

RNA加工与细胞周期调控

桂建芳 编著



科学出版社

内 容 简 介

RNA 加工和细胞周期调控既是近年来细胞生物学和分子生物学研究的热门领域,又是研究基因表达和调控、细胞增殖和分化、细胞癌变和凋亡、以及基因工程和细胞工程等生物技术的基础。本书分为三篇,第一篇为 RNA 加工,第二篇为细胞周期调控,第三篇为 RNA 剪接与细胞周期调控的联系。内容包括割裂基因和 RNA 剪接,剪接反应和剪接体,剪接蛋白, RNA 剪接的生理作用, RNA 加工的亚核结构, mRNA 的翻译调控,细胞周期及其事态,细胞周期调控研究的特殊系统,周期蛋白和依赖于周期蛋白的激酶,细胞周期运转的制动机制,胚胎发育早期细胞的细胞周期调控,剪接因子 SR 蛋白特异激酶的鉴定、纯化、特征、功能及其基因 cDNA 的克隆,和调控 RNA 加工的其它激酶等。本书以学科发展的历程为主线,注重挖掘和剖析众多研究者包括作者本人的研究体验和作出某一重大发现时的心境,试图为读者勾画出这两个研究领域的现状、发展以及它们之间的联系。

本书可供从事生命科学研究和教学的人员参考,可用作综合性大学高年级学生以及博士和硕士研究生的学习参考书。

图书在版编目(CIP)数据

RNA 加工与细胞周期调控/桂建芳编著. -北京:科学出版社,
1998.8

ISBN 7-03-006777-0

I . R… II . 桂… III . ①核糖核酸-生物工程 ②细胞-周期-调控
IV . Q811.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(98)第 13963 号

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

北 京 双 青 印 刷 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1998 年 8 月第 一 版 开本: 850×1168 1/32

1998 年 8 月第一次印刷 印张: 7 1/2

印数: 1—2 500

字数: 191 000

定价: 18.00 元

前 言

当我考上研究生、立志将一生奉献给科学探索事业之日起,萦绕在脑际的最大愿望之一就是能编著反映自己所从事研究领域的书籍。1991 年底,当我利用获得中国科学院青年科学家奖、中国科学院派我到美国访问深造的时候开始,实现这一愿望的机遇正向我款款走来。

在美国,机遇首先使我与一位大学时代的同学付向东(Xiang-Dong Fu)博士重逢。当时,他师从哈佛大学著名的分子生物学家 Tom Maniatis 教授,并以出色的博士后研究成就受聘于加州大学圣迭戈分校(University of California, San Diego, UCSD)。凑巧的是,他准备开展的研究恰好定位在 RNA 剪接与细胞周期调控的交叉点上,也正是我想在美国得到深造提高、并在回国后有所发展的领域。于是,我以访问学者和博士后的双重身份加入到付向东教授刚刚筹建的分子和细胞生物学实验室,开始了新的探索。

在研究中,我不但浏览了大量的每周出现在 *Nature*、*Science* 和 *Cell* 等核心杂志上的有关文献,触摸到研究探索者们活跃竞逐的脉搏,领略到前辈科学家 Krebs 和 Fisher 由于在 50 年代最先发现激酶而分享 1992 年度的诺贝尔生理和医学奖,以及 Sharp 和 Roberts 由于在 70 年代发现 RNA 剪接而分享 1993 年度的诺贝尔生理和医学奖时的激情和氛围,而且也体验到一个求知者在解决某些科学问题、有所发现、有所创新,其论文被发表时的欢愉心态。正是在这些情结和心态的驱动下,萌生了编著本书的念头。作为自己的第一本书,如能对读者起到抛砖引玉的作用,就算得到了一个多年愿望实现后的小小满足。

面对浩瀚的文献海洋,作为一本小书,很难做到滴水不漏,但它毕竟镌刻了世界上众多探索者在学科前沿领域所作出的卓越贡献。因而,在本书出版之时,我谨向世界上所有为本书积累了原始

素材的学者们致以深深的谢意,是他们的奉献琢开了本书知识的源泉;更要感谢那些提出了睿智观点和绘制了精美图像的作者,他们的成果被本书直接引用,是他们的成果构成了本书知识的框架。

当然,最应当感谢的是我的同学和朋友、现在在加州大学执教的付向东教授,正是由于在他的帮助和引导下,我才荣幸涉足这一研究领域。因此,我还要向那些我在美国工作时给予过帮助和建议的所有同行和朋友们表示衷心的感谢。

在此,我还要特别感谢我的妻子张奇亚。为了我的研究工作和本书的写作,她在精神和生活上给予了我巨大的支持和鼓励。

我还要谢谢我现在的研究助手、博士后、博士生和硕士生杨仲安、樊连春、杨书婷、谢京、王玉凤、周莉、杨林等,尽管他们的研究结果还没有纳入本书,但他们在现时条件下沉于求知、相互协助的精神为我赢得了许多写作本书的时间。我还要谢谢来自于中国科技大学的1998届毕业实习生汪洋同学,是他在计算机方面的专长为本书的许多插图进行了加工。

本书的出版得到了中国科学院科学出版基金和国家自然科学基金委员会国家杰出青年基金项目(39425010)的资助。

桂建芳

1998年3月于武汉

目 录

前 言

第一篇 RNA 加工

第一章 割裂基因和 RNA 剪接	(2)
1.1 割裂基因发现的背景	(2)
1.1.1 割裂基因发现的意义	(2)
1.1.2 割裂基因发现的前期基础	(2)
1.2 基因割裂现象的发现和 RNA 剪接研究领域的 兴起	(7)
1.2.1 割裂基因的发现过程	(7)
1.2.2 RNA 剪接和基因的内含子和外显子概念	(9)
1.2.3 内含子大小与基因组大小	(9)
第二章 剪接反应和剪接体	(13)
2.1 剪接反应	(13)
2.1.1 剪接位置	(13)
2.1.2 分支位置	(13)
2.1.3 体外剪接反应及其反应步骤	(15)
2.2 剪接体	(15)
2.2.1 剪接体的鉴定	(15)
2.2.2 剪接体的组成	(16)
2.2.3 剪接体的组装	(18)
2.3 AT-AC 剪接体	(22)
2.3.1 含有 AT-AC 内含子的基因	(22)
2.3.2 次要剪接的机制	(23)
2.4 可自我剪接的 I 型和 II 型内含子	(25)
2.4.1 I 型和 II 型内含子的特征	(25)
2.4.2 内含子的起源和 snRNAs 的祖先	(27)

第三章 剪接蛋白	(29)
3.1 剪接蛋白的类型	(29)
3.2 SR 蛋白家簇	(29)
3.2.1 SR 蛋白的鉴定和分离	(29)
3.2.2 SR 蛋白的种类和特征	(30)
3.2.3 SR 蛋白的结构特点	(30)
3.2.4 SR 蛋白的活性和作用	(34)
3.3 结合于多聚嘧啶束的蛋白	(36)
3.3.1 结合于多聚嘧啶束的蛋白种类	(36)
3.3.2 结合于多聚嘧啶束蛋白的结构与功能	(36)
3.4 与 snRNP 相联的剪接蛋白	(37)
3.4.1 与 snRNP 相联的剪接蛋白的鉴定和分离	(37)
3.4.2 已鉴定的与 snRNP 相联剪接蛋白的种类	(38)
3.5 其它剪接蛋白	(39)
第四章 RNA 剪接的生理作用	(40)
4.1 选择性剪接	(40)
4.1.1 选择性剪接的生物学意义——一个基因可以产生 多个相关蛋白	(40)
4.1.2 选择性剪接与果蝇的性别决定	(43)
4.2 剪接与病变	(46)
4.2.1 剪接位置的突变	(46)
4.2.2 突变导致异常剪接的机制	(50)
第五章 RNA 加工的亚核结构	(54)
5.1 剪接因子的亚核定位	(54)
5.1.1 剪接因子在核内形成独特的核斑	(54)
5.1.2 核基质与 RNA 剪接	(55)
5.2 RNA 加工与转录的关系	(56)
5.2.1 剪接因子和转录产物的共定位	(56)
5.2.2 剪接和转录的亚核结构	(56)
5.3 mRNA 的外运	(57)
5.3.1 外运通道	(57)
5.3.2 核孔复合体	(59)

5.3.3 RNA 外运的方式和机制	(61)
第六章 mRNA 的翻译调控	(68)
6.1 mRNA 的结构特征及其调控区域	(68)
6.2 3'端的多腺化及其调控作用	(69)
6.2.1 多腺化是一个相当复杂的过程	(69)
6.2.2 多腺化在卵子发生中的调控作用	(71)
6.2.3 poly(A)尾巴的去腺化与 mRNA 的降解	(73)
6.3 mRNA 的细胞定位及其调控作用	(74)
6.3.1 mRNA 定位的生理意义	(74)
6.3.2 mRNA 的定位信号	(75)

第二篇 细胞周期调控

第七章 细胞周期及其事态	(78)
7.1 细胞周期概念的由来和时相的划分	(78)
7.1.1 细胞周期概念的由来与发展	(78)
7.1.2 细胞周期中的转换点及其与生长控制的关系	(79)
7.2 细胞周期各时相的主要事变	(80)
7.2.1 S 期的主要事变	(80)
7.2.2 M 期的主要事变	(82)
7.3 生殖细胞特殊的分裂方式——减数分裂	(82)
7.3.1 减数分裂的特点	(82)
7.3.2 减数分裂各期的主要事变	(83)
7.3.3 减数分裂的生物学意义	(85)
7.4 培养细胞细胞周期的同步化	(87)
7.4.1 同步诱导方法	(87)
7.4.2 培养细胞不同时相的细胞提取液的制备	(88)
第八章 细胞周期调控研究的特殊系统——卵母细胞	(90)
8.1 成熟促进因子的发现——细胞周期调控研究的里程碑	(90)
8.1.1 成熟促进因子发现的背景	(90)
8.1.2 成熟促进因子发现的意义	(91)
8.2 卵母细胞体外系统——研究细胞周期调控的	

理想模式·····	(92)
8.2.1 卵母细胞体外系统的应用和类型 ·····	(92)
8.2.2 卵母细胞间期提取液的制备和应用 ·····	(92)
8.2.3 卵母细胞分裂期提取液的制备和应用 ·····	(95)
8.2.4 分裂期提取液中 MPF 活性的浓缩保存·····	(95)
8.2.5 周期性提取液的制备 ·····	(96)
8.3 周期蛋白的发现——海胆卵母细胞的贡献·····	(96)
8.3.1 周期蛋白的发现过程 ·····	(96)
8.3.2 周期蛋白发现的意义 ·····	(97)
8.4 成熟促进因子的提纯及其成分的鉴定——细胞 周期调控研究的飞跃·····	(98)
8.4.1 MPF 是 p34cdc2 与周期蛋白 B 形成的复合体 ·····	(98)
8.4.2 MPF 的活性变化和卵母细胞成熟的机制 ·····	(99)
第九章 周期蛋白和依赖于周期蛋白的激酶·····	(103)
9.1 周期蛋白家族 ·····	(103)
9.1.1 周期蛋白的定义·····	(103)
9.1.2 周期蛋白的类型·····	(103)
9.1.3 周期蛋白框及周期蛋白的结构特征·····	(103)
9.2 依赖于周期蛋白的激酶 ·····	(106)
9.2.1 依赖于周期蛋白激酶概念的由来·····	(106)
9.2.2 依赖于周期蛋白激酶的类型·····	(107)
9.2.3 依赖于周期蛋白激酶的结构特征及其功能作用·····	(108)
9.2.4 依赖于周期蛋白激酶在细胞周期运转中的作用·····	(110)
9.3 依赖于周期蛋白激酶的底物 ·····	(111)
9.3.1 有丝分裂期的底物·····	(111)
9.3.2 G1 和 S 期的底物 ·····	(115)
第十章 细胞周期运转的制动控制 ·····	(117)
10.1 周期蛋白激酶的抑制子及其制动机制·····	(117)
10.1.1 抑制子的鉴定 ·····	(117)
10.1.2 抑制子的种类 ·····	(118)
10.1.3 抑制子的结构特征 ·····	(119)
10.1.4 抑制子的作用对象 ·····	(121)

10.1.5	抑制子的作用机制	(122)
10.1.6	抑制子与癌变的关系	(123)
10.2	依赖于泛素的蛋白水解与细胞周期调控	(126)
10.2.1	泛素的特性	(126)
10.2.2	依赖于泛素的蛋白水解步骤	(126)
10.2.3	蛋白酶体的组成	(129)
10.2.4	参与细胞周期调控的两条不同蛋白水解途径	(131)
10.2.5	由 G1 向 S 期转换时的蛋白水解	(132)
10.2.6	有丝分裂过程中的蛋白水解	(134)
10.2.7	蛋白水解在细胞周期调控中的作用	(136)
第十一章	胚胎发育早期细胞的细胞周期调控	(138)
11.1	早期卵裂细胞的特殊性	(138)
11.1.1	早期卵裂细胞的分裂速度和细胞周期时相	(138)
11.1.2	卵裂细胞特殊性的来源	(138)
11.1.3	胚胎早期发育过程中的中囊胚转换点	(139)
11.2	卵裂细胞周期的调控机制	(140)
11.3	器官芽基细胞的增殖及其调控	(143)
11.3.1	器官芽基细胞增殖的特点	(143)
11.3.2	器官芽基细胞增殖的调控机制	(143)
11.4	早期胚胎发育期间 DNA 复制的控制	(145)
11.4.1	早期胚胎发育细胞 DNA 复制的特点	(145)
11.4.2	早期胚胎发育细胞 DNA 复制的调控机制	(145)

第三篇 RNA 剪接与细胞周期调控的联系

第十二章 剪接因子 SR 蛋白特异的激酶——SRPK1

	的鉴定和分离	(149)
12.1	剪接因子与细胞周期的联系	(149)
12.1.1	核斑组装和去组装的细胞学现象	(149)
12.1.2	分裂中期细胞提取液中存在促使核斑去组装的活性 因子	(151)
12.2	激酶 SRPK1 的鉴定过程	(155)
12.2.1	导致核斑去组装的活性因子不是 CDK1 激酶	(155)

12.2.2	一种促使 SC35 磷酸化导致核斑去组装的激酶的鉴定	(156)
12.2.3	催化底物特异性及 SRPK1 激酶的命名	(159)
12.3	SRPK1 的细胞周期调节	(161)
12.3.1	SR 蛋白的磷酸化程度与细胞周期的关系	(161)
12.3.2	SRPK1 的激酶活性与细胞周期的关系	(162)
第十三章	激酶 SRPK1 的纯化及其基因 cDNA 的克隆	(164)
13.1	SRPK1 蛋白的纯化	(164)
13.1.1	纯化的前期准备和试探性步骤	(164)
13.1.2	大规模的纯化方案和纯化结果	(167)
13.2	SRPK1 基因的 cDNA 克隆	(170)
13.2.1	纯化蛋白的氨基酸测序	(170)
13.2.2	cDNA 克隆的呈现与筛选	(171)
13.2.3	克隆 cDNA 的序列及其特点	(173)
第十四章	激酶 SRPK1 的特征和功能	(180)
14.1	SRPK1 的特征	(180)
14.1.1	SRPK1 的动力学特性	(180)
14.1.2	SRPK1 诱导核斑去组装的特异性	(182)
14.2	SRPK1 的功能作用	(183)
14.2.1	过量的 SRPK1 抑制体外剪接	(183)
14.2.2	SRPK1 可恢复 SR 蛋白上特异的磷酸抗原决定部位	(183)
14.2.3	SRPK1 对 SR 蛋白的磷酸化是 RNA 剪接的先决条件	(186)
第十五章	调控 RNA 加工的激酶	(189)
15.1	激酶 SRPK1 发现的意义	(189)
15.1.1	RNA 剪接和细胞周期调控的联系因子	(189)
15.1.2	SR 蛋白磷酸化的生理作用	(189)
15.2	磷酸化 SR 蛋白的其它激酶	(191)
15.2.1	Clk/Sty 激酶	(191)
15.2.2	DNA 拓扑异构酶	(194)
15.2.3	LBR 激酶	(194)

15.3 RNA 结合蛋白的磷酸化与减数分裂控制	(195)
15.3.1 RNA 结合蛋白与精子发生	(195)
15.3.2 RNA 结合蛋白的磷酸化与减数分裂的启动	(196)
参考文献	(198)

第一篇 RNA 加工

第一章 割裂基因和 RNA 剪接

1.1 割裂基因发现的背景

1.1.1 割裂基因发现的意义

基因是遗传的功能单位,蛋白是由基因表达的行使生理功能的主体。70 年代以前,人们对基因和蛋白的了解主要是来自于对细菌研究的认识,认为原核生物的基因结构和表达方式普遍适合于真核生物,即视若庞然大物的大象与肉眼难见的细菌不但基因结构相同,而且调控机制相似,基因、mRNA 和蛋白之间都是一种线性关系,也就是说基因上的脱氧核苷序列全部转录成 mRNA 上的核苷序列, mRNA 上的核苷序列再全部翻译成蛋白上的氨基酸序列。

然而,就在 1977 年这一年,由美国麻省理工学院的 Phillip Sharp 和冷泉港实验室的 Richard Roberts 分别领导的两个研究小组,以真核细胞病毒腺病毒(adenovirus)为模型所获得的研究发现(Berget et al., 1977;Chow et al., 1977),不但彻底变革了传统的基因概念,而且对基因调控和进化的研究以及生物技术都产生了巨大影响。这就是著名的割裂基因(split gene)的发现。当 16 年后 Phillip Sharp 和 Richard Roberts 因这一创造性的发现而获得 1993 年度的诺贝尔生理和医学奖时,曾风趣地回顾说,当他们观察到腺病毒与其 mRNA 之间形成的不连续的杂种分子图像时,他们立刻感到诺贝尔已带着他的遗产敲开了他们的心扉(Travis, 1993)。

1.1.2 割裂基因发现的前期基础

正如现代科学史上许多重要的新发现一样,割裂基因的发现

同样是在一大批研究者长期辛勤工作的基础上取得的。基因割裂现象发现以前,一些学者依据生化方面的证据,已对细菌基因结构及其调控机制的普遍性产生了怀疑。第一个明显的事实是,从核内基因转录的 RNA 与存在于细胞质的翻译机器呈相互分隔状态。第二,真核生物之间,其生殖细胞的 DNA 含量差异很大,但其基因的数量没有明显变化。第三点也是最重要的一点是,核内的 RNA 与细胞质内的 RNA 具有显著差异。

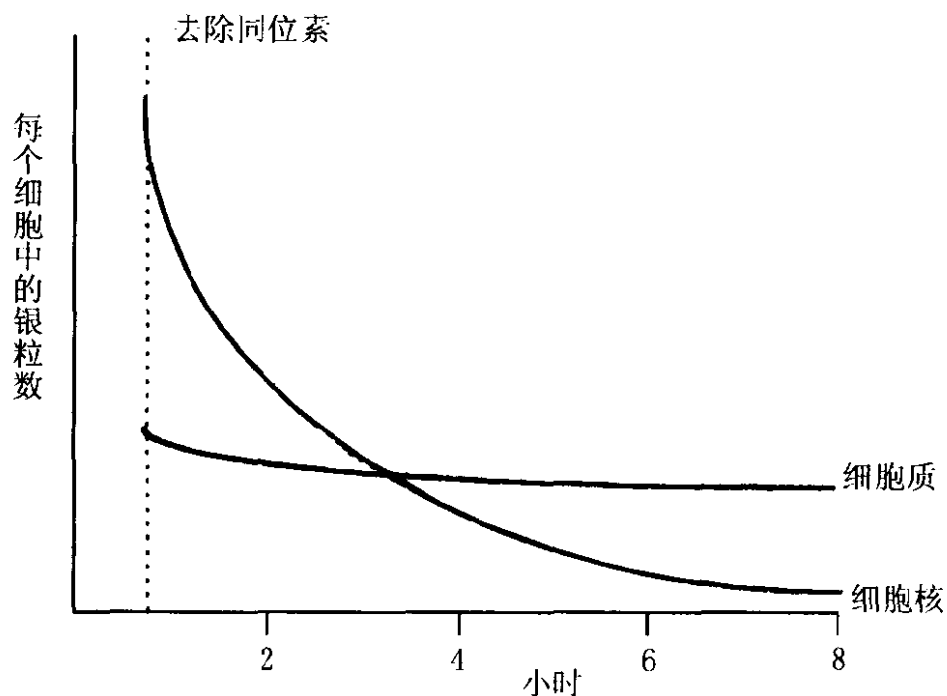


图 1-1 新合成的核内 RNA 快速降解的证据

培养细胞用 ^3H -尿嘧啶温育 30min 后,去除同位素,继续温育一定时间后,用显微放射自显影测定放射性的分布。测定结果表明,核内放射性剂量的快速消失并没伴随有细胞质内放射性 RNA 量的增加,因此,大多数核内标记的 RNA 发生了降解。(自 Kleinsmith & Kish, 1995)

表明核内 RNA 与细胞质 RNA 存在明显差异的最早报道出自于 Henry Harris 在 1962 年采用显微放射自显影来追踪新合成的 RNA 分子行为的研究。Harris 将培养细胞置于含有 ^3H -尿嘧啶核苷的培养液中温育一段时间使新合成的 RNA 带有同位素标记,然后分别间隔一定的时间来测定核内和胞质内同位素引起的银粒数目。Harris 惊奇地发现,细胞质内同位素标记的 RNA 量不

到核内原始标记量的 10% (图 1-1)。这意外的结果使他认为,大量的核内 RNA 在进入细胞质之前,已发生了降解(Harris, 1994)。

这一非凡的结论开始并没有引起大家的认同,因为它与传统的 DNA 转录成信使 RNA、信使 RNA 在细胞质中合成功能蛋白的传统概念不相容。但接着由 James Darnell 及其助手们所进行的有关分离的核 RNA 行为的试验进一步支持了 Harris 的论点。在这一连串的试验中,培养的人细胞首先用³H-尿嘧啶标记不同时间后,分离出核 RNA,并采用移动区带离心进行分析。当标记时间仅有几分钟时,发现放射性 RNA 以一系列的不均一分子进行沉降,其沉降系数在 20S 到 100S 范围内。由于 RNA 分子的不均一性,它们被称为不均一核 RNA(heterogeneous nuclear RNA, 简称 hnRNA)。

为了追踪这些分子的命运,Darnell 进行了另一个试验。在这一试验中,细胞先用³H-尿嘧啶短暂温育以标记 hnRNA;然后加入放线菌素 D 以阻止额外的放射性 hnRNA 的形成,再将细胞温育一定的时间,以观察已经标记的 hnRNA 分子的命运。在几小时之内,发现大量的放射性从 RNA 组分消失(图 1-2)。这一发现支持了 Harris 关于大多数新合成的 RNA 发生了快速降解的论点(Darnell, 1985)。

核内 hnRNA 在进入细胞质前,其降解是随机的还是有选择呢? 核酸杂交试验表明,存在于 hnRNA 上的大多数碱基序列在细胞质 RNA 中不存在,因此可以得出 hnRNA 发生了选择性降解的结论,只有那些特定序列才能被运送到细胞质中。随后大量试验数据表明,hnRNA 比 mRNA 分子大得多,在一个 hnRNA 分子中,仅有 10% 到 20% 的序列存在于细胞质的 mRNA 分子之中;与通常所见的仅含有约 2000 个碱基的 mRNA 相比,hnRNA 分子要大得多,其长度一般在 5000 到 20 000 个碱基之间;此外,hnRNA 分子半衰期极短,一般只有几分钟,而 mRNA 分子半衰期通常有几个小时,如在海胆胚胎中,mRNA 的半衰期大约有 5h,而 hnRNA 分子的半衰期仅约 20min(Lewin, 1980)。

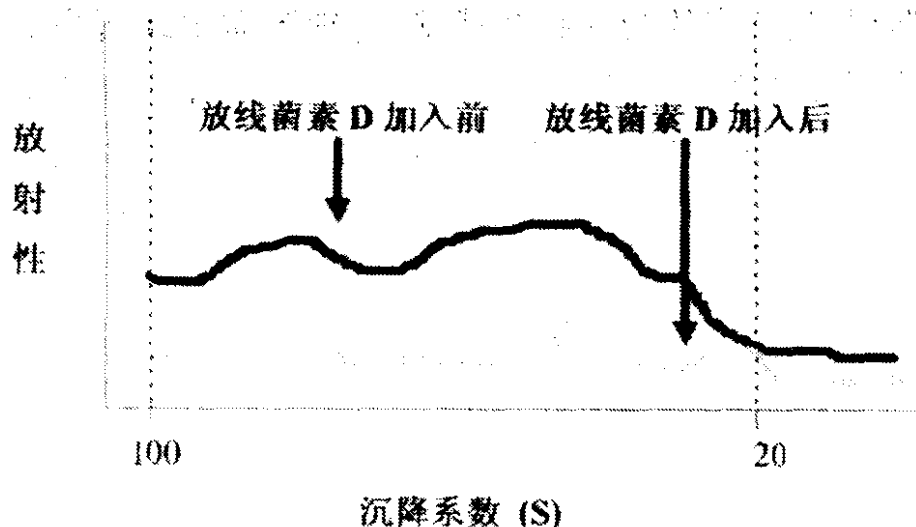


图 1-2 新合成的 hnRNA 分子的行为

培养的人细胞用 ^3H -尿嘧啶温育 5min 后,加入放射菌素 D 以阻止额外放射性 RNA 的合成,再继续温育 150min。分离出总 RNA,采用移动区带离心技术分析。如图所示,在放线菌素 D 加入前,新合成的 RNA 以不均一的分子所沉降,大多数 RNA 分子相对较大;在放线菌素 D 加入后,大多数沉降系数大的放射性 RNA 因降解而消失。(自 Kleinsmith & Kish, 1995)

直到 1977 年初, hnRNA 与细胞质 mRNA 之间的关系一直是争论的焦点。几乎同时,来自于多家实验室的报道都发现 mRNA 序列存在于核内大的 hnRNA 分子之内。Bastos 和 Aviv(1977)分离出了小鼠珠蛋白 mRNA,然后采用反转录酶合成了与其互补的 cDNA,并将这一 cDNA 偶连到纤维素层析柱中。接着,将合成血红珠蛋白的细胞生长在含有放射性尿嘧啶的培养液中培养一定时间后,提取带放射性标记的 RNA,并过层析柱。所有编码珠蛋白的 RNA 应与层析柱中的 cDNA 结合,而其它 RNA 分子则从柱中自动流出。然后,采用打开氢键的低离子强度溶液,将结合到柱子中的 RNA 洗脱出来。试验发现,当细胞被标记 10min 时,从层析柱上洗脱下来的放射性 RNA 经移动区带离心证明有两类大小分别为 15S 和 9S 的 RNA 分子,其长度平均约有 5000 个碱基,几乎是细胞质中珠蛋白 mRNA 的 8 倍;然而,当标记 10 min 后再在无放射性的培养液中温育 30 min,然后提取 RNA,经试验发现,此次从柱子上洗脱下来的含有放射性的珠蛋白 RNA 分子只有分子量

小的 9S 类型,其长度约为 600 个碱基,与细胞质中珠蛋白 mRNA 的大小相同(图 1-3)。这就是说,经一段时间后,所有的珠蛋白 RNA 最终都转变为 9S 形式,即 9S 的珠蛋白 mRNA 是由 15S 的 RNA 前体演变而来。因此,hnRNA 似乎是作为 mRNA 的前体,故又被称为前体 mRNA,即前体 mRNA。

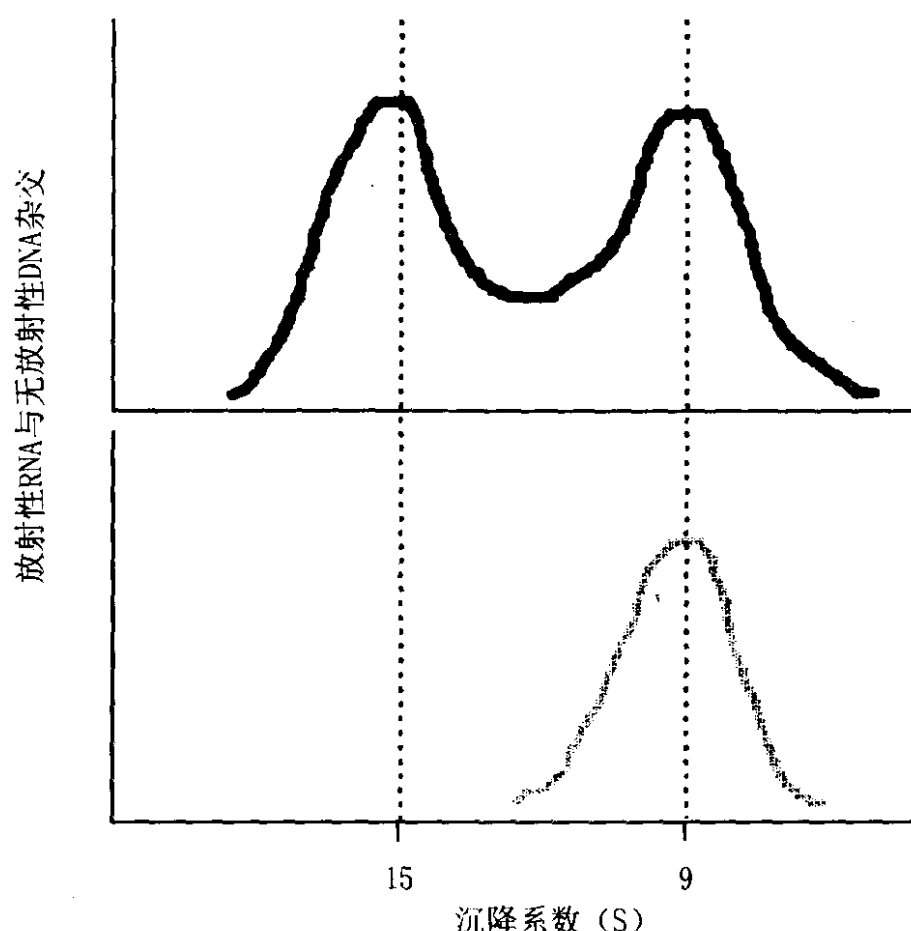


图 1-3 证明 9S 的珠蛋白 mRNA 由 15S 的 RNA 前体演变而来的试验

(A) 将从 ^3H -尿嘧啶标记 10min 的细胞中分离出来的 RNA 经偶连有珠蛋白 cDNA 的层析柱洗脱后再经移动区带离心,发现有两类大小分别为 15S 和 9S 的 RNA 分子;(B) 当细胞标记 10 min 后再在无放射性的培养液中温育 30 min,然后提取 RNA,经同样的试验步骤,仅见有 9S 形式的具放射性的珠蛋白 RNA,表明在此 30 min 之内,15S 的 RNA 前体转变成了 9S 的珠蛋白 mRNA。(自 Kleinsmith & Kish,1995)