

网络出版时间:2021-08-27 16:00 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2022.03.002
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20210827.1315.004.html

绵羊 *MYF6* 基因多态性对胴体瘦肉性状的影响

鲁玉洁¹,周辉通^{1,2},柯娜¹,王继卿¹,黄兆春¹,梁维炜¹,
甄慧敏¹,罗玉柱¹,刘秀¹,李少斌¹

(1 甘肃农业大学 动物科学技术学院,甘肃省草食动物生物技术重点实验室,甘肃省牛羊基因改良工程实验室,甘肃 兰州 730070;
2 新西兰林肯大学 农业与生命科学学院,新西兰 林肯 7647)

【摘要】【目的】研究绵羊生肌因子 6(myogenic factor 6,MYF6)基因的多态性,分析其对羔羊胴体瘦肉性状的影响。【方法】以 215 只新西兰罗姆尼公羔为对象,采集其血样,屠宰后测定其后腿、腰部和肩部瘦肉量等胴体指标。提取血样基因组 DNA,采用 PCR-SSCP 检测 MYF6 基因 5'UTR 和第 1 外显子 2 个区域的多态性,分析核苷酸序列变异对羔羊胴体瘦肉性状的影响。采集绵羊乳腺、肝脏、心脏、背最长肌、脾脏、肺脏、卵巢和肾脏组织,以 β -actin 为内参基因,用 RT-qPCR 等方法检测 MYF6 基因的相对表达量。【结果】在第 1 外显子区域,检测到 1 个 SNP(c. 129 C>T),有 A 和 B 2 种等位基因,存在 AA 和 AB 2 种基因型。在 5'UTR 区域检测到 1 个 3 bp 的碱基缺失(c. -589~-590 del ATA),有 C 和 D 2 种等位基因,存在 CC 和 DD 2 种基因型。2 个区域的基因型分布均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。MYF6 基因第 1 外显子的基因型极显著影响了羔羊后腿、腰部和肩部 3 个部位的瘦肉量,以及总瘦肉量和腰部瘦肉比例($P<0.01$)。MYF6 基因在绵羊乳腺、肝脏、心脏等 8 个组织中均有表达,但以背最长肌中的表达量最高($P<0.05$)。【结论】绵羊 MYF6 基因具有丰富的多态性,其基因型对胴体瘦肉性状有显著影响。

【关键词】 罗姆尼绵羊;MYF6 基因;第 1 外显子;胴体性状

【中图分类号】 S826

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2022)03-0010-07

Effects of MYF6 genetic polymorphism on carcass lean traits of sheep

LU Yujie¹,ZHOU Huitong^{1,2},KE Na¹,WANG Jiqing¹,HUANG Zhaochun¹,
LIANG Weiwei¹,ZHEN Huimin¹,LUO Yuzhu¹,LIU Xiu¹,LI Shaobin¹

(1 Gansu Engineering Lab of Genetic Improvement in Ruminants,Gansu Key Laboratory of Herbivorous Animal Biotechnology,
College of Animal Science and Technology,Gansu Agricultural University,Lanzhou,Gansu 730070,China;
2 Faculty of Agriculture and Life Sciences,Lincoln University,Lincoln 7647,New Zealand)

Abstract: 【Objective】 This study analyzed the genetic characteristics of myogenic factor (MYF6) gene in sheep and its effect on lean meat traits of lambs. 【Method】 A total of 215 New Zealand Romney males were investigated. After slaughter, the carcass indicators including lean yields from leg, loin and shoulder were measured. The blood samples were collected and the genomic DNA was extracted. Subsequently, the nucleotide sequence variations were detected in both exon 1 and 5'UTR regions of MYF6 using PCR-SSCP and the relative expression was compared between ovine tissues. 【Result】 Two variants (A and B) and one single nucleotide polymorphism (SNP) (c. 129 C>T) were detected in exon 1, while two variants (C and

【收稿日期】 2021-04-19

【基金项目】 甘肃农业大学“伏羲青年英才培育计划”项目(Gaufx-02Y02);甘肃省基础研究创新群体项目(18JR3RA190);甘肃农业大学自列课题(GSAU-ZL-2015-033);甘肃省财政厅项目(033-041041)

【作者简介】 鲁玉洁(1996-),女,甘肃兰州人,在读硕士,主要从事动物遗传育种理论与应用研究。E-mail:luyujie1113@163.com

【通信作者】 王继卿(1982-),男,甘肃永昌人,副研究员,硕士生导师,主要从事现代生物技术应用研究。
E-mail:wangjq@gsau.edu.cn

D) and one 3-bp deletion (c. -589--590 del ATA) were found in the 5'UTR region. The genotype distributions in both exon 1 and 5'UTR followed Hardy-Weinberg equilibrium in these Romney males. The genotypes in exon 1 of MYF6 significantly affected lean yields in leg, loin and shoulder, total lean yield and the proportion of loin lean yield in these males ($P < 0.01$). The RT-qPCR results found that MYF6 expressed in eight tissues with the highest in *Longissimus dorsi* muscle ($P < 0.05$). 【Conclusion】 MYF6 gene had abundant polymorphism in sheep, and its genotype significantly affected lean meat traits of sheep carcass.

Key words: Romney lambs; MYF6; exon 1; carcass traits

胴体性状是绵羊育种和生产中的一个重要性状,显著影响绵羊的养殖效益。研究发现,肌纤维数量和大小是影响绵羊产肉性能的关键因素^[1]。在出生前后,动物肌纤维的发育有明显差异,在胚胎时期,肌纤维数量大量增加;个体出生后,肌纤维数量维持不变,但直径显著增大,导致个体产肉量不断提高^[2]。肌卫星细胞是一种肌源性干细胞,在其发育为肌管的过程中,受到生肌调节因子家族(myogenic regulatory factors, MRFs)的影响^[3],生肌因子 6(myogenic factor 6, MYF6)是其中的一员,MYF6 基因由 3 个外显子组成^[4]。

MYF6 基因在肌肉发生、肌管和肌纤维肥大等过程中发挥着重要作用^[5-6]。敲除 MYF6 基因后,小鼠出现肌肉发育延迟、功能不全等现象^[7]。另外,MYF6 基因在小鼠胚胎期第 16 天(此时肌管大量分化)高度表达,说明该基因具有促进肌管分化的作用^[8]。除此之外,MYF6 对动物出生后肌肉的生长发育也至关重要,Yin 等^[9]发现,在肌纤维直径较大的鸡上,MYF6 基因表达量显著上调,这表明该基因可促进鸡肌纤维的发育。

MYF6 基因的变异会显著影响畜禽的产肉能力。Wyszynska-Koko 等^[10]研究发现,MYF6 基因的 c. -335 T>C 突变与波兰大白猪的右半胴体质量显著相关($P < 0.05$)。贾伟德^[11]研究发现,黄牛 MYF6 基因的 131 T>G 突变会影响肌内脂肪含量等肉质性状($P < 0.05$)。MYF6 基因的核苷酸序列变异也显著影响着鹅^[12]、鸭^[13]等动物肌肉的生长发育和肉的品质。目前,学者们已研究了绵羊 MYF6 基因的甲基化水平^[14]及其在肌肉中的表达量^[15]和其对绵羊部分屠宰性状^[1]的影响($P < 0.05$),但尚未见关于其对绵羊胴体瘦肉性状影响的研究报道。

本研究采用 PCR-SSCP 和测序等技术,检测了第 1 外显子和 5'UTR 区域的多态性,分析了序列变异对绵羊腰部瘦肉量等 7 种肌肉性状的影响,并研

究了 MYF6 基因在绵羊背最长肌等 8 个组织中的表达特征,以期对绵羊胴体性状的改良提供有效的分子遗传标记。

1 材料与方法

1.1 罗姆尼羊胴体性状数据和基因 DNA 的采集

以 13 只产肉性能优良的罗姆尼公羊作为父本,采用人工授精技术与罗姆尼经产母羊进行配种。在所产后代羔羊中,挑选 215 只出生日期接近的公羔,详细记录其耳号、初生体质量和出生等级(单羔、双羔或多羔)。

用 VIASCAN (Video Imaging Analysis System, VIASCAN) 仪器测量羔羊胴体瘦肉率的精确度(达 0.52)远高于传统的热胴体质量和 GR 值预测法(精确度均为 0.19),该方法还具有稳定性高、节省人力、可预测脂肪深度等优点,在自动化预测产肉量方面具有巨大潜力^[16]。本研究选取 12 周断奶羔羊,称取体质量后立即屠宰,用 VIASCAN 仪器测定其肩部、腰部和后腿 3 个部位的瘦肉量(以瘦肉质量占胴体质量的百分比表示),计算总瘦肉量(3 个部位瘦肉量之和)及这 3 个部位瘦肉量占总瘦肉量的比例(瘦肉率)^[17]。羔羊屠宰前采集血液,提取 DNA^[18],用于后续试验。

1.2 引物设计与合成

根据 GenBank 中绵羊 MYF6 基因序列(GenBank 登录号:NM_001134782.1),设计 3 对特异性引物 P1、P2 和 P3(表 1),其中 P1 和 P2 引物分别用于扩增 MYF6 基因的第 1 外显子(556 bp)和 5'UTR(476 bp)区域,P3 引物用于 MYF6 基因在各组织中表达水平的实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测,内参基因为 β actin。试验所用引物及其序列见表 1。

1.3 MYF6 基因第 1 外显子和 5'UTR 多态性的 PCR-SSCP 分析

PCR 扩增 MYF6 基因第 1 外显子和 5'UTR。反应体系为:预混酶(10 U/ μ L)10 μ L,上、下游引物

(0.25 $\mu\text{mol/L}$)各 0.8 μL ,血液 DNA(100 $\text{ng}/\mu\text{L}$) 0.8 μL , ddH₂O 7.6 μL 。PCR 反应参数为:94 $^{\circ}\text{C}$ 2 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,58 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min,降温至 4 $^{\circ}\text{C}$ 结束。

取 PCR 扩增产物 0.7 μL ,加 SSCP 变性缓冲液 7 μL ,在 PCR 仪上于 100 $^{\circ}\text{C}$ 条件下变性 6 min 之

后,迅速点样于聚丙烯酰胺凝胶中,在 Bio-Rad(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)的 Protean II xi 系统中进行电泳。第 1 外显子的电泳条件为:12%凝胶、14 $^{\circ}\text{C}$ 、390 V 电泳 18 h;5'UTR 的电泳条件为:14%凝胶、25 $^{\circ}\text{C}$ 、200 V 电泳 18 h。对凝胶进行银染显色^[19],读取样本的基因型。

表 1 试验所用的引物信息
Table 1 Primers used in the study

名称 Name	序列(5'~3') Sequence(5'~3')	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$ Annealing temperature
P1	F:CGTTCAGACTAAGTCAGAGG;R:CACATTTTCCTGCTTGGGTC	58
P2	F:AGTGCCACACTGAATACTGG;R:TCTAAGTATAGACCCATGATG	58
P3	F:GCCTCTGCTCAGTTCATC;R:TCACATTTGGCTCTTTGG	60
β -actin	F:AGCCTTCCTTCCTGGGCATGGA;R:GGACAGCACCGTGTGGCGTAGA	60

1.4 等位基因序列测定

根据基因型,选择适宜的方法测序:对于纯合子,直接进行 Sanger 测序;对于杂合子(无纯合子个体),则按照 Gong 等^[20]建立的方法切取其中的纯合型条带进行测序。试验设 3 个生物学重复,以保证结果的可靠性。

用 DNAMAN(V. 5. 2. 10)比对 MYF6 等位基因间核苷酸序列的差异,用 POPGENE 软件(V. 3. 2)计算 MYF6 基因第 1 外显子和 5'UTR 区域的等位基因频率、基因型频率、 χ^2 值(Hardy-Weinberg 平衡性检验)。

1.5 MYF6 基因多态性对羔羊胴体性状的影响

采用 SPSS20.0 软件的一般线性混合效应模型(general liner mixed-effect models, GLMMs),分析第 1 外显子基因型对公羔后腿、腰部、肩部瘦肉量及瘦肉比例和总瘦肉量等 7 个瘦肉性状的影响。由于父本和初生体质量影响了羔羊的瘦肉性状($P < 0.01$),因此在该模型中,将父本和初生体质量作为随机效应。由于所有羔羊均饲养于同一农场(饲养条件一致),因此在模型中未考虑环境因素^[17]。

1.6 MYF6 基因在绵羊 8 个组织中的表达谱

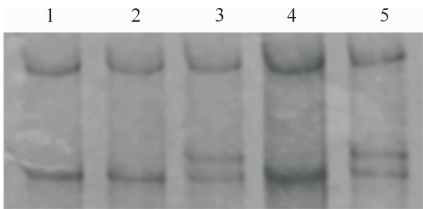
在甘肃省武威市天祝县一绵羊养殖场,选取 3 周岁、体况良好的 3 只小尾寒羊母羊。屠宰后采集其乳腺、肝脏、心脏、背最长肌、脾脏、肺脏、卵巢和肾脏等组织,去除表面杂质和血渍后,放入液氮带回实验室保存。用 TRIzol Reagent (Invitrogen, CA, USA)试剂盒提取绵羊上述 8 个组织的总 RNA,反转录合成 cDNA。以 β actin 为内参基因,采用实时荧光定量 PCR 法检测 MYF6 基因在各组织中的表达水平。RT-qPCR 反应体系为:100 $\text{ng}/\mu\text{L}$ 的 cDNA 2

μL ,0.25 $\mu\text{mol/L}$ 的上、下游引物各 0.4 μL ,10 $\mu\text{mol/L}$ 的 SYBR qPCR Master Mix 10 μL 和 RNase-free ddH₂O 7.2 μL 。RT-qPCR 的具体反应程序为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,45 个循环。试验设 3 个生物学重复和 3 次技术重复。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算并比较 MYF6 基因在上述各组织中的相对表达量^[21]。

2 结果与分析

2.1 MYF6 基因第 1 外显子的遗传特征

经 PCR-SSCP 分析,MYF6 基因第 1 外显子检测到 A 和 B 2 个等位基因,存在 AA 和 AB 2 种基因型(图 1);测序结果表明,2 个等位基因间存在 c. 129 C>T 同义突变的单核苷酸多态位点(single nucleotide polymorphism, SNP)(图 2)。等位基因 A 和 B 的频率分别为 89.30%和 10.70%,基因型 AA 和 AB 的频率分别为 78.60%和 21.40%,群体的基因型频率符合 Hardy-Weinberg 平衡($P = 0.08$)。



1,2,4. AA 基因型;3,5. AB 基因型
1,2,4. AA genotypes;3,5. AB genotypes
图 1 绵羊 MYF6 基因第 1 外显子区域
的 PCR-SSCP 分析

Fig.1 Analysis of the exon 1 region of MYF6
by PCR-SSCP

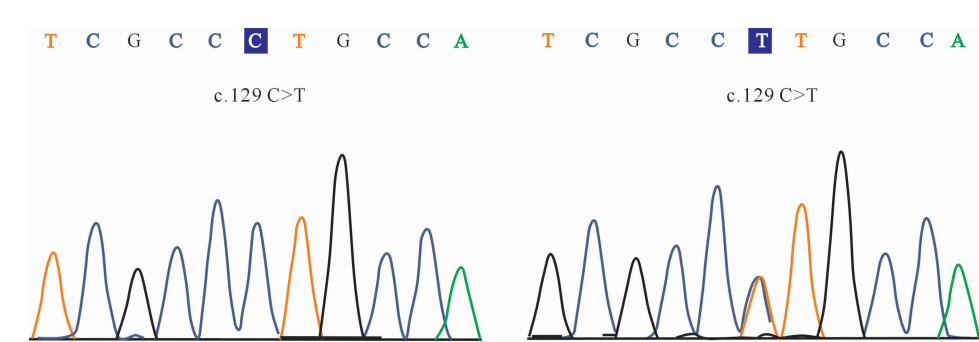


图 2 绵羊 MYF6 基因第 1 外显子区域的 SNP 测序峰图
Fig. 2 Sequencing of SNP in the exon 1 region of MYF6

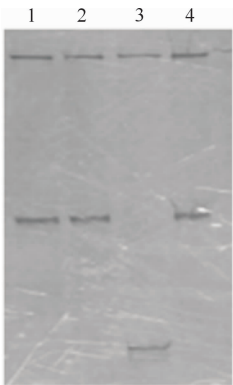
2.2 MYF6 基因 5'UTR 区域的遗传特征

经 PCR-SSCP 分析,在 MYF6 基因 5'UTR 区域检测到 C 和 D 2 个等位基因,存在 CC 和 DD 2 种基因型(图 3);测序结果(图 4)表明,与等位基因 D 的序列相比,等位基因 C 的序列中存在 3 bp 的碱基(c. -589~-590 del ATA)缺失。等位基因 C 和 D 的频率分别为 98.37%和 1.63%,基因型 CC 和 DD 的频率分别为 96.74%和 3.26%。在该研究区域,群体的基因型频率也符合 Hardy-Weinberg 平衡($P=0.82$)。

2.3 MYF6 基因第 1 外显子基因型对绵羊公羔胴体性状的影响

在 MYF6 基因的第 1 外显子区域上,2 个基因型的频率均大于 5%,因此被用于对绵羊公羔胴体性状的影响分析;而在 5'UTR 区域检测到的 2 个基因型中,DD 型的频率小于 5%,无法进行相关分析。MYF6 基因第 1 外显子基因型对绵羊公羔胴体性状影响的分析结果见表 2。由表 2 可知,MYF6 基因第 1 外显子基因型对羔羊的后腿瘦肉量、腰部瘦肉量、肩部瘦肉量、总瘦肉量和腰部瘦肉比例均有极显

著影响($P<0.01$),AA 型个体的后腿瘦肉量、腰部瘦肉量、肩部瘦肉量和总瘦肉量分别较 AB 型高 0.5%,0.7%,0.5%和 1.7%,但对后腿瘦肉比例和肩部瘦肉比例无明显影响($P>0.05$)。



1,2,4. CC 基因型;3. DD 基因型
1,2,4. CC genotypes;3. DD genotypes

图 3 绵羊 MYF6 基因 5'UTR 区域的 PCR-SSCP 分析
Fig. 3 Analysis of the 5'UTR region of MYF6 by PCR-SSCP

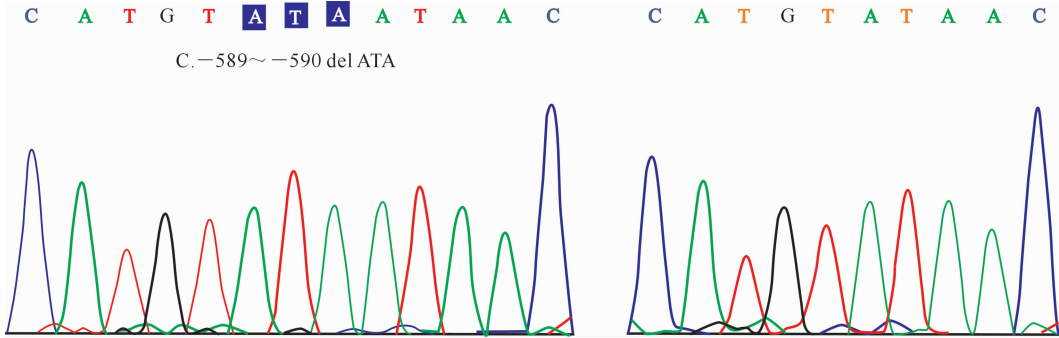


图 4 绵羊 MYF6 基因 5'UTR 区域的测序峰图
Fig. 4 Sequencing of 5'UTR region of MYF6

表 2 MYF6 基因第 1 外显子基因型对羔羊瘦肉性状的影响

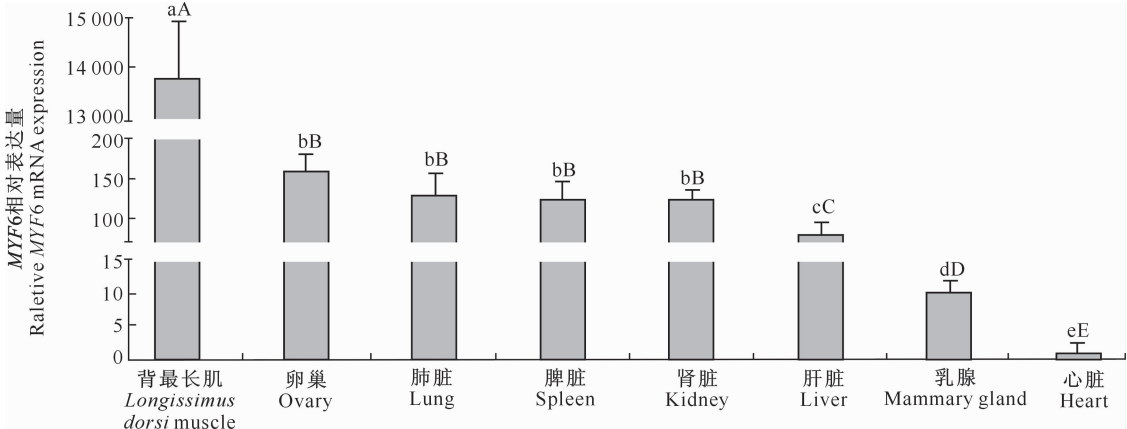
Table 2 Effect of genotypes in ovine MYF6 exon 1 on lean traits in male lambs

胴体肌肉性状 Carcass muscle traits	AA(n=169)	AB(n=46)	P 值 P value
后腿瘦肉量/% Leg lean yield	21.8±0.13	21.3±0.18	0.001
腰部瘦肉量/% Loin lean yield	14.8±0.09	14.1±0.12	0.000
肩部瘦肉量/% Shoulder lean yield	17.3±0.10	16.8±0.13	0.001
总瘦肉量/% Total lean yield	53.9±0.27	52.2±0.36	0.000
后腿瘦肉比例/% Percentage of leg lean yield	40.5±0.12	40.7±0.16	0.171
腰部瘦肉比例/% Percentage of loin lean yield	27.5±0.10	27.0±0.14	0.001
肩部瘦肉比例/% Percentage of shoulder lean yield	32.0±0.12	32.3±0.17	0.129

2.4 MYF6 基因在绵羊 8 个组织中的相对表达量

由图 5 可知,MYF6 基因在绵羊背最长肌、卵巢、肺脏、脾脏、肾脏、肝脏和乳腺等 8 个组织中均有表达,但以背最长肌中的相对表达量最高,其余依次为卵巢、肺脏、脾脏、肾脏、肝脏、乳腺和心脏,其在背

最长肌中的相对表达量分别是上述组织的 86,104,108,109,171,1 308 和 13 841 倍 ($P<0.01$)。MYF6 基因在卵巢、肺脏、脾脏和肾脏中的相对表达量之间无明显差异 ($P>0.05$),但均显著高于其在肝脏、乳腺和心脏组织中的相对表达量。



图柱上标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 标不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)
Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$) and difference capital letters indicate extremely significant difference ($P<0.01$)

图 5 MYF6 基因在绵羊不同组织中的表达水平

Fig. 5 Expression levels of ovine MYF6 in different tissues

3 讨论

本研究在绵羊 MYF6 基因的第 1 外显子上发现了 1 个同义突变的 SNP(c. 129 C>T),虽然这个 SNP 不能改变编码的氨基酸,但其作用不容忽视,因为该 SNP 有可能与 MYF6 基因其他重要区域的 SNPs 连锁,从而调控 MYF6 基因的表达量或改变编码蛋白的功能。有研究发现,同义突变的 SNPs 也能影响 mRNA 的生成效率和稳定性,以及蛋白质的生成效率和空间构象,最终改变基因的功能^[22]。Maak 等^[23]在人、小鼠、狗、鸡和斑马鱼等物种上的研究发现,MYF6 基因的启动子区域中存在 7 个 SNPs。前人分别在山羊和鸡 MYF6 基因的外显子上发现了 2 个和 1 个 SNP^[24-25]。本研究发现的 SNPs 在上述研究中均未报道,且此 SNP 形成的 2

个基因型间的部分胴体性状存在显著差异。本研究在 5'UTR 区域也发现了 1 个 3 bp 的碱基缺失,但由于在本研究选用的 215 只罗姆尼羊中,这个核苷酸变异产生的等位基因 D 的频率仅为 1.63%,故无法研究该碱基缺失对绵羊胴体性状的影响。前人对其他基因 5'UTR 区域的研究发现,此区域的碱基缺失具有重要作用,例如 Bi 等^[26]对内蒙古白绒山羊的研究发现,MSTN 基因 5'UTR 区域的 1 个 5 bp 的碱基缺失对胸部深度有极显著影响 ($P<0.01$);卢靖坤^[27]在牛的 MSTN 上发现,5'UTR 区域 1 个 11 bp 的碱基删除造成了蛋白活性区域失活,最终形成了牛的双肌表型。因此,建议将来在其他绵羊品种上,或用更多的绵羊样本来进一步研究 MYF6 基因 5'UTR 区域 c. -589~-590 del ATA 对绵羊胴体性状的影响。

卡方检验发现,在绵羊 MYF6 基因的 5'UTR 区域和第 1 外显子区域内,羔羊的群体遗传结构符合 Hardy-Weinberg 平衡($P>0.05$)。这说明本研究所使用的罗姆尼羊群体未受到明显的人工选择压力,也未受到迁移、严格选配等其他因素的影响。因此,在以后的育种实践中,建议加强人工选择和选种选配,从而提高该群体的瘦肉量和瘦肉率。

王鑫等^[28]的研究发现,MYF6 基因在山羊背最长肌中的表达量高于肝脏等其他组织。曹婷等^[29]在猪上的研究发现,MYF6 基因在肌肉中的表达量最高,在心脏中的表达量最低。本研究 RT-qPCR 结果显示,MYF6 基因在绵羊卵巢等 8 个组织中均有表达,其中在背最长肌中的表达量最高,在心脏中的表达量最低($P<0.05$),这与其生物学作用有关。有研究表明,动物出生后随着肌纤维的发育,MYF6 在 mRNA 水平和蛋白水平的表达量随之增加^[30],说明 MYF6 基因在动物生后肌纤维肥大过程中发挥着重要作用^[5]。曹婷等^[29]研究发现,MYF6 在猪的肝脏、脾脏、肺脏和肾脏中均有表达,但目前尚未见该基因在动物卵巢和乳腺中表达情况的报道。本研究发现,除了肌肉和心脏组织以外,MYF6 在卵巢、乳腺、脾脏、肝脏、肾脏和肺脏中也有表达。

有学者发现,MYF6 基因的基因型对动物肌肉量有显著影响,如郭月英等^[1]发现,AB 型绵羊的眼肌面积大于 AA 型绵羊个体;孙文浩^[25]发现,AA 型鸡具有更大的产肉量和胸肌、腰肌质量($P<0.05$)。本研究分析结果表明,MYF6 第 1 外显子的基因型对羔羊的瘦肉量有极显著影响($P<0.01$),AA 型个体的后腿瘦肉量、腰部瘦肉量、肩部瘦肉量和总瘦肉量分别较 AB 型高 0.5%,0.7%,0.5%和 1.7%。在发达国家的市售羊肉中,腰部和腿部的瘦肉都是肉质较好的上等肉,特别是腰部的瘦肉,能被烹饪成法式羊排等附加值极高的食品。鉴于 MYF6 基因对绵羊后腿部、腰部和总瘦肉量的显著影响,以及这 3 个部位瘦肉的良好品质,该基因可以作为一个分子标记,用于提高绵羊的胴体瘦肉量。

4 结 论

在绵羊 MYF6 基因的第 1 外显子中发现了 1 个 SNP,在 5'UTR 区域发现了 1 个 3 bp 的碱基缺失(c. -589~-590 del ATA)。MYF6 基因在绵羊背最长肌中的表达量最高,其基因型极显著影响了羔羊的瘦肉性状,可以作为分子标记用于提高羔羊的胴体瘦肉量。

[参考文献]

- [1] 郭月英,任 霆,张 静,等.巴美肉羊、小尾寒羊 Myf6 基因多态性及其与肉质的相关性研究 [J]. 食品工业科技,2014,35(5):126-129.
Guo Y Y, Ren T, Zhang J, et al. Polymorphism of Myf6 gene and its correlation with meat quality traits in Bamei sheep and small fat-tail sheep [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(5): 126-129.
- [2] 刘露露,宋 阳,苏丁丁.猪肌纤维发育及其对肉品质的影响 [J]. 湖南畜牧兽医,2017,198(2):36-38.
Liu L L, Song Y, Su D D. Development of muscle fiber and its effect on meat quality in pigs [J]. Hunan Journal of Animal Science & Veterinary Medicine, 2017, 198(2): 36-38.
- [3] 任 阳.饱和与不饱和脂肪酸对猪肌纤维组成的影响及其 AMPK 途径研究 [D]. 杭州:浙江大学,2014.
Ren Y. Effects of saturated and unsaturated fatty acids on porcine muscle fiber composition and AMPK expression [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.
- [4] Braun T, Arnold H H. The four human muscle regulatory helix-loop-helix proteins Myf3 - Myf6 exhibit similar heterodimerization and DNA binding properties [J]. Nucleic Acids Research, 1991, 19(20): 5645-5651.
- [5] Pas M F, Visscher A H. Genetic regulation of meat production by embryonic muscle formation: a review [J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 1994, 111(1/2/3/4/5/6): 404-412.
- [6] Rudnicki M A, Schnegelsberg P N, Stead R H, et al. MyoD or Myf-5 is required for the formation of skeletal muscle [J]. Cell, 1993, 75(7): 1351-1359.
- [7] Tajbakhsh S, Rocancourt D, Cossu G, et al. Redefining the genetic hierarchies controlling skeletal myogenesis: Pax-3 and Myf-5 act upstream of MyoD [J]. Cell, 1997, 89(1): 127-138.
- [8] Rhodes S J, Konieczny S F. Identification of MRF4, a new member of the muscle regulatory factor gene family [J]. Genes & Development, 1989, 3(12): 2050-2061.
- [9] Yin H, Zhang S, Gilbert E R, et al. Expression profiles of muscle genes in postnatal skeletal muscle in lines of chickens divergently selected for high and low body weight [J]. Journal of Poultry Science, 2014, 93(1): 147-154.
- [10] Wyszynska-Koko J, Kuryl J, Flisikowski K. Partial sequence of porcine MYF6 gene, its comparative analysis and a novel polymorphism of the region coding for the basic domain [J]. Biochemical Genetics, 2004, 42(11/12): 411-418.
- [11] 贾伟德.牛 MyoD 基因家族多态性及其与肉质性状的相关性分析 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2012.
Jia W D. Polymorphism in MyoD gene family and their associations with meat quality traits in Chinese indigenous cattles [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2012.
- [12] 邵 芳,张燕萍,王星果,等.鹅 myf6 基因的克隆、胚胎期以及填饲后表达特征分析 [J]. 农业生物技术学报, 2014, 22(2): 158-167.
Shao F, Zhang Y P, Wang X G, et al. Molecular cloning of goose (*Anser anser*) myf6 gene and its expression during em-

- bryonic stage and after overfeeding [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2014, 22(2): 158-167.
- [13] 朱春红, 宋 迟, 陶志云, 等. 鸭胚骨骼肌不同组织 *Myf6* 基因表达的发育性变化研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(2): 138-142.
- Zhu C H, Song C, Tao Z Y, et al. Developmental expression changes of *Myf6* gene in different skeletal muscle of duck embryo [J]. Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2013, 40(2): 138-142.
- [14] 罗建兴, 刘国强, 张宏博, 等. 蒙古羊后腿肌肉组织中 MYF6 和 MEF2A 基因的甲基化分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2021(3): 22-26.
- Luo J X, Liu G Q, Zhang H B, et al. Methylation analysis of MYF6 and MEF2A genes in muscle tissue of hind legs of Mongolian sheep [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2021(3): 22-26.
- [15] 李 倩, 李兰兰, 栾兆进, 等. miR-374b 与 *Myf6* 在绵羊不同生长时期骨骼肌中表达规律的研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(6): 73-77.
- Li Q, Li L L, Luan Z J, et al. Expression of miR-374b and *Myf6* in skeletal muscle of sheep at different growth stages [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2020, 56(6): 73-77.
- [16] Hopkins D L, Safari E, Thompson J M, et al. Video image analysis in the Australian meat industry-precision and accuracy of predicting lean meat yield in lamb carcasses [J]. Meat Science, 2004, 67(2): 269-274.
- [17] Wang J, Zhou H, Fang Q, et al. Effect of variation in ovine *WFIKK_{N2}* on growth traits appears to be gender-dependent [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 12347.
- [18] Zhou H, Hickford J G, Fang Q. A two-step procedure for extracting genomic DNA from dried blood spots on filter paper for polymerase chain reaction amplification [J]. Analytical Biochemistry, 2006, 354(1): 159-161.
- [19] Byun S O, Fang Q, Zhou H, et al. An effective method for silver-staining DNA in large numbers of polyacrylamide gels [J]. Analytical Biochemistry, 2009, 385(1): 174-175.
- [20] Gong H, Zhou H, Hickford J G. Diversity of the glycine/tyrosine-rich keratin-associated protein 6 gene (*KAP6*) family in sheep [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(1): 31-35.
- [21] 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.
- [22] Duan J, Wainwright M S, Comeron J M, et al. Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (*DRD2*) affect mRNA stability and synthesis of the receptor [J]. Human Molecular Genetics, 2003, 12(3): 205-216.
- [23] Maak S, Neumann K, Swalve H H. Identification and analysis of putative regulatory sequences for the *MYF5/MYF6* locus in different vertebrate species [J]. Gene, 2006, 379: 141-147.
- [24] 张海军, 陈 宏, 房兴堂, 等. 山羊 *MyoD* 基因家族多态性及与体尺性状的相关性 [J]. 遗传, 2007, 29(9): 1077-1082.
- Zhang H J, Chen H, Fang X T, et al. Association of variations in *MyoD* family of genes with body measurement traits in goat [J]. Hereditas (Beijing), 2007, 29(9): 1077-1082.
- [25] 孙文浩. 鸡 *Myf5* 和 *Myf6* 基因的 SNP 多态性及其与屠宰性状和肉质性状的相关性分析 [D]. 成都: 四川农业大学, 2008.
- Sun W H. Study on associations between SNPs of chicken *Myf5* and *Myf6* gene and slaughter and meat quality traits [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2008.
- [26] Bi Y, He L, Feng B, et al. A 5-bp mutation within *MSTN/GDF8* gene was significantly associated with growth traits in Inner Mongolia White Cashmere goats [J]. Animal Biotechnology, 2020, 10: 1-6.
- [27] 卢靖坤. *MSTN* 蛋白结构变异对牛肌肉生长的影响 [D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2018.
- Lu J K. The structure variation of *MSTN* affects the growth of bovine muscle [D]. Hohhot: Inner Mongolia University, 2018.
- [28] 王 鑫, 苑洪霞, 骆金红, 等. *Myf5*、*Myf6* 基因在黔北麻羊与努努 F₁ 代不同组织表达差异性的研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2019, 55(5): 54-58.
- Wang X, Yuan H X, Luo J H, et al. Study on the difference of expression of *Myf5* and *Myf6* gene in different tissues of Qianbei-Ma Sheep and Nuqian F₁ generation [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2019, 55(5): 54-58.
- [29] 曹 婷, 施力光, 周汉林, 等. 五指山猪不同组织中肌细胞生成素基因 *Myf4* 及生肌调节因子 *Myf6* 的表达 [J]. 基因组学与应用生物学, 2012, 31(5): 436-440.
- Cao T, Shi L G, Zhou H L, et al. Expression of *Myf4* and *Myf6* in different tissues of Wuzhishan pig [J]. Genomics and Applied Biology, 2012, 31(5): 436-440.
- [30] Miner J H, Wold B. Herculin, a fourth member of the *MyoD* family of myogenic regulatory genes [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1990, 87(3): 1089-1093.