



肌肉生成抑制素基因的研究

作者:张宇光 许海涛 刘梅 胡兰

期号:2006年第12期

动物肌肉生成抑制素(Myostatin, MSTN)是Mcperron等研究小鼠转化生长因子- β (TGF- β)超家族时发现的一种新的生长因子。当时命名为生长分化因子- β (GDF- β)，后经研究发现，其对骨骼肌的生长具有负调控作用，因此改名为肌肉生成抑制素[1-3]。该基因编码的蛋白质对骨骼肌有负调控作用，动物缺乏MSTN时出现肌肉增大，骨骼肌肌群分布广，而且不增生脂肪等现象。MSTN主要在胚胎期的骨骼肌中表达，它的缺失使一些动物表现双肌性状[4-7]。

1 MSTN基因的发现及组织分布

Mcperron等(1997)根据TGF- β 超家族的保守区设计一对简并引物，通过PCR扩增而发现的骨骼肌特异性因子，属于转化生长因子(TGF- β)超家族成员之一，又名生长分化因子- β (GDF- β) [1]。2001年，由Michel Georges领导的研究组，历经十余年的研究，发现比利时蓝牛(Belgim Blue)的双肌现象是由于MSTN基因突变造成的[8]；同年，由美国农业部的Tim Smith领导的研究组和霍普金斯大学的Sejin Lee领导的研究小组发现，比利时蓝牛及皮尔蒙特牛(Piedmontese)的双肌性状也是MSTN基因突变造成的[9, 10]。

最初的研究结果表明，MSTN只存在骨骼肌中，具有组织特异性，而在其它组织(肺、胸腺、脑、肾、胰腺、肠、脾、睾丸、肝、卵巢等)中均不存在。Ji等(1998)发现MSTN mRNA主要分布在猪骨骼肌中，在乳腺组织、脂肪组织，脑、舌、心、肺、小肠、肾、肝和骨髓也有MSTN mRNA存在，但含量较少。鸡的MSTN在胚胎发育第7d就开始出现，在腿肌、胸肌和心肌中均存在，在脑、肝、肠、肺、脾、肾、皮肤等组织中则没有发现。在绵羊、牛体内，MSTN mRNA不仅存在于骨骼肌中，也存在于心肌中(Sharma等，1999)。MSTN基因在鱼类中的表达更广泛，该基因不但在罗非鱼和大马哈鱼的骨骼肌中表达，而且在眼、腮、肠、大脑、舌和性腺等组织中均有表达，并且表达的时序性与肌肉形成一致。这说明MSTN在鱼类体内的生物学功能不仅限于肌肉，对其它组织也有类似的作用。Radaelli等(2003)发现，在鱼类的咽、鳃、肝脏、食管顶部、胃上皮、小肠上皮、肾小管等均有MSTN，在刚孵化的幼鱼的视网膜、大脑中均存在MSTN，最集中的部位是大脑皮层上皮；在成年鱼的肝、胃肠道、卵巢和跖足底均含有MSTN。

2 MSTN基因特点及结构

Lee SJ. (1997)采用小鼠MSTN的保守C-末端编码序列为探针，对小鼠、大鼠、人、牛、猪、羊、鸡、火鸡、斑马鱼的MSTN的cDNA进行了克隆、测序。结果表明，各种动物的MSTN基因序列高度保守，其N-末端都有分泌必需的信号肽序列、都有类胰蛋白酶(RSRR)水解加工位点以及都含有TGF-B家族的富含半胱氨酸的保守区，并且小鼠、大鼠、人、猪、鸡、火鸡的水解加工位点后的C-末端序列完全相同，而牛和绵羊的成熟蛋白中仅有1~3个氨基酸不同，斑马鱼的MSTN基因序列保守性稍差，与其它动物的C-末端同源率为88%。在人、鼠、猪、火鸡和鸡的MSTN蛋白的C-末端活性区有编码110-aa的蛋白质，该C-末端蛋白是MSTN蛋白的成熟形式，在小鼠和人的骨骼肌中广泛存在，但是由于种属间的不同，蛋白的氨基酸序列还是存在一定的差异。

3 MSTN的生物学功能及作用机理

Rios R等[11]将编码鼠MSTN cDNA重组体瞬时转染C2C12成肌细胞，有效地抑制了细胞的增殖，并发现MSTN蛋白可能具有正向调控细胞周期依赖性磷酸转移酶抑制因子的作用。Joulia D[12]通过稳定转染MSTN基因在骨骼肌细胞中表达，发现减少了分化过程中G0和G1期细胞的数目，另外还检测到P21和P53蛋白的表达有所提高。Western的杂交实验结果表明，MSTN可以影响与细胞增殖相关的蛋白质的表达，如可以促进P21的表达、降低细胞周期依赖性蛋白激酶(Cdk2)的表达。

Wayne E. 研究表明，MSTN基因抑制C2C12细胞增生，可能是通过该基因作用于TGF家族的其它成员(如丝氨酸-苏氨酸激酶家族的特异受体)，并且可以通过清除MSTN而解除对细胞增生的抑制作用，MSTN对C2C12抑制作用比对中国仓鼠卵巢巢细胞(CHO)的抑制作用更加强烈，初步说明MSTN基因优先作用于骨骼肌。

Lee SJ. p发现，纯化的C-末端二聚体复合物能够作用于激活素(ACT II)受体，MSTN可与ACT RIIB连接(ACT是多功能的生长因子，有促进细胞系分化，诱导胚胎中胚层发育及维持神经存活、诱导肝细胞发生凋亡等作用，其生物学活性与TGF- β 有相似之处)，然后再通过二聚体与细胞膜上的受体结合。MSTN与受体结合后通过3种Smad蛋白的介导，信号传入细胞核，作用于靶基因的调控区，调节肌肉生长。其作用机理是：当向C2C12成肌细胞中添加MSTN蛋白，成肌细胞的增殖随MSTN水平的升高而降低。MSTN可抑制成肌细胞从细胞周期的G1到S阶段的过渡(Thomas等，2000)，此时Rb主要以低磷酸化的形式存在，磷酸化的Rb与转录因子如E2F-DP1的结合，使细胞在G1期阻止。这些结果表明，与MSTN相对应，MSTN特异地正向调控p21(一种依赖于细胞周期蛋白的激酶抑制因子)，降低成肌细胞中cdk2蛋白的浓度和活性[13]，导致低磷酸化Rb蛋白的集中，这样，将细胞周期捕获在G1阶段。另外，过度表达MSTN还减少G0向G1转化的频率，所以抑制MSTN的活性能加快细胞循环，促进成肌细胞的分裂(Khurana等，2003)。由此可见，抑制MSTN基因的表达，可引发动物肌肉增生。另外有实验表明，利用脂质体成功地将反译核酸(ASODN)转染到体外培养的原代成肌细胞内，通过ASODN抑制MSTN基因的表达，可促进成肌细胞的增殖与分化，形成大量肌纤维。

4 研究MSTN的意义

MSTN基因是继生长激素(GH)胰岛素样生长因子(IGF)之后新发现的功能基因，MSTN对维持动物机体的生理平衡起着重要的作用[14]，MSTN活性的降低或丧失会出现“双肌”动物。通常高产肉率、高瘦肉率是家畜生产的重要指标，所以双肌动物的出现为人们利用MSTN基因的特性来调节肌肉的生长，为畜禽的育种工作提出了新的思路，开辟了新的途径，在畜牧业中有重要意义。

在医学上研究MSTN基因的结构和功能对于改善人的肌营养不良，为治疗肌营养不良或因其它疾病引起的肌消瘦提供新的手段。MSTN已被人们确立为治疗肌肉萎缩类疾病的一个新的靶标分子，通过抑制体内MSTN可以改善萎缩肌肉的功能。MSTN还可以调节脂肪代谢(Rebbap ragada等，2003 M cperron等，2002)，它的突变能够部分地抑制高血糖症Ay(M cperron等，2002)，MSTN基因的缺失不仅减弱了肥胖症状，也减弱了二型糖尿病(非胰岛素依赖性糖尿病)症状，说明MSTN蛋白抑制素有希望能成为治疗肥胖病和二型糖尿病的有效药剂，在临床医学上有重要应用价值。

5 MSTN基因研究现状

欧阳红生领导的研究小组扩增了大约克夏猪MSTN基因的全部序列6 015bp，包括两个内含子和三个外显子，克隆了MSTN基因的cDNA，测出了MSTN基因的编码序列，并采用了RT-PCR扩增法研究了MSTN基因在猪脑、肝、肾、肺、骨骼肌、心肌脂肪组织中的表达情况。结果发现，MSTN基因仅在骨骼肌、心肌组织中表达[15]。

李宁、姜运良等研究小组主要对不同品种猪的MSTN基因5'和3'端的单核苷酸多态性位点(SNPs)及5'端调控区T \rightarrow A突变与生长性状的关系进行分析，试图估计突变产生的效应，以实现早期标记辅助选择，加快育种工作的研究进展。杨兴元

会员登录

用户名:

密码:

验证码: 3828

相关文章

- 牛抵抗素基因的cDNA克隆
- 黑曲霉植酸酶基因序列的研究...
- 基因技术在动物营养科学中的...
- 基因工程技术在农业中的应用...

合作伙伴



等研究小组克隆和表达了皮尔蒙特牛的MSTN基因活性区突变基因, 并通过离体培养的肌肉细胞检测其生理活性证实, MSTN的突变体具有促进肌肉细胞增生和增殖的功能[16]。

吕文发成功的构建了牛、猪的肌肉生成抑制素基因的真核表达载体并转染到COS-7细胞, 最终COS-7细胞表达了MSTN基因而产生了肌肉生成抑制素[17]。

比利时蓝牛和皮尔蒙特牛的双肌表型使人们自然想到能否在其它家畜中通过MSTN基因修饰, 控制其表达和功能的发挥, 达到改变肌肉质量和重量的目的, 生产具有商业化意义的优良品种家畜。可以结合体细胞基因敲除、RNAi干扰、反译核酸和转基因技术, 探索提高现有畜禽的肌肉重量和质量的可能性, 也适于对一些地方品种进行改良。

目前国内有些实验室对畜禽的肌肉生成抑制素进行了克隆、序列分析、原核表达以及将畜禽的MSTN成熟蛋白编码序列在真核细胞中进行了表达, 并且产生了有生物活性的蛋白质[17-19]。为进一步探讨该基因的作用机理、生物活性, 和开发新型安全饲料添加剂, 提供了新的材料。

参考文献

- 1 McPherron A C , Lawler A M , Lee S J , et al . Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member [J] . Nature, 1997, 387(6 628):83~90
- 2 Sharma M , Langley B , Bass J , et al . Myostatin in muscle growth and repair [J]. Exerc. Sport Sci. Rev., 2001, 29(4):155~158
- 3 Lee S J , Mcpherron A C . Regulation of myostatin activity and muscle growth [J] . Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2001(98):9 306~9 311
- 4 McPherron A C , Lee S J . Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene [J] . Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997(94):12 457~12 461
- 5 Grobet L , Martin L J R , Poncelet D , et al . A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cat tle [J] . Nature Genet, 1997(17):71 274
- 6 Grobet L , Poncelet D , Royo L J , et al . Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double2muscling in cattle [J]. Mamm Genome , 1998(9):2 102 213
- 7 Kambadur R , Sharma M , Smith T P L , et al . Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscling Belgian Blue and Piedmontese cattle [J] . Genome Res., 1997(7):910~915
- 8 Hughes S M . Running without regulators. Nature, 1992(360):536~537
- 9 Jeanplong F , Sharma M , Somers W Get al. Genomic organization and neonatal expression of the bovine myostatin gene. Molecular and Cellular Biochemistry , 2001(200):31~37
- 10 Massague J . The transforming growth factor - β family. Annu. Rev. Cell Biol., 1990(6):597~641
- 11 Rios R , Carneim I , Arce VM. Myostatin is an inhibitor of myogenic diferentiation [J]. Am J Physiol Cell Physiol., 2002(282): 993~999
- 12 Joulia D , Bemardi H , Garandel V , Mechanisms involved in the inhibition of myoblast proliferation and diferentiation by myostatin [J]. Exp Cell Res., 2003, 286(2):263~275
- 13 Thomas M , Langley B , Berry C . Myostatin, a Negative Regulator of Muscle Growth, Functions by Inhibiting Myoblast Proliferation[J]. J, Biol. Chem., 2000(275): 40 235~40 243
- 14 Kim H S . Inhibition of Predipocyte differentiation by myostatin treatment in 3T3-LI cultures [J]. Biochem. Biophys. Res. commun. , 2001(281):902~906
- 15 欧阳红生. 猪肌生成抑制素基因的克隆和序列测定. 中国兽医学报, 2001, 5 (21) : 479~481
- 16 姜运良, 李宁. 不同品种猪MSTN基因的单核苷酸多态性. 遗传学报, 2001, 28(9) :804~805
- 17 吕文发. 牛肌肉生成抑制素基因真核表达载体的构建及其在COS-7细胞中的表达. 中国兽医科技, 2005, 35 (12) : 997~999
- 18 王全喜. 不同品种马肌肉抑制素基因的克隆与PCR-RFLP多态性分析. 中国草食动物, 2005, 25 (4) : 11~13
- 19 吕文发. 西门塔尔牛肌肉生成抑制素基因编码序列的克隆与序列分析. 中国牛业科学, 2006, 32 (1) : 19~23

(编辑: 孙崎峰, sqf0452@126.com)

...评论...

发表
评论

*40字以内

提交

重置