

大鼠快慢骨骼肌肌纤维构成的比较

樊俊 朱道立* (南通大学生命科学学院, 江苏南通226007)

摘要 [目的] 研究成年大鼠快肌内侧腓肠肌与慢肌比目鱼肌内各型肌纤维的分布及构成差异。[方法] 应用RT-PCR方法分析4型肌纤维的肌球蛋白重链异构体基因表达差异,并以肌动球蛋白腺苷三磷酸酶组织化学染色分析4型肌纤维构成比例。[结果] 通过RT-PCR扩增所得的条带,在内侧腓肠肌内MHC、MHC_x、MHC_a、MHC_b基因表达均有分布,而在比目鱼肌中未发现b型基因表达。4型或3型肌纤维均呈交错式镶嵌型分布。[结论] 大鼠内侧腓肠肌中A型肌纤维占很大比例,而在比目鱼肌中I型肌纤维最多,其中缺少B型肌纤维。

关键词 肌纤维;肌球蛋白重链异构体;聚合酶链式反应;肌动球蛋白腺苷三磷酸酶;大鼠
中图分类号 S865.1+2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)30-13193-04

Comparison of Fiber Composition of Fast and Slow Skeletal Muscle in Rat

FAN Jun et al (School of Life Science, Nantong University, Nantong, Jiangsu 226007)

Abstract [Objective] The distribution and the different composition of muscle fibers in the medial gastrocnemius and the soleus muscle of adult rats were studied. [Method] Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) was applied to analyze the different gene expression of myosin heavy chain isoform (MHC) of four type muscle fibers, and actomyosin adenosine triphosphatase (ATPase) staining was applied to analyze the percentage of muscle fibers of four types. [Result] By the stripes of RT-PCR increasing, the gene expression of four type MHC, MHC_x, MHC_a and MHC_b were in the medial gastrocnemius, but the gene of type b didn't be found in the soleus muscle. The distribution of muscle fibers of four or three types was of a crisscross and mosaic pattern. [Conclusion] Type A muscle fiber accounted for the most proportion in medial gastrocnemius, but type I was the most in soleus muscle. And there was no type B muscle fiber in rats.

Key words Muscle fiber; Myosin heavy chain isoform (MHC); PCR; Actomyosin adenosine triphosphatase (ATPase); Rat

在哺乳动物形态各异的骨骼肌中,至少发现有9种肌球蛋白重链异构体(MHC),即胚胎型MHC_{Emb}和新生儿型MHC_{Neo}, β -心肌型MHC, γ -心肌型MHC或慢收缩I型MHC,快收缩a型MHC,快收缩x/d型MHC,快收缩b型MHC,眼外肌型MHC_{Eom},咀嚼型mMHC,喉部肌肉型MHC(MHC_L)。胚胎型和新生儿型仅仅在出生前和出生后早期的肌肉发育过程中或者成年肌肉的再生中有表达。 β -心肌型MHC或 γ -心肌型MHC主要在心肌内表达。 β -心肌型MHC在骨骼肌的梭内肌中也存在, β -心肌型MHC不但在心肌中表达,而且在胚胎时期的骨骼肌中也有发现。眼外肌型MHC_{Eom}主要控制眼睛活动,而咀嚼型mMHC主要在食肉动物的咀嚼肌肉内明显表达。喉部肌肉型MHC是在控制喉部运动的肌肉中被发现的,如甲勺肌、环勺肌等。成年哺乳动物的骨骼肌内有4种近似的肌球蛋白重链异构体,即MHCI(β -心肌型MHC)、MHC_a、MHC_x(或MHC_d)和MHC_b等^[1-2],还有6种肌球蛋白轻链异构体,即存在于快肌纤维的MLC1f、MLC2f及MLC3f和存在于慢肌纤维中的MLC1s、MLC2s,另有1种胚胎期MLG_{Emb}。

根据骨骼肌内在的收缩特性及其肌球蛋白重链异构体的组成,通常将哺乳动物骨骼肌分为慢肌(I型)和快肌(II型)两大类。慢肌主要由MHCI和不同比例的MHC_a组成,主要功能是抵抗重力;而快肌MHC主要表达在机体维持运动(a、xMHC)和高功率输出活动(x、bMHC)的肌纤维内。小型哺乳动物的快肌依据不同肌肉、肌肉的不同部位和物种的差异,以不同比例的MHC_x和MHC_b组成。因此,根据每种肌球蛋白重链异构体在肌纤维中的表达,可将肌纤

维分为I、a、x和b型基因。值得注意的是,在人类、猫和大鼠的成年肢体肌肉主要有MHCI、MHC_a、MHC_x、MHC_b4种肌球蛋白重链异构体和与其相对应的I、A、X、B等4种肌纤维表型^[3-4]。该试验采用分别提取大鼠快肌内侧腓肠肌和慢肌比目鱼肌中的总mRNA,通过RT-PCR和凝胶电泳来进行比较,还进一步观察内侧腓肠肌和比目鱼肌的肌动球蛋白腺苷三磷酸酶组织化学染色切片,并统计各类型肌纤维的构成比例,通过分析来比较腓肠肌和比目鱼肌中快慢肌纤维的差异。

1 材料与方法

1.1 试验动物 成年12周龄大鼠(Sprague Dawley,SD)6只,体重210~250g,雌性。用浓度25%氨基甲酸乙酯经腹腔注射麻醉(1g/kg)后,固定在解剖台上。

1.2 试剂、药品 氯仿、异丙醇、乙醇、琼脂粉、乙二胺四乙酸(EDTA)、溴化乙锭(EB)、丙三醇、ATP酶、二甲砷酸钠均为国产分析纯。Tizol、Marker(DL2000)、cDNA合成试剂盒均为上海捷瑞公司产品。

1.3 大鼠骨骼肌总RNA的提取^[5] 取成年12周龄雌性大鼠6只,用浓度25%氨基甲酸乙酯经腹腔注射麻醉,分别快速取出小腿两侧的内侧腓肠肌和比目鱼肌,放在研钵中,倒入适量液氮,迅速研磨成粉末,分别称取相同重量。然后,依次倒入1.5ml Ep管中,加1ml Tizol充分混合。12000r/min,4℃下离心10min,将上清液小心转移至DEPC H₂O浸泡处理过并灭过菌的1.5ml Ep管中。加200 μ l氯仿,剧烈振荡15s,室温下静置3min。12000r/min,4℃下离心10min,分3层,取最上层清液转移至DEPC H₂O浸泡处理过并灭过菌的1.5ml Ep管中,加等体积的异丙醇混合,室温放置10min。12000r/min,4℃下离心10min,弃上清,加浓度75%乙醇1ml搅起沉淀。再12000r/min,4℃下离心3min,尽可能地吸去上清液,在空气中晾干。沉淀用30~100 μ l去离子水溶解,保存在-70℃冰箱中。

基金项目 南通大学第3批大学生课外学术科技作品立项课题(加16)。

作者简介 樊俊(1986-),男,江苏苏州人,本科生,专业:医学生物技术。*通讯作者。

收稿日期 2008-07-14

1.4 骨骼肌 MHC-I、a、b 和 x 4 型肌纤维内 mRNA 的 RT-PCR 定量测定^[6]

1.4.1 逆转录 (RT) 反应。 5 μ 总 RNA, 引物 digo (dt) 1 μ , RNase-free 水 7 μ , 5 \times Reactor Buffer 4 μ , RNase Inhibition 1 μ , dNTP mix 1 μ , M MLVRT 1 μ , 总体积为 20 μ 。先加 RNA 模板、引物和 RNase-free 水, 70 $^{\circ}$ C 水浴 5 min, 在冰上加其他试剂, 然后 37 $^{\circ}$ C 水浴 40~60 min。

1.4.2 PCR 扩增。 按 PCR 反应体系进行过程中依次加 RNase-free 水 17.8 μ 、10 \times PCR Buffer 2.5 μ 、dNTP 0.25 μ 、Mg-Cl₂ 1.2 μ 、cDNA 2 μ 、引物 1 μ 、Taq 酶 0.25 μ 。其中, I、a、b 和 x 有各自的上下游引物。引物由上海英骏生物技术有限公司提供, 引物序列见表 1。扩增条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 48 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 共 30 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。

表 1 目的基因引物序列

Table 1 The primer sequence of target gene

目的基因	PCR 产物 bp	引物序列
Target gene	PCR product	Primer sequence
I	203	F:5 CAAGCAGCCACGCCAGTA 3 R:5 GGTCATGCCGAAGTCAA 3
a	237	F:5 TGAAGAGCGGAGGAACA 3 R:5 TACAGGCAAAGTCAAGCAAT 3
b	162	F:5 CCCGAGTCACAGGTCAAC 3 R:5 GCAGCTTTTATTTCCTG 3
x	191	F:5 CGACCGTGATAAGGAAGA 3 R:5 TATTGGCAAATGAGAAGGT 3

1.4.3 电泳。 取 5 μ PCR 产物, 在浓度 2.0% 琼脂糖凝胶上电泳, EB 染色, 利用 Bio-Rad 凝胶成像仪进行摄片。

1.4.4 RT-PCR 半定量分析。 采用 Scion Image 软件, 对各电泳条带进行测量, 并处理数据。

1.5 肌动球蛋白腺苷三磷酸酶组织化学染色切片的观察与统计 标本在 Leica 恒冷切片箱 (德国产) 内 -20 $^{\circ}$ C 制作切片, 厚 10 μ m, 室温下空气干燥后做肌动球蛋白腺苷三磷酸酶^[7]37 (pH 值 10.2) 与 37 (pH 值 4.5) 孵育 40 min, 硫化铵黑色沉淀为阳性反应。对大鼠内侧腓肠肌和比目鱼肌的肌动球蛋白腺苷三磷酸酶组织化学染色切片进行观察, 并分别统计肌肉内 I、A、B、X (D) 4 型或 3 型肌纤维的数目。

1.6 统计学处理 所有试验数据用方差分析进行统计学处理, 借助 SPSS 统计软件进行分析, 其计算结果用均值 \pm 标准差 ($\bar{X} \pm S$) 表示。

2 结果与分析

2.1 比目鱼肌和内侧腓肠肌的 mRNA 完整性 采用 Trizol 法从比目鱼肌和内侧腓肠肌样品中提取的总 RNA 凝胶电泳 (图 1), 用浓度 1% 甲醛变性琼脂糖凝胶来检测其完整性。提取的总 RNA 有清晰、完整的 2 条带, 分别为 28 和 18 S, 二者在宽度与亮度上相比 28 S > 18 S。总 RNA 凝胶电泳表明, 提取的总 RNA 较完整, 未受到污染, 并且没有 RNA 的降解。此外, 测定 RNA 样品在波长 260、280 nm 的吸光值, 显示 A₂₆₀/A₂₈₀ 的比值均大于 1.8, 进一步证实提取的总 RNA 纯度较好, 可进行下一步操作。

2.2 PCR 产物的凝胶电泳和表达量检测 根据图 2 中条

带, 发现比目鱼肌内无 B 型肌纤维基因表达 MHC b, 并且肌纤维含量在内侧腓肠肌和比目鱼肌中不同。内侧腓肠肌中 A 型肌纤维的基因表达 MHC a 条带最亮, 比目鱼肌中 I 型肌纤维的基因表达 MHC I 条带亮。使用 Scion Image 软件对各电泳条带进行测量并处理数据。

表 2 应用 Scion Image 软件对 RT-PCR 半定量分析的统计

Table 2 Statistics of RT-PCR semi quantitative analysis by Scion Image software

肌肉名称	基因名称	条带亮度值	背景亮度值	相对亮度值
Muscle name	Gene name	Band brightness value	Background brightness value	Relative brightness value
内侧腓肠肌	a	213.29 \pm 9.51	114.68 \pm 7.73	98.61 \pm 6.18
Medial gastrocnemius	I	189.49 \pm 8.26	120.26 \pm 6.59	69.23 \pm 5.43
	x	176.14 \pm 7.16	113.50 \pm 4.91	62.64 \pm 3.97
	b	168.08 \pm 6.58	114.42 \pm 5.13	53.66 \pm 4.25
比目鱼肌	a	167.84 \pm 5.92	107.20 \pm 4.54	60.64 \pm 3.36
Soleus muscle	I	206.04 \pm 9.11	109.18 \pm 5.71	96.86 \pm 5.15
	x	167.99 \pm 6.13	110.53 \pm 5.12	57.46 \pm 4.56
	b	103.82 \pm 1.29	104.71 \pm 1.81	-0.89 \pm 1.17

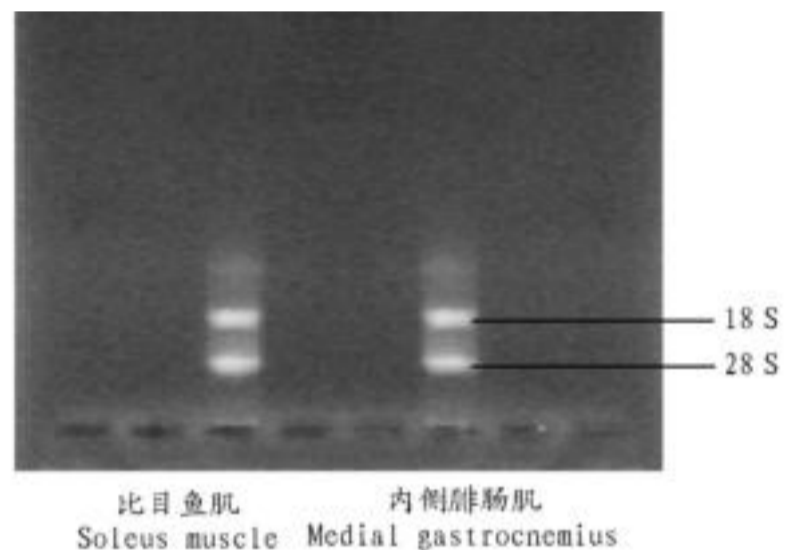
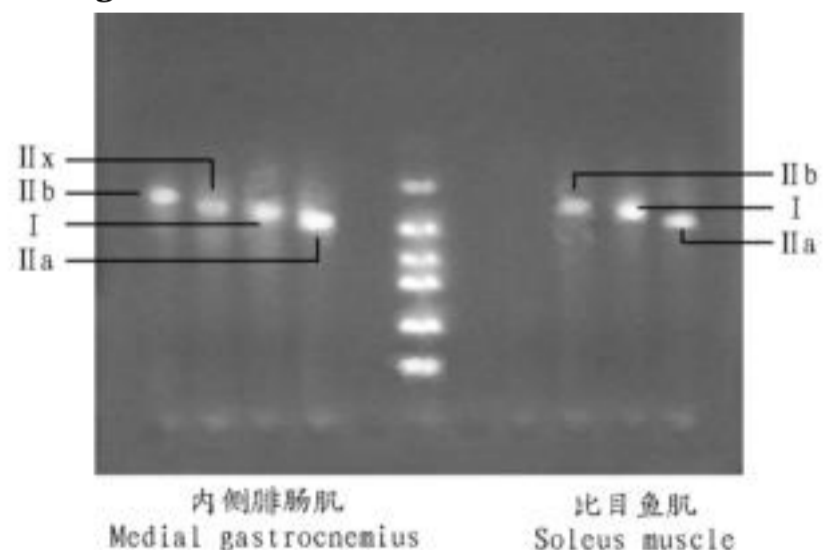


图 1 比目鱼肌和内侧腓肠肌内 RNA 凝胶电泳

Fig. 1 RNA gel electrophoresis of the soleus muscle and the medial gastrocnemius



注: 中间为标准分子量 Marker (DL2000): 从上往下依次为 100, 250, 500, 750, 1 000, 2 000 bp; 肌球蛋白重链 b 型、x 型、a 型 I 型基因表达分别在比目鱼肌和内侧腓肠肌内的情形。

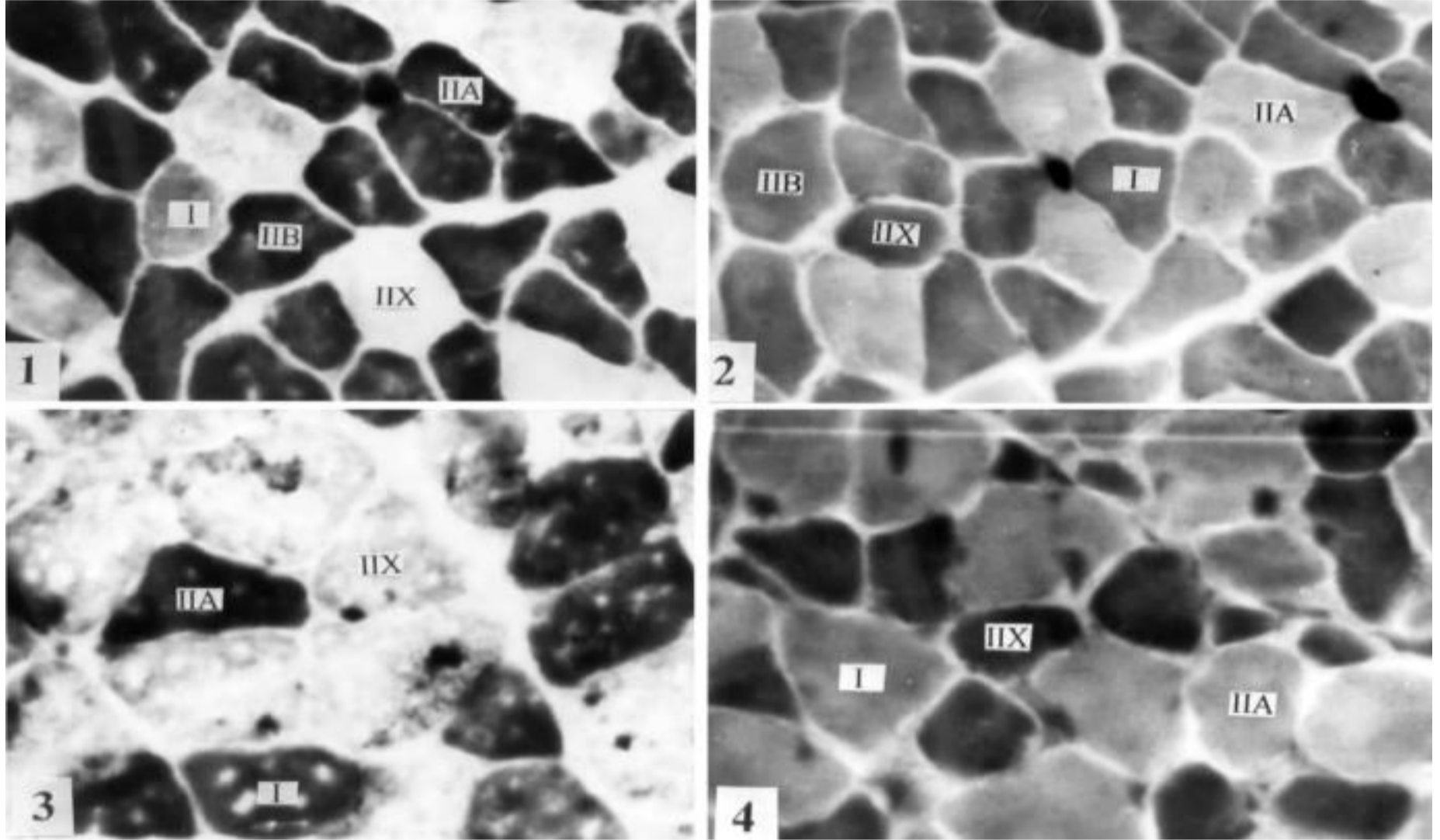
Note: The middle is standard molecular weight Marker (DL2000): from top to bottom are 100, 250, 500, 750, 1 000 and 2 000 bp. Myosin heavy chain b, x, a and I express the situation in medial gastrocnemius and soleus muscle.

图 2 比目鱼肌和内侧腓肠肌的 cDNA 凝胶电泳

Fig. 2 cDNA gel electrophoresis of the soleus muscle

从表2 可以观察到4 型肌球蛋白重链异构体在大鼠内侧腓肠肌和比目鱼肌半定量分析的相对表达量,即内侧腓肠肌MHC a 型相对含量、MHC x 型相对含量、MHC b 型相对含量高于比目鱼肌。经统计学分析,快肌内侧腓肠肌的MHC a、MHC b 基因表达显然要高于慢肌比目鱼肌。内侧腓肠肌MHC I 型相对含量低于比目鱼肌,而在MHC I 的基因表达则典型慢肌比目鱼肌高于快肌内侧腓肠肌。

2.3 肌动球蛋白腺苷三磷酸酶组织化学染色切片观察结果由图3 可知,在肌动球蛋白腺苷三磷酸酶碱法(pH 值10.2)



注:1.大鼠内侧腓肠肌肌动球蛋白腺苷三磷酸酶碱法(pH 值10.2)染色×100;2.大鼠内侧腓肠肌肌动球蛋白腺苷三磷酸酶酸法(pH 值4.5)染色×100;3.大鼠比目鱼肌肌动球蛋白腺苷三磷酸酶碱法(pH 值10.2)染色×100;4.大鼠比目鱼肌肌动球蛋白腺苷三磷酸酶酸法(pH 值4.5)染色×100。I 型:慢缩氧化纤维;A 型:快缩氧化酵解纤维;X 型:快缩氧化纤维;B 型:快缩酵解纤维。

Note :1 .Actomyosin adenosine triphosphatase-alkali method(pH 10.2) staining of medial gastrocnemius in rats ×100 ;2 .Actomyosin adenosine triphosphatase-acid method(pH 4.5) staining of medial gastrocnemius in rats ×100 ;3 .Actomyosin adenosine triphosphatase-alkali method(pH 10.2) staining of soleus muscle in rats ×100 ;4 .Actomyosin adenosine triphosphatase-acid method(pH 4.5) staining of soleus muscle in rats ×100 .Type I .Slow oxidative fiber ;Type A .Fast oxidative zymolysis fiber ;Type X .Fast oxidative fiber ;Type B .Fast zymolysis fiber .

图3 大鼠内侧腓肠肌和比目鱼肌的肌动球蛋白腺苷三磷酸酶组织化学染色

Fig.3 Actomyosin adenosine triphosphatase (ATPase) histochemical staining of the medial gastrocnemius and soleus muscle in rats

由图4 可知,内侧腓肠肌中 B 型、A 型肌纤维居多,而在比目鱼肌中I 型肌纤维最多。B 型、A 型及I 型差异在 0.05 水平显著,仅 X 型间不存在显著差异。内侧腓肠肌 B 型、A 型、X 型相对构成比例高于比目鱼肌,内侧腓肠肌I 型相对构成比例低于比目鱼肌。

3 讨论

骨骼肌纤维收缩的基础是构成肌原纤维的粗丝和细丝相对滑动。粗丝由肌球蛋白构成,是一个六聚体的蛋白质大分子,由2 条相对分子质量约220 000 的重链和2 条相对分子质量为16 000 ~27 000 的轻链组成。细丝是由肌动蛋白单体(即球形肌动蛋白)和微丝(纤维性肌动蛋白)2 种形式存在,在一定阳离子浓度和ATP 存在的条件下,通过自装配聚合成右手双螺旋的长纤维结构。肌球蛋白可被胰蛋白酶分

染色切片上,内侧腓肠肌的肌纤维可分为I 型、A 型、X (D) 型、B 型;比目鱼肌的肌纤维可分为I 型、A 型、X(D) 型,没有 B 型。I 型肌纤维细,染色浅;A 型肌纤维中等,染色深;X(D) 型肌纤维最细,染色最浅;B 型肌纤维最粗,染色居中。而经过肌动球蛋白腺苷三磷酸酶酸法(pH 值4.5)染色切片上能分出深染呈黑色的直径小的I 型纤维,浅染而直径中等的 A 型纤维,染色最深而直径最小的 X(D) 型纤维及呈褐色的直径最大的 B 型纤维。

解成轻酶解肌球蛋白和重酶解肌球蛋白。重酶解肌球蛋白由一根较短的棒与1 个双球的头部相连接构成,可分裂成2 个球形的亚片段(S1)和1 个棒状的亚片段(S2)。每个S1 片段含有1 个ATP 酶活性中心和1 个肌动蛋白结合位点,而且肌球蛋白轻链是与S1 相连接的。轻链能调节肌球蛋白ATP 酶活性。动力学分析表明,S1 的 Mg^{2+} -ATP 酶活性较低,但当与肌动蛋白结合后,其活性增加100 倍或更多。肌原纤维的肌球蛋白重链和肌球蛋白轻链是3 个多基因家族的产物。慢收缩I 型MHC(-心肌型MHC)基因位于14 号染色体,与-心肌型MHC 紧密相联;胚胎型MHC Enb、新生儿型MHC Neo、快收缩MHC a、x/d 型位于11 号染色体;快收缩MHC b 型、眼外肌型MHC Eob、咀嚼型mMHC 及喉型MHC(MHC L)位于17 号染色体^[8]。

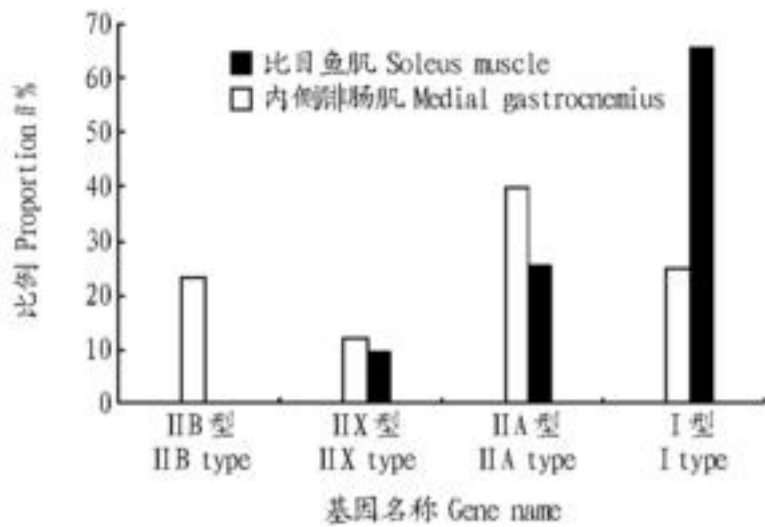


图4 大鼠4型肌纤维在内侧腓肠肌和比目鱼肌的构成比例

Fig.4 Proportion of four type muscle fibers in the medial gastrocnemius and soleus muscle in rats

从大鼠的快肌内侧腓肠肌中提取 mRNA 实施 RT-PCR 电泳,发现肌球蛋白重链异构体 MHC 有 MHC b、x、a、I 型 4 种基因表达。应用 Scion Image 软件半定量分析后,将检测的各条带亮度值减去背景亮度值的差即为相对亮度值,其数值大小顺序为 MHC a 型 > MHC I 型 > MHC x 型 > MHC b 型。而慢肌比目鱼肌仅有 MHC x、a、I 型共 3 种基因表达,没有 b 型基因的表达。相对亮度值的数值大小顺序为 MHC I 型 > MHC a 型 > MHC x 型。以往认为,发育成熟的肌纤维仅表达一种亚型 MHC 的“纯种”纤维,但随着研究的深入,发现同时存在含有 2 种或 2 种以上亚型 MHC 的“杂合”肌纤维。正常状态下共同表达诸如 MHC I/a、a/x、x/b 的许多“杂合”肌纤维^[9],但没有 MHC I/b 的“杂合”肌纤维,促使各肌球蛋白重链异构体(MHC) I/a/x/b 进行转化,导致肌纤维表型重塑。该多态性可能是肌纤维高适应能力的一种特性。对含有特异性 MHC 肌纤维的研究发现,I 型和 a 型 MHC 的反映骨骼肌纤维张力-速度关系曲线与曲度大小的指数 a/Po 比值小、曲度大,而 x 型和 b 型 MHC 的比值大、曲度小;在最大输出功率、单位面积收缩力、最大收缩速度(V_0)等方面,MHC I 均小于其他 MHC 类型^[10]。显然,以 MHC b 特有基因表达为主的快肌内侧腓肠肌与以 MHC I 基因表达为主的慢肌比目鱼肌相比,有更大的收缩速度和更强的力量。

采用肌动球蛋白腺苷三磷酸酶碱法(pH 值 10.2)和酸法(pH 值 4.5)等组织化学染色切片,得出的结论与从分子生物学水平的研究结果相一致。在比目鱼肌切片中未发现 B 型肌纤维,并且 I 型肌纤维所占的构成比例要明显高于 A 型和 X 型肌纤维,也远远高于内侧腓肠肌。这充分说明该肌在小腿三头肌中的作用是在稳定后肢的过程中,首先募集 I 型

慢缩氧化肌纤维增加肌力以抵抗重力;而在内侧腓肠肌内 B 型肌纤维较多,能实施无氧酵解的高速运动。这 4 型肌纤维中, B 型肌纤维横切面积最大, A 型肌纤维次之, I 型肌纤维较小, X 型肌纤维最小。骨骼肌肌球蛋白重链异构体 MHC 基因表达通过多种信号途径和分子机制调控^[11-12],如肌源调节因子包括肌细胞生成素(Myogenin)、MyoD、myf5 和 MRF4 共 4 种转录调节因子。肌细胞生成素在慢肌比目鱼肌中有很高水平的表达;MyoD 在快肌内侧腓肠肌内呈现高水平表达;MRF4 则在快肌的 I 型慢型肌纤维中表达。此外,钙:钙调磷酸酶:活性 T 细胞核因子三者通过胞浆 Ca^{2+} 感受器的 Ca^{2+} 信号通道调节慢型肌纤维表达。 Ca^{2+} -ATPase 转运 Ca^{2+} 过程中促使自身构象发生变化,可以看到 E1- Ca^{2+} 状态,3 个胞浆结构域散开,而从 E1-AMPPCP 到 E2-TG 状态,3 个胞浆结构域转变成紧密连接,但 E2-TG 状态显得相对松散,各个跨膜螺旋也出现不同程度的倾斜和移位。描述 E1- Ca^{2+} 状态结合 ATP, Ca^{2+} -ATPase 发生磷酸化后一系列的构象改变包括各个胞浆结构域 Ca^{2+} 的结合、释放以及 ATP 的结合和 ADP 的释放相联系。

参考文献

- [1] EDWARDS J G, BAH L J J, FLINKI L, et al. Thyroid hormone influences beta myosin heavy chain (beta MHC) expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 199: 1482 - 1488.
- [2] ZHU DL, XUP, XIE F, et al. Function of histochemical type of skeletal muscle fiber in rat and myosin heavy chain[J]. *Acta Anatomica Sinica*, 2007, 38: 93 - 97.
- [3] ZHU DL, WANG KL, CHEN P L. Comparison of soleus muscle fiber in rats and rabbits at different stages of postnatal development[J]. *Zoological Research*, 2004, 25(6): 543 - 550.
- [4] ZHU DL, CHEN P L, YE H, et al. A comparison of postnatal development of the gastrocnemius in rabbits and rats[J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2003, 49(5): 646 - 655.
- [5] 朱旭芬. 基因工程实验指导 M. 北京: 高等教育出版社, 2006: 25 - 32.
- [6] KARLA P, SERGEY Z, MAREN W, et al. Myopathy-dependent changes in activity of ATPase, SDH and GPDH and NOS expression in the different fiber types of hamster muscles[J]. *Acta Histochem*, 2002, 104(1): 15 - 22.
- [7] TALMADGE R J, PAALANI M. Sarco (endo) plasmic reticulum calcium pump isoforms in paralyzed rat slow muscle[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, 1770: 1187 - 1193.
- [8] VITORINO R, FERREIRA R, NEUPARTH M, et al. Subcellular proteomics of rice gastrocnemius and soleus muscles[J]. *Analytical Biochemistry*, 2007, 366: 156 - 169.
- [9] 石磊, 樊小力, 吴苏娣. 肌苷对尾部悬吊大鼠比目鱼肌梭内、外肌纤维肌球蛋白重链表达的影响[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2006, 22(3): 318 - 320.
- [10] 范晓华, 纪树荣, 周红俊. 大鼠脊髓横断早期比目鱼肌重量与肌球蛋白重链亚型 mRNA 表达的变化[J]. *中国康复理论与实践*, 2006, 12(4): 298 - 300.
- [11] GAYRAUD MOREL B, CHRETIEN F, FLAMANT P, et al. A role for the myogenic determination gene Myf5 in adult regenerative myogenesis[J]. *Developmental Biology*, 2007, 312: 13 - 28.
- [12] 张潜, 章涛, 王正义, 等. 大鼠腓肠肌的肌纤维型组成及分布[J]. *重庆医科大学学报*, 2007, 32(9): 956 - 958.

(上接第 13184 页)

- [5] BODEUS M, CAMBISSO C, SURLERAUX M, et al. A latex agglutination test for the detection of canine parvovirus and cores ponding antibodies[J]. *J Virol Methods*, 1988, 19(1): 1 - 12.
- [6] 董江丽, 李武, 额日贺, 等. 应用聚合酶链式反应检测犬细小病毒[J]. *内蒙古大学学报: 自然科学版*, 2000(3): 290 - 292.
- [7] RIMMELZWAAN G F, GORENJ, EQBERINK H, et al. Use of enzyme linked immunosorbent assay systems for serology and antigen detection in parvovirus, coronavirus and rotavirus infections in dogs[J]. *The Netherlands Vet Microbiol*, 1991, 26(1): 25 - 40.
- [8] 王中力, 宋晓军, 陈西召, 等. 犬细小病毒病免疫胶体金诊断技术的研究

究[J]. *中国预防兽医学报*, 2004, 26(1): 62 - 66.

- [9] 庞志明, 招松芳. 幼犬病毒病的病理模式研究[J]. *广东畜牧兽医科技*, 2003, 28(5): 42 - 45.
- [10] 崔宝刚, 李东娇, 崔一鸣. 犬细小病毒的诊疗[J]. *中国畜牧兽医*, 2006, 33(7): 74 - 75.
- [11] 刘颖, 马扬. 犬细小病毒病的临床诊疗[J]. *动物医学进展*, 2005, 26(11): 110 - 112.
- [12] 王彦红, 徐向明, 杨玲. 犬细小病毒 YZ 分离株的鉴定[J]. *中国预防兽医学报*, 2002, 24(6): 440 - 442.
- [13] 李伟, 徐滨蕊, 王成玉. 水貂细小病毒病的诊断[J]. *中国兽医杂志*, 2006, 42(2): 56 - 57.