文章编号:1000-5404(2010)15-1617-04

论著

大熊猫核糖体蛋白 L10 亚基基因的 cDNA 克隆及序列分析

苏秀兰,侯怡铃,李 俊,孙 冰,吴光富,宋 嫣,张 田,侯万儒 (637002 四川 南充,西华师范大学生命科学学院)

【摘要】 目的 了解大熊猫(*ailuropoda melanoleuca*)核糖体蛋白 L10 亚基基因(*RPL10*)的结构特点及其与已报道的人和其他哺乳动物核糖体蛋白亚基 *RPL10* 基因的异同。方法 根据已报道的部分哺乳动物 *RPL10* 基因的相关信息设计引物,运用 RT-PCR 技术,从大熊猫的肌肉组织总 RNA 中对核糖体蛋白亚基 *RPL10* 基因的进行克隆、测序;采用 Genescan 软件,对所克隆的基因序列进行氨基酸序列推定;采用 ORF finder 软件进行 DNA 序列的开放阅读框查找;采用 DNAMAN Version 6 软件,对基因序列和氨基酸序列进行同源性比较;采用 Ex2PASy Proteomics Server 软件,进行蛋白质功能位点和生化特性预测分析;采用 http://www.imtech.res.in/raghava/apssp2/对蛋白质二级结构进行模拟分析。结果 大熊猫 *RPL10* 基因的表达序列长为 685 bp,开放阅读框(ORF)为 645 bp,编码 214 个氨基酸的蛋白质,该蛋白的相对分子质量为 $24.599\ 7\times10^3$,等电点为 10.74,含有 4 个功能位点,分别为 2 个蛋白激酶 C 磷酸化位点,2 个 N 化位点,2 个酰胺化位点,1 个核糖体蛋白 L10e 信号位点。进一步分析发现,该基因的表达序列及其编码的氨基酸序列与已报道的人、牛、家犬、褐家鼠、小家鼠有很高的相似性,其表达序列同源性分别为 92.4%、92.4%、97.21%、88.84% 与 89.61%;其编码的氨基酸序列除与牛的同源性为 99.07% 外,与其他哺乳动物同源性为 100%。而且,其蛋白质的高级结构除牛外其他物种也具有一致性。结论 无论是从 *RPL10* 基因的序列、结构、功能位点,还是从其编码的氨基酸的序列和二级结构进行分析,都表明大熊猫的 *RPL10* 基因和已报道的哺乳动物的 *RPL10* 基因具有高度的遗传稳定性和功能一致性。

【关键词】 大熊猫;RT-PCR;*RPL10*;克隆;序列分析
【中图法分类号】 Q343.35;Q75 【文献标志码】 A

cDNA cloning and sequence analysis of ribosomal protein L10 gene in giant panda

Su Xiulan, Hou Yiling, Li Jun, Sun Bing, Wu Guangfu, Song Yan, Zhang Tian, Hou Wanru (College of Life Science, China West Normal University, Nanchong, Sichuan Province, 637002, China)

【**Abstract**】 **Objective** To study the structure of ribosomal protein L10 (*RPL10*) gene in giant panda (*ailuropoda melanoleuca*) and its similarities and difference with the structures of other reported human and mammalian *RPL10* genes. **Methods** Primers were designed according to the reported data on the structure of mammalian subunit *RPL10* gene. *RPL10* gene was cloned from the total RNA in muscle tissue of giant panda using RT-PCR technique and then sequenced with the GenScan software. The sequences of amino acid and cloned gene were compared using DNAMAN Version 6. The functional sites and biochemical properties of *RPL10* were analyzed using the Ex2PASy Proteomics Server. The secondary structure of *RPL10* was simulated and analyzed as described at the Website (http://www.imtech.res.in/raghava/apssp2). **Results** The length of *RPL10* gene in giant panda was 685 bp containing an ORF of 645 bp, encoding 214 amino acids. The relative molecular weight of *RPL10* was $24.599\ 7\times10^3$ with a PI of 10.74, 4 functional sites (2 protein kinase C phosphorylation sites, 2 N-myristoylation sites, 2 amidation sites, and 1 RPL10e signature site). Further analysis showed that the expression rate of homologous sequences in *RPL10* of humans, cattle, dogs, brown rabbits and small rabbits was 92.4%, 92.4%, 97.21%, 88.84% and 89.61%, respectively, which were highly homologous to those (100% and 99.07%) in cattle and other mammals. Moreover, the structure of *RPL10* was also similar in all species but not in cattle. **Conclusion** The sequence, structure, and functional site of *RPL10* gene or it- encoded amino acid sequence and secondary structure analysis indicate that the genetic stability and function of *RPL10* gene in giant panda are consistent with those of *RPL10* gene reported in mammals.

【**Key words**】 giant panda; RT-PCR; ribosomal protein L10; cloning; sequences analysis

Supported by the National Natural Science Foundation (30470261), the Application Technology Program of Sichuan Province (2006J13-057), the Key Scientific Research Project of Sichuan Department of Education (07ZA120), the Key Subject Foundation for Zoology of Sichuan Province (404001), the Application Basic Project of Sichuan Department of Science and Technology (2009JY0061), and the Youth Fund Project of Sichuan Department of Education (09ZB088).
Corresponding author: Hou Wanru, E-mail: hwr168@yahoo.com.cn

【基金项目】 国家自然科学基金(30470261);四川省应用技术项目(2006J13-057);四川省教育厅重点科研项项目(07ZA120);四川省重点学科动物学建设资助项目(404001);四川省科技厅应用基础项目(2009JY0061);四川省教育厅青年基金(09ZB088)
【通信作者】 侯万儒,E-mail:hwr168@yahoo.com.cn

核糖体是细胞合成蛋白质的细胞器,主要成分是蛋白质和RNA,其主要功能是按照mRNA的指令由氨基酸高效且精确的合成蛋白质多肽链。真核生物的核糖体中约有80种核糖体蛋白亚基[1],其中核糖体蛋白的命名与蛋白在核糖体的大小亚基有关,小亚基(40S亚基)核糖体蛋白命名为S1~S31,大亚基(60S亚基)核糖体蛋白命名为L1~L44[2,3]。核糖体蛋白L10亚基基因(*RPL10*)是60S亚基的组成部分,属于核糖体蛋白L10e家族成员。研究表明,核糖体蛋白基因*RPL10*的突变与自闭症的发病机制有关[4]。

以国宝著称的大熊猫(*ailuropoda melanoleuca*)是世界上现存最古老的物种之一,也是我国特有的珍贵稀有动物,属国家一级濒危保护动物。长久以来,其生存和保护现状一直为世人所关注的焦点,国内外学者从繁殖、生理和细胞等方面对大熊猫开展了大量的研究[5-7]。目前,国内外已有较多对大熊猫基因的研究报道[8-14]。本研究根据人(*homo sapiens*)、家牛(*bos taurus*)、家犬(*canis familiaris*)、褐家鼠(*rattus norvegicus*)、小家鼠(*mus musculus*)5种哺乳动物*RPL10*基因表达序列的相关信息设计引物,以大熊猫骨骼肌为材料,运用RT-PCR技术,对大熊猫*RPL10*基因进行了扩增、克隆和测序,分析了该表达序列所编码蛋白的序列特征,并与其他哺乳动物物种进行了相似性比较,旨在为开展大熊猫分子生物学研究,尤其为*RPL10*结构基因的克隆与比较研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

大熊猫骨骼肌组织取自四川卧龙中国保护大熊猫研究中心死亡的大熊猫,为防止RNA降解,所取组织立即冻存于液氮中。总RNA抽提试剂盒Total Tissue/cell RNA Extractiob Kits购自Waton公司,逆转录试剂盒Reverse Transcription System购自Promega公司,胶回收试剂盒购自OMEGA公司,T载体试剂盒(PMD218T Vector Systems)及限制性内切酶*Pst*Ⅰ、*Sca*Ⅱ均购自宝生物(大连)有限公司,*Taq* plus聚合酶购自上海生物工程公司;其他试剂均为国产分析纯。宿主菌*E. coli* DH5α由四川省野生动植物保护与利用重点实验室保存。

1.2 方法

1.2.1 总RNA的提取 取3 mm×3 mm×3 mm左右的样品组织,液氮中充分研磨,按照抽提试剂盒说明书提取总RNA。将所提总RNA溶于经DEPC处理过的水中,保存于-70 ℃备用。

1.2.2 引物设计及RT-PCR 从GenBank数据库中检索到人类(NM_006013)、家牛(NM_174760)、家犬(NM_862548)、褐家鼠(NM_031100)、小家鼠(NM_052835)5种哺乳动物*RPL10*基因的mRNA序列,根据其mRNA序列的同源性,利用Primer Premier 5.0软件对引物进行设计后,由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,上下引物均为20 bp,所设计引物编号及序列如下:上游引物5′-CCACTGAAGATCCTGGTGTC-3′,下游引物:5′-GACAGGAAATAGTATTTATT-3′。以所提总RNA为模板,按逆转录试剂盒操作手册进行cDNA第1链的合成。反应总体积20 μl:模板1 μg,dNTPs 1 mmol/L,$MgCl_2$ 5 mmol/L,Oligo(dT)$_{15}$ 0.5 μg,AMV反转录酶5 U,RNA酶抑制剂10 U/μl。反转录条件:42 ℃ 60 min,再适量取第1链产物为模板,采用25 μl PCR反应体系进行PCR扩增,各成分浓度为:$MgCl_2$ 1.5 mmol/L,dNTP 0.2 mmol/L,上下游引物各0.3 μmol/L,*Taq* plus聚合酶5 U[13]。反应条件:94 ℃ 5 min,94 ℃ 1 min,52 ℃ 0.5 min,72 ℃ 1.5 min,32个循环;72 ℃ 10 min。此过程重复3次,以得到3个RT-PCR反应产物,然后用质量分数为1%的琼脂糖凝胶电泳检测RT-PCR反应产物,并于-20 ℃保存。

1.2.3 cDNA的克隆及鉴定 分别对3个PCR产物进行回收纯化,用*Sma*Ⅰ限制性内切酶酶切并平端化质粒pUC18片段,将回收产物与酶切并平端化后的质粒片段连接,22 ℃连接过夜。按常规方法转化感受态细胞,再涂于含氨苄青霉素、IPTG及x-gal的LB培养基上过夜培养,用接种针挑取5个白色菌落,碱裂解法提取质粒,采用双酶切(*Pst*Ⅰ和*Sca*Ⅱ)和PCR这2种方法对重组质粒进行鉴定[14]。经鉴定的阳性重组质粒由北京华大生物科技发展有限公司测序。

1.2.4 数据处理 采用Genescan软件,对所克隆的基因序列进行氨基酸序列推定;采用ORF finder软件进行DNA序列的开放阅读框(ORF)查找;采用DNAMAN Version 6对基因序列和氨基酸序列进行同源性比较;采用ExPASy Proteomics Server软件进行蛋白质功能位点和生化特性预测分析;通过http://www.imtech.res.in/raghava/apssp2/进行蛋白质二级结构的分析。

2 结果

2.1 RT-PCR产物

用琼脂糖凝胶(质量分数为1%)对3个RT-PCR扩增产物进行电泳分离,可见清晰的特异性扩增条带。经重组质粒测序,结果显示所得3个序列长度与预期大小一致,即都为685 bp。该序列提交到GenBank,所得的登录号为:GU445331。

2.2 大熊猫*RPL10*基因的序列预测分析

将所克隆的序列放在NCBI数据库中利用BLAST进行基因同源性检索,结果显示该序列与其他哺乳动物*RPL10*基因的cDNA序列具有很高的同源性,由此可证明所克隆的序列为大熊猫*RPL10*的cDNA序列。进一步分析结果显示,该基因的开放阅读框(ORF)为645 bp,编码214个氨基酸残基,起始密码子为ATG,终止密码子为TGA(图1),其中4个碱基A、T、G、C的质量分数分别为24.7%、22.8%、25.1%、27.4%。

2.3 大熊猫RPL10蛋白的结构分析与功能位点预测

在对大熊猫*RPL10*基因的序列进行分析的基础上,采用Proteomics Server软件进一步对大熊猫*RPL10*基因所编码的蛋白质进行预测。经分析结果显示:大熊猫RPL10蛋白的相对分子质量为$24.599\ 7\times10^3$(除牛的RPL10蛋白的相对分子质量为$14.570\ 6\times10^3$外,其他4种哺乳动物的RPL10蛋白的相对分子质量也为$24.599\ 7\times10^3$),PI为10.74(除牛的等电点为10.78外,其他4种哺乳动物的RPL10蛋白的等电点也为10.74),含有45个带正电荷的氨基酸(K-赖氨酸和R-精氨酸)和20个(仅牛含有19个)带负电荷的氨基酸(E-谷氨酸和D-天冬氨酸),其余氨基酸为非极性、疏水性氨基酸和极性、中性氨基酸。与此同时,采用PredictProtein软件对大熊猫*RPL10*基

因所编码蛋白的功能位点也进行预测并分析，结果显示，大熊猫与人、牛、家犬、褐家鼠、小家鼠 RPL10 蛋白的功能位点完全一致，即该蛋白含有 2 个蛋白激酶 C 磷酸化位点，2 个 N 化位点，2 个酰胺化位点，1 个核糖体蛋白 L10e 信号位点（图 2）。

```
                CCACTGAAGATCCTGGTGTC ATG GGC CGC CGC CCC GCC CGG TGT TAC CGG TAT TGT AAG AAC
                                     M   G   R   R   P   A   R   C   Y   R   Y   C   K   N
AAG CCG TAT CCA AAG TCT CGC TTC TGC AGA GGT GTC CCT GAT GCC AAG ATC CGC ATC TTT
K   P   Y   P   K   S   R   F   C   R   G   V   P   D   A   K   I   R   I   F
GAC CTG GGG CGG AAG AAG GCA AAA GTG GAT GAG TTC CCG CTA TGT GGC CAC ATG GTG TCA
D   L   G   R   K   K   A   K   V   D   E   F   P   L   C   G   H   M   V   S
GAT GAA TAT GAG CAG CTC TCC TCT GAA GCC CTG GAG GCT GCC CGT ATT TGT GCC AAC AAG
D   E   Y   E   Q   L   S   S   E   A   L   E   A   A   R   I   C   A   N   K
TAC ATG GTG AAA AGC TGT GGC AAA GAT GGT TTT CAC ATC CGA GTG CGG CTC CAT CCC TTC
Y   M   V   K   S   C   G   K   D   G   F   H   I   R   V   R   L   H   P   F
CAT GTC ATC CGT ATC AAC AAG ATG TTG TCC TGT GCT GGA GCT GAC AGG CTG CAG ACA GGT
H   V   I   R   I   N   K   M   L   S   C   A   G   A   D   R   L   Q   T   G
ATG CGG GGT GCC TTT GGA AAG CCC CAG GGC ACA GTA GCC AGG GTC CAC ATT GGC CAA GTC
M   R   G   A   F   G   K   P   Q   G   T   V   A   R   V   H   I   G   Q   V
ATC ATG TCC ATC CGT ACC AAG CTG CAG AAC AAG GAG CAT GTG ATT GAG GCC CTA CGC AGG
I   M   S   I   R   T   K   L   Q   N   K   E   H   V   I   E   A   L   R   R
GCC AAG TTC AAG TTC CCT GGC CGC CAG AAG ATC CAC ATT TCC AAG AAG TGG GGC TTT ACT
A   K   F   K   F   P   G   R   Q   K   I   H   I   S   K   K   W   G   F   T
AAG TTT AAT GCG GAC GAA TTT GAA GAC ATG GTG GCT GAA AAA CGG CTT ATC CCA GAT GGC
K   F   N   A   D   E   F   E   D   M   V   A   E   K   R   L   I   P   D   G
TGT GGA GTC AAA TAC ATC CCT AAT CGT GGC CCC TTG GAC AAA TGG AGG GCT CTG CAC TCA
C   G   V   K   Y   I   P   N   R   G   P   L   D   K   W   R   A   L   H   S
TGA GACAGGAAATAGTATTTATT
*
```

图 1　大熊猫 *RPL10* 基因的 cDNA 序列及其预测的氨基酸序列　（＊：终止密码子）

```
Pa：MGRRPARCYRYCKNKPYPKSRFCRGVPDAKIRIFDLGRKKAKVDEFPLCGHMVSDEYEQLSSEALEAARIC  71
Ho：MGRRPARCYRYCKNKPYPKSRFCRGVPDAKIRIFDLGRKKAKVDEFPLCGHMVSDEYEQLSSEALEAARIC  71
Bo：MGRRPARCYRYCKNKPYPKSRFCRGVPDAKIRIFDLGRKKAKVDEFPLCGHMVSDEYEQLSSEALEAARIC  71
Ca：MGRRPARCYRYCKNKPYPKSRFCRGVPDAKIRIFDLGRKKAKVDEFPLCGHMVSDEYEQLSSEALEAARIC  71
Ra：MGRRPARCYRYCKNKPYPKSRFCRGVPDAKIRIFDLGRKKAKVDEFPLCGHMVSDEYEQLSSEALEAARIC  71
Mu：MGRRPARCYRYCKNKPYPKSRFCRGVPDAKIRIFDLGRKKAKVDEFPLCGHMVSDEYEQLSSEALEAARIC  71

Pa：ANKYMVKSCGKDGFHIRVRLHPFHVIRINKMLSCAGADRLQTGMRGAFGKPQGTVARVHIGQVIMSIRTKL 142
Ho：ANKYMVKSCGKDGFHIRVRLHPFHVIRINKMLSCAGADRLQTGMRGAFGKPQGTVARVHIGQVIMSIRTKL 142
Bo：ANKYMVKSCGKDGFHIRVRLHPFHVIRINKMLSCAGADRLQTGMRGAFGKPQGTVAKVHIGQVIMSIRTKL 142
Ca：ANKYMVKSCGKDGFHIRVRLHPFHVIRINKMLSCAGADRLQTGMRGAFGKPQGTVARVHIGQVIMSIRTKL 142
Ra：ANKYMVKSCGKDGFHIRVRLHPFHVIRINKMLSCAGADRLQTGMRGAFGKPQGTVARVHIGQVIMSIRTKL 142
Mu：ANKYMVKSCGKDGFHIRVRLHPFHVIRINKMLSCAGADRLQTGMRGAFGKPQGTVARVHIGQVIMSIRTKL 142

Pa：QNKEHVIEALRRAKFKFPGRQKIHISKKWGFTKFNADEFEDMVAEKRLIPDGCGVKYIPNRGPLDKWRALHS 214
Ho：QNKEHVIEALRRAKFKFPGRQKIHISKKWGFTKFNADEFEDMVAEKRLIPDGCGVKYIPNRGPLDKWRALHS 214
Bo：QNKEHVIEALRRAKFKFPGRQKIHISKKWGFTKFNADEFENMVAEKRLIPDGCGVKYIPNRGPLDKWRALHS 214
Ca：QNKEHVIEALRRAKFKFPGRQKIHISKKWGFTKFNADEFEDMVAEKRLIPDGCGVKYIPNRGPLDKWRALHS 214
Ra：QNKEHVIEALRRAKFKFPGRQKIHISKKWGFTKFNADEFEDMVAEKRLIPDGCGVKYIPNRGPLDKWRALHS 214
Mu：QNKEHVIEALRRAKFKFPGRQKIHISKKWGFTKFNADEFEDMVAEKRLIPDGCGVKYIPNRGPLDKWRALHS 214
```

═：蛋白激酶 C 磷酸化位点；～：N 化位点；___：酰胺化位点；□：核糖体蛋白 L10e 信号位点；⋯：多态位点

Pa：大熊猫；*Ho*：人类；*Bo*：家牛；*Ca*：家犬；*Mu*：小家鼠；*Ra*：褐家鼠

图 2　大熊猫与 5 种哺乳动物 RPL10 蛋白的氨基酸序列比较

2.4 大熊猫 *RPL10* 基因和蛋白的比较分析

首先利用 DNAMAN Version 6 软件，对大熊猫、人、牛、家犬、褐家鼠、小家鼠这 6 种哺乳动物的 *RPL10* 基因的编码序列进行同源性比较。结果表明它们具有较高的同源性：大熊猫与人、牛、家犬、褐家鼠、小家鼠的 *RPL10* 基因编码序列同源性分别为 92.4%、92.4%、97.21%、88.84% 与 89.61%，其中大熊猫与家犬的 *RPL10* 基因的同源性最高，高达 97.21%。再利用 DNAMAN Version 6 软件，进一步对这 6 种动物的 *RPL10* 基因所编码的氨基酸序列进行同源性比较，结果显示，大熊猫除与牛的 *RPL10* 基因所编码的氨基酸序列同源性为 99.07% 外，它与其他 4 种哺乳动物的 *RPL10* 基因所编码的氨基酸序列同源性均为 100%。

2.5 大熊猫 RPL10 蛋白的二级结构分析

通过 http://www.imtech.res.in/raghava/apssp2/网址对 5 种哺乳动物的 *RPL10* 基因所编码的氨基酸序列进行蛋白质二级结构的分析，结果表明：除牛的 RPL10 蛋白序列中，螺旋(helix)占 23.83%，盘绕(coil)占 55.14%，缠绕(strand)结构占 21.03% 外，大熊猫和其他 4 种哺乳动物 RPL10 蛋白序列中，螺旋、盘绕、缠绕结构各占 23.83%、54.67%、21.50%。而进一步分析结果显示：除牛的 RPL10 蛋白的氨基酸序列在 192 位的脯氨酸为盘绕结构，而大熊猫和其他 4 种哺乳动物为缠绕结构外，大熊猫和 5 种哺乳动物的二级结构完全一致。

3 讨论

RPL10 是核糖体蛋白 L10e 家族成员，除具有核糖体蛋白一般功能之外，该基因的突变与自闭症的发病机制有关密切联系，研究 *RPL10* 基因可进一步探索它其他的功能。通过对蛋白亚基 *RPL10* 的理化性质，结构等比较发现我们克隆的 *RPL10* 基因确为大熊猫的基因。

本研究分析结果显示，大熊猫与人等 5 种哺乳动物的 *RPL10* 基因的编码序列及其所编码的氨基酸序列具有较高的同源性，将大熊猫 *RPL10* 基因的编码序列和人、牛、褐家鼠和小家鼠进行比较，发现存在不少变异位点，这些变异多由密码子第 3 位碱基的转换或颠换造成，不引起编码氨基酸的变化，属于同义突变。进一步分析方发现，这些突变也未引起大熊猫 RPL10 蛋白功能位点的改变，所以，大熊猫和人等 5 种哺乳动物所编码的 RPL10 蛋白的氨基酸序列有相同位置、相同种类和相同数量的功能位点。同时，在对 RPL10 蛋白所编码的氨基酸的二级结构分析时表明，除牛的 RPL10 蛋白的氨基酸序列在 192 位的脯氨酸为盘绕结构而大熊猫和其他 4 种哺乳动物为缠绕结构外，大熊猫和其他 5 种哺乳动物的二级结构完全一致。从这个意义上讲，无论是从 *RPL10* 基因的序列、结构、功能位点分析，还是从其编码的氨基酸的序列和二级结构进行分析，表明大熊猫的 *RPL10* 基因和已报道的哺乳动物的 *RPL10* 基因具有高度的遗传稳定性和功能一致性。

运用分子生物学原理与相应的技术手段，本实验成功地扩增出大熊猫的 *RPL10* 基因的表达序列，并对其编码序列和编码蛋白的氨基酸序列进行分析，进一步丰富和完善了哺乳动物的 *RPL10* 基因库，为克隆大熊猫的 *RPL10* 基因的结构基因和进一步研究其功能以及分子多态提供了基础资料。此外，*RPL10* 基因高度的遗传稳定性和功能一致性为进化树的构建提供了基础依据。

参考文献：

[1] Wool I G. The structure and function of eukaryotic ribosomes[J]. Annu Rev Biochem, 1979, 48: 719-754.

[2] 刘志华，杨谦. 球毛壳菌 60S 核糖体蛋白 L10a 基因克隆与特性分析[J]. 微生物学通报，2006，33(1)：24-28.

[3] Chavez-Rios R, Arias-Romero L E, Almaraz-Barrera Mde J, *et al*. L10 ribosomal protein from Entamoeba histolytica share structural and functional homologies with QM/Jif-1: proteins with extraribosomal functions [J]. Mol Biochem Parasitol, 2003, 127(2): 151-160.

[4] Klauck S M, Felder B, Kolb-Kokocinski A, *et al*. Mutations in the ribosomal protein gene *RPL10* suggest a novel modulating disease mechanism for autism[J]. Mol Psychiatry, 2006, 11(12): 1073-1084.

[5] 冯文和，李光汉. 拯救大熊猫[M]. 成都：四川科学技术出版社，2000：124-132.

[6] 侯万儒. 大熊猫生命表及相关数据指标的修订[J]. 动物学研究，2000，21(5)：361-366.

[7] Wu Z A, Liu W X, Murphy C, *et al*. Satellite 1 DNA sequence from genomic DNA of the giant panda *Ailuropoda melanoleuca*[J]. Nucleic Acids Res, 1990, 18(4): 1054.

[8] 罗晓燕，胡锦矗，侯万儒. 大熊猫 RPS15 cDNA 的克隆及序列分析[J]. 四川动物，2008，27(2)：216-219.

[9] 廖鸣娟，张志和，张安居，等. 大熊猫生长激素受体(GHR)cDNA 的克隆与序列分析[J]. 兽类学报，2005，25(1)：24-31.

[10] 侯万儒，陈瑜，彭正松，等. 大熊猫辅酶 Q-细胞色素 C 氧化还原酶的辅酶 Q 连接蛋白基因 cDNA 的克隆及序列比较[J]. 兽类学报，2007，27(2)：190-194.

[11] Hou Y, Hou W, Ren Z, *et al*. cDNA cloning and overexpression of ribosomal protein S19 Gene (rpS19) from the giant panda[J]. DNA and Cell Biol, 28(1): 41-47.

[12] 张田，郝彦哲，侯万儒，等. 大熊猫核糖体蛋白 S12 亚基基因(rpS12)的 cDNA 克隆及序列分析[J]. 北京师范大学学报：自然科学版，2009，45(4)：389-392.

[13] 侯怡铃，伍春莲，侯万儒，等. 大熊猫核糖体蛋白亚基 RPS7 基因的克隆及序列分析[J]. 第三军医大学学报，2009，31(18)：1740-1743.

[14] 杜玉杰，侯万儒，彭正松，等. 大熊猫酸性核糖体磷酸蛋白 P1 基因 cDNA 克隆及序列分析[J]. 兽类学报，2008，28(1)：75-80.

(收稿：2010-01-15 修回：2010-03-27)

(编辑 邓强庭)