

鱼类肌肉生长分化与基因表达调控

石 军 褚武英 张建社

(长沙学院生物工程与环境科学系, 长沙 410003)

MUSCLE GROWTH, DIFFERENTIATION AND GENE EXPRESSION REGULATION IN FISH

SHI Jun, CHU Wu-Ying and ZHANG Jian-She

(Department of Bioengineering and Environmental Science, Changsha University, Changsha 410003, China)

关键词: 鱼类肌肉; 肌卫星细胞(肌干细胞); 肌肉分化生长; 基因表达调控

Key words: Fish muscle; Muscle satellite cells (muscle stem cells); Muscle differentiation and growth; Gene expression regulation

中图分类号: Q344⁺.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2013)06-1145-08

鱼类肌肉组织既是鱼类的结构组织和运动器官,也是人类食物的重要蛋白源。从发育分子生物学角度上说,以鱼类为重要养殖对象的水产养殖实质上就是根据现实的生态条件,采用适合的养殖技术,最大限度地促进鱼类肌纤维细胞的快速增殖(Hyperplasia)和迅速肥大(Hypertrophy),促使肌肉组织的快速生长发育,达到速生快长,增加养殖生产效益目的^[1, 2]。如同其他脊椎动物,鱼类躯干和尾端骨骼肌是由位于近轴中胚层(Paraxial mesoderm)体节按从前至后端的顺序分化形成的。在肌原发生调节因子的作用下,各体节进一步分化成为不同类型肌纤维或肌肉组织,即位于躯干深层的称之为快肌的白色肌肉和位于表皮下面称为慢肌的红色肌肉^[3-6]。肌纤维发生分化、组装和调节过程实质上是鱼类生长发育过程中相关功能基因的表达及调节因子相互作用的结果,也是鱼类发育生物学急待研究的核心问题。因此,研究和了解鱼类肌纤维发生分化与相关功能基因时空表达的内在联系以及相关调节因子的作用机制,对于促进养殖鱼类速生快长、提高养殖效益有着潜在应用指导意义。本文拟从鱼类肌肉生长过程中肌卫星细胞的来源、定向分化、慢肌和快肌的形成以及生肌调节基因(MRFs)和结构基因协同表达与肌细胞增殖和增大相关性研究加以综述。

1 肌卫星细胞(肌干细胞)起源和分化

肌卫星细胞提供肌肉生长和修复过程中新肌纤维的细胞来源,由于它具有自我分化和更新的能力,因而也被称之为肌肉干细胞^[7]。肌肉卫星细胞被认为是一个肌源性细胞谱系,起源仍不完全清楚,目前有两种假说:体节来源和内皮来源。体节来源假说来自鸡雏鹌鹑异源嵌合体实验,认为肌卫星细胞来源于体节中胚层的多能干细胞^[8]。实质上,关于肌卫星细胞的内皮来源学说与体节来源学说并不冲突。成熟肌肉卫星细胞可以同时表达出内皮源性和肌源性标记物,比如CD34和MRFs。在胚胎发生的早期,主动脉和体节的解剖位置相邻,提示两个谱系的起源相近。此外,肌卫星细胞所表现的异质群体特征也可能是这种双重起源的一种反映。尽管肌卫星细胞在肌肉生长和修复中作用至关重要,但在鱼类的研究甚少。在硬骨鱼类骨骼肌中采用组织学和电子显微技术经鉴定证实有类似肌卫星细胞的存在^[9],但对它的起源和细胞生物学特征以及增殖分化机理尚未进行深入研究。环境因素,例如,饵料、温度以及内源因素包括生长激素和IGF-样激素,被认为与激活启动肌卫星细胞增殖和分化直接相关^[10],但鱼类肌卫星细胞的激活和自我更新的分子机理几乎未

收稿日期: 2012-09-21; 修订日期: 2013-07-19

基金项目: 国家自然科学基金(No. 30972263; 31072195)资助

作者简介: 石军(1983—), 男, 湖北黄冈人; 博士; 主要从事鱼类基因调控研究。E-mail: Junshistone@gmail.com

通信作者: 张建社, 男, 湖南长沙人; 教授; 主要从事鱼类肌肉发育与基因调控研究。E-mail: jzhang@ccsu.cn

有报道。因此,对鱼类肌卫星的更新和激活的分子机理研究,无疑有助于我们获得相关的技术方法来促进肌肉的生长,在水产养殖中增加鱼肌肉产量和肌肉疾病的防治有着直接或间接的应用价值。

已有的研究表明,*Pax3*和*Pax7*的表达是肌卫星细胞的特异性标志。同时,它们在肌卫星细胞增殖和分化中发挥重要作用^[11]。有研究表明,敲除*Pax7*基因会引起肌卫星细胞凋亡,继而导致动物出生后个体瘦小,几乎没有肌肉再生^[12,13]。*Pax3*和*Pax7*作为转录因子直接调节生肌调节因子*Myf5*和*MyoD*的表达,继而影响肌细胞分化。通过基因表达和细胞定位研究揭示,肌卫星细胞通过非对称性细胞分裂来维持生肌细胞的激活和自我更新,即一部分来自肌卫星分裂的子细胞维持着干细胞功能,而另一些子细胞则被激活形成肌细胞进而发育成肌纤维^[14-16]。这类维持干细胞特性的子细胞持续保持*Pax3*和*Pax7*的高量表达,而已激活进入分化肌细胞阶段的子细胞则高量表达*Myf5*和*MyoD*。因此,*Pax3/Pax7*和*Myf5/MyoD*表达量的改变是控制肌卫星细胞增殖和激活分化的关键点。

肌干细胞自我更新分为对称分裂和不对称分裂。Kuang, *et al.*提供证据证实,对称分裂占整个肌干细胞分裂的90%,产生的子细胞与基质膜和肌纤维接触并被紧密包围。通过检测标志基因(Marker genes)的表达暗示着肌干细胞对称分裂不仅可以生成自我更新细胞(*Pax7⁺/Myf5⁻*),同时也会产生两个肌原定向子细胞(Committed daughter cell) *Pax7⁺/Myf5⁺*。与此鲜明对比的是,肌干细胞非对称分裂占全部肌肉组织干细胞分裂的10%,获得一个肌干细胞(Stem cell) *Pax7⁺/Myf5⁻*和定向子细胞 *Pax7⁺/Myf5⁺*与肌纤维组织垂直排列分布。*Pax7⁺/Myf5⁻*仍然与基质膜相互接触,另一个子细胞失去了与基质膜接触的机会,但是仍然保留与肌纤维细胞膜相联系的能力。最临近肌纤维膜的子细胞高表达*Myf5^{nlacZ}*,而接近基质膜的子细胞优先表达*Pax7*。这表明前者很可能与肌纤维融合,而后者很可能仍然留在干细胞分裂时原用于以后分裂产生其他的肌肉干细胞或再次进入休眠状态^[17,18]。

肌卫星细胞在正常的成熟肌肉组织中呈休眠状态,也能够被激活,比如肌肉损伤修复。肌卫星细胞一旦被激活分化形成肌卫星细胞驱使的成肌细胞,并且进一步增生,分化和融合形成肌管,随后成熟的肌管形成肌纤维(不包括肌卫星细胞的自我更新)。*CD34*, *Pax7*和*Myf5/b-gal*等基因能够在休眠的肌卫星细胞中表达,而肌卫星细胞被激活时的标志是*MyoD*基因开始快速表达,随后*Myogenin*作为晚期标志基因激活肌细胞的分化。*MLC3F-tg*的时序表达模式是许多肌肉结构基因如骨骼肌*actin*、*MyHCD*所特有的,也是晚期阶段肌节聚集细胞分化的标志^[16]。

最近的研究表明组蛋白修饰是多种发育过程中重要的调控模式。组蛋白乙酰化或去乙酰化伴随着染色质呈现松弛或紧密状态,从而导致基因的激活或沉默;不同位置的组蛋白甲基化与基因活化和沉默也有密切关系^[19]。组蛋白甲基化是由含SET结构域的组蛋白甲基化转移酶(SmyD)催化的。在斑马鱼中已分离出肌肉特异甲基转移酶—*SmyD1*基因,该基因与转录因子sKNAC结合,直接影响肌肉的发生分化。研究发现敲除*SmyD1*或*sKNAC*基因的斑马鱼肌细胞分化受阻^[20,21]。与斑马鱼实验结果一致的是,敲除sKNAC的小鼠由于肌肉发育受阻而个体变小^[22]。基于SmyD1在肌细胞分化过程中的作用和与sKNAC的密切关系,推测它在成鱼肌肉细胞中,对于肌卫星细胞分化激活和形成肌细胞过程中至关重要,其作用机理可能是SmyD1通过组蛋白的甲基化而直接参与调节*Pax3*、*Pax7*、*Myf5*和*MyoD*基因的表达,从而导致肌卫星细胞的分化与再生^[13,14]。

2 鱼类肌原细胞分化、肌纤维增殖和增大与慢肌和快肌类型的形成

鱼类躯干和尾端骨骼肌起源于早期胚胎体节,并通过体节旋转运动(Somite rotation movement)形成皮层状体节(Dermamyotome)和原始肌纤维。在此分化过程中,成肌细胞(Myoblast)停止分裂,融合形成肌管(Myotube),并同时表达一类肌肉特异性蛋白,最终分化形成两种不同类型肌纤维,即称为白色肌肉的快肌和红色肌肉的慢肌^[21]。快肌一般占据躯干肌肉的主要部分,并位于体节深部,而慢肌则位于皮下肌肉表层部位^[24]。有关肌原细胞分化形成慢肌和快肌两种纤维的方式一直存在分歧。有学者认为,鲑、鳟鱼和斑马鱼位于脊索深层的成肌细胞首先分化形成快肌,而表层的成肌细胞随后分化产生慢肌^[25,26]。而另一些研究者则认为,斑马鱼肌纤维首先分化形成慢肌,随后才逐渐分化产生快肌纤维^[27]。Rescan, *et al.*采用双原位杂交技术追踪鲑鱼快肌和慢肌的发生分化证实,慢肌原成肌细胞从脊索近侧向外辐射迁移直至肌节表层形成表层慢肌,而快肌的产生则起源于体节的中部,随后快肌逐步由体节外从内向外延伸^[28]。虽然有关肌纤维前体细胞的定位和迁移分化尚有分歧,但一般认为在鱼类体节形成末期,快肌纤维在体节深层部位形成,而慢肌在体节表层形成单层慢肌细胞层,进而这两类肌纤维细胞进一步分化形成界线明显的快肌和慢肌^[29,30]。有鉴于此,进一步采用不同模式鱼类研究揭示慢肌和快肌形成机制是鱼类肌肉发生生物学重要科学问题之一。

脊椎动物肌肉生长分为限定(Determinate)和非限定(Indeterminate)两种。肌肉限定生长最典型的代表动物就是哺乳类,因为其个体大小是有限的;而鱼类肌肉生长相对来说是非限定的,因为鱼类并没有固定的大小,而

有些鱼类在整个生命中都在持续生长^[31]。这两种生长模式最主要的区别在于肌纤维(Muscle fiber)的生长差异。与哺乳类不同的是, 鱼类之所以表现为非限定生长主要是因为鱼类可以通过补充新的肌纤维(即为 Hyperplasia)来增加肌肉量, 同样也可以增加已有的肌纤维的大小(即为 Hypertrophy)^[32, 33]。鱼类孵化后期的肌细胞增殖也即为肌肉的补充过程使得鱼类肌肉生长模式与其他脊椎动物不同, 主要是因为鱼类出生后肌纤维数量不是固定的, 而随后是肌肉纤维的增粗和肥大过程^[34]。但是并不是所有的鱼类肌肉生长都是非限定性生长, 种与种之间的肌肉生长调控行为是多样的。最近报道斑马鱼肌肉生长为限定性生长, 因为发现斑马鱼幼鱼发育阶段仅仅有少量的肌肉纤维增殖。但是也有研究发现斑马鱼在性成熟后仍然可以生长并且成鱼有显著的肌肉再生能力^[35-37]。此外, Biga, *et al.*发现可以通过外源生长激素(Growth hormone, GH)处理斑马鱼后可以带来大约有适度和短期的约 20% 的增长^[38]。与此相反, Morales 和 coworkers 也报道发现在转有 β -actin 启动子的转生长激素基因全鱼(All fish)的斑马鱼可以提高 20% 的肌肉生长比率^[39]。同样转生长激素的大西洋鲑全鱼与对照组非转基因鱼比较显著提高生长速率(平均 11 倍的体重优势)^[40]。这似乎表明甚至通过提高生长激素后斑马鱼仅仅表现为有限地和低能力增加自身大小。Chisada, *et al.*发现小型鱼类青鳞鱼孵化后期生长发育阶段不仅可以增加肌纤维数量和大小, 而且在成鱼同样可以增加肌纤维大小^[41]。这预示着不仅仅只是一些体型较大的、可以持续生长的鱼类的在成熟后还能进行肌纤维的增大的生长方式, 而体型小的鱼类同样在成鱼后仍保留肌纤维增大的潜能。

鱼类生长发育过程中个体生长速率存在种间和同种个体间的差异, 并受环境因子如温度和饵料的影响, 且个体大小差异主要受躯干骨骼肌增长的制约和限制。大型或快速生长的鱼类, 肌细胞的增殖和增大可持续到一定个体大小, 而小型和慢速生长的鱼类肌细胞增殖速率较慢, 其生长主要依赖于肌细胞的增粗和增大实现^[42]。类似于其他高等动物, 鱼类早期发育过程中肌细胞增殖可分为三个连续且具明显特征的阶段, 即(1)在体节形成之前, 位于脊索中轴细胞(Adaxial cells)分化并向中侧部迁移形成表层的慢肌纤维层, 进而在新形成的体节内侧中轴细胞在慢肌细胞迁移后产生快肌纤维, 初步形成生肌节^[43, 44]; (2)继而进入分层生长阶段(Stratified growth), 添加新的肌细胞到生肌节表层, 以增加肌纤维数量。在此阶段, 生肌因子 *MyoD* 和 *Myogenin* 保持在生肌节周围区域表达^[45]; 然而, 这一阶段的发生时序在不同鱼类研究中存在异议。Rowlerson 和 Veggetti 研究认为分层生长阶段直到鱼类孵化后期, 甚至直到幼鱼进入摄食期才开始^[46]; (3)肌细胞增殖的第三阶段即为嵌合型肌肉生长(Mosaic growth), 此

阶段在生肌节之间新肌纤维不断添加, 包括肌细胞增长, 并开始增大生长过程。伴随着嵌合型生长阶段, *MyoD*、*Myf5* 与 *MEF2* 等基因持续表达。一旦该阶段基因表达受阻, 则鱼类个体生长受到限制, 其个体变小^[47, 48]。因此, 及早地激活嵌合型生长阶段, 对鱼苗和幼鱼阶段肌肉发育和个体体重增加极为重要。

无论是快肌还是慢肌的发生分化过程, 均伴随着肌肉特异蛋白的时空有序表达。鱼类个体肌肉组织的分化发育和生物学性状的表现都由相应的基因和肌肉特异蛋白产物实现。随着分子生物学技术的发展, 鱼类肌球蛋白重链基因的全基因序列已分别在河豚、斑马鱼、鲤鱼和鳊鱼等鱼类中被分离克隆^[49-53]。Xu, *et al.*选取 10 个斑马鱼肌肉特异基因进行了肌肉发育过程中表达比较研究。这些基因包括肌球蛋白重链、轻链、肌动蛋白等肌肉结构蛋白基因和 *MyoD*、*Myogenin* 等生肌调节因子基因。该研究证实, 所选用的 10 个肌肉特异基因在胚胎或成鱼时均有表达, 并且这种表达的时空差异基本与肌纤维组装时序相一致, 即某一体节形成阶段均有一类相关基因的适时表达^[54]。

鱼类肌球蛋白重链基因及其同分异构体的表达被认为是肌纤维类型形成的决定因子, 常用作区分肌纤维增殖和增粗的分子标记。鱼类肌球蛋白重链基因属于多基因家庭成员, 且在不同发育阶段各 MyHC 亚型表达存在明显的差异性^[55]。例如, Steinbacher, *et al.*对褐鳟(Brown trout)的研究中证实, 在胚胎发育阶段 *MyHCs* (slow)在所有慢肌细胞中表达, 而 *MyHCf* (fast)亚型则在所有快肌中表达, 在幼鱼孵化后 *MyHCs* 几乎在快肌中停止表达^[56]。Liang, *et al.*从青鳞鱼基因组文库中筛选到 8 种 *MyHC* 亚型, 其中 3 种只在胚胎和幼鱼表达, 5 个亚型在成鱼阶段表达^[57]; Nihei, *et al.*在鲤鱼中分离出 8 种 *MyHC* 亚型, 其中 5—6 种 *MyHC* 亚型在成鱼表达^[58]。我们在鳊鱼肌肉中也分离到 4 个 *MyHC* 等位基因, 推测它们可能与肌纤维类型形成相关^[54]。

3 鱼类生肌调节基因(MRFs)和结构基因协同表达与肌细胞增殖和增大相关性研究

生肌调节基因(MRFs)属一类 bHLH(basic helix-loop-helix)转录因子家族成员, 主要包括 *MyoD*、*Myf5*、*MRF4* 和 *Myogenin*^[59]。在鼠类实验证实过表达诱导上述任一生肌因子能导致非肌肉细胞转化形成肌肉细胞, 说明了生肌因子在肌细胞分化中的重要作用^[60]。MRFs 基因均由三个外显子和两个内含子组成, 编码区含有一个由约 60 个氨基酸残基组成的碱性螺旋-环-螺旋的同源结构域, 在此区域拥有一个被称为生肌识别结构的保守序列是 MRFs 识别结合肌肉相关基因激活调节基因转录的关键位点。在鼠类胚胎发育过程表达研究证实, 各个生肌因子的表达呈现出发育过程时序特异表达, *Myf5* mRNA 在

发育 8d 的肌节中开始表达, 至发育 14d 后其表达下调; *MyoD* mRNA 在发育 10.5d 后开始表达, 而 *Myogenin* 则在胚胎 8.5d 开始表达。而且 *MyoD* 和 *Myogenin* 这两个因子在整个胚胎发育过程中持续表达^[61]。这些结果说明, 生肌调节基因在肌细胞的增殖和分化有着重要功能作用。

小鼠 *MRFs* 基因敲除一系列实验证实, *MyoD* 和 *Myf5*

主要扮演生肌决定因子角色, 而 *Myogenin* 和 *MRF4* (*Myf6*) 承担后期肌细胞分化的功能^[62](表 1)。早先认为 *MyoD* 和 *Myf5* 诱导 *Myogenin* 表达, *MRF4* 作为终端诱导因子参与细胞分化(图 1A)。但是 Kassar, *et al.* 认为 *MRF4* 早于 *MyoD* 表达, *MRF4* 与 *MyoD* 和 *Myf5* 三者作为生肌决定因子在肌原细胞早期分化就发挥功能^[63](图 1B)。

表1 *MRFs* 敲除小鼠后主要肌肉表型^[62]
Tab. 1 Major muscle phenotypes of *MRF*-knockout mice

发育时期 Developmental stage	<i>MyoD</i> ^{-/-}	<i>Myf5</i> ^{-/-}	<i>Myf5</i> ^{-/-} <i>MyoD</i> ^{-/-}	<i>Myogenin</i> ^{-/-}	<i>MRF4</i> ^{-/-}
胚胎肌节前9.5d Myotome before E9.5	正常	无心肌细胞 无生肌素	丧失成肌细胞	正常	正常
胚胎肌节后10.5d Myotome before E10.5	正常	肌节修复	丧失成肌细胞	分化缺陷, 成肌细胞正常, 但无肌纤维	肌节修复
新生小鼠 Newborn	大致正常	大致正常	肌细胞少, 偏 肥, 出生后死亡	分化缺陷(致死), 成肌细胞 正常, 但无肌纤维	大致正常

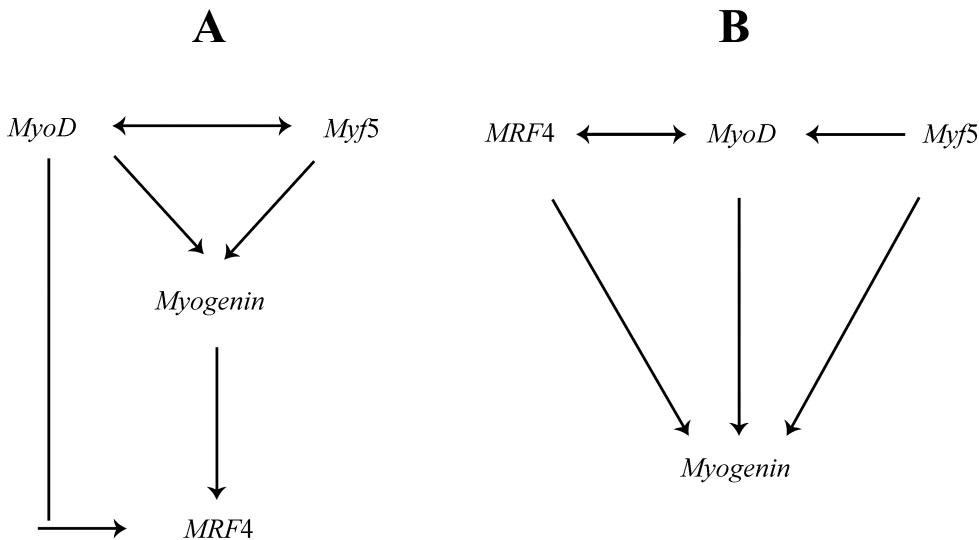


图 1 推定的 *MRFs* 调控模式

Fig. 1 Putative model of regulation between *MRFs*

A. 模式1, *MyoD*/*Myf5* 共同诱导 *MRF4* 表达; B. 模式2, *MRF4* 早于 *MyoD* 表达

A. Model 1, *MyoD*/*Myf5* co-operated to induce expression of *MRF4*; B, Model 2. *MRF4* is expressed earlier than *MyoD*

对硬骨鱼类研究揭示, 生肌调节因子的发育时序和空间协同表达直接调节控制其肌细胞的增殖和增大^[64]。在鲤鱼胚胎发育过程中, *Myf5* 在三个体节阶段(约受精后 30h)就开始高度表达, 而 *MyoD* 和 *MEF2c* 在此阶段几乎没有表达, 直到 15 个体节阶段(约受精后 42h)才开始表达。同时, 其肌肉结构基因, 肌球蛋白重链基因和肌动蛋白直到受精后 61h 表达起始^[65]。Xue, *et al.* 研究报道, *MRF* 基因的表达先于结构基因, 揭示了 *MRF* 在肌细胞增殖分化中的诱导和调节作用^[53]。敲除 *MyoD* 基因的小鼠能存活但不育, *Myf5* mRNA 则上调表达 3—4 倍, 说明 *Myf5* 可

能具有替补 *MyoD* 的功能作用。当 *Myf5* 基因被敲除后, 小鼠肌肉发生分化延迟, 但 *MyoD* 和 *Myogenin* 能正常表达。因此, *MyoD* 亦具有取代替补 *Myf5* 的功能^[66]。基于上述在哺乳动物的研究结果, *MRF* 家族基因是否在鱼类中也存在类似的网络和互补调控现象一直鲜有报道。Lin, *et al.* 通过敲除斑马鱼 *Myf5* 基因, 揭示了 *Myf5* 对于调控前胚、中胚和中胚层肌肉中发生分化的功能作用^[67]。如果 *Myf5* 和 *MyoD* 双基因敲除, 则导致动物胚胎致死, 并阻遏的肌原细胞的分化。

Coutelle, *et al.* 研究认为, *Myf5* 和 *MyoD* 的表达对启动鱼类肌原细胞发生分化具有协同作用, 但它们二者的表达依赖于 SHH (Sonic hedgehog Signaling) 的调节^[68]。另一重要调节因子抑肌素(Myostatin)在肌纤维发生分化和个体生长发育过程中也起着重要负调节作用, 对其表达和调控研究也引起鱼类生物学研究者的广泛研究兴趣。*Myostatin* 属于转化生长因子 TGF-B 超家族成员, 在肌肉生成发育过程中调节控制肌纤维细胞的增殖和增大^[69, 70]。作为一种信号分子, *Myostatin* 对肌肉生长的这种调节作用是通过细胞内的 *Myostatin* 结合激活素受体 II 型

B (AcrRIIB)后, 将信号传递到核内, 下调与肌肉分化相关调节基因, 如 *MyoD* 和 *Myf5* 等的表达, 从而发挥抑制肌肉生长的作用^[71, 72]。*Myostatin* 基因的种间同源性已在多种鱼类研究中证实, 包括罗非鱼、斑马鱼、条纹鲈和白鲈等^[73, 74]。有意思的是, 鲑鱼和三文鱼中都含有两个 *Myostatin* 等位基因, 这两个等位基因在肌肉和非肌肉组织存在着差异表达^[75]。Xue, *et al.* 分别在黑鲷 (*Acanthopagrus schlegelii*) 和大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea* 和 *Larimichthys crocea*) 中首次分离克隆了 *Myostatin* 基因并分析了它们结构特征和功能^[76-78]。采用反义 *Myostatin* mRNA 处理斑马鱼胚胎证实该基因的诱导导致使胚胎个体发育增快和个体增大^[79]; 当诱导 *Myostatin* 基因过度表达, 则导致肌肉萎缩^[75]。Xu, *et al.* 采用肌肉特异启动子 (Muscle specific promoter) 成功诱导 *Myostatin* 的 prodomain 过量表达, 证实其骨骼肌纤维较对照组增长 10% 左右^[74]。双链反义 RNA 或 RNAi 作为一种强效和特异的基因活性抑制剂, 其抑制基因表达是通过降解内源对应的 *Myostatin* mRNA, 并且此作用发生在转录水平上^[80]。有鉴于此, 采用 RNA 干扰技术通过对 *Myostatin* 基因活性干扰, 对于研究鱼类基因表达活性, 以及增加鱼类成肌细胞增殖和增大, 以促进鱼类速生快长可能有着潜在的应用价值。本实验室在鳊鱼肌肉调控方面也做了初步工作, 我们采用基因芯片技术和 cDNA 文库 EST 测序分析鳊鱼肌肉发生分化调控在基因组学水平上^[81-83]。

随着转录组和全基因组测序等高通量测序手段的广泛应用, 将有更多全新的认识和新基因被鉴定。同样围绕着鱼类肌肉分化生长过程中肌卫星细胞激活、分化和自我更新的分子机制, 以及快肌和慢肌的形成和调控机理, 肌肉干细胞的再激活分化与幼鱼成鱼生长的关系等基础科学问题将会被一一解答, 从而有助于从分子水平揭示养殖控制鱼类肌肉生长的内在规律。

参考文献:

- [1] Rescan P Y. Muscle growth patterns and regulation during fish ontogeny [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2005, **142**: 111—116
- [2] Rescan P Y. New insights into skeletal muscle development and growth in teleost fishes [J]. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 2008, **310**: 541—548
- [3] Chanoine C, Guyot-Lenfant M, el Attari, *et al.* White muscle differentiation in the eel (*Anguilla anguilla* L.): changes in the myosin isoforms pattern and ATPase profile during post-metamorphic development [J]. *Differentiation*, 1992, **49**: 69—75
- [4] Johnston I A. Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2006, **209**: 2249—2264
- [5] Stickney H L, Barresi M J, Devoto S H. Somite development in zebrafish [J]. *Developmental Dynamics*, 2000, **219**: 287—303
- [6] Stockdale F E, Jr Nikovits W, Espinoza N R. Slow myosins in muscle development [J]. *Results and Problems in Cell-Differentiation*, 2002, **38**: 199—214
- [7] Alexander M S, Kawahara G, Kho A T, *et al.* Isolation and transcriptome analysis of adult zebrafish cells enriched for skeletal muscle progenitors [J]. *Muscle & Nerve*, 2011, **43**(5): 741—750
- [8] Gros J, Mancau M, Marcelle C. A common somitic origin of embryonic muscle progenitors and satellite cells [J]. *Nature*, 2005, **435**: 954—958
- [9] Stoiber W, Sanger A M. An electron microscopic investigation into the possible source of new muscle fibres in teleost fish [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 1996, **194**(6): 569—579
- [10] Johnston I A, Macqueen D J, Watabe S. Molecular Biotechnology of Development and Growth in Fish Muscle [M]. Fisheries for Global Wellfare and Environment. 5th World Fisheries Congress. 2008, 241—262
- [11] Oustanina S, Hause G, Braun T. Pax7 directs postnatal renewal and propagation of myogenic satellite cells but not their specification [J]. *Journal of the European Molecular Biology Organization*, 2004, **23**(16): 3430—3439
- [12] Kuang S, Charge S B, Seale P, *et al.* Distinct roles for Pax7 and Pax3 in adult regenerative myogenesis [J]. *Journal of Cell Biology*, 2006, **172**(1): 103—113
- [13] Relaix F, Montarras D, Zaffran S, *et al.* Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells [J]. *Journal of Cell Biology*, 2008, **172**(1): 91—102
- [14] Relaix F, Rocancourt D, Buckingham M. A Pax3/Pax7-dependent population of skeletal muscle progenitor cells [J]. *Nature*, 2005, **435**(7044): 948—953
- [15] Seale P, Sabourin L A, Girgis-Gabardo A, *et al.* Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells [J]. *Cell*, 2000, **102**(6): 777—786
- [16] Zammit P S, Partridge T A, Yablonka-Reuveni Z. The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold [J]. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 2006, **54**(11): 1177—1191
- [17] Cossu G, Tajbakhsh S. Oriented cell divisions and muscle satellite cell heterogeneity [J]. *Cell*, 2007, **129**(5): 859—861
- [18] Kuang S, Kuroda K, Le Grand F, *et al.* Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle [J]. *Cell*, 2007, **129**(5): 999—1010
- [19] Li H, Randall W R, Du S J. skNAC (skeletal Naca), a muscle-specific isoform of Naca (nascent polypeptide-associated complex alpha), is required for myofibril organization [J]. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2009, **23**(6): 1988—2000
- [20] Codina M, Li J, Gutierrez J, *et al.* Loss of Smyhc1 or Hsp90 function results in different effects on myofibril organization

- in skeletal muscles of zebrafish embryos [J]. *PLoS ONE*, 2010, **5**(1): e8416
- [21] Tan X G, Rotllant J, Li H, *et al.* SmyD1, a histone methyltransferase, is required for myofibril organization and muscle contraction in zebrafish embryos [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, **103**: 2713—2718
- [22] Park C Y, Pierce S A, von Drehle M, *et al.* skNAC, a SmyD1-interacting transcription factor, is involved in cardiac development and skeletal muscle growth and regeneration [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, **107**(48): 20750—20755
- [23] Devoto S H, Melancon E, Eisen J S, *et al.* Identification of separate slow and fast muscle precursor cells *in vivo*, prior to somite formation [J]. *Development*, 1996, **122**: 3371—3380
- [24] Du S J, Devoto S H, Westerfield M, *et al.* Positive and negative regulation of muscle cell identity by members of the hedgehog and TGF-beta gene families [J]. *Journal of Cell Biology*, 1997, **139**(1): 145—156
- [25] Nikol'skaya M P, Evgen'eva T P, Shagaeva V G. State of skeletal muscles in larvae of sturgeons of the Volga Basin in artificial reproduction [J]. *Doklady Biological Sciences*, 2004, **396**: 230—232
- [26] Devoto S H, Stoiber W, Hammond C L, *et al.* Generality of vertebrate developmental patterns: evidence for a dermomyotome in fish [J]. *Evolution & Development*, 2006, **8**: 101—110
- [27] van Raamsdonk W, van't Veer L, Veeken K, *et al.* Differentiation of muscle fiber types in the teleost *Brachydanio rerio*, the zebrafish posthatching development [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 1982, **164**(1): 51—62
- [28] Rescan P Y. Regulation and functions of myogenic regulatory factors in lower vertebrates [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, **130**: 1—12
- [29] Thiebaud P, Rescan P Y, Barillot W, *et al.* Developmental program expression of myosin alkali light chain and skeletal actin genes in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2001, **1519**: 139-142
- [30] Steinbacher P, Haslett J R, Sanger A M, *et al.* Evolution of myogenesis in fish: a sturgeon view of the mechanisms of muscle development [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 2006, **211**(4): 311—322
- [31] Mommsen T P. Growth and Metabolism [M]. *The Physiology of Fishes*. 1999, 65—97
- [32] Greer-Walker M. Growth and development of the skeletal muscle fibers of the cod (*Gadus morhua* L.) [J]. *Journal du Conseil / Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer*, 1970, **33**: 228—244
- [33] Stickland N C. Growth and development of muscle fibers in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Journal of Anatomy*, 1983, **137**: 323—333
- [34] Johnston I A. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish [J]. *Aquaculture*, 1999, **177**: 99—115
- [35] Gerhard G S, Kauffman E J, Wang X, *et al.* Life spans and senescent phenotypes in two strains of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Experimental Gerontology*, 2002, **37**: 1055—1068
- [36] Rowlerson A, Radaelli G, Mascarello F, *et al.* Regeneration of skeletal muscle in two teleost fish: *Sparus aurata* and *Brachydanio rerio* [J]. *Cell and Tissue Research*, 1997, **289**: 311—322
- [37] Poss K D, Keating M T, Nechiporuk A. Tales of regeneration in zebrafish [J]. *Developmental Dynamics*, 2003, **226**: 202—210
- [38] Simpson P, Peterson B, Hughes N, *et al.* Recombinant bovine somatotropin enhances growth rates in two species of ornamental fish; giant danios (*Danio aequipinnatus*) and zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Journal of Animal Science*, 2000, **78**: 139
- [39] Morales R, Herrera M, Arenal A, *et al.* Tilapia chromosomal growth hormone gene expression accelerates growth in transgenic zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2001, **4**: 51—58
- [40] Devlin R, Yesaki T, Biagi C, *et al.* Extraordinary salmon growth [J]. *Nature*, 1994, **371**: 209—210
- [41] Chisada S, Okamoto H, Taniguchi Y, *et al.* Myostatin-deficient medaka exhibit a double-muscling phenotype with hyperplasia and hypertrophy, which occur sequentially during post-hatch development [J]. *Developmental Biology*, 2011, **359**(1): 82—94
- [42] Stoiber W, Haslett J R, Steinbacher P, *et al.* Tonic fibres in axial muscle of cyprinid fish larvae: their definition, possible origins and functional importance [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 2002, **205**(2): 113—124
- [43] Xie C Q, Huang H, Wei S, *et al.* A comparison of murine smooth muscle cells generated from embryonic versus induced pluripotent stem cells [J]. *Stem Cells and Development*, 2009, **18**(5): 741—748
- [44] Xie S Q, Mason P S, Wilkes D, *et al.* Lower environmental temperature delays and prolongs myogenic regulatory factor expression and muscle differentiation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos [J]. *Differentiation*, 2001, **68**(2-3): 106—114
- [45] Rowlerson A, Veggetti A. Cellular mechanism of post-embryonic muscle growth in aquaculture species muscle development and growth [J]. *Fish Physiology*, 2001, **18**: 103—140
- [46] Radaelli G, Rowlerson A, Mascarello F, *et al.* Myostatin precursor is present in several tissues in teleost fish: a comparative immunolocalization study [J]. *Cell and Tissue Research*, 2003, **311**(2): 239—250
- [47] Veggetti A, Mascarello F, Scapolo P A, *et al.* Muscle growth and myosin isoform transitions during development of a

- small teleost fish, *Poecilia reticulata* (Peters) (Atheriniformes, Poeciliidae): a histochemical, immunohistochemical, ultrastructural and morphometric study [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 1993, **187**(4): 353—361
- [48] McGuigan K, Phillips P C, Postlethwait J H. Evolution of sarcomeric myosin heavy chain genes: evidence from fish [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2004, **21**(6): 1042—1056
- [49] Maglich J M, Caravella J A, Lambert M H, et al. The first completed genome sequence from a teleost fish (*Fugu rubripes*) adds significant diversity to the nuclear receptor superfamily [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, **31**: 4051—4058
- [50] Bryson-Richardson R J, Daggett D F, Cortes F, et al. Myosin heavy chain expression in zebrafish and slow muscle composition [J]. *Developmental Dynamics*, 2005, **233**: 1018—1022
- [51] Muramatsu-Ueno M, Kikuchi K, Suetake H, et al. The complete genomic sequence of the carp fast skeletal myosin heavy chain gene [J]. *Gene*, 2005, **349**: 143—151
- [52] Huriaux F, Vandewalle P, Focant B. Myosin heavy chain isoforms in white, red and ventricle muscles of barbel (*Barbus barbus* L.) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 1991, **100**: 309—312
- [53] Zhang J S, Chu W Y, Cheng J, et al. cDNA cloning and expression analysis of myosin heavy chain gene (MHC) of the Mandarin fish [J]. *Sniperca kneri*. *Aquaculture Research*, 2009, **40**(4): 412—441
- [54] Xu Y, He J, Wang X, et al. Asynchronous activation of 10 muscle-specific protein (MSP) genes during zebrafish somitogenesis [J]. *Developmental Dynamics*, 2000, **219**: 201—215
- [55] Cole N J, Hall T E, Martin C I, et al. Temperature and the expression of myogenic regulatory factors (MRFs) and myosin heavy chain isoforms during embryogenesis in the common carp *Cyprinus carpio* L. [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2004, **207**(Pt 24): 4239—4248
- [56] Liang C S, Kobiyama A, Shimizu A, et al. Fast skeletal muscle myosin heavy chain gene cluster of medaka *Oryzias latipes* enrolled in temperature adaptation [J]. *Physiological Genomics*, 2007, **29**(2): 201—214
- [57] Steinbacher P, Haslett J R, Obermayer A, et al. MyoD and myogenin expression during myogenic phases in brown trout: a precocious onset of mosaic hyperplasia is a prerequisite for fast somatic growth [J]. *Developmental Dynamics*, 2007, **236**: 1106—1114
- [58] Nihei Y, Kobiyama A, Ikeda D, et al. Molecular cloning and mRNA expression analysis of carp embryonic, slow and cardiac myosin heavy chain isoforms [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2006, **209**(Pt 1): 188—198
- [59] Watabe S. Myogenic regulatory factors and muscle differentiation during ontogeny in fish [J]. *Journal of Fish Biology*, 1999, **55**: 1—18
- [60] Tapscott S, Davis R L, Thayer M J, et al. MyoD1: a nuclear phosphoprotein requiring a MYC homology region to convert fibroblasts to myoblasts [J]. *Science*, 1998, **242**: 405—411
- [61] Weinberg E S, Allende M L, Kelly C S, et al. Developmental regulation of zebrafish MyoD in wild-type, no tail and spadetail embryos [J]. *Development*, 1996, **122**: 271—280
- [62] Yun K, Wold B. Skeletal muscle determination and differentiation: story of a core regulatory network and its context [J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 1996, **8**(6): 877—889
- [63] Kassir-Duchossoy L, Gayraud-Morel B, et al. Mrf4 determines skeletal muscle identity in Myf5: MyoD double-mutant mice [J]. *Nature*, 2004, **431**(7007): 466—471
- [64] Rudnicki M, Jaenisch R. The MyoD family of transcription factors and skeletal myogenesis [J]. *BioEssays*, 1995, **17**: 203—209
- [65] Braun T, Arnold H H. Myf-5 and myoD genes are activated in distinct mesenchymal stem cells and determine different skeletal muscle cell lineages [J]. *Journal of the European Molecular Biology Organization*, 1996, **15**(2): 310—318
- [66] Tan X, Hoang L, Du S J. Characterization of muscle-regulatory genes, myf5 and myogenin, from striped bass and promoter analysis of muscle-specific expression [J]. *Marine Biotechnology*, 2002, **4**: 537—545
- [67] Lin C Y, Yung R F, Lee H C, et al. Myogenin regulatory factors Myf-5 and MyoD function distinctly during craniofacial myogenesis of zebrafish [J]. *Developmental Biology*, 2006, **299**: 594—608
- [68] Coutelle O, Blagden C S, Hampson R, et al. Hedgehog signalling is required for maintenance of myf5 and myoD expression and timely terminal differentiation in zebrafish adaxial myogenesis [J]. *Developmental Biology*, 2001, **236**(1): 136—150
- [69] Pan J, Wang X, Song W, et al. Molecular cloning and expression pattern of myostatin gene in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *DNA Sequence*, 2007, **18**: 279—287
- [70] Gonzalez-Cadavid N F, Bhasin S. Role of myostatin in metabolism [J]. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 2004, **7**(4): 451—457
- [71] Xu C, Wu G, Zohar Y, et al. Analysis of myostatin gene structure, expression and function in zebrafish [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2003, **206**: 4067—4079
- [72] Amali A A, Lin C J, Chen Y H, et al. Overexpression of Myostatin2 in zebrafish reduces the expression of dystrophin associated protein complex (DAPC) which leads to muscle dystrophy [J]. *Journal of Biomedical Science*, 2008, **15**: 595—604
- [73] Roberts S B, Goetz F W. Differential skeletal muscle expression of myostatin across teleost species, and the isolation of multiple myostatin isoforms [J]. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Letters*, 2001, **491**: 212—216
- [74] Ye H Q, Chen S L, Sha Z X, et al. Molecular cloning and

- expression analysis of the myostatin gene in sea perch (*Lateolabrax japonicus*) [J]. *Marine Biotechnology* (NY), 2007, **9**: 262—272
- [75] Ostbye T K, Galloway T F, Nielsen C, *et al.* The two myostatin genes of Atlantic salmon (*Salmo salar*) are expressed in a variety of tissues [J]. *European Journal of Biochemistry*, 2001, **268**: 5249—5257
- [76] Xue L Y, Qian K X, Qian Hong Q, *et al.* Molecular cloning and characterization of the myostatin gene in croceine croaker, *Pseudosciaena crocea* [J]. *Molecular Biology Reports*, 2006, **33**(2): 129—136
- [77] Xue L Y, Yang Q Y, Zhang K X, *et al.* Molecular characterization of myostatin in Black Seabream, *Acanthopagrus schlegelii* [J]. *DNA Sequence*, 2008, **19**(3): 217—223
- [78] Xue L Y, Dong X J, Zhang X J, *et al.* Organization and functional analysis of the 5' flanking regions of Myostatin-1 and 2 genes from *Larimichthys crocea* [J]. *DNA and Cell Biology*, 2012, **31**(5): 845—855
- [79] Acosta J, Carpio Y, Borroto I, *et al.* Myostatin gene silenced by RNAi show a zebrafish giant phenotype [J]. *Journal of Biotechnology*, 2005, **119**(4): 324—331
- [80] Medeiros E F, Phelps M P, Fuentes F D, *et al.* Overexpression of follistatin in trout stimulates increased muscling [J]. *American Journal of Physiology-regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2009, **297**: 235—242
- [81] Chu W Y, Fu G H, Chen J, *et al.* Gene expression profiling in muscle tissues of the commercially important teleost, *Siniperca chuatsi* L [J]. *Aquaculture International*, 2010, **18**: 667—678
- [82] Zhang G Q, Chu W Y, Hu S N, *et al.* Identification and analysis of muscle-related protein isoforms expressed in the white muscle of the mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) [J]. *Marine Biotechnology*, 2011, **13**: 151—162
- [83] Zhang J S, Xia X J, Chu W Y, *et al.* Gene expression profiles of the muscle tissues of the mandarin fish, *Siniperca chuatail* with zebrafish cDNA microarray [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, **33**(1): 46—53 [张建社, 夏新界, 褚武英, 等. 基于异源 cDNA 基因芯片杂交的鳊鱼肌肉组织基因表达谱初步分析. 水生生物学报, 2009, **33**(1): 46—53]

《水生生物学报》编辑委员会

EDITORIAL BOARD OF ACTA HYDROBIOLOGICA SINICA

主 编 Chief Editor 桂建芳 GUI Jian-Fang

副主编 Associate Editor 解绶启 XIE Shou-Qi

委 员 Members (以姓氏拼音为序)

蔡庆华	CAI Qing-Hua	曹文宣	CAO Wen-Xuan	常剑波	CHANG Jian-Bo
陈家宽	CHEN Jia-Kuan	陈宜瑜	CHEN Yi-Yu	陈毅峰	CHEN Yi-Feng
高坤山	GAO Kun-Shan	何舜平	HE Shun-Ping	洪云汉	HONG Yun-Han
胡征宇	HU Zheng-Yu	李文鑫	LI Wen-Xin	李钟杰	LI Zhong-Jie
林浩然	LIN Hao-Ran	刘建康	LIU Jian-Kang	刘永定	LIU Yong-Ding
麦康森	MAI Kang-Sen	聂 品	NIE Pin	曲久辉	QU Jiu-Hui
宋立荣	SONG Li-Rong	唐启升	TANG Qi-Sheng	王 丁	WANG Ding
吴灶和	WU Zao-He	吴振斌	WU Zhen-Bin	相建海	XIANG Jian-Hai
肖 伟	XIAO Wei	谢 平	XIE Ping	谢小军	XIE Xiao-Jun
熊邦喜	XIONG Bang-Xi	熊思岳	XIONG Si-Yue	徐旭东	XU Xu-Dong
杨先乐	YANG Xian-Le	于 丹	YU Dan	余其兴	YU Qi-Xing
游 力	YOU Li	张奇亚	ZHANG Qi-Ya	朱作言	ZHU Zuo-Yan

Harald Rosenthal (德国)

编辑部 Editorial office 杜新征 DU Xin-Zheng 王 芹 WANG Qin 余 茜 YU Xi