



가금 근육세포에서 유전자 발현을 유도하는 프로모터 개발

강효서^{1*} · 남태희^{1*} · 이우주^{1*} · 이준상² · 신상수^{3†}

¹우석여자고등학교 학생, ²우석여자고등학교 선생님, ³경북대학교 축산BT학과 교수

Development of Promoters Inducing Gene Expression in Poultry Muscle Cells

Hyo Seo Kang^{1*}, Tae Hee Nam^{1*}, Woo Ju Lee^{1*}, Joon Sang Lee² and Sangsu Shin^{3†}

¹Student, Wooseok Girls' High School, Sangju 37159, Republic of Korea

²Teacher, Wooseok Girls' High School, Sangju 37159, Republic of Korea

³Professor, Department of Animal Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Sangju 37224, Republic of Korea

ABSTRACT The skeletal muscles of livestock play a crucial role as protein sources for humans, and the consumption of poultry meat is steadily increasing worldwide. Numerous genes, including myogenic regulatory factors, are involved in myogenesis, and precise regulation of them is essential. In this study, genes specifically expressed in muscles were selected, and their promoters were cloned and analyzed. The analysis of gene expression in various tissues of animals revealed that many genes exhibited specific expression patterns in skeletal muscles, with TNNT3, TNNC2, and MYF6 genes showing similar patterns in poultry. The promoter regions of three genes were amplified by polymerase chain reaction to sizes of 1.2 kb, 1.03 kb, and 1.43 kb, respectively. These fragments were then inserted at the front of the enhanced green fluorescent protein gene in vectors. It was confirmed that the sequences of three promoters closely matched the chicken genome sequences. Upon introducing vectors with each promoter into QM7 quail muscle cells, all three promoters successfully induced the expression of the green fluorescent protein. The brightness of the green fluorescence in each promoter was approximately seven times dimmer compared to the control, CMV-IE promoter. It is predicted that more than 230 transcription factors can bind to each promoter, especially various transcription factors expressed in muscles, including myogenic regulatory factors such as MYF5, MYOD, and MYOG. These promoters can be valuable for studying gene expression in poultry muscle cells, and further research is needed to precisely investigate the regulatory region of gene expression in promoters.

(Key words: poultry, muscle, TNNT3 promoter, TNNC2 promoter, MYF6 promoter)

서 론

골격근(skeletal muscle)은 동물의 물리적 운동 및 지지를 가능케 하는 조직으로 동물 체중의 약 40%를 차지하고 있다(Frontera and Ochala, 2015). 근육은 생리적 기능 외에 인간에게 식품으로써 주요 단백질 공급원이다. 가금을 통한 동물성 단백질의 소비는 매년 전세계적으로 증가하고 있으며, 최근 소비량 대비 2032년까지 15% 정도 성장할 것으로 예측하고 있다(OECD/FAO, 2023). 근육조직에서 근육 형성은 위성세포(satellite cell)로부터 시작하여 근아세포(myoblast), 근관(myotube) 및 근섬유(myofiber) 형태를 거쳐 이루어진다(Zammit et al., 2006; Yin et al., 2013). 이 과정에서

근형성조절인자(myogenic regulatory factors, MRFs)를 포함한 여러 유전자들의 복잡한 발현 조절이 이루어지게 된다. 유전자의 발현 조절은 다양한 방법으로 이루어지지만, 각각의 유전자에 존재하는 프로모터 부위에 특정 전사인자들이 결합하여 조직 특이적으로 유전자의 전사를 조절할 수 있다 (Vaquerizas et al., 2009).

동물에서 조직별 유전자 발현을 분석한 연구 결과들에 따르면, 다수의 유전자들이 골격근 특이적인 발현 양상을 보이는데, Troponin T3(TNNT3), Troponin C2(TNNC2), Myogenic factor 6(MYF6/MRF4) 유전자들은 가금에서도 유사한 양상을 보이는 것으로 확인되었다(Song et al., 2013; Raza et al., 2021; Kui et al., 2022). Troponin 복합체는 액틴 필라멘

* These authors have contributed equally to this work.

† To whom correspondence should be addressed : sss@knu.ac.kr

트(actin thin filament)와 연계되어 가로무늬근의 수축과 이완을 조절하는 기능을 하며, TNNC와 TNNI, TNNT의 세 단백질로 이루어져 있다(Wei and Jin, 2016). TNNC는 칼슘이 결합하고, TNNI는 actomyosin ATPase를 억제하며, TNNT는 tropomyosin에 결합하고 액틴 필라멘트에 고정되어 근수축을 조절한다(Filatov et al., 1999). TNNC2와 TNNT3는 속근(fast skeletal muscle) 특이적으로 발현하며, 미오신(myosin)과 액틴의 결합을 조절하여 힘을 발생시킨다(Perry, 1998; Filatov et al., 1999). MYF6는 근형성조절인자 중 하나로 전사인자이며, 골격근 조직에서만 발현하며, 근형성 후기에 발현이 증가하여 근관 형성 유도에 관여하고, 근육 계열 세포로의 분화도 유도할 수 있다(Rhodes and Konieczny, 1989).

근육 조직에서 유전자의 발현을 유도할 수 있는 프로모터의 개발은 가축의 생산성 향상을 위한 연구뿐만 아니라, 사람의 근육 관련 질병 연구 및 유전자 치료 등을 위해 필요한 부분이다(Skopenkova et al., 2021). 본 연구에서는 가금의 골격근에서 발현을 유도하는 프로모터를 개발하기 위하여, 가금 골격근 특이 발현 유전자인 TNNT3, TNNC2, MYF6를 선별하였다. 또한, 이 유전자들의 프로모터 부위를 클로닝하여 발현 벡터를 만들고, 메추리 근육세포에서 프로모터에 의한 유전자의 발현 유도를 확인하였다.

재료 및 방법

1. 골격근 특이 발현 조절 프로모터 선정

골격근에서 특이적으로 발현하는 프로모터를 개발하기 위해, 우선 문헌(Song et al., 2013; Raza et al., 2021; Kui et al., 2022) 및 National Center for Biotechnology Information(NCBI; National Library of Medicine, Bethesda, MD, USA)의 조직별 유전자 발현 Gene Expression Omnibus(GEO) 데이터(GEO accession number: GSE160028)를 분석하였다. 이 데이터를 이용하여 공통적으로 발견되는 유전자들을 선별하였으며, NCBI의 닭과 메추리 유전체 데이터에서, 유전자들의 상류에 존재하는 5 kb 염기서열을 얻었다. 염기서열을 이용하여 TATA 박스 및 전사 개시 부위를 분석하였으며, Primer3plus(<https://www.primer3plus.com/>)를 이용해 프라이머(primer)를 제작하였다. 프라이머 서열은 Table 1에 표기하였으며, 클로닝을 위해 일부 프라이머에는 AseI과 BamHI 제한효소 인식 염기서열을 추가하였다. TNNC2와 MYF6 프로모터의 역방향 프라이머는 각각 두 개씩 제작하였으며, 정방향 프라이머 가까이에 AseI 인식 서열이 있

Table 1. List of PCR primers for amplifying each promoter of genes

Primer names	Primer sequences (5' to 3')
TNNT3P-F1	<u>CTCATTAATGGACTCCTTCCTGCAAGTGG</u>
TNNT3P-R1	<u>GGTGGATCCTACYTGGGGGTGTGGAGACA</u>
TNNC2P-F1	<u>CCTCGCTGCTTTCTTGGGAA</u>
TNNC2P-R1	<u>CTGTTTGCCCTGGATCGAGT</u>
TNNC2P-R3	<u>GCTGGATCCCTCCYGCAGGGAGTCA</u>
MYF6P-F1	<u>ACAGAGCATGGAAACTGGGA</u>
MYF6P-R1	<u>GCCGACTTCTCTTGCAGGT</u>
MYF6P-R3	<u>GGGGATCCGCTCAAAAACACCCCGAGGA</u>

Underlined sequences are recognition sites of AseI or BamHI restriction enzymes.

어 프라이머에는 포함시키지 않았다.

2. 프로모터 증폭 및 클로닝(Cloning)

중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 통해 닭 유전체 DNA와 각 프로모터별로 제작된 프라이머를 이용해 프로모터를 증폭하였다. 첫 번째 PCR은 25 μ L 반응액으로 35 cycle을 통해 증폭하여 PCR 산물을 확인하고, 두 번째 PCR은 첫 번째 증폭 산물을 주형으로 사용해 100 μ L 반응액으로 35 cycle을 통해 증폭하였다. PCR 산물을 AseI(Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)과 BamHI(Enzygnomics, Daejeon, Korea)으로 자르고 전기영동을 실시한 후 필요한 조각을 AccuPrep® PCR/Gel Purification Kit (Bio-ner, Daejeon, Korea)을 이용하여 겔에서 추출하여 클로닝에 이용하였다. 또한 pEGFP-N1(Clontech, Mountain View, CA, USA)에서 CMV-IE 프로모터 부위를 제거하기 위해 AseI과 BamHI로 자른 후 전기영동하여 프로모터를 제외한 조각을 겔에서 추출하여 PCR 산물의 클로닝에 사용하였다. 제한효소 처리한 각각의 프로모터 DNA와 pEGFP-N1을 T4 DNA ligase(Takara Bio, Shiga, Japan)를 이용하여 연결시킨 후 DH5 α 에 도입하였으며, 클로닝 PCR이나 GeneAll® Express™ Plasmid SV mini kit(GeneAll Biotechnology, Seoul, Korea)을 이용해 플라스미드 추출 후, 제한효소 처리를 통해 프로모터 삽입 여부를 확인하였다. 프로모터가 삽입된 클론은 시퀀싱을 통해 프로모터 염기서열을 확인하였다.

3. 세포배양

근육세포에서 프로모터가 작동하는지 여부를 확인하기

위해 QM7 메추리 근육세포주를 이용하였다. QM7세포는 M199 medium에 배아소혈청(fetal bovine serum, FBS) 10%, 닭혈청(chicken serum, CS) 1%, 항생제(antibiotic-antimycotic) 1×를 첨가한 배지를 이용하여 배양하였다. QM7 세포를 $\Phi 35$ mm 배양접시에 배양하여 세포가 60% 정도 찻을 때, 각각의 프로모터를 포함한 벡터와 jetOPTIMUS(Polyplus, Illkirch, France) 형질도입 시약을 이용하여 제조사의 사용법에 따라 세포에 4시간 동안 도입하고 배양액을 바꿔주었다. DNA 도입 후 48시간이 지난 시점에서, 형광현미경(Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 향상된 녹색형광단백질(enhanced green fluorescent protein, EGFP)의 발현 여부를 관찰하고, 동일한 노출 조건에서 IMT5 CCD 카메라(IMT i-Solution, Burnaby, BC, Canada)를 통해 사진을 촬영하였다. 촬영한 사진은 ImageJ(Ver. 1.54 g; NIH, Bethesda, MD, USA; <https://imagej.net/ij/>)를 이용하여 세포들의 EGFP 형광 밝기 측정에 사용하였다.

4. 프로모터 분석

클로닝한 프로모터에 결합하는 전사인자들을 알아보기 위해, 웹기반 전사인자 결합 부위 추정 프로그램인 PROMO (<https://algggen.lsi.upc.es>)를 이용하여 시퀀싱 결과를 분석하였다(Messeguer et al., 2002). 검색조건으로 전사인자와 그 결합부위를 모두 동물로 한정하여 실시하였다.

결과 및 고찰

골격근 특이 발현 조절 프로모터를 개발하기 위해 문헌 연구 및 데이터 분석을 통해 총 11개의 후보유전자를 선발하였으며, 이 중에 예측 가능한 TATA박스의 유무, 전사 시

작 위치와 mRNA 시작 서열의 연관성, 프라이머 디자인의 수월성, 제한효소 존재 유무 등을 고려하여, TNNT3, TNNC2, MYF6 등 3개의 유전자를 선택하여 연구를 진행하였다. mRNA 발현 분석 데이터에서 TNNT3와 TNNC2는 근육 조직 외에 다른 조직에서도 극소량이 발현하는 것으로 나타났다지만, 발현량은 근육조직에서 다른 조직 평균에 비해 각각 1,581배(4,157.3 vs. 2.6)와 978배(4,086.8 vs. 4.2)가 더 많았다. MYF6는 근육에서 가장 높게 발현했으며, 다음으로 정소에서 발현했다. 심장 및 폐 조직에서는 일부 샘플에서 발현했지만, 다른 조직에서는 전혀 발현하지 않아 근육 특이성이 높은 편이었다. 각 유전자의 프로모터 부위를 증폭하기 위해, 닭 유전체 DNA와 Table 1에 있는 프라이머를 이용해 1차 PCR을 수행하여, 1.2 kb의 TNNT3, 1.45 kb의 TNNC2, 1.95 kb의 MYF6 프로모터 부위를 각각 증폭하였다(Fig. 1). 2차 PCR은 1차 PCR 산물을 주형으로 사용하여, TNNT3 프로모터는 같은 프라이머를 이용하여 증폭하였으며, TNNC2와 MYF6 프로모터는 역방향 프라이머만 바꿔 증폭하여 각각 1.06 kb와 1.65 kb의 산물을 얻었다(Fig. 1).

2차 PCR 산물을 AseI과 BamHI 제한효소로 절단 후, 같은 제한효소들로 CMV-IE 프로모터와 인헨서를 제거한 pEGFP-N1 벡터에 삽입하였다. 각 프로모터별로 클론을 두 개씩 골라 프로모터의 삽입 여부를 확인하고(Fig. 2A), 이 클론들을 이용해 프로모터 염기서열을 분석하였다. 그 결과, 프로모터 부위의 서열은 소수의 단일 염기 변이가 있기는 했지만, 대부분 기존 닭 유전체 서열에서 알려진 바와 동일했다. 예외적으로 TNNC2 프로모터의 두 번째 클론의 경우는 3'쪽 가까이에 72 bp의 결실이 있었다. 이는 전기영동 결과에서 보았을 때, 첫 번째 밴드에 비해 약간 작은 크기로 나타났다(Fig. 2A). 각각의 프로모터와 EGFP 유전자 부위에

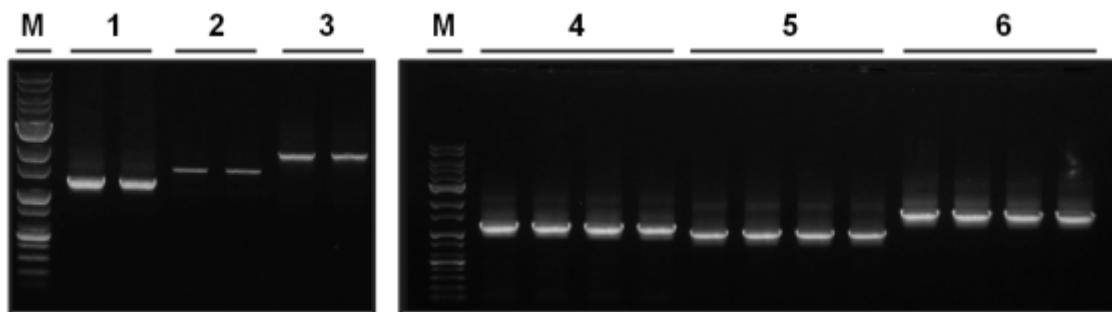


Fig. 1. PCR products of promoters. The first and second PCR products were amplified from promoter regions of TNNT3, TNNC2, and MYF6 genes. M: DNA marker, 1: 1st PCR product of P_{TNNT3} (1.2 kb), 2: 1st PCR product of P_{TNNC2} (1.45 kb), 3: 1st PCR product of P_{MYF6} (1.95 kb), 4: 2nd PCR product of P_{TNNT3} (1.2 kb), 5: 2nd PCR product of P_{TNNC2} (1.06 kb), 6: 2nd PCR product of P_{MYF6} (1.65 kb).

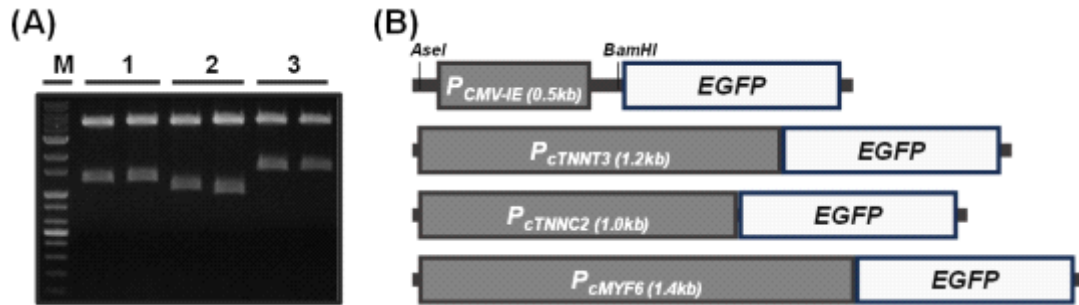


Fig. 2. Vector clones and diagram of each gene promoter. (A) Two vector clones from each promoter were selected and confirmed their promoter fragments by digesting with AseI and BamHI. In each lane, the upper band is a fragment of pEGFP-N1 vector without promoter (4.08 kb) and the lower band is a promoter fragment. M: DNA marker, 1: fragment of P_{TNNT3} (1.2 kb), 2: fragment of P_{TNNC2} (1.03 kb), 3: fragment of P_{MYF6} (1.43 kb). (B) Diagram of vectors containing each gene promoter was drawn based on the relative ratio of length.

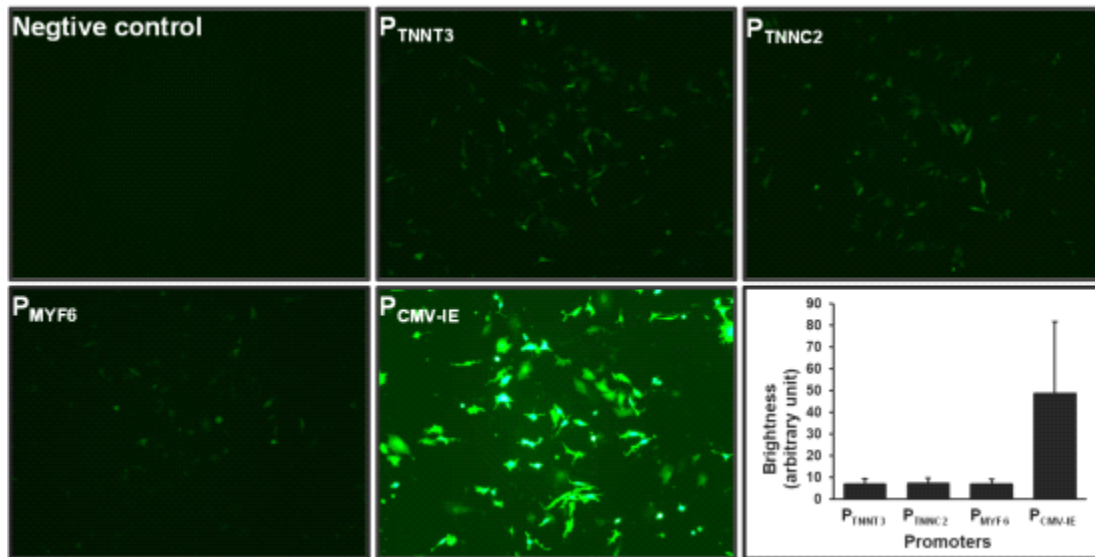


Fig. 3. Expression of EGFP by newly developed promoters in QM7 cells. All three promoters could transcribe the EGFP gene in the muscle cell. The brightness of the green fluorescence induced by each promoter was approximately seven times dimmer compared to the CMV-IE promoter (Magnification = $\times 100$).

대한 상대적 크기는 Fig. 2B에 나타났다.

다음은 클로닝한 프로모터들이 근육세포에서 작동하는지의 여부를 알아보기 위해, 메추리 근육세포주인 QM7세포에 도입하여 EGFP의 발현을 관찰하였다(Fig. 3). 클로닝한 세 프로모터 모두 EGFP의 발현을 유도하는 것을 확인하였다. 밝기를 바탕으로 조사한 개별 세포의 발현 정도에 있어서, CMV-IE 프로모터에 비해 클로닝한 프로모터들은 약 7배 정도 약하게 발현을 유도하는 것으로 확인되었다(P_{TNNT3} , 7.1 ± 3.7 ; P_{TNNC2} , 7.3 ± 3.0 ; P_{MYF6} , 7.0 ± 2.2 ; P_{CMV-IE} , 48.5 ± 40.2). 녹색 형광 밝기의 변이는 CMV-IE 프로모터에 비해 클로닝한 프로모터에서 더 적었다.

클로닝한 프로모터들에 의해 유전자 발현이 조절될 수 있도록 관여하는 전사인자들의 종류를 조사하기 위하여, 전사인자 결합 서열 예측 프로그램인 PROMO를 이용하여 프로모터 서열을 분석하였다. 그 결과, 각 프로모터는 230~278개 종류의 전사인자들이 결합 가능한 서열을 가지고 있었다(Table 2). 근육세포에서 발현되는 전사인자들 중 AP-1, GATA-2, JUNB, LEF-1, MYOD, MYOG, NF- κ B, NRF2, SPI1, STAT1 β , YY1 등은 세 프로모터에 공통적으로 결합부위를 가지고 있었다. 반면, CREB, MYF-5와 NF-Y의 결합부위는 P_{MYF6} 는 없었고, GATA-3와 RXR α 의 결합부위는 P_{TNNC2} 에는 없었다. 근형성조절인자인 MYF-5, MYOD, MY

Table 2. Prediction of transcription factors (TF) binding to each promoter of genes

Promoters	Total number of TFs predicted to bind each promoter	List of TFs expressed in muscle among the predicted TFs
P _{TNNT3}	278	AP-1, CREB, GATA-2, GATA-3, JUNB, LEF-1, MYF-5, MYOD, MYOG, NF-κB, NRF2, NF-Y, RXRα, SP1, STAT1β, YY1
P _{TNNC2}	230	AP-1, CREB, GATA-2, JUNB, LEF-1, MYF-5, MYOD, MYOG, NF-κB, NRF2, NF-Y, SP1, STAT1β, YY1
P _{MYF6}	232	AP-1, GATA-2, GATA-3, JUNB, LEF-1, MYOD, MYOG, NF-κB, NRF2, RXRα, SP1, STAT1β, YY1

OG 결합부위를 모두 가지고 있는 P_{TNNT3}와 P_{TNNC2}는 근육 발달 동안 근육 특이적 발현 조절이 가능할 것으로 여겨진다(Hernandez-Hernandez et al., 2017). P_{MYF6}는 MYOD, MYOG 결합부위를 가지고 있으며, 근형성조절인자로서 역시 근육 특이 발현이 가능할 것으로 기대된다.

본 연구에서는 닭의 골격근에서 특이적으로 발현하는 유전자를 조사하여, TNNT3, TNNC2, MYF6 유전자의 프로모터를 개발하였다. 또한 메추리 근육세포에서 프로모터 작동 여부를 확인하였다. 이 프로모터들은 가금의 근육세포에서 유전자 발현을 유도하는 연구에 활용 가능할 것이다. 본 연구에서 다루지 못한, 프로모터 부위별 발현 조절 기능 연구나 근육세포 특이적 발현 조절 연구, 근육세포 분화 단계별 발현 조절 연구 등이 추가적으로 필요하며, 이를 통해 가금 골격근 특이 프로모터의 개발 및 활용이 가능할 것으로 사료된다.

적 요

가축의 골격근은 동물성 단백질 식품으로서 중요한 역할을 하며, 가금육의 소비는 전세계적으로 꾸준히 증가하고 있다. 근육의 형성과 발달에는 근형성조절인자를 포함한 많은 유전자들이 관여하며, 발달 단계에 따라 유전자 발현의 정확한 조절이 필요하다. 본 연구에서는 근육에서 특이적으로 발현하는 유전자를 선별하고, 해당 유전자의 프로모터를 클로닝하고 기능을 분석하였다. 동물의 조직별 유전자 발현을 분석한 결과, 다수의 유전자들이 골격근 특이적인 발현 양상을 보였는데, 특히 TNNT3와 TNNC2, MYF6 유전자들은 가금에서도 유사한 양상을 나타냈다. TNNT3, TNNC2, MYF6 유전자의 프로모터 부위를 중합효소연쇄반응을 통해 각각 1.2 kb, 1.03 kb, 1.43 kb씩 증폭하여, 녹색형광단백질 유전자를 포함한 벡터의 앞부분에 삽입하였다. 염기서열 분

석 결과, 세 프로모터는 기존에 밝혀진 유전체 서열과 거의 일치함을 확인하였다. QM7 메추리 근육세포주에서 각각의 프로모터를 포함한 벡터를 도입한 결과, 세 프로모터 모두 녹색형광단백질을 성공적으로 발현시켰다. 녹색 형광의 밝기는 대조군으로 사용한 CMV-IE 프로모터와 비교 시, 약 7 배 정도 어두웠다. 클로닝한 프로모터들에는 230개 이상의 전사인자들이 결합할 수 있을 것으로 예측되었으며, 특히 MYF5나 MYOD, MYOG와 같은 근형성조절인자를 포함한 근육에서 발현하는 다양한 전사인자들이 결합할 수 있을 것으로 예측되었다. 이 프로모터들은 가금의 근육세포에서 유전자 발현을 유도하는 연구에 활용이 가능할 것이며, 추후 연구를 통해 프로모터 부위별 발현 조절 기능 연구가 필요할 것으로 사료된다.

(색인어 : 가금, 근육, TNNT3 프로모터, TNNC2 프로모터, MYF6 프로모터)

사 사

본 연구는 2023년 경상북도교육청 미래과학자양성프로그램의 지원을 받아 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

ORCID

Hyo Seo Kang	https://orcid.org/0009-0009-3660-9014
Tae Hee Nam	https://orcid.org/0009-0004-5940-1578
Woo Ju Lee	https://orcid.org/0009-0005-9282-0472
Joon Sang Lee	https://orcid.org/0009-0007-7419-6172
Sangsu Shin	https://orcid.org/0000-0002-5264-9632

REFERENCES

Filatov VL, Katrukha AG, Bulargina TV, Gusev NB 1999

- Troponin: structure, properties, and mechanism of functioning. *Biochemistry (Mosc)* 64(9):969-985.
- Frontera WR, Ochala J 2015 Skeletal muscle: a brief review of structure and function. *Calcif Tissue Int* 96(3):183-195.
- Hernandez-Hernandez JM, Garcia-Gonzalez EG, Brun CE, Rudnicki MA 2017 The myogenic regulatory factors, determinants of muscle development, cell identity and regeneration. *Semin Cell Dev Biol* 72:10-18.
- Kui H, Ran B, Yang M, Shi X, Luo Y, Wang Y, Wang T, Li D, Shuai S, Li M 2022 Gene expression profiles of specific chicken skeletal muscles. *Sci Data* 9(1):552.
- Messeguer X, Escudero R, Farre D, Nunez O, Martinez J, Alba MM 2002 PROMO: detection of known transcription regulatory elements using species-tailored searches. *Bioinformatics* 18(2):333-334.
- OECD/FAO 2023. OECD-FAO Agricultural Outlook 2023–2032. OECD Publishing. pp. 184-201.
- Perry SV 1998 Troponin T: genetics, properties and function. *J Muscle Res Cell Motil* 19(6):575-602.
- Raza SHA, Liang C, Guohua W, Pant SD, Mohammadsaleh ZM, Shater AF, Alotaibi MA, Khan R, Schreurs N, Cheng G, Mei C, Zan L 2021 Screening and identification of muscle-specific candidate genes via mouse microarray data analysis. *Front Vet Sci* 8:794628.
- Rhodes SJ, Konieczny SF 1989 Identification of MRF4: a new member of the muscle regulatory factor gene family. *Genes Dev* 3(12B):2050-2061.
- Skopenkova VV, Egorova TV, Bardina MV 2021 Muscle-specific promoters for gene therapy. *Acta Naturae* 13(1):47-58.
- Song Y, Ahn J, Suh Y, Davis ME, Lee K 2013 Identification of novel tissue-specific genes by analysis of microarray databases: a human and mouse model. *PLoS One* 8(5):e64483.
- Vaquerizas JM, Kummerfeld SK, Teichmann SA, Luscombe NM 2009 A census of human transcription factors: function, expression and evolution. *Nat Rev Genet* 10(4):252-263.
- Wei B, Jin JP 2016 TNNT1, TNNT2, and TNNT3: Isoform genes, regulation, and structure-function relationships. *Gene* 582(1):1-13.
- Yin H, Price F, Rudnicki MA 2013 Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev* 93(1):23-67.
- Zammit PS, Partridge TA, Yablonka-Reuveni Z 2006 The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold. *J Histochem Cytochem* 54(11):1177-1191.

Received Dec. 1, 2023, Revised Dec. 5, 2023, Accepted Dec. 5, 2023