

Myomaker 和 Myomerger 调控成肌细胞融合的分子机制

朱艳¹, 张进威¹, 齐婧¹, 李学伟¹, 陈磊², 李明洲¹, 马继登¹

1. 四川农业大学动物科技学院, 畜禽遗传资源发掘与创新利用四川省重点实验室, 成都 611130

2. 重庆市畜牧科学院, 重庆 402460

摘要: 骨骼肌形成是一个复杂的生理过程, 主要涉及肌源性干细胞增殖形成成肌细胞, 进而分化、融合形成多核肌管。研究发现, 有多种蛋白参与成肌细胞融合过程, 但它们均不具有肌肉特异性。近年来, 两种肌肉特异性膜蛋白 Myomaker 和 Myomerger 先后被发现和鉴定, 它们能协调促进成肌细胞融合, 从而参与骨骼肌形成过程。本文对成肌过程中 Myomaker 和 Myomerger 的表达模式、功能域等研究现状及其参与成肌细胞的融合机制进行了综述, 旨在为深入研究骨骼肌形成过程及治疗肌细胞融合相关疾病提供参考信息。

关键词: 骨骼肌形成; Myomaker; Myomerger; 细胞融合

Molecular regulation mechanism of Myomaker and Myomerger in myoblast fusion

Yan Zhu¹, Jinwei Zhang¹, Jing Qi¹, Xuewei Li¹, Lei Chen², Mingzhou Li¹, Jideng Ma¹

1. Farm Animal Genetic Resource Exploration and Innovation Key Laboratory of Sichuan Province, College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

2. Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing 402460, China

Abstract: Myogenesis is a complex physiological process that is mainly involved in the proliferation of myogenic stem cells to form myoblasts, which then differentiated and fused to form multinucleated myotubes. Many proteins have been found to be involved in myoblast fusion, but none of them are muscle-specific fusion proteins. In recent years, two muscle-specific transmembrane proteins, i.e. Myomaker and Myomerger, have been discovered and identified, which can coordinate and promote the fusion of myoblasts and thus participate in the process of myogenesis. In this review, we summarize the research progress of Myomaker and Myomerger in myogenesis, including their expression patterns and functional domains, as well as their participation in myoblast fusion mechanisms, aiming to provide relevant ideas for

收稿日期: 2019-08-08; 修回日期: 2019-10-25

基金项目: 四川省省院省校科技合作研发项目(编号: 2017JZ0025), 四川省科技支持计划项目(编号: 2016NYZ0042, 2017NZDZX0002), 重庆市农业发展基金会项目(编号: 12404, 17430)和四川省科技厅重点研发项目(编号: 2019YFN0035)资助 [Supported by Research and Development Project of Scientific and Technological Cooperation between Sichuan Provincial Colleges and Universities (No. 2017JZ0025), the Science and Technology Support Program of Sichuan (Nos. 2016NYZ0042, 2017NZDZX0002), Chongqing Agricultural Development Foundation (Nos. 12404, 17430) and the Key Research and Development Projects of Sichuan Science and Technology Department (No. 2019YFN0035)]

作者简介: 朱艳, 硕士研究生, 专业方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: zhuyan_494062079@163.com

通讯作者: 马继登, 博士, 副教授, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: jideng.ma@sicau.edu.cn

DOI: 10.16288/j.yczs.19-232

网络出版时间: 2019/11/28 13:30:00

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.r.20191127.1143.002.html>

in-depth study of the myogenesis process and treatment of diseases related to myoblast fusion.

Keywords: myogenesis; *Myomaker*; *Myomerger*; myoblast fusion

骨骼肌形成(myogenesis)是一个复杂的生理过程,包括胚胎和幼年的肌肉发育以及成年肌肉损伤后再生过程^[1]。成肌调控因子(myogenic regulatory factors, MRFs)的时序性表达促进了肌肉结构和功能的完善,对成肌命运决定和肌管分化至关重要^[2]。单核成肌细胞或肌源性祖细胞被激活进而融合形成多核肌管是成肌的关键步骤^[3,4],研究表明这一过程受多种蛋白的协作调控,但很少涉及肌肉特异性的调控蛋白。直到 2013 年,美国德克萨斯大学达拉斯西南医学中心的 Millay 团队^[5]发现 TMEM8c (并命名为 *Myomaker*)是一种能直接调控成肌细胞融合的肌肉特异性膜蛋白。*Myomaker* 含有 7 个跨膜域^[6]且在骨骼肌生成和损伤修复过程中瞬时高丰度表达,能有效促进成肌细胞融合^[5,7]。2017 年,另一种肌肉特异性融合蛋白 GM7325 被发现和鉴定,并命名为 *Myomerger* (也称 *Minion* 或 *Myomixer*)。*Myomerger* 能促进融合性细胞(如成肌细胞)间发生融合,当与 *Myomaker* 共同表达时,也能诱导非融合性细胞间(如成纤维细胞)发生融合^[1,8,9]。然而目前 *Myomaker* 和 *Myomerger* 协同调控细胞融合的机制还有待深入研究。本文综述了 *Myomaker* 和 *Myomerger* 在成肌细胞融合方面的最新进展,为研究骨骼肌形成的分子机制提供理论依据,同时也为治疗细胞融合相关疾病提供一定思路。

1 骨骼肌形成过程

1.1 骨骼肌形成

骨骼肌是机体的重要组成部分^[10],由多核肌纤维彼此紧密排列构成。骨骼肌形成包括前体细胞招募、成肌细胞分化、单核肌细胞融合等。在胚胎骨骼肌发育过程中,PAX7⁺前体细胞(肌源性干细胞)被招募为成肌细胞,然后增殖和分化,最后彼此融合或与现存肌纤维融合形成多核成熟肌管^[11];同样,当骨骼肌受到外源损伤后,依附于肌纤维基部的静息肌卫星细胞会被激活进而增殖、分化,最终融合

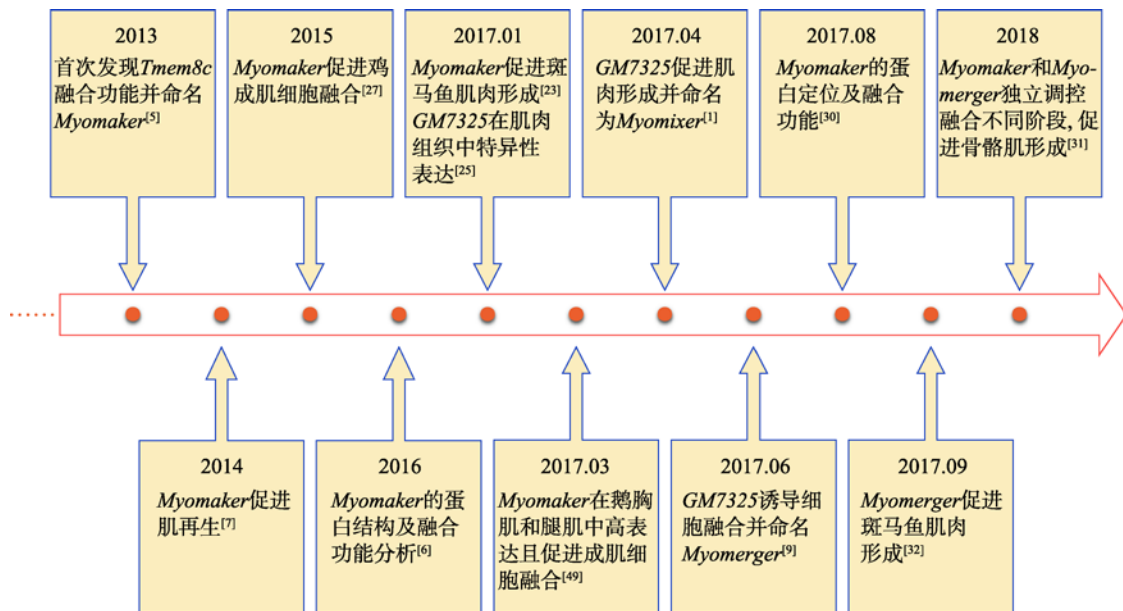
形成新肌管以修复肌肉创伤^[12],因此成肌细胞融合是骨骼肌形成的关键步骤。

1.2 成肌细胞融合

成肌细胞融合是一个受到高度调控的动态过程,主要涉及细胞骨架重排以及在细胞膜上形成融合孔并交换细胞质成分,最终完成细胞融合^[13]。Yafe 等^[14]研究表明,许多调控因子参与了细胞融合的调控过程,如 MRFs 家族(主要包括 *Myf5*、*MyoD*、*MyoG* 和 *Myf4*),该家族可以与 E-box 元件结合,调控大多数成肌相关基因的转录。*Myf5* 和 *MyoD* 被认为是肌形成的决定因子,而 *MyoG* 和 *Myf4* 在分化后期高度表达,触发成肌细胞融合最终形成肌管^[15]。目前研究表明,部分细胞粘附蛋白参与了成肌细胞融合过程^[16-18],如 *Myoferlin* 是一种在融合细胞膜上高表达的跨膜蛋白,由 6 个 C2 结构域(8 个 β 链形成的折叠结构)和一个羧基端跨膜域构成^[19,20],依赖于钙离子与磷脂结合^[21]。*Myoferlin* 氨基末端的 C2 结构域(C2 domain of the amino terminus, C2A)突变可以破坏这种结合,从而降低肌管的融合效率^[22]。然而,上述蛋白均是非肌肉特异性蛋白,并且许多蛋白在成肌细胞融合过程中并未发挥直接调控作用。因此,研究和揭示直接参与成肌细胞融合的肌特异性膜蛋白成为当前研究热点。近年来,随着对 *Myomaker* 和 *Myomerger* 的研究,肌细胞融合过程的调控机制逐渐清晰(图 1)。

2 成肌过程中 *Myomaker* 和 *Myomerger* 表达模式

2013 年以前,对 *Tmem8c* 基因的研究几乎是空白,直到 Millay 团队^[5]首次发现 *Tmem8c* 的融合功能并命名为 *Myomaker*。该团队通过对小鼠(*Mus musculus*)胚胎进行原位杂交,发现 *Myomaker* 主要在肌肉组织中特异性表达,提示 *Myomaker* 对骨骼肌发育的重要性。同时,Zhang 等^[23]和 Landemaine

图 1 *Myomaker* 和 *Myomerger* 研究进展Fig. 1 Research progress in *Myomaker* and *Myomerger*

等^[24]研究发现 *Myomaker* 在斑马鱼(*Danio rerio*)快肌(融合能力较强)中高表达,在慢肌(融合能力较弱)中表达量显著降低;另外,通过 qPCR 发现 *Myomaker* 的表达模式类似于 *MyoD* 和 *MyoG*,即在胚胎骨骼肌形成过程中的表达水平明显高于骨骼肌发育完成后。2017 年,Takei 等^[25]发现了另一种膜蛋白 *GM7325* 的表达量在激活的肌卫星细胞中显著上调,暗示对骨骼肌形成的重要作用。同年,Quinn 等^[9]将 *GM7325* 命名为 *Myomerger*,发现 *Myomerger* 也在肌肉组织中特异性表达,并且在小鼠胚胎发育过程中 *Myomerger* 和 *Myomaker* 的表达模式类似^[5]。骨骼肌生长通常发生在胚胎期和成年肌肉再生期两个阶段。对此,Millay 等^[7]为了研究 *Myomaker* 在骨骼肌再生过程中的表达情况,向成年小鼠骨骼肌注射心脏毒素(cardiotoxin, CTX)使之损伤再生,结果显示当骨骼肌受到损伤刺激时,处于静息期的肌卫星细胞被迅速激活,同时 *Myomaker* 的表达量显著上升进而促进细胞融合、修复损伤;在 C2C12 细胞水平,*Myomaker* 和 *Myomerger* 在细胞分化和融合过程中的表达量逐渐上升,在分化末期则迅速降低。另外,He 等^[26]通过免疫印迹分析,发现 *Myomaker* 和 *Myomerger* 蛋白表达模式与其 mRNA 相似,该结果在斑马鱼^[23,24]和鸡(*Gallus gallus*)^[27]中再次得到了验证。

虽然 *Myomaker* 和 *Myomerger* 的功能性表达在小鼠、斑马鱼和鸡中相似,但是其物种保守性仍有待在更多物种中研究确定。

3 *Myomaker* 和 *Myomerger* 的功能域

3.1 *Myomaker* 蛋白定位及结构

随着基因注释研究的不断完善,目前一些常见物种,包括人(*Homo sapiens*)^[28]、小鼠^[5-9,25,29]、斑马鱼^[23]、鸡^[27]的 *Myomaker* 和 *Myomerger* 基因结构已经得到解析(表 1),但对于蛋白功能研究还相对滞后。Gamage 等^[30]通过设计两种不同定位的 *Myomaker* 抗体,发现 *Myomaker* 不仅定位于细胞膜,也存在于高尔基体和囊泡,这揭示 *Myomaker* 在细胞中的精确定位及其潜在的细胞间转运功能。另外,Millay 等^[6]通过免疫荧光染色(immunofluorescence, IF)发现 *Myomaker* 具有 7 个跨膜结构域(含胞外 N 端和胞内 C 端),且 *Myomaker* 最后 7 个氨基酸(氨基酸 215~221)的缺失会抑制细胞融合;Gamage 等^[30]通过对 *Myomaker* C 端分析,发现 *Myomaker* 蛋白含有 3 个保守的棕榈酰化半胱氨酸,其可能参与调控高尔基体转运(图 2A)。综上所述,这些研究将有利于进

表 1 常见物种 *Myomaker* 和 *Myomerger* 基因结构

Table 1 Gene structures of *Myomaker* and *Myomerger* in common species

基因	物种	染色体位置	可变剪接 受体数	转录 ID	外显子数	转录长度 (bp)	翻译长度 (aa)	参考文献
<i>Myomaker</i>	小鼠 (<i>M. musculus</i>)	Chr.2:27061636-27072179	2	ENSMUST00000009358.2	5	1382	221	[5~7,29]
				ENSMUST00000163967.1	5	1210	180	
	人 (<i>H. sapiens</i>)	Chr.9:136379708-136393734	2	ENST00000339996.3	5	818	221	[28]
				ENST00000413714.1	0	531	—	
	斑马鱼 (<i>D. rerio</i>)	Chr.5:68934948-68940186	2	ENSDART00000033962.6	5	663	220	[23]
				ENSDART00000138519.1	1	258	45	
<i>Myomerger</i>	小鼠 (<i>M. musculus</i>)	Chr.17: 45600967-45602102	3	ENSMUST00000113529.2	1	811	84	[8,9,25]
				ENSMUST00000169137.1	2	852	18	
				ENSMUST00000178858.1	1	808	84	
	大鼠 (<i>R. norvegicus</i>)	Chr.9: 16670994-16671263	1	ENSRNOT00000064497.2	1	270	89	—
	人 (<i>H. sapiens</i>)	Chr.6: 44216939-44218236	2	ENST00000573382.2	1	817	84	—
				ENST00000576476.1	1	682	84	

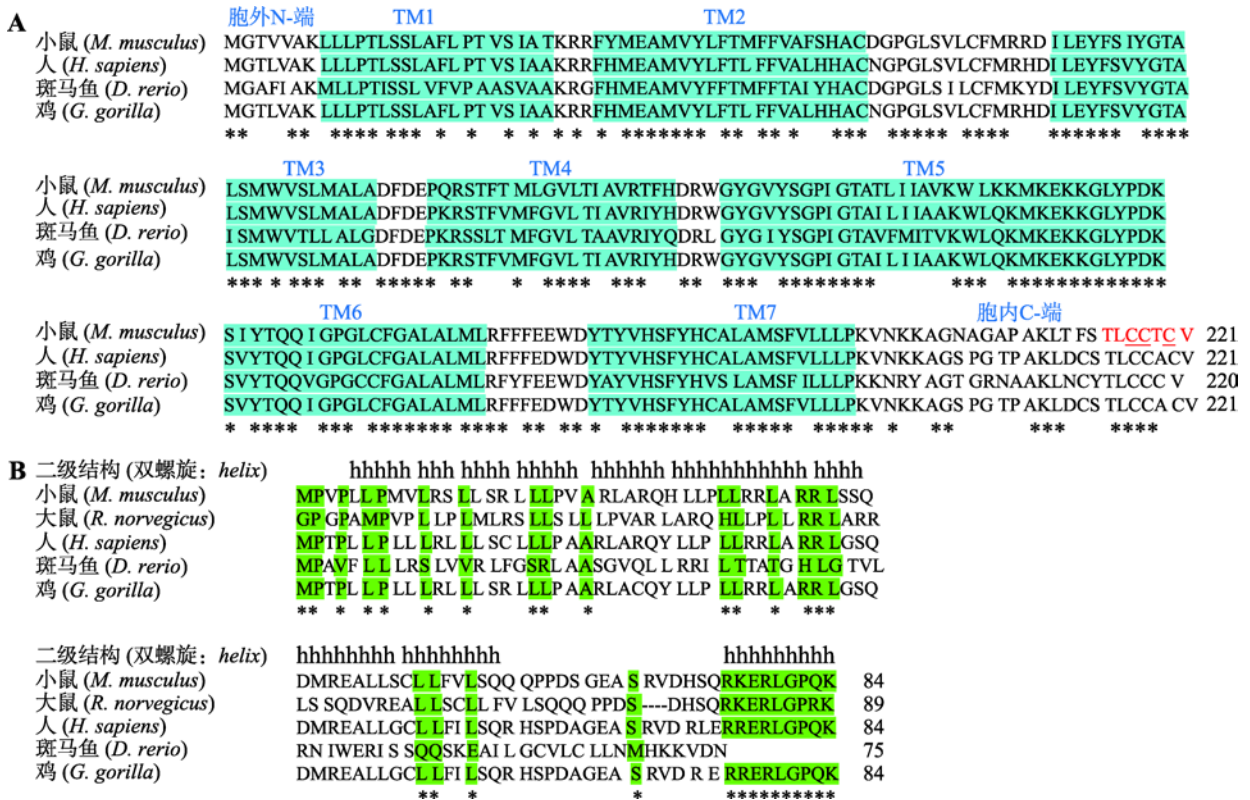


图 2 常见物种 *Myomaker* 和 *Myomerger* 蛋白序列对比

Fig. 2 Protein sequence alignment of *Myomaker* and *Myomerger* between common species

A: 常见物种 *Myomaker* 蛋白序列对比。TM1-7: 7 个跨膜区域; 红色序列: 具有促进细胞融合功能; 红色下划线序列: 棕榈酰化半胱氨酸; 小鼠、人、斑马鱼和鸡在 UNIPROT 中的 ID 号分别为: Q9D1N4、A6NI61、Q6IQ69 和 G3RFK8。B: 常见物种 *Myomerger* 蛋白序列对比。小鼠、大鼠、人、斑马鱼和鸡在 UNIPROT 中的 ID 号分别为 Q2Q5T5、D4A557、A0A1B0GTQ4、P0DP88 和 G3RUY6。

一步解析和阐释成肌细胞的融合机制。

3.2 Myomerger 蛋白结构

相比于 Myomaker, 目前对 Myomerger 的结构研究还较少。研究发现, Myomerger 含有多重螺旋区 (图 2B), 其中 N 端疏水区域 (氨基酸 5~25) 可能具有跨膜结构。Bi 等^[1]通过免疫共沉淀 (Co-immunoprecipitation, Co-IP) 分析表明, Myomerger N 端第一个 α -螺旋域内带正电的精氨酸能显著影响细胞融合能力。同时, Leikina 等^[31]通过免疫印迹 (Western blot) 证实 Myomerger 在细胞表面表达, 且通过异源融合实验表明 Myomerger 能显著促进成肌细胞与成纤维细胞完全融合, 但具体作用仍需进一步研究。

4 Myomaker 和 Myomerger 对细胞融合的影响

4.1 Myomaker 和 Myomerger 促进细胞完全融合

在成肌细胞分化过程中, Myomaker 和 Myomerger 的表达量逐渐增加, 在分化末期, 其表达量显著降低, 这种峰值表达模式暗示 Myomaker 和 Myomerger 可能在细胞分化过程中发挥着重要作用。对此, Millay 等^[6]和 Quinn 等^[9]利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术分别将小鼠 Myomaker 和 Myomerger 敲除后, 发现这两种蛋白的缺失能显著抑制成肌细胞融合, 该结果同样在鸡^[27]和斑马鱼^[32]中也得到了验证。然而, Myomaker 和 Myomerger 敲除后均检测到 Myosin (分化标志基因) 的表达, 说明 Myomaker 和 Myomerger 并不直接影响细胞分化, 而是调控细胞融合。一直以来, Myomaker 被认为能有效促进肌源性细胞融合。Myomaker 能赋予非融合细胞融合能力, 即 Myomaker 也能促进非融合细胞如成纤维细胞与成肌细胞融合。但 Myomaker 不能促进非肌细胞间的融合, 即使过表达 Myomaker 后, 成纤维细胞间不能发生融合, 由此暗示其他因子可能参与非肌细胞间发生融合。近来研究发现, 共表达 Myomaker 和 Myomerger 的成纤维细胞在数小时内开始融合, 最终形成巨大的合胞体^[1,8], 表明 Myomaker 和 Myomerger 能协同作用促进非肌细胞完全融合。

4.2 Myomaker 和 Myomerger 独立调控成肌细胞融合的不同阶段

近年来, Myomaker 和 Myomerger 协同促进细胞融合的机制逐渐得到解析。Bi^[1]和 Millay 等^[5]研究发现, Myomaker 和 Myomerger 敲除的小鼠胚胎表现出相似表型, 但这些表型却存在细微差异, 例如在胚胎 17.5 天, Myomerger 敲除小鼠的肌细胞排列更紧密, 暗示 Myomaker 和 Myomerger 在融合过程中可能发挥着不同功能。Leikina 等^[31]发现 Myomaker 和 Myomerger 调控成肌细胞融合和骨骼肌形成, 但其结构却与传统的融合蛋白不同; 免疫印迹结果证明 Myomerger 主要在细胞表面表达, 并作用于胞外应力膜; 异源融合实验表明 Myomerger 能独立于 Myomaker 促进融合完成, 并且 Myomaker 和 Myomerger 间的物理交互作用并不是其功能所必需的; 通过双标记探针发现 Myomaker 主要参与膜半融合 (即双层膜中仅一层发生融合), 而 Myomerger 主要促进融合孔形成 (即双层膜均发生融合, 为胞质交换提供有利条件)。总之, 成肌细胞融合是一个逐步完成的过程, 其中 Myomaker 和 Myomerger 独立调控成肌细胞融合的两个不同阶段^[31]: 第一阶段, Myomaker 促进半融合形成, 而 Myomerger 并未发挥调控作用; 第二阶段, Myomerger 作用于细胞膜, 产生膜应力, 以独立于 Myomaker 的方式促进完全融合, 最后形成多核的合胞体。另外, 该研究还发现一些因子 (如 Octyl glucopyranoside 和 magainin 2) 能弥补 Myomerger 的缺失进而促进细胞融合^[31], 这将为治疗肌肉相关疾病提供一定参考, 但 Myomaker 和 Myomerger 是如何驱动半融合向完全融合转变仍有待进一步研究。

5 Myomaker、Myomerger 及其相关因子对成肌细胞融合过程的调控机制

5.1 参与成肌细胞融合的调控因子

成肌细胞融合主要涉及 3 个关键步骤: 首先成肌细胞彼此识别并粘附在一起, 其次细胞膜的脂质双层发生重排形成融合孔, 最后融合孔扩张形成合

胞体并出现多核肌管。在这些复杂的过程中,除了 *Myomaker* 和 *Myomerger* 这两种肌肉特异性蛋白参与调控外,还有许多其他因子参与其中(图 3)。例如一些免疫球蛋白超家族(immunoglobulin superfamily, Ig superfamily)被证实参与了成肌细胞融合过程^[33]。Srinivas 等^[34]利用吗啉代(morpholino)介导的敲除实验,发现斑马鱼胚胎中 *Kirrel* 和 *Nephrin* 基因缺失会导致更短的肌管形成,暗示它们在成肌细胞融合过程发挥着重要作用。Powell 等^[35]研究表明,细胞黏附分子 *Jamb* 和 *Jamc* 突变会抑制斑马鱼胚胎中成肌细胞融合,从而形成单核的胚胎肌纤维。同样,另一种蛋白 *Cadherins* 被认为在细胞融合中发挥着黏附分子的作用^[36,37],但具体的重要作用还有待进一步研究。在 C2C12 细胞分化过程中,Zhang 等^[8]对 *Myomerger* 进行免疫沉淀质谱分析(IP-mass spectrometry)发现了许多具有注释功能的蛋白。例如 *Ferlin* 家族成员 *Dysferlin*,该基因突变会导致遗传性肌营养不良。Cárdenas 等^[38]发现 *Dysferlin* 在与细胞融合相关的过程中(如膜修复、囊泡转运和胞吐)具有

调控作用。De 等^[39]研究表明 *Dysferlin* 基因缺失能明显抑制成肌细胞融合,但具体的调控机制仍有待深入研究。

近年来还发现了另一个调控成肌细胞融合的潜在途径,即磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)与其受体 *BAI1*^[40]或 *Stability-2*^[41]结合,BAI1 或 *Stability-2* 通过 ELMO/Dock1 通路激活 *Rac1*,进而调控细胞膜重排。Kim 等^[42]和 Jeong 等^[43]研究发现,PS 可转移到胞外且可以作为直接促进细胞融合的信号。*BAI1* 和 *Stability-2* 作为一种膜蛋白,其作用机制与 *Myomaker* 和 *Myomerger* 类似,但敲除 *Myomaker* 和 *Myomerger* 具有胚胎致死性,而 *BAI1* 或 *Stabilin-2* 缺失对肌肉损伤则相对温和^[40,41],但具体机制还需进一步研究。

5.2 *Myomaker* 和 *Myomerger* 对成肌细胞融合的转录调控机制

研究表明,参与调控成肌细胞融合的 *Myomaker* 和 *Myomerger* 主要受 MRFs 和一些非编码 RNA 调控。

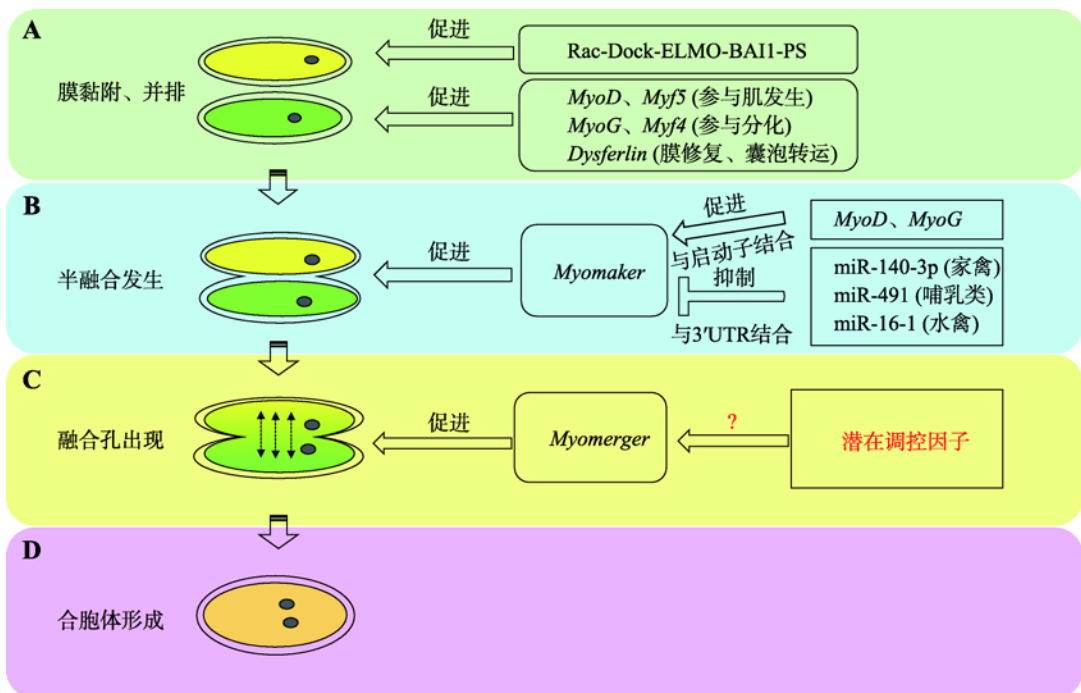


图 3 *Myomaker*、*Myomerger* 及其相关因子对成肌细胞融合过程的调控机制

Fig. 3 Schematic diagram of the regulatory roles of *Myomaker*, *Myomerger* and related genes at each stage of myoblast fusion

A: 多种调控因子参与细胞膜的黏附及并排过程; B: *Myomaker* 促进半融合发生; C: *Myomerger* 促进融合孔形成; D: 细胞融合形成多核的合胞体。?: 代表潜在调控机制。

Luo 等^[27]对鸟类成肌细胞研究发现,在分化过程中,*MyoD* 和 *MyoG* 可直接与 *Myomaker* 启动子结合,从而调控 *Myomaker* 转录。研究表明,miRNAs 在骨骼肌分化中发挥着关键作用^[44-46],例如:miR-1 能促进骨骼肌成肌细胞分化^[47];miR-133 促进细胞增殖但抑制肌源性基因的表达^[47];miR-206 在骨骼肌中高表达,但其作用还有待研究^[48]。Luo 等^[27]研究表明,miR-140-3p 与 *Myomaker* 3'-UTR 靶向结合从而抑制鸟类 *Myomaker* 表达及成肌细胞融合,暗示 *Myomaker* 可能是 miRNAs 调节骨骼肌分化的关键因子。另外,He 等^[26]对小鼠的研究发现,miR-491 能与 *Myomaker* 3'-UTR 特异性结合使 *Myomaker* 表达下调。过表达 miR-491 能显著抑制肌肉细胞分化和成年肌肉损伤后再生,而抑制 miR-491 表达则能促进肌管分化,因此,miR-491 可作为一种新的肌源性分化负调控因子通过靶向 *Myomaker* 影响成肌过程。Ke 等^[49]研究发现,在鹅(*Anser cygnoides*)的胸肌和腿肌中与 *Myomaker* 表达具有负相关的 miRNAs 有 4 个,包括 miR-125b-5p、miR-15a、miR-16-1 和 miR-23。双荧光素酶报告基因检测(dual-Luciferase Reporter Gene Assay)发现只有 miR-16-1 能直接靶向 *Myomaker*,表明 miR-16-1 可能是影响 *Myomaker* 的潜在因素,但进一步的功能研究有待进一步被验证。总之,*Myomaker* 和 *Myomerger* 是控制肌细胞融合的重要蛋白,同样受到 MRFs 和一些非编码 RNA 调控,因此,进一步完善 *Myomaker* 和 *Myomerger* 的上下游调控网络有利于深入解析肌细胞融合过程及潜在机制。

6 结语与展望

近年来,*Myomaker* 和 *Myomerger* 已成为研究成肌细胞融合的“明星分子”。Fineman-Ziter 综合征^[28]和杜氏肌肉营养不良症(Duchenne muscular dystrophy, DMD)是两种由成肌细胞融合受阻导致的遗传性肌肉疾病。*Myomaker* 和 *Myomerger* 能使受损肌纤维的成肌细胞再次发生融合从而修复骨骼肌损伤,这不仅为研究骨骼肌再生的分子机制提供理论依据,也可为临床上治疗骨骼肌萎缩等相关疾病提供思路。虽然治疗肌营养不良症可通过外源细胞融合来促进

新肌纤维形成^[50,51],但这种方法所形成的肌纤维融合率极低,恢复肌肉功能也是难以实现。近年来 *Myomaker* 和 *Myomerger* 的发现为提高肌纤维融合率提供了新思路。*Myomaker* 和 *Myomerger* 在细胞水平上能显著提高融合能力,从而诱导多核肌纤维形成。另外,*Myomaker* 过表达可以促进一些非肌源性细胞(如成纤维细胞)与骨骼肌在体内发生融合^[52],由此为治疗骨骼肌损伤相关疾病提供新策略。对于肉用动物,其肌肉的良好生长发育关系到其本身健康和经济价值。由于肌纤维的组织学特征是决定肉质性状指标的关键因素^[53],因此 *Myomaker* 和 *Myomerger* 促进多核肌纤维形成的潜能也有助于改善畜禽肉用性能。目前已发现 *Myomaker* 在鸡、鹅等农业动物骨骼肌发育中发挥着重要作用,对此通过研究 *Myomaker* 和 *Myomerger* 对成肌细胞融合的影响机制,可为研究肌肉品质提供一定程度的理论依据,从而推动畜禽肉用品质的改善。

参考文献(References):

- [1] Bi P, Ramirez-Martinez A, Li H, Cannavino J, McAnally JR, Shelton JM, Sánchez-Ortiz E, Bassel-Duby R, Olson EN. Control of muscle formation by the fusogenic micropeptide myomixer. *Science*, 2017, 356(6335): 323-327. [DOI]
- [2] Bentzinger CF, Wang YX, Rudnicki MA. Building muscle: molecular regulation of myogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4(2): 441-441. [DOI]
- [3] Rochlin K, Yu S, Roy S, Baylies MK. Myoblast fusion: when it takes more to make one. *Dev Biol*, 2010, 341(1): 66-83. [DOI]
- [4] Doles JD, Olwin BB. Muscle stem cells on the edge. *Curr Opin Genet Dev*, 2015, 34: 24-28. [DOI]
- [5] Millay DP, O'Rourke JR, Sutherland LB, Bezprozvannaya S, Shelton JM, Bassel-Duby R, Olson EN. Myomaker is a membrane activator of myoblast fusion and muscle formation. *Nature*, 2013, 499(7458): 301-305. [DOI]
- [6] Millay DP, Gamage DG, Quinn ME, Min YL, Mitani Y, Bassel-Duby R, Olson EN. Structure-function analysis of myomaker domains required for myoblast fusion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(8): 2116-2121. [DOI]
- [7] Millay DP, Sutherland LB, Bassel-Duby R, Olson EN. Myomaker is essential for muscle regeneration. *Genes Dev*, 2014, 28(15):1641-1646. [DOI]

- [8] Zhang Q, Vashisht AA, O'Rourke J, Corbel SY, Moran R, Romero A, Miraglia L, Zhang J, Durrant E, Schmedt C, Sampath SC. The microprotein Minion controls cell fusion and muscle formation. *Nat Commun*, 2017, 8: 15664. [DOI]
- [9] Quinn ME, Goh Q, Kurosaka M, Gamage DG, Petrany MJ, Prasad V, Millay DP. Myomerger induces fusion of non-fusogenic cells and is required for skeletal muscle development. *Nat Commun*, 2017, 8(8): 15665. [DOI]
- [10] Pavlath GK, Horsley V. Cell fusion in skeletal muscle: central role of NFATC2 in regulating muscle cell size. *Cell Cycle*, 2003, 2(5): 419–422. [DOI]
- [11] Borello U, Berarducci B, Murphy P, Bajard L, Buffa V, Piccolo S, Buckingham M, Cossu G. The Wnt/beta-catenin pathway regulates Gli-mediated Myf5 expression during somitogenesis. *Development*, 2006, 133(18): 3723. [DOI]
- [12] Chargé SB, Rudnicki MA. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol Rev*, 2004, 84(1): 209–238. [DOI]
- [13] Si YF, Wen HS, Du SJ. Genetic mutations in jamb, jamc, and myomaker revealed different roles on myoblast fusion and muscle growth. *Mar Biotechnol*, 2019, 21(1): 111–123. [DOI]
- [14] Yafe A, Shklover J, Weisman-Shomer P, Bengal E, Fry M. Differential binding of quadruplex structures of muscle-specific genes regulatory sequences by MyoD, MRF4 and myogenin. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(12): 3916. [DOI]
- [15] Berkes CA, Tapscott SJ. MyoD and the transcriptional control of myogenesis. *Semin Cell Dev Biol*, 2005, 16(4): 585–595. [DOI]
- [16] Charrasse S, Comunale F, Fortier M, Portales-Casamar E, Debant A, Gauthier-Rouvière C. M-cadherin activates Rac1 GTPase through the Rho-GEF trio during myoblast fusion. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(5): 1734–1743. [DOI]
- [17] Charrasse S, Meriane M, Comunale F, Blangy A, Gauthier-Rouvière C. N-Cadherin-Dependent cell-cell contact regulates Rho GTPases and β -Catenin localization in mouse C2C12 myoblasts. *J Cell Biol*, 2002, 158(5): 953–965. [DOI]
- [18] Schwander M, Leu M, Stumm M, Dorchies OM, Ruegg UT, Schittny J, Müller T. Integrins regulate myoblast fusion and sarcomere assembly. *Dev Cell*, 2003, 4(5): 673–685. [DOI]
- [19] Shao X, Davletov BA, Sutton RB, Südhof TC, Rizo J. Bipartite Ca^{2+} -binding motif in C2 domains of synaptotagmin and protein kinase C. *Science*, 1996, 273(5272): 248–251. [DOI]
- [20] Sutton RB, Davletov BA, Berghuis AM, Südhof TC, Sprang SR. Structure of the first C2 domain of synaptotagmin I: a novel Ca^{2+} /phospholipid-binding fold. *Cell*, 1995, 80(6): 929–938. [DOI]
- [21] Davis BD, Doherty KR, Delmonte AJ, McNally EM. Calcium-sensitive phospholipid binding properties of normal and mutant ferlin C2 domains. *J Biol Chem*, 2002, 277(25): 22883–22888. [DOI]
- [22] Doherty KR, Cave A, Davis DB, Delmonte AJ, Posey A, Earley JU, Hadhazy M, McNally EM. Normal myoblast fusion requires myoferlin. *Development*, 2005, 132(24): 5565–5575. [DOI]
- [23] Zhang W, Roy S. Myomaker is required for the fusion of fast-twitch myocytes in the zebrafish embryo. *Dev Biol*, 2017, 423(1): 24–33. [DOI]
- [24] Landemaine A, Rescan PY, Gabillard JC. Myomaker mediates fusion of fast myocytes in zebrafish embryos. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 451(4): 480–484. [DOI]
- [25] Takei D, Nishi M, Fukada S, Doi M, Okamura H, Uezumi A, Zhang LD, Yoshida M, Miyazato M, Ichimura A, Takeshima H. Gm7325 is MyoD-dependently expressed in activated muscle satellite cells. *Biomed Res*, 2017, 38(3): 215–219. [DOI]
- [26] He J, Wang F, Zhang P, Li WJ, Wang J, Li JL, Liu HG, Chen XP. MiR-491 inhibits skeletal muscle differentiation through targeting myomaker. *Arch Biochem Biophys*, 2017, 625–626: 30–38. [DOI]
- [27] Luo W, Li E, Nie QH, Zhang XQ. Myomaker, regulated by MYOD, MYOG and miR-140-3p, promotes chicken myoblast fusion. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(11): 26186–26201. [DOI]
- [28] Di GS, Connors S, Matsunami N, Cannavino J, Rose MF, Gilette NM, Artoni P, de Macena Sobreira NL, Chan WM, Webb BD, Robson CD, Cheng L, Van Ryzin C, Ramirez-Martinez A, Mohassel P, Leppert M, Scholand MB, Grunseich C, Ferreira CR, Hartman T, Hayes IM, Morgan T, Markie DM, Fagiolini M, Swift A, Chines PS, Speck-Martins CE, Collins FS, Jabs EW, Bönnemann CG, Olson EN, Carey JC, Robertson SP, Manoli I, Engle EC. A defect in myoblast fusion underlies Carey-Fineman-Ziter syndrome. *Nat Commun*, 2017, 8: 16077. [DOI]
- [29] Parsons SA, Millay DP, Sargent MA, Naya FJ, McNally EM, Sweeney HL, Molkentin JD. Genetic disruption of calcineurin improves skeletal muscle pathology and cardiac disease in a mouse model of limb-girdle muscular dystrophy. *J Biol Chem*, 2007, 282(13): 10068–10078. [DOI]
- [30] Gamage DG, Leikina E, Quinn ME, Ratnov A, Chernomordik LV, Millay DP. Insights into the localization and function of myomaker during myoblast fusion. *J Biol*

- Chem*, 2017, 292(42): 17272–17289. [DOI]
- [31] Leikina E, Gamage DG, Prasad V, Goykhberg J, Crowe M, Diao J, Kozlov MM, Chernomordik LV, Millay DP. Myomaker and Myomerger work independently to control distinct steps of membrane remodeling during myoblast fusion. *Dev Cell*, 2018, 46(6): 767–780.e7. [DOI]
- [32] Shi J, Bi P, Pei JM, Li H, Grishin NV, Bassel-Duby R, Chen EH, Olson EN. Requirement of the fusogenic micropeptide myomixer for muscle formation in zebrafish. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(45): 11950–11955. [DOI]
- [33] Krauss RS, Joseph GA, Goel AJ. Keep your friends close: cell-cell contact and skeletal myogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9(2): a029298. [DOI]
- [34] Srinivas BP, Woo J, Leong WY, Roy S. A conserved molecular pathway mediates myoblast fusion in insects and vertebrates. *Nat Genet*, 2007, 39(6): 781–786. [DOI]
- [35] Powell GT, Wright GJ. Jamb and jamc are essential for vertebrate myocyte fusion. *PLoS Biol*, 2011, 9(12): e1001216. [DOI]
- [36] Hollnagel A, Grund C, Franke WW, Arnold HH. The cell adhesion molecule M-cadherin is not essential for muscle development and regeneration. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(13): 4760–4770. [DOI]
- [37] Charlton CA, Mohler WA, Radice GL, Hynes RO, Blau HM. Fusion competence of myoblasts rendered genetically null for N-cadherin in culture. *J Cell Biol*, 1997, 138(2): 331–336. [DOI]
- [38] Cárdenas AM, González-Jamett AM, Cea LA, Bevilacqua JA, Caviedes P. Dysferlin function in skeletal muscle: Possible pathological mechanisms and therapeutical targets in dysferlinopathies. *Exp Neurol*, 2016, 283: 246–254. [DOI]
- [39] De Luna N, Gallardo E, Soriano M, Dominguez-Perles R, de la Torre C, Rojas-García R, García-Verdugo JM, Illa I. Absence of dysferlin alters myogenin expression and delays human muscle differentiation "in vitro". *J Biol Chem*, 2006, 281(25): 17092–17098. [DOI]
- [40] Hochreiter-Hufford AE, Lee CS, Kinchen JM, Sokolowski JD, Arandjelovic S, Call JA, Klibanov AL, Yan Z, Mandell JW, Ravichandran KS. Phosphatidylserine receptor BAI1 and apoptotic cells as new promoters of myoblast fusion. *Nature*, 2013, 497(7448): 263–267. [DOI]
- [41] Park SY, Yun Y, Lim JS, Kim MJ, Kim SY, Kim JE, Kim IS. Stabilin-2 modulates the efficiency of myoblast fusion during myogenic differentiation and muscle regeneration. *Nat Commun*, 2016, 7: 10871. [DOI]
- [42] Kim GW, Nam GH, Kim IS, Park SY. Xk-related protein 8 regulates myoblast differentiation and survival. *Febs J*, 2017, 284(21): 3575–3586. [DOI]
- [43] Jeong J, Conboy IM. Phosphatidylserine directly and positively regulates fusion of myoblasts into myotubes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 414(1): 9–13. [DOI]
- [44] Williams AH, Liu N, van Rooij E, Olson EN. MicroRNA control of muscle development and disease. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(3): 461–469. [DOI]
- [45] Goljanek-Whysall K, Sweetman D, Münsterberg AE. MicroRNAs in skeletal muscle differentiation and disease. *Clin Sci*, 2012, 123(11): 611–625. [DOI]
- [46] Li XY, Fu LL, Cheng HJ, Zhao SH. Advances on microRNA in regulating mammalian skeletal muscle development. *Hereditas(Beijing)*, 2017, 39(11): 1046–1053. 李新云, 付亮亮, 程会军, 赵书红. MicroRNA 调控哺乳动物骨骼肌发育. *遗传*, 2017, 39(11): 1046–1053. [DOI]
- [47] Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, Wu QL, Callis TE, Hammond SM, Conlon FL, Wang DZ. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet*, 2006, 38(2): 228–233. [DOI]
- [48] van Rooij E, Sutherland LB, Qi XX, Richardson JA, Hill J, Olson EN. Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA. *Science*, 2007, 316(5824): 575–579. [DOI]
- [49] Ke HE, Ren T, Zhu SH, Liang SR, Zhao AY. Transiently expressed pattern during myogenesis and candidate miRNAs of Tmem8C in goose. *J Genet*, 2017, 96(1): 39–46. [DOI]
- [50] Gibson AJ, Karasinski J, Relvas J, Moss J, Sherratt TG, Strong PN, Watt DJ. Dermal fibroblasts convert to a myogenic lineage in mdx mouse muscle. *J Cell Sci*, 1995, 108(1): 207–214. [DOI]
- [51] Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, Buzney EA, Khan MK, Flint AF, Kunkel LM, Mulligan RC. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature*, 1999, 401(6751): 390–394. [DOI]
- [52] Mitani Y, Vagnozzi RJ, Millay DP. In vivo myomaker-mediated heterologous fusion and nuclear reprogramming. *Faseb J*, 2017, 31(1): 400–411. [DOI]
- [53] Shen LY, Zhang SH, Wu ZH, Zheng MY, Li XW, Zhu L. The influence of satellite cells on meat quality and its differential regulation. *Hereditas(Beijing)*, 2013, 35(9): 1081–1086. 沈林园, 张顺华, 吴泽辉, 郑梦月, 李学伟, 朱砾. 骨骼肌卫星细胞对肉品质的影响及其分化调控. *遗传*, 2013, 35(9): 1081–1086. [DOI]