

# 斑鳊肌球蛋白轻链2基因cDNA的克隆及其纵向表达分析

赵发兰<sup>1,2</sup>, 陈敦学<sup>1,2</sup>, 农小献<sup>1,2</sup>, 宾石玉<sup>1\*</sup>, 成嘉<sup>2</sup>, 蒙涛<sup>2</sup>,  
张建社<sup>2</sup>, 褚武英<sup>2\*</sup>

(1. 广西师范大学 生命科学学院, 中国广西 桂林 541004; 2. 长沙学院 生物工程与环境科学系, 中国湖南 长沙 410003)

**摘要:** 从斑鳊(*Siniperca scherzeri*)背部白色肌肉组织中提取总RNA, 利用RT-PCR法克隆到斑鳊肌球蛋白轻链2基因(*MLC2*) (GenBank: GQ283000)。斑鳊*MLC2*基因cDNA序列的开放阅读框的长度为513 bp, 编码170个氨基酸, 理论相对分子质量为19 105.61 Da, 等电点为4.73。该开放阅读框具有4个EF-手相结构。斑鳊*MLC2*推导的氨基酸序列与已报道的其它6种鱼类*MLC2*氨基酸序列同源性在89%以上, 其中与Ca<sup>2+</sup>结合的区域非常保守, 氨基酸序列同源性为100%。用实时荧光定量PCR对斑鳊*MLC2*纵向表达分析显示, *MLC2*在斑鳊背肌的前部、中部和后部都有表达, 但无显著差异。

**关键词:** 斑鳊; 肌球蛋白轻链2; cDNA克隆; 纵向表达

中图分类号: Q785

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2011)01-0013-06

## Cloning and Longitudinal Expression Analysis of the *MCL2* Gene in *Siniperca scherzeri*

ZHAO Fa-lan<sup>1,2</sup>, CHEN Dun-xue<sup>1,2</sup>, NONG Xiao-xian<sup>1,2</sup>, BIN Shi-yu<sup>1\*</sup>,  
CHENG Jia<sup>2</sup>, MENG Tao<sup>2</sup>, ZHANG Jian-she<sup>2</sup>, CHU Wu-ying<sup>2\*</sup>

(1. College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, Guangxi, China; 2. Department of Biological Engineering and Environmental Sciences, Changsha University, Changsha 410003, Hunan, China)

**Abstract:** The total RNA was isolated from the white muscle of the *Siniperca scherzeri*. The full length cDNA of myosin light chain 2 (*MCL2*) was cloned using RT-PCR technology. The sequence of the *MCL2* ORF is 513 bp, and encodes 170 amino acids, which includes four EF-hand structures. The putative protein of the *MLC2* shows predicted relative molecular mass of 19 105.61 Da with a theoretical pI of 4.73. Compared with the *MLC2* of other six fishes reported, the homology of the deduced amino acids sequences was above 89%. The primary structure of the Ca<sup>2+</sup> binding domain was well conserved among the *MLC2s* of seven fish species. The longitudinal expression analysis by real-time PCR showed that the *MLC2* mRNA was expressed along longitudinal axis with some variation among the three muscle positions.

**Key words:** *Siniperca scherzeri*; myosin light chain 2; cDNA clone; longitudinal expression

(*Life Science Research*, 2011, 15(1): 013~018)

肌球蛋白约占肌肉总蛋白的60%, 构成肌原纤维中的粗丝, 具有腺苷三磷酸酶(ATPase)的活力, 在鱼游泳运动中起重要作用。鱼肌球蛋白为

“Y”形不对称六聚体, 由两条长链和四条轻链组成。长链为相对分子质量约220 kD的肌球蛋白重链(MYH), 短链为相对分子质量约16~20 kD

收稿日期: 2010-12-10; 修回日期: 2011-01-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30972263); 湖南省教育厅重点资助项目(09A00; 10A0108); 湖南省高校科技创新团队支持计划资助项目(2008)

作者简介: 赵发兰(1985-), 女, 广西桂林人, 硕士研究生, 主要从事动物分子营养学研究, E-mail: falan87@126.com; \*通讯作者: 宾石玉(1963-), 男, 广西全州人, 广西师范大学教授, 博士, 主要从事动物营养学研究, E-mail: binsy68@yahoo.com.cn; 褚武英(1971-), 男, 江西南昌人, 长沙学院副教授, 博士, 主要从事鱼类发育分子生物学研究, Tel: 0731-84261551, E-mail: chuwuying18@yahoo.com.cn.

的肌球蛋白轻链 (MLC)<sup>[1-5]</sup>. MLC 主要存在 3 种类型: MLC1、MLC2、MLC3. MLC1 和 MLC3 合称碱性轻链, *MLC2* 称疏解轻链. *MLC2* 也被称为肌球蛋白调节轻链 (myosin regulatory light chain, MRLC) 或称调节轻链 (regulatory light chain, RLC), 在肌肉的发生过程中调控重链表达, 且对肌球蛋白的结构与功能显示有重要调节作用<sup>[4,5]</sup>, 它结合于肌球蛋白的颈部铰链区, 为肌肉运动提供能量<sup>[6-8]</sup>.

*MLC2* 以多种同工异构体形式存在, 它们在鱼类红肌和白肌中均有表达<sup>[5-9]</sup>. 这类构成肌肉蛋白的不同同工异构体的差异表达直接影响鱼类肌肉收缩和运动功能. 对鲢、鳙鱼的研究证实, 幼鱼较成鱼肌肉具有更快的收缩运动能力, 而这种差异是由于 *MHC* 和 *MLC* 表达差异所致<sup>[10,11]</sup>. 同时, 鲢、鳙鱼类的这类结构基因还表现出肌肉纵轴不同部位表达的差异, 即在红肌和白肌前端部位显示较快的肌肉收缩力和舒张力<sup>[12]</sup>, 这种肌肉运动的动力学变化主要受约于 *MLC2* 对 *MHC* 的调节作用<sup>[13]</sup>, 其作用机制主要是控制对横纹肌的运动<sup>[14]</sup>. 在 *MLC2* 蛋白质的第 18 位氨基酸 (苏氨酸) 和第 19 位氨基酸 (丝氨酸) 能被肌球蛋白轻链激酶磷酸化, 并依赖于  $Ca^{2+}$  和钙蛋白的调节, 这决定了肌肉运动 ATPase 的能力和肌肉的运动<sup>[15,16]</sup>. 因此, 可以说 *MLC2* 在鱼类肌肉结构和功能中发挥重要作用.

斑鳅 (*Siniperca scherzeri*) 隶属鲈形目 (*Perciformes*)、鳅亚科 (*Siniperacinae*)、鳅属 (*Siniperca*), 虽生长周期长, 但其粗蛋白含量高, 脂肪和灰分较低, 整体营养价值高于翘嘴鳅和大眼鳅, 因此具有较高的研究价值. 已有研究对鳅重链基因和轻链基因的分子结构和发育表达特性进行了较详尽的研究分析<sup>[17-20]</sup>, 相对而言, 对斑鳅肌球蛋白轻链基因的相关研究尚未见有报道. 有鉴于此, 本研究选择斑鳅肌球蛋白轻链 2 基因进行克隆和纵向表达分析, 为进一步研究该基因在斑鳅肌肉生长过程中的调控作用奠定基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

鲜活斑鳅由湖南省鳅鱼原种场提供, 体重 500 g 左右. 取鱼背侧任意部位白色肌肉组织 (白肌) 用于 *MLC2* 的克隆, 取鱼背部前、中、后 3 个部位的白肌用于 *MLC2* 的相对表达量的检测.

### 1.2 斑鳅总 RNA 提取和第一链 cDNA 的合成

按照 Trizol Reagent (Invitrogen 公司) 试剂盒使用说明书, 分别以鳅鱼背侧 3 个部位白肌样品为材料提取总 RNA. 通过 OD 值与琼脂糖凝胶电泳对总 RNA 纯度、浓度和完整度检测后, 按 cDNA 第一链合成试剂盒 (Fermentas Pure Extreme 公司) 说明书进行 cDNA 的合成.

### 1.3 引物设计、扩增和产物分析

根据大眼鳅 *MLC2* 序列, 设计一对引物: 上游引物 5'-ATGGCACCAAAGAAGGC-3' 和下游引物 5'-TTACTCCTCCTTCTCCTCTCC-3'. 以斑鳅 cDNA 第一条单链为模板进行 RT-PCR 扩增. PCR 反应条件为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 54.9 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共进行 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min. 然后用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测目的片段并按照纯化试剂盒说明书 (Promega) 进行割胶纯化回收.

### 1.4 cDNA 的克隆及鉴定

cDNA 的克隆按 pGEM-T easy 载体说明书进行. 上述纯化 PCR 产物按说明书体系与 pGEM-T easy 载体过夜连接. 200  $\mu$ L 大肠杆菌感受态 (氯化钙法制备) 中加入 10  $\mu$ L 连接产物, 混匀, 冰上静置 30 min, 42 °C 热激 45 s, 迅速置于冰上 2 min. 加入 800  $\mu$ L LB 液体不含 Amp 培养基, 37 °C 微振荡培养 1.5 h, 离心后去除部分上清, 取 200  $\mu$ L 转化菌涂于 LB 平板, 进行蓝白斑筛选. 经 37 °C 培养 14~16 h 后, 挑取单个白色菌落于 6 mL 含 Amp 的 LB 液体培养基, 37 °C 微振荡培养过夜. 用碱裂解法提取质粒 DNA. 通过菌液 PCR (反应体系和条件同上述 RT-PCR) 和 *EcoR* I 单酶切鉴定阳性克隆, 并将阳性克隆送上海生工生物工程技术有限公司测序.

### 1.5 氨基酸序列比较和分子进化树的构建

测序结果采用 DNASTar 进行核苷酸序列分析及氨基酸推导. 用 NCBI 中的 Blast 将测序所得核苷酸序列与 GenBank 中的 *MLC2* 进行序列同源性比较及相似性搜索. 用 Clustal X 1.83 与 Genbank 上的全长序列的氨基酸进行多序列比对. 用 Meg 3.1 软件以邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 构建包括斑鳅在内的 13 种鱼的进化树. 由 PROSITE tools (<http://www.expasy.ch/prosite/>) 进行蛋白质的功能区预测.

### 1.6 荧光定量引物设计及其 PCR

依据上述方法获得的斑鳅 *MLC2* 的保守序

列,对荧光定量 PCR 的引物进行设计,具体引物序列及其预计产物大小见表 1.

表 1 荧光定量 PCR 引物参数  
Table 1 Primers used for real-time quantitative PCR analysis

Gene	Primer sequences	Product size/(bp)
<i>MLC2</i>	S: 5'-CCCCATCAACTTCACCGTCTT-3'	263
	A: 5'-CTCCGTGTGTGATGACATAGCAGAT-3	
$\beta$ -actin	S: 5'-ATCGTGCGCCCCAGGCACC-3'	144
	S: 5'-CTCCTTAATGTCACGCACGATTTC-3'	

荧光定量 PCR 采用 SYBR Green I 染料法,在荧光定量仪 (Light Cycycler, Rotor-Gene 公司) 上进行. 反应体系为: Takara SYBR Premix Ex Taq(2 $\times$ , 预混 MgCl<sub>2</sub>、dNTP、SYBR Green I 染料、EX-Taq 聚合酶、Buffer)13  $\mu$ L, 上下游引物 (10  $\mu$ mol/L) 各 1  $\mu$ L, 模板 cDNA 1  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 补充至 25  $\mu$ L. 反应程序为: 95  $^{\circ}$ C 预变性 10 s; 然后 95  $^{\circ}$ C 变性 5 s, 58  $^{\circ}$ C 退火、延伸 20 s, 总共进行 40 个循环; 接着绘制 65~95  $^{\circ}$ C 的融解曲线, 每 0.2  $^{\circ}$ C 读板 1 次; 72  $^{\circ}$ C 持续 10 min.

### 1.7 数据处理与分析

实时荧光定量 PCR 的实验数据先用 Excel 2003 软件进行初步处理, 再用 SPSS 12.0 软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), LSD 多重比较 ( $P < 0.05$  表示差异显著). 所有结果以平均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示.

## 2 结果与分析

### 2.1 斑鳊总 RNA 提取

分别提取斑鳊背部前、中、后 3 个部位的白肌总 RNA, 检测其纯度与完整性. 本试验所提取的前、中、后 3 个部位的白肌总 RNA 的  $OD_{260/280}$  均在 1.9~2.1 之间. 同时, 1% 琼脂糖凝胶电泳显示清晰的条带, 表明所提取的总 RNA 有较好的完整性, 能保证后续试验的顺利进行 (图 1).

### 2.2 *MLC2* 扩增及测序结果

通过对斑鳊 *MLC2* 的 RT-PCR 扩增, 对其目的片段进行 1% 琼脂糖凝胶电泳分析, 获得产物约 500 bp, 与预测结果相似 (图 2). PCR 产物回收后克隆, 筛选阳性克隆测序. 测序结果已提交 Genbank (登录号为: GQ283000). 经分析发现, 斑鳊 *MLC2* 开放阅读框 (ORF) 为 513 bp, 编码

170 个氨基酸, 理论相对分子质量为 19 105.61 Da, 等电点为 4.73, 其中总共有 30 个天冬氨酸谷氨酸, 22 个精氨酸赖氨酸. 该基因有 4 个 EF-手相结构, 其中一个 EF-手相结构是与 Ca<sup>2+</sup> 结合的区域 (图 3).

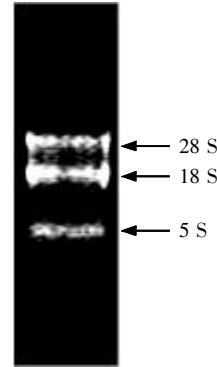


图 1 斑鳊总 RNA 1% 琼脂糖凝胶电泳代表图  
Fig.1 The total RNA of *Siniperca scherzeri*

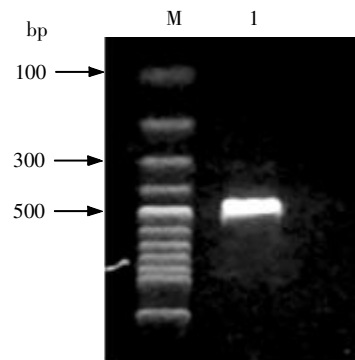


图 2 斑鳊 *MLC2* RT-PCR 扩增分析代表图  
M: 100 bp 的标准分子质量; 1: *MLC2* PCR 结果  
Fig.2 The PCR fragment of *MLC2*  
M: 100 bp Marker; 1: the PCR product of *MLC2*

### 2.3 斑鳊 *MLC2* 与其它 6 种鱼类的相应氨基酸同源性比较及功能性位点预测

斑鳊 *MLC2* 仅分别在第 11、110、160、161 个氨基酸与大眼鳊有差异. 与其余 5 种鱼类的推导氨基酸同源性均在 89% 以上, 与黄带鲈、大西洋马鲛、鲣金枪鱼、绿河豚分别相差 9、11、17、17、18 个氨基酸. 斑鳊 *MLC2* 分子的功能位点预测分析及与其它物种的 *MLC2* 推导氨基酸序列比较结果见图 4. 第 18 号位为一个丝氨酸磷酸化修饰位点, 4 个含有完整的螺旋区-泡区-螺旋区的 EF-手相结构域. 7 种鱼类的第一个 EF-手相结构域的泡区非常保守, 同源性为 100%.

```

1   ATGGCACCAAGAAGGCCAAGAGGAGGCAGACAGCAGGAGACAGTGGCTCCTCCAACGTG
   M A P K K A K R R Q T A G D S G S S N V
61  TTCTCCATGTTTGGAGCAGAGCCAGATTAGGAGTACAAAGAGGCTTTCACAATCATTGAC
   F S M F E Q S Q I Q E Y K E A F T I I D
121 CAGAACAGAGATGGTATCATCAGCAAAGATGACCTGAGGGACGTGCTGGCTTCAATGGGC
   Q N R D G I I S K D D L R D V L A S M G
181 CAGCTGAACACAAAGAACGAGGAGCTGGAGGCTATGATCAAGGAGGCCAGCGGCCCATC
   Q L N T K N E E L E A M I K E A S G P I
241 AACTTCACCGTCTTCTCACCATGTTTGGAGAGAAGCTGAAGGGTCTGACCCCGAGGAC
   N F T V F L T M F G E K L K G A D P E D
301 GTTATTCTTAGCGCTTTCAGGTCCTGGACCCGAGGGTACTGAACTATCAAGAAGCAA
   V I L S A F K V L D P E G T G T I K K Q
361 TTCTCGAGGAGCTCCTGACCACTCAGTCCGACAGGTTCTCAAGGAGGAGATTAAGAAC
   F L E E L L T T Q C D R F S K E E I K N
421 ATGTGGGCGCCTTCCCCCAGATGTTGCCGGCAACGTAGACTACAAGAACATCTGCAGA
   M W A A F P P D V A G N V D Y K N I C R
481 ACCATCACACGGAGAGGAGAAGGAGGAGTAA
   T I T H G E E K E E *
    
```

图 3 斑鳅 *MLC2* 的核苷酸序列与推导氨基酸序列

序列中灰色部分表示起始密码子，“—”表示 EF-hand；“□”表示与  $Ca^{2+}$  结合区域，“\*”表示终止密码子。

Fig.3 The *MLC2* nucleotide sequences and deduced amino acid sequences of *Siniperca scherzeri steindacher*

Shadow indicates start codon; “—” indicates EF-hand; “□” indicates the  $Ca^{2+}$  binding domain; “\*” indicates end codon.

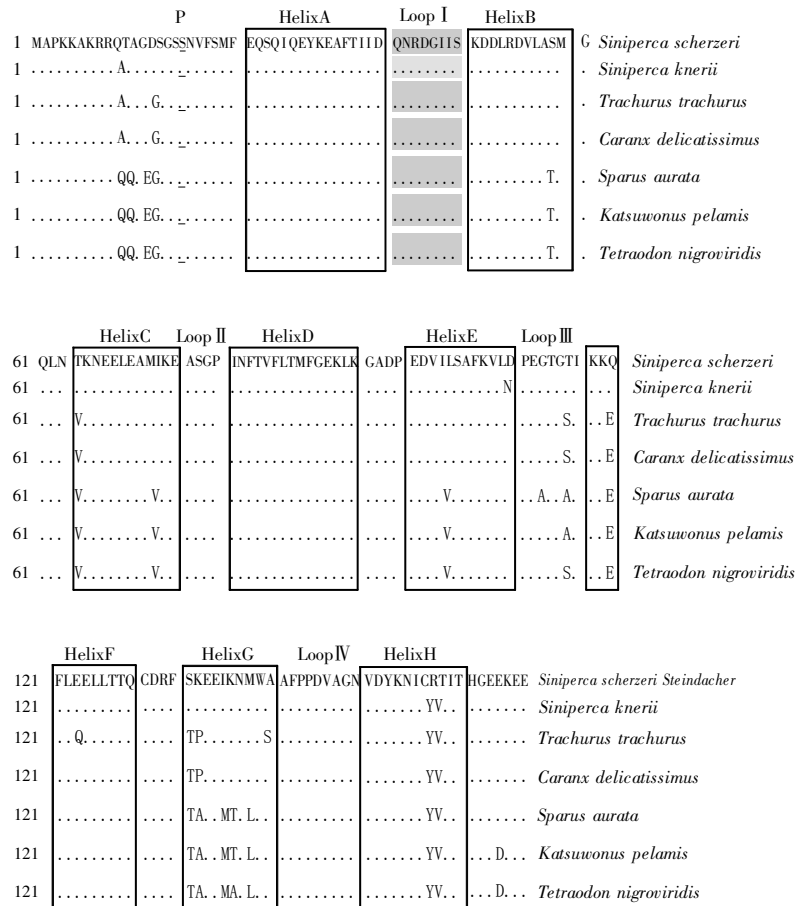


图 4 斑鳅与其它 6 种鱼类的 *MLC2* 推导氨基酸序列比较及功能位点预测

“□”表示 EF-hand，灰色部分表示与  $Ca^{2+}$  结合区域，P 表示磷酸化位点。

Fig.4 Comparison of deduced amino acid sequence of *MLC2* and prediction of protein functional sites

“□” indicates EF-hand; Shadow indicates  $Ca^{2+}$  binding domain; “P” indicates the site of phosphorylation.

## 2.4 MLC2 的分子进化分析

基于邻接法构建系统发育树,揭示斑鳊 MLC2 的演替方式,如图 5 所示.斑鳊和同属于鲈形目鲱科的大眼鳊在同一分支,与同为鲈形目石首鱼科的白姑鱼来源于同一分支,亲缘关系较近.与非同目的狭鳊目的狭鳊亲缘关系较近,与

鲑形目的银鲑分子进化水平相对较远.

## 2.5 MLC2 的荧光定量表达分析

MLC2 在斑鳊背部白肌中的纵向表达如图 6 所示. MLC2 在斑鳊背部白肌的前部、中部和后部均有表达,中部的表达量比两端表达量稍高,但  $P$  均大于 0.05,无显著性差异.

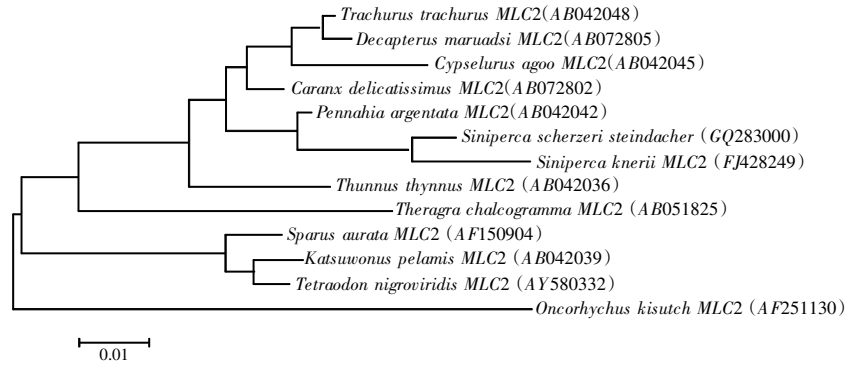


图 5 斑鳊 MLC2 分子进化树的构建

Fig.5 Phylogenetic tree of MLC2 of *Siniperca scherzeri steindacher*

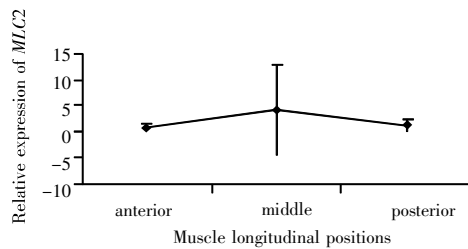


图 6 斑鳊背部不同部位 MLC2 相对  $\beta$ -actin mRNA 表达丰度的结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

Fig.6 The expression of MLC2 of different position of *Siniperca scherzeri steindacher* compare to  $\beta$ -actin mRNA ( $\bar{x} \pm s$ )

## 3 讨论

肌球蛋白轻链 2 (MLC2) 是肌球蛋白重要的组成部分, MLC2 在肌肉的发生过程中起着调控重链表达的重要作用, 对肌球蛋白的凝聚状态以及热诱导时的凝胶特性, 肉制品的质构、脂肪和水的结合能力等有很大影响. MLC2 属于肌钙蛋白 C 超家族, 其功能结构域—EF 臂是由多个氨基酸组成的钙结合基序, 每个 EF 臂结构是由 12 个残基组成的环状结构, 两侧各是 12 个碱基组成的  $\alpha$  螺旋, 并形成螺旋区-泡区-螺旋区 (即 EF 手相结构), 泡区为与  $\text{Ca}^{2+}$  结合中心位点<sup>[21,22]</sup>. 通过 PROSITE tools 对斑鳊 MLC2 推导蛋白质功能

预测分析表明, 斑鳊 MLC2 含有 4 个 EF 手相结构. 斑鳊 MLC2 与其它 6 种鱼推导氨基酸序列比较结果显示, 第一个 EF 手相结构的泡区氨基酸序列同源性为 100%, 鱼类 MLC2 的第一个手相结构的泡区可能还存在与  $\text{Ca}^{2+}$  结合的功能域, 而其它 3 个结构域在进化的过程中由于氨基酸或损失或改变, 可能失去了与  $\text{Ca}^{2+}$  结合的功能.

在快速收缩骨骼肌中, 蛋白磷酸化的 MLC2 与非磷酸化的 MLC2 相比, 其生产激活细肌丝 ATP 酶活性结合钙离子的灵敏度要高得多, MLC2 磷酸化在骨骼肌收缩中起重要作用已经得到较为广泛认同<sup>[23,24]</sup>. 最近研究表明鲤鱼骨骼肌肌球蛋白磷酸激酶能使骨骼肌 MLC2 第 15 位丝氨酸磷酸化<sup>[25]</sup>, 本研究通过对推导的氨基酸序列的比对发现斑鳊、大眼鳊和其它 5 种鱼类 MLC2 在 18 号位存在着高度保守的丝氨酸残基, 但是这个丝氨酸位点上是否存在磷酸化现象有待进一步研究证实.

通过 N-J 法构建进化树, 斑鳊与同属于鲈形目鲱科的大眼鳊亲缘关系最近, 其氨基酸序列同源性为 99%, 这与其分类学的进化分析结果一致. 与同为鲈形目石首鱼科的白姑鱼来源于同一分支, 其氨基酸序列同源性高达 95%, 与遗传距离最远的鲑形目的银鲑氨基酸序列同源性也在 80% 以上, 说明 MLC2 在鱼类的进化中极为保守.

在鱼类分类学中副棘鳍总目中的鲑鲈目被认为是鲑形目与鲈形目之间的过渡类群,这暗示着鲑科与鲈科可能由共同的祖先进化而来。

很多鱼类的肌球蛋白具有纵向变化的属性。动力学研究发现,鱼类肌肉的收缩和舒张频率沿鱼体纵轴存在差异。与尾部相比,头部的红肌和白肌的收缩和舒张频率更快,这是促使鱼类有更快的游泳速度的重要原因之一<sup>[26]</sup>。DONATO 在鳟鱼的研究中证实了白肌在前部有更快的收缩和舒张速率,但肌肉缩短在纵向上的变化无显著差异。鳟鱼的这种变化随着 MLC2 及其它的肌肉蛋白,肌钙蛋白和小清蛋白在肌肉组织中不同而不同<sup>[5]</sup>。THYS 在大口黑鲈的肌肉蛋白表达及收缩动力学的研究中亦发现其存在纵向变化<sup>[26]</sup>,但是鱼体不同部位肌肉收缩性能调节机制仍不清楚。COUGHLIN 等认为 MLC2 和小清蛋白在鱼体不同部位肌肉收缩性能调节方面起重要作用,但 DONATO 等用实时定量 PCR 技术证实鳟鱼白肌的 MLC2 在鱼体纵向表达量上没有显著变化,对肌肉的收缩和舒张无显著影响<sup>[5]</sup>。我们同样使用荧光定量 PCR 技术研究了斑鳅白肌 MLC2 纵向表达量变化,结果是 MLC2 在斑鳅鱼体纵向上均有表达,表达量上虽然存在差异却没有显著变化,因此 MLC2 在鱼体肌肉收缩和舒张中是否存在调节功能尚待进一步研究证明。

#### 参考文献 (References):

- [1] LOWEY S, RISBY D. Light chains from fast and slow muscle myosins[J]. Nature, 1971, 234(5324): 81-85.
- [2] PETTE D, STARON R S. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions[J]. Microscopy Research and Technique, 2000, 50(6): 500-509.
- [3] BRYSON-RICHARDSON R J, DAGGETT D F, CORTES F, et al. Myosin heavy chain expression in zebrafish and slow muscle composition[J]. Developmental Dynamics, 2005, 233(3): 1018-1022.
- [4] PERZANOWSKA A. The light chain composition of embryonic myosin[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 1979, 63(2): 189-192.
- [5] DONATO M E, SCHIARI J, UIERICH A D, et al. Myosin regulatory light chain expression in trout muscle[J]. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology, 2008, 309A(2): 64-72.
- [6] IKEBE R, REARDON S, MITSUI T, et al. Role of the N-terminal region of the regulatory light chain in the dephosphorylation of myosin by myosin light chain phosphatase[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(42): 30122-30126.
- [7] KENDUICK-JONES J, JAKES R, TOOTH P, et al. Role of the myosin light chains in the regulation of contractile activity[J]. Journal of General Physiology, 1981, 78(6): A9-10.
- [8] MUGUE N S, OZERNYUK N D. Comparative structural analysis of myosin light chains and gene duplication in fish[J]. Biology Bulletin, 2006, 33(1): 30-34.
- [9] PATEL J R, DIFFEE G M, MOSS R L. Myosin regulatory light chain modulates the Ca<sup>2+</sup> dependence of the kinetics of tension development in skeletal muscle fibers[J]. Biophysical Journal, 1996, 70(5): 2333-2340.
- [10] COUGHLIN D J. Aerobic muscle function during steady swimming in fishes[J]. Fish and Fisheries, 2002a, 3(2): 63-78.
- [11] COUGHLIN D J. A molecular mechanism for variations in muscle function in rainbow trout[J]. Integrative and Comparative Biology, 2002, 42(2): 190-198.
- [12] COUGHLIN D J, BURDICK J, STAUFFER K A, et al. Rainbow trout display a developmental shift red muscle kinetics, swimming kinematics and myosin heavy chain isoform[J]. Journal of Fish Biology, 2001, 58(3): 701-715.
- [13] SCHIAFFINO S, REGGIANI C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance[J]. Physiological Reviews, 1996, 76(2): 371-423.
- [14] GORDON A M, HOMSHER E, REGNIER M. Regulation of contraction in striated muscle[J]. Physiological Reviews, 2000, 80(2): 853-924.
- [15] IKEBE M, HARTSHORNE D J. The role of myosin phosphorylation in the contraction-relaxation cycle of smooth muscle[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 1985, 41(8): 1006-1010.
- [16] IKEBE M, KAMBARA T, STAFFORD W F, et al. A hinge at the central helix of the regulatory light chain of myosin is critical for phosphorylation-dependent regulation of smooth muscle myosin motor activity[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1998, 273(28): 17702-17707.
- [17] 符贵红, 褚武英, 成嘉, 等. 大眼鳊和斑鳊肌肉营养成分分析[J]. 安徽农业科学 (FU Gui-hong, CHU Wu-ying, CHENG Jia, et al. Analysis on nutritional components in muscle of *Siniperca kneri* and *Siniperca scherzizii*). Journal of Anhui Agriculture Science, 2008, 36(34): 15022-15023.
- [18] ZHANG J S, FU G H, CHU W Y, et al. cDNA cloning and expression analysis of the myosin heavy chain (MYH) gene of the mandarin fish *Siniperca kneri*[J]. Aquaculture Research, 2009, 40(4): 412-418.
- [19] 周瑞雪, 黄斌, 蒙涛, 等. 鳊碱性肌球蛋白轻链基因 cDNA 的克隆及其发育表达分析[J]. 水生生物学报 (ZHOU Rui-xue, HUANG Bin, MENG Tao, et al. Cloning and ontogenetic expression analysis of the alkali myosin light chain gene in *Siniperca chuatsi*). Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 34(5): 927-934.
- [20] 周瑞雪, 蒙涛, 褚武英, 等. 鳊肌球蛋白轻链 2 基因 cDNA 的克隆及其表达分析[J]. 湖南师范大学自然科学学报 (ZHOU Rui-xue, MENG Tao, CHU Wu-ying, et al. cDNA cloning and ontogenetic expression analysis of the myosin light chain 2 gene in *Siniperca chuatsi*). Journal of Natural Science of Hunan Normal University, 2009, 32(3): 78-83.
- [21] QIN H, MORRIS B J, HOH J F Y. Isolation and structure of cat myosin light chain 2 cDNA and evidence for the identity of its human homologue[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1994, 200(3): 1277-1282.
- [22] HOLLAND L Z, PACE D A, BLINK M L, et al. Sequence and expression of amphioxus alkali myosin light chain (*AmphiMLC-alk*) throughout development: implications for vertebrate myogenesis[J]. Developmental Biology, 1995, 171(2): 665-676.
- [23] LEHMAN W, SZENT-GYORGYI A G. Regulation of muscle contraction. Distribution of actin control and myosin control in the animal kingdom[J]. The Journal of General Physiology, 1975, 66(1): 1-30.
- [24] SWEENEY H L, STULL J T. Alteration of cross-bridge kinetics by myosin light chain phosphorylation in rabbit skeletal muscle: implications for regulation of actin-myosin interaction[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America, 1990, 87(1): 414-418.
- [25] PERRIE W T, SMILLIE L B, PREEY S B. A phosphorylated light-chain component of myosin from skeletal muscle[J]. The Biochemical Journal, 1973, 135(1): 151-164.
- [26] THYS T M, BLANK J M, COUGHLIN D J, et al. Longitudinal variation in muscle protein expression and contraction kinetics of largemouth bass axial muscle[J]. The Journal of Experimental Biology, 2001, 204 (pt 24): 4249-4257.