Vincenti F, Failla S, Gigli S, et al. The hypertrophic Marchigiana: Physical and biochemical parameters for meat quality evaluation [J]. Italian Journal of Animal Science, 2007, 6: 491-493.
- [34] Dunner S, Miranda M E, Amigues Y, et al. Haplotype diversity of the myostatin gene among beef cattle breeds [J]. Genetics Selection Evolution, 2003, 35(1): 103-110.
- [35] Sellick G S, Pitchford W S, Morris C A, et al. Effect of myostatin F94L on carcass yield in cattle [J]. Animal Genetics, 2010, 38(5): 440-446.
- [36] Grisolia A B, D'Angelo G T, Porto Neto L R, et al. Myostatin (*GDF8*) single nucleotide polymorphisms in Nellore cattle [J]. Genetics & Molecular Research: GMR, 2009, 8(3): 822-830.
- [37] 史明艳. 牛双肌基因多态性分子标记研究 [D]. 陕西 杨凌: 西北农林科技大学, 2003.
- [38] 史明艳, 咎林森, 王勇强. 秦川牛、南阳牛双肌基因的 PCR-SSCP 检测 [J]. 西北农业学报, 2003, 12(3): 21-23.
- [39] 郭丹曹阳, 张嘉保, 等. 草原红牛 *MSTN* 基因第一外显子 SNPs 多态性分析 [J]. 现代畜牧兽医, 2007(11): 12-14.
- [40] 张胜, 张永宏, 高妍, 等. 草原红牛肌生成抑制素基因内含子 1 多态性及部分屠宰性状的相关性分析 [J]. 中国兽医学报, 2010, 30(11): 1557-1560.
- [41] 王娇娇, 张世伟, 张丽君, 等. 辽育白牛 *MSTN* 基因分子克隆及序列分析 [J]. 现代畜牧兽医, 2016(10): 21-27.
- [42] 梁春年, 丁学智, 包鹏甲, 等. 牦牛 *MSTN* 基因分子克隆及序列分析 [J]. 华北农学报, 2013, 28(1): 76-81.
- [43] 张丽, 刘丽霞, 李强子, 等. 天祝白牦牛 *MSTN* 基因编码区克隆及生物信息学分析 [J]. 浙江农业学报, 2017, 29(4): 618-624.
- [44] Claire B, Lionel F, Gilles R, et al. Deep intronic mutation and pseudo exon activation as a novel muscular hypertrophy modifier in cattle [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e97399.
- [45] Hosoyama T, Kawada S, Oshiumi R, et al. Molecular cloning of equine (thoroughbred) myostatin cDNA and detection of myostatin precursor proteins in the serum [J]. Journal of Reproduction and Development, 2002, 49(2): 335-342.
- [46] Dall'olio S, Fontanesi L, Costa L N, et al. Analysis of horse *myostatin* gene and identification of single nucleotide polymorphisms in breeds of different morphological types [J]. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010(6628).
- [47] Petersen, Jessica L, Mickelson, et al. Genome-wide analysis reveals selection for important traits in domestic horse breeds [J]. PLoS Genetics, 2013, 9(1): e1003211.
- [48] Stefaniuk M, Ropka-Molik K, Piorkowska K, et al. Analysis of polymorphisms in the equine *MSTN* gene in Polish populations of horse breeds [J]. Livestock Science, 2016, 187: 151-157.
- [49] Li R, Liu D H, Cao C N, et al. Single nucleotide polymorphisms of myostatin gene in Chinese domestic horses [J]. Gene, 2014, 538(1): 150-154.
- [50] Bower M A, McGivney B A, Campana M G, et al. The genetic origin and history of speed in the Thoroughbred racehorse [J]. Nature Communications, 2012, 3: 643.
- [51] 韩煜茹, 孟军, 王建华, 等. 3 个品种马 *MSTN* 基因 PCR-SSCP 多态性分析 [J]. 新疆农业科学, 2015, 52(11): 2117-2122.
- [52] Baron E E, Lopes M S, Mendon A D, et al. SNP identification and polymorphism analysis in exon 2 of the horse myostatin gene

- [J]. *Animal Genetics*, 2012, 43(2): 229-232.
- [53] 刘铮铸,李祥龙,巩元芳,等. 山羊肌肉生长抑制素 (*MSTN*) 基因 *Hph* I 酶切多态性分析[J]. 中国兽医学报, 2007, 27(4): 591-594.
- [54] 刘铮铸,李祥龙,巩元芳,等. *MSTN* 基因内含子 2 多态性与山羊体重性状相关研究[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(8): 745-748.
- [55] Zhang C, Liu Y, Xu D, et al. Polymorphisms of myostatin gene (*MSTN*) in four goat breeds and their effects on Boer goat growth performance [J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39(3): 3081-3087.
- [56] Zhang Z J, Ling Y H, Wang L J, et al. Polymorphisms of the myostatin gene (*MSTN*) and its relationship with growth traits in goat breeds [J]. *Genetics and Molecular Research*, 2013, 12(2): 965-971.
- [57] Li X L, Wu Z L, Gong Y F, et al. Single-nucleotide polymorphism identification in the caprine myostatin gene [J]. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2006, 123(2): 141-144.
- [58] Nguluma A S, Huang Y, Zhao Y, et al. Polymorphisms of myostatin gene and its association with growth in two strains of small east African and Blended goats of Tanzania [J]. *Livestock Research for Rural Development*, 2018, 30: 25.
- [59] 闵令江,丰艳妮,李兰,等. 山羊 *MSTN* 基因多态性与主要经济性状的关联分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2014, 46(9): 1515-1524.
- [60] Boman I A, Våge D I. An insertion in the coding region of the myostatin (*MSTN*) gene affects carcass conformation and fatness in the Norwegian Spælsau (*Ovis aries*) [J]. *Bmc Research Notes*, 2009, 2(1): 98.
- [61] Boman I A, Klemetsdal G, Blichfeldt T, et al. A frameshift mutation in the coding region of the myostatin gene (*MSTN*) affects carcass conformation and fatness in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*) [J]. *Animal Genetics*, 2010, 40(4): 418-422.
- [62] 贺三刚,陈芯,刘晨曦,等. 绵羊基因启动子区 SNPs 分析 [J]. 华北农学报, 2012, 27(3): 81-85.
- [63] Leymaster K A, Jenkins T G. Comparison of Texel- and Suffolk-sired crossbred lambs for survival, growth, and compositional traits [J]. *Journal of Animal Science*, 1993, 71(4): 859.
- [64] Kijas J W, Mcculloch R, Edwards J E H, et al. Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the Ovine, *GDF8* locus [J]. *BMC Genetics*, 2007, 8(1): 80.
- [65] Han J, Forrest R H, Hickford J G H. Genetic variations in the myostatin gene (*MSTN*) in New Zealand sheep breeds [J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, 40(11): 6379-6384.
- [66] Clop A, Marcq F, Takeda H, et al. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep [J]. *Nature Genetics*, 2006, 38(7): 813-818.
- [67] Dehnavi E, Azari M A, Hasani S, et al. Polymorphism of myostatin gene in intron 1 and 2 and exon 3, and their associations with yearling weight, using PCR-RFLP and PCR-SSCP techniques in Zel Sheep [J]. *Biotechnol. Res. Int.*, 2015, 2012(3): 472307.
- [68] Pothuraju M, Mishra S, Kumar S, et al. Polymorphism in the coding region sequence of *GDF8* gene in Indian Sheep [J]. *Russian Journal of Genetics*, 2015, 51(11): 1119-1122.
- [69] 胡师金,张淑珍,袁泽湖,等. 绵羊 *CLPG* 和 *MSTN* 基因多态性及其与生长性状的关联分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(5): 1285-1293.
- [70] 张晓强,姚继广,张春香,等. 3 个绵羊品种 *MSTN* 基因多态性的比较分析 [J]. 中国草食动物科学, 2012, 32(2): 12-15.
- [71] Wang J, Zhou H, Hu J, et al. Two single nucleotide polymorphisms in the promoter of the ovine myostatin gene (*MSTN*) and their effect on growth and carcass muscle traits in New Zealand Romney sheep [J]. *Journal of Animal Breeding & Genetics*, 2016, 133(3): 219-226.
- [72] Trukhachev V, Yatsyk O, Telegina E, et al. Comparison of the myostatin (*MSTN*) gene in Russian Stavropol Merino sheep and New Zealand Merino sheep [J]. *Small Ruminant Research*, 2018, 160: 103-106.
- [73] 易恒洁,李辉,赵忠海,等. 高坡猪肌肉生长抑制素基因多态性及其与肉质性状的相关性分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(4): 1102-1107.
- [74] 刘晓琴,马喜山,唐中林,等. 猪 *MSTN* 基因的多态性和生长性状关联分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2013, 44(7): 1063-1069.
- [75] Jiang Y L, Li N, Plastow G, et al. Identification of three SNPs in the porcine myostatin gene (*MSTN*) [J]. *Animal Biotechnology*, 2002, 13: 173-178.
- [76] Stinckens A, Luyten T, Bijttebier J, et al. Characterization of the complete porcine *MSTN* gene and expression levels in pig breeds differing in muscularity [J]. *Animal Genetics*, 2008, 39(6): 586-596.
- [77] Qian L, Tang M, Yang J, et al. Targeted mutations in myostatin by zinc-finger nucleases result in double-muscled phenotype in Meishan pigs [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14435.
- [78] 李绍华,熊远著,郑嵘,等. 猪 *MSTN* 基因多态性及其 SNPs 的研究 [J]. 遗传学报, 2002, 29(4): 326-331.
- [79] Gu Z L, Zhu D H, Li N, et al. Polymorphisms of myostatin gene and its relationship with the development of skeletal muscle and fat in chickens [J]. *Science China Life Sciences*, 2003, 33: 273-280.
- [80] Ye X H, Brown S R, Nones K, et al. Associations of myostatin gene polymorphisms with performance and mortality traits in broiler chickens [J]. *Genetics Selection Evolution*, 2007, 39(1): 73-80.
- [81] Zhang G, Zhang L, Wei Y, et al. Polymorphisms of the myostatin gene and its relationship with reproduction traits in the Bian chicken [J]. *Animal Biotechnology*, 2012, 23(3): 184-193.
- [82] Gu Z, Zhu D, Li N, et al. The single nucleotide polymorphisms of the chicken myostatin gene are associated with skeletal muscle and adipose growth [J]. *Science in China (Series C: Life Sciences)*, 2004, 47(1): 25-30.
- [83] Lu J, Hou S, Huang W, et al. Polymorphisms in the myostatin gene and their association with growth and carcass traits in duck [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2011, 54: 11309-11312.

- [84] Xu T S, Gu L H, Zhang X H, et al. Characterization of myostatin gene (*MSTN*) of Pekin duck and the association of its polymorphism with breast muscle traits [J]. *Genetics & Molecular Research*, 2013, 12 (3) : 3166-3177.
- [85] 刘倩, 陈永华, 蔡凤仙, 等. 高邮鸭生长抑制素基因外显子 3 多态性与腹脂率的关联分析 [J]. *中国家禽*, 2012, 34 (23) : 27-30.
- [86] Zhao Z, Li H, Yi H, et al. The correlation between polymorphisms of the *MSTN* gene and slaughter traits in Sansui ducks [J]. *Pakistan Journal of Zoology*, 2016, 48 : 1283-1290.
- [87] 王彦钦, 邵勇钢. 拜城油鸡肌肉生长抑制素基因多态性与生产性能的相关性研究 [J]. *中国畜牧兽医*, 2017, 44 (4) : 1054-1060.
- [88] 金崇富, 杨智青, 陈长宽, 等. 盐城地方鸡 *MSTN* 基因外显子 1 多态性及其与生产性能的相关性分析 [J]. *江苏农业学报*, 2016, 32 (6) : 1372-1376.
- [89] 朱智, 吴登俊, 徐宁迎. 鸡 *Myostatin* 基因单核苷酸多态性及其对屠体性状的遗传效应分析 [J]. *遗传*, 2007, 29 (5) : 593-598.
- [90] 张跟喜, 丁馥香, 是燕萍, 等. 肌肉生长抑制素基因 (*MSTN*) 外显子 1 的多态性及其与边鸡生长性状的关联分析 [J]. *农业生物技术学报*, 2011, 19 (1) : 122-127.
- [91] Fontanesi L, Scotti E, Frabetti A, et al. Identification of polymorphisms in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) myostatin (*MSTN*) gene and association analysis with finishing weight in a commercial rabbit population [J]. *Animal Genetics*, 2011, 42 (3) : 339-339.
- [92] Qiao X B, Xu K Y, Li B, et al. Rabbit *MSTN* gene polymorphisms and genetic effect analysis [J]. *Genetics and Molecular Research*, 2014, 13 (2) : 2590-2597.
- [93] Sternstein I, Reissmann M, Maj D, et al. A new single nucleotide polymorphism in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) myostatin (*MSTN*) gene is associated with carcass composition traits [J]. *Animal Genetics*, 2014, 45 : 596-599.
- [94] Kobolak J, Gocza E. The role of the myostatin protein in meat quality: A review [J]. *Archives Animal Breeding*, 2002, 45 : 159-170.
- [95] Chen P R, Lee K. Invited review: Inhibitors of myostatin as methods of enhancing muscle growth and development [J]. *Journal of Animal Science*, 2016, 94 : 3125-3134.
- [96] Aiello D, Patel K, Lasagna E. The myostatin gene: An overview of mechanisms of action and its relevance to livestock animals [J]. *Animal Genetics*, 2018, 49 (6) : 505-519.
- [97] Latres E, Mastaitis J, Fury W, et al. Activin A more prominently regulates muscle mass in primates than does GDF8 [J]. *Nature Communications*, 2017, 8 : 15153.
- [98] Wang X, Niu Y, Zhou J, et al. CRISPR/Cas9-mediated *MSTN* disruption and heritable mutagenesis in goats causes increased body mass [J]. *Animal Genetics*, 2018, 49 (1) : 43-51.
- [99] 尉翔栋, 吕晨晨, 朱肖亭, 等. 利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术制备牛 *MSTN* 基因编辑胚胎 [J]. *河南农业科学*, 2019, 48 (2) : 131-136.
- [100] 张冬杰, 刘娣, 张旭, 等. 利用 CRISPR-Cas9 系统定点突变猪 *MSTN* 基因的研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2015, 47 (1) : 207-212.

Study on Mechanism and Mutations of *MSTN* Gene in Animals

WANG Zhen, PAN Yun, BI Yi, LEI Chu-zhao, CHEN Hong, LAN Xian-yong*

(College of Animal Science and Technology, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Myostatin (*MSTN*), also known as growth differentiation factor 8, a member of TGF- β super-family, is a negative regulator of muscle development. *MSTN* acts at key points during pre- and post-natal life of amniotes that ultimately determines the overall muscle mass of an animal. Because of mutations of *MSTN* gene, a number of large animals, including cattle, goat and sheep displayed the ‘double muscled’ phenotype. Therefore, the study of *MSTN* polymorphism and its genetic effect on meat yield has always been a hotspot in the field of animal breeding. Here, we firstly give an overview of the molecular pathways regulated by *MSTN* that control muscle development. Then we describe the natural mutations and their associated phenotypes as well as the physiological influence of altering *MSTN* expression in livestock animals (cattle, horse, goat, sheep, pig, chicken and rabbit). Finally, the research progress of *MSTN* gene polymorphism in domestic and foreign livestock and poultry is reviewed.

Key words: animal; myostatin; double muscling; single nucleotide polymorphism (SNP)