

单链构象多态性毛细管电泳分析研究进展

陈巧云^{1,2}, 王 荣¹, 贾正平¹, 贾 海¹, 谢 华¹

(1. 兰州军区兰州总医院 全军临床药理基地, 中国甘肃 兰州 730050 ;
2. 兰州大学 生命科学学院, 中国甘肃 兰州 730000)

摘 要 :基因突变的检测在临床疾病诊断中起十分重要的作用。单链构象多态性 (Single Strand Conformation Polymorphism, SSCP) 分析是检测突变最流行的方法之一。SSCP 分析与毛细管电泳 (Capillary Electrophoresis, CE) 相结合的技术更是具有灵敏度高、花费低、简单、快速的优点。目前, 这项技术已应用于人类原癌基因、抑癌基因以及其它致病基因的突变检测。主要综述了各种参数对 CE-SSCP 分析的影响以及 CE-SSCP 分析技术将来的发展方向。

关键词 :毛细管电泳 ;单链构象多态性 ;荧光标记 ;筛分介质 ;毛细管涂层

中图分类号 :Q503

文献标识码 :A

文章编号 :1007-7847(2006)S0-0010-05

Progress of Single-strand Conformation Polymorphism Analysis by Capillary Electrophoresis

CHEN Qiao-yun^{1,2}, WANG Rong¹, JIA Zheng-ping¹, JIA Hai¹, XIE Hua¹

(1. Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, Gansu, China ;

2. Life Sciences College, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu, China)

Abstract: Mutation detection plays an important role in clinical diagnosis of diseases. Single strand conformation polymorphism(SSCP) analysis is one of the most popular methods for detection of mutations. SSCP analysis in combination with CE is a rapid, simple, sensitive and low-cost tool, and has been successfully applied for mutation detection involving human tumor oncogenes suppressor genes and disease-causing genes. Basic issues about the influence of parametes for SSCP analysis based on CE are reviewed and the prospect of the method is summarized.

Key words: capillary electrophoresis; single strand conformation polymorphism; fluorescent labeled; sieving matrices; capillary coating

(Life Science Research, 2006, 10(2): 010 ~ 014)

大多基因突变会影响基因的表达,并最终引起疾病。目前用于临床和基础研究的突变检测方法主要有:变性梯度凝胶电泳、单链构象多态性分

析、限制性片段长度多态性、异源双链分析、DNA 测序等^[1]。其中,SSCP 分析以其简便、快速、花费低等优点而得到广泛应用^[2-6]。

收稿日期:2006-03-18;修回日期:2006-05-18

基金项目:甘肃省自然科学基金资助项目(ZS031-A25-70-E);中国博士后基金资助项目(Q005037576)

作者简介:陈巧云(1981-),女,山东菏泽人,硕士研究生,主要从事分子病理学研究;贾正平(1958-),男,山西人,第四军医大学教授,博士生导师,通讯作者,主要从事药理学研究;Tel:0931-8975460;E-mail:Jiazp166@sina.com.

单链 DNA (single strand DNA, ssDNA) 片段上碱基的变化往往会引起分子内作用力和二级结构的变化, 从而导致它在非变性凝胶中电泳行为的变化。传统的 SSCP 分析采用平板凝胶电泳 (Slab Gel Electrophoresis, SGE), 既费时费力又不能满足临床大量筛查突变基因的需要。

高效 CE 是 20 世纪 80 年代初迅速发展起来的一种新型电泳与色谱相结合的分选分析技术, 具有分离效率高、分析速度快、样品用量少、应用范围广等特点。当 CE 与激光诱导荧光 (Laser Induced Fluorescence, LIF) 检测技术相结合时, 更具有无法比拟的灵敏度^[1], 另外, 它还能够通过液体或气体冷却系统精确控制电泳温度, 从而获得有较高分辨率和重现性的分离。Kuyper 首次采用 CE 进行 SSCP 分析, 30 min 内检测了 *p53* 基因上的点突变^[7], 而以往用 SGE 则需要几个甚至十几个小时才能完成。因此, CE 在 SSCP 分析领域成为替代 SGE 的最佳选择。下面将影响 CE-SSCP 分析的具体因素进行综述分析。

1 影响 CE-SSCP 分析的参数

1.1 样品的制备

用于 SSCP 分析的样品多数是以血液、组织或培养细胞基因组为模板进行 PCR 扩增而获得的。PCR 产物溶液中的离子会影响 CE 常用的电动进样, 高离子强度会导致 DNA 的低浓度进样^[8]。因此, PCR 产物往往需要纯化, 像乙醇沉淀、膜过滤、DNA 纯化试剂盒等都是很有效的纯化方法。为了增加分析的通量人们往往对多重 PCR 产物进行 SSCP 分析^[3], 不过使用该方法时应当注意: 进行多重 PCR 扩增时各模板的扩增效率不同, 会导致 PCR 终产物中各个目的片段数量的不均衡, 进行 SSCP 分析时会出现某些目的片段上样量不足或过多, 引起某些峰的消失, 而且同一个泳道同时分析太多目的片段会掩盖一些构象的信息。

LIF 检测具有较高灵敏度 (比紫外检测高 100 ~ 1000 倍) 和特异性。CE 与这种检测技术相结合时, 被分析的 DNA 样品必须用荧光分子标记。ssDNA 加荧光标记的常用方法有: 使用嵌入型染料; PCR 扩增时使用带荧光标记的引物; PCR 产物后标技术。

Nishimura 和 Tsuchiko^[9] 在应用 CE-SSCP 分析技术检测 *N-ras* 基因中的突变时, 把嵌入型染料 YO-PRO-1 加入 DNA 分离介质中准确检测了突

变, 他们还发现该染料的最佳浓度为 0.2 $\mu\text{mol/L}$, 更高的浓度会干扰 ssDNA 的高级结构导致分辨率下降。与此相似, Arakawa 等^[10] 和 Zhang 等^[11] 分别以吡啶橙和噻唑橙作为染料运用 CE-SSCP 分析技术成功检测了维生素 D 受体基因和 *K-ras* 基因中的突变。

PCR 扩增时使用有荧光标记的引物, 扩增出来的 DNA 片段就被加上荧光, 这种标记十分方便被广泛用于 SSCP 分析。但花费很高, 而且在变性时扩增产物溶液中未结合的荧光引物会与 ssDNA 一起退火形成引物-ssDNA 二聚体, 这些二聚体的电泳行为与 ssDNA 的电泳行为非常相似, 如果仅用一种染料标记 DNA 片段就会干扰突变的检测^[12], 不过这些荧光引物可以通过 PCR 产物纯化试剂盒有效去除^[2]; 如果用两种染料标记目的片段就不会存在引物-ssDNA 二聚体干扰分析的情况, 因为这种标记可以准确地确定正义和反义 ssDNA 峰的位置, 能够把 ssDNA 峰与双链 DNA (double strand DNA, dsDNA) (包括引物-ssDNA 二聚体) 峰区别开^[4], 但这种多染料标记技术只能用于多通道检测系统中。

PCR 产物后标技术是指在 DNA 聚合酶 I Klenow 片段的催化下 PCR 产物 3'-末端的碱基被带有荧光标记的核苷酸所替换。起初, 这种标记过程需要分成几步才能完成, 而且还涉及到乙醇沉淀分离反应产物^[13]。被改善后仅在一个管中就可完成整个标记过程^[14], 磷酸酯酶的加入会除去过量的荧光脱氧核苷酸, 排除它们对 SSCP 分析的干扰。此方法被多次成功用于 PCR 产物的 SSCP 分析^[14, 15]。

由于荧光染料的电荷、疏水性和空间堆积作用使得连有染料的 ssDNA 的电泳行为变得更加复杂, 因此, 在同时对野生型和突变型 DNA 分析时要用相同的染料分子标记对应的引物。

在 SSCP 分析之前, dsDNA 片段需要变性成 ssDNA。热变性是常用的变性方法, 该方法是先把 DNA 95 $^{\circ}\text{C}$ 加热, 然后立刻放入冰浴尽量避免 ssDNA 退火成 dsDNA。Kozłowski 和 Krzyżosiak^[8] 发现用去离子甲酰胺或含 0.015 mol/L NaOH 的甲酰胺稀释的样品变性后溶液中 dsDNA 形式比 ssDNA 形式占的比例大, ssDNA 形式也较易复性成 dsDNA, 而且变性剂的加入还会导致色谱峰增宽, 因此, 变性时最好使用不含任何变性剂的溶剂稀释样品。另外, CE 在线 dsDNA 变性的方法也得

到了应用,即在 CE 仪上装一个加热装置使毛细管的特定部位升温,这样 dsDNA 在该区域被解链^[16]或在毛细管内加 NaOH 使 dsDNA 变性^[4],这种方法仅使进入毛细管内的样品变性,其它未吸入的贮液仍保持原状态,减少了样品用量。

1.2 筛分介质

最开始用 CE 分离 DNA 时,使用既具有筛分功能又具有抗对流作用的交联聚丙烯酰胺凝胶作为筛分介质,但该凝胶在毛细管内聚合时常常会产生气泡而且回缩非常严重,柱的寿命比较短(大约可进 5 次样品)^[17]。因为内径较小的毛细管本身就能抗对流,所以不具有抗对流作用的聚合物溶液在 CE 中能够代替这种交联聚合物作为筛分介质。目前,用于 CE 分析 DNA 的聚合物溶液很多,例如:羟乙基纤维素(HEC)、聚丙烯吡咯烷酮(PVP)、线性聚丙烯酰胺(LPA)、聚二甲丙烯酰胺(PDMA)等都曾成功用于 CE-SSCP 分析^[18],其中 LPA 具有较高的分辨率被广泛应用于 DNA 的分析。然而,长链线性聚丙烯酰胺溶液具有较高粘度,在过滤及压入和压出毛细管时比较困难,异丙醇作为链转移剂合成的短链线性聚丙烯酰胺溶液避免了长链线性聚丙烯酰胺溶液遇到的问题,而且电泳时分辨率高,重现性好,这种介质已成功用于多个基因的 SSCP 分析^[5, 19]。PDMA 既具有筛分功能又能很好地抑制电渗流减小毛细管内壁对 ssDNA 的吸附,以它为筛分介质时不必对毛细管内壁进行修饰^[18]。

ssDNA 在聚合物溶液中的分离是个十分复杂的过程,许多因素像聚合物分子质量的大小及聚合物的浓度都会影响 DNA 的分离,选择合适分子质量和浓度的聚合物作为筛分介质能够获得高的分辨率和重现性。Kourkine 等^[20]考查了 LPA 的不同浓度(2%、4%、6%)和不同分子质量(200 kDa, 600 kDa, 1 000 kDa 和 2 400 kDa)对 p53 基因外显子 7、8 中突变检测的影响,表明获得最优筛分效果的 LPA 的浓度是 6%,分子质量是 600 kDa,较低或较高分子质量的 LPA 都不能获得较好分辨率。另外,人们为了提高分辨率往往在筛分介质中加入甘油、葡萄糖、蔗糖或甘露醇,其实这些多元醇对分离灵敏度的影响情况并不明确,而且它们很可能起到弱变性剂的作用从而影响 ssDNA 的二级结构^[4]。

1.3 毛细管的涂层

一个未涂层的毛细管内壁上多余的电荷,在

电场力的作用下向阴极移动,致使移向阳极的 DNA 片段的迁移速度减慢,电泳时间增加, DNA 样品色谱峰增宽,而且未涂层毛细管内壁对 ssDNA 有吸附作用,因此在用 CE 分析 ssDNA 时要对毛细管内壁进行涂层。目前,常用的涂层方法是共价连接涂层,即在毛细管内壁上结合亲水性聚合物,这种涂层可以很好的抑制电渗流并减少内壁对 DNA 的吸附,提高了迁移时间的重现性。在 DNA 分析中 Hjerten 设计的聚丙烯酰胺共价连接涂层毛细管^[21]最为常用,它包括两个化学反应步骤:首先用 3-甲基丙烯酰丙氧基三甲氧基硅烷硅化毛细管内壁,再把聚丙烯酰胺结合到硅化的内壁上。值得注意的是筛分介质的 pH 值对这种涂层的稳定性影响很大,高 pH 值下该涂层降解较快^[22]。

某些水溶性聚合物溶液可以吸附到毛细管内壁上形成一个稳定的动态涂层,该涂层能够降低电渗流并有效阻止 ssDNA 与毛细管壁的相互作用,而且具有筛分功能。这种动态涂层中聚合物与毛细管内表面的吸附可能涉及两种作用类型:亲水基团之间的氢键结合,即氧化硅表面的硅羟基与聚合物基团之间形成氢键;聚合物与氧化硅表面骨架结构中的疏水硅烷之间的疏水作用^[23]。Doherty 等曾经系统考查了影响毛细管内壁动态涂层的关键参数,发现聚合物的疏水性、分子质量和聚合程度直接决定吸附的趋势和该聚合物吸附层的厚度^[24]。Ren 等发现动态涂层的稳定性很大程度上依赖于聚合物溶液的 pH,并表明聚二甲丙烯酰胺的动态涂层在 pH 8.3 时比在 pH 7.8 时损坏得快^[25]。

1.4 其它因素

电泳温度是影响 ssDNA 构象及其电泳迁移的重要因素。虽然 CE 仪理论上可以调节到任何温度,但实际上,从低于室温 5 °C 到高于室温 10 °C 的温度范围就已经足够,如果使用更高或更低温度许多突变片段的检测灵敏度会下降。有些研究者发现温度降到 18 °C 可以获得好的分辨率^[26],而另外的研究者在检测其它基因突变时得到了不同的最佳温度^[5]。其实,每个突变都有其独特的温度图谱,而且每个特定突变的检测都对应一个最佳温度。因此,在运用 CE-SSCP 分析技术检测基因突变时,必须考查多个温度,从而确定该突变检测的最佳温度。

缓冲液的组分及 pH 值也都影响 SSCP 分析。

Kukita 的研究表明进行凝胶 -SSCP 分析时降低缓冲液 pH 值会提高分辨率^[15]。而 Ren 和 Ueland 的研究却表明降低 pH 值分辨率并不总是提高,而是与特定的 DNA 序列有关^[19]。为了提高 ssDNA 的分离度和灵敏度,有些人在缓冲液中加入甘油^[27],虽然甘油可以与 TBE 中的硼离子作用降低 pH 值,但实际上甘油对 ssDNA 泳动行为的影响是十分复杂的,甚至在一些实验中发现了不良影响^[28]。

在 SSCP 分析中电场的影响也应该引起注意。较高的电场产生较多的焦耳热,导致毛细管内部温度升高,改变 ssDNA 的构象,影响分离。但是,较低的电场会延长 ssDNA 片段的迁移时间,增强弥散性。Ren 考查了电场强度对 MTHFR 基因 C677T 突变 CE-SSCP 分析的影响,得出最佳电场强度是 -500 V/cm。并表明电场强度应根据电流选择,而电流又由毛细管的尺寸和缓冲液的导电率决定,他建议电流小于 20 μA ^[11]。

2 应用前景

随着需要分析的基因数目的增加,高通量突变分析技术变得更加重要。仅有一个通道的毛细管电泳仪不能获得高的通量,含有多个通道的仪器可以同时电泳多个样品大大减少了分析时间。近几年出现的毛细管阵列电泳仪及微毛细管电泳仪都很大程度地提高了 CE-SSCP 分析的通量。但为了实现高灵敏度、高特异性和操作简单的目的,这方面的技术还需要进一步革新。

目前 CE-SSCP 分析技术的瓶颈是数据分析。根据原始序列信息预测 ssDNA 的迁移模式是不可能的,根据迁移模式确定特异的点突变也不可能,而且迁移模式的改变并不一定是由特定的突变引起的。目前还没有一个可靠的商业性软件来解读 ssDNA 的迁移模式,只能靠个人经验来观察和分析。虽然近几年有人报道了一些关于 ssDNA 二级结构预测的算法^[29, 30],但是它们仅仅使 CE-SSCP 分析的结果更加有预见性但并不能满足需要。有时,为了准确确定序列的变化情况必须进行 DNA 测序。因此这方面的研究对 CE-SSCP 分析技术的应用是十分重要的。

3 小结

CE-SSCP 分析是一个简单、快速、高效的基因突变检测技术,已经得到广泛的应用。目的基因的选择、样品的制备、筛分介质的选择、毛细管内

壁的涂层以及其它电泳参数的优化都决定着 CE-SSCP 分析的成败,只要在最佳的分离条件下就能获得高的灵敏度。随着研究的深入,CE-SSCP 分析的通量将会有很大提高,它的结果也会更加有预见性。

参考文献 (References):

- [1] REN J. High-throughput single-strand conformation polymorphism analysis by capillary electrophoresis[J]. J Chromatogr B 2000, 741: 115-128.
- [2] KRINGEN P, EGEDAL S, PEDERSEN J C, et al. BRCA1 mutation screening using restriction endonuclease fingerprinting-single-strand conformation polymorphism in an automated capillary electrophoresis system[J]. Electrophoresis, 2002, 23: 4085-4091.
- [3] WALZ T, GEISEL J, BODIS M, et al. Fluorescence-based single strand conformation polymorphism analysis of mutation by capillary electrophoresis[J]. Electrophoresis, 2000, 21: 375-379.
- [4] KLEPARNIK K, GROCHOVA D, SKOPKOVA Z, et al. Detection of the major mutation M467T causing cystinuria by single-strand conformation polymorphism analysis using capillary electrophoresis[J]. Electrophoresis 2004, 25: 57-64.
- [5] SHI X Z, XU G W, ZHAO C X, et al. A single-strand conformation polymorphism method by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence for detection of the T1151A mutation in hMLH1 gene[J]. Electrophoresis, 2003, 24: 2316-2321.
- [6] 石先哲, 李建华, 赵春霞, 等. 毛细管电泳 - 单链构象多态性分析检测 K-ras 基因突变[J]. 分析化学, 2005, 33(9): 177-180.
- [7] KUYPERS A W H M, WILLEMS P M W, VANDER S M J, et al. Detection of point mutation in DNA using capillary electrophoresis in a polymer network[J]. J Chromatogr, 1993, 621: 149-156.
- [8] KOZLOWSKI P, KRZYZOSIAK W J. Optimum sample medium for single-nucleotide polymorphism and mutation detection by capillary electrophoresis[J]. Electrophoresis, 2004, 25: 990-998.
- [9] NISHIMURA A, TSUHAKO M. Single strand conformation polymorphism analysis of ras oncogene by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detector[J]. Chem Pharm Bull 2000, 48: 774-778.
- [10] ARAKAWA H, IGARASHI H, KASHIWAZAKI H, et al. Single-strand conformation polymorphism analysis of Vitamin D receptor gene by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection[J]. Anal Chimica Acta, 2001, 445: 197-204.
- [11] ZHANG Z, WU Y, CHENG W, et al. Single strand conformation polymorphism analysis of K-ras gene mutations by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence(LIF) detector[J]. Clin Chim Acta 2000, 301: 205-211.
- [12] HAYASHI K. Recent enhancements in SSCP Genet[J]. Anal Biomol Eng, 1999, 14: 193-196.

- [13] IWAHANA H ,ADZUMA K ,TAKAHASHI Y , *et al.* Multiple fluorescence-based PCR-SSCP analysis with postlabeling[J]. PCR Methods Appl ,1995 4 :275-282.
- [14] INAZUKA M ,WENZ H M ,SAKABE M , *et al.* A streamlined mutation detection system: multicolor post-PCR fluorescence labeling and single-strand conformational polymorphism analysis by capillary electrophoresis[J]. Genome Methods ,1997 , 7 :1094-1103.
- [15] KUKITA Y ,HIGASA K ,BABA S , *et al.* A single-strand conformation polymorphism method for the large-scale analysis of mutations/polymorphisms using capillary array electrophoresis [J]. Electrophoresis ,2002 23 :2259-2266.
- [16] KUYPERS A W ,LINSSEN P C ,WILLEMS P M , *et al.* On-line melting double strand DNA for analysis of single-strand DNA using capillary electrophoresis[J]. J Chromatogr B Biomed Appl ,1996 675 :205-211.
- [17] ARAKAWA H ,NAKASHIRO S ,MAEDA M , *et al.* Analysis of single-strand DNA conformation polymorphism by capillary electrophoresis[J]. J Chromatogr A ,1996 722 :359-368.
- [18] HELLER C. Principles of DNA separation with capillary electrophoresis[J]. Electrophoresis ,2001 22 :629-643.
- [19] REN J , UELAND P M. Temperature and pH effects on single-strand conformation polymorphism analysis by capillary electrophoresis[J]. Hum Mutat ,1999 ,13 :458-463.
- [20] KOURKINE I V ,HESTEKIN C N ,BUCHHOLZ B A , *et al.* High-throughput, High-sensitivity genetic mutation detection by tandem single-strand conformation polymorphism/heteroduplex analysis capillary array electrophoresis[J]. Anal Chem ,2002 74 :2565-2572.
- [21] HJERTEN S. High-performance electrophoresis elimination of electroendosmosis and solute adsorption[J]. J Chromatogr , 1985 347 :191-198.
- [22] KOURKINE I V ,HESTEKIN C N ,BARRON A E. Technical challenges in applying capillary Electrophoresis single strand conformation polymorphism for routine genetic analysis[J]. Electrophoresis ,2002 23 :1375-1385.
- [23] ALBARGHOUTH M N ,BUCHHOLZ B A ,HUIBERTS P J , *et al.* Poly-N-hydroxyethylacryl -amide(polyDuramide): A novel, hydrophilic, self-coating polymer matrix for DNA sequencing by capillary electrophoresis[J]. Electrophoresis ,2002 23 : 1429-1440.
- [24] DOHERTY E A S ,BERGLUND K D ,BUCHHOLZ B A , *et al.* Critical factors for high-performance physically adsorbed (dynamic) polymeric wall coatings for capillary electrophoresis of DNA[J]. Electrophoresis ,2002 23 :2766-2776.
- [25] REN J , ULVIK A , REFSUM H , *et al.* Applications of short-chain polydimethylacrylamide as sieving medium for the electrophoretic separation of DNA fragments and mutation analysis in uncoated capillaries[J]. Anal Biochem , 1999 , 276 :188-194.
- [26] ANDERSEN P S , JESPERGAARD C , VUUST J , *et al.* High-throughput single strand conformation polymorphism mutation detection by automated capillary array electrophoresis: validation of the method[J]. Hum Mutat ,2003 21 :116-122.
- [27] KASUGA T ,CHENG J ,MITCHELSON K R. Magnetic bead-isolated single-strand DNA for SSCP analysis[J]. Methods Mol Biol ,2001 163 :135-147.
- [28] TESCHAUER W ,MUSSACK T ,BRAUN A , *et al.* Conditions for single strand conformation polymorphism(SSCP) analysis with broad applicability: a study on the effects of acrylamide, buffer and glycerol concentrations in SSCP analysis of exons of the p53 gene[J]. J Clin Chem Clin Biochem , 1996 , 34 : 125-131.
- [29] ATHA D H , KASPRZAK W , O' CONNELL C D , *et al.* Prediction of DNA single-strand conformation polymorphism analysis by capillary electrophoresis and computerized DNA modeling[J]. Nucleic Acids Res ,2001 22 :4623-4653.
- [30] GLAVAC D ,POTOCNIK U ,PODPECNIK D , *et al.* Correlation of MFOLD-predicted DNA secondary structures with separation patterns obtained by capillary electrophoresis single-strand conformation polymorphism(CE-SSCP) analysis[J]. Hum Mutat , 2002 ,19 :384-394.

(上接第 9 页)

参考文献 (References):

- [1] KRAUSS Gerhard. Biochemistry of Signal Transduction and Regulation[M]. Third, 2003@ copy-right
- [2] WU Wei-hua, ZHAO Yun-yun. GTP——Binding regulatory proteins in higher plant cell[J]. Acta Botanica Sinica, 1996, 38(5): 406-413.
- [3] DE Waard, LIU M H, WALKER D, *et al.* Direct binding of G-protein beta gamma complex to voltage-dependent calcium channels[J]. Nature, 1997, 385: 446-450.
- [4] MARGOLSKEE R F. Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction [J]. J Bio Chem, 2002, 277 :1-4.
- [5] CHEN Jin-gui, HUANG Ji-rong, JOSE M, *et al.* GCR1 acts independently of heterotrimeric G protein in response to brassinosteroids and gibberellic acid in Arabidopsis seed germination[J]. Plant Physiology, 2004, 135: 907-915.
- [6] 费俭. 国家“973”研究项目——细胞重大生命活动的基础与应用研究子课题: 细胞信号转导研究进展[J]. 生命科学, 2005 ,(04) :286-287.
- [7] CHEN Wei, KIRKBRIDE C, HOW T. Beta-Arrestin 2 mediates endocytosis of type III TGF-beta receptor and down-regulation of its signaling[J]. Science, 2003, 301 (5638): 1338-1339.
- [8] Mc DONALD P H , LEFKOWITZ R J. Beta-Arrestins: new roles in regulating heptahelical receptors' functions[J]. Cell Signal, 1997, 13: 683-689.