

莱芜猪和杜洛克猪肌肉肌球蛋白重链组成对肉质性状的影响

呼红梅*, 王继英, 朱荣生, 郭建凤, 武英

山东省农业科学院畜牧兽医研究所, 济南 250100

* 联系人, E-mail: huhongmeipatty@163.com

收稿日期: 2007-07-11; 接受日期: 2007-10-25

山东省农业良种工程“优质瘦肉猪配套系选育”(批准号: 2006LZ08)和山东省农业科学院青年基金(批准号: 2005YQ041)资助项目

摘要 为探讨莱芜猪肌肉肌球蛋白重链(MyHC)慢速氧化型(I)、快速氧化型(II a)、中间型(II x)、快速酵解型(II b)组成与肉质性状间的关系, 阐释莱芜猪肉质优良的机理. 本实验在评价肉质性状的基础上, 用荧光定量 RT-PCR 方法检测莱芜猪和杜洛克猪背最长肌和半膜肌 MyHC 4 种亚型 mRNA 的表达量, 并进行相关分析. 结果表明, 莱芜猪背最长肌和半膜肌 MyHC II a, II x mRNA 表达量显著高于杜洛克猪, MyHC II b mRNA 表达量则显著低于杜洛克猪, 而 MyHC I mRNA 表达量无明显变化. MyHC I, II a, II x mRNA 表达量与肉色、pH、大理石纹、肌内脂肪含量正相关, 与嫩度剪切值和肌纤维直径负相关; MyHC II b mRNA 的表达量与大理石纹和肌内脂肪含量显著负相关($P < 0.05$), 与嫩度剪切值极显著正相关($P < 0.01$), 与肌纤维直径正相关($P > 0.05$). 由此可见, MyHC I, II a, II x, II b 的组成影响肉质性状, 而且其 mRNA 的表达量与肉质性状, 尤其是与肌肉食用品质显著相关, 也就是说 MyHC 4 种亚型的 mRNA 表达量可准确、客观评价肉质.

关键词
莱芜猪
肌球蛋白重链(MyHC)
实时 RT-PCR
肉质

在哺乳动物肌肉中发现了 8 种肌球蛋白重链(MyHC)亚型, 均由独立的基因编码, 定位于 7 号和 12 号染色体 [1-3], 生长猪骨骼肌中只表达 MyHC I, II a, II x, II b 型 [4]. 目前大多数研究采用组织酶学方法定义肌纤维类型(如肌球蛋白 ATPase、琥珀酸脱氢酶染色), 但是这种方法无法准确定义肌纤维类型, 而且采用不同的染色方法, 得出的结论不尽相同 [5-7]. 建立在 MyHC 表达基础上的分子分型方法可准确定义猪骨骼肌中表达的与肌纤维类型相对应的 4 种 MyHC: 慢速氧化型(I 型)、快速氧化型(II a 型)、快

速酵解型(II b 型)和中间型(II x 型) [1,4,8]. Tanabe 等人 [9] 和杨晓静等人 [10] 使用典型 RT-PCR 方法比较了不同品种猪(梅山猪、二花脸猪、大约克猪)背最长肌 MyHC I, II a, II x, II b mRNA 的表达差异, 但是这一检测技术不能准确检测 PCR 扩增产物. Lefaucheur 等人 [4,11] 用实时 RT-PCR 方法、原位杂交和免疫细胞学方法比较了大约克猪和梅山猪背最长肌和菱形肌 4 种 MyHC 亚型在 mRNA 表达和蛋白质水平上的差异, 结果发现: 品种和肌肉类型均影响肌纤维类型的组成, 梅山猪背最长肌和菱形肌的氧化型肌纤维比例

较高,而且品种和肌肉类型对 MyHC 4 种亚型的组成的影响在 mRNA 和蛋白质水平相似,这表明 MyHC mRNA 的表达主要由转录调控。对梅山猪、二花脸猪、大约克猪的研究表明 MyHC 4 种亚型的组成比例影响肉质。

莱芜猪是我国优良地方猪种,具有肉质细嫩多汁、香味浓郁等优良特性,但目前主要对其肉质常规指标进行评价,对其肉质形成的分子机理尚未探讨。本研究以肉质优良的莱芜猪为研究对象,并以肉质欠佳的杜洛克猪为对照^[12]。在客观评价其肉质性状的基础上,利用实时荧光定量 RT-PCR 方法测定 MyHC 4 种亚型 mRNA 表达量,比较莱芜猪与杜洛克猪背最长肌和半膜肌 MyHC mRNA 表达差异,分析背最长肌 MyHC mRNA 表达量与肉质性状的相关性,探讨莱芜猪肉质性状与肌纤维类型组成的关系,试图建立一种准确、可靠的且与肉质性状直接相关的分析方法,为客观评价肉品质,合理利用地方猪种和培育优质肉猪提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 实验猪的选择和屠宰

选择日龄和胎次相近的体重为 100 kg 的莱芜猪 10 头,杜洛克猪 7 头,屠宰前禁喂 24 h,称重,按“瘦肉型猪胴体性状测定技术规程(NY/T 825-2004)”屠宰。

选择形态和功能相近的 2 块肌肉:最后肋骨处背最长肌和半膜肌,屠宰后 30 min 内用无菌剪刀取样,并迅速放入液氮中速冻,保存于-80℃备用。

1.2 肉品质测定指标

屠宰后 45 min 内取倒数第 3~4 胸椎向后取背最长肌 20~30 cm,按“猪肌肉品质测定技术规范(NY/T 821-2004)”对肌肉颜色和大理石纹进行评分,测定肌肉 pH、失水率和肌内脂肪含量,取腰段背最长肌测定肌肉嫩度剪切值^[13]。

肌纤维直径的测定:猪屠宰后 2 h 内取左胴体背最长肌,然后沿肌纤维方向取 0.2 cm×0.5 cm×3 cm 样品,固定于硬纸片上,置于 20%硝酸中固定 24 h 后取出制片。在 10×40 倍显微镜下用测微尺量取 100 根肌纤维直径,再乘以相应的系数即为该样品的肌纤维

直径^[14]。

1.3 实时 RT-PCR

(1) 总 RNA 的提取和纯化

用 TaKaRa RNAiso Reagent 提取肌肉中的总 RNA,用紫外分光光度计(Ultrospec 3100 pro, Biochrom 公司)测定总 RNA 浓度和纯度,-80℃保存备用。

(2) 引物设计

根据 GenBank 公布的猪 MyHC I, IIa, IIx, IIb mRNA 基因序列(GenBank 登录号为 U75316, AB025260, AB025262, AB025261),利用 Primer 5.0 软件,设计引物。引物由上海生物工程技术服务有限公司合成。

MyHC I F: 5'-AGCCTCTTCTCTCCCAGGG-ACATTC-3', 扩增片段长度: 384 bp; MyHC II a F: 5'-CACTTGCTAAGAGGGACCTCTG-AGTTCA-3', 扩增片段长度: 375 bp; MyHC II x F: 5'-CTTTCCTCAT-AAAGCTTCAAGTTCTGCC-3', 扩增片段长度: 398 bp; MyHC II b F: 5'-CATCTGGTAACATAAGAGGTA-CATCTAG-3', 扩增片段长度: 429 bp; 下游引物 R: 5'-ATCCAGGCTGCGTAACGCTCTTTGAGGTTGTA-3'
(3) RNA 标准品的制备

背最长肌总 RNA RT-PCR 结束后,PCR 产物经 2%琼脂糖凝胶电泳,割胶后按照 E.Z.N.A Gel Extraction Kit 操作说明,纯化回收 PCR 扩增片段,连接于 pMD20-T 载体。取连接产物转化 DH5 α 感受态细胞,涂 LB 培养基(含氨苄青霉素、IPTG 和 X-Gal),利用 AMP⁺抗性及蓝白斑筛选阳性克隆,阳性单菌落震荡过夜培养,用 Plasmid Mini Kit 提取质粒,并对重组质粒 DNA 进行 PCR 鉴定和序列测定。用 Sma I 内切酶线性化质粒,SP6 RNA 逆转录酶体外转录, DNase I 消化质粒模板,苯酚、氯仿/异戊醇抽提,制备 RNA 标准品,用紫外分光光度计测定 RNA 标准品的纯度和浓度,并将质量单位转换为分子数。用 Easy dilution 将体外转录 RNA 标准品倍比稀释,作为荧光定量 RT-PCR 检测 MyHC 亚型的阳性标准模板。

(4) 标准曲线的制作和肌肉 MyHC mRNA 表达量检测

使用 ABI Prism 7000 荧光定量 PCR 仪,利用 SYBR PrimeScriptTM RT-PCR Kit 进行二步法检测

RNA 标准品和肌肉中 4 种 MyHC 亚型 mRNA 表达量, MyHC RNA 倍比稀释标准品和待测样品同时测定, 每样品 3 个重复. 根据标准品的 Ct 值及其分子数制作标准曲线, 再根据标准曲线、待测样品的浓度及其扩增产物 Ct 值计算每种亚型 MyHC mRNA 单位质量的表达量.

逆转录反应. 反应体系为 10 μ L: 5 \times PrimeScript Buffer 2.0 μ L, PrimeScript RT Enzyme Mix I 0.5 μ L, Random 6 mers(100 μ mol/L) 0.5 μ L, 标准品 RNA 或样品总 RNA 2 μ L, RNase Free dH₂O 5 μ L. 反应条件: 42 $^{\circ}$ C 反转录 10 min, 95 $^{\circ}$ C 1 min.

实时荧光定量 PCR. 反应体系为 20 μ L, 反转录产物 1.5 μ L, 依次加入 SYBR Rremix Ex Taq(2 \times) 10.0 μ L, PCR Forward Primer (10 μ mol/L) 0.4 μ L, PCR Reverse Primer (10 μ mol/L) 0.4 μ L, ROX Reference Dye (50 \times) 0.4 μ L, dH₂O 7.3 μ L. 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 10 s,

94 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 40 s, 40 个循环.

2 数据统计分析

实验数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计, 肉质性状数据采用单因素方差分析, 并用 LSD 法进行多重比较; 肌肉 MyHC mRNA 表达量数据采用二因素方差分析, 分析肉色、大理石纹、pH、肌肉脂肪含量、嫩度和肌纤维直径与背最长肌 MyHC mRNA 表达量的相关性.

3 结果

3.1 莱芜猪与杜洛克猪肉质性状比较

由表 1 可知, 莱芜猪和杜洛克猪间肌肉肉色评分、pH 无显著差异($P>0.05$), 但是莱芜猪肉色评分略

表1 莱芜猪与杜洛克猪肉质比较 a)

性状	杜洛克猪	莱芜猪
肉色/评分	3.14 \pm 0.1	3.35 \pm 0.1
大理石纹/评分	2.95 \pm 0.2 ^b	4.28 \pm 0.1 ^a
pH	6.14 \pm 0.1	6.17 \pm 0.1
剪切值/kg·f	30.11 \pm 2.6 ^a	21.58 \pm 2.3 ^b
失水率/%	22.74 \pm 4.6 ^a	8.05 \pm 0.4 ^b
肌纤维直径/ μ m	63.66 \pm 2.9 ^a	54.33 \pm 1.0 ^b
肌肉脂肪/%	1.82 \pm 0.1 ^b	7.70 \pm 0.6 ^a

a) 同行肩标字母不同者, 差异极显著($P<0.01$)

有增加. 与杜洛克猪相比, 莱芜猪大理石纹评分和肌肉脂肪含量显著增加 45.08%~49.13%($P<0.01$), 肌肉失水率、肌肉剪切值和肌纤维直径显著降低($P<0.01$), 也就是说莱芜猪肌肉失水率和嫩度显著高于杜洛克猪, 这与其肌纤维直径较细相吻合.

3.2 莱芜猪与杜洛克猪 MyHC mRNA 表达量比较

(1) 肌肉总 RNA 提取和目的片段扩增

用异硫氰酸胍-酚-氯仿一步法提取肌肉 RNA, RNA A₂₆₀/A₂₈₀ 比值介于 1.8~2.0 之间, 这表明提取的 RNA 无污染, 而且完整性好. 取 2 μ L RNA 进行 RT-PCR 扩增, PCR 产物用 2%琼脂糖凝胶电泳检测, MyHC I, IIa, IIx, IIb 分别获得 384, 375, 398 和 429 bp 的条带.

(2) MyHC 标准曲线的制作

RT-PCR 扩增产物电泳结束后, 纯化回收目的片段, 连接 PMD20-T 载体, 转化 DH5 α 感受态大肠杆菌, 筛选阳性菌落, 过夜培养, 提取质粒. 阳性质粒 PCR 鉴定结果显示, MyHC I, IIa, IIx, IIb 扩增均得到特异性条带, 与其基因 RT-PCR 产物的扩增条带一致, 测序结果也显示插入片段序列与 GenBank 公布的序列同源率为 100%.

Sma I 内切酶线性化阳性质粒, SP6 RNA 聚合酶体外转录获得 RNA 标准品, RNA 标准品 A₂₆₀/A₂₈₀ 比之介于 1.8~2.0 之间, 这表明 RNA 标准品的纯度和完整性符合要求. MyHC I, IIa, IIx, IIb RNA 标准品的全长分别为 469, 460, 514, 483 bp, 浓度分别为 384, 318, 276, 328.5 μ g/mL, 标准品的拷贝数分别为 1.45 \times 10¹⁵, 1.22 \times 10¹⁵, 0.95 \times 10¹⁵, 1.20 \times 10¹⁵ 个/mL. 用

Easy dilution 对 MyHC I, IIa, IIx, IIb 标准品进行 10⁶~10⁹ 倍稀释, 进行二步法荧光定量 RT-PCR, 根据 Ct 值和倍比稀释标准品的分子数制作标准曲线。

MyHC I, IIa, IIx, IIb 型标准曲线分别为 $y = -3.096x + 42.504$, $y = -3.271x + 43.554$, $y = -2.294x + 36.238$ 和 $y = -2.883x + 30.631$ (y 表示 Ct 值, 即达到指

数增长长期时的循环数, x 表示模板拷贝数的常用对数值), 相关系数均大于 0.99。MyHC I, IIa, IIx, IIb RNA 标准品 RT-PCR 扩增曲线呈典型的“S”型, 而且扩增平台期几乎重合, 溶解曲线在 85~90°C 之间出现一明显的峰, 而在其他位置未出现明显的峰。这就表明, 标准品的重复性及其扩增产物特异性好, 标准曲线线性关系良好, 也就是说荧光曲线能够准确反应目的产物的扩增, 由标准曲线计算得到的样本 mRNA 表达量准确性高。

(3) 莱芜猪与杜洛克猪肌球蛋白重链 (MyHC) mRNA 表达量比较

由 MyHC I, IIa, IIx, IIb 的标准曲线及杜洛克猪和莱芜猪肌肉 RNA 浓度及其扩增产物 Ct 值, 计算

mRNA 表达量。由表 2 可看出, 杜洛克猪和莱芜猪背最长肌和半膜肌 MyHC 亚型的组成显著不同, 莱芜猪背最长肌和半膜肌 MyHC II b mRNA 的表达量显著降低 ($P < 0.01$), MyHC II x 和 II a 的表达量显著增加 ($P < 0.05$)。莱芜猪背最长肌和半膜肌 MyHC II x 表达量最多, MyHC II a 表达量次之, MyHC II b 的表达量最少, 杜洛克猪背最长肌和半膜肌 MyHC II x、b 型 II 的表达量占优势, 而且 MyHC II x 的表达量略高于 MyHC II b。杜洛克猪和莱芜猪背最长肌和半膜肌 MyHC I 型和 4 种 MyHC 亚型 mRNA 的总表达量无明显变化。

3.3 莱芜猪与杜洛克猪 MyHC mRNA 表达量与肉质性状相关分析

由表 3 可知, MyHC I, IIa, IIx 和 MyHC (I+IIa) mRNA 的表达量与肉色、pH 值、大理石纹、肌肉脂肪含量正相关, 与肌肉剪切值和肌纤维直径负相关, 其中 MyHC (I+IIa) 的表达量与 pH 显著正相关 ($P < 0.05$); MyHC II b 的表达量与大理石纹、肌肉脂肪

表2 莱芜猪与杜洛克猪背最长肌和半膜肌 MyHC mRNA 表达量(10scopies/mg)

MyHC 类型	背最长肌		半膜肌		P值 B×M
	杜洛克猪	莱芜猪	杜洛克猪	莱芜猪	
I	2.10±0.19	2.08±0.24	1.52±0.22	1.37±0.18	0.787
IIa	4.47±0.58 ^b	8.24±0.79 ^a	2.46±0.36 ^b	4.61±0.39 ^a	0.253
IIx	48.85±7.78 ^b	75.99±10.55 ^a	48.34±2.97 ^b	68.65±4.97 ^a	0.155
IIb	31.24±6.84 ^b	0.91±0.00 ^A	22.73±1.95 ^B	0.07±0.00 ^A	0.466
I + II a	6.57±0.85 ^b	10.32±0.71 ^a	4.12±0.93 ^b	6.25±0.85 ^a	0.107
总和	86.67±12.41	87.21±11.20	75.07±9.85	74.71±8.42	0.523

同行、同类型肌肉间肩标小写字母不同者, 差异显著 ($P < 0.05$); 同行、同类型肌肉间肩标大写字母不同者, 差异极显著 ($P < 0.01$); B×M

表示品种与肌肉类型间的互作

表3 莱芜猪与杜洛克猪背最长肌 MyHC mRNA 含量与肉质性状相关分析 a)

相关系数	MyHC I	MyHC II a	MyHC (I + II a)	MyHC II x	MyHC II b
肉色/分	0.280	0.096	0.128	0.257	0.063
pH 值	0.496	0.471	0.526 *	0.368	0.075
大理石纹/分	0.309	0.211	0.477	0.206	-0.597*
肌肉脂肪/%	0.294	0.198	0.329	0.034	-0.617*
剪切值/kg·f	-0.177	-0.068	-0.201	-0.282	0.800**
肌纤维直径/ μ m	-0.257	-0.367	-0.317	-0.252	0.351

a) *示相关显著 ($P < 0.05$), **示极显著 ($P < 0.01$)

含量负相关, 与肌肉剪切值、肌纤维直径、肉色和 pH 值正相关, 与肉色和 pH 虽然正相关, 但是相关不显著, 其中 MyHC II b 的表达量与大理石纹和肌内脂肪含量显著负相关($P < 0.05$), 与肌肉剪切值极显著正相关($P < 0.01$).

4 讨论

莱芜猪背最长肌和半膜肌 MyHC 4 种亚型的组成与杜洛克猪不同, 其中 MyHC II a, II x, II b mRNA 表达量差异显著. 莱芜猪背最长肌和半膜肌氧化型肌纤维显著增加, 酵解型肌纤维显著减少, 莱芜猪背最长肌和半膜肌 MyHC II b: II x 表达量的比率显著降低($P < 0.01$), 而杜洛克猪和莱芜猪间背最长肌和半膜肌 MyHC I 和 MyHC (I + II a + II x + II b) mRNA 的表达量无明显变化, 这表明 MyHC 一种亚型的表达量减少, 必将会使其他一种或几种 MyHC 亚型的表达量增加, 即转化为其他一种或几种 MyHC 亚型. 这与 Lefaucheur 等人^[4,11]用实时 RT-PCR 方法对梅山猪和大约克猪背最长肌 MyHC 4 种亚型表达量的研究结果一致. 梅山猪背最长肌 MyHC II b mRNA 表达量显著低于大约克猪, MyHC II x 和 II a mRNA 表达量显著增加, 而 MyHC I 和 MyHC (I + II a + II x + II b) mRNA 的表达量无明显变化, 他们认为, 梅山猪背最长肌 MyHC II b 可转变为 II x, 有一少部分 MyHC II b 转化为 II a, 莱芜猪肌肉 MyHC 亚型间也可能存在这种转化. 地方品种莱芜猪和梅山猪肌肉 MyHC II b: II x 的比率显著低于外来品种大约克猪和杜洛克猪, 这表明 MyHC II b, II x mRNA 表达调控肌肉生长和肉质起重要作用, 但是其调控机制有待于进一步研究.

Pellegrino 等人^[15]和 Lefaucheur 等人^[4]认为, 正常生理条件下 4 种类型肌纤维间的转化是按一定的规律进行的: 猪出生时肌肉的肌纤维大多为氧化型, 酵解型肌纤维几乎没有分化, 出生后 1~4 周氧化型肌纤维减少, 酵解型肌纤维迅速增加, 而后随年龄的增加氧化型肌纤维不断减少, 酵解型肌纤维增加, 而且不同类型肌纤维增加的速率不同. MyHC I 型肌纤维转化为 II a, II x 和 II b 的比率较高, 4 种 MyHC 亚型在猪肌肉中的表达按照 I \rightarrow II a \rightarrow II x \rightarrow II b 这一顺序自中心向四周发展, 同时氧化代谢减弱, 肌纤维直径增加, 而且 4 种 MyHC 亚型间可相互转化, 即 I \longleftrightarrow II a \longleftrightarrow

\rightarrow II x \longleftrightarrow II b, 莱芜猪 MyHC 亚型间的转化与此一致, 而且莱芜猪背最长肌 MyHC II b 的表达显著少于杜洛克猪, MyHC II a 和 II x 的表达量显著增加, 肌纤维直径显著减小.

肌纤维类型的组成影响肌肉的肉色、pH、大理石纹、肌内脂肪、嫩度、失水率和肌纤维直径等肉质

磷脂含指标, 氧化型肌纤维(MyHC I, II a)肌红蛋白、量较高, 糖原含量和 ATPase 活性较低, 肌纤维直径较细, 厌氧酶含量低, 有氧代谢能力强, 而酵解型肌纤维(MyHC II b)则相反, MyHC II x 的代谢活性和收缩特性则介于氧化型肌纤维和酵解型肌纤维之间. 因此, 氧化型肌纤维比例高时, 肌肉的肉色、大理石纹评分和肌内脂肪含量较高, 肌肉细嫩、肌纤维直径较细, 肌肉的保水性能较高^[16-19]. 本研究表明, 莱芜猪背最长肌和半膜肌 MyHC (I + II a)的表达量显著高于杜洛克猪, 而 MyHC II b 的表达量显著低于杜洛克猪, 这说明莱芜猪肌肉磷脂、肌红蛋白含量较高, 肌纤维较细, 这也与本实验对肉质性状的测定结果吻合, 与魏述东等人^[20]对莱芜猪肌肉肉质性状的研究结果一致. 由此可见, MyHC I, II a, II x, II b 的组成影响肉质性状, 而且其 mRNA 的表达量与肉质性状, 尤其是肌肉食用品质指标显著相关, 也就是说 MyHC 4 种亚型(I, II a, II x, II b)mRNA 的表达量可用于准确评价肉质, 可通过对肌纤维类型的选育提高肉质.

对地方猪种(如梅山猪、二花脸猪)和瘦肉型猪种(如大约克猪、长白猪)的研究表明, 加强对瘦肉生长的选择可导致酵解型肌纤维增加, 氧化型肌纤维减少, 使得猪肌肉糖分解代谢能力提高, 氧化代谢能力减弱, 与猪瘦肉率、饲料转化率和生长速度提高相关^[10,11,21,22]. 本研究结果与此一致, 莱芜猪背最长肌和半膜肌 MyHC II a 和 II x 的表达量显著增加, MyHC-II b 表达量显著减少, 即莱芜猪肌肉的氧化型肌纤维增加, 酵解型肌纤维减少, 而杜洛克猪肌肉的酵解型肌纤维显著增加, 这与莱芜猪生长速度慢、饲料利用率低和瘦肉率低相吻合, 这也表明莱芜猪肌肉利用脂肪转化为能量的能力较高. 但是, 并非所有的研究结果都与此一致. Nostvold 等人^[23]认为, 猪选育到第 8 世代时, 猪的日增重提高, 背膘厚降低, 同时猪背最长肌酵解型肌纤维的比例也减少. 大约克猪瘦肉

率与其背最长肌酵解型肌纤维的比例呈遗传性负相关 [19], 丹系长白猪和大约克猪的瘦肉率与其背最长肌柠檬酸合成酶活性正相关 [24], 但是, Lefaucheur 等人 [4,11] 认为梅山猪背最长肌和菱形肌的柠檬酸合成酶

活性显著高于大约克猪, 这表明梅山猪肌肉氧化代谢能力较强. 因此, MyHC 多态性, 尤其是 MyHC IIb: IIx 比率与肌肉生长和肉品质间的关系及其调控机理有待于进一步研究.

参考文献

- 1 Weiss A D, Medonough B, Wertman L, et al. Organization of human and mouse skeletal myosin heavy chain gene clusters is highly conserved. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 2958—2963
- 2 Shrager J B, Desjardins P R, Burkman J M, et al. Human skeletal myosin heavy chain genes are tightly linked in the order embryonic-IIa-IIb/x-IIb-perinatal-extraocular. *J Muscle Res Cell Motil*, 2000, 21: 345—355
- 3 Davoli R, Fontanesi L, Ambonelli P Z, et al. Isolation of porcine expressed sequence tags for the construction of a first genomic transcript map of the skeletal muscle in pig. *Anim Genet*, 2002, 33: 3—18
- 4 Lefaucheur L, Ecolan P, Plantard L, et al. New insights into muscle fiber types in the pig. *J Histochem Cytochem*, 2002, 50(5): 719—730
- 5 Chang K C, Costaa N D, Black L R, et al. Relationship of myosin heavy chain fibers types to meat quality traits in traditional and modern pigs. *Meat Sci*, 2003, 64: 93—103
- 6 Eggert J M, Depreux F F S, Schinckel A P. Myosin heavy chain isoforms account for variation in pork quality. *Meat Sci*, 2002, 61: 117—126
- 7 Chikuni K, Tanabe R, Muroya S, et al. Difference in molecular structure among the porcine myosin in heavy chain -2a, 2x and -2b isoforms. *Meat Sci*, 2001, 57: 311—317
- 8 Schiaffino S, Reggiani C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: Gene regulation and functional significance. *Physiol Rev*, 1996, 76: 371—423
- 9 Tanabe R, Nakajima I, Muroya S, et al. Differences in myosin heavy chain isoform expressions among porcine breeds. *Meat Sci Technol*, 1999, 45: 254—255
- 10 杨晓静, 赵茹茜, 陈杰, 等. 猪背最长肌肌纤维类型的发育性变化及其品种和性别特点. *中国兽医学报*, 2005, 25(1): 89—94
- 11 Lefaucheur L, Milan D, Ecolan P, et al. Myosin heavy chain composition of different skeletal muscles in Large White and Meishan pigs. *J Anim Sci*, 2004, 82: 1931—1941
- 12 李重生, 陈瑶生, 王翀, 等. 猪肌肉组织差异表达 ESTs 的克隆与分析. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2006, 36(2): 139—144
- 13 张伟力. 猪肉品质改进与评定方法进展. *养猪*, 2001, 3: 31—33
- 14 王鹤云, 严达伟, 鲁绍雄, 等. 撒坝猪及其杂交组合的肉质研究. *养猪*, 1997, 3: 29—31
- 15 Pellegrino M A, Canepari M, Rossi R, et al. Orthologous myosin isoforms and scaling of shortening velocity with body size in mouse, rat, rabbit and human muscles. *J Physiol*, 2003, 546: 677—689
- 16 Immonen K, Ruusunen M, Hissa K, et al. Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. *Meat Sci*, 2000, 55: 25—31
- 17 Maltin C A, Warkup C C, Mattewa K R, et al. Pig muscle fibre characteristics as source of variation in eating quality. *Meat Sci*, 1997, 47: 237—248
- 18 Maltin C A, Sinclair K D, Warriss P D, et al. The effects of age at slaughter, genotype and finishing system on the biochemical properties, muscle fibre type characteristics and eating quality of bull beef from suckled calves. *Anim Sci*, 1998, 66: 341—348
- 19 Larzul C, Lefaucheur L, Ecolan P, et al. Phenotypic and genetic parameters for longissimus muscle fiber characteristics in relation to growth, carcass, and meat quality traits in Large White pigs. *J Anim Sci*, 1997, 75: 3126—3137
- 20 魏达东, 曹洪防, 徐云华, 等. 莱芜猪的选育. *中国畜牧杂志*, 2001, 37(6): 30—31
- 21 Rahelic S, S Puac. Fiber types in longissimus dorsi from wild and highly selected pig breeds. *Meat Sci*, 1981, 5: 439—450
- 22 Weiler U, Appell H J, Remser M K, et al. Consequences of selection on muscle composition. A comparative study on gracilis muscle in wild and domestic pigs. *Anat Histol Embryol*, 1995, 24: 77—80
- 23 Nostvold O, Schie K A, Froystein T. Muscle fiber characteristics in lines of pigs selected for rate of gain and backfat thickness. *Acta Agric Scand*, 1979, 21: 136—142
- 24 Henckel P, Oksebjerg N, Erlandsen E, et al. Histo- and biochemical characteristics of the longissimus dorsi muscle in pigs and their relationships to performance and meat quality. *Meat Sci*, 1997, 47: 311—321