

# 蒙古马肌生成抑制基因(*MSTN*)的克隆及序列分析

王全喜, 红 海, 芒 来

(内蒙古农业大学, 内蒙古 呼和浩特 010018)

**摘要:**肌生成抑制基因(*MSTN*) 在发育和成熟的骨骼肌中特异表达, 并对肌肉发育和再生具有负调控作用。依据马肌生成抑制素(*MSTN*) 编码序列设计引物, 以蒙古马基因组 DNA 为模板, 利用 PCR 技术, 扩增出 *MSTN* 基因的片段后, 测序并按顺序拼接, 得到 DNA 全序列。序列分析结果表明, *MSTN* 基因由 2 个内含子和 3 个外显子组成, 碱基数量分别为第一外显子 373 bp、第二外显子 374 bp、第三外显子 381 bp; 第一内含子 1 833 bp、第二内含子 2 018 bp, 共有 4 979 个碱基。该序列首次登录到 GenBank, 登录号为 AY840554。

**关键词:** 蒙古马; *MSTN*; 基因; 克隆; 测序

中图分类号: S821. 81 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091( 2006) 05- 0045- 05

## Study on Cloning and Sequence Analysis of Myostatin Gene in Mongolian Horse

WANG Quan\_xi, HONG Hai, MANG Lai

(College of Animal Science and Veterinary, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

**Abstract:** Myostatin(*MSTN*) was expecially expressed on skeletal muscle and was negalitively regulated to development and regeneration of muscle. The complete sequence of Mongolian horse *MSTN* gene were firstly amplified by PCR technique .The sequence analysis showed that the *MSTN* gene was composed of two introns and three exons. The sequence lengthes of the first exon , the second exon and the third exon were 373 bp , 374 bp and 381 bp respectively. The lengthes of the first intron and the second intron were 1 833 bp and 2 018 bp respectively. The full length of Mongolian horse *MSTN* gene was 4 979 bp and firstly submitted to Genbank. Its accession number was AY840554.

**Key words:** Mongolian horses; *MSTN* Gene; Clonging; Sequensing

肌生成抑制素(Myostatin, *MSTN*) 是 1997 年美国 John Hopkins 大学医学院的 Mepherron 和 Lee<sup>[1]</sup> 等人的研究小组在研究转化生长因子 $\beta$ (TGF $\beta$ ) 家族时发现的一种新的生长分化因子, 该基因编码的蛋白质是转化生长因子 $\beta$  超家族的一员, 具有 TGF $\beta$  共有的结构特征, 但又与 TGF $\beta$  超家族其他成员的同源性很低( 最高为 45% ), 因而将其归为新的一类 GDF $\beta$ <sup>[2]</sup>。

Mepherron 研究发现, 该基因缺失的鼠肌肉增大, 骨骼肌肌群分布广泛, 体重约为野生鼠的 2

倍<sup>[1]</sup>。Kambadur 发现, 双肌牛中该基因发生突变, 结果在同样喂食条件下, 双肌牛比普通牛多产 30% 的肉<sup>[3]</sup>。Sakuma 等研究表明, GDF $\beta$  对骨骼肌再生有一定的负调控作用<sup>[4]</sup>。由于 *MSTN* 对骨骼肌的生长发育具有负调控作用, 由此而得名肌生成抑制素。通过抑制 *MSTN* 基因活性而增加肌肉量或调节肌肉的再生, 这在畜牧业和医疗上都有重大的应用价值。家畜中, 关于牛和猪的 *MSTN* 基因研究报道较多, 但关于马的 *MSTN* 基因研究报道较少, 尚未见到马的 *MSTN* 基因全序列的测序报道。本研究旨在为马 *MSTN* 的分子生物学研究奠定理论基础。

收稿日期: 2005- 10- 27

基金项目: 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJ03093)

作者简介: 王全喜( 1970- ), 女, 内蒙古通辽人, 讲师, 在读博士, 主要从事动物分子遗传学研究; 芒来为通讯作者。

# 1 材料和方法

## 1.1 材料和试剂

68 匹蒙古马全血采自鄂尔多斯市鄂托克旗马奶场, ACD 抗凝, - 70℃保存备用。PCR 扩增所需 Taq 酶购自大连宝生物 TaKaRa 公司, 大肠杆菌 DH5 $\alpha$ , P<sup>GEM</sup>\_Teasy 载体购自 Promega 公司, 引物由北

京赛百盛基因技术有限公司合成, 重组质粒的测序由上海生工完成。

## 1.2 PCR 引物的设计

从 GenBank 中查出马 *MSTN* 基因的 cDNA 序列, 借助 Prime Premier5.0 引物设计软件, 设计 4 对引物, 即 p<sub>1</sub> 和 p<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> 和 P<sub>4</sub>, P<sub>5</sub> 和 P<sub>6</sub>, P<sub>7</sub> 和 P<sub>8</sub>。具体序列和位置列于表 1 和图 1。

表 1 引物的 DNA 序列、预扩增片段长度、复性温度及扩增片段位置

Tab 1 DNA sequence of primers , predicted length of amplified DNA fragments, annealing temperature and position of amplified DNA fragments

序号 No.	预扩增片段 长度(bp) Amplified length	复性温度(℃) Annealing temperature	扩增位置 Amplified position	引物序列 Primers	
				5' 端(5'_end)	3' 端(3'_end)
P <sub>1</sub> , P <sub>2</sub>	333	51.2	外显子 I Exon I	ATGCAAAAACCTGCAAATCTC	GTAATCATCATCTTCCAAAG
P <sub>3</sub> , P <sub>4</sub>	2512	58.0	内含子 I Intron I	CTGGTCCAGTGGATCTAAAT	TGGTCTTGGGAAGGTTACAG
P <sub>5</sub> , P <sub>6</sub>	2434	58.0	内含子 II Intron II	CTGTAACTTCCTCCAAGACC	GCTCATCACAGTCAAGTC
P <sub>7</sub> , P <sub>8</sub>	318	59.4	外显子 III Exon III	GACTGTGATGAGCACTCCAC	TCATGAGCACCCACAGCGAT

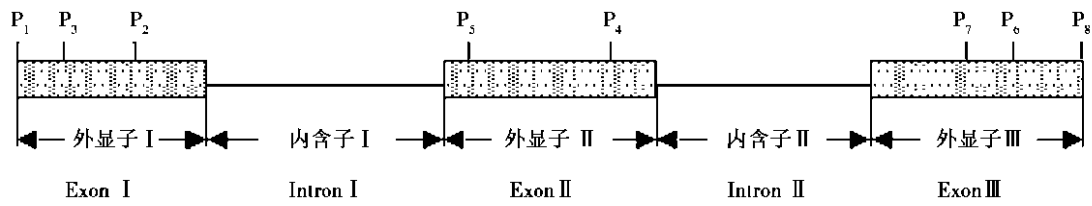


图 1 蒙古马 *MSTN* 基因引物设计结构示意图

Fig. 1 Structural map of designed primers of Mongolian horse *MSTN* gene

## 1.3 蒙古马基因组 DNA 的提取

基因组 DNA 提取试剂盒购自大连宝生物公司, 方法参见说明书。提纯的基因组 DNA 溶于 TE 缓冲液后用紫外分光光度计定量后 - 20℃保存备用。

## 1.4 蒙古马 *MSTN* 基因片段 PCR 扩增

1.4.1 PCR 扩增 本实验采用 20  $\mu$ L 反应体系, 其中各组分的终浓度分别为 2  $\mu$ L 的 10 $\times$  Buffer, 1.6  $\mu$ L dNTP, 引物各 0.2  $\mu$ L (50 pmol/ $\mu$ L), 0.2  $\mu$ L Taq 酶(5 U/ $\mu$ L), 1  $\mu$ L DNA 模板(约 80 ng) 再加三蒸水至 2  $\mu$ L。PCR 循环参数为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s, 50~ 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 30 个循环后, 于 72℃延伸 10 min, 最后 4℃保存待用。

1.4.2 琼脂糖凝胶电泳 制备 1.0 g/L 的琼脂糖凝胶, 取 PCR 扩增产物 4  $\mu$ L 与 2  $\mu$ L 6 $\times$  Loading Buffer 混均后上样, 电泳(电压 5 V/cm) 45 min 后, 凝胶成像分析系统成像。

## 1.5 目的 DNA 片段的回收

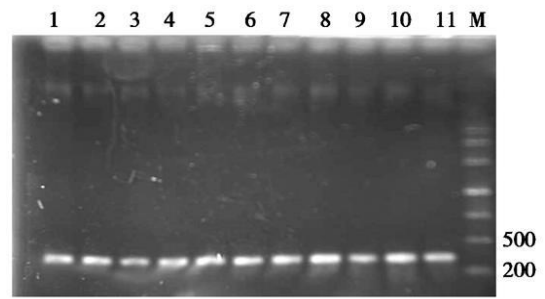
PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳后, 用 V<sub>gene</sub> 公司的凝胶试剂盒回收。

## 1.6 蒙古马 *MSTN* 基因的克隆与测序

回收的目的片段, 按 pMD18- T Vector 试剂盒说明进行连接反应, 转化感受态 *E. coli* DH5 $\alpha$ , 筛选阳性克隆, 经 PCR, 酶切鉴定后, 选出重组质粒送上海生工测序。

# 2 结果与讨论

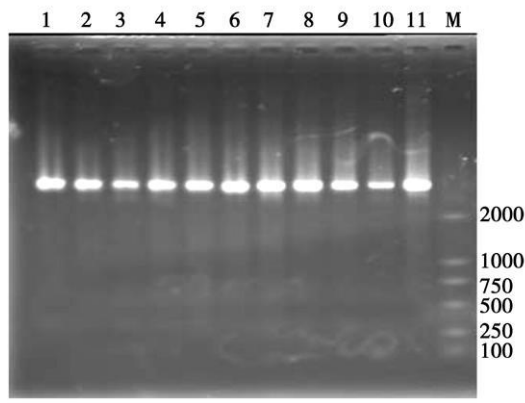
## 2.1 PCR 扩增和克隆



1~ 11. 不同个体 *MSTN* 基因扩增产物; M. Marker III  
Lanes 1~ 11. PCR products of *MSTN* gene; M. Marker III  
图 2 蒙古马 *MSTN* 基因第一外显子扩增产物 1% 琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 2 Electrophoresis pattern of PCR products of first exon of Mongolian horse *MSTN* gene

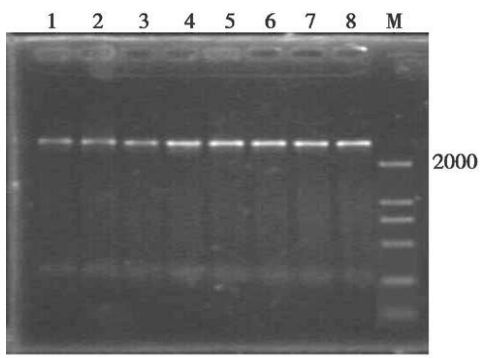
用 4 对引物扩增后的 PCR 产物, 经 1% 的琼脂糖凝胶电泳结果见图 2~ 5。



1~ 11. 不同个体 *MSTN* 基因扩增产物; M. Marker (DL2000)  
Lanes 1~ 11. PCR products of *MSTN* gene; M. Marker  
(DNA Ladder 2000)

图 3 蒙古马 *MSTN* 基因第一内含子扩增产物 1% 琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig 3 The electrophoresis of PCR amplified product of first intron of Mongolian horse *MSTN* gene



1~ 8. 不同个体 *MSTN* 基因扩增产物; M. Marker (DL2000)  
Lanes 1~ 8. PCR products of *MSTN* gene; M. Marker  
(DNA Ladder 2000)

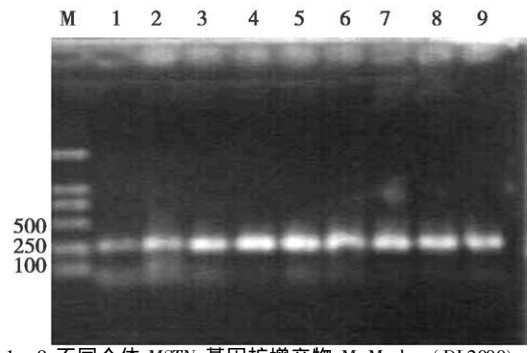
图 4 蒙古马 *MSTN* 基因第二内含子扩增产物 1% 琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig 4 The electrophoresis of PCR amplified product of second intron of Mongolian horse *MSTN* gene

从图 3, 4 可以看出, 所扩增的 DNA 片段大小 2 kp 左右。从图 2, 5 可以看出, 所扩增的 DNA 片段大小 300 bp 以上, 与预期大小相符。

回收每个扩增片段后进行连接, 转化到感受态

*E. coli* DH5a 中, 培养后长出了良好的菌落。阳性克隆, 经 PCR, 酶切鉴定后, 选出重组质粒送上海生工测序。



1~ 9. 不同个体 *MSTN* 基因扩增产物; M. Marker (DL2000)  
Lanes 1~ 9. PCR products of *MSTN* gene; M. Marker  
(DNA Ladder 2000)

图 5 蒙古马 *MSTN* 基因第三外显子扩增产物 1% 琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 5 The electrophoresis of PCR amplified product of third exon of Mongolian horse *MSTN* gene

## 2. 2 测序和序列分析

2. 2. 1 *MSTN* 基因序列测定及全序列的拼接 测出的序列中删掉质粒载体序列后根据引物的先后顺序拼接 4 个片段得到全长序列, 结果表明, *MSTN* 基因序列全长为 4 979 bp。

2. 2. 2 确定外显子和内含子碱基数目 找出外显子和内含子连接的核苷酸保守序列并确定了各外显子和内含子的碱基数目。结果表明, 蒙古马 *MSTN* 基因由 3 个外显子和 2 个内含子组成, 碱基数目分别为第一外显子 373 bp、第二外显子 374 bp、第三外显子 381 bp; 第一内含子 1 833 bp、第二内含子 2 018 bp, cDNA 全序列为 1 128 bp, 具体序列见图 6, 下划线表示外显子序列, 其余表示内含子序列。这一结果与 GenBank 网登录的 cDNA 序列长度一致, 而且同源性达到 99%。我们把全长序列登录到 GenBank, 序列号为: AY840554。

2. 2. 3 氨基酸序列推测 通过计算机软件 DNASTar (Lasergene5. 01) 进行氨基酸序列预测, 结果(图 7)表明, *MSTN* 基因编码序列共由 375 个氨基酸和一个终止密码子组成。进一步用 Vector NTI 软件, 将蒙古马 *MSTN* 基因氨基酸序列与 GenBank 网登录的马 *MSTN* 基因氨基酸序列对比结果表明同源性达到了 99. 20%。

1	atgcaaaaac	tgcaaatctc	tgtttatatt	tacctgttgc	tgdgtattct	tgctgttcca
61	gtggaatc aa	atgagaaacag	cgaagcaaaa	gaaatgtgg	aaaaagaggg	gctgtgcaat
121	gcattgtact	ggagacaaa	cactaatct	tcaagatag	aagccataaa	aattcaaatc
181	ctcaglaaac	tgccctggga	aacagctcct	aacatcagca	agcagcttat	tagacaactl
241	tggcccaaac	ctctccact	cggggaaatg	atgaltcagt	acagltccca	gagagatgac
301	agcagtgatg	gctcttggga	agatgaltgat	taccacggga	cgacggaaac	aalcatlacc
361	atgccacag	agtgtgaagta	gtctgttag	tgtatatacaa	caaltctgct	gactgttgct
421	ctagtgttta	tgagaaacag	atctatcttc	aggctctttt	aacaagctgt	tggctgtat
481	gtaaagcagga	aggaaaagag	tctctttt	tcaagatttc	algagaaat	tactaatgag
541	actgaaatct	gctgcatlat	tgttttct	agagagctaa	aaatctaaac	aaatataaat
601	tcttgccacag	cattaatatt	atttagctta	atalgacaaa	tataacatgc	tatgtcttcc
661	acagcttaal	accaccaaagg	caaaaattgg	gagatagtac	aagcaatgt	aaaaacttac
721	atgagatttc	atgaatttgc	tgggttgcct	aaataaagca	tllataataa	caagtttttt
781	tcaataataa	tagagaaggga	agaaattgtt	agacgtttag	gtcatttgag	catttgctga
841	acaccaaatt	gactctgtt	actcaaaact	attctcata	gtgttttat	gtctleaca
901	aattaaatct	ttagatttgc	aaagttattc	ccctggagat	taggaaaaat	attttttaa
961	atttaattga	ttagtaagaa	aaatgatgaa	gtataacatag	cataatgata	atcagagct
1021	aattatcata	aaatggctaa	tataaaca	tttaataca	agaggttata	gctcagagtc
1081	ctgctacac	cttgacctat	gtactattgt	ttgagagcac	actgggtgca	catttccacg
1141	gcaggcgaca	ttgcttaata	atctctaaa	atacaatttt	attctcttg	ggaggcgagg
1201	ctactactg	tagatctat	attgctctg	aaagataata	tattctcat	attcttttg
1261	cagtcagttc	ataacacac	tcaaggaaag	ggagacagac	accttcacag	agaagcagtg
1321	acacggagaa	ttctgttcca	tgtgtctgg	atcctgcttt	accaggtct	tattctactt
1381	taaacaggac	acaacagttt	caaaatattg	ttctcttat	ttaagtaata	ggttataatg
1441	caccaataaa	ttttcttata	tgactctgt	atcaaatgtg	cttgagtag	atttactta
1501	tttataaaca	atctggggga	accaaaataa	aagaaattgc	tagtgatttt	gctcacaatg
1561	acagcctggc	tctaaagaca	gtattttcta	acttttga	tagcctgaat	ataacattca
1621	aatttttgg	ctaatattt	gcttagcttt	gttcttttaa	aaggctattc	caaaagccaaa
1681	acataacaga	tgtactat	tttctcttaa	ttccggagge	tcaagttagt	ctcagtggt
1741	tcttgtccc	caggttaattc	aggctgggg	gaagggttcc	tttctcaga	ctgattgta
1801	cagctgctca	gtaaagtaaa	ctactcagat	tccaaagaa	ttctaaagta	atgtctccc
1861	acgtgtctc	tgttctctc	taactatctt	catlttaaaa	ttctatcac	agttcattcc
1921	ttcatagaat	tttcttagt	tcaagtttt	ctggaataaga	agtagattcc	tctataacag
1981	ctgaaaaaac	atatacaaa	aatctgaaa	ggctagagta	attatattct	ttgatattt
2041	tctgagttat	gaatgaaatt	ctacatagtt	tttcaattta	aaagctaga	tatatataca
2101	gtattcaat	ggaaaaaaa	tgtttcaaaa	ctaattggga	gggggttact	aattttttt
2161	gatataaatt	ttcaataact	cttttcttt	tcttattcat	tattagctga	tcttctaatg
2221	caagtggaag	gaaaaaccaca	atgttctctc	tttaatttta	gtcttaaaat	acaacacaaat
2281	aaagtgttaa	aggcccaact	gtggatata	ctgaaccccg	ctcaagactcc	tacaacagtg
2341	ttgtgcaaa	tctgagact	catcaaaccc	atgaagacag	gtcaaggtta	tactgggaatc
2401	cgatttttga	aacttgacat	gaaccagggc	gctgtgtt	ggcagagcat	tgatgtgaag
2461	acaggtgtgc	aaaattggct	caaacagctc	gaatccaact	taggcattga	aalcaagact
2521	ttagatgaga	atgttcatga	tctgtctgta	acctcccaa	gacagggaga	agatggctg
2581	gtaaagtat	aatgaaaaata	atattctaac	aactgtttta	tgttttatt	catcatgtga
2641	atgaataata	gtggaaatga	actaccagtt	tctatgcta	acaagctaga	caaaagcatc
2701	ttaccccaat	ggcagccctg	taccataaa	aaagtgtgt	ccaatttcat	atccaatgaa
2761	acacccctct	gatagtcaaa	ctttgcatga	ggattaaaaa	aagttatcac	catagctctt
2821	aactctcag	gggtgtcttt	ggaaattggga	algaaatata	aaagtgttt	catgatatg
2881	ccacataatt	atatagaata	aaacacaaaa	tcttcacaa	ggatcttgtt	acatacccaa
2941	caaatataac	ctttcttcc	cccagaaga	gtgtcaaatg	tgtgaaagt	tttctgttaa
3001	ataagcaga	gtaaaactt	aaaataata	attaaaatcc	aatgtcttta	tttatagcaa
3061	ttaagtacaa	aatgtttagg	cttatatttt	attaaatata	ccatatacaa	ggtccctcat
3121	gatataatg	ttcattatgt	tcatattttt	gcaggtctgt	gatgcattga	tgttctgta
3181	gattactcg	tgaattacac	ctaataaac	ttaaacttcc	aggctagtta	accttgcca
3241	ctagcttta	tttctgagct	gcttaccat	tcttggtcaa	gagttacttt	aggttaatgoc
3301	aactaattta	atatacggcc	aagcagatga	caatacctta	tattattaaa	aaattactaa
3361	aaagatattt	aaaaactact	ataaattgag	ttactcttcc	aatctcaact	tactttgtt
3421	ttcaaaaact	tatttaattg	gatcatattt	ttatttcca	ccatttgaca	taatttaca
3481	caaaagatata	tacttgcaaa	caataaata	atctttcag	tctcaltgtg	gtctgtttta
3541	aaaagaataat	acaattagta	aattcagatct	actttaaatg	aaatagaaat	cttttaatat
3601	tatgcaattt	tacaaatgat	ctatttttct	ttaaatatgc	aaatataaat	gttatgtct
3661	cccaaaatga	tgttattctt	ttatacaatc	ttaaataaca	acaggtacca	ggtctatttt
3721	gatttttgata	taggataaga	actactattta	atcatttaag	aaagattct	tttttatagg
3781	tagcatttta	acgttaaatct	agttaacgtaa	cagaggtttt	aaattactaaa	cagatggtta
3841	acatggcata	ttcttccaat	tttctcatat	aaagaagca	aaagtctaat	gcatltaaaag
3901	attggcgag	gggaaggact	agcaaatcat	ttttaaatata	tctgaatgaa	aaacttttcc
3961	agtgaaggga	taagggaat	attagttalc	ttctctgaa	tctatccctc	ctctcttag
4021	agttttctt	tccaaccat	tatgacaggc	caacaccttc	attcaccctta	ctctctttt
4081	tctgtttaca	atccatatag	tgtctggaag	caactatttt	gcttggtctt	taatatccaa
4141	gttctcccaa	gtaaagact	agggaatgga	ggatggatga	gtatacctat	cttctagaa
4201	gtcatcagac	atatttagcc	aatcatttta	attacaagc	gtgaagagag	ggagataaac
4261	tctctctcc	ctctcttct	ccctcttct	cttctccc	cttaagattt	tcaggacatc
4321	tactatgtgc	caggcaattta	gatctcaaaa	gtgggggaaa	caaaaaatag	aaagacatag
4381	atctgaccac	aggagaattt	gtattgtctg	tattctttt	tgaagcatag	ggaaaaagca
4441	agctctdgt	aaattaaaac	tcttaactg	tctaaaattt	aaaataaata	gtagtataag
4501	caaaatgatt	agtttcttcc	ttcaacatg	acatcttgag	gtaggaaagt	gttctgggat
4561	gtattaatat	tactcattgt	tctttcttt	tcatacagaa	tcatatttta	gaagtaagg
4621	taacagacac	accaaaacga	tccagaagag	attttggacc	tgaattgtat	gagcacacca
4681	cagaatctcg	atgctgtcgt	tacctctaa	ctgttgattt	tgaagctttt	ggatggattt
4741	ggattattgc	accaaaagaa	tataaggcca	attactgtct	tgaagagtg	gaatttgtat
4801	ttttacaaaa	atctctcac	actcatctg	taaccaagc	gtttcagcag	gtttcagcag
4861	gcccctgctg	tactccacaa	aagatgtctc	caattataat	gcttatattt	aatggcacaag
4921	aacaaataat	atagggaat	attccagcca	tgttagtaga	tgcctgtggg	tgtctatga

图6 蒙古马 *MSTN* 基因核苷酸序列Fig 6 DNA sequence of Mongolian horse *MSTN* gene

1	MQKLQISVYI	YLFVLILLAG	PVDLNNSEQ	KENVEKEGLC	NACTWRQN
51	TKSSRIEAIK	IQILSKLRLE	TAPNISKDAI	RQLPKAPPL	RELIDQYDVQ
101	RDDSSDCSLE	DDDYHATTET	ITMPFESDL	IMQVEGKPKC	CFFKISSKIQ
151	HNKVVKAQLW	IYLRPVKTPT	TVFVQILRLI	KPMKDGTTRYT	GIRFLKLDMN
201	PGAGIWQSID	VKTVLQNWLK	QPESNLGIEI	KALDENGIDL	AVTFPRPGED
251	GLNPFLEVKV	TDTFKRSRRD	FGPDCDEHST	ESRCCRYPLT	VDFEAFGWDW
301	IIAPKRYKAN	YCSGECEVFV	LQKYPHTHLV	HQANPRGSAG	PCCTPTKMSP
351	INMLYFNGKE	QHYYGKIPAM	VVDRCGCS		

图 7 蒙古马 *MSTN* 基因氨基酸序列

Fig. 7 Amino acid sequence of Mongolian horse *MSTN* gene

*MSTN* 基因与 TGF-β 家族其他成员一样, 在脊椎动物体内是高度保守的, 其氨基酸序列有家族特征<sup>[5,6]</sup>。实际上, 鼠、鸡、火鸡、猪 *MSTN* 的水解加工位点后的 C 端区完全相同, 而绵羊、牛和狍狍的 *MSTN* 成熟蛋白中也仅有 1~3 个氨基酸不同。最近, 一些研究者用小鼠 *MSTN* 的保守 C 末端编码序列为探针, 对各种动物 cDNA 文库进行筛选, 获得了牛、鸡、羊、猪、狍狍、鼠、鱼等的 *MSTN* cDNA 克隆<sup>[1,7-9]</sup>。据资料显示, 马 *MSTN* cDNA 序列为 1 128 bp, 表明马 *MSTN* 蛋白由 376 个氨基酸组成。我们克隆的蒙古马的 DNA 片段, 全长 4 979 bp, 其中 cDNA 序列为 1 128 bp, 与文献报道一致而且同源性达到 99.64%, 只有 5 个碱基发生改变, 而且其中有 2 个碱基的改变并未改变所编码的蛋白质, 充分证明了马 *MSTN* 基因的高度保守性, 这对稳定马的遗传性状至关重要。

参考文献:

[1] Mcpherron A C, Lawler A M, Lees J. Rephphation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-βsuperfamily member [J]. Nature, 1997, 387: 83- 89.

[2] Mcpherron A C, Lee S J. GDF\_3 and GDF\_9: Two new members of the transforming growth factor-β superfamily containing a novel pattern of cysteines [J]. J Biol Chem, 1993,

268: 3444- 3449.

[3] Kambadur R, Shamam, Smith T P L. *et al.* Mutations in myostatin (GDF\_8) in Double\_Muscled Belgian blue and piedm ontese cattle [J]. Genome Res, 1997, 7(9): 910- 916.

[4] Sakuma K, Watanabe K, Sano M, *et al.* Differential adaptation of growth and differentiation factor 8/myostatin fibroblast growth factor 6 and leukemia inhibitory factor in overloaded, regenerating and denervated rat muscles [J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1497(1): 77.

[5] Rios R, Carneirol, Arce V M, *et al.* Myostatin is an inhibitor of myogenic differentiation [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2002, 282(5): C993- C999.

[6] Joulia D, Bemardi H, Garandel V. Mechanisms involved in the inhibition of myoblast proliferation and differentiation by myostatin [J]. Exp Cell Res, 2003, 286(2): 263- 275.

[7] Thomas M, Langley B, Berry C. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation [J]. J Biol Chem, 2000, 275: 40235- 40243.

[8] 詹勇华, 陈创夫, 高剑峰, 等. 脉冲场凝胶电泳在 BAC 文库插入片段分析中的应用 [J]. 内蒙古农业科技, 2006, (2): 32- 33.

[9] 王全昆, 红 梅, 张焱茹, 等. 蒙古马 *MSTN* 基因第三外显子的克隆及其 SSCP 研究 [J]. 华北农学报, 2005, 20(3): 14- 16.