

# 长丝裂腹鱼 *MyoD1* 基因的克隆及序列分析

晁珊珊, 张倡琿, 海蕾, 宫佳琦, 林亚秋\* (西南民族大学生命科学与技术学院, 四川成都 610041)

**摘要** [目的] 克隆长丝裂腹鱼的 *MyoD1* 基因, 并对其进行序列分析。[方法] 根据鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 的 *MyoD1* 基因序列设计引物, 采用 RT-PCR 方法对长丝裂腹鱼 *MyoD1* 的全长 cDNA 序列进行扩增, 并对该基因编码氨基酸的理化性质及同源性进行预测和分析。[结果] 试验获得了包括完整 ORF 的长丝裂腹鱼 *MyoD1* 基因, 该序列长 957 bp, 编码 274 个氨基酸, 具有 MRFs 家族基因的典型碱性 bHLH 结构; 该 *MyoD1* 序列与齐口裂腹鱼、鲤鱼、斑马鱼和虹鳟等的 *MyoD1* 序列同源性较高, 与人、猪、牛等哺乳动物的同源性较低。[结论] 该研究为长丝裂腹鱼的肌肉发育和肉质特性形成的分子机制研究提供了基础数据, 同时为青藏高原冷水鱼资源的利用与保护提供了指导意义。

**关键词** 长丝裂腹鱼; *MyoD1*; 克隆; 序列分析

**中图分类号** S188 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)11-04750-03

## Clone and Sequence Analysis of *MyoD1* gene in *Schizothorax dolichonema*

CHAO Shan-shan et al (College of Life Science and Technology, Southwest University for Nationalities, Chengdu, Sichuan 610041)

**Abstract** [Objective] The paper was to clone and analyze the sequence of *MyoD1* gene in *Schizothorax dolichonema*. [Method] Primers were designed according to the *MyoD1* gene sequence of *Cyprinus carpio*, and the full-length cDNA sequence of *MyoD1* in *S. dolichonema* was amplified by RT-PCR method. The homology, physical and chemical properties of the encoded amino acid were analyzed and predicted. [Result] The *MyoD1* gene of *S. dolichonema* including a complete ORF was cloned, and the sequence was 957 bp with typical alkaline bHLH structure of MRFs family genes, encoding 274 amino acids. The homology of *MyoD1* sequence in *S. dolichonema* was higher compared with *Schizothorax prenanti*, *Cyprinus carpio*, *Danio rerio* and *Oncorhynchus mykiss*, but it was lower in some mammals and poultry. [Conclusion] The study provided basic data for the studies of muscle growth and molecular mechanism of meat quality characteristics' formation, also provided guidance for the utilization and protection of cold water fish resources Qinghai-Tibetan plateau.

**Key words** *Schizothorax dolichonema*; *MyoD1*; Clone; Sequence analysis

动物的产肉性能与肌纤维的数量和生长有着密切的关系。肌纤维是构成肌肉组织的基本组成单位, 是养殖动物的重要经济性状之一, 它的特性与动物胴体肉质性状密切相关。在动物生长发育过程中, 许多因素影响肌纤维的形成与成熟过程, 其中一些正向调控因子和负向调控因子在成肌细胞分化为肌纤维的过程中发挥着重要的作用。生肌调节因子家族(myogenic regulator factors, MRFs) 是关键的正向调控因子, 控制着很多关键基因的表达<sup>[1-3]</sup>。该家族由 *MyoD1*、*MyoG*、*Myf5* 和 *MRF4* 4 个成员组成, 它们都具有一个保守的结构域, 即碱性螺旋-环-螺旋结构(basic helix-loop-helix, bHLH)<sup>[4]</sup>。这 4 个成员在动物肌肉发育过程中所发挥的作用不同, 可能是因为它们时空表达模式不同所致<sup>[5]</sup>。相对于 *MyoG*、*Myf5* 和 *MRF4* 这 3 个生肌调节因子, *MyoD1* 基因是脊椎动物胚胎期肌肉发育的主要调控基因, 可促进成肌细胞的增殖及分化为肌纤维, 且也可使非肌肉细胞转化为肌肉细胞<sup>[6]</sup>。有证据表明, *MyoD1* 基因缺失则可导致成肌细胞的增殖和分化无法进行<sup>[7-8]</sup>。MRFs 4 个成员之中, *MyoD1* 与 *Myf5* 同源性最高, 且两者在肌肉发育的整个过程中存在相似功能, 在肌卫星细胞分化为具有成肌特性的肌肉干细胞中可相互替代发挥作用<sup>[9-11]</sup>。综上所述, *MyoD1* 基因在动物肌肉发育过程中具有重要的调控作用, 因此引起了学者的广泛关注, 但目前研究多集中于该基因与哺乳动物如猪、牛、山羊和

猪等的肉质性状关联分析方面<sup>[12-17]</sup>, 在鱼类方面的报道较少, 且尚未见在长丝裂腹鱼中的报道。

长丝裂腹鱼主要分布在我国金沙江和雅砻江, 是我国青藏高原特有的冷水性鱼类, 属鲤形目鲤科裂腹鱼亚科裂腹鱼属。其肉质细嫩、味道鲜美, 营养丰富, 是当地产区的主要经济鱼类, 在我国的冷水养殖中具有很大的发展潜力, 拥有广阔的市场养殖前景。因此研究生肌调节因子家族成员在长丝裂腹鱼肌肉发育过程中的作用具有重要的理论和实际应用价值。笔者利用 RT-PCR 技术克隆长丝裂腹鱼 *MyoD1* 基因序列, 并利用生物信息学对其进行序列分析, 旨在为长丝裂腹鱼的肌肉发育和肉质特性形成的分子机制研究提供基础数据, 同时为青藏高原冷水鱼资源的利用与保护提供指导意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品的采集。** 试验所用长丝裂腹鱼来自四川省甘孜州九龙县伍须海。用重物击打鱼头部致死, 然后迅速取肌肉组织置于 -80 °C 冰箱备用。

**1.1.2 主要仪器和试剂。** 主要仪器包括超净工作台(HEAL FORCE), 超低温冰箱(HERMLE), 超纯水仪(PURE LAB PLUS), 电子分析天平(PB203), Versa Doc 2000 凝胶成像系统(Bio-Rad), PCR 仪(EPPENDORF), 高速冷冻离心机(日本日立), 微量取样器(EPPENDORF), 普通离心机(EPPENDORF), 紫外可见分光光度计(VARIAN)。Trizol 总 RNA 提取试剂盒购自 Invitrogen 公司; Fermentas 反转录试剂盒、DL2000 DNA、Taq DNA 聚合酶、DH-5 $\alpha$  感受态细胞购自天根生化科技有限公司; DEPC 原液(Sigma 产品); pMD-19T 载

**基金项目** 四川省高等教育质量工程建设项目“生物资源实验教学示范中心——大学生创新性实验项目”。

**作者简介** 晁珊珊(1991-), 女, 河南安阳人, 本科生, 专业: 生物技术, E-mail: chaoshan05@163.com。\* 通讯作者, 副教授, 从事生物技术方面的研究, E-mail: linyaqiu001@yahoo.com.cn。

**收稿日期** 2013-03-22

体、琼脂糖 DNA 回收试剂盒购自博大泰克生物技术有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 长丝裂腹鱼 *MyoD1* 基因克隆。从超低温冰箱中取出长丝裂腹鱼的肌肉样品,按照 Trizol 试剂盒说明书提取总 RNA,用紫外分光光度计测定所提总 RNA 的浓度,用琼脂糖凝胶电泳检测所提总 RNA 的完整性。然后取提出的 2 μg 总 RNA 按照反转录试剂盒说明书,以 Oligo (dT) 为引物合成 cDNA 第 1 链。利用 Primer Premier5.0 软件,根据 GenBank 登陆的鲤鱼 *MyoD1* (AB012882) 基因序列设计引物,包括完整的开放阅读框 (Open Reading Frame, ORF), PF: 5'-ACACATAAAGATGGAGTTGTCG-3', PR: 5'-CAGCAGTGGATCGGAATAGT-3', 预扩产物长度为 957 bp。

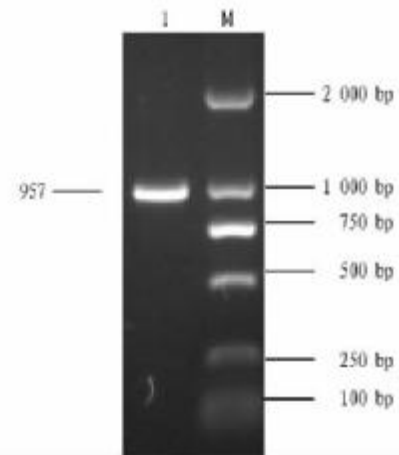
PCR 反应体系:dNTP Mix 2 μl (2.5 mmol/L)、PCR buffer (NH)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2.5 μl、MgCl<sub>2</sub> 1.5 μl (25 mmol/L)、cDNA 1.5 μl、引物 I 0.5 μl (25 μmol/L)、引物 II 0.5 μl (25 μmol/L)、*Taq* DNA 聚合酶 0.125 μl (0.5 U/μl), 最后加 ddH<sub>2</sub>O 补至 25 μl。PCR 反应条件:94 °C 3 min;94 °C 30 s,54.5 °C 45 s,72 °C 45 s,38 个循环;72 °C 延伸 10 min。按照琼脂糖 DNA 回收试剂盒说明书回收所获得的目的片段,回收产物连接至 pMD-19T 载体上,连接产物转化后筛选阳性克隆,菌液 PCR 鉴定正确后,送测序公司测序。

1.2.2 长丝裂腹鱼 *MyoD1* 基因氨基酸序列分析。利用 NCBI 数据库中的 ORF finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) 分析所获得长丝裂腹鱼 *MyoD1* 基因的开放阅读框位置;利用 [www.expasy.org](http://www.expasy.org) 在线软件预测长丝裂腹鱼 *MyoD1* 氨基酸的等电点和分子量,利用 SignalP4.0 软件

(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 在线分析其是否具有信号肽序列,采用 DNAMAN Version 5.2.10 软件对长丝裂腹鱼与 GenBank 登陆的其他物种 *MyoD1* 氨基酸序列进行比对分析,并绘制系统进化树。

2 结果与分析

2.1 长丝裂腹鱼 *MyoD1* 基因 cDNA 的克隆 提取的长丝裂腹鱼肌肉组织总 RNA,经检测符合试验要求。根据鲤鱼的 *MyoD1* 基因序列设计引物,利用 RT-PCR 方法扩增长丝裂腹鱼的 *MyoD1* cDNA 序列,结果见图 1,在 1 000 bp 附近有一条特异条带 (图 1),测序得出该核苷酸序列的长度为 957 bp,其 cDNA 编码 274 个氨基酸 (图 2)。将获得的长丝裂腹鱼 *MyoD1* 核苷酸序列登陆到 GenBank,获得登陆号为 KC184122。



注:M. DL 2000 Marker;I. PCR 扩增产物。

图 1 长丝裂腹鱼肌肉组织 *MyoD1* 基因的 RT-PCR 结果

```

1  ACACATAAAGATGGAGTTGTCG GATATTCCCTTCCCCATCCCGTCGGCTGATGATTCTAC
1  [M E L S D I P F P I P S A D D F Y]
62  GACGACCCTTGCTTCAACACAAATGACATGCACTTCTTTGAAGACCTGGACCCAGGCTC
18  [D D P C F N T N D M H F F E D L D P R I]
122 GTCCACGTGAGCCTGCTCAAGCCCGACGAGCATCACCTCGAGGACGAGCATGTGAGGGCG
38  [V H V S L L K P D E H H L E D E H V R A]
182 CCCAGCGGGCATCATCAGGCTGGCAGGTGCTGCTGTGGGCATGCAAAGCCTGCAAGAGA
58  [P S G H H Q A G R C L L W A C K A C K R]
242 AAAACCAACAACGCTGACCGCCGCAAAGCCGCCACCATGAGGGAGAGGAGAAGACTGAGC
78  [K T T N A D] R R K A A T M R E R R R L S
      Basic domain
302 AAAGTCAACGACGCTTTCGAGACCCTCAAGAGATGCACATCCACCAACCCCAACCAGAGG
98  [K V N D A F E T L K R C T S T N P N Q R]
362 CTGCCCAAAGTGGAGATTCTGAGAAACGCCATTAGTTACATCGAGTCTCTGCAGGGCGCTG
118 [L P K V E I L R N A I S Y I E S L Q A L]
422 CTTAGGGGTCAAGAGGAAAACACTACTATCCCGTTCTGGAGCATTACAGTGGAGACTCCGAT
138 [L R G Q] E E N Y Y P V L E H Y S G D S D
    
```

**HLH domain**

```

482  GCCTCCAGCCCGAGATCCAACCTGCTCTGATGGCATGATGGATTTTCATGGGTCCTACATGT
158  A S S P R S N C S D G M M D F M G P T C
542  CAGTCGAGAAGACGGAACAGTTATGACAGCTCTTACTATAACGACACGCCAAATGCTGAC
178  Q S R R R N S Y D S S Y Y N D T P N A D
602  GCACGGAATACTAAAAGCTCAGTGGTGTGCGAGTTTGGATTGTCTGTCCAGCATCGTGGAG
198  A R N T K S S V V S S L D C L S S I V E
662  CGAATCTCCACAGAGACCCCGCGTGCCTGCTGCTCAGTACCGGAGGGCCACGAAGGG
218  R I S T E T P A C P V L S V P E G H E G
722  AGCCCGTGTCTCCGCGAGGAGGGGTCTGCTCTGAGTGAGACCGGGGCCCGCACCGTCC
238  S P C S P Q E G S V L S E T G A P A P S
782  CCGACCAACTGCCCTCAACAGCAGGCTCAGGATCCCATCTATCAAGTGCTTTAAAGATTC
258  P T N C P Q Q Q A Q D P I Y Q V L *
842  GCAACACTGCAAAAACAAATTGAAAAGGACAAATCTGAATGGAGAAACATTTCAGCAGAAAA
902  AAACCCGGCAAATCCGATCTTAACGACAAAAGAAAGACTATTCCGATCCACTGCTG
    
```

注: 表示克隆所用引物; \*表示终止密码子; 中 1~83 为碱性氨基酸结构域(Basic domain), 98~141 为螺旋-环-螺旋结构域(HLH domain)。

图 2 长丝裂腹鱼 *MyoD1* 基因核苷酸序列及推测所对应的氨基酸序列

**2.2 长丝裂腹鱼 *MyoD1* 氨基酸序列分析** 长丝裂腹鱼 *MyoD1* 基因编码的氨基酸序列分子量和等电点分别为 30.65 kD 和 5.38, 且含有典型的碱性螺旋环结构域, SignalP 4.0 软件在线分析发现该蛋白无信号肽序列。长丝裂腹鱼 *MyoD1* 氨基酸序列与 GenBank 上登录的其他动物的同源性为 64%~100% (表 1), 由表 1 可见长丝裂腹鱼 *MyoD1* 氨基酸同源性与齐口裂腹鱼氨基酸同源性最高, 达 100%, 与鲤鱼、草鱼和斑马鱼的同源性次之(94%~98%), 与蓝鲶鱼、大西洋鲑和虹鳟的同源性为 80%~83%, 与哺乳动物如人、大鼠、小鼠、猪、牛、绵羊的同源性较低, 为 64%~66%, 说明该基因在鱼类中比较保守, 系统进化树的结果(图 3)也证明了这一点。

表 1 长丝裂腹鱼 *MyoD1* 氨基酸序列与其他已知物种的氨基酸序列对比结果

种类	GenBank 注册号	氨基酸相似性//%
齐口裂腹鱼 <i>Schizothorax prenanti</i>	JQ793894	100
鲤鱼 <i>Cyprinus carpio</i>	BAA33565	98
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idella</i>	AFL56774	97
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	NP_571337	94
蓝鲶鱼 <i>Ictalurus furcatus</i>	AAS67038	80
大西洋鲑 <i>Salmo salar</i>	NP_001117073	82
虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	ACP19735	83
人 <i>Homo sapiens</i>	NP_002469	64
大鼠 <i>Rattus norvegicus</i>	AAI27481	65
小鼠 <i>Mus musculus</i>	EDL22927	65
猪 <i>Sus scrofa</i>	NP_001002824	64
牛 <i>Bos taurus</i>	BAC76802	66
绵羊 <i>Ovis aries</i>	NP_001009390	66

**3 讨论**

肌肉发育是一个复杂的过程, 其中生肌调节因子家族调控着整个肌肉的发育进程, 直接影响着动物的产肉能力与肌

肉品质。Davis 等<sup>[18]</sup>于 1987 年首次克隆出人的 *MyoD1* 基因, 从而引起学者的广泛关注, 随后一直持续对其他动物 *MyoD1* 基因功能进行研究。该试验首次克隆得到了长丝裂腹鱼 *MyoD1* 基因序列并获得了登录号, 基因包括完整的 ORF, 推测氨基酸序列的分子量和等电点分别为 30.65 kD 和 5.38。利用软件将长丝裂腹鱼和 GenBank 上登录的其他物种 *MyoD1* 氨基酸序列进行同源比对, 结果发现其与同一鲤科同一属的齐口裂腹鱼氨基酸序列完全相同, 同源性为 100%, 与鲤鱼、草鱼和斑马鱼的同源性为 94%~98%, 与蓝鲶鱼、大西洋鲑和虹鳟的同源性为 80%~83%, 与哺乳动物如人、大鼠、小鼠、猪、牛、绵羊的同源性较低, 为 64%~66%, 说明 *MyoD1* 基因在鱼类具有高度的保守性。系统进化树分析结果指出, 长丝裂腹鱼与同一鲤科的齐口裂腹鱼、鲤鱼、草鱼和斑马鱼在同一分支, 亲缘关系最近。另外, 氨基酸序列分析发现, 该基因具有 MRFs 家族典型的 bHLH 结构, 该基因所编码的氨基酸肽链无信号肽序列, 这与该基因 bHLH 结构域始于第一个氨基酸的结构特点相一致。

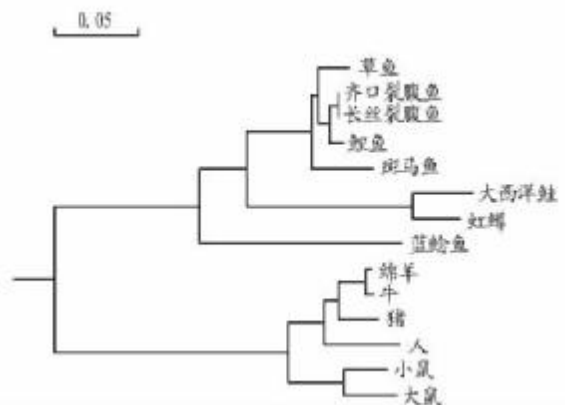


图 3 长丝裂腹鱼 *MyoD1* 推测的氨基酸序列与其他物种的聚类分析

(下转第 4779 页)

了其生理活性及其作用的物质基础,为白首乌药用价值的开发利用奠定了一定的基础。今后,需要进一步加大中药材质量控制、药效的物质基础、药理作用和作用机制以及方剂配伍规律等基础性研究工作的力度。以中医药理论为指导,充分利用现代医学科学发展成果,吸取现代物理学、化学、信息科学的优势,尽快突破白首乌的药效物质基础、质量控制方法等制约中药产业发展的瓶颈,使白首乌药材的有效成分明确、药理药效及毒理作用清楚、质量控制科学、临床运用定位明确,以更好地推动白首乌药用价值的开发利用。

第四,进一步强化应用研究。在植物提取物行业飞速发展的今天,滨海县应利用白首乌的区域资源优势,采用现代提取物制备技术,通过白首乌提取物生产单味药或组合全新的中药复方药物,使其更好地造福于人类。在加强本地中药材技术队伍建设,充分调动其研发积极性的基础上,注重政、产、学、研的密切合作,加强同知名中药企业及大专院校、科研院所的合作,构建中药产业研发和创新平台。强化白首乌的应用性研究,既要研究单一的有效成分及其效价,更要研究药物配伍的作用机理;既要研究药物一般的有效性,也要分析研究临床应用的个体差异性;重视毒副作用的研究,重视规模加工生产对药物有效性的影响,更要重视传统炮制方法增强药效和去除毒副的作用。加快科技项目推广,加快科技成果转化,以企业为依托,不断延伸产业链,推动白首乌药材产业的提档升级。

第五,全力培育龙头企业。一个好的企业能够带动一个产业的发展。由于滨海县现有中药材生产加工企业实力较弱,建议该县充分发挥白首乌产业的资源优势,尽快出台优惠的产业政策和投融资政策,以现有医药骨干企业和中药材

产业化龙头企业为基础,大力开展招商引资,吸引国内外知名药企前来设立分厂,加快符合 GMP 标准要求的白首乌药材原药、饮片、提取物、中成药等系列产品加工体系建设,延伸产业链条,提高产品科技含量及附加值。鼓励企业申报原产地标识产品,争创名牌产品,并加大对名牌产品的宣传推介力度,逐步扩大名牌产品的数量、知名度和市场占有率,不断提升滨海白首乌药材的市场开发价值。

#### 参考文献

- [1] 印敏,陈雨,王鸣,等. 白首乌的化学成分研究[J]. 中药材,2007,30(10):1245-1247.
- [2] 毕芳,陶文沂,陆震鸣. 白首乌提取物对小鼠肝癌细胞 H<sub>22</sub> 的抑制作用[J]. 中成药,2007,29(11):1586-1590.
- [3] 杨小红,袁江,周远明,等. 白首乌粗多糖对酒精性肝损伤的保护作用研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(11):2704-2705.
- [4] 杨小红,周远明,张瑜. 白首乌多糖降血脂作用研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(6):1381-1382.
- [5] 杨华,张燕堂,尹波,等. 白首乌的研究概况[J]. 中国实用医药,2007,2(25):87.
- [6] 王冬艳,张洪泉,李心. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体苷诱导肝癌细胞凋亡的作用及其机制[J]. 药学报,2007,42(4):366-370.
- [7] 李膺,王一奇,杨波,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷体外抑制大鼠胶质瘤细胞生长的作用研究[J]. 中国肿瘤,2011,20(3):235-238.
- [8] 李娜,仇凤梅,郑燕一,等. 白首乌苷体外抗肿瘤作用研究[J]. 医药导报,2010,29(5):582-584.
- [9] 吕伟红,张爱香,徐姗,等. 江苏地产白首乌总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [10] 王冬艳,李心,张洪泉. 江苏地产白首乌 C<sub>21</sub> 甾体苷对荷瘤小鼠的免疫保护作用[J]. 中国临床药理学与治疗学,2007,12(2):168-172.
- [11] FAN H Q. Induction of Leaf Callus and Detection of Stilbene Glucoside Content in RADIX POLYGONI MULTIFLORI[J]. Medicinal Plant,2011,2(11):45-47.
- [12] 王家福,周春萍,等. 滨海县白首乌产业现状及标准化栽培技术[J]. 农技服务,2009(11):109-110.
- [13] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [14] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [15] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [16] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [17] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [18] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [19] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [20] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [21] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [22] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [23] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [24] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [25] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [26] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [27] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [28] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [29] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [30] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [31] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [32] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [33] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [34] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [35] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [36] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [37] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [38] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [39] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [40] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [41] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [42] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [43] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [44] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [45] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [46] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [47] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [48] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [49] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [50] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [51] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [52] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [53] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [54] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [55] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [56] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [57] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [58] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [59] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [60] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [61] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [62] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [63] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [64] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [65] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [66] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [67] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [68] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [69] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [70] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [71] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [72] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [73] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [74] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [75] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [76] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [77] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [78] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [79] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [80] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [81] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [82] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [83] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [84] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [85] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [86] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [87] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [88] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [89] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [90] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [91] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [92] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [93] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [94] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [95] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [96] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [97] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [98] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [99] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.
- [100] 李心,张洪泉,王冬艳,等. 白首乌 C<sub>21</sub> 甾体总苷对大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(19):2508-2511.

(上接第 4752 页)

#### 参考文献

- [1] NAIDU P S, LUDOLPH D C, To R Q, et al. Myogenin and MEF2 function synergistically to activate the MRF4 promoter during myogenesis[J]. Molecular and Cellular Biology, 1995, 15(5):2707-2718.
- [2] FRANCETIC T, LI Q. Skeletal myogenesis and Myf5 activation[J]. Transcription, 2011, 2(3):109-114.
- [3] RESCAN P Y. Regulation and functions of myogenic regulatory factors in lower vertebrates[J]. Comp Biochem Physiol B, 2001, 130(1):1-12.
- [4] BUCKINGHAM M. Making muscle in animals[J]. Trends Genet, 1992, 8:144-149.
- [5] CARVAJAL J J, RIGBY P W. Regulation of gene expression in vertebrate skeletal muscle[J]. Exp Cell Res, 2010, 316(18):3014-3018.
- [6] WYZYKOWSKI J C, WINATA T I, MITIN N, et al. Identification of novel MyoD gene targets in proliferating myogenic stem cells[J]. Mol Cell Biol, 2002, 22(17):6199-6208.
- [7] BERKES C A, TAPSCOTT S J. MyoD and the transcriptional control of myogenesis[J]. Seminars in Cell and Developmental Biology, 2005, 16(4/5):585-595.
- [8] ALMEIDA F L, CARVALHO R F, PINHAL D, et al. Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases[J]. Micron, 2008, 39(8):1306-1311.
- [9] FRANCETIC T, LI Q. Skeletal myogenesis and Myf5 activation[J]. Transcription, 2011, 2(3):109-114.
- [10] DIMICOLI-SALAZAR S, BULLE F, YACIA A, et al. Efficient in vitro myogenic reprogramming of human primary mesenchymal stem cells and endothelial cells by Myf5[J]. Biol Cell, 2011, 103(11):531.
- [11] LONDHE P, DAVIE J K. Sequential association of myogenic regulatory factors and E proteins at muscle-specific genes[J]. Skelet Muscle, 2011, 1(1):14.
- [12] UJAN J A, ZAN L S, WANG H B, et al. Lack of an association between a single nucleotide polymorphism in the bovine myogenic determination 1 (MyoD1) gene and meat quality traits in indigenous Chinese cattle breeds[J]. Genet Mol Res, 2011, 10:2213-2222.
- [13] MOLIK K R, ECKERT R, PIÓRKOWSKA K. The expression pattern of myogenic regulatory factors MyoD, Myf6 and Pax7 in postnatal porcine skeletal muscles[J]. Gene Expression Patterns, 2011, 11:79-83.
- [14] LEE E A, KIM J M, LIM K S, et al. Effects of variation in porcine MyoD1 gene on muscle fiber characteristics, lean meat production, and meat quality traits[J]. Meat Sci, 2012, 92:36-43.
- [15] YAMANOUCHI K, HOSOYAMA T, MURAKAMI Y, et al. Satellite cell differentiation in goat skeletal muscle single fiber culture[J]. J Reprod Dev, 2009, 55:252-255.
- [16] SATO K, AOKI M, KONDO R, et al. Administration of insulin to newly hatched chicks improves growth performance via impairment of MyoD gene expression and enhancement of cell proliferation in chicken myoblasts[J]. Gen Comp Endocrinol, 2012, 175:457-463.
- [17] ZHU W J, ZHANG Y G, YM S U, et al. Genetic Analysis of Genomic DNA in Shanxi Lean Meat Pigs (SD-III Line) [J]. Agricultural Science & Technology, 2012, 13(7):1579-1582.
- [18] DAVIS R L, WEINTRAUB H, LASSAR A B. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts[J]. Cell, 1987, 51(6):987-1000.