

溆浦鹅肌肉生成抑制因子基因(*MSTN*)的克隆及其表达量与日粮能量、血清 IGF-I 和 GH 的关系研究

胡骏鹏, 何瑞国*, 范卫星, 曹爱青

(华中农业大学动物科技学院, 武汉 430070)

摘要: 从溆浦鹅(Xupu geese)的腿肌中抽提总 RNA, 用两步法 RT-PCR 扩增出 *MSTN* 基因的 cDNA 编码序列, 以 pGEM-T Vector 为载体, 将该片段克隆到大肠杆菌(*Escherichia coli*)中。通过筛选阳性克隆, 双酶切鉴定后测序; 以 *MSTN* 基因的克隆为基础, 以 β actin 为内标, 构建优化的半定量 RT-PCR 方法, 研究高、中、低(A: 13.38 MJ/kg, B: 12.13 MJ/kg, C: 10.87 MJ/kg) 3 种不同能量对溆浦鹅 21 和 70 日龄 2 个时期肌肉组织 *MSTN* 基因表达的差异; 同时用放免法测定 21、70 日龄的血清 GH 和 IGF-I 浓度。结果表明: 克隆的溆浦鹅 *MSTN* 基因 cDNA 的部分序列, 其片段大小为 1 128 bp, 编码 375 个氨基酸组成的多肽, 溆浦鹅与鸡、鸭、朗德鹅的核苷酸相似性分别为 94%、94%、99%; 推导氨基酸的相似性分别为 98%、97%、98%。21 日龄时, 日粮能量水平对溆浦鹅 *MSTN* 表达量的影响不显著; 70 日龄时溆浦鹅 *MSTN* 的表达量为 C>B>A。对于溆浦鹅 21~70 日龄阶段的生长, *MSTN* 基因的表达量和血清 IGF-I 的变化趋势基本一致; 与血清 GH 含量之间并不存在很大关联, 日粮能量对 21 日龄后溆浦鹅 *MSTN* 基因的表达有影响。本研究为 *MSTN* 基因在水禽中的进一步研究和应用打下了基础。

关键词: 溆浦鹅; *MSTN*; 肌肉组织; 半定量 RT-PCR; IGF-I; GH

中图分类号: S835.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)05-0582-06

Cloning of *MSTN* Gene and Research of Relationship between *MSTN* Gene Expression and Different Energy Diets or IGF-I, GH in Serum of Xupu Geese

HU Jun-peng, HE Rui-guo*, FAN Wei-xing, CAO Ai-qing

(College of Animal Science and Technology, Huazhong

Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Genome RNA was extracted from leg muscle of Xupu geese, *MSTN* gene mRNA was amplified by using RT-PCR, the PCR product was cloned into pGEM-T vector. The *MSTN* gene was isolated and sequenced from the positive clones screened based on the *MSTN* gene clone, using β actin as inner control, constructing an optimal semi-quantitative RT-PCR method, the difference of *MSTN* gene expression at 21 and 70 days by feeding different energy diets, at one time we detected IGF-I and GH in serum. The unique DNA fragment about 1 128 bp in length was obtained. Sequence analysis revealed that it has a length of 1 128 bp which encodes a 375 amino peptide. Compared with homologous sequence of chicken, duck and Landes geese, it displayed a fairly high conservation. The homologue of the nucleotide sequence are 94%, 94%, 99%, respectively; the homologue of the amino acid sequence deduced are 98%, 97%, 98%, respectively. The results showed the expressions of *MSTN* in Xupu geese were showed no significantly differences at 21 days; but the expression of *MSTN* was C>B>A by 70 days; During 21-70 days period, the expression of *MSTN* was changed with IGF-I in serum; it was not associated with

收稿日期: 2007-01-22

基金项目: 湖北省“十一五”科技攻关项目(2005AA205A08)

作者简介: 胡骏鹏(1980-), 男, 湖北钟祥人, 博士生, 主要从事水禽分子营养的研究, E-mail: hjphoo@163.com

* 通讯作者: 何瑞国, Tel: 027-87280479, Fax: 027-87280479

GH in serum. The different energy influenced *MSTN* gene expression of Xupu geese after 21 days. The present study laid a foundation for further investigating *MSTN* gene in waterfowl.

Key words: Xupu geese; *MSTN*; muscle tissue; semi-quantitative RT-PCR; IGF-I; GH

肌肉生成抑制因子基因(*MSTN*, 又称为 GDF-8 或者 myostatin), 属于 TGF- β 家族。*MSTN* 基因为 Mcpherron 等于 1997 年首次从小鼠骨骼肌中发现, 在小鼠胚胎生肌节区表达, 具有抑制肌肉发育的功能, 成年后该基因继续表达^[1-2]。目前, *MSTN* 基因也是研究者为了大幅度提高畜禽肌肉生长和瘦肉率的首选基因^[3]。研究水禽 *MSTN* 基因的基本功能对于水禽养殖业和水禽育种都具有实际意义。肌肉生成抑制因子基因序列在不同物种间呈高度保守, 尤其是 C-末端, 其功能为抑制肌肉生长。很多研究者试图通过研究 *MSTN* 基因来调控畜禽的肌肉生长, 目前已经克隆了小鼠、猪、牛、鸡、鹅等物种的 *MSTN* 基因的部分序列, 但营养素对于该基因表达调控影响的研究资料很少。动物生长发育也受到内分泌和营养的调控, 生长激素(GH)和类胰岛素生长因子(IGF-I)轴是激素和营养实现生长调控的主要机制。研究表明, IGF 在动物生长发育过程中既是 GH 发挥作用的最主要介导因子, 又具有与 GH 无关的独特作用^[4]。本试验首先克隆到溆浦鹅 *MSTN* 基因, 然后设计在保证蛋白质需要情况下的 3 种能量梯度日粮, 通过检测 *MSTN* 基因的两个阶段的表达量和同时期的血清 GH 和 IGF-I 的浓度, 研究关键日龄时 *MSTN* 基因的表达量, 分析 *MSTN* 基因的表达与日粮能量和血清 IGF-I、GH 的相互联系, 从而探讨 *MSTN* 基因的表达在溆浦鹅生长发育早期的基本情况, 试图找到一些相关的联系, 为未来在水禽大规模群体中进一步研究 *MSTN* 基因提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 取 21、70 日龄采食 3 种不同能量饲料的溆浦鹅各 3 只, 共计 18 只, 解剖后取其腿肌组织, 共计 36 个样品。

1.1.2 试验日粮和饲养试验 设计 A、B、C (13.38、12.13、10.87 MJ/kg) 3 种能量水平的日粮, 粗蛋白水平为 20%, 其它指标参照 NRC(1994) 饲养标准^[5]。饲料由华中农业大学饲料车间生产配制。

溆浦鹅的饲养: 0 日龄时挑选出生重大致相同的溆浦鹅 90 只, 分 3 栏饲养, 每栏 30 只。21 日龄前采用架上平养, 22~70 日龄采用地面平养。每天记录采食量, 日增重, 青饲料和精饲料按照 1.5~2:1 的比例饲喂。

1.1.3 酶和试剂 Trizol 购自 Invitrogen 公司; DNA 回收试剂盒购自上海生工; 反转录酶、dNTP、*Taq* DNA 聚合酶及其缓冲液、pGEM-T vector 试剂盒均购自 Promega 公司。

1.1.4 试验地点 动物试验在华中农业大学动物科技学院肥肝鹅繁育基地进行; 分子生物学试验在华中农业大学农业部微生物国家重点实验室进行; 血清 IGF-I、GH 的分析于华中农业大学水产学院进行; 其它常规分析在动物营养实验室进行。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 的抽提和 cDNA 第 1 链的合成 取 50~100 mg 肌肉样品按照 Trizol 试剂盒说明书 (Invitrogen 公司) 抽提总 RNA, 利用紫外分光光度计和甲醛琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的质量和浓度。检测后的总 RNA 置于 -80℃ 冰箱保存或者立即进行反转录。进行反转录时, 按照 Promega 公司提供的反应条件进行, 反转录酶为 M-MLV RT, 引物为 Oligo d(T), 总反应体系为 25 μ L, 体系为 RNA 3 μ L, Oligo d(T) 1 μ L, 5 \times buffer 5 μ L, dNTPs 5 μ L, M-MLV RT 1 μ L, Rnasin 0.5 μ L, DEPC H₂O 9.5 μ L, 其中 RNA 和 Oligo d(T) 混和后先 70℃ 变性 5 min, 冰浴 2 min, 后与体系中其它物质混合, 室温放置 5 min, 42℃ 保温 1 h, RT 产物于 -20℃ 保存备用。

1.2.2 引物设计 根据已报道的鹅 *MSTN* 的序列(登录号为 AF440862) 设计 3 对引物, 用于扩增 *MSTN* 基因 cDNA 全长, 上游引物 P1 位于 1~22 碱基处, 下游引物 P2 位于 1 109~1 128 碱基处; 另外设计 1 对半定量 RT-PCR 引物, 上游引物 P3 位于 239~258 碱基处, 下游引物 P4 位于 819~838 碱基处; 根据报道的鹅 *β actin* 设计内标引物 P5、P6, P5 位于 946~965 碱基处, P6 位于 1 421~1 440 碱基处。

P1: 5'-ATGCAAAGCTAGCAGTCTATG-

3',

P2:5'-TCATGAGCACCCGCAACGAT-3';

P3:5'-TTTTACCCAAAGCTCCTCCA-3',

P4:5'-TGGATTCTGTCTGAGTGCTCA-3';

P5:5'-AAGGACCTGTACGCCAACAC-3',

P6:5'-GACACCGAGGGAGCAGAGAA-3'.

引物全部由上海生工合成,使用前全部稀释到 20 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 。

1.2.3 聚合酶链式反应(PCR) 扩增 PCR 反应在 Master gradient PCR 仪(Eppendorf 公司)进行。PCR 反应体系如下:灭菌水 34 μL , Buffer 5 μL , MgCl_2 4 μL , dNTPs 4 μL , 上下游引物各 1 μL , cDNA 1 μL , 总体积 50 μL 。3 个反应条件分别为:(1) 扩增全长条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,50 $^{\circ}\text{C}$ 40 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s,30 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min;4 $^{\circ}\text{C}$ 保存;(2) 半定量 RT-PCR 扩增 *MSTN* 片段条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,58 $^{\circ}\text{C}$ 40 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s,30 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min;4 $^{\circ}\text{C}$ 保存;(3) 内标 *β actin* 扩增条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,28 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min;4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。扩增后产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测,紫外灯下观察。

1.2.4 *MSTN* 的克隆和鉴定 利用 DNA 回收试剂盒回收目的片段。回收后的目的片段在 T4 连接酶的作用下与 pGEM-T 载体连接过夜,转化 DH5 α 大肠杆菌感受态细胞,涂布在含有氨苄青霉素、X-Gal 和 IPTG 的 LB 平板上进行蓝白斑筛选,挑取白色单个菌落进行培养,小提质粒,命名为 pGEM-T-*MSTN*,利用 PCR 和双酶切(*Gst* I 和 *Ecro* I)进行鉴定后,阳性克隆送北京华大公司进行测序。

1.2.5 *MSTN* 序列分析 利用 NCBI 网站上的 blast 进行序列对比分析、核苷酸和氨基酸序列的相似性分析,利用 DNASTar 等 DNA 分析软件进行 *MSTN* 基因的序列分析。

1.2.6 不同能量水平对 *MSTN* 基因表达量的检测 3 种采食不同能量的溆浦鹅肌肉样品(21、70 日龄)采用 1.2.1 的方法提取总 RNA 和反转录,利用设计的鹅 *β actin* 引物 P5、P6 进行 cDNA 的定量调整,得到片段大小为 500 bp 左右的目的条带,和设计的相符,最后得到最佳的循环数为 28 时,未到平台期,可以作为衡量标准,通过改变扩增时反应体系中 cDNA 的量把条带的亮度调整到相同的水平,并把调整好的 cDNA 的量用于下一步的半定量 RT-PCR 检测;利用设计的 *MSTN* 基因部分序列

的引物 P3、P4 对获得的已经调整好的 cDNA 浓度进行半定量 RT-PCR 检测,循环数为 30,得到片段大小为 600 bp 左右的目的条带,和设计的相符。PCR 扩增条件同 1.2.3。

1.2.7 血清 IGF-I 和 GH 的测定 屠宰取样前 2 h 进行腿静脉采血,采血 4 mL 直接注入抗凝管,后立即于 5 $^{\circ}\text{C}$ 3 000 r/min 离心 15 min,血清于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测。IGF-I 和 GH 的测定采用平衡饱和放射免疫分析法(RIA)。放免试剂盒购自天津九鼎医学生物工程有限公司,方法按照其提供的使用说明书进行,测定地点在华中农业大学水产学院,仪器为科大创新股份有限公司中佳分公司生产的 GC-911 γ 放射免疫计数器,GC-1200 分析系统。

1.3 数据处理

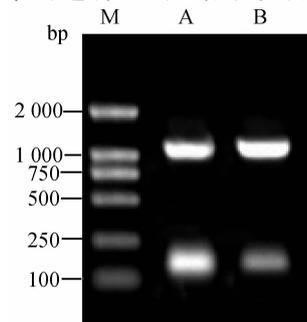
数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,显著性分析用 SPSS 10.0 中 One-way Anova 模块的 Duncan's 分析。

2 结果

2.1 鹅 *MSTN*-cDNA 的扩增和重组质粒 pGEM-T-*MSTN* 的构建

采用 RT-PCR 技术,从溆浦鹅腿肌中提取总 RNA,利用设计的引物 P1、P2 扩增出长度为 1 100 bp 左右的片段。

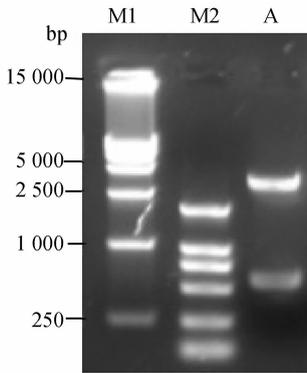
片段回收后将其克隆到 pGEM-T 载体中,用 PCR 和双酶切进行鉴定。结果表明:扩增得到的片段和设计的片段大小相符(图 1);将构建好的质粒 pGEM-T-*MSTN* 用 *Gst* I 和 *Ecro* I 进行双酶切后,得到 3 500 bp 左右和 650 bp 左右的 2 条 DNA 片段(图 2)。对鹅 *MSTN* 进行测序,并和已经发表的鸡(AF019621)、鸭(AF440864)、朗德鹅(AF440862) *MSTN* 基因序列进行比对,结果表明:核苷酸同源



A、B. PCR products of *MSTN*; M. DL2000 maker

图 1 *MSTN* 的 RT-PCR 产物检测

Fig. 1 RT-PCR product of *MSTN* Gene



M1, DL15000 maker, M2, DL2000 maker;
A. Fragments digested by *Gst* I and *Eco* I

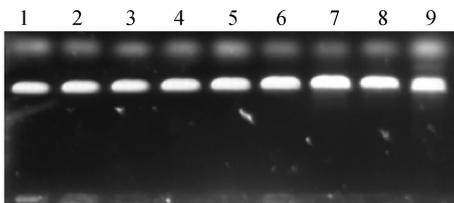
图 2 pGEM-T-MSTN 的双酶切检测

Fig. 2 Identification of recombinant plasmid by enzyme digestion

性与鸡为 94%，与鸭为 94%，与发表的朗德鹅(*Anser anser*) 序列为 99%；推导氨基酸同源性与鸡为 98%，与鸭为 97%，与发表的朗德鹅序列比较为 98%。

2.2 溆浦鹅内标 β -actin 基因浓度的调整

对提取的总 RNA 进行反转录得到的 cDNA 用引物 P5、P6 进行扩增, 此时 cDNA 的用量为 1 μ L, 在 28 个循环后进行的琼脂糖凝胶电泳, 通过 Image Master VDS software 进行分析后进行扩增体系中 cDNA 浓度调整, 目的是使内标 β -actin 浓度达到一致。通过对扩增体系的 cDNA 浓度调整后再进行 PCR 扩增进行确认, 电泳结果见图 3, 对图 3 进行分析后表明内标 β -actin 的浓度基本一致, 可以采用调整后的 cDNA 浓度对 MSTN 基因进行半定量检测。



1~9. 不同的 cDNA 样品的 β -actin 扩增产物情况

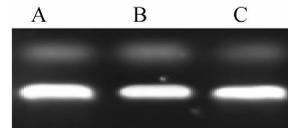
图 3 内标 β -actin 的浓度检测

Fig. 3 RT-PCR product of β -actin

2.3 不同日粮能量状况下 21 和 70 日龄不同性别溆浦鹅 MSTN 基因的表达量

利用调整后的 cDNA 浓度和设计的 MSTN 基

因的引物 P3、P4 进行 PCR 扩增。溆浦鹅每个能量处理组进行半定量 RT-PCR 的样品数量均为 3 个, 共计 18 个样品。扩增产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳测定, 由于本试验采用的方法不能对 MSTN 基因表达量进行精确定量, 通过 Image Master VDS software 分析完所有的电泳图片后, 得出具有代表性的以下图片, 可以对 MSTN 基因表达量的高低进行定性分析。最后得到不同能量组溆浦鹅 MSTN 基因 21 和 70 日龄的表达量图谱(图 4、5)。



A、B、C 表示 3 种不同能量日粮饲喂下获得的 cDNA 在浓度调整一致后的扩增片段。图 5 同

图 4 溆浦鹅 MSTN 基因 21 日龄的表达量

Fig. 4 Xupu geese MSTN gene expression at 21 days

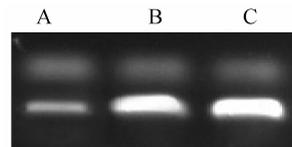


图 5 溆浦鹅 MSTN 基因 70 日龄的表达量

Fig. 5 Xupu geese MSTN gene expression at 70 days

通过 Image Master VDS software 对图片进行分析后, 得出图 6。从图 6 可以发现, 在 21 日龄时, 采食 3 种不同能量的溆浦鹅的 MSTN 基因在 21 日龄时的表达量高于该基因在 70 日龄的表达量; 同时也可以发现, 20~70 日龄期间采食 A 组日粮的溆浦鹅 MSTN 基因表达量降低的幅度最大, 而采食 B、C 2 种日粮的溆浦鹅 MSTN 基因表达量略有降低。

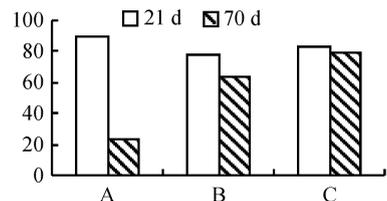


图 6 溆浦鹅 MSTN 基因 21、70 日龄表达量分析

Fig. 6 Xupu geese MSTN gene Expression at 21, 70 d

2.4 3 种不同能量组溆浦鹅体重以及血清 IGF-I 和 GH 水平的测定

溆浦鹅 21、70 日龄体重、血清 IGF-I 和 GH 测定数据见表 1。

表 1 21、70 日龄溆浦鹅体重、血清 IGF-I 和 GH 分析
Table 1 Xupu geese weight, GH and IGF-I in serum at 21, 70 days

项目 Item	日龄 Days	A	B	C
体重 Weight/g	21 日龄	740.17±112.98	714.71±185.46	795.00±101.10
	70 日龄	3 445.00±531.22	3 021.40±260.23	3 064.00±319.61
IGF-I/(ng/mL)	21 日龄	134.38±49.51	127.79±5.84	97.91±6.94
	70 日龄	107.15±34.95	116.13±16.27	122.42±5.68
GH/(ng/mL)	21 日龄	0.38±0.02 ^{ab}	0.26±0.03 ^a	0.80±0.09 ^b
	70 日龄	1.41±0.23 ^a	1.71±0.09 ^b	1.70±0.22 ^b

A、B、C 表示高、中、低 3 种不同能量；同行小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)，无字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)

从表 1 可以看出, 21、70 日龄体重, 3 种能量组差异不显著; 对于 21 日龄来说, 溆浦鹅 C 组平均体重最高, B 组平均体重最低; 对于 70 日龄来说, 采食日粮能量最高的 A 组体重最大, 比采食中等能量日粮的 B 组体重高 12.30%。

对于溆浦鹅血清 IGF-I 浓度来说, 21 和 70 日龄, 3 组间差异不显著 ($P > 0.05$)。除 C 组外, 血清 IGF-I 浓度呈下降趋势, 其中 A 组的下降趋势大于 B 组下降趋势, 这和相应的 *MSTN* 基因表达量变化趋势是相同的。

对于溆浦鹅血清 GH 浓度来说, 21 日龄时, B 组和 C 组差异显著 ($P < 0.05$), 其中 C 组 GH 浓度最高, 70 日龄时, A 组和 B、C 2 组差异显著 ($P < 0.05$)。

3 讨论

本试验通过 RT-PCR 的方法从溆浦鹅的腿肌 cDNA 中扩增出 *MSTN* 基因, 将其克隆到 pGEM-T 载体, 经过转化后小提质粒进行 PCR 和双酶切鉴定后测序。测序结果表明 *MSTN* 的 cDNA 序列共 1 128 个核苷酸, 编码 375 个氨基酸。和其它物种进行序列比较, 同源性很高, 特别是 C-端同源性超过 99%。McPherron 等 1997 年用小鼠保守的 C-末端 cDNA 为探针筛选其它物种的骨骼肌 cDNA 文库的序列分析时, 发现 *MSTN* 在不同物种之间十分保守, 就 C-端而言, 人、小鼠、大鼠、猪、鸡和火鸡的同源性为 100%^[1], 本试验的序列分析和 McPherron 的结论相同。

本试验通过不同能量日粮对溆浦鹅前 21 和 70 日龄 2 个阶段进行研究, 发现前 21 日龄 *MSTN* 基

因的表达量差异不明显; 70 日龄时表达量差异较大。对于 70 日龄溆浦鹅, 能量水平最低 (10.87 MJ/kg) 组 *MSTN* mRNA 表达量最高, 能量水平适中 (12.13 MJ/kg) 组表达量其次, 能量最高 (13.38 MJ/kg) 的组表达量最低。这个结果说明日粮能量的高低对于 22~70 日龄溆浦鹅的生长和 *MSTN* 基因表达有一定影响。胡兰等以大骨鸡为材料对 *MSTN* 基因进行 RT-PCR 检测发现, *MSTN* mRNA 在孵化时表达最低, 孵化后 1 周时处于更低水平, 到第 2 周表达水平升高, 到 4~6 周龄又呈下降趋势^[6]。本试验结果说明, 溆浦鹅 *MSTN* 基因在第 3 周不同能量处理组的表达量差异不显著, 但是明显高于第 10 周的表达量, 和胡兰的结论是类似的^[6]。

禽类 IGF-I 可能具有与哺乳动物不同的其他生物学作用。IGF-I 在动物生长发育中起着重要的调节作用, 营养调控 IGF-I 的机制目前仍不完全清楚。外源注射 IGF-I 可以降低胴体脂肪含量, 但对体增重可能没有明显的促进作用。通过遗传选育培育出的高生长速度的现代肉鸡, 其 IGF-I 的合成与分泌量反而下降^[7]。同时, GH 对动物的生长发育没有直接作用^[8]。IGF-I 对蛋白质不足的反应比 GH 更加敏感。本试验采用的日粮粗蛋白为 20%, 可以满足溆浦鹅生长需要, 试验设计消除了蛋白质对 IGF-I 和 GH 的影响后, 21 和 70 日龄得到的血清 GH 和 IGF-I 对于解释生长情况的变化是可行的。本试验结果表明, 溆浦鹅 *MSTN* 基因表达量和日粮能量、血清 IGF-I 含量存在一定的关系。对于溆浦鹅 21~70 日龄阶段的生长, *MSTN* 基因的表达量和血清 IGF-I 的变化是基本一致的, 两者是

否存在相互影响还没有具体资料可以参考。这个结果和 Guernec 等提出的营养供给可以同时影响 MSTN 和 IGF-I 的 mRNA 水平的结果是类似的^[9]。

本试验结果表明, 溆浦鹅生长后期的血清 IGF-I 含量的变化情况和 MSTN 基因表达量变化情况呈相同的趋势, 可以通过其中的 1 个来判断另外一个的变化情况, 且 22~70 日龄此阶段的 MSTN 基因表达量与日粮能量也有关系。溆浦鹅 MSTN 基因表达量和血清 GH 含量之间并不存在很大关联。

参考文献:

[1] MCPHERRON A C, LEE S J. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene[C]// Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, 94: 12 457-12 461.

[2] 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): 83-89.

[3] 马现永, 施振旦, 曹永长, 等. 鸡、鹅肌肉生成抑制因子

基因的克隆和序列分析[J]. 华南农业大学学报(自然科学版), 2004, 25(2): 85-88.

[4] 张克英, 陈代文. 类胰岛素生长因子及其营养调控[J]. 中国畜牧杂志, 2002, 38(6): 42-44.

[5] National Research Council Nutrient Requirements of Poultry[M]. Ninth Revised Edition, 1994.

[6] 胡 兰, 胡 锐, 郭东新, 等. IGF-I 和 MSTN 基因在大骨鸡孵化前后的表达[J]. 中国畜牧兽医, 2004, 31(4): 26-28.

[7] MCMURTY J P. Nutritional and developmental roles of insulin-like growth factors in poultry[J]. Journal of Nutrition, 1998, 128: 302S-305S.

[8] CAMPION D R, NOVAKOFKI J. Technical perspective of biotechnology for control of growth and product quality in meat product[M]// PVAN D W, WEBER G M, VAN DER WILT F J. Biotechnology for Control of Growth and Product Quality in Meat Production: Implications and Acceptability. Pudoc Wageningen, 1991: 17.

[9] GUERNEC A, CHEVALIER B, DUCLOS M J. Nutrient supply enhances both IGF-I and MSTN mRNA levels in chicken skeletal muscle[J]. Domestic Animal Endocrinology, 2004, 26: 143-154.