

左侧视网膜剥夺鸽左前脑差异表达基因全长 cDNA 的克隆

金珠¹⁾*, 匡晶²⁾, 徐磊³⁾, 吕立夏³⁾, 许蕾³⁾, 李学礼³⁾, 王尧³⁾

(¹) 上海第二医科大学基础医学院生理教研室, 上海 200025; (²) 上海体育学院生物化学教研室, 上海 200433;

(³) 同济大学基础医学院 生物化学教研室, 上海 200070)

摘要 利用 cDNA 末端快速扩增(RACE)技术克隆了一条由左侧视网膜剥夺造成左前脑差异表达 EST 片段的全长 cDNA 序列, 同源性比较后认定, 其为鸽 *e(r)* 基因。该基因与人类及斑马鱼等脊椎动物 *e(r)* 基因的同源性非常高, 但 C 端有明显差异。RNA 斑点杂交、逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)及 Northern 印迹等方法检测, 该基因在不同组织中表达量有差异。结果表明, 鸽 *e(r)* 基因在左眼视网膜剥夺鸽的左前脑及肝、肾中的表达量较高, 该基因的表达具有一定的组织表达特异性。

关键词 cDNA 末端快速扩增法(RACE), 组织表达特异性, *e(r)* 基因, 脑, 鸽

中图分类号 Q78

Cloning of the Full-length cDNA of the Differentially Expressed Gene in Left Forebrain of Pigeons With Their Left-retina Removed

JIN Zhu^{1)*}, KUANG Jing²⁾, XU Lei³⁾, LU Li-xia³⁾, XU Lei³⁾, LI Xue-li³⁾, WANG Yao³⁾

(¹) Department of physiology, shanghai Secondary Medical University, Shanghai 200025, China;

(²) Department of Biochemistry, Shanghai Physical Institute, Shanghai 200433, China;

(³) Department of Biochemistry, Tongji University Medical School, Shanghai 200070, China)

Abstract Using rapid amplification of cDNA ends, a full length cDNA of the differentially expressed sequence tags (EST) was cloned. It existed in the left forebrain of the pigeon which was removed left retina at hatching. It was proved to be gene *e(r)* by homologous analysis. High degree of conservation existed among gene *e(r)* of pigeon, human and zebra fish, but there was obvious difference in its C terminal. The tissue-specific expression of this gene was found in the different tissues of the pigeon by RNA dot blotting, RT-PCR, and Northern blot. The results showed that the expression of gene *e(r)* was higher in the left forebrain, liver and kidney than in other different brain areas and other tissues. This gene was differentially expressed in the model pigeon.

Key words rapid amplification of cDNA ends, tissue-specific expression, *e(r)* gene, brain, pigeon

近年来, 随着分子生物学技术的快速发展, 探索、分离及克隆那些与脑的分化、发育及功能相关的特异性表达基因, 不仅对神经科学的基础理论研究, 而且对从分子水平阐明许多临床疾病的发病机理, 并进而推动这些疾病的诊断、治疗的长足发展均具有重大意义。

本实验室已通过消减抑制杂交法(SSH)建立了鸽左前脑的 cDNA 差异表达文库, 并且通过反 Northern 杂交筛选出一些有意义的 EST 片段^[1]。我们从中取一条 EST 片段 PFB/SSH-28 (GenBank 申请基因序列号为: 4855536 EST011 BE202383)。同源性比较分析表明, 此 EST 片段同源性较低, 推测可能为

新的未知基因的片段。故我们希望通过 RACE 方法克隆全长基因, 并对已经反 Northern 初步筛选出的这一条 EST 片段进行 Northern 分析, 进一步证实反 Northern 的结果, 以此也可了解到该基因的长度及它

收稿日期: 2003-08-06, 接受日期: 2003-11-17

国家自然科学基金资助项目(No. 39770244)

金珠, 女, 1972 年 7 月生, 硕士, 讲师

*联系人 Tel: 021-63846590-776447, E-mail: jinzh283@sohu.com

Received: August 6, 2003; Accepted: November 17, 2003

Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 39770244

*Corresponding author Tel: 021-63846590-776447

E-mail: jinzh283@sohu.com

在脑组织不同部位及外周组织中的分布状况。

利用 SMART RACE 技术,我们成功地克隆了该基因,经同源性比较证实为 *e(r)* 基因(已向 GenBank 申请序列号),其功能尚未见报道,推测与细胞周期调控等相关。RNA 斑点杂交、RT-PCR 及 Northern 印迹等方法分析验证表明该基因的确具有一定的组织表达特异性。

1 材料与方法

1.1 菌种、质粒载体

大肠杆菌 DH5⁺、pBluescriptSK(+) 质粒均由本实验室保存,pGEM-Teasy 载体购自 Promega 公司。

1.2 试剂

Trizol 试剂、Superscript 逆转录酶购自 Gbco BRL 公司,SMART RACE 试剂盒及质粒提取用 Qiagen plasmid mini kit 试剂盒购自 Clontech 公司,*Eco*R 和 *Bam*H 购自 TaKaRa 公司,*T₄* DNA 连接酶购自 NEB 公司,DIG Easy Hybridization、PCR DIG Probe Synthesis Kit、DIG DNA Detection Kit、Nylon Membrane (positively charged) 购自 Boehringer Mannheim,*T₃T₇* Primer 购自 Sangon ,Sequi Therm Long-Read 购自 Epicentre,[-³²P]-dATP 购自北京亚辉公司。

1.3 引物的设计与合成

采用 Primer Premier 软件,按照 SMART RACE 试剂盒的要求设计以下引物,其中 RACE 用引物有:

3'-GSP1:ACTCTTTAGCCA GGACTGAATG;

3'-GSP2:AGCGCAACATCTTTAGCA GAG;

5'-GSP1:GTGGGACCATTAGCTAACCAAG;

5'-GSP2:CTCTGCTAAAGATGTTGGCCT;

RT-PCR 所用引物是根据鸽 *e(r)* 基因编码区序列设计,包括:

3'-P:ATGCTCACACAATTCTACTTGTC;

5'-P:CTACACTCTGTACACACCTGTTGT.

本实验所涉及引物均由 TaKaRa 公司合成,使用浓度均为 10 μmol/L。

1.4 实验动物模型的建立

具体操作见参考文献[1]。

1.5 总 RNA 的抽提及鉴定

Trizol 试剂抽提实验鸽不同脑区及外周组织中总 RNA, DNase 消化基因组 DNA。紫外分光光度法检测 RNA 的纯度与含量,1% 琼脂糖电泳检测其完整性。

1.6 3 RACE

1.6.1 mRNA 反转录产生 cDNA 模板 按照 SMART

RACE 试剂盒的操作流程进行。(1)冰浴上建立反转录反应体系:2 μl 5 × 反转录缓冲液,1 μl dNTP (10 mmol/L),1 μl DTT (20 mmol/L),1 μl SMART Oligo 引物,1 μl CDS 引物;(2)取实验鸽左前脑提取总 RNA (2 μg) 溶于 2 μl 水,72℃ 加热 2 min,迅速置于冰上;(3)将总 RNA 加到反转录反应体系,加入 1 μl M-MLV 反转录酶 (200 U/μl),42℃ 温育 1 h;(4)70℃ 温育 15 min 终止反转录反应,-20℃ 冻存备用。

1.6.2 第一次 PCR 扩增 PCR 反应总体系为:cDNA 模板 1 μl,5 μl dNTP 混合物 (10 mmol/L),10 × 缓冲液 5 μl,引物 M₁₃P₂、引物 3'-GSP1 各 1 μl,*Taq* DNA 聚合酶 (5 U/μl) 1 μl,加水至 50 μl。PCR 程序(优化条件后):94℃ 预变性 3 min,随之 94℃ 30 s,57℃ 30 s,72℃ 1 min,循环 32 次,最后 72℃ 延伸 5 min。

1.6.3 二次 PCR 以第一次 PCR 扩增产物 100 倍稀释物为模板进行巢式 PCR 反应,所用引物有 3'-GSP2+M₁₃P₂。优化条件后的退火温度为 59℃,循环程序同第一次 PCR 反应。

1.7 5 RACE

反应流程同 3 RACE。首先进行反转录反应。然后进行第一次 PCR 反应,所用引物为 5'-GSP₁+SMART P₃,退火温度为 61℃,循环次数为 32 次;巢式 PCR 所用引物为 5'-GSP₂+SMART P₃,退火温度为 63℃,循环次数 30 次。

1.8 全长 cDNA 序列的获得

将 3 RACE 和 5 RACE 扩增得到的目的片段回收、纯化后,克隆至 pGEM-T easy 载体,转化感受态 *E. coli* DH5⁺,筛选阳性重组子,随机挑选 >10 个阳性菌落进行质粒抽提、酶切鉴定,然后在 Li-cor 4200 DNA 自动测序仪上进行测序。

将已知 EST(PFB/SSH-28) 片段经 3'-RACE 和 5'-RACE 后分别向 3' 端及 5' 端延伸的序列用 Sequence-sequencer 软件进行序列拼接,结合测序峰图进行序列矫正,最后获得完整 cDNA 序列。

1.9 氨基酸序列推演与同源性比较

根据所克隆 *e(r)* 基因全长 cDNA 序列确定其阅读框,推演可能的氨基酸序列。

经国际互联网进入美国 GenBank 数据库中,利用 Blast 检索 EST 数据库、nuc 数据库及 Pro 数据库。将所克隆基因核苷酸序列及氨基酸序列分别与 GenBank 中已知核苷酸序列及氨基酸序列进行同源性比较。

1.10 RNA 斑点杂交

取实验鸽及正常鸽不同脑区及外周组织提取总 RNA (10 μg ~ 15 μg)。甲酰胺变性后点样于尼龙膜上,120℃烘烤 30 min。同时地高辛法标记探针。具体操作按 PCR DIG Probe Synthesis Kit 操作流程进行。经预杂交、杂交、洗膜后进行信号检测,具体操作按 DIG DNA Detection Kit 操作流程进行。待理想信号出来后用 50 ml TE 洗涤,终止显色反应。并在膜湿润条件下拍照。

1.11 RT-PCR

Trizol 试剂分别提取实验鸽左右前脑、左右视盖、小脑、后脑等不同脑区及心、肝、脾、胃、肾等不同外周组织中总 RNA。按照 SUPERSCRIPTTM Rnase H⁺ 逆转录酶操作流程进行 cDNA 第一链的合成。PCR 反应同上,所用引物为 3'-P 及 5'-P。同时设 G₃PDH 为阳性对照管。

1.12 Northern 杂交

取实验鸽左前脑、心、肝、脾、胃、肾等组织中提取总 RNA(30 μg),紫外分光光度法检测 RNA 的纯度与含量。RNA 变性后进行甲醛凝胶电泳,制备杂交膜,同时同位素标记探针,经预杂交、杂交、洗膜后压片、放射自显影。具体操作见参考文献[2]。

```

1 GGGCTTGCGGGGATCGCTGGCGCTTCTCCGCGGCGTGGAGGAGCGGGAGCCG 60
61 TGATGTCTCACACAATTCTACTTGTCCAGCCTACCAAGAGGCCAGAAGGCAGAACATATG 120
[M S H T I L L V Q P T K R P E G R T Y]
121 CTGATTATGAATCGGTGAATGAGTCATGGAAGGAGTATGTAATGTATGAAGAGCATC 180
[A D Y E S V N E C M E G V C K M Y E E H]
181 TGAAGAGAAATGAATCCAACAGTCATCCATTACATATGATATCAGCCAATTTGACTC 240
[L K R M N P N S P S I T Y D I S Q L F D]
241 TCATTGATGACTTGGCAGACCTCAGCTGTCTTACCGTGCTGATACTCAGACATACC 300
[F I D D L A D L S C L V Y R A D T Q T Y]
301 AACCGTACAATAAAGACTGGATAAAGGAGAAGATCTACGTCTCCGAGGCAGGCCA 360
[Q P Y N K D W I K E K I Y V H S A G R P]
361 GCAAGCAAGCAAATAATGGGGCACCAGCATTACATGGGTTGGGGAGGGCTGGACAA 420
[S K Q A N N G G T S I T W G W G R A W T]
421 CAGGTGTGTACAGAGTGTAGTAGTACGTTCTGATTATAGTCATCCTGTGCCATCTT 480
[T G V Y R V]
481 GTTAAACTTTAAGCCAGGACTGAATGTATTGTTAGAGATGCAAGGGTTTGTGGAGTT 540
541 GACTTTTCAGTGTAAATGGAGAAGAAAGCGCAACATCTTAGCAGAGTTTGTGTTT 600
601 TTCTCTGGTTAGCTAATGGCCCACCTGTTGAACCCCTGGGCTGCTCACATTGTAC 660
661 TTCACCCACATGCACTGTATGTGCCCTCTGTTGGGCTGGCAACATGTAGTTATGTCTT 720
721 AGACGATCTTCATGGGG[AAAAA]AAATACCCCTTGAGTTAAAAAAAAAAAAAAA 775

```

Fig. 2 Sequence of the full-length of cDNA of *e(r)* gene

Start code (ATG) is at 63 bp. There are three terminal code (TAGTAGTGA) from 438 bp to 443 bp. And the darkened (AATAAA) is polyadenylation signal. The boxed is deduced amino acid sequence

2 结果

2.1 组织 RNA 完整性的检测

Trizol 试剂抽提组织中总 RNA,紫外分光光度法检测 $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ 大于 1.6,总 RNA 电泳后 28S rRNA、18S rRNA 荧光带清晰,荧光强度之比接近 2,提示 RNA 保持完整性而未发生降解。

2.2 *e(r)* 基因全长 cDNA 构建

通过 3'-RACE 及 5'-RACE 扩增分别克隆到 210 bp 和 590 bp 片段(见 Fig. 1)。将它们整合获得一长度为 775 bp 的 cDNA 序列。该序列中,63 bp 处的

| bp | 1 | 2 | 3 |
|------|---|---|---|
| 2000 | | | |
| 1000 | | | |
| 750 | | | |
| 500 | | | |
| 250 | | | |
| 100 | | | |

Fig. 1 Amplification of 3'-RACE & 5'-RACE

1: DNA marker; 2: Amplified fragment of 3'-RACE;
3: Amplified fragment of 5'-RACE

1 MSHTILLQPTDNLESRSWSDYEXTECLEGICR VYEYLKKVPAQNEITYDISHLFFPIDDLLKDLMSLVLDNTITYTYPHNKQYKESIYKLMLNNRLNNQH
 2 MSHTILLQPGARPETRTYADYESVNNECMEGVCKYEEHLKRNPNTPTITYDISQLFDFIDTMVDISCMVYQKSTNTYAPYNDWKEKIYVLLRQAAPSNT
 3 MSHTILLQPTKRPBEGRTYADYESVNNECMEGVCKMYEEHLKRNPNSPSITYDISQLFDFIDDLAIDLSCLVYRADTQTYQPYNKDWEKEKIYVLLRQAQQACK
 4 MSHTILLQPTKRPBEGRTYADYESVNNECMEGVCKMYEEHLKRNPNSPSITYDISQLFDFIDDLAIDLSCLVYRADTQTYQPYNKDWEKEKIYVLLRQAQQACK
 5 MSHTILLQPTKRPBEGRTYADYESVNNECMEGVCKMYEEHLKRNPNSPSITYDISQLFDFIDDLAIDLSCLVYRADTQTYQPYNKDWEKEKIYVLLRQAQQACKHSAGRPSKQANNGGTISTWGWRGAWTG

Fig. 3 Homolog analysis of *e(r)* gene

1: *Drosophila*; 2: Fruit fly; 3: Zebra; 4: Human; 5: Pigeon

The underlined is 18 amino acids in the C-terminal of pigeon when compared with other species

ATG是起始密码子,438bp 处有 3 个连续的终止密码子(TAGTAGTGA)。开放式读码框(ORF)从 63 ~ 437 bp 共长 375 bp. 5 端非翻译区长 62 bp, 3 端非翻译区长 326 bp. 739 bp ~ 743 bp 位置的 AATAAA 是 polyA 加尾信号。对该基因完整 cDNA 序列进行同源性比较,证实为 *e(r)* 基因(Fig. 2)

2.3 蛋白质的同源性分析及功能预测

在 NCBI 中进行检索,初步证实该基因为 *e(r)* 基因,其与人类及斑马鱼等脊椎动物 *e(r)* 基因的同源性非常高(同源性高达 87%),但 C 端有明显差异,且家鸽 *e(r)* 基因 C 端多出了 18 个氨基酸(Fig. 3)。其功能目前尚无相关报道。

2.4 重组质粒的鉴定

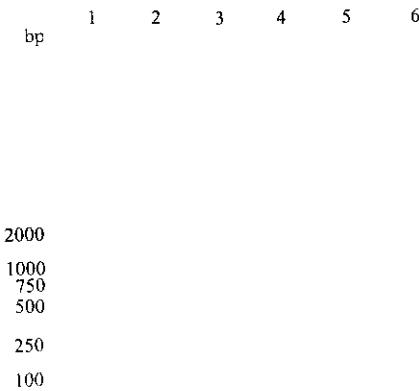


Fig. 4 Restriction digestion of reconstruct plasmid

1:DNA marker; 2:Digestion of reconstruct plasmid of 3'-RACE;
 3:Digestion of reconstruct plasmid of 5'-RACE; 4:Reconstruct
 plasmid of 3'-RACE; 5:Reconstruct plasmid of 5'-RACE;
 6:control

将 3'-RACE 和 5'-RACE 连接产物分别转化受体菌 DH5⁺,在筛选培养基上可见 60% 的白色菌斑,随机挑选 > 10 个白色菌斑进行质粒抽提,以未插入外源 DNA 的 pGEM-Teasy 载体为对照电泳,可见含插入目的片段的克隆占 80%,重组质粒经 EcoR I 酶切

后可见其被切出 200 bp 和 600 bp 左右的片段(Fig. 4)。

2.5 RNA 斑点杂交

RNA 斑点杂交结果(Fig. 5, Fig. 6)显示,*e(r)* 基因在实验模型鸽左前脑及左视盖中的表达量明显高于右前脑及右视盖,小脑中表达量较少,后脑中不表达;肝、肾组织中表达。而实验表明该基因在正常鸽左右前脑及左右视盖中的表达量无明显差异。

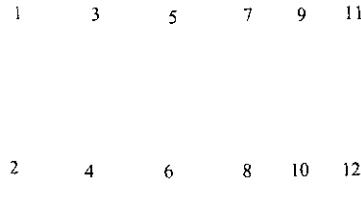


Fig. 5 RNA dot blotting in model pigeon

1: Right forebrain; 2: Left forebrain; 3: Right optic;
 4: Left optic; 5: Control; 6: Hindbrain; 7: Cerebellum;
 8: Heart; 9: Spleen; 10: Stomach; 11: Liver; 12: Kidney



Fig. 6 RNA dot blotting in normal pigeon

1: Left forebrain; 2: Right forebrain; 3: Left optic;
 4: Right optic; 5: Control; 6: Hindbrain; 7: Cerebellum;
 8: Heart; 9: Spleen; 10: Stomach; 11: Liver; 12: Kidney

2.6 RT-PCR 扩增结果

根据 *e(r)* 基因编码区的 5' 端及 3' 端序列设计引物,自鸽左右前脑、左右视盖、小脑等脑区及肝、肾等外周组织中均扩增出一条长度约 370 bp 的 DNA 片段。电泳分析结果表明,该基因在左前脑及左视盖中的表达量分别高于右前脑及右视盖,小脑中表达量相对较少,肝、肾等外周组织中也有较高的表达量,但左前脑中的表达量明显高于肝、肾等外周组织(Fig. 7, Fig. 8)。此实验结果与斑点杂交结果相一致。

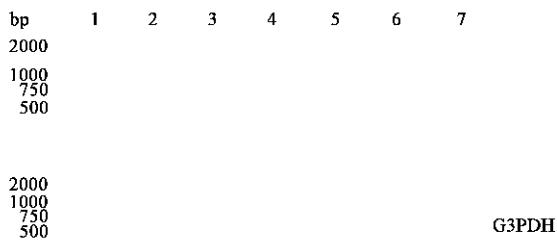


Fig. 7 Amplified fragment of RT-PCR in different tissues of the model pigeon

1:DNA marker ; 2:Liver ; 3:Stomach ; 4:Kidney ; 5:Spleen ;
6:Heart ; 7:Left forebrain

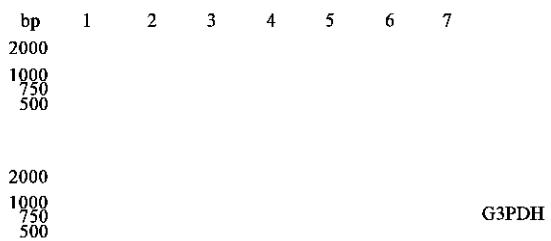


Fig. 8 Amplified fragment of RT-PCR in different areas of brain of the model pigeon

1:DNA marker ; 2:Right forebrain ; 3:Left forebrain ;
4:Right optic ; 5:Left optic ; 6:Cerebellum ; 7:Hindbrain

2.7 Northern 印迹分析

Northern 印迹分析结果显示该基因在前脑及肝、肾等组织中均含有一个与预期值相近的转录本(约 780 bp) (Fig. 9),且表达量较高,与 RT- PCR 结果及 RNA 斑点杂交结果相一致.

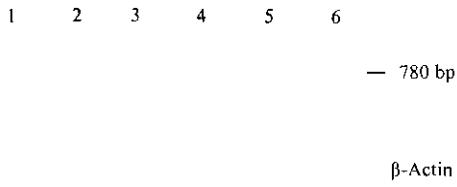


Fig. 9 Result of Northern blot in different tissues of the model pigeon

1:Left forebrain ; 2:Heart ; 3:Spleen ; 4:Liver ; 5:Stomach ;
6:Kidney

3 讨论

脑是人类长期进化的产物. 大脑结构的不对称性导致其功能的单侧化在人类及许多动物中均见报道,而关于单侧化特征的研究实际上在研究任何行为、脑结构、功能及神经化学方面的关系时具有重要

意义.

鸟类视觉系统高度发达. 研究证实鸟类的视盖传出系统及丘脑传出系统在组织学上均有不对称性特征^[3,4]. 研究发现, 在孵出当天摘除视网膜的成鸽中, 剥夺视网膜后对侧视区体积减少, 且视盖表面几层细胞结构发生变化; 而在出生后 9 d 行视网膜摘除术的成鸽中则无此变化^[5~7]. 且孵出当天行视网膜摘除术的成鸽, 其初级和次级视通路均有继发性的组织学改变^[8]. 研究认为鸟类视通路的不对称性及一些行为的不对称性与环境刺激有关^[9].

本实验克隆的这一全长基因, 经同源性比较为 *e(r)* 基因. 同源性比较显示, 在果蝇中存在两种与果蝇发育密切相关的基因: modifier of rudimentary, *mod(r)* 和 enhancer of rudimentary, *e(r)*, 其中 *mod(r)* 基因是 *rudimentary* 表达所必需的, 缺乏该基因的果蝇翅膀退化, 表现为相同发育期其翅膀较正常果蝇的翅膀短小; *e(r)* 基因的功能至今尚不清楚^[10]. 在哺乳动物中, *e(r)* 基因被称为 CAD 基因, 其表达与细胞周期密切相关, G1 期晚期为其表达高峰, 且在生长的肝脏或再生的肝脏中, 该基因表达增高^[11]. 对不同物种 *e(r)* 基因进行同源性比较发现, 该基因是高度保守的. 鸽 *e(r)* 基因与人类及斑马鱼等脊椎动物中该基因的同源性较高, 但 C 端有 11 个氨基酸不同, 且家鸽 *e(r)* 基因多出了 18 个氨基酸. 这一段冗余片段即不见于其它脊椎动物, 也不见于低等动物或植物. 结构的差异必然代表了其功能的独特变化, 这种变化也许是鸟类所特有的. 这种变化是鸟类的普遍特征, 还是只见于鸽, 仍需我们作进一步研究. 目前, 我们除克隆的家鸽 *e(r)* 基因外, 还没有其它鸟类的序列信息, 因此我们预计通过蛋白质水平对鸟类基因进行研究, 以明确其它鸟类是否具有家鸽相似的特征. 也许鸟类其它物种基因均与家鸽相似, 这对揭示 *e(r)* 基因在鸟类发育过程中的作用具有特别重要的意义. 但我们也不能排除鸟类其它物种 *e(r)* 基因与家鸽不同, 而与其它脊椎动物更为相似的可能性, 抑或这种特征仅见于鸟类的部分物种. 因此我们希望进行更为细致的研究工作, 从而为基因功能的研究提供线索.

斑点杂交结果表明, *e(r)* 基因在正常鸽左右前脑及左右视盖中的表达量无明显差异, 而在实验模型鸽左前脑及左视盖中的表达量明显高于右前脑及右视盖, 显示该基因的组织表达特异性. RT-PCR 及 Northern 结果进一步证实, 该基因确为差异表达基因. 实验显示, 实验模型鸽因左眼被剥夺而致左眼接

受的光刺激自胚胎期始终较右眼少,导致脑中相关基因的表达而受到一定的影响,表现为左脑中相关基因的表达出现代偿性的增高,初步提示外界环境刺激的确从一定程度影响着该基因的表达。但这能否构成从分子生物学的角度初步解释孵出当天剥夺视网膜的成鸽对侧视区体积减少及其视盖表面几层细胞结构发生改变等一系列生理变化发生的原因,我们仍需做进一步的工作来证实。

参考文献 (References)

- 1 Xu Lei , Xu Lei , Li Xue-li , Wang Yao. Different expression of genes in the pigeon forebrain after monocular deprivation. *Acta Physiol Sin* , 2001 ,**53**(2) :155 ~ 157
- 2 Sambrook J , Russell D W. *Molecular Cloning* ,3rd ed. New York :Cold Spring Harbor Laboratory Press ,2001
- 3 Rogers L J. Behavioral , structural and neurochemical asymmetries in the avian brain: a model system for studying visual development and processing. *Neurosci Biobehav Res* , 1996 , **20**(3) : 487 ~ 503
- 4 Gunturkun O. Morphological asymmetries of the tectum opticum in the pigeon. *Exp Brain Res* , 1997 , **116**: 561 ~ 566
- 5 Johnston A N B , Bourne R C , Stewart M G , Rogers L J , Stewart S P R. Exposure to light prior to hatching induces asymmetry of receptor binding in specific regions of the chick forebrain. *Developm Brain Res* , 1997 , **103**: 83 ~ 90
- 6 Rogers L J , Deng C. Light experience and lateralization of the two visual pathways in the chick. *Behav Brain Res* , 1999 , **98**(2) : 277 ~ 87
- 7 Gunturkun D. Morphological asymmetries of the optic tectum in the pigeon. *Exp Brain Res* , 1997 , **116**(5) : 561 ~ 566
- 8 Bagnoli P , Casini G , Fontanesi G , Sebastiani L. Reorganization of visual pathways following posthatching removal of one retina in pigeons. *J Comp Neurol* , 1989 ,**288**(3) :512 ~ 527
- 9 Bischof H J ,Watanabe S. On the structure and function of the tectofugal visual pathway in laterally eyed birds. *Eur J Morphol* , 1997 , **35**(4) : 246 ~ 254
- 10 Mark G , Malini P , Carroll M , Khoi D V , Stuart I T. The putative cycle gene , enhancer of rudimentary , encodes a highly conserved protein found in plants and animals. *Gene* , 1997 , **186**(1) : 189 ~ 195
- 11 Edward W , Anne M M , Hanna F , Khoi D V , Stuart I T. Enhancer of rudimentary1 , e(r)p1 ,a highly conserved enhancer of the rudimentary gene. *Genetics* , 1994 , **138**(6) : 1163 ~ 1170

重庆玛根医药有限公司诚招蛋白质 Marker 代理商 , 欢 迎 购 买

本公司自行研制了低范围(4.1 ~ 66 kD)和中范围(14.4 ~ 66 kD)蛋白质 Marker

1. 质量稳定,带型清晰均一
2. 价格优惠
3. 可按客户要求提供不同包装

欢迎索取相关资料

联系人:李小姐

电话/传真:023-68603657

欢迎登录我们的网址:<http://raigroup.cc333.com>

E-mail:cqmgmagen@hotmail.com

邮编:400041

地址:重庆高新区科园四街 70 号生化园五楼 重庆玛根医药有限公司