

by the presence of the specific carbohydrates as a glass-forming carrier and chaperonins/dehydrins as a protector. There are indications that the natural vitrification of bioactive substances in seed of plant lead

the seeds into the dormant phase.

**Key words** vitrification, protein, seed, diagnostic reagent, stability

# 肌肉抑制素基因及在食用肉类生产中的应用前景

梁旭方

(暨南大学生物工程学系, 广州 510632)

**摘要** 肌肉抑制素 (Mstn) 基因是 TGF- $\beta$  超家族的一种新基因, 仅在骨骼肌特异表达并作为肌肉生长的负调控因子。由于该基因为单一开关基因, 其缺失即导致肌肉量增加, 同时 Mstn 基因天然敲除的肌肉加倍良种牛的存在, 说明这种基因操作不会扰乱其他生长调控系统并带来不正常病理变化, 因而 Mstn 基因是提高肉用动物肌肉产量的理想靶基因。

**关键词** 肌肉抑制素 (Mstn) 基因, 基因敲除, 动物基因工程

**学科分类号** Q78

## 1 肌肉抑制素 (Mstn) 基因

1997 年 McPherron 等<sup>[1]</sup>通过简并引物 PCR 方法, 首次鉴定小鼠转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 超家族的一种新基因生长/转化因子-8 (GDF-8), 它仅在骨骼肌特异表达。完整的 GDF-8 cDNA 克隆, 包含一个长开放阅读框, 编码长 376 个氨基酸残基的蛋白质。预测的 GDF-8 氨基酸序列具有 TGF- $\beta$  超家族成员的所有标志特征, 包括分泌用信号序列、蛋白酶解加工位点及含有半胱氨酸残基保守结构的 C 端区域。GDF-8 cDNA 在 CHO 细胞表达研究表明, 它被分泌到胞外并被酶解加工, 其 C 端通过形成二硫键组成二聚体。GDF-8 在不同物种间高度保守。基因组 DNA 印迹分析表明, 被检测的所有哺乳动物及禽类均发现有 GDF-8 的同源序列。

为了确定 GDF-8 的生物学功能, McPherron 等<sup>[1]</sup>通过基因打靶定点突变小鼠 ES 细胞的 GDF-8 基因, 使其表达的蛋白质因缺失 C 端区域而失活。将这些转化的 ES 细胞重新植回小鼠胚胎, 获得来自 5 个独立 ES 细胞克隆的 GDF-8 突变嵌合体小鼠。这些嵌合体小鼠与 C57BL/6 小鼠交配的子一代为杂合体, 杂合体自交的子二代纯合体为 19%。GDF-8 突变的纯合体小鼠不仅可成活和生育, 并且其个体较同窝杂合体及野生型小鼠大 30% 左右。

进一步研究表明, 突变纯合体体重的增加是由于肌肉细胞的增生及部分肥大, 其肌肉的重量较野生型大 2~3 倍。GDF-8 突变后, 不同骨骼肌的重量增加幅度与其原有 GDF-8 表达水平基本一致。GDF-8 的生物学特性在某些方面类似于抗肥胖蛋白 (leptin), 其生理作用的分子机制尚待进一步阐明。由于 GDF-8 失活小鼠的表型及其表达的组织特异性, McPherron 等称 GDF-8 为肌肉抑制素 (myostatin, Mstn)。

## 2 肌肉加倍良种牛

肌肉加倍表型 (double-muscled phenotype) 在几种牛品系中均有发现, 并已引起牛生产者的足够重视。“比利时蓝”是最著名的肌肉加倍良种牛, 由于肌肉增生, 其骨骼肌重量较一般品种大 20% 左右。1997 年 Grobet 等<sup>[2]</sup>依据小鼠 Mstn 基因 DNA 序列设计两对引物, 扩增牛 Mstn 基因的整个编码区及 76 bp 的 5' 非编码区和 83 bp 的 3' 非编码区。野生型牛 Mstn 基因 DNA 序列与小鼠在 1 128 bp 的编码区有 89.1% 的同源性, 预测的蛋白质序列与小鼠 Mstn 在 375 氨基酸残基中有 92.5% 的同源性。作为 TGF- $\beta$  超家族成员, 牛 Mstn 也具有蛋白酶解加工位点、C 端结构域及其 9 个半胱氨酸残基。“比利时蓝”良种牛 Mstn 基因 DNA 序列

与野生型牛基本相同, 仅在 821~ 831 位核苷酸缺失 11 bp. 这个移框缺失突变发生于 C 端结构域第 1 个半胱氨酸残基之后, 极大地改变了下游氨基酸序列并在第 14 个密码子位置上出现 1 个成熟前终止子. 这种突变实际上消除了 Mstn 分子的活性部位, 从而导致肌肉加倍隐性表型的发生.

### 3 Mstn 基因敲除用于定向育种

Mstn 基因是特异性抑制肌肉加倍表型的单一开关基因, 在家畜、家禽等经济动物中已发现普遍存在. ES 细胞 Mstn 基因敲除“超级鼠”的成功, 为利用基因打靶和动物克隆技术定点突变 Mstn 基因进行经济动物定向育种奠定了基础. Mstn 基因天然敲除的肌肉加倍良种牛的存在, 有力说明这种基因工程操作即使在大型经济动物中也不会带来任何病理问题. 目前, 该领域正成为各国动物基因工程研究新热点<sup>[3]</sup>.

#### 参 考 文 献

1 McPherron A C, Lawler A M, Lee S J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- $\beta$  superfamily member. *Nature*, 1997, **387** (6628): 83~ 90

2 Grobet L, Martin L J R, Poncelet D, *et al.* A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nature Genetics*, 1997, **17** (1): 71~ 74  
 3 Westhusin M. From mighty mice to mighte cows. *Nature Genetics*, 1997, **17** (1): 4~ 5

**Myostatin (Mstn) Gene and Its Potential Utilization in Meat Production.** LIANG Xu-Fang (*Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510632, China*).

**Abstract** Myostatin (Mstn) gene is a new member of the TGF- $\beta$  superfamily, which is expressed specifically in skeletal muscle and functions as a negative regulator of skeletal muscle growth. Myostatin gene may represent an ideal target for manipulating muscle mass because it is a single gene, the absence of which results in increased muscle mass, and a natural knockout is already present in the existing double-muscling cattle population, suggesting that manipulation of this gene should not interfere with other growth systems and result in abnormal pathology.

**Key words** myostatin (Mstn) gene, gene knockout, animal gene engineering

## 《中国生物工程机构和人员名录》编委会启事

中国生物工程学会现开始编辑新版《中国生物工程机构和人员名录》, 已由国内知名生物工程领域专家和中国科学院、国家科技部中国生物工程开发中心、有关部委局科技管理部门有关领导组成《中国生物工程机构和人员名录》编委会, 主编: 许智宏 (中国科学院副院长、中国科学院院士)。

《名录》收录范围:

(1) 本《名录》所指生物工程 (生物技术) 涉及农业、医药、化工、轻工、食品、海洋、能源、环境等领域中基因工程、细胞工程、胚胎工程、抗体工程、蛋白质工程、酶工程、发酵工程、生化工程、基因治疗和免疫治疗等;

(2) 从事以上专业领域的教学、研究、开发、生产、管理、情报信息的机构和有关人员中具有中高级专业技术职务者或具有硕士以上学历或同等学历者。

机构和人员的征集内容:

(1) 机构: 包括机构名称、英文名称、地址、邮编、电话、传真、网页/电子信箱和机构简况等;

(2) 人员: 包括姓名、性别、出生年月、专业技术职称、行政职务、单位、地址、邮编、电话、传真、电子信箱和工作简况等。

《名录》拟定于 1999 年底出版, 国内外发行。

征集文件和表格可向以下地址索取:

北京市中关村科学院南路 8 号中国生物工程学会 (100080), 电话/传真: 010-62562548, 联系人: 张树庸、张宏翔。