



ZNF697对猪骨骼肌卫星细胞增殖及分化的调控作用

李 杨,文成龙,王育禾,李 晓*

(西北农林科技大学动物科技学院,动物脂肪沉积与肌肉发育实验室,陕西省动物遗传育种与繁殖重点实验室,
杨凌 712100)

摘 要: 旨在探究 ZNF697 对猪骨骼肌卫星细胞(muscle satellite cells, MuSCs)增殖及分化的影响。本试验以猪 MuSCs 为研究对象,利用流式细胞术、实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)、蛋白质免疫印迹(Western blot)和免疫荧光染色等方法检测 ZNF697 对猪 MuSCs 增殖及分化的影响。获得以下研究结果:1) ZNF697 mRNA 的表达量随猪 MuSCs 增殖而动态变化,干扰 ZNF697 抑制 *Cyclin E* ($P<0.01$)、*Cyclin D* ($P<0.05$) mRNA 表达和 *Cyclin B* ($P<0.05$) 蛋白表达,促进 *p21* ($P<0.01$) mRNA 表达,过表达 ZNF697 取得相反的结果。2) ZNF697 在猪 MuSCs 成肌分化过程中表达逐渐升高,干扰 ZNF697 显著降低成肌分化指数 ($P<0.05$),抑制 *MyoG* ($P<0.01$) mRNA 表达、*MyHC* ($P<0.05$)、*MyoD* ($P<0.01$) mRNA 和蛋白表达,过表达 ZNF697 取得相反的结果。本研究鉴定了猪 MuSCs 增殖与成肌分化的促进因子——ZNF697,为培育高瘦肉率的优良猪种提供了育种靶点。

关键词: 猪;骨骼肌卫星细胞;增殖;ZNF697

中图分类号: S828.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)02-0668-09

Regulatory Role of ZNF697 on the Proliferation and Differentiation of Skeletal Muscle Satellite Cells of Pig

LI Yang, WEN Chenglong, WANG Yuhe, LI Xiao*

(Shaanxi Provincial Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction,
Laboratory of Animal Fat Deposition and Muscle Development, College of Animal Science and
Technology, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: This experiment aimed to investigate the effects of ZNF697 on the proliferation and differentiation of porcine skeletal muscle satellite cells (MuSCs). In this experiment, porcine MuSCs were used as the research object. Flow cytometry, Real-time quantitative PCR, Western blot and immunofluorescence staining were employed to detect the effects of ZNF697 on the proliferation and differentiation of porcine MuSCs. The following results were obtained: 1) The expression of ZNF697 mRNA dynamically changes with the proliferation of porcine MuSCs. Interfering with ZNF697 inhibited the mRNA expression of *Cyclin E* ($P<0.01$) and *Cyclin D* ($P<0.05$) and the protein expression of *Cyclin B* ($P<0.05$), promoted the mRNA expression of *p21* ($P<0.01$). Overexpression of ZNF697 showed the opposite results. 2) During the myogenic differentiation of

收稿日期: 2025-06-19

基金项目: 农业生物育种国家科技重大专项(2023ZD0404702); 国家生猪产业技术体系(CARS-35-PIG); 陕西省创新能力支撑计划(2023-CX-TD-57)

作者简介: 李 杨, 硕士, 主要从事动物遗传育种研究, E-mail: dk2725ly@163.com

* 通信作者: 李 晓, 主要从事猪肉品质形成的调控机理研究, E-mail: nice.lixiao@gmail.com

porcine MuSCs, the expression of *ZNF697* gradually increased. Interfering with *ZNF697* significantly reduced the myogenic differentiation index ($P<0.05$) and inhibited the mRNA expression of *MyoG* ($P<0.01$), the mRNA and protein expression of *MyHC* ($P<0.05$) and *MyoD* ($P<0.01$). Overexpression of *ZNF697* showed the opposite results. The results show that *ZNF697* is a promoter of proliferation and myogenic differentiation in porcine MuSCs, which will provide a breeding target for high-lean-meat pig breeds.

Keywords: pig; skeletal muscle satellite cells; proliferation; *ZNF697*

* **Corresponding author:** LI Xiao, E-mail: nice.lixiao@gmail.com

我国猪肉产量和消费量居世界第一。猪产肉量与骨骼肌生长发育密切相关。骨骼肌卫星细胞(skeletal muscle satellite cells, MuSCs)是一类存在于肌肉基底膜与肌纤维之间的成体干细胞,呈扁平状,广泛地参与骨骼肌生长、发育和修复等生理过程,*Pax7*是MuSCs的标志基因^[1]。MuSCs通常处于静息状态,在生长、急性损伤和衰老等刺激下被激活,进而增殖和分化,促进骨骼肌生成与肌肉再生^[2]。MuSCs增殖及成肌分化受到多种微环境因子的复杂调控^[3-5]。相关研究报道,*Cyclin D*、*Cyclin E*调控G1期到S期的转换,*Cyclin B*是G2/M期周期蛋白标志物,与细胞周期素依赖性激酶(CDK)抑制因子*p21*等共同参与调控细胞增殖,因此常作为检测细胞增殖的标志物^[6-10]。*MyoD*、*MyoG*等作为成肌分化标志物表达并促进MuSCs向肌原细胞分化,促进骨骼肌的发育与成熟^[11-13]。探究MuSCs增殖与分化的分子调控机制对于促进猪肉生产、改善猪肉品质具有重要的理论和实践价值。

锌指蛋白697(zinc finger protein 697, *ZNF697*)又名Zfp697,位于猪的4号染色体上,属于C2H2型锌指蛋白家族。全表型组关联分析(phenome-wide association analysis, PheWAS)显示,*ZNF697*与猪的肉质与胴体性状高度关联^[14]。本课题组前期对猪原代MuSCs增殖期及分化3 d肌管的RNA-seq分析(相关内容未公开发表)显示,增殖期的MuSCs中*ZNF697*的表达量显著高于肌管,暗示*ZNF697*对MuSCs的促增殖作用。通过NCBI序列对比,猪和小鼠的*ZNF697*氨基酸序列分别含有553和569个氨基酸,序列同源性为84.56% (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>),表明*ZNF697*在猪和小鼠上可能具有相似的功能。Correia等^[15]运用Mef2c-Cre构建骨骼肌特异性*ZNF697*敲除小鼠,发现*ZNF697*缺失导致CTX诱导的肌肉再生受阻,RNA-seq分析显示肌肉再生相关基因表达受到抑制。MuSCs

在肌肉再生过程中发挥关键作用,提示该基因可能调控MuSCs增殖和/或成肌分化。

因此,本试验以猪MuSCs为研究对象,通过干扰和过表达探究*ZNF697*对猪MuSCs增殖及分化的作用,为提高猪肉产量和改善猪肉品质提供新的育种靶点。

1 材料与方法

1.1 试验动物

3日龄大白猪来自西北农林科技大学三站试验猪场。将大白猪用戊巴比妥钠(Sigma)麻醉,耳源性静脉注射10% KCl(0.5 mL·kg⁻¹)处死。37℃温水清洗仔猪体表3遍,之后浸泡于75%酒精中消毒30 min。在超净工作台进行解剖,分离猪背最长肌和比目鱼肌。解剖器械超声清洗30 min,之后在超净工作台照射紫外60 min。取样后迅速放于液氮保存,后续用于检测*ZNF697*的组织表达情况。

1.2 主要试剂

I型胶原酶(SCR103)购自美国Sigma-Aldrich公司;胰蛋白酶(C0202)和Lipofectamine 2000转染试剂(11668-019)购自美国Thermo Fisher Scientific公司;DMEM/F12高糖培养基(SH30023.01)和胎牛血清(SV30208.02)购自美国Cytiva HyClone公司;青霉素/链霉素(B540734-0010)和马血清(E510006-0100)购自中国生工生物工程(上海)股份有限公司;Trizol试剂(AG21102)购自艾科瑞生物科技有限公司;蛋白裂解液和蛋白酶抑制剂购自美国AbMole BioScience公司;荧光定量(EG20117M)和反转录试剂盒(EG15139M-1-2)购自江苏愚公生物科技有限公司;荧光定量引物由北京擎科生物科技有限公司合成;BeyoClick™ EdU-594细胞增殖检测试剂盒(C0078S)购买自中国上海碧云天生物技术有限公司;本研究中siRNA由广州锐博生物技术有限公司合成;pcDNA3.1-*ZNF697*载体由通用生

物公司合成。

1.3 猪 MuSCs 的分离及培养

3 日龄杜长大仔公猪 3 头,选用背最长肌,均匀剪碎成 1 mm^3 大小。猪 MuSCs 的分离方法已有报道^[16],采用双酶法进行肌肉消化,在 37°C 的水浴中用 0.1% 的 I 型胶原酶消化 90 min,之后换用 0.25% 的胰蛋白酶消化 30 min。用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 高糖培养基终止消化,之后将细胞悬液依次通过 70 目和 200 目筛网过滤。细胞重悬于生长培养基中,生长培养基含 DMEM/F12、20% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素。差速贴壁法纯化骨骼肌卫星细胞:分离得到的细胞悬液先在细胞培养皿中自由沉降 1 d,然后上清液转入用基质胶孵育后的培养皿中贴壁 2 d,得到 F1 代骨骼肌卫星细胞。细胞培养于 37°C 、5% CO_2 培养箱中,每 2 d 更换新的培养基。密度达到 90% 时更换为分化培养基诱导分化 5 d,分化培养基含 DMEM/F12、5% 马血清

和 1% 青霉素/链霉素。

1.4 细胞转染

细胞培养于 6 孔或 12 孔细胞培养板,铺满皿底 70%~80% 时进行转染。根据 Lipofectamine 2000 转染试剂说明书,将靶向 ZNF697 的 si-ZNF697 和 pcDNA3.1-ZNF697 载体分别转染进细胞,6~12 h 后更换培养基。

1.5 RNA 提取、反转录及 qRT-PCR

Trizol 法提取细胞和组织的总 RNA。分光光度计测定 RNA 浓度,取 A260/A280 值为 1.8~2.0 的样品使用 AGEvo M-MLV 反转录试剂盒进行反转录,之后按照 SYBR Green Kit 试剂盒和基因特异引物进行 qRT-PCR 反应,反应体系为: cDNA $2\text{ }\mu\text{L}$, 上、下游引物各 $0.2\text{ }\mu\text{L}$, Taq SYBR Green qPCR PreMix $5\text{ }\mu\text{L}$, ddH₂O $2.6\text{ }\mu\text{L}$, 总体积为 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。引物序列见表 1,内参为 β -actin。数据采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 进行分析。

表 1 实时定量 PCR 的引物序列

Table 1 The primer sequences used for real-time qPCR

基因 Gene	正向序列 (5'→3') Forward primer	反向序列 (3'→5') Reverse primer
ZNF697	TGAGTGAGGAAGAAGGGGTTG	TCCGGGAAATGCTGTCTGATT
p27	TGTCTACGAGTTTGCAGCCAT	GGTCGGCCTTGCAAATTTCT
Cyclin E	AGAAGGAAAGGGATGCGAAGG	CCAAGGCTGATTGCCACACT
Cyclin D	TACACCGACAACCTCCATCCG	GAGGGCGGGTTGGAAATGAA
p21	ACGTCTCAGGAGGACCATGT	AGAAGATCAGCCGGCGTTTG
MyHC	TTGAAAAGACGAAGCAGCGAC	AGGAAGGAGGGCTGGAAGAG
MyoG	ATGAGACATCCCCCTACTTCTACCA	GTCCCCAGCCCCTTATCTTCC
MyoD	GGCTGCCCAAGGTGGAAATC	TGCGTCTGAGTCACCGCTGTAG
β -actin	AGATCAAGATCATCGCGCCT	ATGCAACTAACAGTCCGCCT

1.6 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 检测

加入适量的裂解液 (RIPA: 蛋白酶抑制剂为 100:1), 冰上裂解 30 min, 4°C 、 $12\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 保留上清液。按照上清液: 缓冲液为 4:1 的比例添加上样缓冲液, 煮沸 10 min。BCA 蛋白检测试剂盒检测蛋白浓度。制备 10% SDS-PAGE 凝胶, 每个上样孔加入 $20\text{ }\mu\text{g}$ 蛋白样品, 80 V 电泳至样品进入分离后, 调电压至 120 V, 待样品中溴酚蓝迁移至凝胶最下端时, 电泳完毕。然后转膜 2.5 h 到 PVDF 膜上。封闭液封闭膜 2 h。一抗 4°C 摇床过夜孵育, 摇床上孵育二抗 2 h。曝光显影。本研究中所用抗体见表 2。

表 2 蛋白质印迹中使用的抗体

Table 2 Antibodies used in Western blot

抗体 Antibody	宿主 Host	稀释比例 Dilution ratio
MyHC	Rabbit	1:500
MyoD	Mouse	1:500
MyoG	Mouse	1:1 000
Cyclin E	Mouse	1:1 000
Cyclin B	Mouse	1:1 000
p21	Mouse	1:1 000
ZNF697	Rabbit	1:500
β -actin	Rabbit	1:1 500
Anti-rabbit-HRP	/	1:5 000
Anti-mouse-HRP	/	1:5 000

1.7 流式细胞术检测

将密度为15%~20%的细胞接种于6 cm培养皿,细胞密度达到40%~50%时转染 si-ZNF697 或 pcDNA3.1-ZNF697,待细胞汇合度为80%左右时用胰酶消化。收集细胞沉淀,冷乙醇4℃过夜固定,PBS清洗后加入500 μL染色工作液(含50 μg·mL⁻¹碘化丙啶的PBS,100 μg·mL⁻¹ RNase A,0.2% Triton X-100),4℃避光孵育30 min。流式细胞仪检测细胞数量,ModFit量化计数结果。

1.8 EdU 染色

将对数生长期的细胞接种于6孔或12孔细胞培养板,培养至正常生长阶段。细胞密度达到30%~40%时转染 si-ZNF697 或 pcDNA3.1-ZNF697,并按照BeyoClick™ EdU-594细胞增殖检测试剂盒进行EdU染色,染色结束后在荧光显微镜下观察并计数。

1.9 免疫荧光染色

转染后的细胞诱导分化5 d,弃去培养基,PBS洗涤2次。将细胞用4%多聚甲醛固定10 min,0.5% Triton X-100通透10 min,用5% BSA的封闭液封闭1 h,一抗4℃孵育过夜,二抗室温孵育2 h,细胞经PBS洗涤后进行DAPI染色,置于荧光显微镜下观察、拍照。

1.10 数据分析

使用GraphPad Prism 9.5.0进行数据整理和绘图,结果以“平均值±标准误”表示,使用Student's-t检验或单因素方差分析(one-way analysis of variance,ANOVA)。 $*P<0.05$ 表示显著, $**P<0.01$ 、 $***P<0.001$ 表示极显著。

2 结 果

2.1 干扰 ZNF697 对猪 MuSCs 增殖的影响

在MuSCs增殖过程中,ZNF697表达量在24 h最高(图1A)。转染 siRNA,24 h之后检测转染效率,ZNF697 mRNA水平极显著降低($P<0.01$,图1B)。对细胞周期的检测发现,干扰ZNF697导致G1期细胞比例显著高于对照组,S期细胞比例则显著低于对照组($P<0.05$,图1C、1D),提示干扰ZNF697抑制猪MuSCs增殖。EdU染色结果显示干扰ZNF697显著降低了EdU阳性细胞数目($P<0.05$,图1E、1F)。qRT-PCR检测发现干扰ZNF697后,Cyclin E mRNA表达水平极显著降低($P<0.01$),Cyclin D mRNA表达水平显著降低

($P<0.05$),p21 mRNA水平极显著升高($P<0.01$,图1G)。Western blot结果表明,干扰ZNF697极显著降低Cyclin E蛋白水平($P<0.01$),显著降低Cyclin B的蛋白水平($P<0.05$,图1H),与mRNA结果一致。以上结果表明,干扰ZNF697抑制猪MuSCs增殖。

2.2 过表达 ZNF697 对猪 MuSCs 增殖的影响

转染 pcDNA3.1-ZNF697 显著提高 ZNF697 mRNA水平,约15倍以上($P<0.05$,图2A)。EdU染色结果显示,与对照组相比,过表达ZNF697 EdU阳性细胞数量显著提高($P<0.05$,图2B、2C)。Western blot结果显示,在增殖过程中,ZNF697过表达显著促进Cyclin B表达($P<0.05$),极显著抑制p21表达($P<0.01$,图2D)。结果表明,过表达ZNF697促进猪MuSCs增殖。

2.3 干扰 ZNF697 对猪成肌分化的影响

在MuSCs分化过程中,ZNF697表达水平逐渐上升(图3A)。转染 si-ZNF697显著降低MyHC阳性细胞比例,分化指数显著降低($P<0.05$,图3B、3C)。RT-qPCR结果显示,干扰ZNF697显著降低分化标志基因MyHC mRNA的表达水平($P<0.05$),极显著降低MyoG和MyoD mRNA表达水平($P<0.01$,图3D)。Western blot结果同样显示,干扰ZNF697后可显著降低MyHC蛋白水平($P<0.05$),极显著降低MyoD蛋白水平($P<0.01$,图3E)。以上结果表明,干扰ZNF697抑制猪MuSCs的分化。

2.4 过表达 ZNF697 对成肌分化的影响

相比于对照组,过表达ZNF697显著增加了MyHC阳性细胞的比例,分化指数显著升高($P<0.05$,图4A、4B)。同时,过表达ZNF697极显著升高成肌标志基因MyHC($P<0.01$)、MyoD mRNA表达水平($P<0.001$,图4C)。Western blot结果表明,MyHC($P<0.01$)和MyoG蛋白水平极显著升高($P<0.001$,图4D),与mRNA结果一致。以上结果表明,过表达ZNF697促进MuSCs分化。

3 讨 论

MuSCs具有干细胞活性,可以增殖、分化为肌细胞,促进肌肉生长和损伤后再生^[17]。ZNF697是锌指蛋白家族(ZNFs)的一员,该家族在调节转录、DNA修复、信号转导、蛋白质降解等诸多功能中发挥作用^[18]。相关研究发现,ZNFs如Klf2、Klf3和

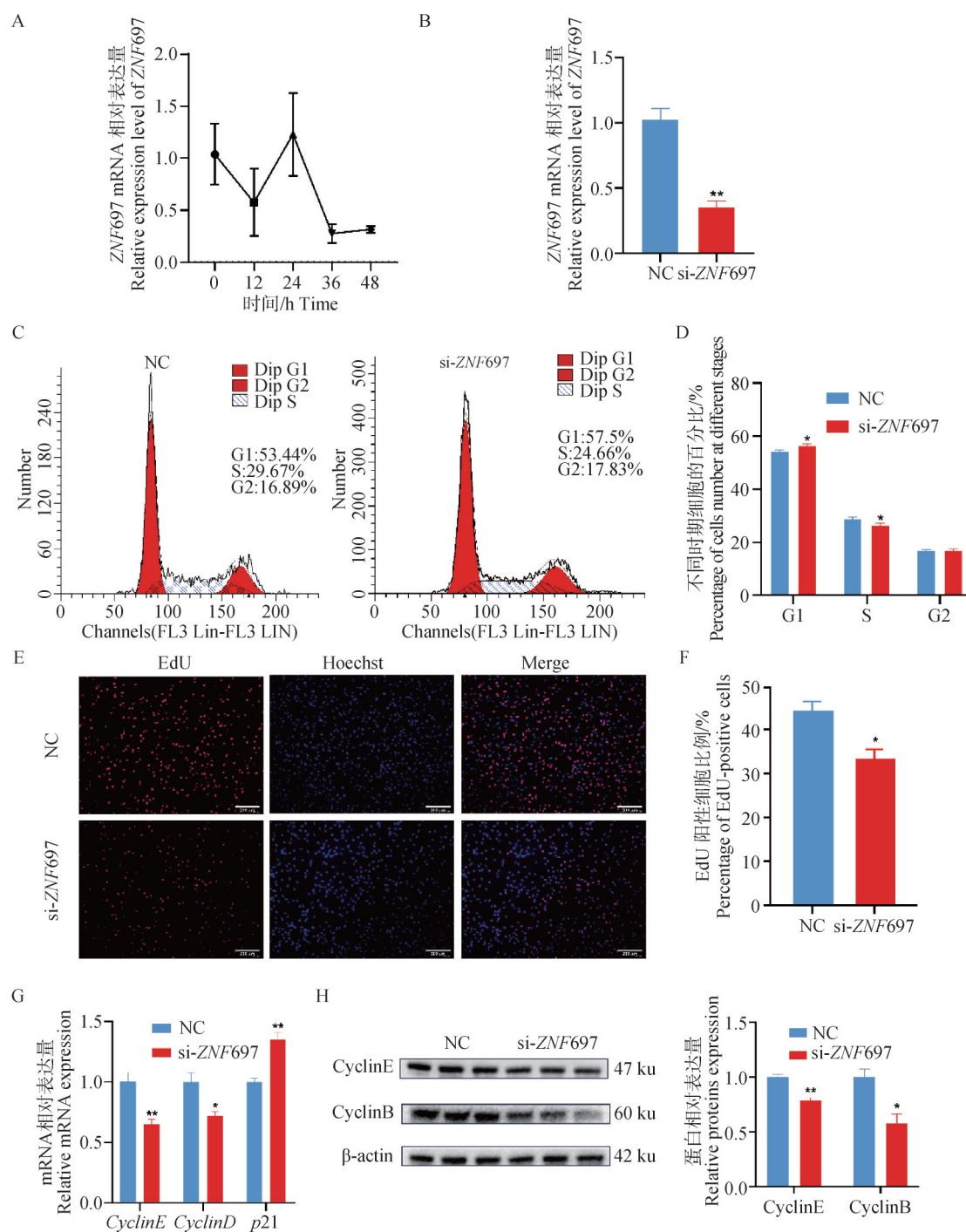
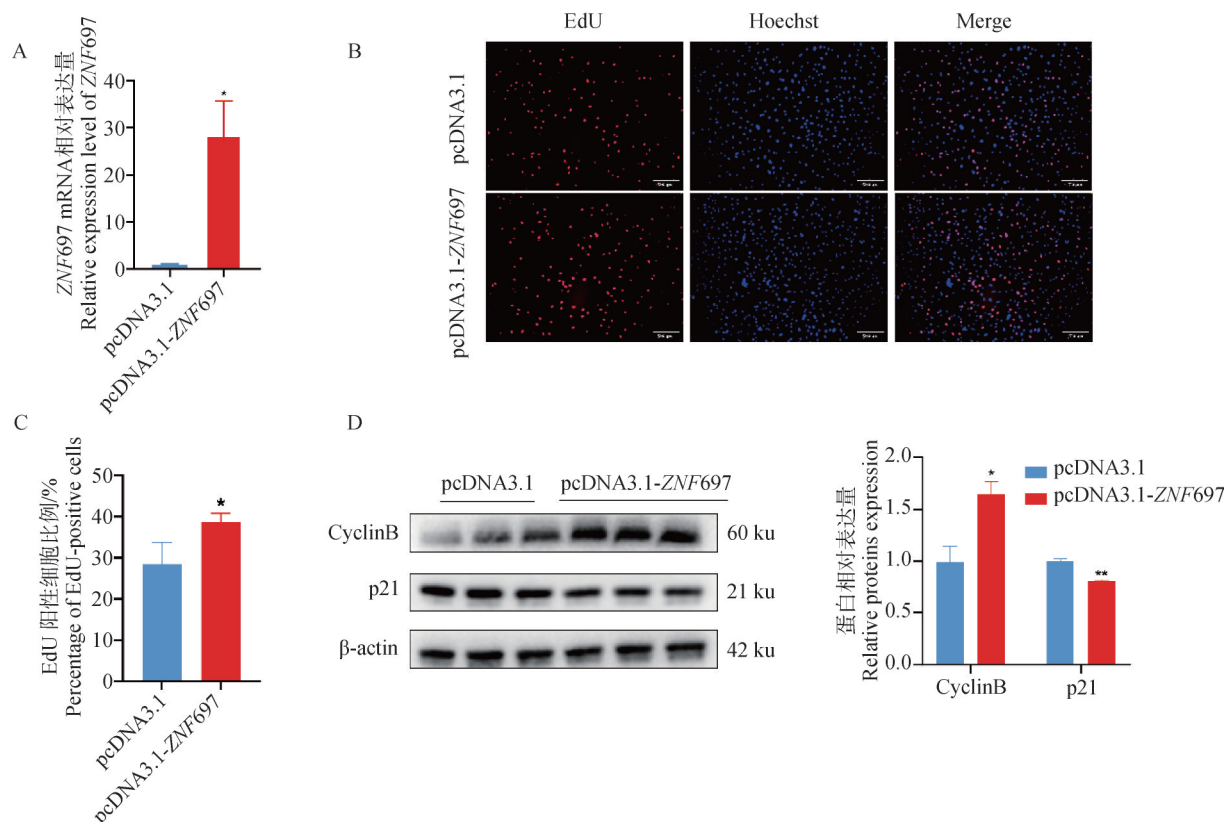


图1 干扰ZNF697抑制猪MuSCs的增殖
Fig. 1 Interference of ZNF697 inhibits the proliferation of pig MuSCs

A. The mRNA expression of ZNF697 in proliferating porcine skeletal muscle satellite cells for different time (0, 12, 24, 36, and 48 h); B. The transfection efficiency of si-ZNF697; C. Flow cytometry analysis of the proportion of cells in different phases of the cell cycle; D. Quantitative analysis of the percentage of cells in different phases; E. Immunofluorescence staining with EdU (red) and Hoechst (blue), scale bar: 200 μm; F. The ratio of EdU-positive cells was quantified; G. The relative mRNA expression of Cyclin E, Cyclin D, and p21; H. The proteins expression and quantitative results of Cyclin E and Cyclin D. n=3

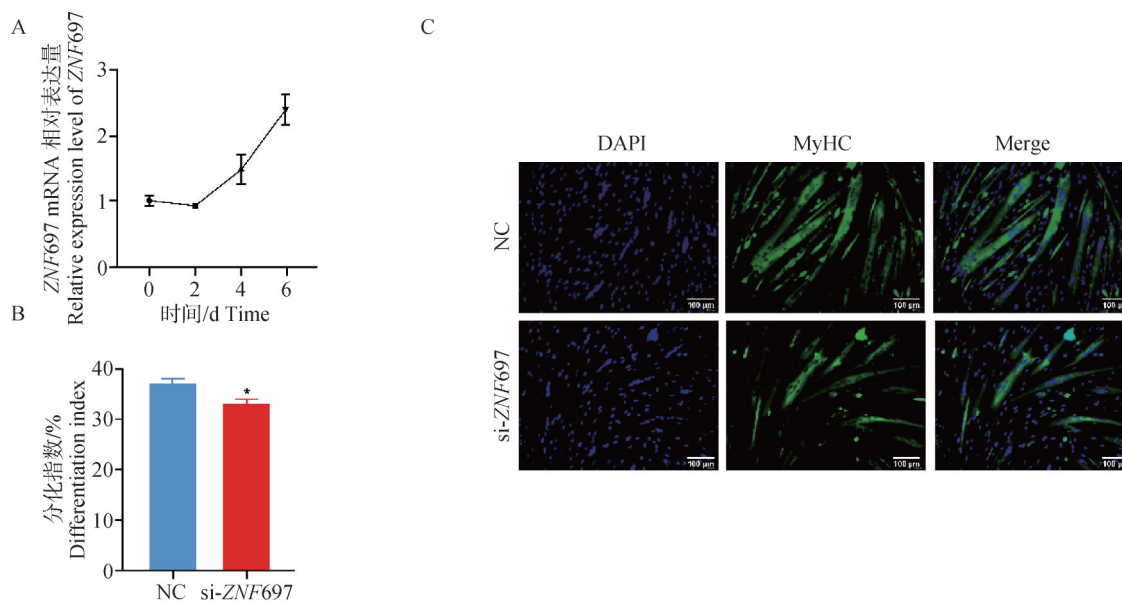


A. qRT-PCR 检测 ZNF697 mRNA 相对表达量; B. EdU (红色) 和 Hoechst (蓝色) 免疫荧光染色, 比例尺: 200 μ m; C. 统计 EdU 阳性细胞比例; D. Cyclin B 和 p21 蛋白相对表达量及统计结果。n=3

A. The mRNA expression of ZNF697 were detected by qRT-PCR; B. Immunofluorescence staining with EdU (red) and Hoechst (blue), scale bar: 200 μ m; C. The ratio of EdU-positive cells was quantified; D. The proteins expression and quantitative results of Cyclin B and p21. n=3

图 2 过表达 ZNF697 促进猪 MuSCs 的增殖

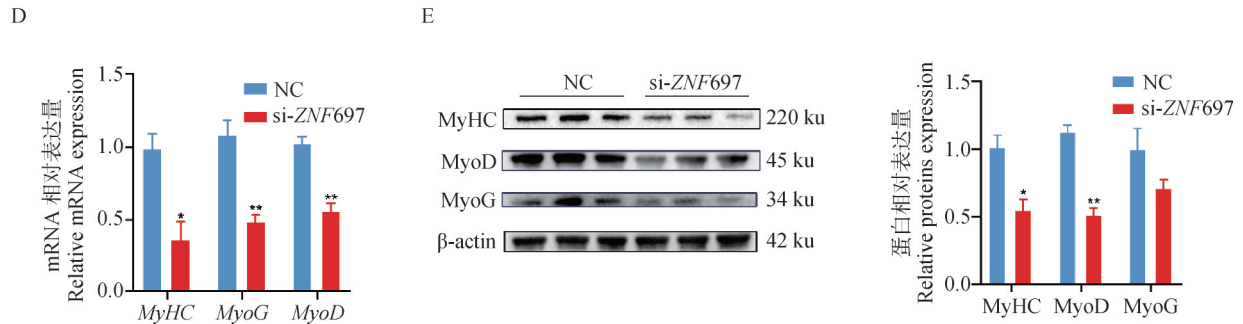
Fig. 2 Overexpression of ZNF697 promotes the proliferation of pig MuSCs



(图 3 Fig.3)

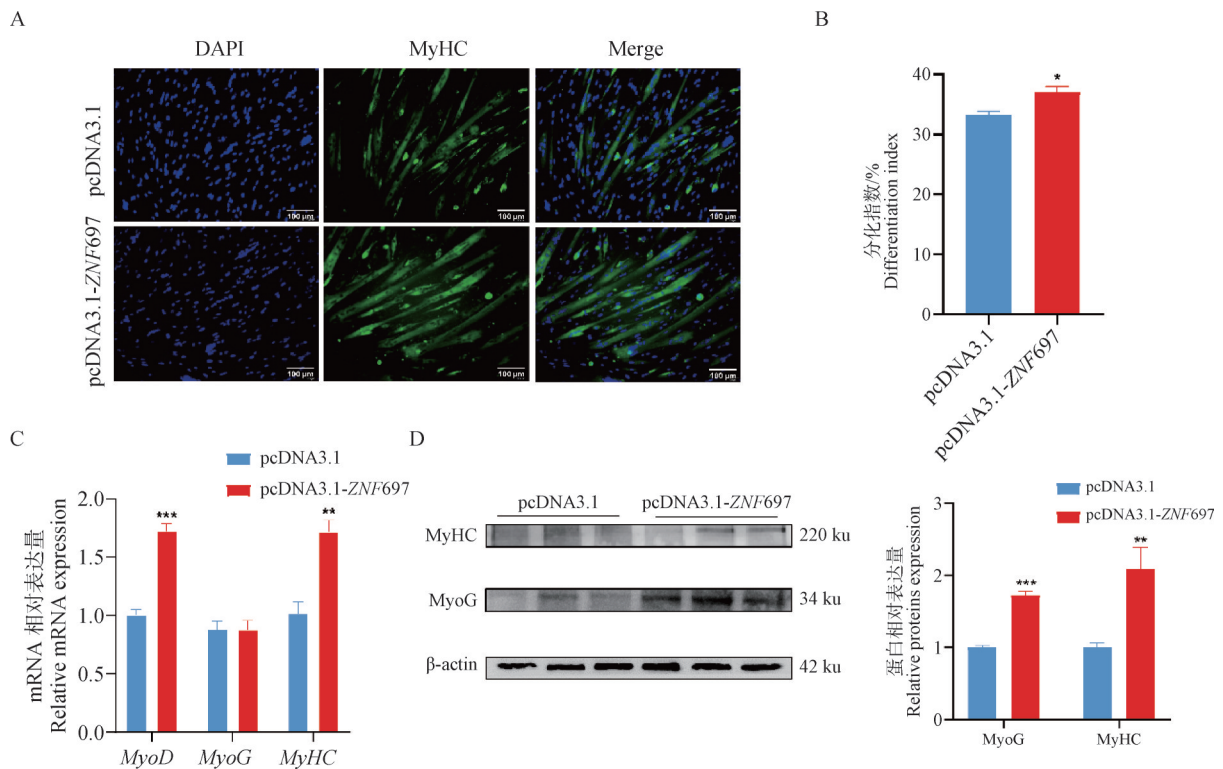
(转下页 Carried forward)

(续图3 Continued)



A. 猪 MuSCs 诱导分化不同时间(0、2、4、6 d) *ZNF697* mRNA 相对表达量; B. 分化指数统计结果, MyHC 阳性细胞细胞核比例表示分化指数; C. DAPI (蓝色) 和 MyHC (绿色) 免疫荧光染色, 比例尺: 100 μ m; D. qRT-PCR 检测 *MyHC*、*MyoG* 和 *MyoD* mRNA 相对表达量; E. *MyHC*、*MyoG* 和 *MyoD* 蛋白相对表达量及统计结果。n=3

A. The mRNA expression of *ZNF697* in differentiating porcine skeletal muscle satellite cells for different time (0, 2, 4, and 6 days); B. Differentiation index statistical results, differentiation index is calculated as the percentage of nuclei in MyHC-positive cells; C. Immunofluorescence staining with DAPI (blue) and MyHC (green), scale bar: 100 μ m; D. The mRNA expression of *MyHC*, *MyoG*, and *MyoD* were detected by qRT-PCR; E. The proteins expression and quantitative results of *MyHC*, *MyoG*, and *MyoD*. n=3

图3 干扰 *ZNF697* 抑制猪 MuSCs 的分化Fig. 3 Interference of *ZNF697* inhibits the differentiation of pig MuSCs

A. DAPI (蓝色) 和 MyHC (绿色) 免疫荧光染色, 比例尺: 100 μ m; B. 分化指数统计结果, MyHC 阳性细胞细胞核比例表示分化指数; C. qRT-PCR 检测 *MyHC*、*MyoG* 和 *MyoD* mRNA 相对表达量; D. *MyHC* 和 *MyoG* 蛋白相对表达量及统计结果。n=3

A. Immunofluorescence staining with DAPI (blue) and MyHC (green), scale bar: 100 μ m; B. Differentiation index statistical results, differentiation index is calculated as the percentage of nuclei in MyHC-positive cells; C. The mRNA expression of *MyHC*, *MyoG*, and *MyoD* were detected by qRT-PCR; D. The proteins expression and quantitative results of *MyHC* and *MyoG*. n=3

图4 过表达 *ZNF697* 促进猪 MuSCs 的分化Fig. 4 Overexpression of *ZNF697* promotes the differentiation of pig MuSCs

Klf4等参与调节骨骼肌发育^[19]。Hayashi等^[20]研究表明,MuSCs缺失Krüppel样因子5(Klf5)抑制肌管形成。Hirata等^[21]研究发现,小鼠骨骼肌中缺乏KLF15可以抵御肌肉萎缩。本研究通过检索PigBiobank数据库发现ZNF697与猪肉品质性状(腰大肌深度、背膘厚度)显著相关,检索Ensembl数据库发现ZNF697上游SNP位点rs80909317与猪腰大肌深度显著相关(<https://www.ensembl.org/>),此外,检索GeneAtlas数据库发现ZNF697上游位点rs49886和rs404937与人的生长性状高度相关(<http://geneatlas.roslin.ed.ac.uk/>),然而ZNF697对于猪骨骼肌发育的调控作用仍不清楚。试验结果表明ZNF697促进MuSCs成肌分化^[14]。

目前对ZNF697报道较少且集中于炎症反应。Guo等^[22]发现ZNF697在促炎肺泡巨噬细胞中上调,并根据该基因表达量构建预测肺腺癌风险预后模型。Martínez-Aguilar等^[23]运用GWAS分析发现ZNF697 rs10494227位点A等位基因与干扰素 β (IFN β)治疗反应相关。Correia等^[15]发现ZNF697促进趋化因子配体1(Ccl1)、干扰素调节因子1(Irf1)等炎症相关基因的表达,促进骨骼肌的组织修复,过表达ZNF697会导致细胞凋亡以及NF- κ B/TNF- α /IL2/STAT5等相关通路的富集。研究发现NF- κ B/TNF- α /IL2/STAT5参与炎症反应^[24-25]。MuSCs在受到炎症因子的刺激下激活并进入细胞周期,实现自我更新,从而维持干细胞池的稳态^[26]。ZNF697通过促进炎症反应进而促进MuSCs的激活是未来研究的方向。本研究发现,在MuSCs中干扰ZNF697显著抑制Cyclin B,促进p21 mRNA表达水平,进而促进MuSCs的增殖。此外,IFN γ 通路可通过ZNF697上的STAT位点发挥作用,注射IFN γ 导致小鼠肌管ZNF697 mRNA水平显著升高^[15]。最近的研究发现IFN γ 长期刺激阻断MuSCs激活,抑制MuSCs的增殖^[27]。而本研究发现过表达ZNF697促进MuSCs增殖,这表明长期的IFN γ 刺激可能导致ZNF697水平的进一步变化,进而导致ZNF697的作用失效。对于IFN γ 通路与ZNF697之间的具体作用仍需要深入探究。

锌指蛋白家族成员大多数为转录因子,通常与DNA结合发挥特定功能,调节基因的转录等。然而,研究发现ZNF697主要作为RNA结合蛋白发挥作用^[15]。相关研究表明C2H2型锌指蛋白也可以结合RNA,参与转录后调控^[28]。Bye-A-Jee等^[29]发现

在成年小鼠Pax7阳性细胞中RNA结合蛋白Zfp3611与Zfp3612缺失会导致骨骼肌重量显著降低。ZNF697属于C2H2型锌指蛋白,Correia等^[15]发现ZNF697作为RNA结合蛋白靶向miR-206-3p。该miRNA已被证明可以促进骨骼肌再生^[30],表明ZNF697可能通过调节miRNA等调控MuSCs的生理功能。有关ZNF697作为转录因子或RNA结合蛋白的功能仍有待进一步研究。

4 结 论

本研究发现,干扰ZNF697显著抑制猪MuSCs增殖及成肌分化,过表达促进该过程。本研究结果为进一步探索ZNF697对MuSCs的具体作用机制提供研究依据,为提高猪肉产量提供新的育种靶点。

参考文献(References):

- [1] SEALE P, SABOURIN L A, GIRGIS-GABARDO A, et al. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells [J]. *Cell*, 2000, 102 (6): 777-786.
- [2] TIERNEY M T, SACCO A. Satellite cell heterogeneity in skeletal muscle homeostasis [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(6):434-444.
- [3] YANG L, LUO H J, GONG Z A, et al. miR-2400 promotes proliferation of bovine skeletal muscle-derived satellite cells by regulating MAGED1 genes expression [J]. *J Muscle Res Cell Motil*, 2025, 46(3): 183-192.
- [4] PORPIGLIA E, MAI T, KRAFT P, et al. Elevated CD47 is a hallmark of dysfunctional aged muscle stem cells that can be targeted to augment regeneration [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(12):1653-1668. e8.
- [5] CATARINELLA G, BRACAGLIA A, SKAFIDA E, et al. STAT3 inhibition recovers regeneration of aged muscles by restoring autophagy in muscle stem cells [J]. *Life Sci Alliance*, 2024, 7(8): e202302503.
- [6] SHERR C J. D-type cyclins [J]. *Trends Biochem Sci*, 1995, 20(5):187-190.
- [7] 陈世钰, 苏 欣, 刘俊平, 等. CCN3对小鼠胚胎成纤维细胞增殖的影响 [J]. 南方医科大学学报, 2021, 41 (1):79-86.
CHEN S Y, SU X, LIU J P, et al. Regulatory effect of CCN3 on proliferation of mouse embryonic fibroblasts and its mechanism [J]. *Journal of Southern Medical*

- University, 2021, 41(1):79-86. (in Chinese)
- [8] MÖRÖY T, GEISEN C. Cyclin E[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(8):1424-1439.
- [9] ZHENG S, LI L, ZHOU H, et al. CircTCF4 suppresses proliferation and differentiation of goat skeletal muscle satellite cells independent from AGO2 binding[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21):12868.
- [10] KARIMIAN A, AHMADI Y, YOUSEFI B. Multiple functions of p21 in cell cycle, apoptosis and transcriptional regulation after DNA damage[J]. *DNA Repair*, 2016, 42:63-71.
- [11] YAMAKAWA H, KUSUMOTO D, HASHIMOTO H, et al. Stem cell aging in skeletal muscle regeneration and disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(5):1830.
- [12] WARDLE F C. Master control: transcriptional regulation of mammalian MyoD[J]. *J Muscle Res Cell Motil*, 2019, 40(2):211-226.
- [13] ODAME E, LI L, NABILLA J A, et al. miR-145-3p inhibits MuSCs proliferation and mitochondria mass via targeting MYBL1 in Jianzhou big-eared goats[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9):8341.
- [14] ZENG H, ZHANG W, LIN Q, et al. PigBiobank: a valuable resource for understanding genetic and biological mechanisms of diverse complex traits in pigs[J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 52(D1):D980-D989.
- [15] CORREIA J C, JANNIG P R, GOSZTYLA M L, et al. Zfp697 is an RNA-binding protein that regulates skeletal muscle inflammation and remodeling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2024, 121(34):e2319724121.
- [16] DOU M, YAO Y, MA L, et al. The long noncoding RNA MyHC IIA/X-AS contributes to skeletal muscle myogenesis and maintains the fast fiber phenotype[J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(15):4937-4949.
- [17] RELAIX F, ZAMMIT P S. Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: the cell on the edge returns centre stage[J]. *Development*, 2012, 139(16):2845-2856.
- [18] CASSANDRI M, SMIRNOV A, NOVELLI F, et al. Zinc-finger proteins in health and disease[J]. *Cell Death Discov*, 2017, 3:17071.
- [19] 庄兆辉, 仲永, 陈月婵, 等. Krüppel样因子在肌肉组织中的功能研究进展[J]. *遗传*, 2018, 40(9):733-748.
- ZHUANG Z H, ZHONG Y, CHEN Y C, et al. Research progress on the roles of Krüppel-like factors in muscle tissues[J]. *Hereditas*, 2018, 40(9):733-748. (in Chinese)
- [20] HAYASHI S, MANABE I, SUZUKI Y, et al. Klf5 regulates muscle differentiation by directly targeting muscle-specific genes in cooperation with MyoD in mice[J]. *eLife*, 2016, 5:e17462.
- [21] HIRATA Y, NOMURA K, KATO D, et al. A Piezo1/KLF15/IL-6 axis mediates immobilization-induced muscle atrophy[J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(10):1-13.
- [22] GUO X, DENG Y, JIANG W, et al. Single cell transcriptomic analysis reveals tumor immune infiltration by macrophage cells gene signature in lung adenocarcinoma[J]. *Discov Oncol*, 2025, 16(1):261.
- [23] MARTÍNEZ-AGUILAR L, PÉREZ-RAMÍREZ C, MALDONADO-MONTORO M DEL M, et al. Effect of genetic polymorphisms on therapeutic response in multiple sclerosis relapsing-remitting patients treated with interferon-beta[J]. *Mutat Res-Rev Mutat*, 2020, 785:108322.
- [24] BISWAS R, BAGCHI A. NFkB pathway and inhibition: an overview[J]. *Comput Mol Biol*, 2016, 6(1):1-20.
- [25] MAHMUD S A, MANLOVE L S, FARRAR M A. Interleukin-2 and STAT5 in regulatory T cell development and function[J]. *JAKSTAT*, 2013, 2(1):e23154.
- [26] LI N, CHEN Y, WANG Q, et al. Microenvironment-driven satellite cell regeneration and repair in aging-related sarcopenia: mechanisms and therapeutic frontiers[J]. *Stem Cell Res, Ther*, 2025, 16(1):545.
- [27] HOU C, PERIOU B, GERVAIS M, et al. Interferon-γ causes myogenic cell dysfunction and senescence in Simmune myopathies[J]. *Brain*, 2025, 148(8):2883-2898.
- [28] NABEEL-SHAH S, PU S, BURNS J D, et al. C2H2-zinc-finger transcription factors bind RNA and function in diverse post-transcriptional regulatory processes[J]. *Mol Cell*, 2024, 84(19):3810-3825. e10.
- [29] BYE-A-JEE H, PUGAZHENDHI D, WOODHOUSE S, et al. The RNA-binding proteins Zfp361l and Zfp3612 act redundantly in myogenesis[J]. *Skelet Muscle*, 2018, 8(1):37.
- [30] LIU N, WILLIAMS A H, MAXEINER J M, et al. microRNA-206 promotes skeletal muscle regeneration and delays progression of Duchenne muscular dystrophy in mice[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(6):2054-2065.