

基于转录组的黄姑鱼生长相关基因及调控通路研究

李威^{1,2}, 刘恬怡^{1,2}, 叶坤^{1,2}, 王志勇^{1,2}, 方铭^{1,2}, 姜丹^{1,2}

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 农业农村部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021)

[摘要] 为了探究黄姑鱼生长性状的分子调控机制, 选取同一养殖条件下同一养殖网箱内生长速度较快的个体110尾(体重 (527.1 ± 83.6) g)、生长速度较慢的个体130尾(体重 (238.4 ± 52.3) g), 共240尾进行研究。对每个样本的肌肉组织进行RNA提取和转录组测序, 生长速度较快组和较慢组分别获得499.83 Gb和576.56 Gb测序数据, 筛选到149个差异表达基因(其中136个上调基因和13个下调基因)。利用差异表达基因的功能筛选注释结果, 初步获得了*tnnc1*、*myh1*、*tnni2*和*myss*等肌肉生长相关候选基因。GO和KEGG分析预测出了一些与黄姑鱼肌肉生长相关的调控通路, GO Term分析发现了肌动蛋白结合、肌肉的结构成分、钙离子结合等调控通路, KEGG富集分析发现了心肌细胞肾上腺素、心肌收缩等调控通路。

[关键词] 黄姑鱼; 转录组; 肌肉生长基因; 生长速率; 调控通路

[中图分类号] S 963

Transcriptome-Based Study on Relative Genes and Regulatory Pathways Leading to the Growth of *Nibea albiflora*

LI Wei^{1,2}, LIU Tianyi^{1,2}, YE Kun^{1,2}, WANG Zhiyong^{1,2}, FANG Ming^{1,2}, JIANG Dan^{1,2}

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Key Laboratory of Healthy Mariculture in the East China Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Xiamen 361021, China)

Abstract: In order to investigate the molecular regulatory mechanisms underlying growth traits in yellow drum (*Nibea albiflora*), this study selected 110 individuals with faster growth rates (average weight (527.1 ± 83.6) g) and 130 individuals with slower growth rates (average weight (238.4 ± 52.3) g) from the same farming conditions within the same net cage, totaling 240 individuals for study. RNA extraction and transcriptome sequencing were performed on muscle tissue from each sample, yielding 499.83 Gb and 576.56 Gb sequencing data for the faster and slower growth groups, respectively. A total of 149 differentially expressed genes were identified, including 136 upregulated genes and 13 downregulated genes. Functional annotation of differentially expressed genes led to the identification of candidate genes related to the muscle growth, such as *tnnc1*, *myh1*, *tnni2*, and *myss*. GO and KEGG analyses predicted several regulatory pathways associated with muscle growth, with GO term analysis revealing pathways involved in the actin binding, muscle structural components, and calcium ion binding, while KEGG enrichment analysis identified pathways related to the myocardial cell adrenaline and myocardial contraction. These findings provide important insights into the regulatory mechanisms of growth rate in yellow drum, laying a foundation for further studies.

[收稿日期] 2024-03-26

[基金项目] 国家重点研发计划“重要养殖鱼类基因组选育与单性控制技术”(2018YFD0901201); 国家自然科学基金项目“基于混池测序技术的黄姑鱼红头病抗病位点超精细定位”(31872560)

[作者简介] 通信作者: 姜丹(1975—), 博士, 高级实验师, 主要从事分子遗传学研究。E-mail: jiangdan666@163.com

Keywords: *Nibea albiflora*; muscle; transcriptome; growth rate; regulatory pathway

0 引言

黄姑鱼 (*Nibea albiflora*) 隶属硬骨鱼纲 (Osteichthyes) 辐鳍亚纲 (Actinopterygii) 鲈形目 (Perciformes) 石首鱼科 (Sciaenidae) 黄姑鱼属 (*Nibea*)。黄姑鱼抗病性和环境适应性较强^[1], 营养丰富, 能有效带动海水养殖产业提质增效, 具有较高的经济价值。近年来黄姑鱼的人工养殖规模日益扩大, 目前是我国东海沿岸重要的海水养殖种类^[2], 而加快生长速度是提高养殖经济效益的重要手段。2008 年, 集美大学王志勇教授团队经过 4 代连续选育, 成功培养出黄姑鱼新品种“金鳞 1 号”, 该品种表现出生长速度快和成活率高等优势^[3]。2023 年, 浙江省海洋水产研究所徐冬冬团队成功培育出了新品种“全雌 1 号”, 该品种具有生长速度快、规格均一等特点^[4]。解析黄姑鱼个体生长差异的遗传机制, 鉴定导致个体生长差异的主效基因, 对于黄姑鱼速生新品种选育以及速生性状形成的遗传机制研究具有重要意义。

组学技术的发展为黄姑鱼生长主效基因的鉴定提供了新的研究思路。2019 年, 韩兆方^[5]使用 Illumina HiSeq X10、Hi-C 等测序技术对 1 尾雄性黄姑鱼进行基因组组装, 利用测序得到 301.2 Gb 原始数据, 成功组装出 578.8 Mb 基因组。2021 年, 罗帅^[6]利用 GWAS 分析挖掘了黄姑鱼抗哈维氏弧菌的遗传位点, 筛选出 23 个显著的与黄姑鱼抗哈维氏弧菌关联的 SNPs。Xu 等^[7]选取耐寒组、冷敏感组和常规组黄姑鱼的大脑和肌肉组织进行转录组分析, 筛选出与耐低温相关的功能基因。张文劲等^[8]通过 Pool-seq 技术在黄姑鱼的 chr22 上定位到一个与抗红头病相关的基因组区域, 揭示了 NF- κ B 信号通路可能在黄姑鱼抗红头病时发挥重要作用。刘桂嘉等^[9]通过全基因组关联分析技术在 371 尾黄姑鱼样本的 SNPs 集中找到 10 个与鳔囊质量和鳔囊指数相关的基因, 为黄姑鱼鳔囊性状形成的遗传机制提供参考。孟玮等^[10]选取高盐组、低盐组和正常组黄姑鱼的肌肉组织为材料进行转录组分析, 寻找与盐度胁迫相关的差异基因, 初步揭示了黄姑鱼耐盐性状形成的遗传基础。尽管当前已有众多关于黄姑鱼多种经济性状的遗传机制研究, 但尚无关于黄姑鱼生长性状的遗传基础研究报道。

转录组分析是连接基因组遗传信息与生物表型的纽带。本研究在同一网箱中挑选 240 尾不同生长速率的黄姑鱼, 通过转录组分析比较快速生长和慢速生长的黄姑鱼之间的差异, 探索黄姑鱼生长过程中的候选基因, 挖掘候选基因参与的 GO 和 KEGG 通路, 为解析黄姑鱼生长性状的遗传机制提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用黄姑鱼为人工养殖个体, 来自福建省宁德市金玲水产科技有限公司。从同一网箱中挑选相同月龄快速生长个体 110 尾和慢速生长个体 130 尾, 共 240 尾。快速生长和慢速生长个体的平均体重分别为 (527.1 ± 83.6) g 和 (238.4 ± 52.3) g。

1.2 方法

按照全式金 Trans Zol Up Plus RNA Kit 试剂盒说明书方法, 对每个黄姑鱼选取适量大小的肌肉组织样本进行总 RNA 分离和提取; 然后根据琼脂糖凝胶电泳结果检测 RNA 完整性, 确认质量合格后, 进一步通过 Qubit 2.0、NanoDrop 及 Aglient 2100 等方法检测总 RNA 的浓度和纯度^[11-12]。利用磁珠对高质量 RNA 样品进行富集和纯化, 第二次对 mRNA 质控, 质控合格后逆转录 mRNA 构建 cDNA 文库; 文库构建合格后, 对 cDNA 文库进行稀释定量和有效插入片段长度检测, 确保文库浓度和长度符合测序要求。待上述步骤完成后, 使用 Illumina 高通量测序平台对 240 个样本分别测序。

1.3 数据处理分析

利用 fastQC 软件对 240 尾黄姑鱼的测序数据进行质控 (去除接头、低质量序列), 获得高质量的

测序数据 (clean reads, CR); 利用 STAR 软件将 CR 与黄姑鱼的参考基因组进行比对; 使用 Feature-counts 对结果进行基因定量; 利用 DESeq2^[13] 分析肌肉组织表达基因的组间差异情况, 参考福瑞鲤的研究^[14], 筛选的阈值分别为 $|\log_2(FC)| > 1$ 、 $FDR < 0.05$, 其中 FC 指基因相对表达变化 (fold change), FDR 指错误发现率 (false discovery rate), 也就是假阳性率; 利用 clusterProfiler 包^[15] 对差异表达基因集进行 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析; 同时使用 StringTie^[16-17] 软件对结果进行拼接组装获得更完整的转录本, 与 Nr、Swiss-Prot 和 eggNOG 数据库进行序列比对获得完整基因注释信息。

1.4 实时荧光定量 PCR 分析

使用 Primer Premier 5 软件对随机挑选的 8 个表达差异基因进行引物设计 (见表 1), 引物合成之后用于后续 qRT-PCR 试验。以黄姑鱼个体 RNA 为材料, 通过 cDNA 合成试剂盒 (南京诺唯赞生物科技有限公司, 中国) 转化为 cDNA, 以获得的 cDNA 产物作为模板, 同时以 β -actin 为内参基因。qPCR 根据 SYBR Green RT-PCR 反应试剂盒 (艾科瑞公司, 中国) 说明书操作, 使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算其 mRNA 的表达量。

表 1 试验所用引物
Tab. 1 Primers used in the experiments

表达差异基因	正向引物序列(5'-3')	表达差异基因	正向引物序列(5'-3')
q-slc25a22-F	AAAAGGGAACATCCCTCATCAGT	q-rab34-F	GTCATCCAAC TTGTCTTCACTGT
q-slc25a22-R	TGCTCAAGATACAGCTCCAGG	q-rab34-R	AAGCTTCAACATCGCCAAGGT
q-mmp16-F	TGATGTTAACGACCTGTTCTCTG	q-myss-F	CAACTCATCCCGCTTTGGTAAA
q-mmp16-R	AGGTCGTCGTGAGGTAGTTTG	q-myss-R	GTGGTAATGAGGAGAGCCTCG
q-celf3-F	CTGCTGGACTCTGAGCTTGAT	q-tnni2-F	AACAAGGAGATCGACGACCTGAAG
q-celf3-R	ACCAACTATTGCAGCAACGC	q-tnni2-R	TTTCAGCTCCTTCTTGACCTGC
q-tnnc1-F	GACAAGAATGCAGATGGCTACA	q-tnnt3-F	TTGCTGTTCCTCCTCTGGGC
q-tnnc1-R	GTCCCCGTCTTTCATCAGCTC	q-tnnt3-R	GGAAGAACTCATCGGCCTCAAG

2 结果与分析

2.1 转录组测序分析

240 尾黄姑鱼 cDNA 文库的 Illumina 测序数据经质控后, 共获得 3 588 160 257 条 CR (见表 2), 将这些测序数据比对到实验室组装的黄姑鱼基因组序列。结果显示: 两组黄姑鱼肌肉样品的 CR 与实验室组装的参考基因组的比对率较高, 平均值分别为 81.15% 和 80.59%; CR 的 G + C 含量波动小, 范围在 51.21% ~ 51.30%; 90% 以上的 CR 质量值高于 Q30。这表明 Illumina 测序数据及参考基因组数据质量合格, 真实可靠, 可用于后续试验。

表 2 黄姑鱼肌肉组织 Illumina 测序数据及其质量评估

Tab. 2 Illumina sequencing data and quality assessment of muscle tissue of *Nibea albiflora*

样品	高质量测序序列	碱基数 (G)	G + C 含量/%	Q30/%
快速生长组	1 666 228 462	499.83	51.21	92.70
慢速生长组	1 921 931 795	576.56	51.30	92.83

2.2 基因功能注释

利用 StringTie 拼接比对到基因组上的 CR, 获得 22 875 个转录本。通过 Diamond 软件的 Blastx 将 Unigenes 输入到多个蛋白质数据库进行序列比对, 获得更加完整的注释信息。比对结果显示 Nr、Swiss-Prot 和 Pfam 数据库分别有 20 498、18 238、18 893 条被注释, 同源序列比对最高的物种为大黄

鱼 (*Larimichthys crocea*)，揭示了黄姑鱼与
大黄鱼的进化同源性。

2.3 差异表达基因筛选

用 DESeq2 对两组黄姑鱼转录组样本进行基因差异表达分析，结果发现 154 个差异表达基因，其中 141 个为显著上调表达基因，13 个为显著下调表达基因（见图 1），上调表达的基因数量远远高于下调表达的基因数量。表明这些基因可能在生长发育中发挥调控作用。

2.4 差异基因的 GO 功能注释与 KEGG 通路富集分析

对 149 个差异表达基因进行 GO 功能富集分析，结果显示共注释到 1797 个 GO 功能条目。其中 1374 条注释到生物学过程，165 条注释到细胞组分，258 条注释到分子功能。图 2 展示了每个类别中最显著富集的前 10 个 GO 条目，这些差异基因 GO 通路富集在骨骼肌收缩、肌肉细胞发育、肌丝滑动、横纹肌收缩、横纹肌细胞发育、肌肉肌球蛋白复合体等功能。这说明差异基因周围的调控网络主要行使与肌肉发育相关的功能，也证实肌生成是一个多通路调控的复杂过程，可深入挖掘。从分子功能的角度来看，肌动蛋白丝结合、肌动蛋白结合、钙离子结合、肌球蛋白结合、细胞粘附分子结合和糖胺聚糖结合等功能在肌肉生长发育中提供稳定的结合和离子的供给。

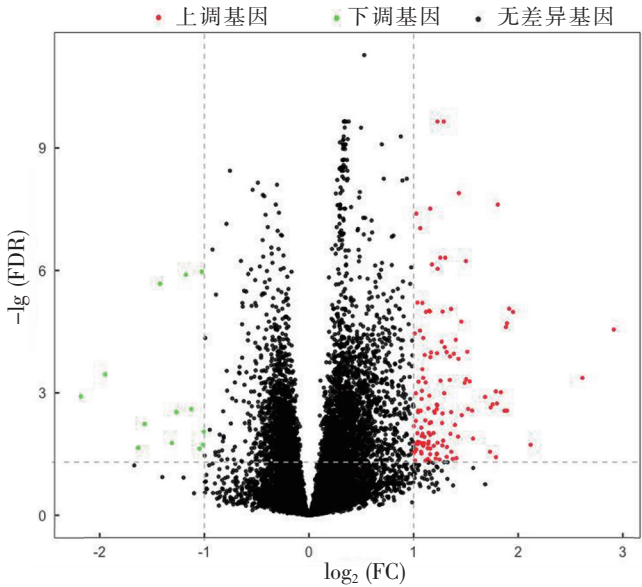


图 1 黄姑鱼肌肉组织转录组差异表达基因火山图
Fig.1 Volcano plot of differential expression genes of muscle tissue in *Nibea albiflora*

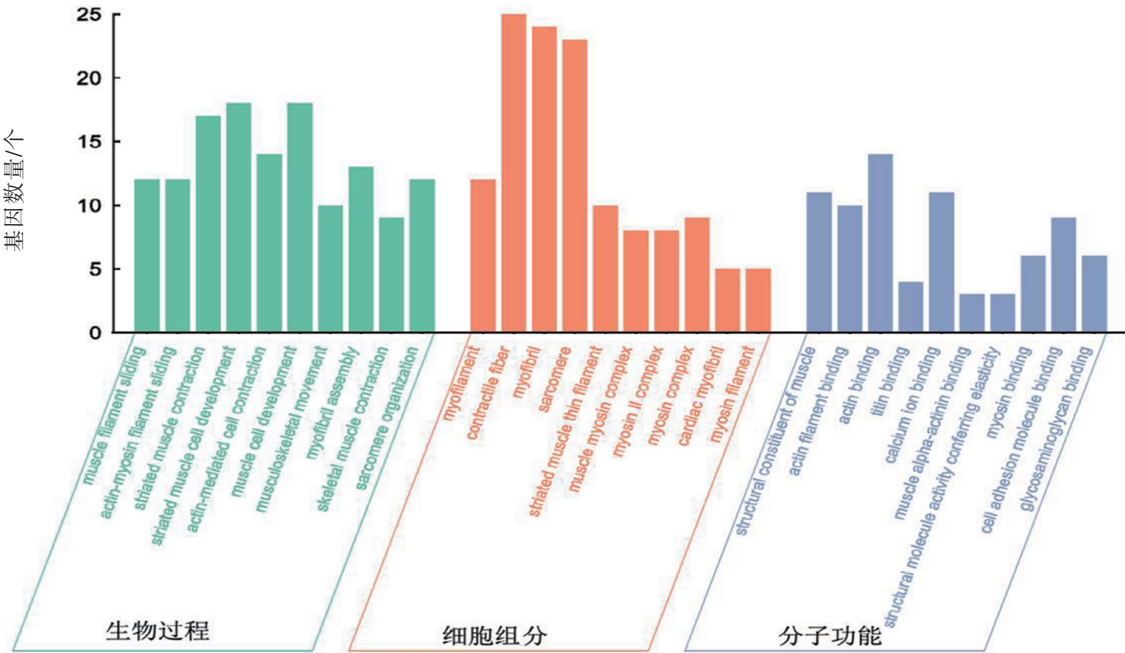


图 2 黄姑鱼差异表达基因的 GO 功能注释各功能前 10 条目

Fig.2 GO function annotation of differentially expressed genes in *Nibea albiflora*: the top 10 items of each function

进一步研究 149 个差异表达基因所在的 KEGG 信号通路, 注释到 162 条 KEGG 信号通路。由图 3 可以看出, 差异基因主要参与心肌收缩、心肌细胞肾上腺素信号、蛋白质消化和吸收、紧密链接、焦点黏连等调控通路。这表明生长性状和心肌通路之间存在一定的关联性, 暗示生长性状的调控可能涉及心肌细胞的功能和代谢过程, 可能与心脏健康相关。除了心肌相关的通路外, 差异表达基因也富集于蛋白质消化通路, 这说明鱼类生长发育可能与营养吸收效率有关。

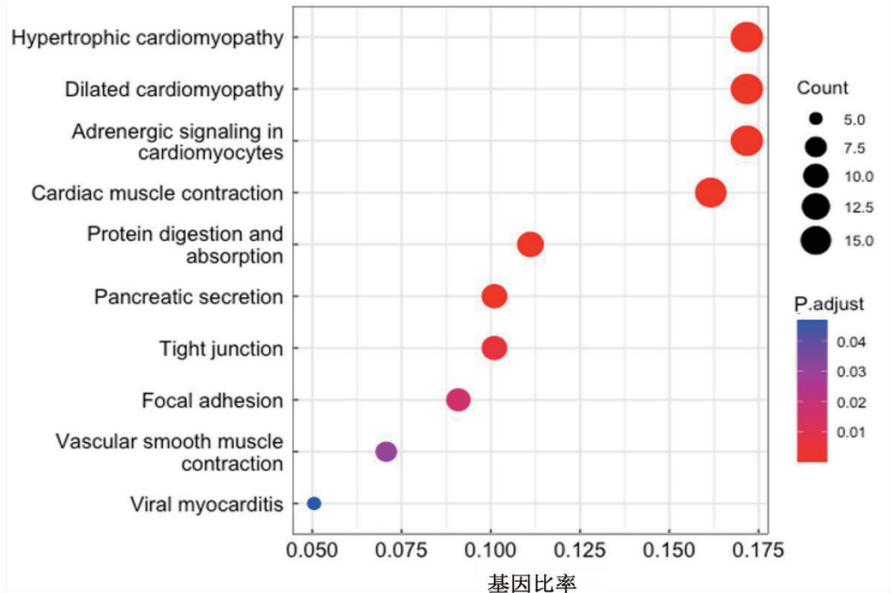


图 3 黄姑鱼肌肉组织中富集程度前 10 的 KEGG 信号通路散点图
Fig.3 Scatter diagram of KEGG signal pathway in muscle tissue of *Nibea albiflora* with the top 10 enrichment degree

进一步挖掘可靠的生长相关的功能基因, 结果发现以下基因, 即肌钙蛋白 C1 (troponin C1, slow skeletal and cardiac type, *tnnc1*)、肌钙蛋白 I2 (troponin I2, fast skeletal type, *tnni2*)、肌钙蛋白 T2 (troponin T2, cardiac type, *tnnt2*)、肌钙蛋白 T3 (troponin T3, fast skeletal type, *tnnt3*)、肌球蛋白重链 1 (myosin heavy chain 1, *myh1*)、肌球蛋白重链 6 (myosin heavy chain 6, *myh6*)、肌球蛋白重链 (myosin heavy chain, *myss*), 也存在于 GO 富集的生物学功能和 KEGG 富集的通路中, 表明了其功能的重要性。

2.5 实时荧光定量 PCR 结果

为了深入验证转录组测序获得基因表达量的可靠性, 随机选取 8 个基因 (上调表达基因 5 个, 下调表达基因 3 个) 进行实时荧光定量 PCR 验证。随机选择的上调表达基因分别为 *tnnt3*、*tnni2*、*myh1*、*tnnc1*、*slc25a22*, 下调表达基因分别为 *mmp16*、*celf3*、*rab34*。结果显示被测基因的表达模式与转录组测序分析结果吻合度较好 (见图 4), 进一步说明了测序数据以及通过本研究筛选到的差异基因可信度较高。

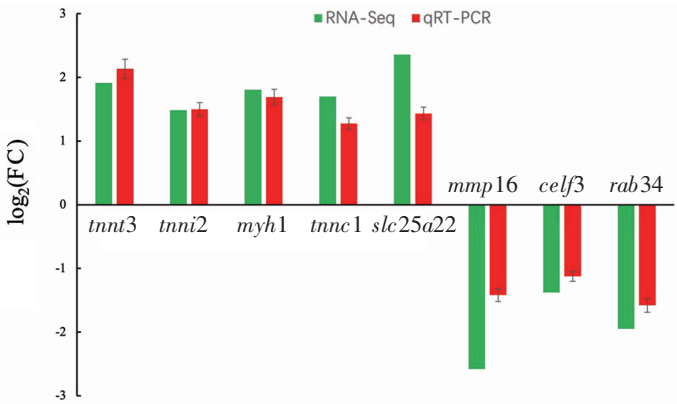


图 4 8 个差异表达基因 qRT-PCR 结果及转录组比较分析
Fig.4 Comparison of eight DEGs by qRT-PCR and transcriptome analysis

3 讨论

生长性状作为多基因控制的数量性状一直备受关注。生长发育相关研究不断涌现, 但目前只能解

析出少数与生长相关的候选基因。肌生成是一个复杂且受精密调控的过程^[18], 黄姑鱼不同个体体现出生长差异并非由单一基因或者某一信号通路决定, 而是由整个调控网络协同作用而成, 这也提示需要利用转录组技术, 较全面地阐明黄姑鱼生长性状的遗传机制。

本研究对同一网箱中生长较快的 110 尾黄姑鱼和生长较慢的 130 尾黄姑鱼进行转录组分析, 共获得差异表达基因 153 个, 其中上调表达基因 141 个, 下调表达基因 13 个, 这些基因可能激活肌肉相关调控和代谢。通过搜索基因的功能注释和通路, 筛选出一些可能与肌肉生长相关的候选功能基因, 包括 *Tn* 家族基因 (*tnnc1*、*tnni2*、*tnnt2*、*tnnt3*)、肌球蛋白重链 I (*myh1*) 和 VI (*myh6*)。在猪 (*Sus scrofa domestica*)^[19-21]、牦牛 (*Bos grunniens*)^[22]、小尾寒羊 (*Ovis aries*)^[23] 和小鼠 (*Mus musculus*) 等^[24-25] 研究中发现 *tnnc1*、*tnni2*、*tnnt2* 和 *tnnt3* 基因在骨骼肌发育、脂肪积累等方面有不同程度的影响。在本研究中, *tnnc1*、*tnni2*、*tnnt2* 和 *tnnt3* 在快速生长组的肌肉中表达水平较高。除了 *Tn* 家族基因外, *MHY* 家族基因是控制肌肉分化的主要基因, 主要在横纹肌和平滑肌中表达。肌源调控因子 (MRFs) 通过一系列分子开关影响并决定整个细胞生长。例如, 蛋肉鸡^[26] 的 *myh1* 基因表达被干扰后, 肌细胞中 *myoD1*、*myH3* 和 *myoG* 基因表达量相比之前显著降低, 肌管的融合也受到抑制, 表明 *myh1* 功能对肌肉生长发育存在正向调控。此外, 在石斑鱼 (*Epinephelus fuscoguttatus*)^[27]、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[28]、金头鲷 (*Sparus aurata*)^[29] 的相关研究中表明, *myss* 在鱼类肌肉产量变化方面起着重要作用, 而 *tnni2* 在个体高体重和肌肉产量方面的表达量显著上调, 这两个基因都可作为肌肉质量特征的潜在生物标志。在本研究中, 相较于缓慢生长组, 快速生长组中 *tnni2* 和 *myss* 的表达水平更高, 说明这些基因在控制肌肉生长方面起着重要作用, 表明这两个基因也可作为黄姑鱼肌肉快速生长的特征标志。通过转录组分析得到的候选基因主要作用于骨骼肌和横纹肌, 其对于肌细胞的分化、功能维持以及细胞活性的维持起重要作用, 表明这些基因可能导致鱼类的快速生长。此外, KEGG 通路主要富集在心肌方面。在对斑马鱼 (*Danio rerio*) 心脏与运动的研究^[30-31] 中发现, 心脏的微小变化可以显著改变心脏的功能, 同时心脏的生长与鱼类的生长呈线性相关, 心肌肥大和血管系统的扩张可以增强携氧能力, 为鱼类游泳提供更强的动力。本研究中游泳能力强的个体体长和体重均有显著提升, 由此推测, 快速生长的黄姑鱼由于肌肉相关基因表达上调, 其心肌发育和对运动能力调节有所改善, 促进新陈代谢和营养吸收, 最终使其体长和体重得到增长。

本试验基于 RNA-Seq 比较不同生长速率的黄姑鱼, 通过生物信息学分析, 筛选得到 7 个候选基因, 可能与骨骼肌的生长和发育的调控密切相关, 为后续研究提供了宝贵基因资源。可将研究结果进一步挖掘, 结合其他数据构建生长相关的调控网络, 也可对获得的候选基因进行功能研究, 解析黄姑鱼生长调控机制。

[参 考 文 献]

- [1] YIN F, LIU W, BAO P, et al. Comparison of the susceptibility and resistance of four marine perciform fishes to *Cryptocaryon irritans* infection[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 77:298-303.
- [2] XING S, SHAO C, LIAO X, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from a dinucleotide-enriched genomic library of spotted maigre (*Nibea albiflora*) [J]. Conservation Genetics, 2009, 10(3):789-791.
- [3] 王志勇, 谢仰杰, 陈庆凯. 2017 水产新品种推广指南[M]. 北京: 海洋出版社, 2017:27-43.
- [4] 沈海硕. 水产新品种黄姑鱼“全雌 1 号”通过国审[N]. 农村信息报, 2023-08-19(4) [2024-03-01].
- [5] 韩兆方. 黄姑鱼基因组精细图谱绘制及性别决定候选基因定位研究[D]. 厦门: 集美大学, 2019.
- [6] 罗帅. 黄姑鱼抗哈维氏弧菌病全基因组关联分析及相关免疫基因功能研究[D]. 厦门: 集美大学, 2021.
- [7] XU D, YOU Q, CHI C, et al. Transcriptional response to low temperature in the yellow drum (*Nibea albiflora*) and identification of genes related to cold stress[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 2018, 28: 80-89.
- [8] ZHANG W, LIU G, GU L, et al. Gene mapping of resistance to red head disease with pool-seq in the yellow drum[J]. Aqua-
<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

- culture,2022,552:737923.
- [9] LIU G, HAN Z, JIANG D, et al. Genome-wide association study identifies loci for traits related to swim bladder in yellow drum (*Nibea albiflora*) [J]. Aquaculture, 2020, 526: 735327.
- [10] 孟玮, 徐开达, 李振华, 等. 急性盐度胁迫对日本黄姑鱼肌肉组织转录组的影响[J]. 水产学报, 2021, 45(5): 649-660.
- [11] 李隐侠, 冯小品, 张莉, 等. 热应激前后湖羊下丘脑差异表达新基因的筛选与注释[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(2): 363-369.
- [12] 杨和川, 苏文英, 谭一罗, 等. 玉木耳转录组测序及褐变相关基因的挖掘[J]. 江西农业学报, 2020, 32(5): 7-12.
- [13] LOVE M I, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. Genome Biology, 2014, 15(12): 550.
- [14] YU G, WANG L G, HAN Y, et al. ClusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. OMICS: A Journal of Integrative Biology, 2012, 16(5): 284-287.
- [15] SHUMATE A, WONG B, PERTEA G, et al. Improved transcriptome assembly using a hybrid of long and short reads with StringTie[J]. PLoS Computational Biology, 2022, 18(6): e1009730.
- [16] PERTEA M, KIM D, PERTEA G M, et al. Transcript-level expression analysis of RNA-seq experiments with HISAT, StringTie and Ballgown[J]. Nature Protocols, Nature Publishing Group, 2016, 11(9): 1650-1667.
- [17] 王兰梅, 朱文彬, 傅建军, 等. 福瑞鲤2号不同生长速率个体肌肉组织转录组分析[J]. 水产学报, 2021, 45(1): 79-87.
- [18] ZHENG Q, ZHANG Y, CHEN Y, et al. Systematic identification of genes involved in divergent skeletal muscle growth rates of broiler and layer chickens[J]. BMC Genomics, 2009, 10: 87.
- [19] 杨冠青, 刘娟, 杨阳, 等. 猪 *TNNC1* 基因和 *TNNC2* 基因在肌肉组织中的发育性表达研究[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2020, 40(5): 21-26.
- [20] ZHU L, PEREZ-ALVARADO G, WADE R. Sequencing of a cDNA encoding the human fast-twitch skeletal muscle isoform of troponin I [J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 1994, 1217(3): 338-340.
- [21] 李小金. 基于 RNA-seq 技术对皖南花猪和大约克猪背最长肌差异基因的筛选[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2015.
- [22] 向娅. 牦牛 *TNNI* 基因家族的特征分析及其在横纹肌中的表达研究[D]. 成都: 西南民族大学, 2021.
- [23] 张阳. 小尾寒羊 *TNN2* 和 *TNN3* 基因的克隆、结构分析及组织表达分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- [24] CHAUDHURI T, MUKHERJEA M, SACHDEV S, et al. Role of the fetal and alpha/beta exons in the function of fast skeletal troponin T isoforms: correlation with altered Ca^{2+} regulation associated with development[J]. Journal of Molecular Biology, 2005, 352(1): 58-71.
- [25] 张波, 姜丹, 张东玲, 等. 大黄鱼生长速率差异个体肌肉组织的转录组比较分析[J]. 水产学报, 2023, 47(3): 87-100.
- [26] 刘子豪. 蛋肉鸡胚胎期骨骼肌的全基因组甲基化与转录组差异分析研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2019.
- [27] WANG T, YANG Y, GONG S, et al. Transcriptome analysis reveals differences in gene expression in the muscle of the brown-marbled grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) with different growth rates[J]. Fishes, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2023, 8(6): 309.
- [28] ALI A, AL-TOBASEI R, KENNEY B, et al. Integrated analysis of lncRNA and mRNA expression in rainbow trout families showing variation in muscle growth and fillet quality traits[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 12111.
- [29] SÁEZ-ARTEAGA A, WU Y, SILVA-MARRERO J I, et al. Gene markers of dietary macronutrient composition and growth in the skeletal muscle of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. Aquaculture, 2022, 555: 738221.
- [30] SINGLEMAN C, HOLTZMAN N G. Analysis of postembryonic heart development and maturation in the zebrafish, *Danio rerio* [J]. Developmental Dynamics, 2012, 241(12): 1993-2004.
- [31] PALSTRA A P, TUDORACHE C, ROVIRA M, et al. Establishing zebrafish as a novel exercise model: swimming economy, swimming-enhanced growth and muscle growth marker gene expression[J]. PLoS ONE, 2010, 5(12): e14483.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)