中国科学 C 辑:生命科学 2009 年 第 39 卷 第 5 期: 460 ~ 468
www.scichina.com life.scichina.com
《中国科学》杂志社
SCIENCE IN CHINA PRESS

论 文

金鱼 PP2A-B′家族 δ 基因 cDNA 的克隆及表达分析

付虎①, 马海立①, 郑春兵①, 吕家韩①, 喻向前①, 李炽①, 彭云磊①, 廖高鹏①, 刘文彬①, 肖亚梅①, 刘筠①, 李万程①②*

① 湖南师范大学生命科学学院, 蛋白质化学和发育生物学教育部重点实验室, 长沙 410081;
② Departments of Biochemistry and Molecular Biology, Ophthalmology and Visual Sciences, University of Nebraska Medical Center, 985870 Nebraska Medical Center, Omaha, NE 68198-5879 USA
* 联系人, E-mail: dwli1688@hotmail.com

收稿日期: 2009-04-01; 接受日期: 2009-04-20
美国 NIH GRANT 1R01 EY 015765 基金、教育部长江学者及创新团队计划(批准号: IRT0445)和湖南省芙蓉学者特聘教授基金(批准号: 24030604)资助项目

摘要 通过 3′-RACE 及 5′-RACE 技术克隆得到了金鱼蛋白磷酸酶 2A(protein phosphatase 2A, PP2A)调节亚基 B′家族 δ(Delta)基因的 cDNA 全序列. 结果显示, 金鱼 δ 基因 cDNA 全长 2415 bp, 编码一个含 555 个氨基酸的蛋白. 序列分析表明, 该基因编码的蛋白与已知其他物种对应的 B′家族蛋白质均有着很高的同源性. RT-PCR 分析证明, 该基因 mRNA 表达水平在大脑中为最高, 肝脏、精巢、卵巢、肾脏和鳃中次之, 鳍中最少. 在不同胚胎时期中, 两细胞期、多细胞期、囊胚期和原肠胚期表达最高, 其他时期相对较低. 在蛋白水平上, 精巢、卵巢、大脑和心脏中最高, 肝脏中次之, 肾脏、鳃和鳍中最少. 在胚胎中, 两细胞期、多细胞期、囊胚期、原肠胚期和神经胚期及视原基期表达最高, 脑泡分化和眼色素期表达量最少. 由此可以推测 PP2A B′-δ 基因在金鱼不同组织和胚胎发育的不同时期中可能起着多种重要作用.

关键词
PP2A
蛋白磷酸化
PP2A 调节亚基
δ 基因

蛋白质的磷酸化与去磷酸化是细胞内普遍存在的. 它们是由蛋白激酶和蛋白磷酸酶分别完成的, 两种酶活性的平衡对于正常的细胞新陈代谢至关重要[1]. 相对于蛋白激酶而言, 人们对蛋白磷酸酶的研究相对较少.

蛋白磷酸酶 2A(protein phosphatase 2A, PP2A)是生物体内一种重要的丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶, 参与细胞周期、信号转导、DNA 复制、细胞分化和细胞恶性转化等多种生命代谢过程[2,3], 它和神经退化性疾病、肿瘤等多种疾病的发生、发展有关. 细胞中的 PP2A 多以三聚体形式存在, 其中核心酶部分是由催化亚基 C 和结构亚基 A 组成的一个二聚体, 另有分子量为 50~130 kD 不等的 B 亚基和核心酶结合形成三聚体. 其中 PP2A 调节亚基的组织特异性表达和细胞内定位能够有目的地调节 PP2A 的活性[4].

至今已经发现调节亚基(B 亚基)有 4 种形式, 分别命名为 B, B′, B″和 B‴. 其中 B′家族至少包括 5 种不同的基因产物 *PR61α*, *PR61β*, *PR61γ*, *PR61δ*和 *PR61ε*. *PR61α*和 *PR61γ*广泛分布, 在心肌和骨骼肌中特别丰富[5,6]; *PR61β*和 *PR61δ*主要表达于大脑[5,7]. 所有的 B′都包含一个高度保守的中心区(60%~80%同源), 而羧基和氨基末端则表现出高度的多样性[7]. 保守区域和 A 亚基及 PP2Ac 的结合有关[8,9], 而多变的末端则赋予 B′亚基多种功能, 如决定底物的特异性和细胞定位[7].

目前为止, 关于高等真核生物 PP2A 调节亚基的

引用格式: 付虎, 马海立, 郑春兵, 等. 金鱼 PP2A-B′家族 δ 基因 cDNA 的克隆及表达分析. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2009, 39(5): 460—468

功能研究还很有限. 为了更深入的了解这些亚基的结构特性及由其构成的 PP2A 全酶在发育中的功能, 本研究克隆了金鱼 PP2A 调节亚基 B′家族δ调节基因的 cDNA 序列, 对它们的氨基酸序列进行了分析, 并进一步对δ基因在金鱼不同组织和胚胎发育不同时期中 mRNA 的表达进行了研究.

鱼类普遍具有很强的繁殖力, 且是体外产卵、体外受精, 其发育的胚胎具有透明的特征, 且易于繁育养殖, 所以被用作模式物种[10], 金鱼就是其中之一. 本研究室以金鱼为实验材料开展了一系列有关发育调控的研究[11~15], 发现人工诱导的单倍体金鱼不同于一般的单倍体鱼类, 可以发育到出膜期, 一些非显性基因所控制的表型可以被直接观察, 因此金鱼可作为便于研究单个基因的功能的实验材料[14].

1 材料与方法

1.1 实验材料

(1) 实验鱼、菌种. 红帽金鱼购自本地花鸟市场, 取其肝脏、精巢、卵巢、大脑、肾脏、心脏、鳃、鳍, 用液氮速冻后放入–80℃冰箱备用. 在繁殖季节, 对金鱼人工受精后, 脱膜培养, 在胚胎发育的不同时期进行取材, 包括两细胞期、多细胞期、囊胚期、原肠期、神经胚期、视原基期、脑泡分化期、肌肉效应期、心跳期、眼色素期、体色素期、出膜期, 用液氮速冻后放–80℃冰箱中备用. 用于质粒扩增的大肠杆菌 DH5α 感受态细胞系本实验室制备.

(2) 实验试剂及器材. Total RNA 提取试剂盒购自 Omega 生物公司, 反转录试剂盒购自 Fermentas 生物公司, CR TeqMix 和 DNA Marker 购自东盛生物公司, DNA 凝胶回收试剂盒购自上海生工生物公司, pMD18-T 载体及 RACE 试剂盒购自 TaKaRa 生物公司, 引物合成及 DNA 测序服务均由上海生工生物公司提供. 用于 Western Blot 的抗体和高灵敏感光胶片购自美国 Santa Cruz 公司, 发光反应液购自美国 Amerham 公司.

1.2 实验方法

(1) 反转录. 分别提取上述金鱼各个组织以及胚胎各个时期的总 RNA. 提取时按照 OMEGA 公司的 Total RNA Kit Ⅱ推荐方法进行. 反转录过程按照 Fermentas 生物公司反转录试剂盒推荐方法进行.

(2) PP2A-B′家族δ基因的 cDNA 克隆. 从 NCBI 数据库中搜索已知其他物种 PP2A-B′家族δ基因 cDNA 序列, 其中包括家鼠(GI: 33942059)、人(GI: 5453954). 用 Jellyfish 软件比较序列同源性并参照 Primer Premier 5 软件和 Jellyfish 软件设计引物. 以往的研究表明, δ基因在大脑中有丰富的表达, 所以以金鱼大脑组织的 cDNA 为模板, PCR 克隆获得了金鱼 PP2A-B′家族δ基因 cDNA 部分序列(图 1(A)). 然后根据已克隆的δ基因 cDNA 的中间片段设计两端引物,

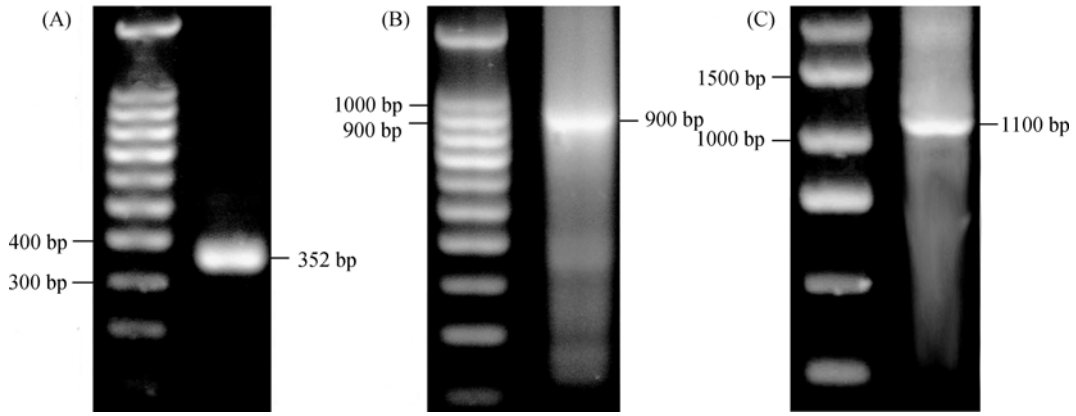


图 1 PP2A B′-δ基因 cDNA 克隆

(A) δ基因 cDNA 克隆得到的中间片段; (B) 5′-RACE 得到的 5′端; (C) 为 3′-RACE 得到的 3′端(在每幅图片中, 左边条带为 Marker, 右边条带为 PCR 产物)

再分别克隆出该基因的 5′末端(图 1(B))和 3′末端(图 1(C)). 最后通过序列拼接得到预期的 cDNA 全长. cDNA 的末端序列克隆采用末端快速扩增(RACE)方法[16], 实验用到的引物参见表 1.

表 1 实验用所需引物 a)

引物名称	引物序列(5′–3′)
Delta +	CATCGCATCTATGGCAAGTT
Delta –	ACATCACCTCCTTGGGGCT
3′ Inner	TAAAGTTCTGGCCCAAGACTCACA
3′ Outer	AAAGGACAGCAGCCTCACCGAACC
5′ Inner	TATTGTTGATCTGCCGACGGATGT
5′ Outer	TCCCATTGTGATGCTCCGTGTCGT
β-Actin +	CCGTGACCTGACTGACTACCTC
β-Actin –	CCCATACCTTAGAACGCCATA
Expression +	TCTCAGCGTCTATCACCC
Expression –	TCTGCTTCTCAGCCTTGT

a) 表中 Delta +和 Delta –分别为中间片段所用引物; 3′ Inner, 3′ Outer, 5′ Inner 和 5′ Outer 分别为末端序列克隆所用引物; β-Actin+和 β-Actin– 分别为 β-Actin 的正反向引物; Expression+ 和 Expression–分别为表达所用的正反向引物

(3) 蛋白质结构预测序列及同源性分析. 登录 NCBI 用 BLAST 对测序结果进行同源性检索. 用 DNAMAN 软件分析所得 cDNA 序列以及开放阅读框. 用 Jellyfish 对蛋白序列进行多序列比较. 用 ProtParam 工具分析蛋白质分子量、等电点、氨基酸组成等.

(4) PP2A-B′家族δ基因的 mRNA 水平的表达分析. 以β-Actin 作为内参照, 以上述金鱼多个组织和胚胎发育各个时期的总 RNA 经反转录得到的 cDNA 为模板进行 PCR 实验. 平行实验不少于 3 次. 表达所用的引物见表 1.

(5) PP2A-B′家族δ基因的蛋白水平的表达分析. 分别提取金鱼多个组织以及多个胚胎时期的总蛋白. 本实验采用 Bradford 蛋白测定法[17]. Western blot 的具体方法参考本研究室的其他文章[18]. 本实验中, 金鱼多个组织蛋白的上样量为 50~100 μg, 多个胚胎时期的上样量为 100~200 μg.

2 结果

2.1 PP2A-B′家族δ基因的 cDNA 克隆

通过 PCR 和 RACE 方法, 得到了金鱼 PP2A-B′家族δ基因的 cDNA 全长(图 2), 序列分析表明该基因全长为 2415 个碱基, 其中可读框为 73 位到 1740 位, 并且编码一个含 555 个氨基酸的蛋白质. 蛋白质预测的分子量约为 64399.1, 等电点为 6.71, 氨基酸组成中 Leu 和 Glu 含量最多而 Trp 含量最少.

2.2 蛋白质结构预测和同源性比较

根据克隆获得的 cDNA 序列推测出相应的氨基酸序列(图 2). 核甘酸序列已提交 Genbank 数据库, 登陆号为 EU330420. 氨基酸序列同源性比较表明(图 3(A)), 该蛋白序列与人的同源序列的相似度为 81.8%, 与家鼠的为 85.2%, 与非洲爪蟾的为 78.7%, 并且比较了该蛋白与人的 PP2A B′-Gamma 1 的同源性(图 3(B)), 发现相似性很高, 揭示了 B′家族在进化中的保守性.

2.3 差异表达分析

通过 RT-PCR 的方法本实验首先检测了 PP2A B′-δ基因在金鱼多个组织中 mRNA 水平的表达情况(图 4), 另外通过 Western Blot 检测了该基因在这些组织中蛋白水平的表达模式(图 5). 实验结果表明, 该基因在 mRNA 水平和蛋白水平上的表达存在着一定的差异. 就 mRNA 而言, 大脑中的 mRNA 水平是最高的, 其次是精巢、肾脏和肝脏, PP2A B′-δ mRNA 在鳃、心脏和卵巢中表达较弱, 鳍中的表达最少, 而在蛋白表达水平上, 卵巢、精巢、大脑和心脏中最高, 肝脏中次之, 肾脏、鳃和鳍中最少. 之后, 本研究对该基因的发育表达模式进行了仔细的分析, 实验表明, PP2A B′-δ mRNA 在两细胞、多细胞、囊胚和原肠 4 个时期表达较为恒定, 水平最高, 在神经胚和视原基两个时期显著减弱之后, mRNA 在脑泡分化期显著上升, 发育至肌肉效应和心跳期, 其 mRNA 不断增强, 在眼色素期有部分下降, 至体色素期再次下降后, 在出膜期回升至肌肉效应期水平(图 6). 在蛋白水平上, PP2A B′-δ在两细胞、多细胞、囊胚、原畅胚、神经胚和视原基 6 个时期表达恒定, 水平最高, 在脑泡分化、肌肉效应、心跳和眼色素 4 个时期, 表达水平明显下降至前 6 个时期的 50%以下, 在体色素和出膜两个时期, 再次回升, 其蛋白水平处于前 6 个时期和中间 4 个时期之间的水平(图 7).

3 讨论

本研究克隆了金鱼 PP2A-B′家族δ调节亚基的 cDNA 序列. 序列分析表明, δ调节亚基的氨基酸序列在不同物种间都具有比较高的同源性(图 3), 暗示了该基因在进化和功能上的保守性, 在氨基和羧基末端的差异则暗示了 B′亚基具有的多种功能, 如决定底物的特异性和细胞定位[4].

已有的研究表明, PP2A 核心酶必须与调节亚基结合后才能在细胞内表现出特异的 PP2A 活性[19]. 有关 PP2A 全酶的装配与结构, 前人对 Aa-Ca-B′γ1 三聚体的研究提供了比较清晰的思路. 首先 Ca 与 Aa 上的第 11~15 号 HEAT 重复结构相结合构成核心酶, 其次, B′γ1 调节亚基中的 HEAT-like 重复结构与 Aa 上的 1 至第 10 号 HEAT 重复结构相结合进而形成 PP2A 全酶[20,21]. 在此过程中, 众多 B′γ1 残基与 Aa 和 Ca 有相互作用[9,22]. 本研究通过已克隆获得的金鱼 PP2A-B′家族δ基因的 cDNA 全序列推导出 PP2A B′-δ蛋白的一级结构, 并对 PP2A B′-δ与 B′γ1 蛋白一级结构进行比较分析. 结果发现, 二者之间同源性很高, 大部分参与亚基间相互作用的 B′γ1 特殊残基都具有保守性, 如 Glu214，Asp123 和 Lys256 等残基(图 3(B)). 推测 PP2A B′-δ在 PP2A 全酶装配时,装配过程与 B′γ1 相同.

在组织表达方面, 金鱼 PP2A B′-δ基因 mRNA 在大脑中的表达量最高, 在精巢和肾脏中也有较高表

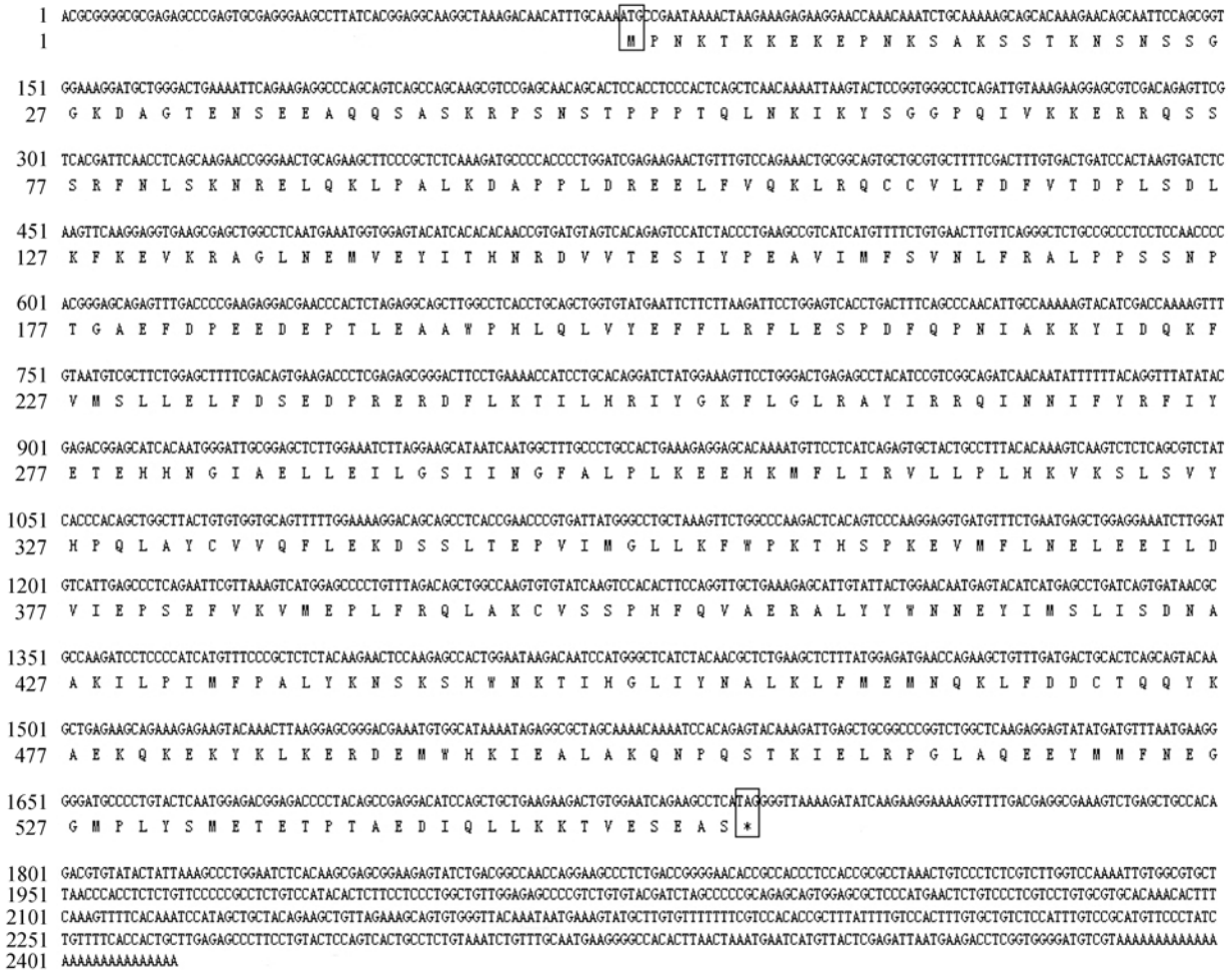


图 2 金鱼(*Carassius auratus*)PP2A B′-δ基因 cDNA 序列及预测的蛋白质序列

方框中所示分别为初始密码子和终止密码子

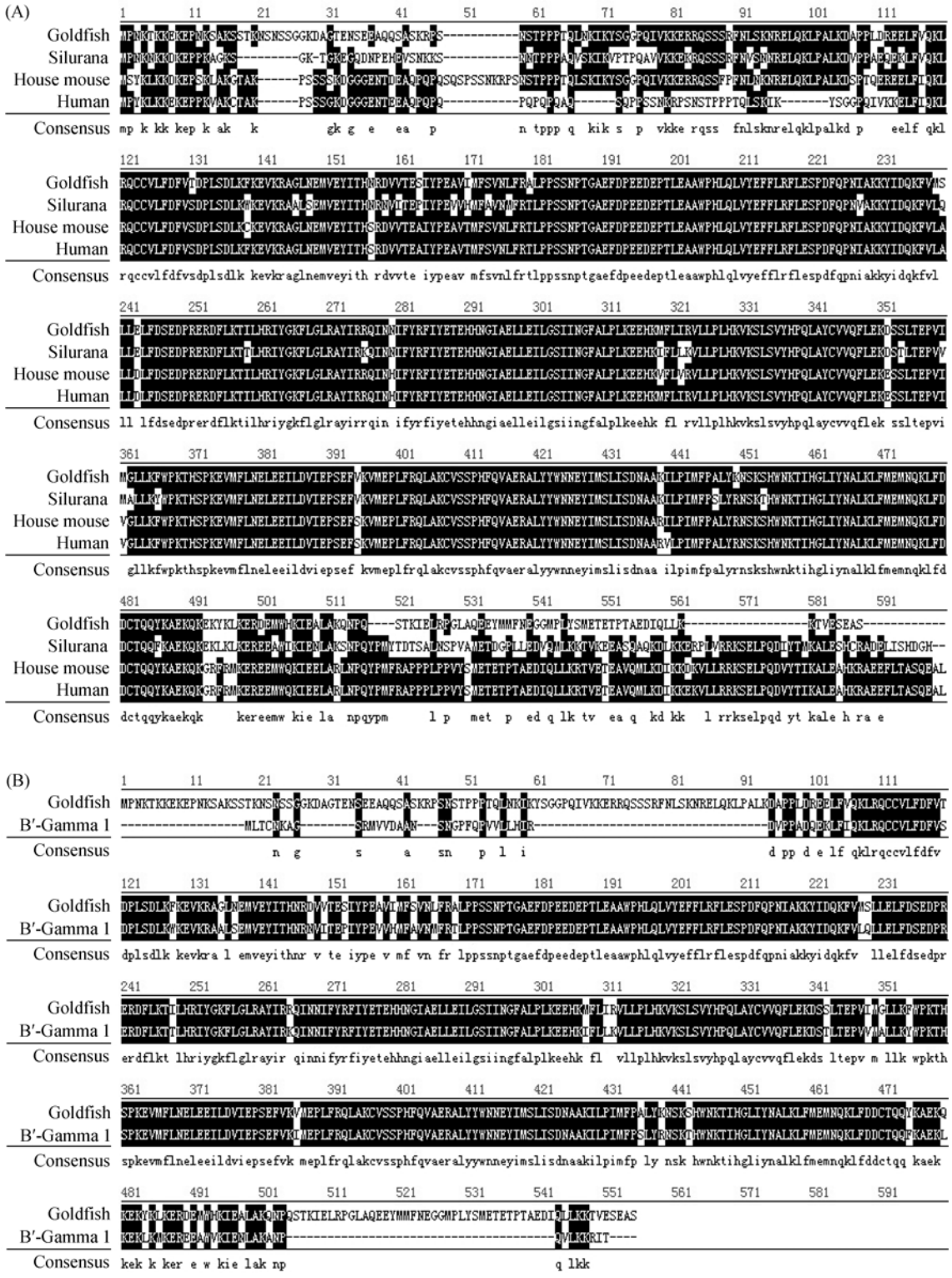


图 3　序列比对

(A) 预测的蛋白序列与非洲爪蟾(*Xenopus laevis* GI: 89272878)、家鼠(*Mus musculus* GI: 33942059)、人(*Homo sapiens* GI:5453954)的同源蛋白序列的比对结果; (B) 为预测的蛋白序列与人的 PP2A B′-Gamma 1(GI:1418819)蛋白序列的比对结果; 图中黑色部分为相同的氨基酸

达(图 4), 同时, 金鱼 PP2A B′-δ蛋白在肝脏、精巢、卵巢、大脑和心脏中都呈现出高表达. 这表明了δ基因可能在金鱼生殖细胞的发育和成熟中具有非常重要的作用, 在大脑、肝脏和心脏中行使功能时也可能扮演着重要角色, 这与之前报道的δ基因在人体大脑中表达量较高相一致. 另外金鱼 PP2A B′-δ基因在精巢、卵巢和大脑中的蛋白水平的高表达与 PP2A 催化亚基 C 在这 3 个组织中的高表达相一致[23,24], 而在心脏中的高表达与催化亚基 C 在心脏中的低表达形成鲜明对比[23,24], 这表明, PP2A B′-δ基因在金鱼精巢、

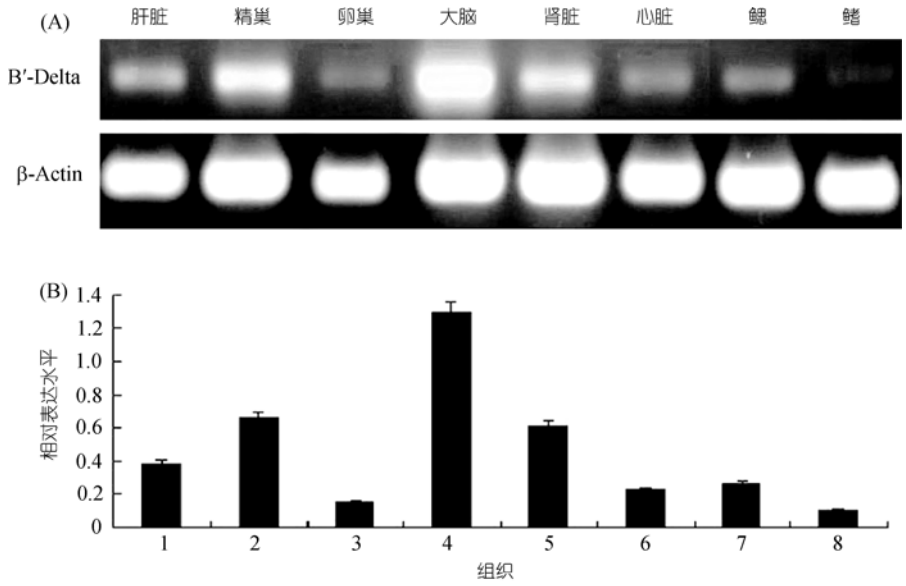


图 4 金鱼多个组织中 PP2A B′-δmRNA 的表达结果

(A) B′-δ基因 mRNA 水平的表达(电泳图谱); (B) 对应于(A)的柱形图, 1 肝脏; 2 精巢; 3 卵巢; 4 大脑; 5 肾脏; 6 心脏; 7 鳃; 8 鳍

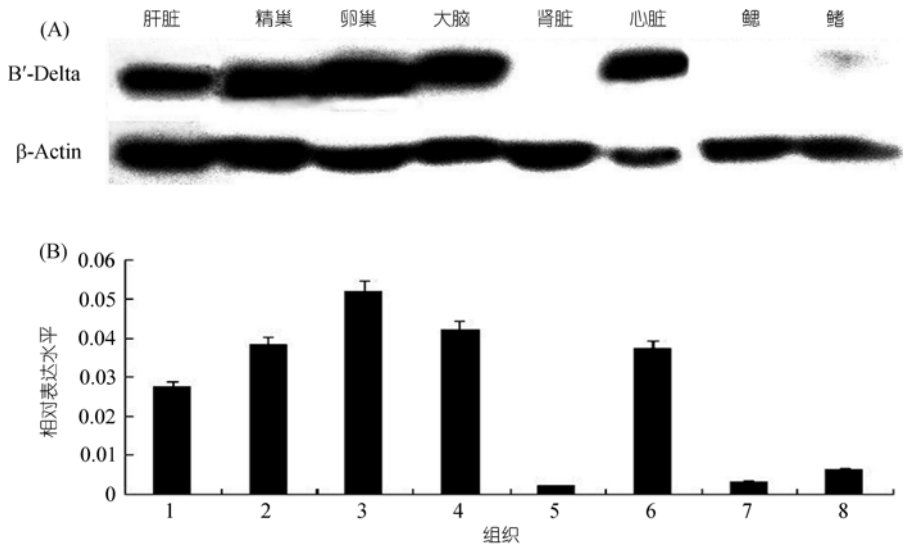


图 5 金鱼多个组织中 PP2A B′-δ 蛋白的表达结果

(A) B′-δ基因蛋白水平的表达(电泳图谱); (B) 对应于(A)的柱形图; 1 肝脏; 2 精巢; 3 卵巢; 4 大脑; 5 肾脏; 6 心脏; 7 鳃; 8 鳍

卵巢和大脑中, 可能以 PP2A 全酶的形式行使功能, 而在心脏中可能以 PP2A 全酶以外的其他形式行使功能.

在金鱼胚胎发育过程中, 随着卵裂的进行和囊胚的形成, PP2A B′-δ mRNA 不断减少, 在视原基时期开始上升(图 6), 这种在胚胎发育初期的表达明显递减现象揭示了δ基因 mRNA 的母源性特点. 随着胚胎发育至脑泡分化时期, PP2A B′-δ mRNA 重新表达, 经过肌肉效应期和心跳期显著上升后, 然后再经过体色素期和眼色素期的短暂下降, 于出膜期又再次上升. 比较发现, PP2A B′-δ这种在金鱼胚胎发育中的特异表达模式与 PP2A 催化亚基 C 不同[23], 说明了金鱼 PP2A B′-δ基因除参与 PP2A 全酶功能外还可能具有独立的胚胎发育调控功能.

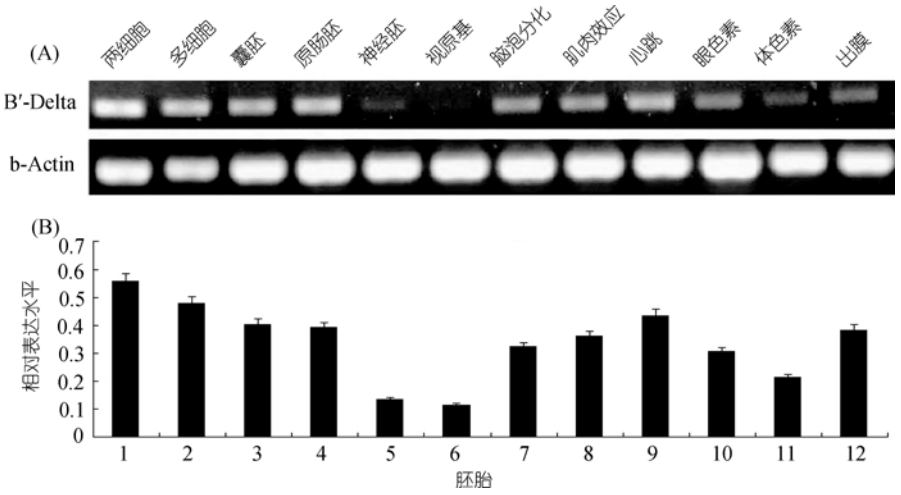


图 6 金鱼多个胚胎时期中 PP2A B′-δ mRNA 的表达结果

(A) B′-δ基因 mRNA 水平的表达(电泳图谱); (B) 对应于(A)的柱形图,

1 两细胞; 2 多细胞; 3 囊胚; 4 原肠胚; 5 神经胚; 6 视原基; 7 脑泡分化; 8 肌肉效应; 9 心跳; 10 眼色素; 11 体色素; 12 出膜

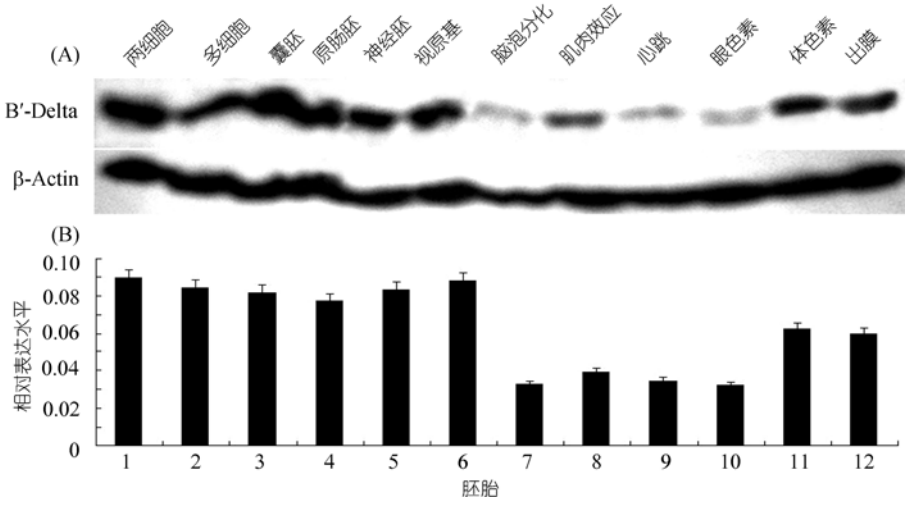


图 7 金鱼多个胚胎时期中 PP2A B′-δ 蛋白的表达结果

(A) B′-δ基因蛋白水平的表达(电泳图谱); (B) 对应于(A)的柱形图,

1 两细胞; 2 多细胞; 3 囊胚; 4 原肠胚; 5 神经胚; 6 视原基; 7 脑泡分化; 8 肌肉效应; 9 心跳; 10 眼色素; 11 体色素; 12 出膜

在蛋白水平的表达上, 不论是某些组织里, 还是某些发育时期, 与 mRNA 水平相比都存在着一定的差异. 如在卵巢组织中, PP2A B′-δ mRNA 水平较低, 而蛋白水平则达到最高. 同样, 在胚胎发育的神经胚和视原基时期, 其 mRNA 水平较低, 而蛋白水平则很高. 这种 mRNA 和蛋白水平之间的明显差异说明 PP2A B′-δ mRNA 翻译水平的控制或者是蛋白水平稳定性增强. 众所周知, 基因转录后, 特殊序列或者是次级折叠结构可能会影响翻译率, 后者可能影响 mRNA 衰退, 与核糖体的装载和加工一样, 这些转录后的机制都证明了蛋白质合成中的变化, 合成的蛋白质经过翻译后修饰, 这些修饰也将影响蛋白质的降解和分泌. 在组织里(图 4 和 5), 肝脏、精巢和大脑中在蛋白水平的表达相比于 mRNA 水平的差异很小, 但是在卵巢、肾脏和心脏中, 差异很明显, 这可能与该基因在这 3 个组织中的翻译水平受到其他因素影响有关. 在胚胎中(图 6 和 7), 这种差异尤其明显, 同时也说明了 PP2A B′-δ基因在胚胎发育的各个阶段所起到的重要调控作用.

为了更加清楚的认识 PP2A B′-δ基因在金鱼不同组织和胚胎发育中所起的作用, 本研究组正在展开免疫组化的研究对 PP2A B′-δ基因进行定位分析以及设计用反义链和 RNA 干扰两种手段来抑制或减弱 PP2A B′-δ基因的表达，从而探讨其功能.

本文所报道的这一调节亚基的克隆虽属已知基因, 但所确定的某些组织的特异性表达和不同发育时期的分化表达, 在以前的文献中尚未报道, 这些结果为研究 PP2A B′-δ 打下了重要的基础.

参考文献

1 Wera S, Hemmings B A. Serine/threonine protein phosphatases. Biochem J, 1995, 311(1): 17—29

2 Schonthal A H. Role of serine/threonine protein phosphatase 2A in Caner. Cancer Lett, 2001, 170(1): l—13

3 Wang S S, Esplin E D, Li J L, et al. Alterations of the PPP2R1B gene in human lung and colon cancer. Science, 1998, 282(5387): 284—287[DOI]

4 McCright B, Rivers A M, Audlin S, et al. The B56 family of protein phosphatase 2A (PP2A) regulatory subunits encodes differentiation-induced phosphoproteins that target PP2A to both nucleus and cytoplasm. J Biol Chem, 1996, 271(36): 22081—22089[DOI]

5 McCright B, Virshup D M. Identification of a new family of protein phosphatase 2A regulatory subunits. J Biol Chem, 1995, 270(44): 26123—26128[DOI]

6 Tehrani M A, Mumby M C, Kamibayashi C. Identification of a novel protein phosphatase 2A regulatory subunit highly expressed in muscle. J Biol Chem, 1996, 271(9): 5164—5170[DOI]

7 Csortos C, Zolnierowicz S, Bakó E, et al. High complexity in the expression of the B' subunit of protein phosphatase 2A0. Evidence for the existence of at least seven novel isoforms. J Biol Chem, 1996, 271(5): 2578—2588[DOI]

8 Ruediger R, Hentz M, Fait J, et al. Molecular model of the A subunit of protein phosphatase 2A, interaction with other subunits and tumor antigens. J Virol, 1994, 68(1): 123—129

9 Ruediger R, Roeckel D, Fait J, et al. Identification of binding sites on the regulatory A subunit of protein phosphatase 2A for the catalytic C subunit and for tumor antigens of simian virus 40 and polyomavirus. Mol Cell Biol, 1992, 12(11): 4872—4882

10 桂建芳, 易梅生. 发育生物学. 北京: 科学出版社, 2002. 49—50

11 童英, 李冰霞, 陈金辉, 等. 金鱼 *Vsx1* 基因结构及其内含子多态性分析. 激光生物学报, 2007, 16(4): 418—423

12 彭凤兰, 罗琛. 金鱼胰岛素样生长因子 2 基因克隆与组织表达. 湖南师范大学自然科学学报, 2007, 30(2):103—107

13 罗敏娜, 李冰霞, 童英, 等. 与脊椎动物脑室空间模式形成相关的两个基因座位. 自然科学进展, 2006, 16(10): 1331—1335

14 Huang L, Li B, Luo C, et al. Proteome comparative analysis of gynogenetic haploid and diploid embryos of goldfish (*Carassius auratus*). Proteomics, 2004, 4(1): 235—243[DOI]

15 郑春兵, 马海立, 付虎, 等. 金鱼 PP2A-B"家族 Alpha 和 Gamma 调节基因的 cDNA 克隆及 RNA 表达. 自然科学进展, 2009, 19(2): 36—42

16 Froham M A. On beyond classic RACE(rapid amplification of cDNA ends). PCR Methods Appl, 1994, 4(1): S40—58

17 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein

dye binding. Anal Biochem, 1976, 72: 248—254[DOI]

18 Li DW, Liu J P, Wang J, et al. Protein expression patterns of the signaling molecules for MAPK pathways in human, bovine and rat lenses. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44: 5277—5286[DOI]

19 Xu Y, Xing Y, Chen Y, et al. Structure of the protein phosphatase 2A holoenzyme. Cell, 2006, 127(6): 1239—1251[DOI]

20 Hemmings B A, Adams-Pearson C, Maurer F, et al. Alpha- and beta-forms of the 65-kDa subunit of protein phosphatase 2A have a similar 39 amino acid repeating structure. Biochemistry, 1990, 29(13): 3166—3173[DOI]

21 Walter G, Ferre F, Espiritu O, et al. Molecular cloning and sequence of cDNA encoding polyoma medium tumor antigen-associated 61-kDa protein. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86(22): 8669—8672[DOI]

22 Xing Y, Xu Y, Chen Y, et al. Structure of protein phosphatase 2A core enzyme bound to tumor-inducing toxins. Cell, 2006, 127(2): 341—352[DOI]

23 刘文彬, 王道, 周洁, 等. 蛋白磷酸酶-2Ac 在不同倍性鱼 6 种组织中的分化表达模式. 水生生物学报, 2009, (印刷中)

24 刘文彬, 刘姣, 马海立, 等. 蛋白磷酸酶 PP1c 在不同倍性鱼 6 种组织中分化表达模式研究. 水产学报, 2009, (印刷中)