

分子诊断技术应用于运动分子生物学 科研的研究进展

王晓红¹, 张冠男², 张 栋², 王 清², 邢丽丽²

(1. 河北省体育局 田径运动管理中心, 石家庄 050000;

2. 河北省体育科学研究所, 石家庄 050000)

摘 要:近年来,随着新的分子诊断技术的不断发展,从分子水平上评价运动员在调整期、训练期和比赛期的体质、状态已成为可能。分子诊断技术早在2000年就应用于国内的竞技体育科研中,其主要应用在运动员选材、运动疲劳机理、运动诱导骨骼肌适应、基因治疗技术、基因兴奋剂检测等几方面。总结了各种新的分子诊断技术在运动分子生物学科研中的应用原理及优缺点,并指出未来其发展方向将侧重于以下几方面:①快速、简便的等位基因检测方法在运动员选材和运动遗传病筛查中的应用;②应用基因技术对运动员选材的地域和种族多态性进行划分;③基因兴奋剂检测技术的革新。

关键词:分子诊断;基因选材;疲劳机理;基因兴奋剂

中图分类号:G804

文献标志码:A

文章编号:1008-3596(2016)04-0089-08

1 分子诊断及运动分子生物学

分子诊断技术是应用分子生物学方法检测患者体内遗传物质的结构或表达水平的变化而做出诊断的技术,分子诊断是预测诊断的主要方法,其对象主要包括DNA、RNA和蛋白质。

分子生物学的研究对运动生命科学的发展起着巨大的推动作用,在此基础上发展起来的运动分子生物学,是通过运用分子诊断技术,阐释运动过程中各种生命现象的机理,了解运动对机体影响的实质的科学。通过分子诊断技术基因多态性的研究可以尽早发现具有特殊竞技能力的人才,提高优秀运动员选材的准确性;还可以借此了解个体对运动训练的适应能力,制订个性化运动处方,提高训练的科学性;可以从分子水平上了解运动性疲劳产生的规律,开发用于预测运动员过度疲劳的基因芯片;转基因技术可以改造营养补充剂,使其更符合运动项目特点,实施运动

营养药物的创新;基因治疗技术将用于运动损伤的治疗,加快运动损伤的康复,减少损伤的复发;对蛋白质的诊断有助于了解运动对蛋白三维结构和功能的影响,采用人工手段干预蛋白质的结构和功能,达到提高运动能力的目的。总之,分子诊断技术的发展必将大大推动运动分子生物学的进步,为运动训练科学化做出贡献。

2 分子诊断在运动分子生物学中的应用

2.1 运动相关疾病的临床预防诊断

近年来,随着新的基因扩增技术不断发展,NASBA、3SR、SDA、RT-PCR、nest-PCR、multiplex PCR、PCR-RFLP、IEXPAR、AS-PCR、cDNA等新的特定基因检测技术不断涌现。随着运动分子生物学的不断发展,研究人员发现,一些运动相关疾病是由特定基因的多态性引起的,具有显著的遗传性,如心源性猝死、肌腱炎、手指腱鞘炎、韧带断裂等,这些运动损伤

收稿日期:2016-03-09

基金项目:河北省体育局体育科技项目(20151011;20151015)

作者简介:王晓红(1978—),女,河北赵县人,助理研究员,研究方向为运动医学和运动训练。

和疾病的发生不仅影响运动员的竞技能力和运动职业生涯,甚至危及健康和生命。

BMP4 由腱细胞产生,为肌腱提供稳定的定位点,能够降低过度运动对软组织产生的压力^[1],FGF3、FGF10 和 FGFR1 相互作用有促进有丝分裂、细胞迁移、分化和伤口愈合等多种生物学功能^[2]。Salle 等人^[3]研究了 138 名 18 岁和 35 岁之间、每天接受 4—5 小时训练的排球运动员的肌腱状况,通过核磁共振成像观察有疼痛反应的运动员的肌腱髌骨、脚踝、肩胛和髌外展肌等处的肌腱,并从其中提取唾液样本的 DNA,使用 TaqMan 实时定量 PCR 比较组间基因型差异。发现 BMP4 和 FGF3 基因单倍型与运动员肌腱病变高度相关,FGF10 基因参与肌腱病变过程,FGFR1 基因多态性与肌腱病变无相关性。

前交叉韧带断裂(ACL)是最严重的骨骼肌软组织损伤之一,然而产生这种伤病的机制尚未明确。Posthumus 等人^[4]发现存在间质金属蛋白酶的染色体 11q22 片段与 ACL 的发病有密切关系。Raleigh 等人^[5]通过研究 126 名欧洲人种 ACL 病患者和 214 名对照者发现,GDF5 基因的多态性位点(rs143383)和 ACL 跟腱病变的风险相关。Posthumus 等人^[6]对 129 名(女性 38 名) ACL 疾病患者组和 216 名(女性 83 名)正常对照者进行研究,所有参与者进行 COL12A1 基因分型 ALU1 和 BSRI 限制性片段长度多态性(RFLP)分析。研究结果表明,ALU1 限制性片段长度多态性的 AA 基因型与女性患 ACL 疾病的风险相关联,与男性无关联性;BSRI 限制性片段长度多态性基因表达与 ACL 疾病风险不相关。

扳机指的发病往往归因于第一环状韧带损伤,但 Lundin 等人^[7]发现,其病变部位出现与跟腱炎或肌腱炎类似的变化,因此,推测手指肌腱在病变时会和跟腱炎出现相似的基因表达差异。对 13 名病患者及 13 名正常对照者的 10 组(胶原蛋白型 1a1、collagen 3a1、MMP-2、MMP-3、ADAMTS-5、TIMP-3、双链蛋白聚糖、双糖链蛋白多糖、核心蛋白聚糖、多功能蛋白聚糖)基因表达进行差异化分析,在病患的手指肌腱,胶原蛋白型 1a1 和 3a1、双链蛋白聚糖和双糖链蛋白多糖均显著性上调,MMP-3 和 TIMP-3 显著性下调,其余四个基因没有显著改变,这种基因表达的改变支持扳机指属于肌腱病

变的理论,为临床上应用外科手术治疗肌腱病变提供了参考。

运动猝死与多种遗传性心脏疾病有关。Shah 等人^[8]以 2 847 名实验参与者为模型,研究了 NOS1AP 基因 28 个 SNPs 位点,结果表明,欧洲人的 NOS1AP 基因与 QT 间期的关联性比其他种族更为显著,每一次 rs1932933 等位基因的复制都会相应延长 QT 间期(4.9 msec, $P=7.20\times 10^{-7}$)。黄京璐等人^[9]通过研究 60 例不明原因猝死人群和 80 例正常人群的李OS1AP 部分 SNP 位点,发现 NOS1AP 第 6 外显子区域的 s3751284 位点可能是不明原因猝死的易感基因位点。Koskela 等人^[10]通过对 1 963 例芬兰志愿者进行运动测试,发现体育运动对心源性猝死有一定的诱导作用。

2.2 运动诱导骨骼肌适应及相关疾病的诊断

表 1 与 miRNAs 相关的骨骼肌疾病^[13]

miRNAs	靶基因	骨骼肌疾病
miR-1	HDAC2, C6PD, IGF-1, HDAC4, c-Mct	骨骼肌肥大、肌营养不良、RMS、ALS
miR-133	LASP1, c-MET, p-ME	骨骼肌肥大、RMS
miR-26a	Ezh2	RMS
miR-29	NF-Kb, YY1	RMS
miR-499	b-MHC	肌肉萎缩症
miR-206	Utrm, c-Met, HDAC4	肌肉萎缩症、肌营养不良、去神经肌萎缩、RMS、ALS

骨骼肌功能疾病主要包括肌营养不良症、多发性肌炎、线粒体肌病、肌肉萎缩、肌肉肥大、肌强直、炎症性肌肉疾病及先天性肌病等,近年研究发现,miRNAs 异常可能是引发或延缓这些疾病的原因。

McCarthy 等人^[11]通过诱导小鼠骨骼肌肥大试验,发现在小鼠的跖肌和比目鱼肌特异性 miRNAs 中,miR-206 的表达不变,miR-1 和 miR-133 的表达却都下降了 50%,首次证明了肌肉特异性 miRNAs 对骨骼肌肥大有一定作用。

肌肉萎缩症是一类以消瘦虚弱肌肉为特征的遗传疾病,McCarthy 等人^[12]通过后肢悬挂诱导肌肉萎缩研究大鼠比目鱼肌 miRNAs 的表达变化,实验后发现 18 种 miRNAs 的表达有明显变化,推测其机制可能为通过 miRNA-499 间接调控 b-肌球蛋白抑制子(sox6)的表达。

肌营养不良症是一种原发于肌肉的遗传性变性疾病, 组织学特征为肌纤维坏死、再生和脂肪及结缔组织增生。Greco 等人^[14]通过比较 mdx 小鼠与野生型小鼠、Duchenne 型肌营养不良患者与正常人骨骼肌组织中表达改变的 miRNA, 发现有 11 个 miRNA 在 mdx 小鼠和 Duchenne 型肌营养不良患者中有类似的表达改变。

肌萎缩侧索硬化症(渐冻人症)是运动神经元病的一种, 在 ALS 动物模型运动元再生过程中, miR-206 调控 HDAC4 发挥着关键作用。Williams 等人^[15]发现在 ALS 模型小鼠中 miR-206 表达显著增加。Velleca 等人^[16]发现在骨骼肌发育过程中, miR-206 分子的前体在运动终板形成区域呈现优势表达分布。

2.3 运动员选材

运动能力受遗传因素影响很大。当前, 有超过 200 个染色体位点和 18 个线粒体 DNA 多态性位点被发现与人的肌肉力量、体力活动水平、耐力水平和个人训练效果相关。

De Moor 等人^[17]通过 GWAS 分析研究了荷兰及美国人的体力活动水平, 发现位于 3'-磷酸腺苷 5'-磷酸硫酸合成酶 2 基因的 rs10887741 与体力活动水平关联最大。夏小慧^[18]发现 AMPKa2 基因 rs2796516 位点 G 等位基因、rs2746342-rs11206889 位点 AC 单体型等基因可能是优秀长跑运动员的分子标记。

对著名的“冠军基因” α -辅肌动蛋白 3 (ACTN3) 基因第 577 密码子进行的多态分析是肌肉力量遗传学研究中的经典。陈伟民等人^[19]采用等位基因特异性 PCR 法扩增目的基因, 建立了灵敏、快速的 ACTN3-C17 基因多态性检测方法。

人类最大有氧耐力的遗传度为 30%—80%, 目前被细致描述的与耐力素质相关的基因位点共有 49 个, 但由于受样本量、种族差异、地域差异等影响, 大部分位点的确切效应并不明确。邓潇潇等人^[20]发现 12 722 位点 T 等位基因与马拉松跑能力有关联。Thomaes 等人^[21]发现 GPS 对预测冠心病患者最大摄氧量训练效果增加与否效果显著, 而位于 AMP 脱氨酶 1 基因、睫状神经营养因子基因和糖皮质激素受体基因的 rs1800169、rs17602729、rs6190 与耐力水平变化有关。杨晓琳等人^[22]发现 G1357A 多态位点 GG 基因型可以作为中国女性优秀举重运动员选材用候选分子遗传学标记。吴剑^[23]发现 UCP2 基因 3'-UTR 45bp Ins/Del DD 型与有氧运动能力有关; OGDHL 基因 rs 1268722 AA 型与超长跑有氧运动能力有关; ACSL4 基因 rs5943427 GG 型、rs1324805 TT 型、rs5943427-rs1324805 (GT) 单体型与男子长跑运动员有氧运动能力有关。

表 2 目前发现的一些可能用于运动员选材标记的基因

Gene	Location	Subjects	Phenotype	P
ACADVL	17p13p11	64 endurance	VO _{2max}	0.004 7
		79 running		0.03
		25 mountainer	VO _{2peak}	0.039
		60 elite	DO ₂	0.02
		56 elite	Max avDO ₂	0.000 9
		30 sprinters	Running distance	0.004
		35middistance	Exercise time	0.001
		33 aerobic	Postexercise lactate	0.032
		80 students	VE during hypoxia	0.05
		100 triathlon	Middle-distance running performance	0.026
ACE	17q23	50 cyclists	Power output	0.036
		294 offspring	Exercise efficiency	<0.001
		58 recruits	Maximal workload	0.001
		95 patients	Muscle efficiency	<0.025
				0.04
ACTN3	11q13q14	107 sprinters		
ADIPOR1	1q32			
ADRA2A	10q24q26	140 endurance		0.037

续表

Gene	Location	Subjects	Phenotype	P
ADRB1	10q24q26	263 patients	VO _{2peak} ; Exer VE/VCO ₂	<0.05
		83 heart failure	VO _{2peak} ; Exercise time	<0.05
		232 HF patient	VO _{2peak}	0.000 1
ADRB2	5q31q32	63 PM women	VO _{2max}	<0.05
		62 PM women	VO _{2max} ; Max avDO ₂	<0.05
		62 PM women	Submax; avDO ₂	0.006
ADRB3	8p12p11.2			
AGT	1q42q43			
AGTR1	3q21q25			
AMPD1	1p13	104 endurance	RPE	<0.05
		400 whites	VO _{2max} ; VE _{max}	0.000 2
APOE	19q13.2	51	VO _{2max}	<0.05
		120		<0.001
ATP1A2	1q21q23	472 whites	VO _{2max}	0.018
		294 offspring	VO _{2max}	0.017
ATP1B1	1q22q25			
BDKRB2	14q32.1q32.2	29 blacks	VO _{2max}	0.033
		73 recruits	Muscle efficiency	0.003
		42 Caucasians		
CFTR	7q31.2	97 CF patients	VO _{2peak}	0.05
CKM	19q13.2q13.3	240 white	VO _{2max}	0.004
HIF1A	14q21q24	125 whites	VO _{2max} age interaction	0.012
		29 blacks	VO _{2max}	0.033
HLAA	6p21.3	8MZ,8DZ twin	VO _{2max}	0.001
HP	16q22.1	96 patients	Walking distance	<0.05
IL6	7p21	479 smoker	PWC _{max}	0.002
MTND1	mtDNA 3307—4262			
MTND4	mtDNA 10760—12137			
MTND5	mtDNA 12337—14148	46	VO _{2max}	<0.05
MTT	mtDNA 15888—15953	46	VO _{2max}	<0.05
PPARGC1A	4p15.1	104	PAEE/VO _{2max} , pred	0.01
PYGM	11q12q13.2			
RYR2	1q42.1q43			
S100A1	1q21			
SCGB1A1	11q12.3q13.1	96 asthmatic	FEV1 after exercise	0.04
SERPINE1	7q21.3q22			
SGCA	17q21			
SGCG	13q12			
UCP2	11q13	16 healthy	Exerc. efficiency(gross, incremental)	0.02
				0.03
UCP3	11q13			
VDR		12q13.11		
LEPR(QTL)	1p31	90 black	Δ VO _{2max}	

2.4 基因兴奋剂的检测

表 3 目前发现的可能被用于兴奋剂基因的种类、蛋白表达、作用及检测方法

Gene	Protein expression of gene-coding	Physiological function of the protein expression	Enhanced capabilities	Detection means
EPO gene	haemopoietin	Increase the number of red blood cells, oxygen carrying capacity of blood	Endurance	IEF or ESI-MSD
HIFs gene	Hypoxia-inducible factor	Under hypoxic conditions, promote the expression of EPO gene	Endurance	IEF or ESI-MSD
ACE gene	Angiotensin-Converting	Stimulate no activity of angiotensin (iv) into highly active, to enhance myocardial contractility and heart rate	Force	EIA or CLIA
hGH gene	Human Growth Hormone (contain several subtypes)	Increase muscle size and weight	Force	RIA or ELISA
IGF-I gene	insulin-like growth factor (A protein containing 70 amino acids)	Increase muscle size and weight	Force	LC-MSn proteomic techniques
MGF gene	Mechanical growth factor	Increase muscle and strength	Force	RTF-PCR
FGF gene	Fibroblast growth factor	Increased vascular blood supply	Relieve fatigue	RTF-PCR
VEGF gene	Vascular endothelial cell growth factor	Increased vascular, is to increase the heart, muscle, liver, lung blood supply	Relieve fatigue	Radio immunoassay, ELISA
PPAR- δ gene	Nuclear hormone receptor protein	increase the slow-twitch fiber in skeletal muscle	Speed and endurance	RT-PCR
Myostatin gene	Tubocurarine(A protein containing two subunits, each subunit containing 110 amino acids)	Muscle cell inhibitory factor , Remove that the muscles get rich	Force	RT-PCR Detect mRNA
Leptin gene	Lean protein	Weight loss	Improve weight-lifting athletes	RT-PCR
Follistatin gene	Follistatin	Affected proteins of inhibit muscle development work	Force	RT-PCR
GW1516/AICAR	5-amino-4-formamide imidazole ribonucleotide	targets a protein called adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)	Endurance	RT-PCR
Endorphins/Enkephalins gene	Endorphins/ Enkephalins	Prevent nerve pain signals transmission to the brain	Improve the pain endurance of athletes	Radio immunoassay
CERA gene	Continuous erythropoiesis receptor activator	promote the expression of EPO gene	Endurance	IEF or ESI-MSD

Else: Transcription factor Pax7 gene(Pax7 protein:One paired domain made up with 128 amino acids), FATP1 gene(FATP), CD36 gene, Insulin receptor gene, GLUTs gene(Glucose transport protein).

国际反兴奋剂组织将基因兴奋剂定义为以非治疗目的用于提高运动员运动能力的基因、遗传元件和(或)细胞。利用基因治疗的手段可以使运动员获得竞技优势。但由于基因治疗技术尚不成熟,基因兴奋剂无法控制插入的目的基因,导致细胞的某些机能失常,因此存在很多危害。例如 EPO 的使用可导致高血压, hGH 过量可导致肿瘤, IGF-I 可导致肌肉过度生长、结缔组织损伤等症状。还有一类基因兴奋剂为重组蛋白,其与内源蛋白结构极为相似,造成检测非常困难。目前发现的有 EPO、HIFs、CERA、ACE、hGH、IGF-I、MGF、FGF、VEGF、PPAR- δ 、Myostatin Leptin、Follistatin 等 90 余个潜在具有兴奋剂作用的基因。检测基因兴奋剂的方法主要是检测常规生化指标、导入基因和表达蛋白质等方法,以及用基因表达谱、蛋白质谱、代谢谱、活体成像等新技术检测目的基因及蛋白质。

肖卫华等人^[24]通过常规 PCR 多管扩增技术建立了实时定量 RT-PCR 法检测机械生长因子(MGF)基因表达。结果表明,荧光定量 RT-PCR 法能绝对定量 MGF 兴奋剂基因表达水平,相关系数大于 0.99。

吕国平等人^[25]建立了 PPAR- δ 高通量筛选模型,通过检测萤光素酶基因表达状况评价化合物对目的基因的激动活性,此模型方法灵敏稳定,可用于筛选 PPAR- δ 的激动剂。

重组人促红细胞生成素(rhEPO)和重组人生长激素(rhGH)等已被国际奥委会禁用,通过免疫分析法可以测定血清中的 EPO 浓度,其中以酶联免疫分析、化学发光免疫分析和放射免疫分析为主。

Kawasaki 等人^[26]将 LC-MS 及石墨化碳柱结合,可对 CHO 细胞表达的 rhEPO 各种糖基化位点、与位点特异性直接相关的糖微观不均一性、糖的结构进行分析,以及鉴别出 BHK 细胞表达的 rhEPO 所特异具有的硫酸化 N-连接多糖部分。

3 结论与展望

在运动相关疾病的临床预防诊断中,我们发现某些特定基因的多态性能够引起一些运动相关疾病,然而,还需要进行大量不同种族、不同人群、不同运动方式的研究,包括检测方法的研究、功能学研究等,以阐明蛋白质在筋腱修复过

程中的机制、筋腱的衰退过程等。这项工作的开展能够提供分子生物学科的新视角,为发掘副作用小、疗效好的新型治疗方法提供参考,一旦发现运动员有潜在伤病危险,教练和队医可以通过外部干预和调整训练计划来规避风险。

骨骼肌疾病是世界性健康问题,近年来很多研究阐明了一些 miRNAs 在骨骼肌疾病中的作用机制,大部分集中在遗传和神经性骨骼肌疾病中,而对其他骨骼肌疾病研究很少,我们应该更进一步地探索 miRNAs 对骨骼肌疾病的作用,使得科研覆盖面更广、医疗应用性更强。

分子诊断技术在运动能力遗传学上应用的研究越来越多,人们对运动遗传学的理解也不断加深,但多数研究都仅针对不同种族、不同人群中已知基因位点与运动能力关联性的重复检验,而新基因、新位点的探索却渐入瓶颈。在对基因多态性影响运动能力的研究中,一些基因可以作为预测某种运动能力强弱的遗传标记,但其基因型影响人体运动能力的机制尚不明确,如 ACE 基因就是现在国内外研究比较深入的基因之一,很多研究表明 ACE 基因与人体有氧运动之间存在显著相关性,但是也有很多研究不支持此观点, J. R. Ruiz^[1]等人通过研究发现,并没有充分的证据表明 ACTN3 基因能够促进西班牙游泳运动员的运动能力, GUAN WANG 等人^[2]也持同样观点。另有一些研究表明,某种运动的优势基因,对于另一种运动可能是劣势基因, Sigal Ben-Zaken^[27]等人研究发现, IGF-IR AA 基因多态性有利于耐力型运动,但对于力量型运动则表现出不利的影响。笔者相信,随着各种分子生物学技术的日益成熟、国际间合作的不断增多及统计学方法的不断创新,与运动能力有关的新基因、蛋白及机制研究将大量涌现,人们将能够更系统、全面地描绘运动能力的遗传图谱。

反基因兴奋剂需要持续关注基因治疗技术的研究进展,及时对基因兴奋剂检测研究制订针对性目标,才能最大限度地缩小两者出现的时间差。同时,基因兴奋剂的检测涉及化学、医学、生物学等多个研究领域,针对基因兴奋剂检测中的系列问题,需要充分利用光谱和电化学、免疫技术、核酸杂交技术结合质谱等手段,不断发展新的技术应用于基因兴奋剂的检测,例如分子成像技术、生物传感器技术以及更先进的分析软件等,才能不断更新高灵敏度的分析方法,并建立

检测新型基因兴奋剂的方法。

参考文献:

- [1] Ruiz J R, Santiago C, Yvert T, et al. ACTN3 genotype in Spanish elite swimmers: No “heterozygous advantage” [J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2013, 23 (3):162-167.
- [2] Wang G, Mikami E, Chiu L L, et al. Association Analysis of ACE and ACTN3 in Elite Caucasian and East Asian Swimmers [J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2013, 45(5):892-900.
- [3] Salles J I, Amaral M V, Aguiar D P, et al. BMP4 and FGF3 haplotypes increase the risk of tendinopathy in volleyball athlete [J]. *Journal of Science and medicine in sport*, 2015, 18(2):150-155.
- [4] Posthumus M, Collins M, van der Merwe L, et al. Matrix metalloproteinase genes on chromosome 11q22 and the risk of anterior cruciate ligament (ACL) rupture [J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2012, 22(4):523-533.
- [5] Raleigh S M, Posthumus M, O’Cuinneagain D, et al. The GDF5 Gene and Anterior Cruciate Ligament Rupture [J]. *Int J Sport Med*, 2013, 34(4):364-367.
- [6] Posthumus M, September AV, O’Cuinneagain D, et al. The association between the COL12A1 gene and anterior cruciate ligament ruptures [J]. *Br J Sports Med*, 2010, 44(6):1160-1165.
- [7] Lundin A C, Aspenberg P, Eliasson P. Trigger finger, tendinosis, and intratendinous gene expression [J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2014, 24(2):363-368.
- [8] Shah S A, Herrington D M, Howard T D, et al. Associations between NOS1AP Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) and QT Interval Duration in Four Racial/Ethnic Groups in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) [J]. *Ann Noninvasive Electrocardiol*, 2013, 18(1):29-40.
- [9] 黄京璐,郝博,王小广. 中国汉族人群不明原因猝死与 NOS1AP 基因多态性的相关性[J]. *法医学杂志*, 2014, 30 (1):27-35.
- [10] Koskela J, Kähönen M, Nieminen T, et al. Allelic variant of NOS1AP effects on cardiac alternans of repolarization during exercise testing[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2012, 72(2):100-107.
- [11] McCarthy J J, Esser K A. MicroRNA-1 and microRNA-133a expression are decreased during skeletal muscle of mdx mouse[J]. *J Appl Physiol*, 2007, 102(1):306-313.
- [12] McCarthy J J, Esser K A, Peterson C A, et al. Evidence of MyomiRnetwork regulation of beta-myosin heavy chain gene expression during skeletal muscle atrophy [J]. *Physiol Genomics*, 2009, 39 (3):219-226.
- [13] 李莎莎,于新凯. microRNAs 与骨骼肌疾病[J]. *解剖科学进展*, 2014, 20(1):82-86.
- [14] Greco S, De Simone M, Colussi C, et al. Common microRNA signature in skeletal muscle damage and regeneration induced by Duchenne muscular dystrophy and acute ischemia[J]. *FASEB J*, 2009, 23 (10):3335-3346.
- [15] Williams A H, Valdez G, Moresi V, et al. MicroRNA-206 Delays ALS Progression and Promotes Regeneration of Neuromuscular Synapses in Mice [J]. *Science*, 2009, 326(5959):1549-1554.
- [16] Velleca M A, Wallace M C, Merlie J P. A novel synapse-associated noncoding RNA [J]. *Mol Cell Biol*, 1994, 14(11):7095-7104.
- [17] De Moor M H, Liu Y J, Boomsma D I, et al. Genome-wide association study of exercise behavior in Dutch and American adults[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2009, 41(10):1887-1895.
- [18] 夏小慧. AMPK 及其下游基因与有氧运动能力相关分子标记筛选及功能研究[D]. 北京:北京体育大学, 2011.
- [19] 陈伟民, 姜婧婧, 赵广才. 速度/爆发力相关基因 ACTN3-C1747T 多态性快速检测方法[J]. *中国运动医学杂志*, 2014, 33(3):229-232.
- [20] 邓潇潇, 胡扬, 杨贤罡, 等. 中国专业长跑运动员 V 型胶原蛋白 $\alpha 1$ 链基因多态性分析[J]. *中国运动医学杂志*, 2013, 32(11):955-960.
- [21] Thomaes T, Thomis M, Onkelinx S. A genetic predisposition score for muscular endophenotypes predicts the increase in aerobic power after training: the CAREGENE study [J]. *BMC Genet*, 2011, 12(1):1-10.
- [22] 杨晓琳, 胡扬, 李燕春. 睫状神经营养因子基因 G1357A 多态位点作为举重运动员选材用分子标记可行性研究[J]. *中国运动医学杂志*, 2014, 33 (4):308-311.
- [23] 吴剑. ATP 合成调控相关蛋白基因与有氧运动能力相关的分子标记研究[D]. 北京:北京体育大学, 2013.
- [24] 肖卫华, 陆耀飞. 机械生长因子实时荧光定量 RT-PCR 检测方法研究[J]. *上海体育学院学报*, 2010, 34(6):43-45.
- [25] 吕国平, 郑智慧, 赵宝华. PPARD 激动剂高通量筛选模型的建立[J]. *生物工程学报*, 2007, 23(2):

- 343-346.
- [26] Kawasaki N, Ohta M, Hyuga S, et al. Application of liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography with tandem mass spectrometry to the analysis of the site-specific carbohydrate heterogeneity in erythropoietin[J]. Anal Biochem, 2000, 285(1): 82-91.
- [27] Ben S. IGF-I receptor 275124A>C (rs1464430) polymorphism and athletic performance Sigal[J]. Journal of Science and Medicine in Sport, 2014, 18(3): 323-327.

Research Progress of the Application of Molecular Diagnostic Techniques in Sports Molecular Biology

WANG Xiao-hong¹, ZHANG Guan-nan², ZHANG Dong², WANG Qing², Xing Li-li²

(1. Track and Field Sports Management Center, Sports Bureau of Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China;

2. Sports Science Institute of Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China)

Abstract: In recent years, with the continuous development of new molecular diagnostic techniques, it has become possible to evaluate physique and athletic state of athletes at the molecular level during the adjustment, training, and competition periods. Molecular diagnostic techniques were applied to domestic sports scientific research as early as the year of 2000, and its application mainly lie in athlete selection, mechanism of sports fatigue, exercise-induced skeletal muscle adaptation, gene therapy, gene doping detection. This article summarizes a variety of application principles of new molecular diagnostic techniques and their advantages and disadvantages in sport molecular biology researches, and puts forward that in the future, the following directions of its development should be focused on: (1) Application of rapid and easy allelic gene detection method in athlete selection and sports genetic disease screening; (2) Application of gene techniques in dividing the regional and ethnic polymorphism of athlete selection; (3) Innovation of gene doping detection techniques.

Key words: molecular diagnostics; athlete selection by gene; fatigue mechanism; gene doping