

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2015.02.03

大鼠肝脏半乳糖凝集素-3 cDNA 分子多样性分析

方恩浩^{1,2}, 张珊珊³, 刘倩芸³, 周建钟⁴, 杨仙玉^{1*}

(1. 浙江农林大学动物科技学院, 浙江 临安 311300;

2. 浙江农林大学集贤学院, 浙江 临安 311300;

3. 浙江农林大学林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300;

4. 浙江省林业生物质化学利用重点实验室, 浙江 临安 311300)

摘要:半乳糖凝集素-3(Galectin-3, Gal-3)是一种多功能蛋白,参与机体内的多种生命活动过程。为分析大鼠 *Rattus norvegicus gal-3* cDNA 分子多样性,在分析 GenBank 注册的大鼠 *gal-3* cDNA 序列的同时,从三只不同大鼠个体的肝脏第一链cDNA,共计9个独立实验中克隆 *gal-3* 开放阅读框 ORF (Open reading frame)。分析结果表明,在已注册的序列中存在1个单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP)。本实验从1-3号大鼠肝脏分别获得118、95和120个克隆,新发现1处缺失和5处SNP,共克隆17个不同的 *gal-3* ORF,其中仅1个克隆与已报告大鼠 *gal-3* cDNA 的 ORF 完全相同。从1号和3号个体肝脏中分别克隆11和14个不同的 *gal-3* ORF,揭示大鼠 *gal-3* cDNA 存在个体水平的分子多样性。

关键词:大鼠;半乳糖凝集素-3;cDNA 多样性;单核苷酸多态性

中图分类号:S443.5;Q533+.3 文献标志码:A 文章编号:1672-5565(2015)-02-088-08

Liver galectin-3 cDNA diversity in *Rattus norvegicus*

FANG Enhao^{1,2}, ZHANG Shanshan³, LIU Qianyun³, ZHOU Jianzhong⁴, YANG Xianyu^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an 311300, China;

2. Jixian Honors College, Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an 311300, China;

3. School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an 311300, China;

4. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Chemical Utilization of Forestry Biomass, 88 Huancheng Beilu, Lin'an 311300, China)

Abstract: Galectin-3 (Gal-3) is a multi-functional protein involved in many biological processes. To clarify the *gal-3* cDNA diversity of *Rattus norvegicus*, cloning of *gal-3* open reading frame (ORF) from liver first strand cDNA of three individuals was performed totally from 9 independent experiments. Consequently, 118, 95 and 120 clones were obtained from three individuals, respectively. Alignment of all these sequences indicated 1 deletion and 5 single nucleotide polymorphism (SNP) sites, and 17 different clones were obtained. Nine out of the 17 clones appeared in two or more independent experiments, and 11 and 14 different clones were obtained from the first and the third individuals, respectively. These results indicated the objectivity of liver *gal-3* cDNA diversity at individual level in *R. norvegicus*.

Keywords: *Rattus norvegicus*; Galectin-3; cDNA diversity; SNP

收稿日期:2015-01-12;修回日期:2015-03-15.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31372149);国家级大学生创新创业训练计划项目(201310341017)。

作者简介:方恩浩,男,本科生,研究方向:动物科学;E-mail:2227909306@qq.com.

*通信作者:杨仙玉,女,教授,研究方向:动物分子生物学;E-mail:yangxy78@zafu.edu.cn.

近年来,高通量 DNA 测序技术的发展,基因组和转录组的数据在不断的积累,学者们逐渐发现转录子的多样性以及转录产物(RNA)与基因组 DNA 不相匹配的现象,而且这种多样性出现于个体水平^[1-2]。半乳糖凝集素(Galectins, Gal)作为动物类凝集素,通过其高度保守的糖识别结构域(Carbohydrate recognition domain, CRD)特异性识别并结合 β -半乳糖苷,从而发挥其生物学功能^[3]。在哺乳类,已发现 15 个家族成员,分为原型、串联重复型和嵌合型三类^[3]。半乳糖凝集素-3(Gal-3)是该家族唯一嵌合型代表,具有多种生物学功能,参与细胞增殖与分化、血管发生及肿瘤发生与转移等多种生命过程,在正常细胞和肿瘤细胞中均有表达^[4-7]。Gal-3 由单拷贝基因 *LGALS3* 编码,包含 5 个内含子和 6 个外显子,约由 250 个氨基酸残基组成,相对分子质量约 31 kD,由 3 个结构域组成^[8]。(1) N 端结构域(N-terminal domain):由 12 个氨基酸残基组成,Ser6 磷酸化位点具有细胞靶向调节作用;(2) 串联重复序列:由富含 Gly、Tyr 和 Pro 的串联重复序列的类胶原结构组成(Repetitive collagen-like sequence);(3) CRD:由一个糖识别结构域组成,包含凋亡基因 Bcl-2 家族同源序列 BH1 中的保守基序 NWGR(Asp-Trp-Gly-Arg)^[8]。在前期研究工作中,作者发现中华大蟾蜍 *Bufo gargarizans* 皮肤第一链 cDNA 中 *gal-3* 开放阅读框(Open reading frame, ORF)存在个体水平的分子多样性^[9-11]。鉴于 Gal-3 是一种多功能蛋白,分析哺乳动物 *gal-3* cDNA 分子个体水平的多样性具有重要的生物学意义。本文选择哺乳类模式动物大鼠 *Rattus norvegicus* 为研究材料,对其肝脏 *gal-3* ORF 进行克隆,并对其多样性进行分析 and 讨论。

1 材料与方法

1.1 试验动物和主要试剂

SD 大鼠(*Rattus norvegicus*)购自浙江省实验动物中心,取其肝脏剪成小块投入液氮中快速冷冻,再转入 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱保存备用。

RNA 提取试剂盒购自上海博彩生物技术公司,Quantscript RT kit、pGM-T 载体、大肠杆菌 *E. coli* 感受态细胞 DH5 α 购自北京天根生化科技有限公司, DNA 聚合酶链式反应 PCR(Polymerase chain reaction)试剂盒购自 TaKaRa,引物合成与 DNA 测序委托上海桑尼生物科技有限公司。

1.2 引物设计

为克隆大鼠 *gal-3* ORF,参考 GenBank 已注册

的大鼠 *gal-3* cDNA 序列(Accession number: FQ220174, BC089054, FQ210101, FQ214799, FQ219929, FQ219987, FQ220157, FQ220215, FQ220224, FQ220313, FQ220348, FQ220361, FQ220369),在 ORF 上、下游分别设计引物 P1(5'-AGGAGGAGCACTAACCAGAAA-3')和 P2(5'-TTTCCCGCTCATAACACACAG-3')。

1.3 大鼠肝脏第一链 cDNA 的合成及 *gal-3* ORF 克隆

首先按试剂盒使用说明,纯化大鼠肝脏总 RNA,通过琼脂糖电泳和分光光度计检测其浓度和完整性后,合成其第一链 cDNA。然后以大鼠肝脏第一链 cDNA 为模板,以 1.2 中设计的 P1 与 P2 为引物,按照试剂盒说明实施 PCR。经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,将 PCR 产物与 T 载体进行连接、转化。然后通过蓝白斑筛选和菌落 PCR 筛选阳性菌落及回收其重组质粒,并委托公司进行测序。为排除在反转录、PCR 或 DNA 测序等实验过程中可能人为导入的碱基变化,本实验对每一个体的肝脏第一链 cDNA 均实施 3 组独立的 PCR 及克隆实验,将每个实验编号为 $x-y$ (x 表示大鼠个体编号 1-3, y 表示实验组号)。

1.4 缺失及 SNP 分析

将重复出现于两个或更多独立实验中的碱基变化(包括单核苷酸多态性 SNP(Single nucleotide polymorphism, SNP)和缺失)确定为客观存在的;反之,为实验过程中导入的。

1.5 同源性分析

利用 EditSeq 寻找已测序样品的 ORF,利用 NCBI Blast 功能在 GenBank 中查找下载其他物种同源蛋白的氨基酸序列(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),利用 ClustalX 2.0 进行同源性分析。

2 结果

2.1 大鼠 *gal-3* ORF 克隆及其多样性分析

从 1 号个体三个独立实验中分别克隆 31、36 和 51 个 *gal-3* ORF 克隆(表 1),即从 1 号个体共计克隆 118 个 *gal-3* ORF。从 2 号和 3 号个体分别获得 95 和 120 个 *gal-3* ORF 克隆(表 1)。将所有序列进行比对分析,发现 1 处缺失($\Delta 301-321$ bp)和 5 处 SNP 18(A-G)、43(T-C)、356(T-A)、441(A-G)和 488(A-G)(表 1)。与大鼠结构基因对比分析发现,SNP 18(A-G)发生于第 2 外显子 3' 末端,SNP 48(T-C)和 356(T-A)以及 $\Delta 301-321$ bp 位于第 3 外显子内部,SNP 441(A-G)和 488(A-G)分别位于第 4、第 5 外显

子内部(见图1)。进一步分析发现,本文共计克隆17个不同的大鼠 *gal-3* ORF(见表2,CL1-17)。其中9个克隆(CL1, 2, 3, 7, 8, 9, 12, 16, 17)重复出现于2个或更多独立的实验中,CL1出现于所有独立实验(见表3),并与 GenBank 已注册大鼠 *gal-3* cDNA (Accession number: FQ220174)的 ORF 完全相同(见

图2),CL16在1号和3号个体的所有实验中均有出现(见表3)。从1号和3号个体分别获得11和14个不同的克隆,2号个体中由于没有发现缺失和SNP,因此仅有1个克隆(见表3)。尽管个体间存在一定的差异,但是这些实验结果仍然揭示大鼠肝脏 *gal-3* cDNA个体水平的分子多样性。

表1 大鼠 *gal-3*ORF 的缺失及单核苷酸多态性

Table 1 Summary of SNP/deletion in *gal-3*ORF in different experiments

| 实验组 | 总克隆数 | 缺失及 SNP 位置(bp) | | | | | |
|-----|------|----------------|------|----------|--------|--------|--------|
| | | 18 * | 42 * | △301-321 | 356 ** | 441 ** | 488 ** |
| 1-1 | 31 | A, G | T, C | +, - | T, A | A, G | A, G |
| 1-2 | 36 | A, G | T, C | +, - | T, A | A, G | A, G |
| 1-3 | 51 | A, G | T, C | +, - | T, A | A, G | A, G |
| 2-1 | 45 | A | T | - | T | A | A |
| 2-2 | 23 | A | T | - | T | A | A |
| 2-3 | 27 | A | T | - | T | A | A |
| 3-1 | 37 | A, G | T, C | +, - | T, A | A, G | A, G |
| 3-2 | 22 | A, G | T, C | +, - | T, A | A, G | A, G |
| 3-3 | 61 | A, G | T, C | +, - | T, A | A, G | A, G |

注: *: 示该SNP导致同义突变; **: 示该SNP导致错义突变; bp: 碱基对; A, T, C, G: 代表4种脱氧核糖核苷酸; △: 缺失; -, +: 分别代表缺失的有无。

Notes: *: Show the SNP resulting in synonymous mutation; **: Missence mutation, respectively; bp: Base pair; A, T, C, G: Represent 4 kinds of deoxynucleotides; △: Deletion; -, +: Indicate no deletion or the existence of deletion, respectively.

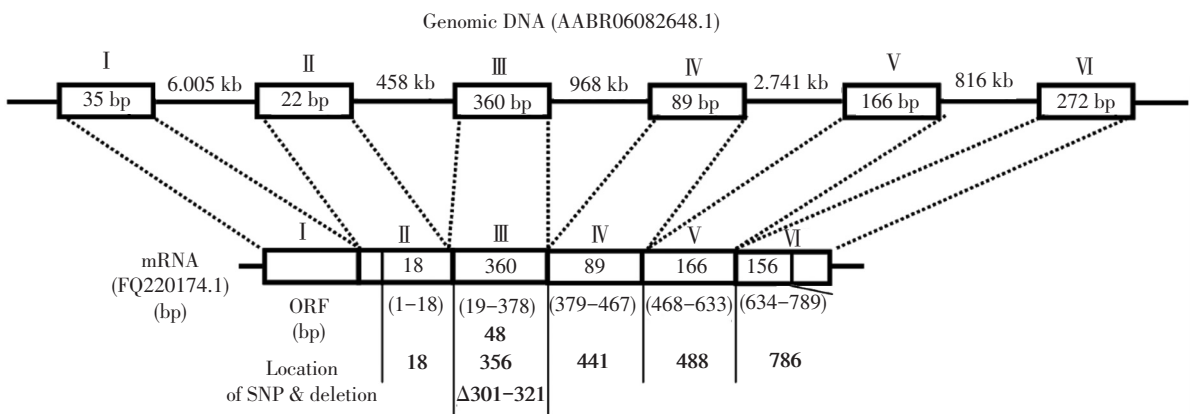


图1 大鼠 *LGALS3* 基因及肝脏 SNP 在 ORF 中的位置及两者的对应关系

Fig.1 Schematic representation of the structure of genomic DNA of *gal-3* (*LGALS3*) of *Rattus norvegicus* and the locations of SNP/deletion in open reading frame (ORF) and their relationship

注:长方形:外显子;线段:内含子;罗马数字:外显子序号;bp, kb: 碱基对, 千碱基对;△: 缺失;正常数字:外显子和内含子的长度;加粗数字:示缺失或SNP的位置。

Notes: Rectangle: Exon; Line: Intron; Roman numerals: Serial number of exon;bp, kb: Base pair and kilobase pair. △: Deletion; Number in regular: Length of exon and intron; Bold number: Deletion or the location of SNP.

表 2 大鼠不同 gal-3ORF 克隆在不同实验中的出现情况

Table 2 Summary of different clones (CL) appeared in different experiments and the detail of SNP/deletion in each clone

| 克隆名称 | 出现该克隆的实验组 | 缺失与 SNP 位置 (bp) | | | | | |
|------|--------------------|-----------------|----|----------|-----|-----|-----|
| | | 18 | 42 | Δ301-321 | 356 | 441 | 488 |
| CL1 | 全部 | A | T | - | T | A | A |
| CL2 | 1-1, 1-2, 3-2, | A | T | - | T | A | G |
| CL3 | 3-y | A | T | - | T | G | G |
| CL4 | 3-2, | A | T | - | T | G | A |
| CL5 | 3-1, | A | T | - | A | G | G |
| CL6 | 3-2, | A | T | - | A | G | A |
| CL7 | 1-2, 1-3, 3-3, | A | T | + | A | A | A |
| CL8 | 1-2, 3-1, 3-3 | A | T | + | A | G | G |
| CL9 | 1-3, 3-1, | A | T | + | A | G | A |
| CL10 | 1-3, | A | C | + | A | G | G |
| CL11 | 3-3 | A | C | - | T | A | G |
| CL12 | 1-2, 1-3, 3-1, 3-3 | G | C | - | T | A | A |
| CL13 | 3-2, | G | C | - | T | A | G |
| CL14 | 1-2, | G | C | - | T | G | G |
| CL15 | 1-2, | G | C | - | A | G | G |
| CL16 | 1-y, 3-y | G | C | + | A | G | G |
| CL17 | 1-1, 3-1, 3-2, | G | C | + | A | A | A |

表 3 不同克隆在不同实验组中的出现频次

Table 3 Frequency of different gal-3clones appeared in different experiments

| 实验组 | 总克隆数 | 不同克隆数 | 不同克隆的数量 | | | | | | | | | |
|-----|------|-------|---------|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|--------|
| | | | CL1 | CL2 | CL3 | CL7 | CL8 | CL9 | CL12 | CL16 | CL17 | others |
| 1-1 | 31 | 4 | 11 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 | 1 | 0 |
| 1-2 | 36 | 8 | 13 | 1 | 0 | 1 | 5 | 0 | 4 | 10 | 0 | 2 |
| 1-3 | 51 | 6 | 19 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 3 | 25 | 0 | 1 |
| 2-1 | 45 | 1 | 45 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2-2 | 23 | 1 | 23 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2-3 | 27 | 1 | 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3-1 | 37 | 8 | 17 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 1 | 10 | 1 | 4 |
| 3-2 | 22 | 8 | 13 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 3 |
| 3-3 | 61 | 7 | 29 | 0 | 1 | 1 | 5 | 0 | 2 | 22 | 0 | 1 |

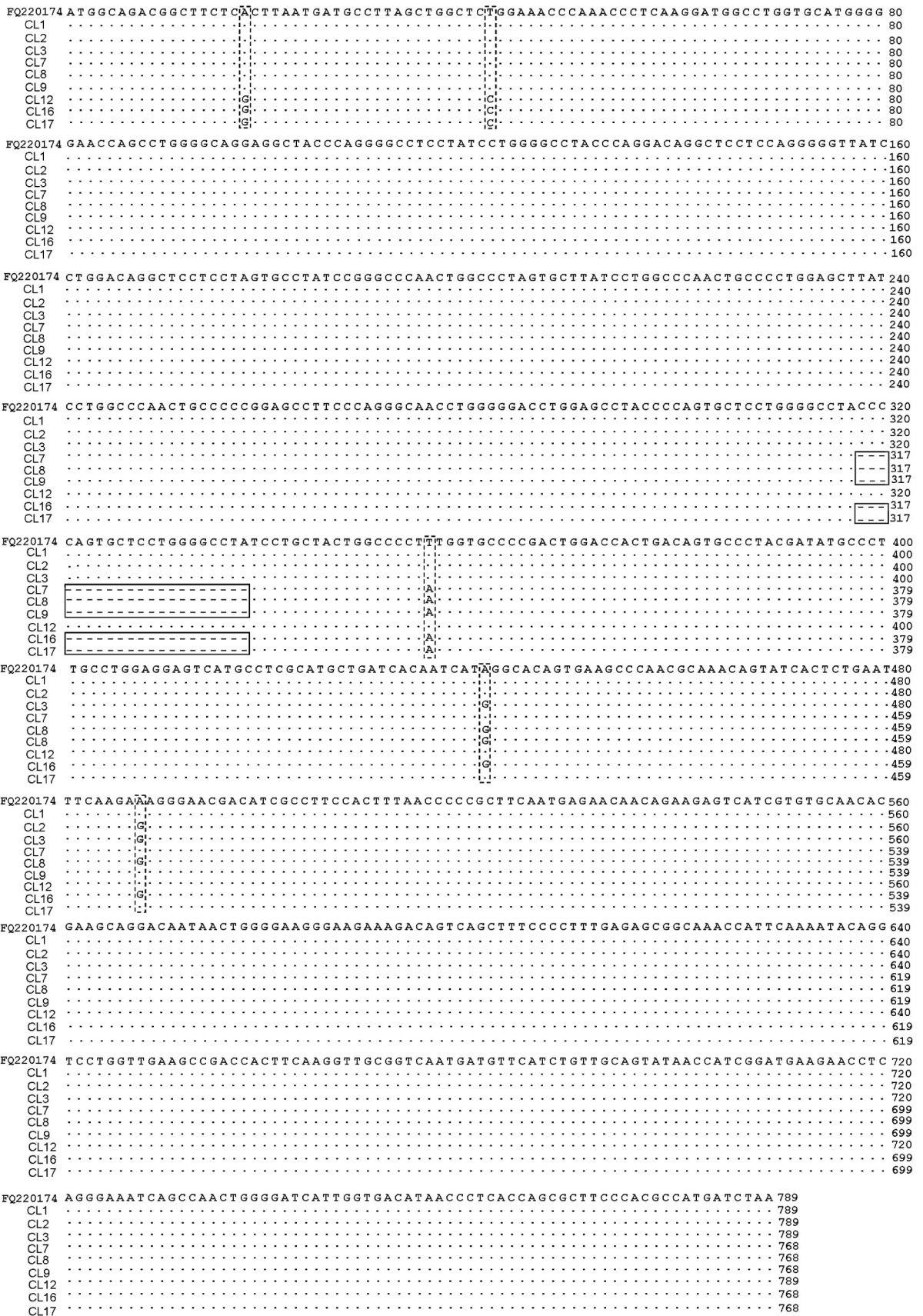
2.2 大鼠 GenBank 注册 gal-3 ORF 分析

为简化数据分析的复杂性,作者从 GenBank 注册的大鼠 gal-3 cDNA 序列中,首先选择了无插入和缺失的具有完整 ORF(789 bp)的所有序列,共计 13 个(见材料与方法 1.2)。其次,在序列分析过程中,针对其 ORF 进行了比较。分析结果发现 1 个 SNP: 786 (C-T),与本实验中发现的 5 个 SNP 均不同,位于第 6 外显子内部(见图 1),将 13 个 cDNA 分为两组。第一组包括 5 个克隆,其 ORF 与本文报告的 CL1 完全相同,第二组包括 8 个克隆,在本实验中尚未发现。

2.3 大鼠 Gal-3 氨基酸变化位点分析

上述 18 个不同的 gal-3 ORF (2 个源自 GenBank, 16 个为本文新发现) 实际编码 9 个不同多肽链,表明 cDNA 分子多样性导致其编码蛋白的多样性。多肽链之间产生差异的原因有两个:一是 21 bp 的缺失使 17

个不同的多肽链分为两组,即 789 bp 的长型 ORF (long type, L type) 和 768 bp 的短型 ORF (short type, S type),分别编码由 262 和 255 个氨基酸残基组成的大鼠 Gal-3;二是 6 处 SNP (1 个源自 GenBank, 5 个源自本实验)中,18 (A-G)、43 (T-C) 和 786 (C-T) 三处 SNP 为同义突变,356 (T-A)、441 (A-G) 和 488 (A-G) 三处为错义突变(见表 1),导致其对应编码氨基酸的改变(见图 3)。结果 CL1 和 12 编码相同的肽链,CL2、11 和 13,CL3 和 14,CL5 和 15,CL8、10 和 16,CL7 和 17 分别编码相同肽链,CL4、6 和 9 各自编码不同的肽链。但是,这些氨基酸的变化并没有发生在磷酸化位点、糖基结合位点以及与 Gal-3 生物学功能关系密切的两个保守基序上(见图 3),暗示氨基酸的替换或减少并没有改变 Gal-3 与 β-半乳糖苷结合的生物学特征。

图2 大鼠 *gal-3* ORF 多序列比对Fig.2 Alignment of multiple *gal-3* ORF of *Rattus norvegicus*

注: ·: 与第一行的相应碱基相同; 实线矩形: 碱基缺失; 虚线矩形: SNP。

Notes: ·: The same as that in the reference sequence; Line enclosed rectangle: Deletion; Dot line enclosed rectangle: SNP.

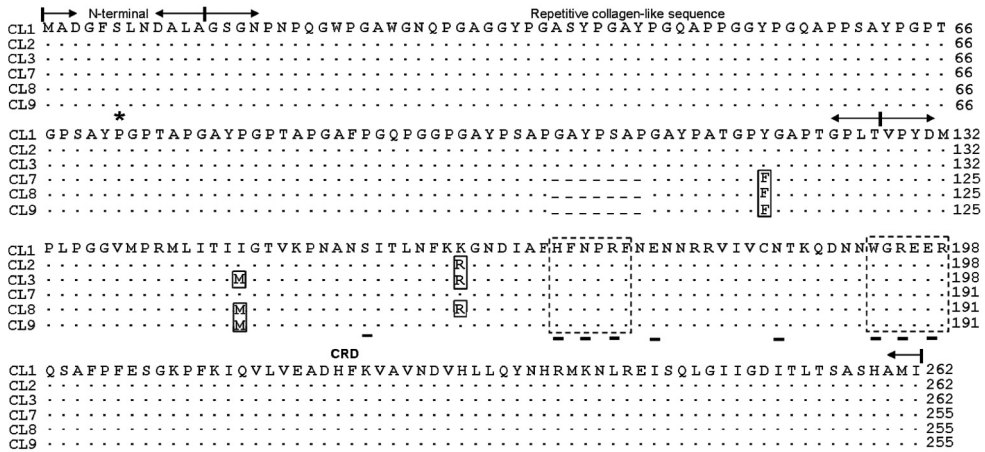


图 3 大鼠几种 Gal-3 变异体的氨基酸序列比对分析

Fig.3 Alignment of several Gal-3 variants of *Rattus norvegicus*

注: ·: 与第一行的氨基酸相同; -: 缺少相对应的氨基酸; _: β-半乳糖苷结合位点; *: 磷酸化位点; 实线矩形: SNP 导致对应氨基酸的改变; 虚线矩形: 识别 β-半乳糖苷的重要基序。

Notes: ·: The same as that in the reference sequence; -: Absence of the corresponding amino acid; _: β-galactoside binding site; *: Phosphorelation site; Line enclosed rectangle: Amino acid substitution due to SNP; Dot line enclosed rectangle: Important motif for β-galactoside binding.

2.4 大鼠 Gal-3 氨基酸序列同源性分析

为分析大鼠 Gal-3 氨基酸序列同源性, 选择 CL1 和 CL8 的编码蛋白分别作为 L type 和 S type 代表, 与其他动物 Gal-3 进行了同源性分析(见图 4)。L type 与五种哺乳动物小鼠 *Mus musculus* (EDL20744)、猪 *Sus scrofa* (NP_001090970.1)、人 *Homo sapiens* (AAA88086)、苏门答腊猩猩 *Pongo abelii* (XP_002824813) 和兔 *Oryctolagus cuniculus*

(NP_001075807.1) 的同源性分别为 87%、81%、80%、80% 和 74%。与家鸡 *Gallus gallus* (ABO25859)、家鸽 *Columba livia* (EMC80882)、鸭 *Anas platyrhynchos* (XP_005029449), 热带爪蟾 *Xenopus (Silurana) tropicalis* (NP_988986) 以及斑马鱼 *Danio rerio* (AAR84191) 的同源性介于 46%~64%。S type 比 L type 的同源性略高, 如与小鼠的同源性为 88%, 与猪的同源性为 84% 等。

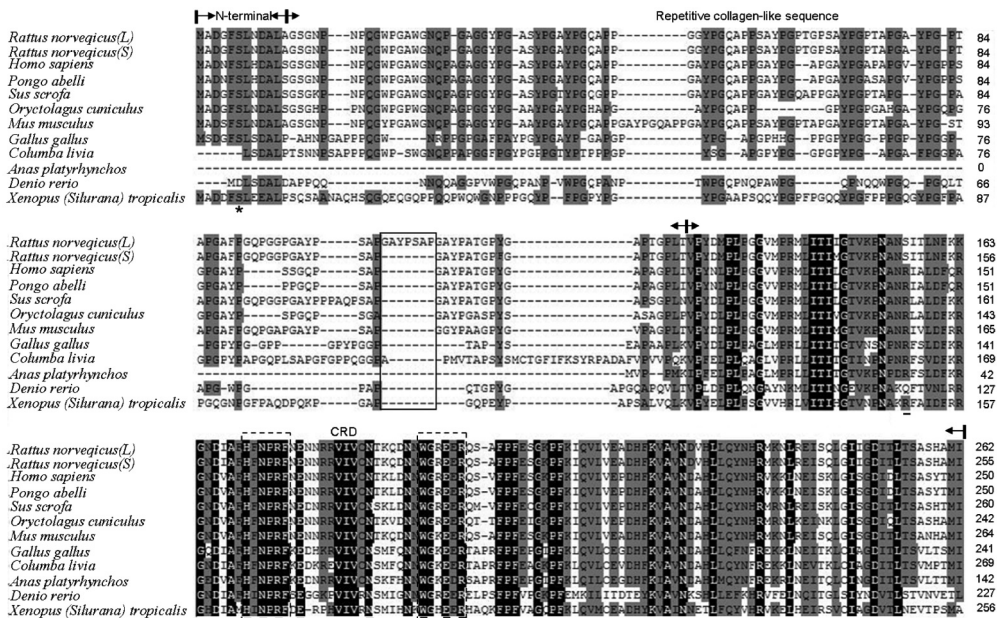


图 4 大鼠 L type 和 S type Gal-3 同源性分析

Fig.4 Homogy analysis of L type and S type encoding Gal-3 variants of *Rattus norvegicus* with those from other animals

注: -: 缺少相对应的氨基酸; _: β-半乳糖苷结合位点; *: 磷酸化位点; 实线矩形: 因 Δ301-321 导致 S type Gal-3 缺少的 7 个氨基酸在其它动物的 Gal-3 中亦不存在; 虚线矩形: 识别半乳糖苷的重要基序。

Notes: -: Absence of the corresponding amino acid; _: β-galactoside binding site; *: Phosphorelation site; Line enclosed rectangle: Seven amino acid missing due to Δ301-321; Dot line enclosed rectangle: Important motif for β-galactoside binding.

3 讨论

本文从3只大鼠肝脏第一链 cDNA, 9个独立的克隆实验中共得到333个 *gal-3* ORF 克隆(见表1), 除去重复出现的克隆后, 发现17个不同的大鼠 *gal-3* ORF(见表2)。在1号和3号个体中分别出现11和14个不同的克隆(见表2), 表明大鼠中确实存在个体水平的 *gal-3* ORF 分子多样性。

那么这种多样性是客观存在还是人为因素导致的呢? 如果是客观存在, 又如何解释该现象呢?

在进行 cDNA 克隆的实验中, 如在反转录、PCR 以及 DNA 测序过程中均有可能人为导入一些碱基的变化。为了排除这些因素的干扰, 本实验使用了3只不同的大鼠个体的肝脏第一链 cDNA, 针对每一个体实施3组独立的 PCR 及其克隆。在分析数据的过程中, 严格确认重复出现于2个或更多独立实验中的碱基变化, 最后确定本次实验新发现1处缺失和5处 SNP。因此, 尽管有些克隆仅出现一次, 基于这些缺失和 SNP 而克隆的17个不同的大鼠 *gal-3* ORF 应该是客观存在的。另外, S type ORF 缺失21 bp, 其编码蛋白比 L type ORF 编码蛋白少7个氨基酸残基, 同源性比对分析揭示其它动物的 Gal-3 中不存在与此对应的7个氨基酸(见图4中矩形框), 支持大鼠 S type ORF 的客观存在。

对于 cDNA 多样性的原因至少需要分析以下几点。(1) 物种的染色体倍数; (2) 多拷贝基因; (3) RNA 选择性剪切(RNA alternative splicing); (4) RNA 编辑(RNA editing); (5) 人为因素。目前, 关于大鼠为二倍体以及 Gal-3 编码基因 *LAGAL3* 为单拷贝基因不存在任何争议。本文对新发现的1处缺失和5处 SNP 进行的结构基因上的定位分析(见图1)难以得出大鼠 *gal-3* ORF 多样性与 RNA 选择性剪切有关。那么会不会与 RNA 编辑有关呢?

RNA 编辑是 mRNA 前体的一种加工方式, 通过脱氨基作用使腺嘌呤转变为次黄嘌呤(A-I)或者使胞嘧啶转变为尿嘧啶(C-U), 导致 mRNA 与染色体上的编码基因不匹配^[2,12]。上述的6处 SNP 中, 除了356(A-T)为颠换以外, 其他5处 SNP 均为转换, 表明这5处的 SNP 很可能由 RNA 编辑造成。实际上, 在 α -银环蛇毒素(α -bungarotoxin, α -BGT)的研究中, 个体水平上的 cDNA 多样性早有报道, 可是对其多样性产生的原因仍存在争议, 有学者认为与 RNA 编辑有关, 有学者则完全否定 RNA 编辑^[13-15]。但是大鼠肝脏 *gal-3* ORF 中的356(A-T)以及21 bp

(301-321)的缺失目前尚无理论可以对其进行合理的解释。目前采用基因组和转录组测序结果进行比对分析的报道越来越多, 发现大量的 RNA 序列与基因组 DNA 不匹配, 被称为 RDD (RNA-DNA differences), 难以用现有的理论包括 RNA 编辑的机制进行解释, 因此有学者认为生物体内很可能存在未知的尚未发现的调控 RNA 多样性的机制^[1]。大鼠的 *gal-3* cDNA 的多样性产生的机制可能包括 RNA 编辑及尚未发现的调控机制, 有待于今后更加深入细致的研究。至于大鼠 *gal-3* cDNA 的多样性的生物学意义, 很可能与 Gal-3 作为多功能蛋白在生物体内广泛行使功能的性质有关。虽然目前得此结论为时尚早, 但是, 基因的多样性总体上是生物进化的特征, 有利于基因的表达调控及其生物学功能的实现。

参考文献(References)

- [1] LI M, WANG I X, LI Y, et al. Widespread RNA and DNA sequence differences in the human transcriptome [J]. *Science*, 2011, 333(60338): 53-58.
- [2] LI J B, LEVANON E Y, YOON J K, et al. Genome-wide identification of human RNA editing sites by parallel DNA capturing and sequencing [J]. *Science*, 2009, 324(5931): 1210-1213.
- [3] YANG R Y, RABINOVICH G A, LIU F T. Galectins: structure, function and therapeutic potential [J]. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 2008, 10: e17.
- [4] DUMIC J, DABELIC S, FLGEL M. Galectins: an open-ended story [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1760(4): 616-635.
- [5] KRZESLAK A, LIPINSKA A. Galectin-3 as a multifunctional protein [J]. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2004, 9(2): 305-328.
- [6] TAKENAKA Y, FUKUMORI T, RAZ A. Galectin-3 and metastasis [J]. *Glycoconjugate Journal*, 2004, 19(7-9): 543-549.
- [7] NAKAHARA S, OKA N, RAZ A. On the role of galectin-3 in cancer apoptosis [J]. *Apoptosis*, 2005, 10(2): 267-275.
- [8] ARGÜESO P, PANJWANI N. Focus on molecules: galectin-3 [J]. *Experimental Eye Research*, 2011, 92(1): 2-3.
- [9] 徐跃, 宋敏国, 杨仙玉, 等. 中华大蟾蜍 galectin-3 基因的克隆、序列分析及其原核表达载体的构建 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2012, 34(4): 46-52. XU Yue, SONG Minguo, YANG Xianyu, et al. Cloning and sequencing of *Bufo gargarizans* galectin-3 cDNA and the construction of the vector for its prokaryotic expression

- [J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2012, 34(4): 46-52.
- [10] 周品品, 万文彬, 袁进强, 等. 比较中华大蟾蜍不同个体间 galectin-3 cDNA 分子多样性[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(9): 3938-3943.
- ZHOU Pinpin, WAN Wenbin, YUAN Jinqiang, et al. Comparison of the skin Galectin-3 cDNA diversity among different individuals of *Bufo gargarizans* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(9): 3938-3943.
- [11] 潘李念, 万文彬, 张姝芳, 等. 中华大蟾蜍 gal-3 基因多样性的原因分析[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 2013, 11(6): 171-180.
- PAN Linian, WAN Wenbin, ZHANG Shufang, et al. Analysis of gal-3 gene diversity of *Bufo gargarizans* [J]. Journal of East China Normal University (Natural Science), 2013, 11(6): 171-180.
- [12] BRENNICKE A, MARCHFELDER A, BINDER S. RNA editing [J]. FEMS Microbiology Reviews, 1999, 23(3): 297-316.
- [13] LIU L F, CHANG C C, LIAN M Y, et al. Genetic characterization of the mRNA encoding α -bungarotoxin: isoforms and RNA editing in *Bungarus multicinctus* gland cells [J]. Nucleic Acids Research, 1998, 26(24): 5624-5629.
- [14] 汪芳, 王义权, 童宗中. 银环蛇心脏毒素类似物 cDNA 的克隆[J]. 遗传, 2003, 25(6): 672-676.
- WANG Fang, WANG Yiquan, TONG Zongzhong. Cloning and characterization of cDNAs of cardiotoxin-like protein in *Bungarus multicinctus* venom gland [J]. Hereditas, 2003, 25(6): 672-676.
- [15] 林鲁萍, 林群, 王义权. 两个蛇毒基因克隆及 cDNA 序列多态性再分析[J]. 动物学研究, 2007, 28(5): 457-464.
- LIN Luping, LIN Qun, WANG Yiquan. Cloning of two toxin related genes and analysis of their cDNA polymorphism [J]. Zoological Research, 2007, 28(5): 457-464.