

文章编号: 1000-5641(2013)05-0080-08

盘基网柄菌粘附分子 gp150 的定位及其 与 PKA 活性关系的研究

杨春霞, 侯连生

(华东师范大学 生命科学学院, 上海 200062)

摘要: 细胞粘附分子 gp150 在盘基网柄菌细胞发育后期起着重要作用. 用 gp150 抗体定位 gp150 在细胞发育重要阶段的分布, 显示在细胞发育的不同时段, gp150 的定位有着明显的区别. 在聚集前的细胞流时期, gp150 还均匀分布在细胞质内, 到了细胞丘时期, gp150 就移至多细胞聚集体的边缘部位. 到了蛞蝓体时期, gp150 在前柄细胞的表达量明显大于前孢子细胞, 提示了 gp150 对柄细胞的作用. 而当细胞发育至子实体阶段, gp150 大量分布在成熟孢子的孢壁上, 这是目前还没有报道的. 高效液相色谱法检测野生型 KAx-3 细胞和 gp150 过表达细胞 KAx-3: *act15/lagC* 的 PKA 活性, 显示在细胞发育的早期(10 h 之前), PKA 在野生型细胞中的活性比 KAx-3: *act15/lagC* 细胞低. 但是在细胞发育的后期, 也就是野生型细胞中 gp150 开始快速积累之后, PKA 在野生型细胞中的活性比 KAx-3: *act15/lagC* 细胞高. 这些结果说明, gp150 和 PKA 之间可能存在某种负反馈环的关系共同调节盘基网柄菌的生长发育.

关键词: 荧光定位; gp150; 蛋白激酶 A; HPLC

中图分类号: Q26 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1000-5641.2013.05.010

Localization of adhesion molecule gp150 and its relationship with PKA activity in *Dictyostelium discoideum*

YANG Chun-xia, HOU Lian-sheng

(School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: Cell adhesion molecule gp150 plays an important role during post-aggregation stage of *Dictyostelium discoideum* development. The protein localization through antibodies against gp150 showed that gp150 distributed at different places during the various stages of development. In stream stage before aggregation, gp150 distributed uniformly in cytoplasm; after that, gp150 occupied the periphery region of multicellular aggregates in mound stage. During the slug stage of development, the expression level of gp150 in prestalk cells was much higher than that in prespore cells. In fruiting body stage, gp150 was enriched on the sporoderm of mature spores. High performance liquid chromatography was used to analyze PKA activity in wide-type KAx-3 cells and gp150 over expressed strain KAx-3: *act15/lagC*, and the results showed that, at the

收稿日期: 2012-12

第一作者: 杨春霞, 女, 博士研究生.

通信作者: 侯连生, 男, 教授. E-mail: lshou@bio.ecnu.edu.cn.

early stage of development (before 10 h development), PKA had lower activity in KAx-3 cells than that in KAx-3:*act15/lagC* cells. However, at the later stage of development, since the rapid accumulation of gp150, PKA showed higher activity in wide type cells than that in KAx-3:*act15/lagC* cells. These results suggested that there might be a feed back loop interaction between gp150 and PKA, by which the two signal proteins can cooperate and regular the growth and development of *Dictyostelium discoideum*.

Key words: fluorescence localization; gp150; PKA; HPLC

0 引 言

社会变形虫盘基网柄菌(*Dictyostelium discoideum*)是一种简单的真核生物,在营养丰富的条件下,以细菌为食,并以单细胞二分裂的方式生长繁殖.一旦食物匮乏,盘基网柄菌就会进入多细胞发育状态,细胞在信号分子 cAMP 的驱动下开始趋化性运动向信号中心迁移,形成由大约 10^5 个细胞构成的山丘状聚集体细胞丘(mound);聚集体内的细胞继续向上旋转性运动,变高后倒向基质,形成由前柄细胞和前孢子细胞组成的蛞蝓体(slug);蛞蝓体继续迁移最终形成一个由柄和孢子囊构成的子实体(fruiting body)结构.孢子囊内的孢子有着很强的生命力,可以在营养丰富的情况下再次萌发开始新的生命的循环.在盘基网柄菌的整个发育周期中,细胞从一个个单细胞聚集成多细胞体是需要细胞表达一系列粘附分子来实现的,目前已经发现的粘附分子有 DdCAD-1^[1,2]、gp80^[3]和 gp150,这些粘附分子使细胞与细胞之间能够相互作用,最终发育成复杂的多细胞结构.

gp150 首先是作为刀豆蛋白 A-结合的糖蛋白被鉴定出来的. gp150 抗体能够阻碍前柄细胞和前孢子细胞的分类,提示了 gp150 在形态发生和模式形成中的作用. Dynes 等用限制性内切酶整合的办法得到缺失 *lagC* 基因的突变株 AK127,发现细胞虽然有着正常的趋化作用能够聚集,但是接着会解聚,再次聚集形成小的,颗粒状的细胞丘,使得发育停滞在疏松的聚集阶段^[4],有趣的是, gp150 的氨基末端序列几乎与 *lagC* 基因产物的推论序列一致, Wang 等用质谱法分析 gp150 的多肽,证明了 gp150 是 *lagC* 基因的产物^[5]. 近年来关于 gp150/*lagC* 的研究发现, *lagC* 可能参与了细胞的亲缘选择机制^[6], *LagC* 与盘基网柄菌中另一个细胞粘附分子 *LagB* 相互作用共同调节该亲缘选择过程^[7].

依赖 cAMP 的蛋白激酶(cAMP-dependent protein kinase, PKA)广泛存在于盘基网柄菌和其他动物细胞中,是细胞信号转导中的关键蛋白. PKA 由一个催化亚基和一个调节亚基组成,当催化亚基和调节亚基连接在一起时,PKA 的活性是被抑制的,但是当 cAMP 结合到调节亚基上时,PKA 就会被激活^[8]. PKA 可以通过腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase, ACA)从而对 cAMP 的刺激做出应答^[9],PKA 的活性依赖于细胞内不断的产生和降解的 cAMP 水平的调节^[10,11]. 盘基网柄菌中,PKA 负责调控孢子细胞的分化,PKA 的激活可以触发孢子形成,过表达编码 PKA 催化亚基基因的细胞株或者是缺乏调节亚基的细胞株,可使细胞经历快速的发育^[12]. 除了诱导孢子的形成,PKA 还被报道说可以调控发育的起始^[13].

最近,本实验室采用野生型 KAx-3 细胞和 gp150 突变型细胞株 AK127 检测了 PKA 的活性差异,发现突变 gp150 之后,AK127 细胞的 PKA 活性有所增加,而且 gp150 与 PKA 的

共定位结果显示 gp150 与 PKA 的调节亚基在空间上非常靠近. 提示 gp150 确实与 PKA 存在某种信号通路上的关系^[14]. 本文将 gp150 在细胞发育重要阶段的分布做了详细分析, 并且引入 gp150 过表达的细胞株 KAx-3:*act15/lagC*, 由于 *act15* 是盘基网柄菌高强度组成型启动子^[15], 所以在 KAx-3:*act15/lagC* 中, 除了有野生型 KAx-3 中 gp150 的表达量之外, 还有一个另外的质粒引发的从细胞生命起始的 gp150 持续性的表达. 本文将 PKA 在这两种细胞中整个发育周期的活性差异进行了详细研究, 以期能够更好地了解 gp150 的功能, 以及为 gp150 与 PKA 的关系提供更有用的信息.

1 材料与方法

1.1 细胞株与细胞培养

盘基网柄菌野生型细胞株 KAx-3 和 gp150 过表达细胞株 KAx-3:*act15/lagC* 由加拿大多伦多大学 Dr. Siu 实验室馈赠. 细胞培养在 SM 琼脂板上进行, 用 *Klebsiella aerogeneo* 菌喂养^[19], 在细胞发育到对数期时收集细胞于 PB 缓冲液, 4 °C, 500 g 离心 10 min, 弃上清, 洗去细菌. 将收集到的对数期细胞悬浮在 PDF 缓冲液(1.5 g KCl, 0.5 g MgCl₂, 1.6 g K₂HPO₄, 1.6 g KH₂PO₄, 0.5 g 硫酸链霉素加水至 1 L, 调 pH 至 6.4)中, 用血球计数板计数, 以 2×10^8 cells/mL 的浓度制备成细胞悬液. 将 500 μ L 细胞悬液滴加在无营养的琼脂板正中央, 铺匀成一个直径为 4 cm 的圆, 琼脂板放入湿盒中, 置 24 °C 培养箱中使其发育.

1.2 免疫荧光

用 MCG(MES 20 mmol/L, CaCl₂ 0.2 mmol/L, MgCl₂ 2 mmol/L)调节悬浮对数期细胞至浓度为 2×10^6 cells/mL, 取 500 μ L 铺于制作好的盖玻片上, 孵育 15 min 后, 从上面小心吸取 400 μ L 缓冲液, 在湿盒中使之发育到一定阶段后, 吸去盖玻片上残留的缓冲液, 常温下用含 3.7% 甲醛的 MCG 固定细胞 15 min. 吸取固定液, 用 -20 °C 冷甲醇(含 1% 甲醛)透膜 5 min. 吸取透膜液, 用 PBS 轻柔冲洗玻片 3 次. 封阻液(含 1% BSA 和 0.1% Tween-20 的 PBS 溶液)封阻 20 min 后, 用兔抗 gp150 血清(1:200 稀释)室温作用 1 h, 或在冰箱中过夜. 用含 0.05% Tween-20 的 PBS 淋洗玻片 3 次. 用含 0.1% BSA, 0.1% NaN₃, 0.1% Tween-20 的 FITC 标记的山羊抗兔二抗(1:300 稀释)室温染色 1 h. 然后用含 0.02% Tween-20 的 PBS 淋洗玻片 3 次后封片, 用 OLYMPUS BX51 荧光显微镜观察, 用 Image-Pro Plus 软件拍摄图像.

1.3 PKA 的活性检测

1.3.1 PKA 样品制备

将收集到的不同时间段的细胞计数, 以 2×10^7 个细胞为一个体系, 加入 PKA 提取液(Tris-HCl 20 mmol/L, pH 7.4, 蔗糖 200 mmol/L, CaCl₂ 1 mmol/L, MgCl₂ 2 mmol/L, KCl 10 mmol/L, Leupeptin 5 mg/L, PMSF 1 mmol/L, 先将除 Leupeptin 和 PMSF 之外的试剂混合, 在处理样品的时候再加入相应量的 Leupeptin 和 PMSF) 500 μ L, 冰浴研磨粉碎细胞. 900 g 离心 5 min, 去除碎片和细胞核, 得上清为胞浆组分和膜性组分, 用于测定 PKA 活力.

1.3.2 PKA 酶促反应

先将 PKA 反应液(Tris-HCl 20 mmol/L, pH 7.4, DTT 1 mmol/L, cAMP 2 μ mol/L, Histone (III-S) 0.5 mg/mL, MgCl₂ 5 mmol/L, ATP 500 μ mol/L) 30 °C 预热 5 min, 再加入

酶液(蛋白含量为 0.15 mg)起始反应. 反应开始先于 30 °C 水浴摇床中准确保温 10 min, 后立即置于沸水浴中 1 min 终止反应. 冷却后离心除去蛋白沉淀, 上清中加入 1 mL 氯仿: 甲醇 (2:1, v/v) 混合物, 震荡 1 min, 抽提脂溶性物质, 2 000 g 离心 5 min, 小心吸出水层, 其中含 ATP, ADP, AMP.

1.3.3 PKA 活性检测

用反相离子对高效液相色谱法(RP-HPLC)检测, 其中 ATP, ADP, AMP 的标准曲线由每次检测前当天制作. 色谱条件: μ Rondopka C18 柱; 流动相: 40 mmol/L 甲醇: 磷酸氢二钾缓冲液(14:86 v/v, 内含 5 mmol/L PiCA(四丁基铵磷酸盐), pH 7.0)抽真空过滤后使用; 检测波长: 259 nm; 室温; 进样 20 μ L.

1.3.4 酶活定义

一个酶活力单位(U)相对于每分钟使底物磷酸化而消耗 1 nmol ATP 所需的酶量.

PKA 活性公式:

$$\text{PKA 活性} = \frac{[\text{原 ATP 浓度}(500 \mu\text{mol/L}) - \text{剩余 ATP 浓度}(\mu\text{mol/L}) \times 1\,000]}{\text{酶量}(0.15 \text{ mg}) \times \text{时间}(10 \text{ min})}$$

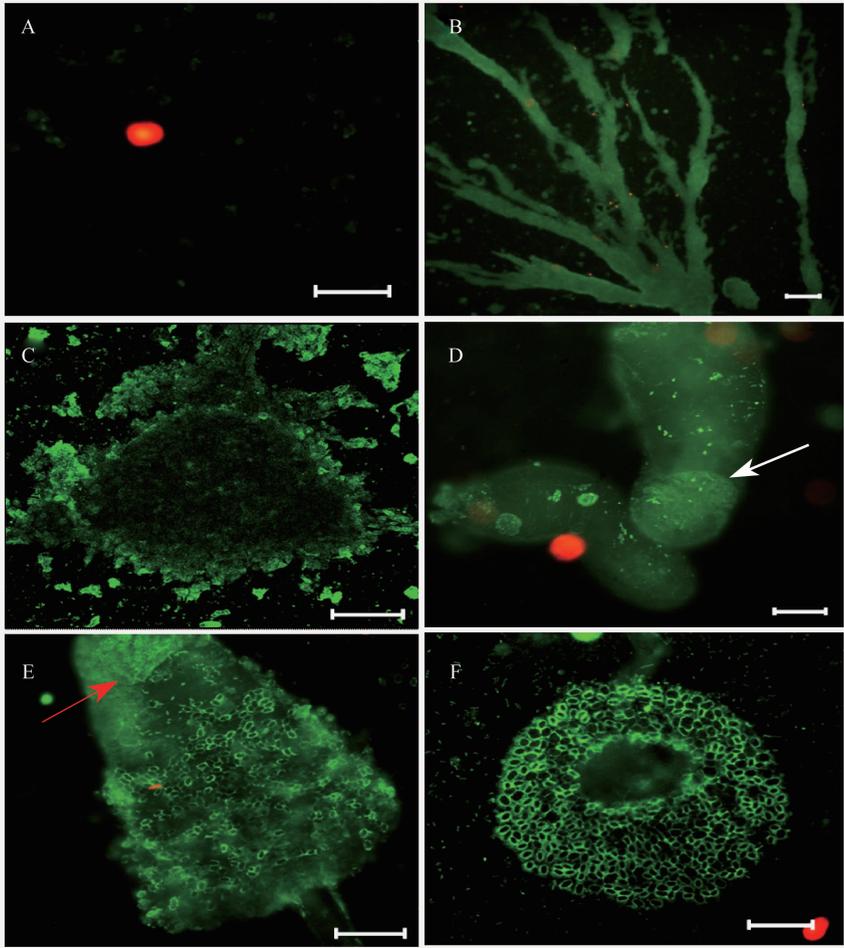
2 结 果

2.1 gp150 蛋白在细胞发育各个阶段的定位

在盖玻片上发育各个时期的盘基网柄菌野生型 KAx-3 细胞, 用 gp150 特异性多克隆抗体以及 FITC 标记的荧光二抗, 观察 gp150 在各个阶段的定位情况. 结果显示, 在盘基网柄菌的单细胞时期, 几乎检测不到明显的 gp150 蛋白(见图 1A). 在发育的细胞流状态下, gp150 出现了, 但是这个时候的 gp150 蛋白几乎是均一地分布在整个细胞流中, 并无明显的特殊性分布(见图 1B). 在盘基网柄菌的聚集体阶段, 虽然 gp150 在聚集体内部细胞出现, 但是更多的 gp150 则分布在整个聚集体的外缘, 在聚集体周围形成保护膜包裹住聚集体, 而且在这个时期, 即使是聚集体内部的 gp150, 也主要分布在细胞与细胞的连接处(见图 1C). 到了蛞蝓体状态, gp150 在前柄细胞的荧光强度明显要大于前孢子细胞, 而且在前柄细胞和前孢子细胞的交界区域, 能明显地观察到它们之间的界限(白色箭头)(见图 1D). 而当盘基网柄菌形成子实体之后, 结果显示 gp150 清晰地存在于子实体内椭圆形孢子细胞的孢壁上, 值得提出的是, 在子实体孢子囊最上方的 apical tip 结构里, gp150 依然存在于细胞质内(红色箭头)(见图 1E 和 1F, 其中 F 是从上方观察到的孢子顶部).

2.2 野生型 KAx-3 细胞与 gp150 过表达细胞 KAx-3:act15/lagC 的 PKA 活性的研究

为了研究盘基网柄菌发育过程中, gp150 的表达对 PKA 活性的影响, 0 h 到 24 h 的野生型 KAx-3 细胞和 gp150 过表达的 KAx-3:act15/lagC 细胞的 PKA 活性分别被检测. 从结果中可以看出, 从发育起始一直到 10 h, PKA 在野生型细胞中的活性几乎都低于在 KAx-3:act15/lagC 中的活性. 然而从聚集阶段的后期开始, PKA 在野生型细胞中的活性有了明显的升高; 相反的, 在 gp150 过表达细胞中的活性出现了下降趋势(见图 2A). 从更直观的趋势图可以看出, 从 0 h 至 12 h, PKA 活性在两种细胞中的趋势非常相似, 两者基本都在 10~12 h 左右到达活性的最低谷, 紧接着又出现活性的急剧上升(见图 2B).



注:A 是单细胞迁移阶段,B 是细胞流阶段,C 表示多细胞聚集体阶段,

D 为蛭蛹体阶段,E 和 F 为成熟的子实体阶段;标尺=50 μm

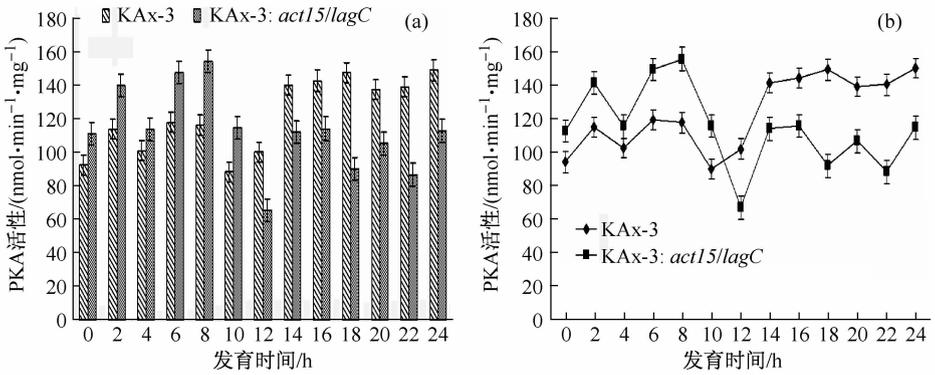
图 1 粘附分子 gp150 在细胞发育各个阶段的定位

Fig. 1 Localization of adhesion molecule gp150 at different stage during cell development

3 分析与讨论

早期对 gp150 的研究发现, gp150 在营养期细胞中的表达只有非常低的水平, 当细胞聚集的时候, gp150 就会出现快速地积累, 在发育 10 h 的时候, gp150 的表达到达高峰, 直到细胞分化的结束^[16]. 本文使用免疫荧光定位的方法, 分析了 gp150 在发育各个时段的表达及定位, 发现在发育的单细胞状态, gp150 几乎没有可以检测到的荧光, 说明 gp150 在单细胞时期还没有大量表达, 这是符合一直以来对 gp150 的研究结果的. gp150 在细胞聚集的早期开始表达^[17], 因此, 在聚集期的细胞流中, 检测到了 gp150 的存在, 但是在这个时期, gp150 也只是均匀地分布在细胞质中, 提示 gp150 还没开始转移至细胞膜上发挥粘附分子的作用. 到了细胞丘时期, gp150 的分布出现了有趣的变化, 更多的荧光分布在整个聚集体的外缘包

围住整个聚集体,这提示 gp150 可能参与形成了包裹聚集体的外膜^[18, 19],虽然聚集体内部也存在部分 gp150,但是荧光强度较低,且 gp150 基本都处在细胞—细胞连接处,这些现象与之前观察到的结果相似^[5].当细胞发育到蛞蝓体阶段,前柄细胞中 gp150 的荧光强度明显大于前孢子细胞,而且也有报道指出, *lagC* 基因在前柄细胞内的 mRNA 水平是前孢子细胞的 3 倍多,前柄细胞更能抵抗 gp150 抗体的解离^[20],而且 *lagC* 也被认定为是前柄细胞基因^[21],这说明了 gp150 与前柄细胞或柄细胞的形成有密切关系.除此之外,还有一个新的发现,即 gp150 大量存在于成熟孢子的孢子外壁上, gp150 这种特殊的分布,目前还没有报道.笔者推测 gp150 之所以从聚集期开始表达一直到发育的结束,除了与细胞丘时期细胞间的粘附,蛞蝓体时柄细胞的分化有关之外,还可能参与了组成并维持孢子结构的生物学功能.但这种功能的原因及机制,尚需进一步研究.



注:结果为 3 组实验数据的平均值

图 2 野生型 KAx-3 细胞和 gp150 过表达细胞 KAx-3:*act15/lagC* 在细胞发育周期中 PKA 的活性变化
Fig. 2 PKA activity alteration during the developmental cycle of wide-type KAx-3 and gp150 over expressed strain KAx-3:*act15/lagC*

由于 gp150 参与了盘基网柄菌的细胞分化,而盘基网柄菌中前柄细胞和前孢子细胞的终端分化则是被 PKA 的激活所激发的^[10].本实验室之前的研究也发现在盘基网柄菌的发育后期, gp150 蛋白缺失可导致 PKA 的活性上升, gp150 蛋白与 PKA 的共定位显示 gp150 与 PKA 调节亚基有部分重叠,提示 gp150 确实与 PKA 存在着某种信号通路上的关系^[14].为了进一步了解 gp150 与 PKA 活性的关系, gp150 过表达细胞 KAx-3:*act15/lagC* 与野生型细胞 KAx-3 在发育的整个过程中的 PKA 活性用高效液相色谱法做了检测,结果显示,在细胞发育的 1~10 h,野生型细胞 KAx-3 的 PKA 活性低于 KAx-3:*act15/lagC* 的 PKA 活性,在这个时期,野生型细胞中几乎没有 gp150 的表达,而 KAx-3:*act15/lagC* 则存在着持续的 gp150 的表达,这提示了 gp150 的表达可能会在一定程度上刺激 PKA 的活性.但是有趣的是,在发育的后聚集阶段(10~24 h),当野生型细胞中大量出现 gp150 的表达后,过表达细胞的 PKA 活性反而又小于野生型细胞.根据结果可以推测, gp150 和 PKA 之间可能存在某种负反馈环的效应,即低浓度的 gp150 刺激 PKA 的活性,高浓度的 gp150 则抑制 PKA 的活性.另外, PKA 在两种细胞中的活性都是在 10~12 h 左右到达低谷,紧接着又出现急剧上升,这说明 PKA 在细胞发育的早期(0~12 h)和聚集后期(12~24 h)扮演着不同角色.

早期主要负责趋化信号 cAMP 的应答,后期则参与调节细胞类型的分化^[8]。

目前已经研究出的 PKA 对 cAMP 的应答主要受 ACA^[9] 和 cAMP 磷酸二酯酶(cAMP-specific phosphodiesterase, RegA)^[10,11,23,24] 等信号的调节,而 ACA、RegA 又分别受分裂素激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, ERK2)^[22]、CulA (cullin)和 FbxA (F-box/WD40-repeat containing Protein)的调节^[23]。同样的,编码 gp150 的 *lagC* 也是一个 cAMP 诱导基因^[24],*lagC* 缺失细胞基本上检测不到 cAMP 诱导的前孢子特异基因 *SP60* 或 *spiA* 的表达^[4],而后可直接被 PKA 催化亚基自发地诱导表达^[12]。提示 gp150 和 PKA 都对前孢子类型特异性基因起着一定的调控作用,这也在一定程度上解释了之前观察到的 gp150 大量分布在子实体孢壁上的现象,说明 gp150 不仅对柄细胞的分化,也对孢子细胞的形成有一定的影响。Iranfar 等用微阵列法检测了缺失 gp150 的突变株中基因的表达状况,发现在突变株的悬浮液中加入 cAMP 的情况下不能够刺激 ACA 依赖的,聚集后期基因的表达^[25]。因此本文提出一种假设,gp150 和 PKA 可能是以 cAMP 和 ACA 为中介,存在着某种信号通路上的联系,共同调节细胞类型基因的表达及细胞的分化。

总之,本文提供了一个清晰的关于 gp150 在整个细胞发育周期中的表达及分布,并对其与 PKA 的关系做了进一步的探讨。了解到 gp150 作为一种重要的信号分子,不仅参与了柄细胞的分化,也与孢子的形成有密切关系。而且,gp150 可能以 cAMP 和 ACA 为中介,与 PKA 存在着某种信号通路上的负反馈关系。但是这个复杂的信号网络到底是如何运作的,尚需进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] WONG E, YANG C, WANG J, et al. Disruption of the gene encoding the cell adhesion molecule DdCAD-1 leads to aberrant cell sorting and cell-type proportioning during *Dictyostelium* development[J]. *Development*, 2002, 129(16): 3839-3850.
- [2] LIN Z, SRISKANTHADEVAN S, HUANG H, et al. Solution structures of the adhesion molecule DdCAD-1 reveal new insights into Ca²⁺-dependent cell-cell adhesion[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2006, 13(11): 1016-1022.
- [3] HARRIS T J, RAVANDI A, SIU C H. Assembly of glycoprotein-80 adhesion complexes in *Dictyostelium*. Receptor compartmentalization and oligomerization in membrane rafts[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(52): 48764-48774.
- [4] DYNES J L, CLARK A M, SHAULSKY G, et al. LagC is required for cell-cell interactions that are essential for cell-type differentiation in *Dictyostelium*[J]. *Genes & Development*, 1994, 8(8): 948-958.
- [5] WANG J, HOU L, AWREY D, et al. The membrane glycoprotein gp150 is encoded by the *lagC* gene and mediates cell-cell adhesion by heterophilic binding during *Dictyostelium* development[J]. *Developmental Biology*, 2000, 227(2): 734-745.
- [6] BENABENTOS R, HIROSE S, SUCGANG R, et al. Polymorphic members of the *lag* gene family mediate kin discrimination in *Dictyostelium*[J]. *Current Biology : CB*, 2009, 19(7): 567-572.
- [7] HIROSE S, BENABENTOS R, HO H I, et al. Self-recognition in social amoebae is mediated by allelic pairs of tiger genes[J]. *Science*, 2011, 333(6041): 467-470.
- [8] LOOMIS W F. Role of PKA in the timing of developmental events in *Dictyostelium* cells[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 1998, 62(3): 684-694.
- [9] MANN S K, BROWN J M, BRISCOE C, et al. Role of cAMP-dependent protein kinase in controlling aggregation

- and postaggregative development in *Dictyostelium*[J]. *Developmental Biology*, 1997, 183(2): 208-221.
- [10] THOMASON P A, TRAYNOR D, CAVET G, et al. An intersection of the cAMP/PKA and two-component signal transduction systems in *Dictyostelium*[J]. *EMBO J*, 1998, 17(10): 2838-2845.
- [11] SHAULSKY G, FULLER D, LOOMIS W F. A cAMP-phosphodiesterase controls PKA-dependent differentiation [J]. *Development*, 1998, 125(4): 691-699.
- [12] MANN S K, RICHARDSON D L, LEE S, et al. Expression of cAMP-dependent protein kinase in prespore cells is sufficient to induce spore cell differentiation in *Dictyostelium*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91(22): 10561-10565.
- [13] SOUZA G M, DA SILVA A M, KUSPA A. Starvation promotes *Dictyostelium* development by relieving PufA inhibition of PKA translation through the YakA kinase pathway[J]. *Development*, 1999, 126(14): 3263-3274.
- [14] 田莉, 陈颖盈, 梁静静, 等. 盘基网柄菌发育期间 gp150 蛋白与蛋白激酶 A 相关性的研究[J]. *中国细胞生物学学报*, 2012(7): 645-651.
- [15] ZHU Q, HULEN D, LIU T, et al. The *cluA*⁻ mutant of *Dictyostelium* identifies a novel class of proteins required for dispersion of mitochondria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94(14): 7308-7313.
- [16] GELTOSKY J E, WESEMAN J, BAKKE A, et al. Identification of a cell surface glycoprotein involved in cell aggregation in *D. discoideum*[J]. *Cell*, 1979, 18(2): 391-398.
- [17] SIU C H, HARRIS T J, WANG J, et al. Regulation of cell-cell adhesion during *Dictyostelium* development[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2004, 15(6): 633-641.
- [18] 侯连生. gp150 蛋白在盘基网柄菌发育中的作用及粘附分子间关系的分析[J]. *动物学报*, 2004(1): 75-82.
- [19] 侯连生. 盘基网柄菌柄细胞分化过程中 gp150 分子的作用[J]. *华东师范大学学报:自然科学版*, 2006(2): 63-67.
- [20] LAM T Y, PICKERING G, GELTOSKY J, et al. Differential cell cohesiveness expressed by prespore and pre-talk cells of *Dictyostelium discoideum*[J]. *Differentiation*, 1981, 20(1-3): 22-28.
- [21] IRANFAR N, FULLER D, SASIK R, et al. Expression patterns of cell-type-specific genes in *Dictyostelium*[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2001, 12(9): 2590-2600.
- [22] MAEDA M, LU S J, SHAULSKY G, et al. Periodic signaling controlled by an oscillatory circuit that includes protein kinases ERK2 and PKA[J]. *Science*, 2004, 304(5672): 875-878.
- [23] MOHANTY S, LEE S, YADAVA N, et al. Regulated protein degradation controls PKA function and cell-type differentiation in *Dictyostelium*[J]. *Genes & Development*, 2001, 15(11): 1435-1448.
- [24] BRISCOE C, MONIAKIS J, KIM J Y, et al. The phosphorylated C-terminus of cAR1 plays a role in cell-type-specific gene expression and STATa tyrosine phosphorylation[J]. *Developmental Biology*, 2001, 233(1): 225-236.
- [25] IRANFAR N, FULLER D, LOOMIS W F. Transcriptional regulation of post-aggregation genes in *Dictyostelium* by a feed-forward loop involving GBF and LagC[J]. *Developmental Biology*, 2006, 290(2): 460-469.