

# 民猪 Y-box 结合蛋白基因的克隆、表达以及冷刺激对其表达方式的影响

张冬杰<sup>1</sup>, 刘 娣<sup>1,2\*</sup>, 汪 亮<sup>1</sup>, 张 旭<sup>2</sup>, 别 墅<sup>2</sup>, 孙洪涛<sup>2</sup>, 杨国伟<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院, 哈尔滨 150086; 2. 东北农业大学动物科技学院, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 为了探讨 Y-box 结合蛋白(YB1)是否参与哺乳动物的冷适应反应, 本研究采用 RT-PCR 和 Real-time PCR 的方法克隆测序了民猪 YB1 基因的序列, 检测了该基因在大肠、腿肌、肺脏、脂肪、心脏、脾脏和肝脏组织的表达情况, 比较了该基因在冷刺激 13 d 后常温组((10±2)℃)和冷刺激组((-20±3)℃)个体的骨骼肌组织内的表达变化。结果表明, 民猪的 YB1 基因完整的 CDS 区长 975 bp, 编码 325 个氨基酸, 具有 1 个高度保守的冷休克域, 存在多个磷酸化位点, 不包含任何跨膜区域, 是一种存在于细胞质中的蛋白质。组织表达谱表明 YB1 基因在所检测的 7 种组织内均高水平表达。该基因在被冷刺激 13 d 后, 在腿肌内的表达水平出现显著下降( $P < 0.05$ )。冷刺激造成了 YB1 基因转录发生了变化。

**关键词:** 民猪; Y-box 结合蛋白; 表达; 冷刺激

中图分类号: S828; S813.3

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2011)09-1207-06

## Cloning, Expression and Cold-stimulation Expression of Y-box Binding Protein Gene in Min Pig

ZHANG Dong-jie<sup>1</sup>, LIU Di<sup>1,2\*</sup>, WANG Liang<sup>1</sup>, ZHANG Xu<sup>2</sup>, BIE Shu<sup>2</sup>,  
SUN Hong-tao<sup>2</sup>, YANG Guo-wei<sup>1</sup>

(1. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 2. College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to study whether Y-box binding protein participate the cold-adaptive response of mammalian. The RT-PCR and Real-time PCR methods were used to clone and sequence the YB1 gene of Min pig. The expression level of YB1 in large intestine, leg muscle, lung, fat, heart, spleen and liver was detected. The expression change between ordinary temperature group ((10±2)℃) and low temperature group ((-20±3)℃) after thirteen days cold-stimulation in skeletal muscle was compared. The results showed that the complete CDS of Min pig YB1 was 975 bp, encoding 325 amino acids, having a highly conserved cold shock domain, existing some phosphorylation sites, which didn't contain any transmembrane domain, and was a protein found in the cytoplasm. Tissue expression pattern showed that the YB1 gene was highly expressed in tissues detected. The expression level of YB1 in leg muscle was decreased significantly after thirteen days cold-stimulation ( $P < 0.05$ ). The biology role of YB1 during cold-adaptation could not be determined, but the cold-stimulation really caused changes in the YB1 gene transcription.

**Key words:** Min pig; Y-box binding protein; expression; cold-stimulation

Y-box 结合蛋白-1(YB1)属于 Y-box 结合蛋白家族成员之一,最初是在 HLA-DRB 的增强子序列中被鉴定出来的<sup>[1-2]</sup>。2003 年,加拿大的 Evdokimova 实验室和日本的 Kohno 实验室分别证实了 YB1 蛋白是一种较为普遍而有效的 mRNA 稳定者,它结合在 mRNA 帽子结构上,防止 mRNA 的降解,间接的参与翻译调控<sup>[3-4]</sup>。所以,虽然该蛋白不是冷诱导产生的,但是它在生物体处于逆境时能对其做出应答,作为分子伴侣阻止 mRNA 错误折叠,保证细胞在低温时能正常翻译。

1936 年加拿大学者 Selye 首次提出了应激学说,并通过一系列的动物试验证实,给各种动物以各种不同的刺激,均可使机体产生非特异性应答反应。寒冷应激作为应激中的一种,其应激源就是持续低温。目前,我国对禽类、鼠、猪的冷应激研究均有报道<sup>[5-9]</sup>。低温能够显著改变猪的体组织组成、代谢和生产性能,有别于适温区和热应激<sup>[10]</sup>。民猪是我国北方尤其是黑龙江省的一个特有的抗寒品种,在低温耐受方面有着显著不同于其他地方猪种和国外引进猪种的生理特点<sup>[11]</sup>。因此,本研究克隆和测序了民猪的 YB1 基因,研究和分析了它在不同组织的表达水平以及冷诱导后在骨骼肌内的表达变化情况。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

75 日龄民猪 3 窝共计 12 头,将每窝个体随机分成 2 组即常温组和低温组,每组各 6 头,购自黑龙江省农业科学院畜牧研究所。2009 年 12 月 25 日到 2010 年 1 月 6 日期间,将常温组置于正常舍内饲养,温度控制在 $(10 \pm 2)^\circ\text{C}$ ,低温组在舍外半敞式大棚内饲养,温度为 $(-20 \pm 3)^\circ\text{C}$ ,2 组均饲喂相同的饲料。处理结束后,屠宰,取大肠、腿肌、肺脏、脂肪、心脏、脾脏和肝脏各 10 g 左右,液氮带回实验室,  $-80^\circ\text{C}$  冰箱冻存。

感受态细胞购自北京原平皓生物技术有限公司,rTaq 酶、限制性内切酶 BamH I 和 Hind III、T 载体、TaKaRa RNA PCR Kit(AMV) Ver3.0 均为 TaKaRa 公司产品,胶回收试剂盒和质粒提取试剂盒均购自天根生化科技有限公司,SYBR Green PCR Master Mix 购自美国 ABI 公司,Trizol 购自 Invitrogen 公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 民猪 YB1 基因的克隆 根据 GenBank 上已公布的猪 YB1 基因序列(AK239202)设计引物,引物序列:YBF: 5'-ATGAGCAGCGAGGC-CGAG-3', YBR: 5'-TTACTCAGCCCCGCCCTG-3'; 选择  $\beta actin$ (AK240355)基因为内参基因,引物序列:F:5'-CGGGACCTGACCGACTACCT-3',R:5'-GGGC-CGTGA TCTCCTTCTG-3'。PCR 反应程序:95  $^\circ\text{C}$  5 min;30 个循环:95  $^\circ\text{C}$  30 s,58  $^\circ\text{C}$  30 s,72  $^\circ\text{C}$  1 min;72  $^\circ\text{C}$  10 min;4  $^\circ\text{C}$  30 min。反应结束后进行 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测,使用胶回收试剂盒回收目的片段,连入 T 载体后,转化入大肠杆菌,过夜培养后,摇菌提质粒,送交北京华大生物公司测序。

1.2.2 生物信息学分析 用 DNAMAN6.0、DNASTar7.0 和 ClustalX 软件对不同物种的 YB1 基因序列进行同源性比对,分析不同物种之间的序列差异;利用蛋白质功能位点数据库 PROSITE 对蛋白的结构域进行预测;用 ProtParam tool 软件进行氨基酸组成、等电点分析;用 Tmpred 对蛋白质进行跨膜区分析;利用 NetPhos 2.0 Server 和 NetPhosK 1.0 Server 软件对蛋白质进行磷酸化位点的预测。

1.2.3 组织表达谱分析 为了进一步了解 YB1 基因在民猪各组织中的表达情况,揭示其基因表达调控机制,分别提取常温处理组中 3 头个体的大肠、腿肌、肺脏、脂肪、心脏、脾脏和肝脏组织的总 RNA,以  $\beta actin$ (AK240355)为内参基因,应用 RT-PCR 技术对 YB1 基因的表达进行分析。引物序列:YF:5'-TAACCATTTATAGACGCTATCCA-3', YR: 5'-CAG-CACCCTCCATCACTT-3',选择  $\beta actin$ (AK240355)基因为内参基因,引物序列:F:5'-CGGGACCTGAC-CGACTACCT-3', R: 5'-GGGCCGTGA TCTCCT-TCTG-3'。PCR 反应程序:95  $^\circ\text{C}$  5 min;30 个循环:95  $^\circ\text{C}$  30 s,60  $^\circ\text{C}$  30 s,72  $^\circ\text{C}$  30 s;72  $^\circ\text{C}$  10 min;4  $^\circ\text{C}$  30 min。反应结束后进行 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.4 冷诱导后 YB1 基因的表达变化 将常温组 6 头和低温组 6 头个体的腿肌的 cDNA 分别混合,获得 2 个 cDNA 池,分别记为常温民猪组和低温民猪组。分别以这 2 个 cDNA 池为模板,使用 YF、YR 和 F、R 这 2 对引物采用二步法,使用美国生产的 Mx 3000P 扩增仪进行扩增,荧光染料使用美国 ABI 公司生产的 SYBR Green PCR Master Mix。

反应体系为:上、下游引物各 0.8  $\mu\text{L}$ , Mix 10  $\mu\text{L}$ , 模板 0.8  $\mu\text{L}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  7.6  $\mu\text{L}$ , 共计 20  $\mu\text{L}$ 。反应程序如下:95  $^\circ\text{C}$  10 min;40 个循环:95  $^\circ\text{C}$  30 s,60  $^\circ\text{C}$  1 min。Real-time PCR 反应结束后,获得每个样本的 Ct 值,使用如下的换算公式进行目的基因最终的相对定量结果: $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ ,其中  $\Delta\Delta\text{Ct} = \text{Ct}_{\text{目的基因}} - \text{Ct}_{\text{管家基因}} - (\text{Ct}_{\text{目的基因}} - \text{Ct}_{\text{管家基因}})_{\text{对照组}}$ 。

1.2.5 结果统计分析 试验数据使用 SPSS V13.0 进行  $t$  检验。

## 2 结果

### 2.1 民猪 YB1 基因序列分析

克隆和测序结果获得了民猪 YB1 基因 975 bp 完整的 CDS 编码区序列,共编码 325 个氨基酸。

			10	20	30	40	50	60																										
YB1氨基酸序列	YB1	61	GT	VK	WF	NV	RNGY	FF	TR	NI	TK	ED	VF	VH	QT	AL	KK	NN	pr	ky	LR	S	MG	DE	TVE	FD	VM	EG	EG	KA	IA	AN	MTG	127
冷应激域氨基酸序列	Cold-shock domain	3	GT	VK	WF	DD	ER	GF	FF	TT	PL	GG	ED	VF	VH	IS	AL	EG	DG	---	FR	SL	EE	GD	RV	FE	FE	EG	EG	KA	IA	AN	MRL	65

方框内标注的序列为两者完全一致的序列

Marked box sequences are completely identical sequences for both

图 1 YB1 蛋白的保守区域

Fig. 1 The conservative domains of YB1 protein

利用蛋白质功能位点数据库 PROSITE(<http://us.expasy.org/prosite/>)对民猪 YB1 编码的氨基酸进行结构功能域分析,发现 1 个位于 72~91 位氨基酸之间的冷应激域标记(Cold-shock domain signature)。NetPhos 2.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>)预测 YB1 蛋白的磷酸化位点结果如下:7 个丝氨酸磷酸化位点位于氨基酸残基 21、36、102、167、174、176 和 314 位,4 个苏氨酸磷酸化位点位于氨基酸残基 25、30、62 和 80 位,3 个酪氨酸磷酸化位点位于氨基酸残基 162、197 和 208 位(图 2)。NetPhosK 1.0 Server 预测特异蛋白激酶的磷酸化位点,临界值设为 0.6,共发现 5 个磷酸化位点(图 3)。

### 2.2 民猪的 YB1 基因序列与其他物种的比较

将民猪的 YB1 基因序列作为源序列,使用 NCBI 的 Blast n 比对后,共获得 13 个物种的 YB1 基因序列,序列信息及比对结果见表 1。

### 2.3 组织表达谱分析结果

每种组织经过 3 次重复试验,结果表明 YB1 基

编码区中包含起始密码子 ATG 和终止密码子 TAA。利用 ProtParam 软件对编码氨基酸进行分析,预测 YB1 蛋白的相对分子质量为 35 891.15 u,理论上等电点为 9.93。用 NCBI 的 Conserved Domains 程序 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)预测蛋白的保守区(图 1),表明该基因具有 1 个高度保守的冷休克域(位于第 61~127 位氨基酸之间)。同时使用 TMPred([http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED\\_form.html](http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html))和 TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)在线软件分析,发现 YB1 蛋白不包含任何跨膜区域,是一种存在于细胞质中的蛋白质。

因在民猪的 7 个组织中均有表达,而且不同组织间表达量基本一致(图 4)。

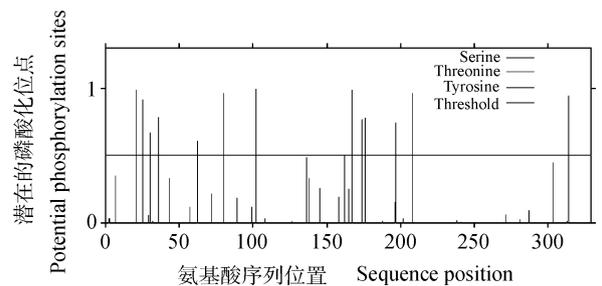
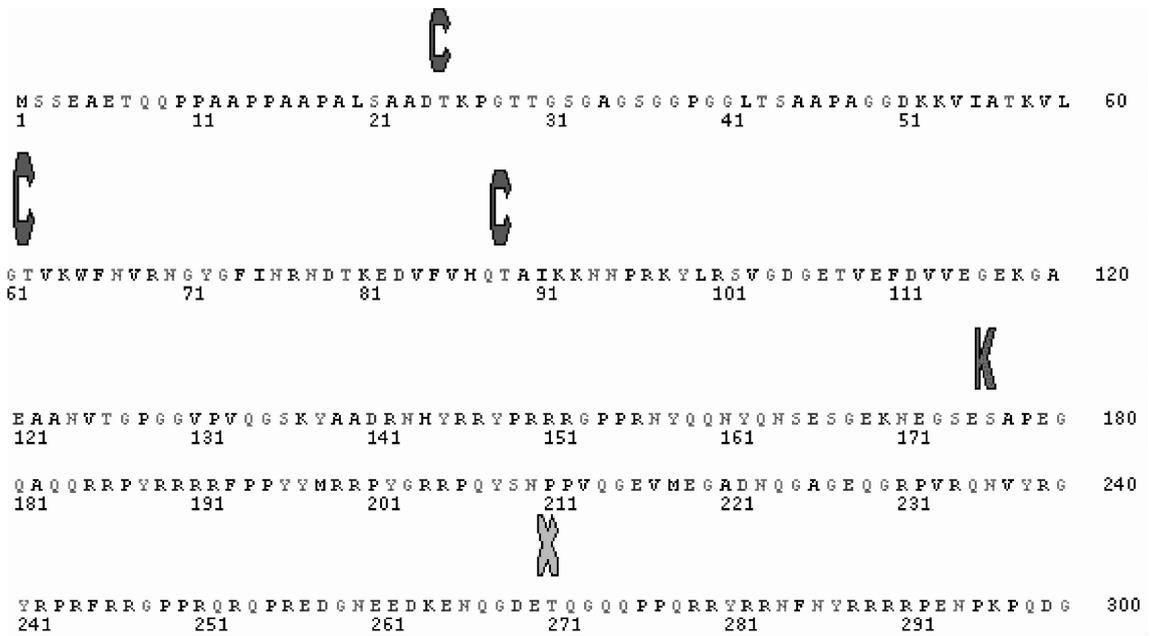


图 2 NetPhos 2.0 Server 软件分析 YB1 蛋白的磷酸化位点

Fig. 2 Prediction of phosphorylation sites of YB1 protein by NetPhos 2.0 Server program

### 2.4 冷诱导后 YB1 基因在腿肌中的表达变化

将常温组民猪的 YB1 基因 mRNA 表达量设定为 1,以相对表达水平的差异倍数为纵坐标,测得 3 个重复的 YB1 基因 mRNA 动态表达水平,见图 5。t-test 结果显示民猪腿肌的 YB1 基因的 mRNA 水平经冷诱导后出现了显著下降( $P < 0.05$ )。



C. 蛋白激酶 C; K. 肌酸激酶 II; X. DNA 依赖蛋白激酶

C. PKC; K. CK II; X. DNAPK

图 3 NetPhosK 1.0 Server 软件分析 YB1 蛋白的特异性蛋白激酶磷酸化位点

Fig. 3 Prediction of kinase specific phosphorylation sites of YB1 protein by NetPhos 1.0 Server program

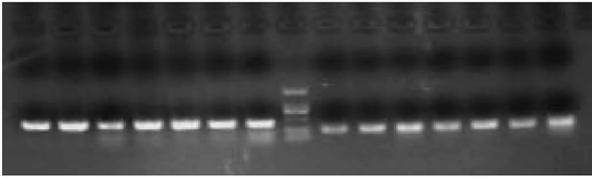
表 1 YB1 基因序列与其他 13 个物种的比对结果

Table 1 The results of YB1 gene sequences compared with 13 other species

物种 Species	GenBank	完整 CDS 区长度/bp Complete CDS length	染色体位置 Chromosomal location	同源性/% Homology	
				核苷酸 Nucleotide	氨基酸 Amino acid
家蚕 Domestic silkworm	AB098537	780	-	35.25	27.95
挪威鼠 Norway rat	NM_031563	969	5q36	94.60	97.84
非洲爪蟾 African clawed frog	NM_001097771	969	-	94.70	98.15
牛 Cattle	NM-174815	975	3	97.66	99.69
家豚鼠 Domestic guinea pig	NM_001173041975	975	-	96.74	99.07
狗 Dog	XM_843567	1 347	15	69.51	55.36
马 Horse	XR_036123	1 155	15	78.67	79.69
家鼠 House mouse	MMU33197	969	4	94.50	97.53
人 Human	NM_004559	975	1p34	96.95	99.69
兔 Rabbit	NM_001082785	975	13	96.33	98.46
恒河猴 Rhesus monkey	XM_001088540	1 536	1	61.37	49.12
绒猴 White-tufted-ear marmoset	XM_002750695	972	7	95.93	98.46
黑猩猩 Chimpanzee	XM_001138838	975	1	96.33	98.46
苏门答腊猩猩 Sumatran orangutan	XM_002810960	1 641	1	57.28	58.79
猪 Pig	AK_239202	975	-	-	-

“-”表示未知 “-” Means unknown

1a 2a 3a 4a 5a 6a 7a M 1b 2b 3b 4b 5b 6b 7b

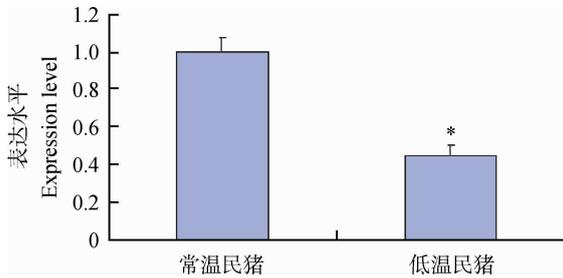


a.  $\beta$ actin 的扩增产物; b. YB1 的扩增产物; 1. 大肠; 2. 肌肉; 3. 肺脏; 4. 脂肪; 5. 心脏; 6. 脾脏; 7. 肝脏。M. DNA 相对分子质量标准 DL2000

a. PCR products of  $\beta$ actin; b. PCR products of YB1; 1. Large intestine; 2. Muscle; 3. Lung; 4. Fat; 5. Heart; 6. Spleen; 7. Liver; M. DL2000 marker

图 4 YB1 基因 7 个组织的 RT-PCR 结果

Fig. 4 RT-PCR results of YB1 gene expression in seven tissues



\*.  $P < 0.05$

图 5 冷诱导后 YB1 基因在腿肌中的表达变化

Fig. 5 The expression of YB1 after cold induced in leg muscle

### 3 讨论

Y-box 结合蛋白 (Y-box binding protein 1) 也称作 YBX1, 但是通常会被研究者简称为“YB1”。有人说它属于冷结构域超家族<sup>[12]</sup>, 也有人说它属于 Y-box 蛋白家族<sup>[13]</sup>。这是因为它既含有一个高度保守的冷休克结构域, 同时还可结合含 Y-box 的启动子。该基因在进化上高度保守, 既参与转录水平的调控, 又参与翻译水平的调控, 还可能与细胞内许多重要事件, 如 RNAs 的转运和细胞内定位等相关<sup>[14]</sup>。目前关于该基因的研究主要集中于它在癌症方面的生物学作用以及与 RBBP6、PCNA 和 ANKRD2 等的相互作用上<sup>[15-18]</sup>。作为分子伴侣, 它可使体内的大分子在低温条件下保持活性状态, 从而帮助细胞经受住低温的考验<sup>[19]</sup>。

本研究克隆测序了民猪的 YB1 基因, 经生物信息学分析后发现, 民猪的 YB1 具有一个保守的 CSD 区域, 而且在该区域内不含有任何已知的 DNA 结

合结构域; 具有多个磷酸化位点, 可见翻译后的加工过程较为复杂, 这也与它本身具有多种生物学功能有关。经序列比对后发现, 猪的 YB1 基因序列与牛和人的相似度最高, 而与狗、恒河猴和苏门答腊猩猩的相似度较低。系统发育分析表明, YB1 基因的进化和物种进化的拓扑结构是不一致的 (图 4)。有研究称, 基因复制与选择性剪接事件可能是脊椎动物 YB1 基因家族进化的重要机制<sup>[20]</sup>。从本研究结果来看, YB1 基因在不同脊椎动物的进化速率是不同的, 这很可能与它们各自需要适应的环境不同有关。

以人的 YB1 基因为源基因, 通过对 NCBI 数据库中 UniGene 数据库的检索, 发现已知的人的 45 种组织内, 只有甲状旁腺不表达 YB1 基因, 其余组织均高水平表达 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/UniGene/ESTProfileViewer.cgi?uglist=Hs.473583>), 但是在小鼠已知的 47 种组织内, 有膀胱、输卵管、脂肪等 14 种组织不表达 YB1 基因 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/UniGene/ESTProfileViewer.cgi?uglist=Mm.258204>)。本研究中所检测的民猪的 7 种组织中, 均表达该基因。可见, YB1 基因的核苷酸序列虽然高度保守, 但是在表达调控上还是具有非常明显的种属间特异性的。

在植物和细菌上该蛋白主要是在低温下作为分子伴侣<sup>[21]</sup>或是对低温环境<sup>[22]</sup>作出应答; 在无脊椎动物中主要是作为转录调节因子或是促进细胞增殖等<sup>[23-24]</sup>; 在脊椎动物中, 对该基因的功能研究还不透彻, 但从人上已有的研究结果来看, 该基因的功能非常强大<sup>[2]</sup>, 但目前还未看到该基因在猪上的研究报告。但有一点可以肯定的是, 脊椎动物的 YB1 并不像细菌中的 CspA 那样只在冷刺激下才会大量表达<sup>[25]</sup>, 而是在正常情况下即可高水平表达, 这是因为在脊椎动物中它要参与多种的转录与翻译调节。本研究中, 民猪在被冷诱导 13 d 后, 骨骼肌内 YB1 基因的 mRNA 水平并没有像预想的那样出现显著的增高, 而是出现显著下降。推测产生这种结果的原因一方面可能是因为当民猪处于冷应激状态时, YB1 所参与的转录、翻译调控反应受到抑制, 进而自身的转录水平出现下降; 另一方面也可能是因为脊椎动物的 YB1 基因以一种不同于原核生物的作用方式参与冷应激反应。具体的作用机理还需要进一步的研究分析。

### 4 结论

本研究成功克隆了猪 Y-box 结合蛋白基因的

全长 CDS 序列,发现猪 Y-box 结合蛋白基因与已知的其他物种的 YB1 基因一样,也具有一个高度保守的冷休克结构域,并且存在多个磷酸化位点,在多个组织中广泛表达。冷刺激可造成该基因在骨骼肌中的表达水平显著下降。

### 参考文献:

- [1] DIDIER D K, SCHIFFENBAUER J, WOULFE S L, et al. Characterization of the cDNA encoding a protein binding to the major histocompatibility complex class II Y box [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85(19): 7322-7326.
- [2] 张玮玮, 黄惠芳, 李庆伟, 等. Y-box 结合蛋白功能及对肿瘤发生的影响 [J]. *遗传*, 2006, 28(9): 1153-1160.
- [3] EVDOKIMOVA V, RUZANOV P, IMATAKA H, et al. The major mRNA-associated protein YB-1 is a potent 5' cap-dependent mRNA stabilizer [J]. *Embo J*, 2001, 20: 5491-5502.
- [4] KOHNO K, IZUMI H, UCHIUMI T, et al. The pleiotropic functions of the Y-box-binding protein, YB-1 [J]. *Bioessays*, 2003, 25(7): 691-698.
- [5] 袁施彬, 何平. 家禽冷应激及其营养调控研究进展 [J]. *中国畜禽种业*, 2008, (8): 55-58.
- [6] 屠云洁, 陈国宏, 耿照玉, 等. 雏鹅冷应激反应中 HPT 轴 HSP70mRNA 的动态表达规律 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43(7): 1473-1479.
- [7] 周瑞进, 郭景茹, 宿甲子, 等. 急性冷暴露对仔猪 PB-MC 中 HSP70 和血浆抗炎性细胞因子 IL-4、IL-10 的影响 [J]. *中国兽医学报*, 2010, 30(5): 677-680.
- [8] 蒋星红, 郭试瑜, 许爽, 等. 冷应激诱导的脾脏 NK 细胞活性下降和脑内 c-fos 表达 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2002, 18(4): 313-316.
- [9] 屠云洁, 耿照玉, 苏一军, 等. 冷应激对皖西白鹅血相常规指标变化的影响 [J]. *家畜生态学报*, 2009, 30(6): 66-68.
- [10] 乔岩瑞. 冷应激对猪生产性能的影响 [J]. *养猪*, 2004, (6): 25-27.
- [11] 周传臣, 张玉芝, 高健. 东北民猪的优良特性 [J]. *养殖技术顾问*, 2005, (2): 10.
- [12] KHANDELWAL P, PADALA M K, COX J, et al. The N-terminal domain of y-box binding protein-1 induces cell cycle arrest in g2/m phase by binding to cyclin d1 [J]. *Int J Cell Biol*, 2009, Article ID 243532, 11 pages, doi:10.1155/2009/243532.
- [13] CATHELIJNE P A M K, CHRISTIAN A E M S, EDWIN L, et al. The solution structure and DNA-binding properties of the cold-shock Domain of the human Y-box protein YB-1 [J]. *J Mol Biol*, 2002, 316: 317-326.
- [14] 杨光, 李晓璐, 盛清, 等. 家蚕 Y-Box 蛋白的克隆表达以及功能分析 [J]. *中国科技论文在线* (<http://www.paper.edu.cn>): 1-13.
- [15] 王国荣, 车向明, 吴开杰, 等. Y-box 结合蛋白-1 在胃癌组织中的表达及意义 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2010, 31(4): 487-489.
- [16] CHIBI M, MEYER M, SKEPU A, et al. RBBP6 interacts with multifunctional protein YB-1 through its RING finger domain, leading to ubiquitination and proteosomal degradation of YB-1 [J]. *J Mol Biol*, 2008, 384(4): 908-916.
- [17] TOMOKO I, GUNJI N, TOSHIHIRO I, et al. Transcription factor Y-box binding protein 1 binds preferentially to cisplatin-modified DNA and interacts with proliferating cell nuclear antigen [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(2): 342-346.
- [18] KOJIC S, MEDEOT E, GUCCIONE E, et al. The Ankrd2 protein, a link between the sarcomere and the nucleus in skeletal muscle [J]. *J Mol Biol*, 2004, 339(2): 313-325.
- [19] 郭建军, 龚兴国. 冷激蛋白的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理学进展*, 2002, 29(5): 691-695.
- [20] 金萍, 张玮玮, 黄惠芳, 等. 日本七鳃鳗 (*Lampetra japonica*) Lyb 基因的克隆与分析 [J]. *遗传*, 2008, 30(12): 1597-1602.
- [21] ULUSU N N, TEZCAN E F. Cold shock proteins [J]. *Tr J Med Sci*, 2001, 31: 283-290.
- [22] KARLSON D, NAKAMINAMI K, TOYOMASU T. A cold-regulated Nucleic acid-binding protein of winter wheat shares a domain with bacterial cold shock proteins [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(38): 35248-35256.
- [23] SALVETTI A, LENA A, ROSSI L, et al. Characterization of DeY1, a novel Y-box gene specifically expressed in differentiating male germ cells of planarians [J]. *Gene Expr Patterns*, 2002, 2(3-4): 195-200.
- [24] SKEHEL P A, BARTSCH D. Characterization of a Y-Box factor from *Aplysia californica* [J]. *Gene*, 1994, 145(2): 231-235.
- [25] 王振雄, 周培瑾. 冷激蛋白 CspA 家族 [J]. *生物工程学报*, 1999, 15(2): 131-134.