

引用格式:

赵园园, 孟金柱, 宋兴超, 安清明, 吴震洋. 黔北黑猪骨骼肌中肌纤维类型转化相关 circRNAs 的筛选[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(2): 71-77.

ZHAO Y Y, MENG J Z, SONG X C, AN Q M, WU Z Y. Screening of circRNAs related to muscle fiber type conversion in skeletal muscle of Qianbei black pigs[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(2): 71-77.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 黔北黑猪骨骼肌中肌纤维类型转化相关 circRNAs 的筛选

赵园园<sup>1</sup>, 孟金柱<sup>1,2\*</sup>, 宋兴超<sup>1</sup>, 安清明<sup>1</sup>, 吴震洋<sup>1</sup>

(1.铜仁学院农林工程与规划学院, 贵州 铜仁 554300; 2.湖南农业大学动物医学院, 湖南 长沙 410128)

**摘要:** 选取 9 头 6 月龄健康黔北黑猪, 随机分成 3 组, 采集背最长肌(LDM)和腰大肌(PMM)肌肉组织, 通过 RNA-seq 构建环状 RNA(circRNAs)的表达谱, 筛选差异表达的 circRNAs, 在黔北黑猪 2 种肌肉中共鉴定出 63 个差异表达 circRNAs, 其中 31 个在 LDM 中表达上调, 32 个表达下调; 对差异表达 circRNAs 的源基因进行 GO、KEGG 富集分析, 结果表明, 差异表达的 circRNAs 的源基因主要富集在磷酸酶活性的调控、肌节组织活动、肌球蛋白-轻链-磷酸酶活性的正调控等条目; 富集的 KEGG 通路中与肌纤维类型转化相关的通路包括肌动蛋白细胞骨架的调控、ECM-受体互作、PI3K-Akt 信号通路。预测差异表达 circRNA 的靶 miRNAs, 并筛选对应的靶 mRNAs, 构建的 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络显示, circ\_0003749-miR-27a-MSTN、circ\_0003749-miR-27a-PPAR $\gamma$ 、circ\_0012316-miR-23a-Myh1/2/4、circ\_0007093-miR-214-3p-MEF2C、circ\_0010118-miR-132-FoxO1 和 circ\_0010118-miR-374a-5p-FoxO1 可能通过 ceRNA 网络调控肌纤维类型的转化。

**关键词:** 黔北黑猪; 骨骼肌; 肌纤维类型转化; circRNA-miRNA-mRNA 网络

中图分类号: S828.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2024)02-0071-07

### Screening of circRNAs related to muscle fiber type conversion in skeletal muscle of Qianbei black pigs

ZHAO Yuanyuan<sup>1</sup>, MENG Jinzhu<sup>1,2\*</sup>, SONG Xingchao<sup>1</sup>, AN Qingming<sup>1</sup>, WU Zhenyang<sup>1</sup>

(1.College of Agricultural and Forestry Engineering and Planning, Tongren University, Tongren, Guizhou 554300, China; 2.College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

**Abstract:** Nine 6-month-old healthy Qianbei black pigs were randomly divided into 3 groups. The longissimus dorsi muscle(LDM) and psoas major muscle(PMM) were collected. The expression profiles of circRNAs were constructed by RNA-seq, and the differentially expressed circRNAs in LDM vs. PMM were screened. A total of 63 differentially expressed circRNAs were identified in the two muscles of Qianbei black pigs, of which 31 were up-regulated and 32 were down-regulated in LDM. GO enrichment and KEGG analysis were performed on the source genes of differentially expressed circRNAs. The results showed that the source genes of differentially expressed circRNAs were mainly concentrated in GO items such as the regulation of phosphatase activity, sarcomere activity, and positive regulation of myosin-light-chain-phosphatase activity. In the enriched KEGG pathway, the pathways involving muscle fiber type conversion include the regulation of actin cytoskeleton, ECM-receptor interaction, PI3K-Akt signaling pathway. Finally, target miRNAs of differentially expressed circRNAs were predicted, and corresponding target mRNAs of miRNAs were

收稿日期: 2023-02-08

修回日期: 2024-01-05

基金项目: 贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教教 KY 字[2020]166); 贵州省科学技术厅高层次创新型人才培养项目(千层次)(2022-2020-044); 贵州省科学技术厅重点实验室项目(黔科合平台人才[2020]2003 号); 铜仁市科技局科技支撑计划项目(铜市科研[2020]128 号)

作者简介: 赵园园(1987—), 女, 河北邢台人, 博士, 教授, 主要从事动物遗传与分子育种研究, 84840293@163.com; \*通信作者, 孟金柱, 博士, 副教授, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, mjz122021@126.com

screened to construct the circRNA-miRNA-mRNA regulatory network. The results showed that circ\_0003749-miR-27a-MSTN, circ\_0003749-miR-27a-PPAR $\gamma$ , circ\_0012316-miR-23a-Myh1/2/4, circ\_0007093-miR-214-3p-MEF2C, circ\_0010118-miR-132-FoxO1 and circ\_0010118-miR-374a-5p-FoxO1 may regulate muscle fiber type conversion through ceRNA network.

**Keywords:** Qianbei black pigs; skeletal muscle; muscle fiber type conversion; circRNA-miRNA-mRNA network

骨骼肌由肌纤维组成。肌纤维可分为慢肌纤维(慢速氧化型, I型)和快肌纤维(快速氧化型、中间型、快速酵解型、即IIA型、IIX型、IIB型)<sup>[1]</sup>。不同类型肌纤维代谢率不同, 因此骨骼肌的肌纤维组成与肌肉颜色、持水能力、大理石花纹、pH值和其他肉质特征密切相关<sup>[2]</sup>。与II型肌纤维相比, I型肌纤维中含有的中性脂质和磷脂质更多, 其含量与肌内脂肪含量(IMF)呈正相关<sup>[3-4]</sup>。更好地了解肌肉纤维形成的机制可以极大地促进改善牲畜的肉质性状的研究。猪背最长肌(LDM)主要由IIB型肌纤维构成, 腰大肌(PMM)则由较多的IIA型肌纤维和IIX型肌纤维及少量的IIB型肌纤维构成<sup>[5]</sup>, 这种差异形成的原因尚不完全清楚。

环状RNA(circRNAs)通过充当microRNA(miRNA)海绵, 形成RNA-蛋白质复合物, 也可能转录成蛋白质<sup>[6]</sup>。如在牛骨骼肌中circLMO7通过充当miR-378a-3p海绵, 调节成肌细胞分化和存活<sup>[7]</sup>。circSVIL通过充当miR-203海绵促进鸡成肌细胞增殖和分化<sup>[8]</sup>。circ-ZNF609以蛋白质的形式在成肌细胞增殖中起作用<sup>[9]</sup>。对不同发育阶段的大白猪和马身猪骨骼肌的研究发现327个差异表达的circRNAs, 其源基因主要集中在TGF- $\beta$ 、MAPK、FoxO和其他与骨骼肌生长和脂肪沉积相关的信号通路中<sup>[10]</sup>。在确山黑猪(QS)和大白猪(LW)背最长肌中发现62个差异表达的circRNAs, 其源基因在快速收缩骨骼肌纤维收缩、骨骼肌松弛、成肌细胞增殖调节<sup>[11]</sup>。猪快收缩肌股二头肌和慢收缩肌比目鱼肌间共鉴定出242个差异表达的circRNAs, 源基因主要涉及肌肉收缩、收缩纤维部分和Z盘以及AMPK和cGMP-PKG信号通路<sup>[12]</sup>。猪背最长肌和比目鱼肌中差异表达circRNAs有181个, 主要参与代谢途径、AMPK、FoxO和PI3K-Akt信号途径<sup>[13]</sup>。目前, 对骨骼肌纤维的研究大多集中在不同类型骨骼肌中circRNAs的表达谱的构建上, 而关于circRNA在哺乳动物骨骼肌纤维类型转化中的作用研究较少。

黔北黑猪主产于贵州省东北部地区, 具有性成

熟早、能储脂、抗性好、耐粗饲的特点, 但生长缓慢, 体型小, 种质资源面临日渐衰退的窘境<sup>[14]</sup>。为保护和利用黔北黑猪的优良资源, 发掘其优良性状已迫在眉睫。关于黔北黑猪研究主要集中在生产性能及遗传多样性方面<sup>[15-16]</sup>。前期研究发现, 在黔北黑猪腰大肌和背最长肌中存在69个差异表达的mRNAs, 主要参与新陈代谢、PPAR信号通路等<sup>[17]</sup>, 但尚未对骨骼肌中的circRNA进行鉴定。笔者运用高通量测序技术, 分别检测黔北黑猪背最长肌和腰大肌中的circRNAs, 筛选差异表达的circRNAs, 并对其源基因的功能进行分析, 构建circRNA-miRNA-mRNA调控网络, 以期为黔北黑猪肌纤维类型转化的分子机理研究提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

动物试验获得了铜仁学院伦理委员会的同意(TRU2021013)。从铜仁梵净桃园农牧发展有限公司选取9头6月龄父本相同的健康黔北黑母猪, 随机分成3组, 每组3头。屠宰后, 分别从猪最后肋和倒数第4肋处采集背最长肌(LDM)和腰大肌(PMM)各0.5g肌肉组织, 同组同种肌肉组织混合后放入同一离心管, 立即冷冻于液氮中, -80℃保存。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 RNA测序及差异circRNAs筛选

按照RNeasy mini kit试剂盒(Qiagen)操作说明, 分别从猪背最长肌和腰大肌样本中提取总RNA, 使用Bioanalyzer 2100系统的RNA Nano 6000 Assay Kit试剂盒(Agilent)检测RNA完整性后, 取3  $\mu$ g RNA用于文库制备。使用NEBNext UltraTM RNA Library Prep Kit试剂盒(NEB)生成测序文库, 在Illumina HiSeq TM 4000平台上测序。

运用HiSAT2软件将每个样本的有效读段(clean reads)与猪参考基因组(Sscrofa11.1)进行比对, 获得转录本并经StringTie软件组装。由于可变

剪接, 基因可以产生不同长度的异构体, 因此通过编码非编码指数(CNCI, v2)、潜在编码计算器(CPC, 0.9-r2)和 PFAM-Scan(V1.3)进一步分析评估外显子数大于 2 且长度大于 200 bp 的转录本中的候选 lncRNAs。使用 find\_circ 软件识别 circRNAs, 并通过未映射的反向拼接接合读取扩展锚定序列。利用 Cuffdiff (v2.2.1)计算 circRNAs 表达水平, 以每千个碱基的转录每百万映射读取的片段(FPKM)作为指标。将 $\log_2(\text{fold change}) \geq 1$ , 校正后  $P < 0.05$  作为筛选 LDM 和 PMM 之间差异表达的 circRNAs 的条件。

1.2.2 荧光定量 PCR (qRT-PCR) 验证

利用 EasyScript® All-in-One First-Strand cDNA

Synthesis SuperMix for qPCR with gDNA removed 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司)将提取的总 RNA 合成 cDNA。Primer 5.0 设计引物(表 1), 以  $\beta$ -actin 为内参基因, 交由华大基因公司合成。采用 TransStart®Tip Green qPCR SuperMix 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司)在 LightCycler 480 平台 (Roche)上进行 qRT-PCR 反应。反应条件为: 94 °C 预变性 2 min, 94 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 20 s, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min。每个反应均进行 3 个生物学重复。circRNAs 的相对表达量用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法表示。

表 1 实时荧光定量引物基因

Table 1 The list of gene primers for qRT-PCR

基因	引物(5'-3')	产物大小/bp
circ_0004912	AGCCTATCCCAGTAAAGCCTG; GGCCTAAGCCCATTCTTTCTC	270
circ_0008682	GGA CTGGATCCACAGCAACA; AGAGCGACCACGTTCTTCAG	253
circ_0013534	GTGCCAGAAGGTCTTGCCAT; GCAAACAGCAAAAACGGTGG	184
circ_0014825	TATTGGCGAACTGCTGTGGG; ATTCCTCCTGGCTGTTGAG	259
circ_0012316	TTCGACACCGTGTCTTCGT; TCTGGGTTGCCACAATCT	433
$\beta$ -Actin	GCTAAGGGGGCGCTCTGTC; GTGTTGGCGTAGAGGTCCTC	117

1.2.3 circRNAs 源基因预测和功能富集分析

运用软件 Goseq 包对差异表达 circRNA 源基因进行 GO 功能注释。使用 cluster Profiler 包对 circRNA 源基因进行 KEGG 功能富集分析。将校正后的  $P < 0.01$  作为 GO 和 KEGG 显著富集的条件。

1.2.4 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络的构建

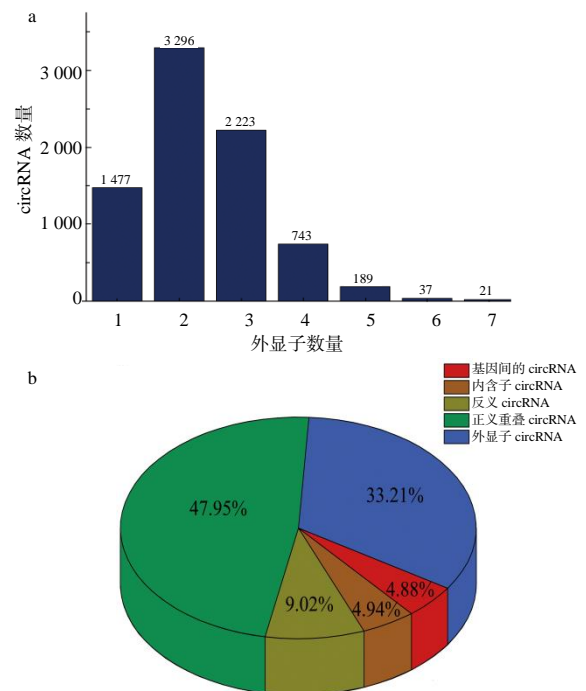
综合 GO 功能注释和 KEGG 功能富集分析结果, 利用 miRanda (v3.3a)软件预测 circRNA 潜在的靶向 miRNA, 在 miRTarBase (<https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/>) 查找 miRNA 的靶 mRNA, 通过 Cytoscape (3.7.1)软件构建 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络, 并将其可视化。

2 结果与分析

2.1 黔北黑猪肌肉 circRNAs 的鉴定及差异表达 circRNAs

对黔北黑猪 LDM 和 PMM 中的 circRNAs 进行鉴定, 共获得 606 465 681 条有效读段, 每个文库中有效读段映射率为 94.12%~95.72%。利用 CNCI、CPC 和 PFAM 进行编码潜能筛选后, 在 9 头母猪的肌肉

组织中共鉴定出 8 859 个 circRNAs, 大多数 circRNAs 的外显子为 1~3 个, 外显子超过 4 个的较少(图 1-a);



a circRNA 的外显子数分布; b circRNA 亚型的分类。

图 1 黔北黑猪肌肉中候选 circRNAs 的外显子数和分类  
Fig.1 Exon numbers and classification of the candidate circRNAs in pig muscles

47.95%为正义重叠 circRNAs (4 248 个),33.21%为外显子 circRNAs (2 942 个), 9.02%为反义 circRNAs (799 个), 4.94%为内含子 circRNAs (438 个), 4.88%为基因间 circRNAs (432 个)(图 1-b)。

LDM和PMM中差异表达的circRNAs有63个,其中有31个在LDM中表达上调,32个表达下调(图2)。显著下调的有 circ\_0004850、circ\_0004605、circ\_0015529、circ\_0007093、circ\_0005802, 显著上调的有 circ\_0002409、circ\_0012142、circ\_0008487、novel\_circ\_0015168、circ\_0012178。

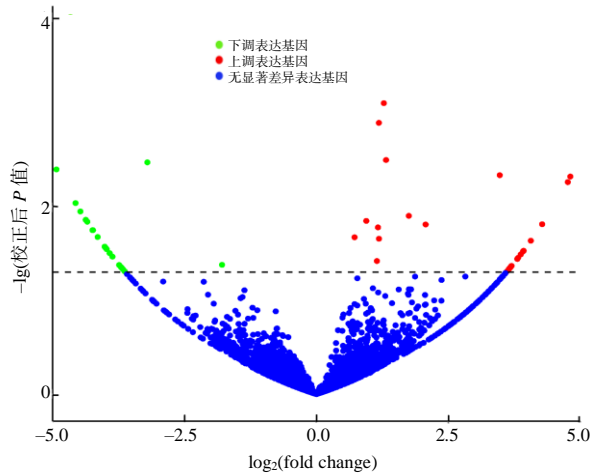


图2 LDM和PMM差异表达circRNAs的表达模式  
Fig.2 Expression patterns of differentially expressed circRNAs between LDM and PMM

### 2.2 差异表达 circRNAs 的验证

随机选取 5 个差异表达的 circRNAs, 采用 qRT-PCR 方法来验证其在 2 种肌肉中的相对表达水平。结果表明, 这些 circRNAs 的表达模式与 RNA-seq 数据(图 3)一致。

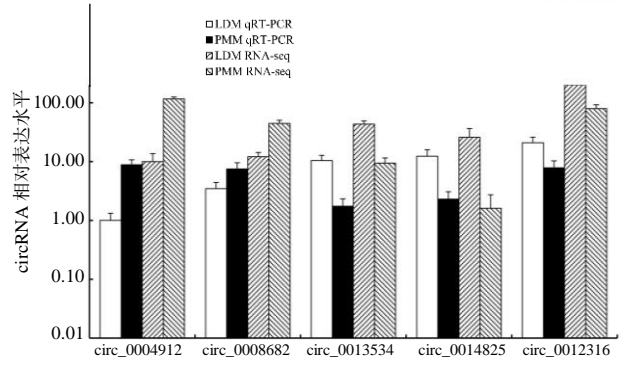


图3 qRT-PCR 验证差异表达 circRNAs 结果  
Fig.3 Results of qRT-PCR for verification of differentially expressed circRNAs

### 2.3 差异表达 circRNAs 功能富集和信号通路分析

GO 功能富集结果(表 2)显示, 63 个差异表达 circRNAs 的源基因显著富集在生物过程(BP)、细胞组分(CC)和分子功能(MF)3 个类别 59 个条目中, 其中与肌纤维类型转化相关的条目主要有磷酸酶活性的调控、肌节组织活动、肌球蛋白-轻链-磷酸酶活性的正调控、线粒体外膜转位酶复合体组装、Z 盘、I 带、收缩纤维、α 肌动蛋白结合等。

表 2 黔北黑猪肌纤维类型转化相关 circRNAs GO 富集分析

Table 2 GO enrichment analysis of circRNAs related to muscle fiber type conversion in Qianbei black pigs

条目类型	描述	P 值	基因数	基因名称	差异表达 circRNAs
生物学过程	磷酸酶活性的调控	6.09×10 <sup>-5</sup>	5	PPP6R3, PPP1R1A, PPP1R12A, ITGA1, PHACTR2	circ_0008487, circ_0010910, circ_0010834, circ_0005203, circ_0007093
	肌节组织	5.2×10 <sup>-3</sup>	2	MYBPC2, MYPN	circ_0012310, circ_0012316, circ_0003749
	肌球蛋白-轻链-磷酸酶活性的正调控	5.2×10 <sup>-3</sup>	1	PPP1R12A	circ_0010834
	线粒体外膜转位酶复合体组装	1.7×10 <sup>-3</sup>	1	ENSSSCG00000010158	circ_0003629
细胞组分	Z 盘	5.8×10 <sup>-6</sup>	5	ATP2B4, MYPN, PPP1R12A, MYBPC2, MYO18B	circ_0010834, circ_0012310, circ_0012316, circ_0003749, circ_0014825, circ_0003524
	I 带	8.8×10 <sup>-6</sup>	5	ATP2B4, MYPN, PPP1R12A, MYBPC2, MYO18B	circ_0010834, circ_0012310, circ_0012316, circ_0003749, circ_0014825, circ_0003524
	肌节	3.6×10 <sup>-5</sup>	5	ATP2B4, MYPN, PPP1R12A, MYBPC2, MYO18B	circ_0010834, circ_0012310, circ_0012316, circ_0003749, circ_0014825, circ_0003524
	收缩纤维部分	5.4×10 <sup>-5</sup>	5	ATP2B4, MYPN, PPP1R12A, MYBPC2, MYO18B	circ_0010834, circ_0012310, circ_0012316, circ_0003749, circ_0014825, circ_0003524
	肌原纤维	5.7×10 <sup>-5</sup>	75	ATP2B4, MYPN, PPP1R12A, MYBPC2, MYO18B	circ_0010834, circ_0012310, circ_0012316, circ_0003749, circ_0014825, circ_0003524
	收缩纤维	7.3×10 <sup>-5</sup>	5	ATP2B4, MYPN, PPP1R12A, MYBPC2, MYO18B	circ_0010834, circ_0012310, circ_0012316, circ_0003749, circ_0014825, circ_0003524
	A 带	2.3×10 <sup>-3</sup>	2	MYBPC2, PPP1R12A	circ_0010834, circ_0012310, circ_0012316
	线粒体外膜转位酶复合物	7.9×10 <sup>-3</sup>	1	ENSSSCG00000010158	circ_0003629
	肌动蛋白细胞骨架	8.7×10 <sup>-3</sup>	1	MYO18B, MYBPC2, AMOT, PKNOX2, PPP1R12A	circ_0010834, circ_0012310, circ_0012316, circ_0003524, circ_0015529, circ_0014783

表 2(续)

条目类型	描述	P 值	基因数	基因名称	差异表达 circRNAs
分子功能	α 肌动蛋白结合	1.9×10 <sup>-4</sup>	3	<i>KCNN2, MYPN, MYBPC2</i>	circ_0012310, circ_0012316, circ_0003749, circ_0008064
	肌动蛋白结合	2.8×10 <sup>-4</sup>	3	<i>MYBPC2, MYPN, KCNN2</i>	circ_0012310, circ_0012316, circ_0003749, circ_0008064
	磷酸酶调控活性	1.8×10 <sup>-4</sup>	3	<i>PHACTR2, PPP1R12A, PPP1R1A</i>	circ_0010910, circ_0010834, circ_0007093
	肌肉 α 肌动蛋白结合	1.4×10 <sup>-3</sup>	2	<i>MYBPC2, MYPN</i>	circ_0012310, circ_0012316, circ_0003749
	线粒体靶向序列结合	2.6×10 <sup>-3</sup>	1	<i>ENSSSCG00000010158</i>	circ_0003629

KEGG 分析结果(表3)表明, 源基因显著富集在 58 条通路, 其中与肌纤维类型转化相关的通路包括黏着斑、肌动蛋白细胞骨架的调控、ECM-受体互

作、PI3K-Akt 信号通路、cGMP-PKG 信号通路、cAMP 信号通路、TGF-β 信号通路、钙信号通路、FoxO 信号通路、MAPK 信号通路等。

表 3 黔北黑猪肌纤维类型转化相关 circRNAs KEGG 信号通路

Table 3 KEGG pathway analysis of circRNAs related to muscle fiber type conversion in Qianbei black pigs

KEGG 信号通路	P 值	基因数	基因名称	差异表达 circRNA
黏着斑	4.13×10 <sup>-3</sup>	4	<i>ITGA1, EGF, PPP1R12A, COL11A1</i>	circ_0005203, circ_0013534, circ_0010834, circ_0010058
肌动蛋白细胞骨架的调节	0.03	3	<i>ITGA1, EGF, PPP1R12A</i>	circ_0005203, circ_0013534, circ_0010834,
ECM-受体互作	0.03	2	<i>ITGA1, COL11A1</i>	circ_0005203, circ_0010058
剪接体	0.07	2	<i>ENSSSCG00000000611, TCERG1</i>	circ_0011173, circ_0008285
河马信号通路	0.07	2	<i>AMOT, BMPR1B</i>	circ_0015529, circ_0013609
PI3K-Akt 信号通路	0.10	3	<i>ITGA1, EGF, COL11A1</i>	circ_0005203, circ_0013534, circ_0010058
cGMP-PKG 信号通路	0.11	2	<i>PPP1R12A, ATP2B4</i>	circ_0010834, circ_0014825
cAMP 信号通路	0.14	2	<i>PPP1R12A, ATP2B4</i>	circ_0010834, circ_0014825
细胞因子-细胞因子受体互作	0.17	2	<i>EGF, BMPR1B</i>	circ_0013534, circ_0013609
RNA 降解	0.21	1	<i>TENT4B</i>	circ_0012142
TGF-β 信号通路	0.22	1	<i>BMPR1B</i>	circ_0013609
ErbB 信号通路	0.25	1	<i>EGF</i>	circ_0013534
缝隙连接	0.26	1	<i>EGF</i>	circ_0013534
FoxO 信号通路	0.36	1	<i>EGF</i>	circ_0013534
钙信号通路	0.45	1	<i>ATP2B4</i>	circ_0014825
Rap1 信号通路	0.50	1	<i>EGF</i>	circ_0013534
Ras 信号通路	0.53	1	<i>EGF</i>	circ_0013534
MAPK 信号通路	0.56	1	<i>EGF</i>	circ_0013534
代谢途径	0.98	1	<i>AGL</i>	circ_0013534

## 2.4 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络

基于互补碱基配对原则, 预测了 63 个显著差异表达的 circRNAs 的潜在靶 miRNAs, 共筛选到 327 个 miRNAs。结合 GO 分析和 KEGG 分析, 筛选出 9 个与肌纤维类型转化相关的 circRNAs, 其潜在靶 miRNAs 共 87 个, 在 miRTarBase 中共筛选到经报告基因检测验证的靶 mRNAs 210 个。构建其中 4 个 circRNA 的 circRNA-miRNA-mRNA 网络, 结果(图 4)表明, circ\_0003749-miR-27a-MSTN、circ\_0003749-miR-27b-3p-PPARγ、circ\_0012316-miR-23a-Myh1/2/4、circ\_0007093-miR-214-3p-MEF2C、circ\_0010118-miR-132-FoxO1 和 circ\_0010118

-miR-374a-5p-FoxO1 可能通过 ceRNA 网络调控肌纤维类型的转化。

## 3 结论和讨论

从黔北黑猪背最长肌和腰大肌中共筛选到 63 个差异表达的 circRNAs, 其源基因富集的 GO 条目主要涉及能量代谢、肌纤维组分和线粒体等, 与肌纤维类型转化相关的 KEGG 通路主要包括黏着斑、肌动蛋白细胞骨架的调控、ECM-受体互作、PI3K-Akt 信号通路等; 通过构建 circRNA-miRNA-mRNA 网络, 筛选出了 6 个可能调控肌纤维类型转化的 ceRNA 网络。

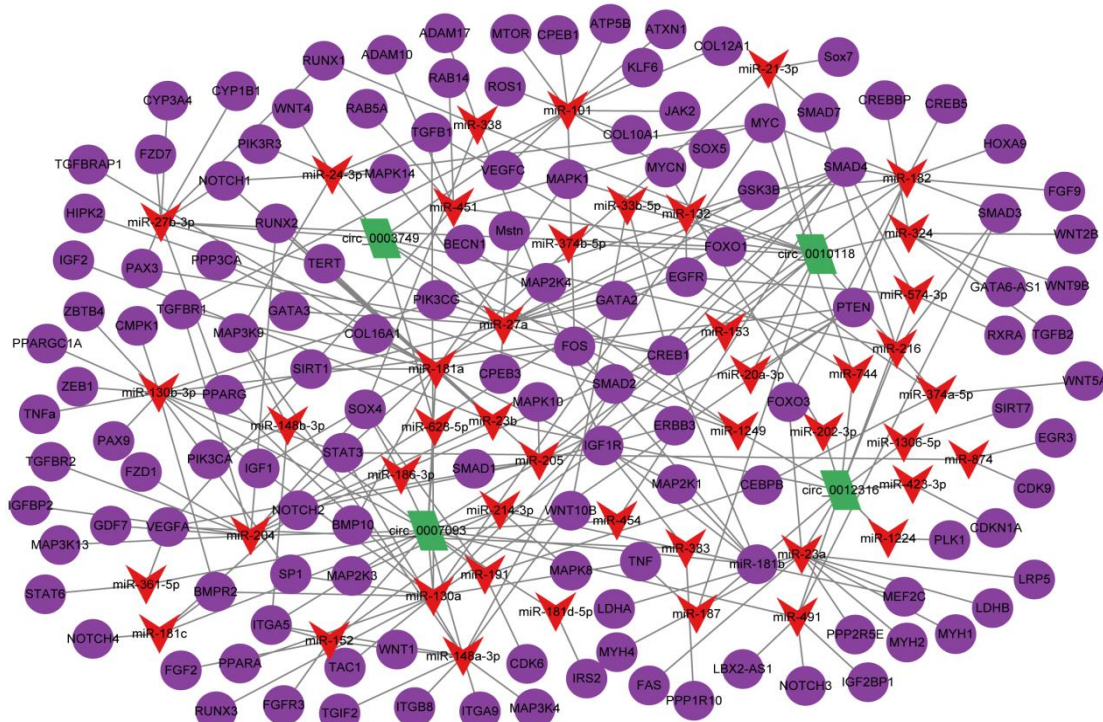


图4 黔北黑猪肌内纤维类型转化相关 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络

Fig. 4 CircRNA-miRNA-mRNA regulatory network related to muscle fiber type conversion in Qianbei black pigs

肌肉发育和再生过程中,可以通过运动和甲状腺激素等控制肌肉纤维类型的肌纤维类型转化,并遵循 I 型 $\leftrightarrow$ IIA 型 $\leftrightarrow$ IIIX 型 $\leftrightarrow$ IIIB 型的规律<sup>[18]</sup>。笔者筛选出 63 个在黔北黑猪背最长肌和腰大肌中差异表达的 circRNAs,这与猪股二头肌和比目鱼肌<sup>[12]</sup>以及猪背最长肌和比目鱼肌<sup>[13]</sup>的研究结果相似。肌纤维类型的转化受到许多信号通路的调节,磷酸酶-1(MPK-1)促进慢肌向快肌转化,而 ERK1/2 则可优先激活快肌纤维<sup>[19]</sup>。过氧化物酶体增殖受体 $\gamma$ 辅激活因子 $\alpha$ (PGC-1 $\alpha$ )通过 MyoG、MSTN、PPAR 信号通路和 FoxO1 信号通路负调控酵解型肌纤维,正调控氧化型肌纤维<sup>[20]</sup>。钙调磷酸酶(CaN)受到细胞外钙离子的刺激,将信号传递给 NFAT,进而调控细胞核内快肌和慢肌相关基因的特异性表达<sup>[21]</sup>。细胞内钙离子浓度、AMP/ATP 增加都能激活 AMPK,并协同钙离子信号通路调控 PGC-1 $\alpha$  和 PGC-1 $\beta$  的表达,进而调控慢肌纤维的形成<sup>[22]</sup>。FoxO 信号通路在肌纤维类型的转化以及成肌细胞的增殖和分化中发挥重要作用。PI3K-AKT 信号通路通过激活肌卫星细胞和增强骨骼肌蛋白的表达来促进骨骼肌再生和修复<sup>[20]</sup>。

构建了 4 个 circRNAs、43 个潜在靶 miRNAs 以及 265 个靶 mRNAs 的 circRNA-miRNA-mRNA 网络,结果显示 circ\_0003749-miR-27a-MSTN、

circ\_0003749-miR-27a-PPAR $\gamma$ 、circ\_0012316-miR-23a-Myh 1/2/4、circ\_0007093-miR-214-3p-MEF2C、circ\_0010118-miR-132-FoxO1 和 circ\_0010118-miR-374a-5p-FoxO1 可能通过 ceRNA 网络调控肌纤维类型转化。在骨骼肌中,miR-27a 与 MSTN 的 3'UTR 结合,MSTN mRNA 在快肌纤维中的表达高于在慢肌纤维中的表达,因此可能在调节不同肌肉之间纤维大小和(或)纤维类型的差异中发挥作用<sup>[23]</sup>。miR-27a 与 PPAR $\gamma$  3'UTR 结合抑制其表达,进而促使肌纤维向 I 型转化<sup>[24]</sup>。miR-23a 直接靶向多个肌球蛋白重链(Myh, Myh 1、2 和 4)基因,通过抑制快速肌球蛋白重链亚型的表达在调节肌源性分化中发挥作用<sup>[25]</sup>。在心肌细胞中的研究表明,MEF2C 是 miR-214-3p 的新靶点,而 MEF2C 作为肌细胞增强因子 2(MEF2)家族成员,除参与成肌细胞和骨骼肌卫星细胞的分化外,还参与到 CaMK 和 CaN 通路中,协同调控肌纤维类型转化<sup>[26]</sup>。FoxO1 作为 miR-132 和 miR-374a-5p 的靶基因已有实验证据<sup>[27-28]</sup>;在小鼠上的研究也表明 FoxO1 对肌纤维类型的转化有影响<sup>[29]</sup>。但是, circRNA 对肌纤维类型转化的作用还需进一步验证。

#### 参考文献:

- [1] KIVELÄ R, SALMELAI, NGUYEN Y H, et al. The

- transcription factor Prox1 is essential for satellite cell differentiation and muscle fibre-type regulation[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 13124.
- [2] HWANG Y H, KIM G D, JEONG J Y, et al. The relationship between muscle fiber characteristics and meat quality traits of highly marbled Hanwoo(Korean native cattle) steers[J]. *Meat Science*, 2010, 86(2): 456–461.
- [3] CHEN M M, ZHANG L L, GUO Y W, et al. A novel lncRNA promotes myogenesis of bovine skeletal muscle satellite cells via PFN1-RhoA/Rac1[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2021, 25(13): 5988–6005.
- [4] ZHANG X J, CHEN M M, LIU X F, et al. A novel lncRNA, lnc403, involved in bovine skeletal muscle myogenesis by mediating KRAS/Myf6[J]. *Gene*, 2020, 751: 144706.
- [5] 苏琳. 巴美肉羊肌纤维特性、糖酵解潜力对羊肉品质的影响和 MyHC 表达量分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.
- [6] SUN W, SUN X, CHU W, et al. CircRNA expression profiles in human visceral preadipocytes and adipocytes[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2020, 21(2): 815–821.
- [7] WEI X F, LI H M, YANG J, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circLMO7 that regulates myoblasts differentiation and survival by sponging miR-378a-3p[J]. *Cell Death & Disease*, 2017, 8(10): e3153.
- [8] OUYANG H J, CHEN X L, LI W M, et al. Circular RNA circSVIL promotes myoblast proliferation and differentiation by sponging miR-203 in chicken[J]. *Frontiers in Genetics*, 2018, 9: 172.
- [9] LEGNINI I, DI TIMOTEO G, ROSSI F, et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis[J]. *Molecular Cell*, 2017, 66(1): 22–37.
- [10] ZHAO J X, LI K, YANG Q Y, et al. Enhanced adipogenesis in Mashen pigs compared with Large White pigs[J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2017, 16(2): 217–225.
- [11] QI K L, LIU Y K, LI C L, et al. Construction of circRNA-related ceRNA networks in longissimus dorsi muscle of Queshan Black and Large White pigs[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2022, 297(1): 101–112.
- [12] LI B J, YIN D, LI P H, et al. Profiling and functional analysis of circular RNAs in porcine fast and slow muscles[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020, 8: 322.
- [13] CAO H G, LIU J M, DU T N, et al. Circular RNA screening identifies circMYLK4 as a regulator of fast/slow myofibers in porcine skeletal muscles[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2022, 297(1): 87–99.
- [14] 孟金柱, 吴震洋, 安清明, 等. 黔北黑猪肌肉脂肪沉积相关基因的筛选[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2021, 47(6): 797–804.
- [15] 刘培琼, 张启林. 黔北黑猪的肥育性能[J]. *中国畜牧杂志*, 1997, 33(1): 24–25.
- [16] 杨红文, 黄智宇, 李晨, 等. 黔北黑猪保种利用与分子遗传研究进展[J]. *中国畜禽种业*, 2021, 17(1): 57–58.
- [17] ZHAO Y Y, CAO G Q, GAO P F, et al. Comparing the mRNA expression profile of psoas major and longissimus dorsi muscles in pig[J]. *Indian Journal of Animal Research*, 2020, 54(12): 1490–1496.
- [18] LI R Y, LI B J, JIANG A W, et al. Exploring the lncRNAs related to skeletal muscle fiber types and meat quality traits in pigs[J]. *Genes*, 2020, 11(8): 883.
- [19] LYSENKO E A, POPOV D V, VEPKHAVADZE T F, et al. Effect of combined aerobic and strength exercise on regulation of mitochondrial biogenesis, protein synthesis and degradation in human skeletal muscle[J]. *Fiziologiya Cheloveka*, 2016, 42(6): 58–69.
- [20] 应飞. 利用转基因猪模型研究 PGC1 $\alpha$  对肌纤维类型转变的影响及其分子机制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- [21] VECHETTI JR I J Jr, AGUIAR A F, DE SOUZA R W A, et al. NFAT isoforms regulate muscle fiber type transition without altering CaN during aerobic training[J]. *International Journal of Sports Medicine*, 2013, 34(10): 861–867.
- [22] 文超越, 段叶辉, 李颖慧, 等. 能量感应网络 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  对骨骼肌纤维类型转化调节[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(1): 57–63.
- [23] ALLEN D L, LOH A S. Posttranscriptional mechanisms involving microRNA-27a and b contribute to fast-specific and glucocorticoid-mediated myostatin expression in skeletal muscle[J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2011, 300(1): C124–C137.
- [24] YU Y, DU H W, WEI S N, et al. Adipocyte-derived exosomal MiR-27a induces insulin resistance in skeletal muscle through repression of PPAR $\gamma$ [J]. *Theranostics*, 2018, 8(8): 2171–2188.
- [25] WANG L, CHEN X, ZHENG Y Y, et al. MiR-23a inhibits myogenic differentiation through down regulation of fast myosin heavy chain isoforms[J]. *Experimental Cell Research*, 2012, 318(18): 2324–2334.
- [26] TANG C M, LIU F Z, ZHU J N, et al. Myocyte-specific enhancer factor 2C: a novel target gene of miR-214-3p in suppressing angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 36146.
- [27] CHEN Y Q, YANG X, XU W, et al. Knockdown of lncRNA TTTY15 alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury through the miR-374a-5p/FOXO1 axis[J]. *IUBMB Life*, 2021, 73(1): 273–285.
- [28] LIAN R, LU B C, JIAO L, et al. MiR-132 plays an oncogenic role in laryngeal squamous cell carcinoma by targeting FOXO1 and activating the PI3K/AKT pathway[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2016, 792: 1–6.
- [29] LI J J, LI Y, SUO X Y, et al. “Biqi” bayberry extract promotes skeletal muscle fiber type remodeling by increasing fast myofiber formation via the AKT/FOXO1 pathway in mice[J]. *Foods*, 2023, 12(13): 2471.

责任编辑: 罗慧敏  
英文编辑: 罗维