



C57 小鼠 LAT1 真核表达载体的构建及其对 Neuro-2a 细胞的影响

卫兵艳, 刘田福, 樊林花, 刘茂林

(山西医科大学实验动物中心, 太原 030001)

【摘要】 目的 构建 C57 小鼠 L 型氨基酸转运载体 1 (LAT1) 的真核表达载体, 转染 Neuro-2a 肿瘤细胞进行表达, 探讨 LAT1 对 Neuro-2a 细胞增殖及凋亡的影响。方法 采用 RT-PCR 扩增出 LAT1 全长目的基因, 定向克隆 pcDNA3.1 表达载体, 构建 pcDNA3.1-LAT1 重组表达质粒, 通过脂质体法将阳性克隆转染 Neuro-2a 细胞, 经 G418 筛选获得稳定表达株后, 用 RT-PCR 和 western blot 蛋白印迹法检测 LAT1 的表达情况。通过 MTT 法检测各组 Neuro-2a 细胞的增殖情况, 并借助流式细胞仪检测 LAT1 对 Neuro-2a 细胞增殖和凋亡的影响。结果 成功构建小鼠 pcDNA3.1-LAT1 真核表达载体, 酶切和测序证实其序列正确, 并成功转染 Neuro-2a 细胞建立稳定转染细胞系。MTT 法显示转染重组质粒 pcDNA3.1-LAT1 的 Neuro-2a 细胞增殖速度显著高于对照组 ($P < 0.05$), 且流式细胞术检测转染组对 Neuro-2a 细胞具有促进增殖抑制凋亡的作用。结论 转染 pcDNA3.1-LAT1 质粒的 Neuro-2a 细胞能成功表达 LAT1 蛋白, 且 LAT1 对 Neuro-2a 细胞的增殖和凋亡均有显著影响, 为进一步研究 LAT1 的生物学作用奠定了重要基础。

【关键词】 L 型氨基酸转运载体 1; 真核表达载体; Neuro-2a 细胞; 增殖; 凋亡

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 05-0025-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.005.006

Construction of LAT1 eukaryotic expression vector of C57 mouse and its effect on the Neuro-2a cell

WEI Bing-yan, LIU Tian-fu, FAN Lin-hua, LIU Mao-lin

(Laboratory Animal Center of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

【Abstract】 Objective To construct the amino acid transporter 1 eukaryotic expression vector of C57 mouse and to express the gene in Neuro-2a tumor cells, and explore the effect of LAT1 on proliferation and apoptosis of Neuro-2a cell. **Methods** The full-length LAT1 cDNA was synthesized by RT-PCR and cloned into pcDNA3.1 vector to construct recombinant plasmid. The constructed pcDNA3.1-LAT1 vector was verified by Enzyme digestion and sequencing and then transfected into murine Neuro-2a cells by liposome. The transfected cells were selected with G418 and stably expressed strain was constructed. The expression of LAT1 was detected by RT-PCR and western blot. Proliferation was analyzed by MTT, cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometric analysis. **Results** The full-length LAT1 cDNA was amplified successfully and pcDNA3.1-LAT1 eukaryotic vector was constructed successfully. Enzyme digestion and sequencing confirmed the sequence was correct. Neuro-2a cells were transfected and stably expressed strain was constructed

【作者简介】 卫兵艳 (1984 -) 女, 助理实验师, 研究方向: 人类疾病动物模型。E-mail: wbyan2009@126.com。

【通讯作者】 刘田福 (1954 -) 男, 教授, 主要研究方向: 人类疾病动物模型。E-mail: ykdltf@yahoo.com.cn。

successfully. MTT showed that the group of transfected restructuring plasmid could significantly affect Neuro-2a cell proliferation more than the control groups ($P < 0.05$). From the flowcytometric analysis, LAT1 could promote cell proliferation and inhibit Neuro-2a cell apoptosis. **Conclusion** LAT1 can express successfully in Neuro-2a cells which were transfected with recombinant pcDNA3.1-LAT1 plasmid. LAT1 in Neuro-2a cells can promote cell proliferation and inhibit the cell apoptosis which provides a basis for the study of LAT1. That lays the foundation for studying biological effects of LAT1.

【Key words】 Lamino acid transporter 1; Eukaryotic expression vector; Neuro-2a cell; Proliferation; Apoptosis

作为构成蛋白质的基本元件,氨基酸不仅是机体的营养物质还是肠黏膜代谢的能量来源,其参与细胞内很多重要的代谢途径。但氨基酸是小分子极性物质,不能自由通过细胞膜,其要发挥各种功能首先需要进行跨膜转运。而要实现氨基酸的跨膜转运就必须依赖细胞膜上特殊的转运载体(氨基酸跨膜转运蛋白)来介导。目前发现的氨基酸转运载体约有 15 种以上^[1],根据底物(氨基酸)的性质不同,可以将氨基酸转运载体分为碱性、酸性和中性氨基转运载体,根据 Na⁺ 依赖性分为 Na⁺ 依赖性和 Na⁺ 非依赖性转运系统。L 氨基酸转运载体 1 (lamino acid transporter 1, LAT1) 是中性氨基酸转运载体中的重要成员,属于 Na⁺ 非依赖性氨基酸转运系统,主要负责转运大的、支链的、芳香族的中性氨基酸,包括一些必需氨基酸,如亮氨酸等^[2]。其功能调控对机体细胞代谢,生命器官功能维护具有重要的生理意义。研究发现^[3],在恶性肿瘤增殖中,LAT1 呈过表达,可以促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移。LAT1 在医学、营养等生命科学领域也有着重要的价值^[4]。Neuro-2a 细胞形似神经样干细胞,具有一定的神经内分泌功能,是来源于 Albino A 系小鼠的自发神经母细胞瘤。目前主要在实验室培养该细胞系作为体外病理研究的细胞模型^[5]。本实验选用 Neuro-2a 作为细胞模型,通过构建 LAT1 基因的真核表达载体,转染 Neuro-2a 细胞,初步研究 LAT1 对 Neuro-2a 细胞增殖及凋亡的影响,旨在为更深入研究 LAT1 在肿瘤细胞中的作用及其生物学功能奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 8 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠来自山西医科大学实验动物中心,生产许可证【SCXK(晋)2009-0001】,SPF 级实验动物使用许可证【SYXK(晋)2009-0004】。

1.1.2 细胞及载体 Neuro-2a 细胞,pcDNA3.1 质粒等均由本实验室保存。

1.1.3 其他试剂 DNA maker, RNA 提取试剂盒,质粒提取试剂盒,反转录试剂盒,限制性内切酶等均购于 TaKaRa 公司;脂质体 LipfectamineTM2000 转染试剂购自 invitrogen 公司;LAT1 单克隆抗体, β -actin 单克隆抗体购于美国 Santa Cruz 公司;PCR 引物及质粒测序由 TaKaRa 公司完成;MTT 购自美国 sigma 公司。

1.2 方法

1.2.1 C57 小鼠 LAT1 全长基因片段的扩增

1.2.1.1 设计引物

利用 primer premier5.0 设计引物,根据 GenBank(GI: 6906726)中公布的 C57 小鼠 LAT1 基因序列,编码区全长共 1539 bp,引入 *NotI* 和 *XhoI* 酶切位点,序列为(斜体为保护碱基,下划线为酶切位点) 5' 引物: *TTGCGGCCGCAACCGAGAGCATGCGGTGC3'* 引物: *CCGCTCGAGCGGAGCACGGCAGCACCAGG*,由 TaKaRa 公司合成。

1.2.1.2 RT-PCR 扩增 LAT1 全长基因序列

参照 RNA 提取试剂盒说明提取 C57 小鼠脑组织总 RNA,以总 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增 cDNA。然后以 cDNA 为模板,进行 PCR,条件为:预变性 94℃ 5 min,94℃ 30 s,52℃ 30 s,72℃ 1 min,共 30 个循环。最后 72℃ 再延伸 5 min,终止反应。PCR 扩增产物 1.2% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察电泳结果。

1.2.2 pcDNA3.1-LAT1 真核表达载体的构建

胶回收纯化 PCR 的目标片段产物,加 A 后,先和 pMD18-T 载体链接,构建 pMD18-T-LAT1 克隆载体,*NotI* 和 *XhoI* 双酶切鉴定。然后将 pMD18-T-LAT1 和 pcDNA3.1 载体分别用 *NotI* 和 *XhoI* 进行酶切,回收预定片段,进行连接。体系: LAT1 目的片段 2 uL,载体 1 uL,反应液 5 uL,共计 10 uL 的连接体系于 16℃ 过夜,然后转化 DH5a 感受态细胞,涂布于含氨苄的 LB 平板培养基上,37℃ 恒温过夜培养,挑取白色单克隆,按质粒提取试剂盒说明提质粒后,*NotI* 和 *XhoI* 双酶切鉴定,酶切正确的质粒送 TaKaRa 公司进行测序。

1.2.3 pcDNA3.1-LAT1 转染 Neuro-2a 细胞

1.2.3.1 pcDNA3.1-LAT1 瞬时转染 Neuro-2a 细胞

先将 Neuro-2a 细胞从液氮罐中快速取出于 37℃ 恒温进行复苏,然后传代。待细胞融合度达 80% 以上进行转染,按每孔分别加 4.0 μg 质粒 (pcDNA3.1-LAT1 或 pcDNA3.1) 及 10 μL 脂质体计算,取适量的质粒及脂质体进行混合,室温静置 20 min。弃去各孔内旧培养液,然后用平衡 DMEM/F12 培养基冲洗两次,将质粒及脂质体混合液按组分别加入各孔内。具体分组:选取 4 孔作为阳性组 (pcDNA3.1-LAT1 质粒进行转染),标记为第①、②、③和④;另任选 4 孔为对照组 (pcDNA3.1 质粒进行转染),标记为第⑤、⑥、⑦和⑧;其余孔设为空白组 (不含质粒,只含脂质体的培养基) 并标记为 *。于 37℃,5% CO₂ 无菌培养箱中培养 6 h。吸弃旧培养基及混合物,加入 1 mL 新鲜完全培养基后,37℃,5% CO₂ 培养箱中孵育 24~48 h。

1.2.3.2 建立稳定转染的 Neuro-2a 细胞系

瞬转后 48 h,实验组、对照组及空白组的每孔细胞分别加入 500 ng/μL G418 的完全培养基进行筛选。用胰蛋白酶消化 Neuro-2a 细胞,使细胞密度达 1×10^3 /mL,取 2 mL 细胞悬液置于无菌培养皿中,在倒置显微镜下,用自制的毛细吸管逐个吸出单细胞分别置于含适量新鲜完全培养基的 96 孔培养板中。37℃,5% CO₂ 无菌培养箱内继续培养。等到细胞长到 96 孔培养板的孔底 1/3~1/2 面积时,每孔加入 200 ng/μL 的 G418 继续加压筛选 6~7 d。倒置显微镜下观察,挑选生长良好的细胞转种于 24 孔板进行扩大培养。

1.2.4 LAT1 在细胞中表达的检测

1.2.4.1 LAT1 基因 mRNA 水平的检测

细胞计数后 4℃,8000 r/min 离心 2 min,收集沉淀。按每 1×10^7 个细胞加入 2 mL 的 TRIzol 并参照试剂说明提取总 RNA,并用紫外分光光度计对 RNA 纯度和浓度进行鉴定。然后参照 TakaRa 反转录试剂盒说明,用内参及 LAT1 引物做 RT-PCR,检测 Neuro-2a 细胞中 LAT1 基因在 mRNA 水平的表达。

1.2.4.2 LAT1 蛋白表达水平的检测

细胞裂解液充分裂解 Neuro-2a 细胞,12000 r/min 离心 3 min,提取总蛋白,于紫外分光光度计上测 OD 值,计算蛋白含量。上样 30 μg 总蛋白,12% SDS-PAGE 分离后电转移至硝酸纤维素膜上,蛋白干粉封闭液封闭 1 h,弃 TBST,加新鲜配制的一抗

(LAT1 一抗稀释度为 1:250;β-actin 一抗稀释度为 1:1000),4℃ 孵育过夜。TBST 洗膜 3 次,每次 5 min 后,加入辣根过氧化物酶偶联的鼠抗兔二抗 (1:2000) 室温孵育 1 h。然后 TBST 再洗膜 3 次,每次 5 min 后,DAB 显色。以 β-actin 蛋白作参照,分析 LAT1 蛋白的相对表达量。

1.2.5 LAT1 蛋白表达对 Neuro-2a 细胞增殖的影响

各组细胞分别经 EDTA-胰蛋白酶消化、离心、计数,以每孔 1×10^3 /孔的密度接种于 96 孔板,每组设 6 个重复孔,别于 1t,2t,3t,4t,5t,6t (每天上午 10 时) 进行 MTT 检测。具体方法:37℃,5% CO₂ 无菌培养箱中培养到各自时间点,于超净工作台内,将各实验孔内加入 20 μL MTT 溶液 (5 mg/mL) (析出紫色结晶),继续孵育充分反应 4 h。小心吸弃上清后各实验孔加入 150 μL DMSO,可见紫色结晶溶解,孔板于摇床轻摇混匀后,继续孵育 10 min。最后取出 96 孔板置于酶联检测仪测试台,于 570 nm 波长下检测各孔溶液的 OD 值。检测结果以空白孔调零,以时间为横坐标,OD 值为纵坐标绘制细胞生长曲线。

1.2.6 LAT1 对 Neuro-2a 细胞周期的影响

各组细胞复苏后,等到达 80% 融合度以上,以 1×10^3 /孔的密度接种于 24 孔板,每组分别设 4 个重复孔。37℃,5% CO₂ 无菌培养箱中培养约 48~72 h。37℃ 预平衡的胰蛋白酶消化,1000 r/min 离心 2 min,收集细胞沉淀,用 1 mL PBS 漂洗两次。再次离心收集细胞沉淀 (每管约含 2~3 万个细胞),然后每管加入由 200 μL PI 染料和 200 μL 打孔剂组成的染色液 0.5 mL,排序后室温避光孵育 30 min 以上。细胞染色后 1 h 内,借助流式细胞仪进行检测,分析细胞周期及凋亡的变化。

1.2.7 统计分析

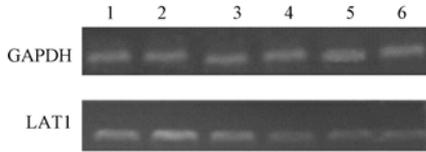
实验数据结果采用 SPSS13.0 进行统计学分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义;图表则采用 SigmaPlot10.0 软件进行绘制分析。

2 结果

2.1 瞬转后各组 LAT1 mRNA 水平的检测结果

凝胶图像分析系统进行条带光密度扫描,发现转染 48 h 后细胞中 LAT1 表达量最多,以 GAPDH 为内参对 LAT1 相对表达量进行分析,转染后 48 h 与其他时间点 LAT1 的表达量以及与其他

照组 LAT1 表达量具有显著差异 ($P < 0.05$), 以对照组(空质粒转染)48 h 细胞中 LAT1 表达量与空白组(未转染)表达量差异没有统计学意义 ($P > 0.1$) (图 1)。



注:1 转染 24 h;2 转染 48 h;3 转染 72 h;4 转染 96 h;5 对照组;6 空白组。

图 1 各组 LAT1 RT-PCR 结果

Note:1. transfect 24 h;2. transfect 48 h;3. transfect 72 h;4. transfect 96 h;5. control group;6. blank group.

Fig.1 LAT1 and GAPDH mRNA expressions were detected by RT-PCR for different group

2.2 稳转后 LAT1 mRNA 水平的检测结果

以 GAPDH 为内参(250 bp),经 RT-PCR 对实验组、对照组及空白组的 LAT1 (1550 bp) 进行检测,通过凝胶图像分析软件对目的片段和内参进行灰度分析,比值见图 2,实验组和后两者比差异有统计学

意义 ($P < 0.05$),对照组和空白组差异没有统计学意义。

2.3 LAT1 蛋白水平表达的检测结果

Western-blot 检测结果显示:在转染的 Neuro-2a 细胞中表达的 LAT1 蛋白可以被 LAT1 单克隆抗体特异性识别,大小与预期相同,相对分子质量约为 55×10^3 。以 β -actin 为内参各组的相对表达量(图 3),且实验组表达量高于对照组及空白组。

2.4 LAT1 表达对 Neuro-2a 细胞的增殖影响

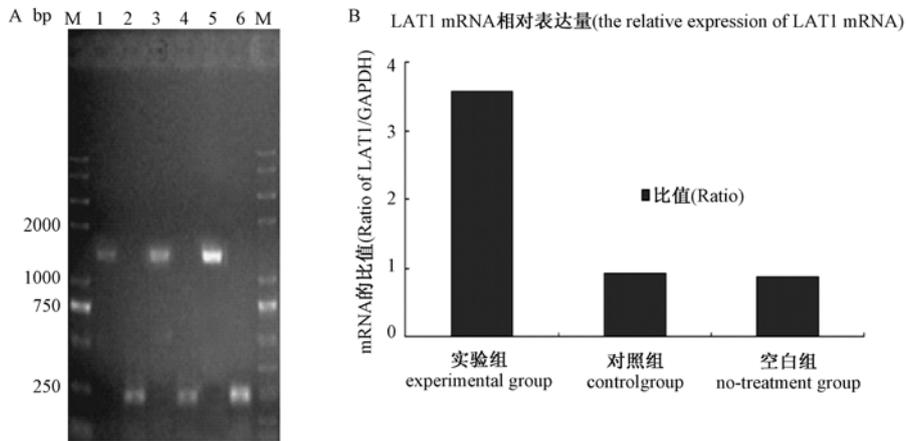
MTT 法检测细胞的增殖,绘制细胞生长曲线,发现实验组 Neuro-2a 细胞增殖比对照组细胞增殖快,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.5 LAT1 表达对 Neuro-2a 细胞周期分析

通过流式细胞仪检测各组 Neuro-2a 细胞周期,结果显示实验组 G_0/G_1 期的细胞数明显低于对照组,而 S 和 G_2/M 期的细胞数增加,说明 LAT1 有促进 Neuro-2a 细胞增殖的作用。

2.6 LAT1 对 Neuro-2a 细胞的凋亡分析

从二维散点图结果可以看出,LAT1 能抑制细胞的凋亡。



注:1 对照组;3 空白组;5 实验组;2,4,6 内参。

图 2 RT-PCR 检测稳转后 LAT1 的相对表达量(A 电泳图;B mRNA 半定量统计图)

Note:1. control group;3. blank group;5. experimental group;2,4,6 internal reference.

Fig.2 LAT1/GAPDH mRNA expressions were detected by RT-PCR after stable transfection (A Electrophoretogram;B Semiquantitative analyses of mRNA)

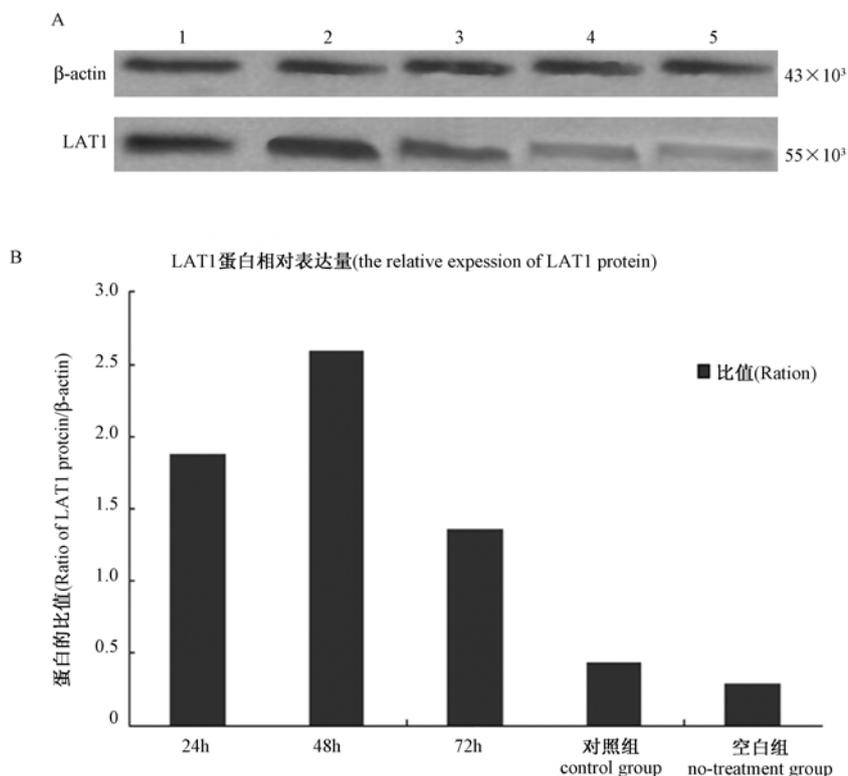
表 1 各组不同时间点的吸光度 ($\bar{x} \pm S, n = 6$)

Tab.1 Absorbance of each group on different time points ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Group	吸光度 Absorbance					
	1d	2d	3d	4d	5d	6d
对照组 Control group/control group	1.03 ± 0.06	1.12 ± 0.08	2.11 ± 0.07	2.73 ± 0.10	2.19 ± 0.08	1.89 ± 0.10
实验组 Experimental	1.07 ± 0.04 *	1.28 ± 0.07 *	2.54 ± 0.06 *	3.67 ± 0.11 *	2.94 ± 0.03 **	2.63 ± 0.08 *

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. vs. control group.



注: 1. 2. 3 不同时间实验组; 4 对照组; 5 空白组。

图 3 Western blotting 检测稳定转染后 LAT1 蛋白的表达 (A 蛋白印迹图; B 蛋白半定量统计图)

Note: 1. 2. 3 experimental group of different time group; 4. control group; 5. blank group.

Fig. 3 Expression of LAT1 protein in Neuro-2a cells stably transfected by Western blotting

表 2 各组细胞周期 G₁, G₂ 和 S 的比例 ($\bar{x} \pm S$, n = 4)

Tab. 2 Neuro-2a cell cycle analyses for the G₁, G₂ and S phase of different groups ($\bar{x} \pm S$, n = 4)

组别 Group	G ₁	G ₂	S
对照组 Control	84.65 ± 1.01	9.37 ± 0.35	5.93 ± 1.09
实验组 Experiment	59.91 ± 1.23 *	18.87 ± 0.23 **	21.48 ± 0.16 *

注: 与对照组比较, * P < 0.05, ** P < 0.01。

Note: * P < 0.05, ** P < 0.01. vs. control group.

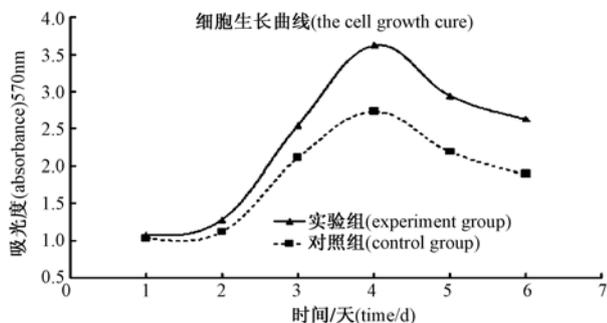
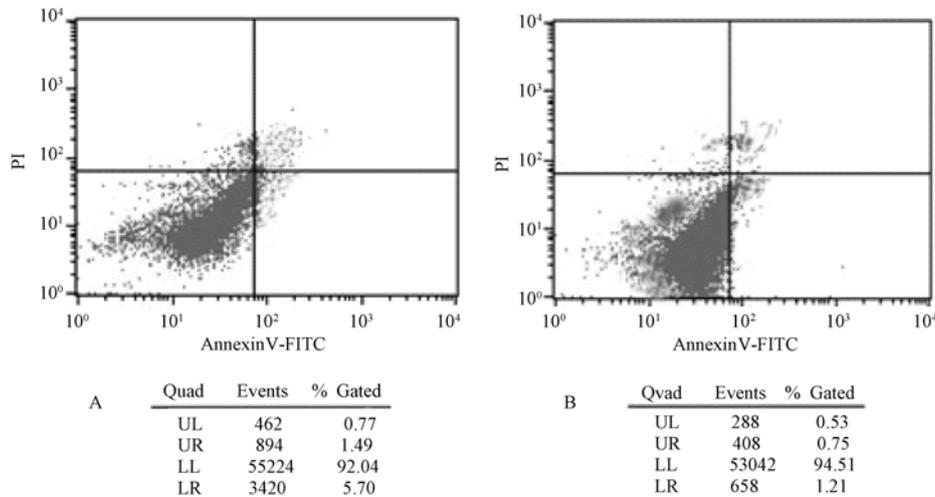


图 4 各组细胞 1-6d 的生长曲线

Fig. 4 Neuro-2a cell growth curve of each group from 1 to 6 d

3 讨论

氨基酸作为营养物质进出细胞, 必须依赖于氨基酸转运载体来介导。如果氨基酸转运过程出现异常将会导致严重的氨基酸吸收和代谢障碍性疾病^[6]。同时肿瘤细胞在增殖、迁移、侵袭的过程中也需要大量的氨基酸提供营养, 氨基酸跨膜转运载体则为氨基酸进出肿瘤细胞提供了载体。可见氨基酸转运载体在氨基酸转运过程中具有重要的生理及病理意义^[7-9]。L 型氨基酸转运载体 1 (LAT1) 是肠上皮细胞中非常重要的中性氨基酸转运载体, 其除转运支链氨基酸、芳香族氨基酸、中性氨基酸还有一些必需氨基酸外, 同时还参与转运如左旋溶肉瘤素等抗肿瘤药物、左旋多巴类抗帕金森药物以及



注:A,对照组;B,实验组。

图6 散点图检测各组细胞凋亡率

Note:A, control group; B, experiment group.

Fig. 6 Neuro-2a cell apoptosis rate of group by scatter diagram

多巴酚丁胺等抗癫痫药物^[2, 10-12]。LAT1 作为一种氨基酸进出细胞提供中介的载体已经逐步被人们所认识。目前,对 LAT1 的研究主要集中在载体的转运特性及生理特性、蛋白表达与结构等方面,而对转运体的调控机制方面还涉足很少,且其生物学功能调节的分子机制目前尚未完全阐明,尤其在肿瘤治疗方面的价值还需要进一步探索。本研究发现转染 pcDNA3.1-LAT1 质粒的 Neuro-2a 细胞具有 LAT1 的生物学转运活性,且 LAT1 蛋白的表达能促进 Neuro-2a 细胞增殖,同时抑制细胞凋亡的发生。提示可否通过抑制 LAT1 的功能来抑制肿瘤的增殖呢?为下一步的研究提供了新的思路。本实验从细胞水平研究了 LAT1 在肿瘤细胞中的表达及对肿瘤细胞的影响,为研究 LAT1 在肿瘤中的作用奠定基础。这对于肿瘤的发生、发展及治疗方面都有着重要的意义。

参考文献:

- [1] Chino M, Mikami T, Yoshida T, *et al.* High expression of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) in gastric carcinomas: comparison with non-cancerous lesions [J]. *Pathol Int*, 2011, 61 (5) : 281 - 289.
- [2] 黄土隋. 氨基酸转运载体 LAT1 在肿瘤中的研究进展 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2012, 17 (1) : 85 - 88.
- [3] Youland RS, Kitange GJ, Peterson TE, *et al.* The role of LAT1 in (18) F-DOPA uptake in malignant gliomas [J]. *J Neurooncol*, 2013, 111 (1) : 11 - 8.
- [4] Pinho MJ, Cabral JM, Silva E, *et al.* LAT1 overexpression and function compensates downregulation of ASCT2 in an in vitro

model of renal proximal tubule cell ageing [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 349 (1 - 2) : 107 - 16.

- [5] 罗扬拓,朱承睿,武元,等. 噬菌体展示技术发展. *现代生物医学进展*, 2011, 11 (12) : 2389 - 2390.
- [6] Fan X, Ross DD, Arakawa H, *et al.* Impact of system L amino acid transporter 1 (LAT1) on proliferation of human ovarian cancer cells: a possible target for combination therapy with anti-proliferative aminopeptidase inhibitors. [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80 (6) : 811 - 8.
- [7] Kaira K, Sunose Y, Ohshima Y, *et al.* Clinical significance of L-type amino acid transporter 1 expression as a prognostic marker and potential of new targeting therapy in biliary tract cancer. *BMC Cancer*, 2013, 13 (1) : 482.
- [8] Kaira K, Oriuchi N, Takahashi T, *et al.* L-type amino acid transporter 1 (LAT1) expression in malignant pleural mesothelioma [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31 (12) : 4075 - 82.
- [9] Peura L, Malmioja K, Laine K, *et al.* Large amino acid transporter 1 (LAT1) prodrugs of valproic acid: new prodrug design ideas for central nervous system delivery [J]. *Mol Pharm*, 2011, 8 (5) : 1857 - 66.
- [10] Peura L, Malmioja K, Huttunen K, *et al.* Design, synthesis and brain uptake of LAT1-targeted amino acid prodrugs of dopamine [J]. *Pharm Res*, 2013, 30 (10) : 2523 - 37.
- [11] Ohkawa M, Ohno Y, Masuko K, *et al.* Oncogenicity of L-type amino-acid transporter 1 (LAT1) revealed by targeted gene disruption in chicken DT40 cells; LAT1 is a promising molecular target for human cancer therapy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 406 (4) : 649 - 55.
- [12] Ohtsuki S, Yamaguchi H, Kang YS, *et al.* Reduction of L-type amino acid transporter 1 mRNA expression in brain capillaries in a mouse model of Parkinson's disease [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33 (7) : 1250 - 2.

[修回日期] 2014-03-28