

Original Article

Investigation of binding between myostatin and follistatin in horse and human

Seyed Reza Moshir Khadem Astaneh ,Mohammadreza Nassiri ,Ali Javadmanesh* 

Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Submitted: 2025.10.21

Accepted: 2025.12.27

Revised: 2025.12.23

Published: 2026.07.01

* Corresponding author: javadmanesh@um.ac.ir

Abstract

Introduction: Inhibition of the myostatin gene has different effects among animal species. In horses, inhibition of this gene is associated with running speed, whereas in mice, sheep, goats, and cattle, it increases muscle mass and strength while reducing adipose tissue. **Objectives:** Therefore, the aim of the present study was to investigate the possibility of binding between follistatin and myostatin in horses and humans through molecular docking methods. **Methods:** The dominant protein isoform sequences were obtained from the UniProt database, and their structures were modeled using the SWISS-MODEL server. Energy optimization was performed using the YASARA server, and the quality of the models was evaluated using the SAVES server. The modeled structures were then docked using the HDOCK server to investigate the possibility of interaction. Four interactions were evaluated: human myostatin with human follistatin, horse myostatin with horse follistatin, human myostatin with horse follistatin, and horse myostatin with human follistatin. Hydrogen bonds were also analyzed using PyMOL and LigPlot software. **Results:** The results showed that binding between myostatin and follistatin was successfully achieved in both horses and humans. Although the interaction between human myostatin and follistatin showed a greater number of hydrogen bonds, the horse intraspecific interaction produced stronger hydrogen bonds, with a more negative binding energy value. In addition, the interaction between human myostatin and horse follistatin exhibited four hydrogen bonds in common with the human intraspecific interaction, indicating the possibility of binding between these two species, with a relatively high binding affinity (docking score: -308.35). Likewise, the interaction between horse myostatin and human follistatin was relatively strong (docking score: -267.41). Structural analysis provided molecular evidence supporting this potential cross-species inhibition. **Conclusion:** The results indicated the potential application of human follistatin to inhibit horse myostatin, thereby increasing muscle mass. This finding should be validated through experimental studies.

Keywords: myostatin, follistatin, molecular docking, muscle tissue, horse



Authors retain the copyright and full publishing rights.

Published by [Razi Vaccine & Serum Research Institute](#) This article is an open access article licensed under the [Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](#)

بررسی اتصال پیوند بین میوستانین و فولیستانین در اسب و انسان

سید رضا مشیر و خادم آستانه، محمد رضا نصیری، علی جوادمنش*

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.



تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۲۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۴/۰۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۰/۰۲

* نویسنده مسئول: javadmanesh@um.ac.ir

چکیده

مقدمه: مهار ژن میوستانین در گونه‌های جانوری اثرات متفاوتی را نشان می‌دهد. مهار این ژن در اسب‌ها با سرعت دویدن مرتبط است و در موش، گوسفند، بز و گاو، باعث افزایش قدرت، توده عضلانی و کاهش بافت چربی می‌شود. **هدف:** هدف از مطالعه حاضر، بررسی بیوانفورماتیکی اتصال بین فولیستانین و میوستانین از طریق روش‌های داکینگ مولکولی بود تا بتوان اثر مهارکنندگی فولیستانین‌های مختلف را بر میوستانین در اسب و انسان بررسی کرد. **روش کار:** ابتدا توالی‌های پروتئینی ایزوform‌های غالب از پایگاه داده UniProt استخراج و با استفاده از سرور SWISS-MODEL ساختار آن‌ها مدل‌سازی شد. بهینه‌سازی انرژی با استفاده از سرور YASARA انجام شد و کیفیت مدل‌ها توسط سرور SAVES ارزیابی گردید. سپس ساختارهای مدل‌سازی‌شده، با استفاده از نرم‌افزار HDock، از نظر امکان برهم‌کنش ارزیابی شدند. دو نوع اتصال میوستانین و فولیستانین انسان و نیز میوستانین و فولیستانین اسب، به عنوان شاهد، بررسی شد. همچنین، دو نوع اتصال بین‌گونه‌ای شامل میوستانین انسان و فولیستانین اسب و در نهایت میوستانین اسب و فولیستانین انسان نیز مورد بررسی قرار گرفت. بررسی پیوندهای هیدروژنی نیز با نرم‌افزارهای PyMOL و LigPlot انجام شد. **نتایج:** نتایج نشان داد که اتصال بین میوستانین و فولیستانین در هر دو گونه اسب و انسان با موفقیت و در ناحیه صحیح انجام شد. اگرچه برهم‌کنش بین میوستانین و فولیستانین انسان تعداد **پیوندهای هیدروژنی** بیشتری را نشان داد، اما برهم‌کنش درون‌گونه‌ای اسب **پیوندهای هیدروژنی قوی‌تری** ایجاد کرد و در نتیجه، **سطح انرژی منفی‌تری** داشت. همچنین، در برهم‌کنش بین میوستانین انسان و فولیستانین اسب، چهار پیوند مشترک با گونه انسانی مشاهده شد که نشان‌دهنده امکان اتصال این دو گونه و تمایل نسبتاً بالای آن‌ها به اتصال است (امتیاز داکینگ ۳۰۸/۳۵). همچنین، برهم‌کنش بین میوستانین اسب و فولیستانین انسان نیز نسبتاً قوی بود (امتیاز داکینگ ۲۶۷/۴۱). تجزیه و تحلیل ساختاری، شواهد مولکولی را برای پشتیبانی از این مهار متقاطع احتمالی فراهم کرد. **نتیجه‌گیری کلی:** با توجه به نتایج، ممکن است علاوه بر فولیستانین اسب، بتوان از فولیستانین انسان نیز برای مهار میوستانین اسب استفاده کرد و انتظار افزایش توده عضلانی را داشت. البته نتایج این پژوهش، قطعاً به تأیید آزمایشگاهی نیاز دارد.

واژه‌های کلیدی: میوستانین، فولیستانین، داکینگ مولکولی، رشد عضله، اسب

مقدمه

میوستاتین، پروتئینی از خانواده فاکتورهای تغییر رشد بتا است که نقش مهمی در تنظیم توده عضلانی ایفا می‌کند (۱) و (۲). جهش در ژن میوستاتین باعث افزایش توده عضلانی و بروز پدیده «عضله مضاعف» می‌شود. این پروتئین نخستین بار در موش‌ها شناسایی شد و با مهار تکثیر میوبلاست‌ها، رشد عضلات را کنترل می‌کند (۳). تحقیقات نشان داده‌اند که مهار میوستاتین می‌تواند موجب افزایش توده عضلانی و بهبود عملکرد ورزشی در حیوانات اهلی، مانند اسب‌ها، شود (۴). ژن میوستاتین در اسب‌ها نیز شناسایی شده و با ویژگی‌های مهم اقتصادی، مانند سرعت دویدن، ارتباط دارد (۵). جهش‌های ژن میوستاتین در اسب‌ها، به‌ویژه در مسابقات سرعتی، می‌تواند عملکرد ورزشی آن‌ها را بهبود بخشد (۶). در انسان، جهش‌های از دست‌دهنده عملکرد در ژن میوستاتین، منجر به رشد بیش از حد عضلات و بروز بیماری نادری به نام هیپرتروفی عضلانی ناشی از میوستاتین می‌شود. این بیماری با افزایش توده عضلانی و کاهش چربی بدن در انسان مشخص می‌شود. افراد دارای این جهش معمولاً قدرت بیشتر، جثه بزرگ‌تر و در برخی موارد، قد بلندتری دارند (۷). فولیستاتین (FST)، پروتئینی مهارکننده است که می‌تواند با اتصال به میوستاتین، فعالیت آن را مختل کند و موجب افزایش توده عضلانی شود. این پروتئین همچنین در کاهش توده عضلانی در صورت وجود جهش هموزیگوت در ژن FST نقش دارد (۸). با توجه به اهمیت عضله‌سازی در اسب‌ها، بسیاری از افراد به استفاده از روش‌های دوپینگ روی آورده‌اند تا عملکرد و توده عضلانی این حیوانات را بهبود دهند. این روش‌ها شامل تزریق هورمون‌ها، استفاده از استروئیدها و مهارکننده‌های میوستاتین است که البته عوارضی نیز به دنبال دارند و در آزمون‌های دوپینگ قابل شناسایی هستند (۹). بنابراین، شناسایی روش‌های غیر دوپینگ برای افزایش عضله‌سازی در اسب‌ها حائز اهمیت است. در این راستا، یکی از روش‌های مؤثر در افزایش عضله‌سازی در اسب‌ها، مهار پروتئین میوستاتین است. میوستاتین به‌عنوان یک مهارکننده طبیعی رشد عضلات شناخته می‌شود که می‌تواند موجب محدود شدن رشد عضلات در اسب‌ها شود. بررسی‌ها نشان داده‌اند که مهار میوستاتین در اسب‌ها می‌تواند منجر

به افزایش توده عضلانی و بهبود توان عملکردی این حیوانات شود (۱۰). روش‌های شبیه‌سازی مبتنی بر بیوانفورماتیک ساختاری می‌توانند به‌عنوان روش‌هایی کم‌هزینه برای پیش‌بینی برهم‌کنش پروتئین‌ها مفید باشند. این روش‌ها می‌توانند تا حدودی هزینه‌های آزمایش‌های برون‌تنی را کاهش دهند و نیز ممکن است با کاهش خطاهای احتمالی، افزایش سرعت آزمایش‌های درون‌تنی را به همراه داشته باشند (۱۱، ۱۲).

هدف اصلی این تحقیق، پیش‌بینی ساختارهای فولیستاتین و میوستاتین اسب و انسان و تحلیل اتصال آن‌ها با هدف مهار فعالیت میوستاتین اسب انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری توالی‌ها

ابتدا توالی‌های پروتئینی موردنظر (میوستاتین و فولیستاتین) از پایگاه داده UniProt استخراج شدند. برای میوستاتین انسانی (MSTN-Human)، توالی ساختاری به شماره O۱۴۷۹۳، برای فولیستاتین انسانی (FST_Human)، توالی ساختاری به شماره P۱۹۸۸۳، برای میوستاتین اسب (MSTN_Horse)، توالی ساختاری به شماره Q۹GM۹۷ و در نهایت برای فولیستاتین اسب (FST_Horse)، توالی ساختاری به شماره O۶۲۶۵۰ انتخاب شدند (شکل ۱).

میوسکتین انسان

```

      20      40      60
NENSEQKENV EKEGLNACT WRONTKSSRI EAIKIQILSK LRLETAPNIS KDVIROLPLK
      80     100     120
APPLRELIDQ YDVRDDSSD GSLEDDDYHA TTETIITMPT ESDFLMQVDG KPKCCFFKFS
      140     160     180
SKIQYNKVVK AQLWIYLRPV ETPTTVFVQI LRLIKPMKDG TRYTGIRSLK LDMNPGTGIW
      200     220     240
QSIDVKTVLQ NWLKQESNL GIEIKALDEN GHDLAVTFPG PGEDGLNPFL EVKYVTDTPKR
      260     280     300
SRDRFGLDCD EHSTESRCCR YPLTVDFEAF GWDWIIAPKR YKANYCSGEC EFVFLQKYPH
      320     340
THLVHQANPR GSAGPCCTPT KMSPINMLYF NGKEQIIYGK IPAMVVDRCG CS
    
```

فولیسکتین انسان

```

      20      40      60
GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNGGAPNCI
      80     100     120
PCKETCENVDCGPGKKCRMNKKNKPRCVCAPDCSNITWKGPCVGLDGKTYRNECALLKAR
      140     160     180
CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAVCYTCNRCPEPASSEQYLCGN
      200     220     240
DGVTYSSACHLRKATCLLGRS IGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGGRCSL
      260     280     300
CDELCPDSKSEFPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLVKGHSGSCNSISEDTEEEED
      320
EDQDYSFPISSI LEW
    
```

میوسکتین اسب

```

      20      40      60
GPVDLNENSEQKENVEKEGLNACTWRONTKSSRIEAIKIQILSKLRLETAPNISKDAIR
      80     100     120
QLLPKAPPLRELIDQYDVRDDSSDGSLEDDDYHATTETIITMPTESDLMQVEGKPKCC
      140     160     180
FFKFSSKIQYNKVVKAQLWIYLRPVKTPTTVFVQILRLIKPMKDGTRYTGIRSLKDMNP
      200     220     240
GAGIWQSIDVKTVLQNLKQESNLGIEIKALDENGHDLAVTFPRPGEDGLNPFLEVKVT
      260     280     300
DTPKRSRRDFGLDCDEHSTESRCCRYPLTVDFEAFGWDWIIAPKRYKANYCSGECEVFVL
      320     340
QKYPHTLVHQANPRGSAGPCCTPTKMSPINMLYFNGKEQIIYGKIPAMVVDRCGCS
    
```

فولیسکتین اسب

```

      20      40      60
GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNGGAPNCI
      80     100     120
PCKETCDNVDCGPGKKCRMNKKNKPRCVCAPDCSNITWKGPCVGLDGKTYRNECALLKAR
      140     160     180
CKEQPELEVQYQGKCKKTCRDVNCPSSTCVVDQTNNAVCYTCNRCPEPTSSEQYLCGN
      200     220     240
DGVTYSSACHLRKATCLLGRS IGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGGRCSL
      260     280     300
CDELCPDSKSEEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLVKGHSGSCNSISEDTEEEED
      320
EDQDYSFPISSI LEW
    
```

شکل ۱: توالی‌های اسید آمینه پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین در دو گونه اسب و انسان

پیش‌بینی ساختار پروتئین‌ها

برای مدل‌سازی ساختارهای سه‌بعدی این پروتئین‌ها، از سرور SWISS-MODEL استفاده شد. در این مرحله، برای هر توالی پروتئینی، کامل‌ترین مدل‌های سه‌بعدی اولیه بر اساس توالی‌های استخراج‌شده و ساختارهای کریستالوگرافی مشابه موجود در پایگاه‌های داده تهیه شدند. پس از مدل‌سازی، به‌منظور بهبود کیفیت ساختارها و کاهش انرژی‌های نامطلوب، فرآیند بهینه‌سازی انرژی با استفاده از سرور YASARA انجام شد. این نرم‌افزار با استفاده از الگوریتم‌های دینامیک مولکولی، انرژی ساختارها را کمینه

کرده و پایداری آن‌ها را افزایش داد (۱۳). فایل‌های بهینه‌سازی‌شده با فرمت sce ذخیره شدند و سپس با استفاده از نرم‌افزار YASARA Structure نسخه ۲۲،۹،۲۴ به فرمت Protein Data Bank (PDB) تبدیل شدند تا برای مراحل بعدی آماده شوند. در ادامه، به‌منظور ارزیابی و اعتبارسنجی کیفیت ساختارهای سه‌بعدی، از سرور SAVES استفاده شد. این سرور ابزارهایی نظیر PROCHECK، Verify3D و ERRAT را برای بررسی زوایای دی‌هدرال، سازگاری مدل سه‌بعدی با توالی آمینواسیدی و شناسایی خطاهای احتمالی به‌کار گرفت. نتایج ارزیابی به‌صورت نمودارها و گزارش‌های کیفی استخراج

سیگنال پپتید بودند. میوستاتین اسب (Q⁹GM⁹⁷) نیز شامل ۳۷۵ آمینواسید بود که از این تعداد، ۱۸ آمینواسید مربوط به سیگنال پپتید بودند. همچنین، فولیستاتین انسان (P¹⁹883) و فولیستاتین اسب (O¹²650) شامل ۳۴۴ آمینواسید بودند که از این تعداد، ۲۹ آمینواسید مربوط به سیگنال پپتید بودند. بررسی شباهت بین میوستاتین اسب و انسان توسط سرور BLASTp، شباهت ۹۸ درصدی را نشان داد. همچنین، شباهت بین توالی آمینواسیدی فولیستاتین اسب و انسان نیز ۹۸ درصد برآورد شد.

مدل‌سازی توسط سرور SWISS-MODEL

برای مدل‌سازی، از بهترین الگوها با ۱۰۰٪ هویت (Identity) استفاده شد. الگوهای میوستاتین و فولیستاتین انسان و اسب در این مدل‌ها با بالاترین میزان تطابق انتخاب شدند و مدل‌های شبیه‌سازی‌شده با دقت مورد بررسی قرار گرفتند (۱۴).

کمینه‌سازی انرژی توسط سرور YASARA

انرژی ساختارهای شبیه‌سازی‌شده با استفاده از YASARA کاهش یافت و امتیازهای مربوط به ساختارهای مختلف پروتئین‌ها بهبود پیدا کرد که در جدول ۱ مشاهده می‌شود. این نتایج نشان‌دهنده بهینه‌شدن ساختارها و کاهش انرژی‌های غیرطبیعی آن‌ها بود که به اعتبار مدل‌ها افزود (۱۵).

و بررسی شدند تا ساختارها برای داکینگ آماده شوند (۱۴). برای بررسی امکان تعامل بین پروتئین‌ها، برهم‌کنش مولکولی با استفاده از سرور HDock انجام شد. این نرم‌افزار با تحلیل‌های الگوریتمی دقیق، جایگاه‌های احتمالی اتصال فولیستاتین به میوستاتین را شناسایی کرد. در نهایت، نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار PyMOL نسخه ۳/۹/۱ برای بررسی دقیق‌تر و تجسم تعاملات، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین، ابزار LigPlot نسخه ۲/۳ برای مشاهده و بررسی تعاملات به‌صورت دوبعدی به کار گرفته شد (۱۲).

نتایج

این پژوهش با هدف بررسی بیوانفورماتیکی امکان اتصال میان پروتئین میوستاتین و پروتئین فولیستاتین در اسب و انسان انجام شد. در این مطالعه، فولیستاتین به‌عنوان لیگاند و میوستاتین به‌عنوان گیرنده بررسی شدند. نتایج به‌دست‌آمده نشان‌دهنده تعاملات پیچیده میان این دو پروتئین است که ممکن است در تنظیم فعالیت میوستاتین و فرآیندهای رشد عضلات نقش مهمی ایفا کنند.

توالی‌های مورد مطالعه

در جستجوهای انجام‌شده برای پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین در پایگاه داده UniProt، کامل‌ترین ساختارهای پروتئینی برای میوستاتین انسان (O¹⁴793) شامل ۳۷۵ آمینواسید بود که از این تعداد، ۲۳ آمینواسید مربوط به

جدول ۱: بهینه‌سازی انرژی توسط سرور YASARA

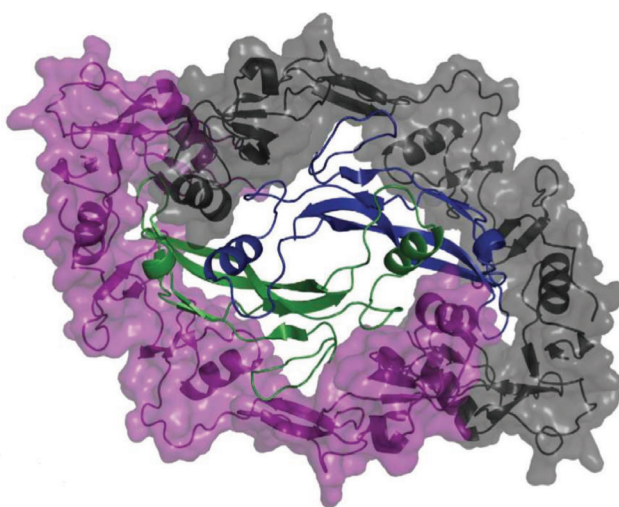
ساختار	قبل از کمینه‌سازی (KJ/MOL)	کمینه‌شده (KJ/MOL)
میوستاتین انسان	-۸.۱۱۱۸۱۱۸	-۸.۱۶۷۴۱۴
فولیستاتین انسان	-۴.۱۱۹۳۹۳	-۵.۱۵۵۳۰۸
میوستاتین اسب	-۰.۱۱۸۸۵	-۷.۱۶۷۹۷۴
فولیستاتین اسب	-۴.۱۱۹۷۴۱	-۴.۱۵۵۲۹۳

کنترل کیفی ساختارها با استفاده از سرور SAVES

نمودار کیفیت کلی برای میوستانین انسان برابر با ۹۱/۳۳۳٪، فولیستانین انسان برابر با ۹۶/۷۲۷٪، فولیستانین اسب برابر با ۹۵٪ و برای میوستانین اسب برابر با ۸۹/۸۶۵٪ به دست آمد. که نشان دهنده دقت بالای ساختارهای مدل سازی شده بود. این کیفیت، اعتبار و صحت مدل های مدل سازی شده را تأیید کرد و این امکان را فراهم کرد تا از این مدل ها در تجزیه و تحلیل و داکینگ استفاده شود.

برهم کنش پروتئین پروتئین با استفاده از سرور HDock

با استفاده از HDock، پروتئین های میوستانین و فولیستانین در اسب و انسان برهم کنش داده شدند. انتخاب بهترین کمپلکس بر اساس دو معیار انجام شد: الف) نحوه قرارگیری دو پروتئین: ساختار کریستالوگرافی کمپلکس میوستانین-فولیستانین در تحقیق کش و همکاران (۲۰۰۹) (شکل ۲)، به عنوان معیار انتخاب بهترین برهم کنش از نظر محل اتصال بین دو مولکول قرار گرفت.



شکل ۲: ساختار کریستالوگرافی کمپلکس میوستانین (آبی تیره و سبز) - فولیستانین (سیاه و بنفش) انسان. جهت فلش ها، جهت پروتئین را مشخص می کند.

ب) امتیاز داکینگ: این امتیاز که نشان دهنده پایداری تعاملات پروتئین ها است، برای مدل های مختلف محاسبه و بهترین مدل ها انتخاب شدند که در جدول ۲ مشاهده می شود.

جدول ۲: امتیازات داکینگ، اعتماد و RMSD چهار کمپلکس محاسبه شده با استفاده از سرور HDock

	MSTN human FST human	MSTN human FST horse	MSTN horse FST horse	MSTN horse FST human
Docking score* (kcal/mol)	-351.24	-308.35	-285.44	-276.41
Confidence score	0.9824	0.9596	0.9375	0.9128
(Ligand RMSD (Å)	99.23	99.29	180.72	231.92

* هرچه این عدد منفی تر باشد، نشان دهنده پیوند قوی تر است.

بررسی برهم‌کنش‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای LigPlot و PyMOL

با استفاده از نرم‌افزارهای PyMOL و LigPlot، تعاملات ساختاری میان فولیستاتین و میوستاتین در انسان و اسب

بررسی شد. این نرم‌افزارها به شبیه‌سازی و تحلیل دقیق برهم‌کنش‌های پروتئینی کمک کردند. تفاوت‌های ساختاری میان تعاملات گونه‌های انسانی و اسبی شناسایی شد که می‌تواند به درک بهتر ویژگی‌های اختصاصی گونه‌ای در تعاملات این پروتئین‌ها کمک کند.

جدول ۳: اسیدآمینه‌های درگیر در پیوند هیدروژنی و طول پیوند آن‌ها

داکینگ‌ها	اسیدآمینه‌های درگیر در پیوند	طول پیوند (آنگستروم)
MSTN human	MET50	1.93
FST human	LYS81	2.57, 2.24
	ASN10	2.77
	ARG12	3.23
	PHE52	3.26
	GLU64	3
	ARG111	2.29
MSTN human	GLU64	3
FST horse	ARG134	2.98
	PHE52	2.64
	MET50	3.30, 2.57
	ASN10	3.03
MSTN horse	ASP70	2.09
FST horse	ASP92	2.2, 2.68
	SER94	3.08, 3.21
	GLU128	3.04
	LYS99	2.98
	ASN112	2.93, 2.89
	LYS81	2.80, 3.12
MSTN horse	GLU20	2.45
FST human	THR19	1.86
	ILE51	2.50
	GLU169	3
	ASP43	1.59
	ILE166	3.21
	GLU39	3
	THR45	2.69

پیوندهای قوی با رنگ سبز نشان داده شده‌اند.

بحث

هدف اصلی پژوهش حاضر، استفاده از داکینگ مولکولی برای پیش‌بینی و بررسی پتانسیل پروتئین فولیستاتین (FST) از گونه‌های مختلف به‌منظور اتصال مؤثر و در نتیجه، مهار پروتئین میوستاتین (MSTN) در اسب بود. تنظیم رشد عضلات اسکلتی در حیوانات با عملکرد بالا، مانند اسب‌های مسابقه، که در آن‌ها افزایش توده و قدرت عضلانی به‌طور مستقیم با توانایی‌های ورزشی مرتبط است، از اهمیت بالایی برخوردار است (۵، ۶). MSTN به‌عنوان یک تنظیم‌کننده منفی قدرتمند رشد عضلات، مهار آن را به یک هدف کلیدی برای بهبود عملکرد تبدیل کرده است (۱، ۳).

اعتبارسنجی مدل‌سازی برون‌تنی (In Silico)

اعتبارسنجی اولیه مدل‌های داکینگ درون‌گونه‌ای با موفقیت انجام شد. اتصال فولیستاتین انسانی (hFST) به میوستاتین انسانی (hMSTN)، بالاترین امتیاز تمایل داکینگ را که در واقع منفی‌ترین مقدار بود (۳۵۱،۲۴-)، به دست آورد که با تعامل با میل اتصال بالا، که برای تنظیم مؤثر فیزیولوژیک عضلات شناخته شده است، مطابقت دارد (۱). از آن مهم‌تر، محل اتصال و جهت‌گیری فضایی پیش‌بینی‌شده برای همه کمپلکس‌ها با ساختار کریستالوگرافی تثبیت‌شده کمپلکس MSTN-FST که پیش‌تر توسط کش و همکاران (۲۰۰۹) گزارش شده است، همسو بود (۱۶) و صحت و ارتباط زیستی مدل‌های به‌دست‌آمده را تأیید کرد.

تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای کمپلکس‌های درون‌گونه‌ای، تفاوت‌های ساختاری ظرفی را نشان داد. در حالی که کمپلکس hFST/hMSTN بالاترین امتیاز داکینگ را داشت، کمپلکس فولیستاتین اسبی (eFST) و میوستاتین اسبی (eMSTN) (امتیاز ۲۸۵/۴۴-) گسترده‌ترین سطح اتصال را ایجاد کرد که با بیشترین تعداد کل پیوندها (۱۰ پیوند، شامل ۹ پیوند هیدروژنی) مشخص شد. این یافته نشان می‌دهد که کمپلکس اسبی ممکن است دارای یک پیکربندی ساختاری متفاوت، اما بسیار قوی، باشد که برای مهار MSTN در اسب بهینه شده است. گستردگی سطح اتصال و تعداد بالای پیوندها الزاماً به معنی پیوند با انرژی بالاتر نیست (۱۳).

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، نتایج داکینگ نشان داد که برهم‌کنش میوستاتین و فولیستاتین در اسب و انسان، تمایلات اتصال متفاوتی دارد. بالاترین تمایل اتصال مربوط به برهم‌کنش میوستاتین و فولیستاتین انسانی با امتیاز داکینگ ۳۵۱/۲۴- بود. سپس برهم‌کنش میوستاتین انسانی و فولیستاتین اسب با امتیاز ۳۰۸/۳۵- قرار گرفت. در مرحله بعد، برهم‌کنش میوستاتین و فولیستاتین اسب با امتیاز ۲۸۵/۴۴- مشاهده شد. در نهایت، کمترین تمایل اتصال مربوط به برهم‌کنش میوستاتین اسب و فولیستاتین انسانی با امتیاز ۲۶۷/۴۱- بود.

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، نتایج نشان داد که برهم‌کنش درون‌گونه‌ای بین میوستاتین و فولیستاتین انسانی، بیشترین تمایل به اتصال را داشت. این برهم‌کنش دارای ۸ پیوند است که ۷ پیوند آن هیدروژنی و یک پیوند آب‌گریز است. همچنین، بیشترین تعداد پیوند مربوط به برهم‌کنش درون‌گونه‌ای بین میوستاتین و فولیستاتین اسب است که شامل ۱۱ پیوند می‌باشد. از این تعداد، ۱۰ پیوند هیدروژنی و یک پیوند آب‌گریز است. این برهم‌کنش در مقایسه با سایر برهم‌کنش‌ها، محکم‌ترین کمپلکس را در بین نمونه‌های بررسی‌شده تشکیل داد.

شایان ذکر است که در مقایسه بین دو برهم‌کنش درون‌گونه‌ای (انسان و اسب)، هیچ نقطه اتصال مشترکی یافت نشد.

در برهم‌کنش بین میوستاتین انسانی و فولیستاتین اسب، تمایل نسبتاً بالایی برای اتصال مشاهده شد (امتیاز داکینگ ۳۰۸/۳۵-). تعداد پیوندهای این برهم‌کنش ۸ عدد بود که مشابه برهم‌کنش درون‌گونه‌ای انسانی است. از این پیوندها، ۷ پیوند هیدروژنی و یک پیوند آب‌گریز می‌باشد. همچنین، چهار پیوند مشترک در نواحی کلیدی شامل Glu64_Arg42، Lys81_Asp85، Lys81_Asp86، Met50_Ser312 بین این برهم‌کنش و مدل درون‌گونه‌ای انسانی مشاهده شد، اما پیوند مشترکی با مدل درون‌گونه‌ای اسب وجود نداشت.

در برهم‌کنش بین میوستاتین اسب و فولیستاتین انسانی (امتیاز داکینگ ۲۶۷/۴۱-) نیز ۸ پیوند شناسایی شد که از این تعداد، ۶ پیوند هیدروژنی و ۲ پیوند آب‌گریز می‌باشد. در مقایسه این برهم‌کنش با سایر برهم‌کنش‌های درون‌گونه‌ای، هیچ نقطه اتصال مشترکی یافت نشد.

تعامل بین گونه‌ای با میل اتصال بالا و شناسایی مولکولی

مهم‌ترین یافته این مطالعه، پیش‌بینی تعامل قوی بین فولیستاتین انسانی (hFST) و میوستاتین اسبی (eMSTN) بود که امتیاز داکینگ نسبتاً بالایی (۳۰۸/۳۵-) را نشان داد. این میل اتصال، احتمال وجود اتصال عملکردی میان گونه‌ها را به‌طور قابل توجهی مطرح می‌کند. این یافته با هم‌ردیفی بالای توالی آمینواسیدی فولیستاتین اسب و انسان و همچنین میوستاتین اسب و انسان (۹۸ درصد) نیز حمایت می‌شود. مشخص شد که کمپلکس hFST/eMSTN، چهار باقیمانده شامل Lys81، Glu64 و Met50 را که در ایجاد پیوندهای هیدروژنی کلیدی نقش دارند، با کمپلکس بسیار پایدار hFST/hMSTN به اشتراک می‌گذارد. وجود این تعاملات حفظ‌شده در نواحی اتصال حیاتی نشان می‌دهد که hFST، علی‌رغم تغییرات جزئی توالی و ساختار بین گونه‌ها، دارای عوامل شناسایی مولکولی لازم برای درگیر شدن و احتمالاً خنثی‌سازی eMSTN است.

این یافته از اهمیت بالایی برخوردار است، زیرا پیشنهاد می‌کند که hFST، که به‌صورت تجاری در دسترس است، می‌تواند احتمالاً برای استفاده درمانی در اسب‌ها کاربرد داشته باشد. در مقابل، کمپلکس بین eFST و hMSTN کمترین میل اتصال (۲۶۷/۴۱-) را نشان داد و کمپلکس eMSTN/hFST هیچ نقطه اتصال مشترکی با کمپلکس بومی اسب نداشت. این عدم تقابل در شناسایی، بر اختصاصی بودن تعامل FST-MSTN تأکید می‌کند و برخلاف عملکرد FST اسب بر روی hMSTN، مناسب بودن منحصربه‌فرد hFST برای هدف قرار دادن eMSTN را برجسته می‌سازد.

داده‌های به‌دست‌آمده، مبنای محاسباتی قوی برای انجام آزمایش‌های تکمیلی و نیز توسعه روش‌های غیردوپینگ برای افزایش توده عضلانی و عملکرد در اسب‌های برتر ورزشی ارائه می‌دهد. مهار MSTN برای دستیابی به هایپرتروفی میوفیبریلی و سارکوپلاسمی مورد نیاز برای عملکرد برتر در اسب‌های مسابقه حیاتی است (۶). استفاده از پروتئین‌های نوترکیب مانند hFST، یک جایگزین جذاب، بالقوه ایمن‌تر و مبتنی بر مواد طبیعی برای مواد ممنوعه (دوپینگ) ارائه می‌دهد (۹).

در این پژوهش، امکان اتصال پروتئین فولیستاتین انسانی به میوستاتین اسب بررسی شد. نتایج داکینگ نشان داد که این دو پروتئین توانایی اتصال به یکدیگر را دارند. این یافته‌ها

می‌تواند به‌عنوان گامی اولیه در جهت استفاده از فولیستاتین انسانی برای مهار میوستاتین اسب و بهبود عملکرد ورزشی آن‌ها مورد توجه قرار گیرد. با این حال، این تحقیق نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر در شرایط آزمایشگاهی و بالینی است تا بتوان نتایج را به‌طور قطعی‌تر ارزیابی کرد و کاربرد عملی آن را در صنعت سوارکاری بهبود بخشید.

میل اتصال پیش‌بینی‌شده بالای hFST به eMSTN، که توسط باقیمانده‌های اتصال کلیدی مشترک پشتیبانی می‌شود، مسیر روشنی را برای تحقیقات آزمایشگاهی آینده پیشنهاد می‌کند. با این حال، به‌عنوان یک مطالعه برون‌تنی، این نتایج نشان‌دهنده یک فرضیه قوی هستند، نه یک پیامد زیستی تأییدشده. گام‌های حیاتی بعدی باید شامل اعتبارسنجی‌های تجربی جامع، از جمله موارد زیر، باشند: بررسی اثربخشی در شرایط آزمایشگاهی: ابتدا hFST نوترکیب باید مورد آزمایش قرار گیرد تا توانایی آن در خنثی‌سازی عملکردی فعالیت eMSTN در آزمون‌های کشت سلولی تأیید شود.

ارزیابی فارماکولوژیک: مطالعات درون‌تنی برای ارزیابی پایداری، دوز مناسب، فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک تجویز hFST در اسب‌ها ضروری است.

آزمایش‌های بالینی: مطالعات نهایی باید اثربخشی طولانی‌مدت، ایمنی و افزایش توده عضلانی و عملکرد ناشی از آن را در حیوانات زنده تأیید کنند (۱۰).

نتیجه‌گیری کلی

این تحقیق بر اهمیت مهار میوستاتین در اسب‌ها و تأثیر آن بر بهبود عملکرد ورزشی آن‌ها تأکید دارد. یافته‌های به‌دست‌آمده با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیک نشان داد که فولیستاتین انسانی می‌تواند به‌عنوان یک مهارکننده مؤثر میوستاتین در اسب‌ها عمل کند؛ البته این نتیجه منوط به اثبات در مراحل آزمایشگاهی است.

سپاسگزاری:

این پژوهش با حمایت دانشگاه فردوسی مشهد و گرنت شماره ۳/۶۱۰۴۴ انجام شده است. از حمایت سرکار خانم مهندس عاطفه پاکنفس قدردانی می‌شود.

تعارض منافع:

بر اساس اظهارات نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

منابع

1. Cotton JA, Elkin C, Ferguson SM, et al. Molecular mechanisms of myostatin regulation in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2018;124(3):765-776.
2. Soleimani S, Sekhavati MH, Javadmanesh A. Sequencing and bioinformatic investigation of introducing repressive micro-RNA target sites in the 3'UTR of the myostatin gene in some indigenous sheep breeds of Iran. *Iranian J Anim Sci Res.* 2019;11(1):111-119. doi:10.22067/ijasr.v1397i1.67295.
3. Liu W, Liu Y, Li J, et al. Skeletal muscle mass regulation: Myostatin and beyond. *Front Physiol.* 2021;12:677746. doi:10.3389/fphys.2021.677746.
4. Kian H, Shariati M, Moghaddam P. Investigation of the effect of resistance training on myostatin gene expression in skeletal muscles. *Iranian Journal of Sports Medicine.* 2015;7(3):45-56.
5. Biang L, Wei S, Wang L, et al. Identification and functional analysis of myostatin gene mutations in different horse breeds. *Genes Genomics.* 2022;44(2):235-245.
6. Stakanov O, et al. Effects of genetic mutations and regulatory changes in myostatin on muscle growth and performance in horses. *PLoS One.* 2014;9(8):e8645. doi:10.1371/journal.pone.008645.
7. Dewasi Ghisaram, et al. Myostatin-driven muscle hypertrophy: A double-edged sword in muscle physiology. *Journal of Rare Diseases.* 2025;4(1):29. doi:10.1007/s44162-025-00086-x.
8. Kim HJ, et al. Hypertrophy mechanisms in equine muscle: A review of myofibrillar and sarcoplasmic hypertrophy in racehorses. *Equine Vet J.* 2021;53(1):45-52.
9. Martínez F, et al. Myostatin inhibition in horses: Potential applications in muscle growth and fat accumulation. *Anim Biotechnol.* 2022;33(3):29-38.
10. Allen DL, Roy RR, Edgerton VR. Myonuclear domains in muscle adaptation and disease. *Front Physiol.* 1999;279:C234-C242.
11. Mousavi Z, Rashidian Z, Zeraatpisheh Y, Javadmanesh A. Molecular docking of bacteriocin enterocin P peptide with mastitis-causing *E. coli* antigen in cattle. *Vet Res Biol Prod.* 2022;35(4):114-122. doi:10.22092/vj.2022.357689.1943.
12. Javadmanesh A, Paknafs A, Azghandi M. Molecular simulation of animal milk lactoferrins as antiviral agents against rotavirus: Binding mechanisms and therapeutic implications. *J Cell Mol Res.* 2024;(2):- . doi:10.22067/jcmr.2025.85043.1080.
13. Mousavi Z, Sekhavati MH, Farzaneh M, Javadmanesh A. Investigating the binding energy of DEP-A and DEP-B enzymes with DON mycotoxin chemotype by molecular docking. *Vet Res Biol Prod.* 2024;37(1):15-26. doi:10.22092/vj.2023.362064.2062.
14. Karbaschian E, Javadmanesh A. Molecular docking of rat myostatin with human follistatin: An in-silico analysis. Proceedings of the 2nd International and 11th National Iranian Conference on Bioinformatics, Tehran, Iran. 2023:181.
15. Hashemi Attar M, Nassiry MR, Javadmanesh A, Nayeri Fasaee B. Structural analysis of aspartate kinase enzyme in *Coryne-*

bacterium species to find the best enzyme structure for high industrial production of lysine amino acid. *Iranian Journal of Animal Science Research*. 2019;11(4):501-512. doi:10.22067/ijasr.v11i4.79758.

16. Cash JN, Rejon CA, McPherron AC, Bernard DJ, Thompson TB. The structure of myostatin: follistatin 288: Insights into receptor utilization and heparin binding. *EMBO J*. 2009;28(17):2662-2676.