

小鼠大脑皮质脊髓投射神经元核糖体蛋白质相关基因表达的研究

陈林华[#] 王丽花[#] 王教^{*} 李雪

(温州医科大学附属眼视光医院, 温州 325027)

摘要 该研究采用激光显微切割技术从小鼠大脑第五皮层捕获少量皮质脊髓投射神经元, 并分析其分子生物学特征。首先, 提取神经元微量RNA, 再借助WT-ovation试剂盒扩增RNA, 随后利用合成的cDNA进行荧光定量PCR实验, 分析投射神经元核糖体蛋白相关基因的表达情况。结果发现, 与大脑皮层其它皮层组织相比, 第五皮层投射神经元内部分核糖体蛋白相关基因的表达相对较高。这表明第五皮层投射神经元可能具有活跃的蛋白质合成功能, 是核糖体蛋白质的能量场所, 借此维持第五皮层脊髓投射神经元长轴突和大胞体的能量需要。

关键词 WT-ovation; 投射神经元; 核糖体蛋白质

Research on Ribosomal Protein Genes Expression with CorticoSpinal Projection Neurons from Layer V of the Mouse Cortical Cortex

Chen Linhua[#], Wang Lihua[#], Wang Jiao^{*}, Li Xue

(Ophthalmology and Eye Hospital, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China)

Abstract In this study, we captured the small amounts of corticospinal projection neurons (CSPNs) from layer V of the mouse cortical cortex by Laser Capture Microdissection technology, and analyzed its molecular biology characteristics. RNA was extracted from mouse CSPNs, and then amplified with WT-ovation kit. After cDNA was reverse transcribed from the amplified RNA, Real-time quantitative PCR was performed. We analyzed the ribosomal protein genes expressions of CSPNs. Our results showed that the mRNA expression levels of some ribosomal proteins within layer V projection neurons were much higher compared with those of other layers. It indicated that the protein synthesis function of layer V projection neurons might be active. It provided a space for energy synthesising of ribosomal proteins. The energy played an essential role for maintaining layer V projection neurons—long axons and big soma.

Key words WT-ovation; projection neurons; ribosomal protein

哺乳动物整个大脑皮层中, 包含数以百万计的细胞, 例如神经细胞、胶质细胞等。成熟的大脑从

皮层到髓质可分为六层, 其中第五皮层由大、中锥体细胞, 星型胶质细胞和Martinotti细胞组成, 其细胞密度在各层中最低, 但是其中的锥体细胞却是六层中最大的, 故第五皮层也称为大锥体细胞层。第五皮层的大锥体神经元向上发出树突, 投射到浅皮层; 同时也发出向下的轴突, 将调控信号投射到除丘脑以外的众多皮层下区域, 如丘核、脑桥和脊髓等。皮质脊髓投射神经元(corticospinal projection neuron, CSPN)位于第五皮层, 运动区的CSPN向下发出轴突投射到脊髓并构成了体内最长的神经轴突联系, 即

收稿日期: 2013-11-01 接受日期: 2013-11-26
浙江省自然科学基金(批准号: Y2100855)资助的课题
#共同第一作者

*通讯作者。Tel: 0577-88067934, E-mail: wj@mail.eye.ac.cn

Received: November 1, 2013 Accepted: November 26, 2013

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No. Y2100855)

#These two authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-577-88067934, E-mail: wj@mail.eye.ac.cn

网络出版时间: 2014-03-03 12:18

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.03.0360.html>

皮质脊髓束(corticospinal track, CST); 而成熟的视觉区神经元则投射到上丘。近年来, 在轴突导向分子方面的研究促进了我们对轴突投射形成过程的了解。陈捷光等^[1]研究转录因子*Fezf2*时, 发现*Fezf2*选择性表达在第五皮层锥体神经元中, 并决定该层锥体神经元轴突的下行性投射方向。

哺乳动物的大脑皮层接受、整合来自身体各处的感觉信息, 并依靠第五皮层的下行性投射神经元将控制信息传递出去, 第五皮层信息传递依赖于CSPN的大锥体、长轴突投射的细胞特性, 这一特性要求有大量能量供应。核糖体作为能量工厂, 可能对CSPN的生长、分化、成熟有重要作用, 因此对CSPN核糖体的研究也显得极为重要。基于以往技术的局限性, 对神经元的研究都是在大脑全皮层组织的水平上, 无法分离单一的第五皮层CSPN, 故对第五皮层CSPN核糖体蛋白质相关基因的研究较少。激光显微切割(laser capture microdissection, LCM)可以在显微镜下从含有不同成分的组织中, 高度选择性地获取某一特定的同类细胞甚至某一单个细胞。本研究项目以LCM来源的微量CSPN为材料, 利用WT-ovation试剂盒扩增微量RNA, 并结合定量PCR技术, 开创了一种可以在体分离单一神经元胞体的技术, 系统性建立一种高效率扩增方法并应用于第五皮层CSPN中核糖体蛋白质相关基因的研究。

1 材料与方法

1.1 实验对象

清洁级美国癌症研究所(institute of cancer research, ICR)小鼠, 来自并繁殖于温州医学院动物学实验室。

1.2 实验材料

Superscript III Firststrand Kit和Real-time PCR试剂均购自美国Life technologies公司, RNeasy Mini

Kit和PCR purification Kit购自德国Qiagen公司, WT-ovation Kit购自美国Nugen公司, PicoPure RNA Kit及激光显微切割试剂均购自Arcturus公司。实验所需主要仪器为Arcturus公司的XT系统激光切割机和ABI公司的Vii7型荧光实时定量PCR仪。

1.3 小鼠大脑全皮层RNA的提取

选取8只ICR小鼠, 颈椎脱臼法处死小鼠, 显微镜下用眼科镊分离得到小鼠大脑全皮层组织, 用Trizol方法提取并纯化RNA。

1.4 小鼠大脑第五皮层细胞RNA的提取

小鼠冰冻麻醉后, 在大脑椎体交叉处注射逆行示踪剂Red beads, 标记第五皮层细胞, 待小鼠存活2 d后再处死, 取脑组织包埋, 做冰冻切片, 用激光显微切割仪捕获标记的第五皮层细胞; 使用Pico pure RNA Kit提取细胞的RNA, 并保存于-80 °C冰箱。

1.5 WT-ovation方法^[2]扩增微量RNA

在0.2 mL EP管中, 加入50 ng的RNA、WT-ovation Kit中提供的2 μL First strand primer A1、2.5 μL Buffer Mix A2、0.5 μL Enzyme Mix A3, 混匀后孵育65 °C, 2 min→4 °C, 1 min→25 °C, 10 min→42 °C, 10 min→70 °C, 15 min→4 °C, 合成双链cDNA; SPA扩增: 在纯化的cDNA中, 加80 μL C2、40 μL C1、40 μL C3溶液, 混匀后, 4 °C, 1 min→47 °C, 60 min→95 °C, 5 min→4 °C, 置冰上冷却, 扩增后cDNA做Real-time PCR实验。

1.6 Real-time PCR实验

用SYBR Green荧光标记方法, 以β-actin为内参基因。Real-time PCR反应体系为25 μL, 包括12.5 μL 2×SYBR Green mix、1.25 μL 20×Primer、1.5 μL cDNA、9.75 μL ddH₂O。反应程序为: 50 °C预热2 min; 95 °C预变性10 min; 95 °C变性15 s, 60 °C退火并延伸60 s, 体系反应40个循环。

1.7 WT-ovation扩增RNA后的芯片分析

LCM捕获出生8 d ICR小鼠的大脑第五皮层运

表1 皮层标志性基因引物序列

Table 1 The primer sequences of cortex marker genes

引物 Primer	序列(5'→3')	引物 Primer	序列(5'→3')
	Sequence (5'→3')		Sequence (5'→3')
<i>Fezf2L</i>	gca aag gct ttc acc aaa aa	<i>Otx1L</i>	tga acc ttc ctt ctc cga aat ctg c
<i>Fezf2R</i>	gca tgt gga agg tca gat tg	<i>Otx1R</i>	act ttc cca cct act gaa cca agc g
<i>Foxp2L</i>	aag gag cag tgt gga ctg tg	<i>RorbL</i>	tca agg cgt atc aaa gca agt
<i>Foxp2R</i>	gca gac tgg cat tta gag ctg	<i>RorbR</i>	aag cct gtt atc cgc ttg g
<i>Plexina4L</i>	cag caa tgt tgt ggt gat gtt		
<i>Plexina4R</i>	tag gat gga gag cgc ctg t		

动区(motor cortex, MC)和视觉区(visual cortex, VC)的CSPN约1 500个,提取MC、VC细胞的RNA,进行WT-ovation扩增,做实时定量PCR实验检测大脑第四、五、六皮层以及全皮层的标志性基因(表1);扩增后的RNA送上海生物芯片有限公司进行基因芯片分析。再根据芯片结果,筛选出高表达的基因,取50 ng cDNA,以 β -actin为内参基因,做核糖体蛋白质相关基因的定量PCR实验(表2)。以出生8 d ICR小鼠大脑全皮层MC和VC组织提取的RNA作为实验对照组。

1.8 统计学方法

统计学分析采用SPSS 16.0软件包,定量PCR数据结果中:基因D-Ct值=目标基因(Ct_{test})-内参基因(Ct_{control}),实验数据用 2^{-DDCt} 表示相对倍数关系,以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义。

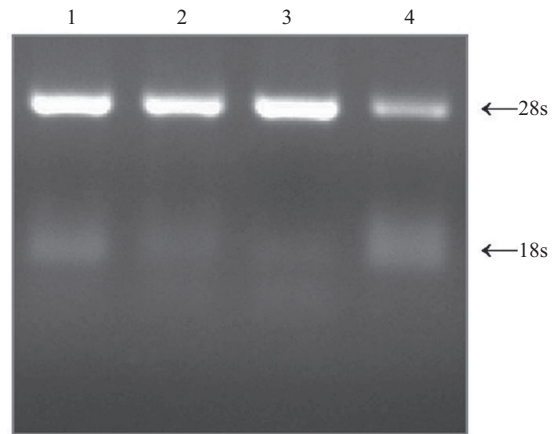
2 结果

2.1 小鼠全皮层组织及大脑第五皮层细胞RNA电泳结果

为验证原始RNA的完整性,取10 μ L全皮层组织及大脑第五皮层CSPN细胞(未扩增)的RNA,进行RNA电泳检测。结果如图1所示:4个样品的原始RNA条带完整,均有28S和18S,未降解,可用于后续实验。

2.2 LCM捕获CSPN后的扩增结果

LCM捕获MC层和VC层的CSPN,其RNA经WT-ovation扩增,做实时定量PCR实验后,检测大脑第四、五、六皮层以及全皮层的标志性基因,大脑



1: 全皮层视觉区组织的RNA; 2: 视觉区CSPN细胞的RNA; 3: 全皮层运动区组织的RNA; 4: 运动区CSPN细胞的RNA。

1: RNA from visual cortex within the whole cortex; 2: RNA from visual cortex within CSPNs; 3: RNA from motor cortex within the whole cortex; 4: RNA from motor cortex within CSPNs.

图1 全皮层组织及第五皮层细胞RNA电泳图

Fig.1 RNA electropherogram of cerebral cortex tissue and the layer V of cortical cortex

中Plexina4是全皮层表达的标志性基因, Fezf2和Otx1是第五皮层表达的标志性基因, Rorb是第四皮层表达的标志性基因, Foxp2是第六皮层(第五皮层也有部分)表达的标志性基因^[1]。结果(图2)所示: MC(tissue)与MC(WT-ovation扩增)、VC(tissue)与VC(WT-ovation扩增)做比较,第五层标志性基因Fezf2、Otx1^[1]极大地富表达在LCM捕获的CSPN上,并有显著性差异。而全皮层的标志性基因Plexina4、第四皮层标志性基因Rorb、第六皮层标志性基因Foxp2等在CSPN与全皮层组织中表达没有统计学差异。据此,

表2 核糖体蛋白质基因引物序列

Table 2 The primer sequences of ribosomal protein genes

引物 Primer	序列(5'→3') Sequence (5'→3')	引物 Primer	序列(5'→3') Sequence (5'→3')
β -ActinL	cta caa tga gct gcg tgt gg	Rpl41L	tgc tgc cat cgg taa tga g
β -ActinR	acc aga ggc ata cag gga ca	Rpl41R	ggg tgc aag aaa ggc ggt ca
Rpl7L	gag gaa gaa gtt tgc cct ga	Rps3L	ccc atc tcc gaa cag aag g
Rpl7R	ttg tga tag tgc ttt gcc ttc t	Rps3R	cag ctg cca aga ccc tgt
Rpl12L	cga aga tgc gtc ctc tgg	Rps9L	atc cgc caa cgt cac att a
Rpl12R	ctg aga ccc ttc cag tca cc	Rps9R	tct tca ctc ggc ctg gac
Rpl14L	cat cct caa gtt ccc aca ca	Rps10L	acc tac aga agg agc get gt
Rpl14R	gct gcc cat ttc gta ttg at	Rps10R	gcc gcc tct aaa ctg gaa ct
Rpl23L	ttc ctg ctg ctg gtg ttg	Rps25L	cag agc cca agt aat tta cac ca
Rpl23R	cga att acc act gct gga tgt a	Rps25R	gaa cct gtt cat gca tct teg
Rpl39L	tgc gcg cta ttc ttg att c	Rps15aL	cat tgg tga att tga gat cat tg
Rpl39R	gtt ttc atc cgg atc cac tg	Rps15aR	ggg ctt ata acg cca cac tt

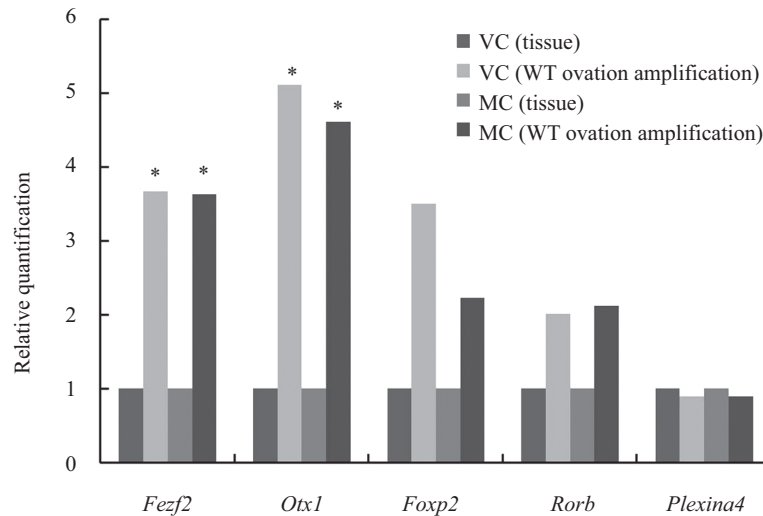
我们认为, 经LCM所获得的CSPN是我们最初希望得到的第五皮层细胞, 可用于做后续的实验分析。

2.3 WT-ovation扩增应用于CSPN基因分析

根据陈林华等^[3]提示, WT-ovation扩增RNA方法相对高效率, 因此选择WT-ovation扩增方法应用于CSPN的基因分析。LCM捕获P8 ICR小鼠大脑第五皮层MC、VC约1 500个CSPN, 提取RNA后经WT-ovation扩增, 合成cDNA, 做基因芯片分析(表3)。根据芯片结

果做定量PCR, 验证核糖体蛋白质相关基因的表达情况, MC(tissue)与MC(WT-ovation扩增)、VC(tissue)与VC(WT-ovation扩增)做比较, 并对结果作图(图3)。

结果显示, 来源于第五皮层MC、VC的CSPN, 其RNA经WT-ovation方法扩增后, 和全皮层组织MC、VC细胞RNA, 均做核糖体蛋白质相关基因的定量PCR实验, 其中第五皮层CSPN核糖体蛋白质相关基因的表达量比大脑全皮质组织较高, 且有显著性差异。



MC(tissue)、VC(tissue)是运动区和视觉区全皮质组织RNA; MC(WT-ovation扩增)、VC(WT-ovation扩增)是LCM捕获运动区和视觉区的CSPN的RNA。* $P < 0.05$, MC (tissue)与MC(WT-ovation扩增)、VC(tissue)与VC(WT-ovation扩增)比较。

MC (tissue) and VC (tissue) indicated RNA from motor cortex and visual cortex within the whole cortex. MC (WT-ovation amplification) and VC (WT-ovation amplification) indicated RNA from motor cortex and visual cortex within CSPNs which captured by LCM technology. * $P < 0.05$, MC (tissue) vs MC (WT-ovation amplification), VC (tissue) vs VC (WT-ovation amplification).

图2 皮质标志性基因定量PCR结果

Fig.2 The results of cortex marker genes by quantitative PCR

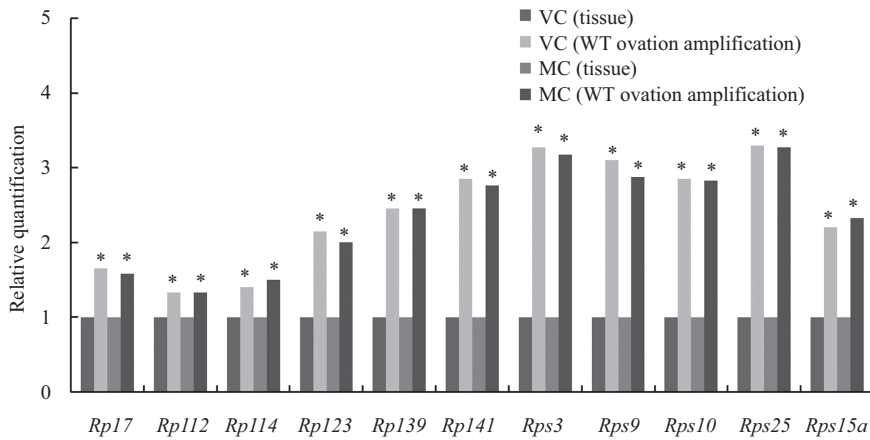
表3 核糖体蛋白质的基因芯片结果

Table 3 The results of ribosomal protein genes by microarray

基因 gene	标准信号值 Log ₂ NormSignal	视觉区	视觉区	运动区	运动区
		(组织) VC (tissue)	(WT-ovation扩增) VC (WT-ovation amplification)	(组织) MC (tissue)	(WT-ovation扩增) MC (WT-ovation amplification)
<i>Rpl17</i>		4.013 5	9.066 6	4.186 3	9.177 8
<i>Rpl12</i>		5.674 5	10.768 4	5.834 9	10.974 6
<i>Rpl14</i>		4.692 4	8.156 5	4.594 6	8.159 7
<i>Rpl23</i>		5.079 1	10.289 7	5.047 8	10.465 6
<i>Rpl39</i>		4.031 6	9.567 1	4.521 7	9.944 7
<i>Rpl41</i>		3.284 5	10.916 1	4.018 7	11.184 5
<i>Rps3</i>		3.125 1	9.425 9	3.074 5	9.516 0
<i>Rps9</i>		2.513 6	8.961 8	3.061 7	9.319 7
<i>Rps10</i>		3.105 9	9.951 1	3.321 8	10.052 6
<i>Rps25</i>		3.447 9	10.027 3	3.216 2	10.178 4
<i>Rps15a</i>		4.048 3	8.471 5	4.275 1	8.736 9

Affymetrix全基因芯片检测核糖体蛋白质相关基因, Log₂NormSignal数值大于8说明基因高表达。

Affymetrix microarray detected ribosomal protein genes, and Log₂NormSignal values that greater than 8 showed high gene expression.



* $P < 0.05$, MC(tissue)与MC(WT-ovation扩增)、VC(tissue)与VC(WT-ovation扩增)比较。

* $P < 0.05$, MC (tissue) vs MC (WT-ovation amplification), VC(tissue) vs VC (WT-ovation amplification).

图3 核糖体蛋白质相关基因定量PCR结果

Fig.3 The results of gene expression of ribosomal protein genes by quantitative PCR

3 讨论

RNA是基因组中遗传信息表达的核心和关键,也是生命科学研究的重要对象。虽然对RNA研究目的、技术手段等各不相同,但获取足够量RNA进行后续研究却是共同要求。通常情况下,从样品中直接提取RNA就能满足常规的实验分析,但随着许多先进实验仪器设备以及技术方法的应用,研究者对RNA的来源、数量和质量都提出了更新、更高的要求。近年来发展起来的基因芯片技术^[4-5],使我们能够检测大量在转录水平发生变化的基因表达情况,并提出关于这些基因功能及其基因产物相互作用的假设。但典型的芯片杂交至少需要2 μg mRNA,很难直接从组织获取足够的目标细胞,进行mRNA的提取^[4,6]。

随着RNA扩增技术的进展,有关大脑神经元分子生物学的研究也随之增加。哺乳动物的大脑依靠第五皮层具有大锥体、长轴突投射等细胞特性的下行性投射神经元—CSPN细胞,将控制信息传递出去。故要研究第五皮层的细胞特性,首先要从CSPN基因筛选进行探索;再者需了解维持大胞体、长轴突投射的能量来源。

核糖体作为细胞蛋白质合成的“工厂”,提供细胞生长发育所必需的大量蛋白。细胞的大部分能量与物质都用于核糖体的合成,正在生长的细胞中,大约95%的转录和绝大多数的能量都用于核糖体的合成^[7-8]。真核生物的核糖体由4条核糖体RNA(ribosomal RNA, rRNA)和80种核糖体蛋白(ribosomal protein, RP)构成^[9]。截至目前,已有75种RP的氨基酸序列被确定,这为进一步研究奠定了

基础。核糖体蛋白的主要功能是参与蛋白质的合成,此外还有核糖体外功能^[10-13],如参与复制、转录(RPS1、RPS10等)、翻译调控(RPS4、RPS6、RPS14、RPL17等)、正常细胞恶性转化(RPL5)等。核糖体蛋白基因表达异常将影响核糖体的功能,引发各种疾病,如肿瘤发生、免疫性疾病、代谢性疾病等。Shen等^[14]用mRNA展示技术扫描人类钙调素结合蛋白程序库时,发现40S核糖体蛋白(RPS4、RPS8、RPS14、RPS15a)和60S核糖体蛋白(RPL13a、RPL22)可与钙调素(CaM)结合,从而启动其核糖体装配和翻译进程。

近期研究表明,大脑神经元的轴突需要核糖体RNA、mRNA、转译因子、蛋白质合成^[15]等才能将信息传递下去。哺乳动物大脑皮层的神经信息,需依靠第五皮层神经元将控制信息传递出去,运动区的CSPN是体内最长的神经轴突联系,CSPN的细胞特性要求有大量能量供应。我们研究维持第五皮层长轴突投射的能量来源时,将目光放在能量工厂—CSPN的核糖体上。基于以往技术的局限性,无法分离单一的第五皮层CSPN,对大脑神经元核糖体的研究都是在脑全皮层组织的水平上,对单一CSPN神经元核糖体蛋白质相关基因的研究相对较少。

高通量基因筛选、基因芯片是目前分析基因表达的主要手段。由于大脑皮层各层之间没有明显的细分结构,因此在体分离单一类型的CSPN,以保证基因芯片分析数据的完整与可靠,目前仍是一个挑战。陈捷光等^[1]曾对来自大脑皮层组织的RNA进行基因芯片高通量分析,但是这些组织涵盖了不同类

型的细胞。虽然Arlotta等^[16]从分选的神经元中检测到了部分基因的表达谱(430A芯片, 含22 690 probe sets), 但由于制备单细胞悬液时会破坏CSPN的轴突, 因此其基因表达不能完全反映具有最长轴突CSPN的在体情况。

LCM技术是在显微状态或显微镜直视下, 通过显微操作系统对待选取的材料(组织、细胞群、细胞、细胞内组分或染色体区带等)进行切割分离、收集, 用于后续研究的一种技术。LCM的突出特点是可以从不同成分的组织中, 高度选择性地获取某一特定的同类细胞, 甚至是单个细胞。LCM虽然可以捕获单一类型的细胞, 使基因表达分析更为直接和准确, 但通常情况下, 通过在体神经细胞所捕获的细胞量较少, 难以直接提取足够的mRNA用于基因表达分析。为此, 科学家们研发出了一些可以对RNA进行扩增的技术, 以适应这些先进科学技术对RNA量的需求。Nugen公司在扩增方法的基础上, 合成了WT-Amplification™ pico system RNA试剂盒, 用WT-ovation扩增方法, 可以从pg数量级总RNA产生足够的所需材料, 进行芯片杂交分析^[17]。

本次实验结合LCM技术, 在可分离单一CSPN的基础上, 选择相对高效率的WT-ovation扩增方法, 应用于CSPN中核糖体蛋白质基因的扩增。第五皮层视觉区和运动区细胞, 经WT-ovation扩增后, 合成的cDNA做基因芯片分析; 根据芯片结果, 用定量PCR方法验证核糖体蛋白质相关基因的表达情况。结果显示: (1)核糖体蛋白质相关基因的表达情况与基因芯片结果一致, 认为经WT-ovation扩增后的RNA可用于基因芯片; (2)CSPN内部分核糖体蛋白质相关基因的表达比全皮质组织高, 提示来源于第五皮层的CSPN可能具有活跃的蛋白质合成功能, 合成的蛋白质提供能源, 促进CSPN的生长、分化、成熟, 并维持第五皮质脊髓投射神经元长轴突和大胞体的需要。

随着微量RNA扩增技术的不断改进, 联合LCM、膜片钳、电生理等技术, 已被广泛应用于大脑神经元分子特性分析。我们推测, 可将WT-ovation扩增技术运用于其他微量样品研究, 如对大脑及其他组织中的单个细胞浆液、甚至更少的样品进行相关基因表达分析。Telfeian等^[18]用WT-ovation RNA扩增技术及膜片钳技术, 发现中间神经元和海马锥体神经元内, GABA及其代谢酶、谷氨酸受体亚单位基因等有表达差异, 可用来指导癫痫的治疗。因

此, 我们的研究将有助于微量RNA扩展技术的不断更新, 希望能够在其他科学研究中得到广泛应用。

参考文献 (References)

- 1 Chen JG, Rasin MR, Kwan KY, Sestan N. Zfp312 is required for subcortical axonal projections and dendritic morphology of deep-layer pyramidal neurons of the cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(49): 17792-7.
- 2 李轶女, 胡英考, 张志芳, 沈桂芳. RNA扩增的研究进展. *遗传 (Li Yinv, Hu Yingkao, Zhang Zhifang, Shen Guifang. Progress of RNA amplification. Hereditas)* 2007; 29(8): 907-14.
- 3 陈林华, 赵月娥, 陈晓燕, 高 英. 两种微量RNA扩增方法的比较研究. *中国细胞生物学学报 (Chen Linhua, Zhao Yuee, Chen Xiaoyan, Gao Ying. Comparison of two different amplification methods for small amounts of total RNA. Chinese Journal of Cell Biology)* 2011; 33(4): 391-6.
- 4 Richmond T, Somerville S. Chasing the dream: Plant EST microarrays. *Curr Opin Plant Biol* 2000; 3(2): 108-16.
- 5 Aharoni A, Vorst O. DNA microarrays for functional plant genomes. *Plant Mol Biol* 2001; 48(1/2): 99-118.
- 6 Duggan DJ, Bitner M, Chen Y, Meltzer P, Trent JM. Expression profiling using cDNA microarrays. *Nat Genet* 1999; 21(1 Suppl): 10-4.
- 7 Nomura M. Ribosomal RNA genes, RNA polymerases, nucleolar structures, and synthesis of rRNA in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2001; 66: 555-65.
- 8 Warner JR. The economics of ribosome biosynthesis in yeast. *Trends Biochem Sci* 1991; 24(11): 437-40.
- 9 Wool IG. The structure and function of eukaryotic ribosomes. *Annu Rev Biochem* 1979; 48: 719-54.
- 10 Ogle JM, Carter AP, Ramakrishnan V. Insights into the decoding mechanism from recent ribosome structures. *Trends Biochem Sci* 2003; 28(5): 259-66.
- 11 Rodnina MV, Daviter T, Gromadski K, Wintermeyer W. Structural dynamics of ribosomal RNA during decoding on the ribosome. *Biochimie* 2002; 84(8): 745-54.
- 12 Wahl MC, Moller W. Structure and function of the acidic ribosomal stalk proteins. *Curr Protein Pept Sci* 2002; 3(4): 485-6.
- 13 Stoneley M, Willis AE. Cellular internal ribosome entry segments: Structures, trans-acting factors and regulation of gene expression. *Oncogene* 2004; 23(18): 3200-7.
- 14 Shen X, Valencia CA, Szostak JW, Dong B, Liu R. Scanning the human proteome for calmodulin-binding proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(17): 5969-74.
- 15 Steward O, Schuman EM. Protein synthesis at synaptic sites on dendrites. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 299-325.
- 16 Arlotta P, Molyneaux BJ, Chen J, Inoue J, Kominami R, Macklis JD. Neuronal subtype-specific genes that control corticospinal motor neuron development *in vivo*. *Neuron* 2005; 45(2): 207-21.
- 17 Clément-Ziza M, Gentien D, Lyonnet S, Thiery JP, Besmond C, Decraene C. Evaluation of methods for amplification of picogram amounts of total RNA for whole genome expression profiling. *BMC Genomics* 2009; 10(3): 246.
- 18 Telfeian AE, Tseng HC, Baybis M, Crino PB, Dichter MA. Differential expression of GABA and glutamate-receptor subunits and enzymes involved in GABA metabolism between electrophysiologically identified hippocampal CA1 pyramidal cells and interneurons. *Epilepsia* 2003; 44(2): 143-9.