

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学号: 21720081152671

UDC _____

厦 门 大 学

_____ 硕 士 _____ 学 位 论 文

Ran 在对虾血细胞吞噬中的调节作用及酚氧化酶调控相关 miRNA 的筛选

Regulation of shrimp hemocytic phagocytosis by Ran and screening of miRNAs involved in ProPO system

赵 哲

指导教师姓名: 章晓波教授

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2011 年 04 月 27 日

论文答辩时间: 2011 年 05 月 31 日

学位授予日期: 2011 年 月 日

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2011 年 5 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：赵哲

2011年06月07日

目录

中文摘要.....	1
Abstract.....	2
1 前言	4
1.1 对虾免疫系统	4
1.2 Ran 蛋白的基本特征与研究进展	4
1.2.1 Ran 的结构特点.....	5
1.2.2 Ran 活性的调控.....	5
1.2.3 Ran 的生物学功能.....	6
1.3 miRNA 的研究概况	9
1.3.1 miRNA 的特征与生物发生.....	10
1.3.2 miRNA 的功能.....	10
1.4 高通量筛选技术的发展及其应用	14
1.4.1 高通量筛选技术体系的组成.....	14
1.4.2 筛选模型.....	16
1.4.3 生物芯片药物筛选技术.....	17
1.5 论文的目的及意义	17
2 材料与方法	19
2.1 材料	19
2.1.1 试验材料.....	19
2.1.2 试验试剂.....	19
2.1.3 引物.....	19
2.1.4 主要仪器.....	19
2.1.5 常用溶液和培养基.....	20
2.2 方法	23
2.2.1 基因克隆.....	23
2.2.2 与 Ran 启动子互作的蛋白筛选.....	26
2.2.3 免疫增强剂的筛选.....	29
2.2.4 与 PO 免疫途径相关的 miRNA 筛选.....	31

3 结果与讨论	33
3.1 Ran 启动子与 Ran 蛋白的相互作用	33
3.1.1 利用启动子筛选互作蛋白	33
3.1.2 凝胶迁移阻滞验证 Ran 蛋白与其启动子相互作用	34
3.1.3 Ran 蛋白在 Ran 基因表达中的作用	37
3.2 Ran 蛋白为靶蛋白的免疫增强剂筛选及其抗病毒作用	41
3.2.1 免疫增强剂对 Ran 酶活的影响	41
3.2.2 免疫增强剂对对虾血细胞吞噬活性的影响	42
3.2.3 免疫增强剂对 WSSV 拷贝数的影响	47
3.2.4 免疫增强剂对对虾死亡率的影响	48
3.3 酚氧化酶免疫途径相关的 miRNA	50
3.3.1 酚氧化酶抑制剂和激活剂的最适浓度和最佳作用时间	50
3.3.2 酚氧化酶调控相关的 miRNA	52
4 讨论	60
5 小结与展望	63
参考文献	65
致 谢	75

Contents

Chinese abstract	4
English abstract	5
1 Introduction	4
1.1 Immune system of shrimp	4
1.2 The research progress of Ran	4
1.2.1 The characteristics of Ran.....	5
1.2.2 Regulation of Ran activity.....	5
1.2.3 The functions of Ran.....	6
1.3 Reviews on miRNA	9
1.3.1 The feature and biogenesis of miRNA.....	10
1.3.2 The function of miRNA.....	10
1.4 The development and application of high-throughput screening method ..	14
1.4.1 Components of high-throughput screening system.....	14
1.4.2 Model for screening.....	16
1.4.3 Drug screening technology based on biochip.....	17
1.5 The purpose and significance of this study	17
2 Materials and methods	19
2.1 Materisls	19
2.1.1 Materials.....	19
2.1.2 Reagents.....	19
2.1.3 Primers.....	19
2.1.4 Apparatus and equipments.....	19
2.1.5 Solutions and media.....	20
2.2 Methods	23
2.2.1 Gene cloning.....	23
2.2.2 Screenig for proteins interacted with Ran promoter.....	26
2.2.3 Screening for immunostimulants.....	29
2.2.4 Screening for miRNAs involved in proPO system.....	31

3 Results and analyses	33
3.1 The interaction between Ran promoter and Ran protein	33
3.1.1 Screening for proteins interacted with Ran promoter	33
3.1.2 Identification of the Ran protein-promoter interaction by EMSA	34
3.1.3 The role of Ran protein in the expression of Ran gene	37
3.2 Screening and antiviral activity of immunostimulants targeting the Ran protein	41
3.2.1 Effects of immunostimulants on Ran GTPase activity	41
3.2.2 Effects of immunostimulants on shrimp hemocytic phagocytosis	42
3.2.3 Effects of immunostimulants on WSSV copies	47
3.2.4 Effects of immunostimulants on WSSV-infected shrimp mortality.....	48
3.3 miRNAs involved in the regulation of ProPO system	50
3.3.1 The suitable concentration and time for PO inhibitor and activator	50
3.3.2 miRNAs involved in the regulation of PO	52
4 Discussion	60
5 Conclusions and perspectives	63
References	65
Acknowledgements	75

摘 要

吞噬作用在无脊椎动物的先天性免疫过程中起着非常重要的作用，Ran GTPase 可以通过与 myosin 轻链蛋白的相互作用调控对虾血细胞对 WSSV 病毒的吞噬过程，并防御 WSSV 的感染，但是关于 Ran 基因的表达调节还未被报道过。本论文克隆包含 TATA 盒的 Ran GTPase 的启动子，利用生物素-链霉亲和素试验发现 Ran 启动子可与 Ran 蛋白相互结合，在 *Drosophila* S2 细胞中，利用萤光素酶报告基因分析发现 Ran GTPase 与 Ran 启动子结合后，萤光素酶活性降低，表明启动子的转录活性降低，导致 Ran 基因转录水平下调。本研究揭示 Ran 蛋白可结合自身启动子调节自身的基因转录，这种反馈调节机制是一种新的 Ran 基因转录调节机制。

由于 Ran 蛋白在对虾免疫吞噬中的重要作用，因此本研究以 Ran 蛋白为靶蛋白，筛选免疫增强剂。采用体外测定 Ran GTP 酶活的方法，筛选获得 2 个能有效增强 Ran 酶活的分子，分别为白介素 4 和溶血卵磷脂；将白介素 4 和溶血卵磷脂注射对虾后测定吞噬活性，结果表明这 2 种分子均可显著提高对虾血细胞吞噬活性；血细胞吞噬活性提高使得 WSSV 拷贝数显著降低，进而显著降低对虾因感染病毒导致的死亡率。本研究为对虾病害的防治提供新的免疫增强剂，也为对虾病害的防治提供新的技术手段。

miRNA 是一类长度约为 20-25nt 的非编码单链小分子 RNA，能够对基因进行转录后表达调控，进而参与生长发育、细胞分化、凋亡和增殖等多种生理过程。为获得与酚氧化酶原系统 (ProPO) 相关的 miRNA，本研究分别采用酚氧化酶 (PO) 激活剂 TPCK 和抑制剂 allythourea 处理对虾，再进行 miRNA 测序。测序结果及差异序列比较发现，19 条 miRNA 在激活剂或抑制剂处理后，表现为上调或下调表达；采用 Northern blot 验证了试验结果。因此，19 条差异 miRNA 对 PO 的表达可能具有调控作用，参与 ProPO 免疫途径。

关键词：对虾，Ran GTPase，启动子，免疫增强剂，miRNA，酚氧化酶

Abstract

Phagocytosis plays an important role in the innate immune of invertebrate. Recently it is revealed that the Ran GTPase can regulate the hemocytic phagocytosis of shrimp against WSSV infection by interaction with myosin. However the regulation of Ran gene expression remains to be addressed. In this study, the promoter of shrimp Ran gene was identified which contained a typical TATA box. The results showed that the shrimp Ran protein was bound with the Ran promoter in *Drosophila* S2 cells. Based on luciferase assays, our study indicated that the transcription of Ran gene could be regulated by the interaction between the Ran promoter and the Ran protein, suggesting the existence of a feedback regulation in Ran gene expression. Therefore our study presented a novel finding on the feedback regulation of gene transcription.

Duo to the importance of Ran in phagocytosis of shrimp, the Ran was used as the target protein for the screening of immunostimulants. Based on the Ran activity, IL-4 and lysophosphatidycholine were found to enhance the activity of Ran GTPase. The results showed that the phagocytosis activity of shrimp hemocytes was significantly increased in response to the injection of IL-4 or lysophosphatidycholine in shrimp. After the injection of IL-4 or lysophosphatidycholine, the WSSV copies were significantly decreased, which led to the significant decrease of mortality of WSSV-infected shrimp. Our study provided immunostimulants for the controlling shrimp disease and presented a novel strategy to prevent shrimp from pathogen infection.

miRNAs are noncoding RNAs with 20–25 nucleotides that modulate gene expression, involving in development, cell differentiation, apoptosis, proliferation and other physiological processes. To obtain miRNAs involved in the ProPO system, the shrimp were injected with PO inhibitor (allythiourea) or PO activator (TPCK), followed by miRNA sequencing. The sequence analyses revealed that 19 miRNAs were up-regulated or down-regulated. The differentially expressed miRNAs were confirmed by Northern blots. These miRNAs might regulate the expression of PO and

be involved in ProPO system of shrimp immunity.

Key Words: shrimp,Ran GTPase,promoter,miRNA,Phenoloxidase.

厦门大学博硕士学位论文摘要库

1 前言

1.1 对虾免疫系统

对虾在分类上属于节肢动物门，有鳃亚门，甲壳纲，软甲亚纲，十足目，游泳亚目，对虾科，对虾亚科，对虾属。因此，对虾是无脊椎动物。无脊椎动物的免疫研究起步较晚，一般认为，只存在先天性免疫，无获得性免疫^[1]。

对虾免疫的主要免疫器官有甲壳、鳃和血窦。甲壳不仅能支持机体，还是对虾抵抗病害入侵的第一道防线；鳃的功能主要是滤过进入机体的异物；而进入的机体的异物则被限制在血窦中，引起血窦内血细胞吞噬作用增强，吞噬后的产物、毒物在蜕皮时蜕去^[2]，从而起到抗感染或免除疾患的作用^[3]。

对虾的体液防御包括酚氧化酶原激活系统 (ProPO)、凝集素的凝集作用和产生抗菌肽、溶菌酶和溶血素等免疫因子。酚氧化酶，是一种含双铜的氧化还原酶，分子量在 70 KDa 左右^[4]。酚氧化酶原从血细胞中释放出来后，被激活成酚氧化酶，酚氧化酶催化两个连续的反应，第一个反应是将单酚化合物 (monophenols) 氧化成邻二酚产物 (o-diphenols)，第二个反应是将邻二酚产物氧化成邻二醌 (o-quinones)，醌自发生成的最终产物是黑色素。黑色素和醌均为高活性物质，可抑制病原体胞外蛋白酶和几丁质酶的活性，从而抑制甚至杀死病原体^[5]。除此之外，酚氧化酶还参与包囊作用，参与伤口的愈合^[6]。在软体动物中，酚氧化酶还参与卵囊、足丝、壳基质蛋白、角质层的形成^[7]。溶血素可溶解破坏异物的细胞，参与调理作用，而且还具有溶菌活性，并可能与酚氧化酶原的激活系统有关。

细胞免疫以吞噬作用 (phagocytosis) 为主，它是重要的非特异性清除异物的过程^[8, 9]，是最普遍的细胞防御方式，起吞噬作用的细胞主要是血淋巴中的血细胞和淋巴器官中的淋巴细胞。吞噬过程^[10-12]大致可分为趋化、吸附、吞入和消化杀菌四个阶段。

1.2 Ran 蛋白的基本特征与研究进展

Ran是一种主要分布于细胞核内的小分子蛋白质，分子量约25KD。将其基因序列与Ras家族基因序列比对，根据保守性结构域及末端序列特征，因而得名为Ran (Ras-related nuclear protein)。

1.2.1 Ran 的结构特点

Ran 具有GXXXXGKS(T)、DXXG、N(T)KXD和EXSAX4个保守的结构域,这些结构域是小G蛋白所共有的。序列GXXXXGKS(T)和DXXG为GTP 酶的活性部位,另外两个为GDP/ GTP 的结合部位。该基因在真核生物(从酵母到人)中具有高度的保守性,迄今尚未在原核细胞中发现其同源物,酵母和哺乳动物的Ran具有81%的同源性,而鼠与人的Ran 94%甚至完全同源(已发现鼠的Ran有2个异形体)^[13]。

与Ras家族的其它成员相比, Ran 又具有一些不同于其它小G蛋白的特点,首先,在C末端缺乏一个作为翻译后异戊二烯化受体位点的半胱氨酸残基(含有半胱氨酸残基的部位是脂酰化修饰的特异信号和位点),因此, Ran 没有经过像Ras家族其它成员膜定位所必需的翻译后脂酰化修饰。但Ran 蛋白拥有一个酸性C末端序列DEDDDL,定位于细胞核,这一序列突出于球状结构的Ran 分子表面^[14]。因此 Ran不附着在膜上,其活性的发挥也无需脂质参与。其次,尽管Ran 并不含有核定位信号^[15],但Ran主要分布在核内(占80%)。

1.2.2 Ran 活性的调控

Ran与其它小G蛋白一样具有GTPase,通过分解与其结合的GTP分子产生生物学效应。因而,Ran在细胞内可与不同的调控蛋白结合,改变核苷交换及水解的速率,同时,使得Ran能够在生理状态下以适宜的速率在GTP结合状态和GDP结合状态之间循环转化(图1)。

鸟苷酸交换因子(RanGEF) RCC1(regulator of chromosome condensation-1)和GTP酶激活蛋白GAP1 (GTPase-activating protein-1) 是Ran-GTP酶循环的主要调控蛋白。鸟苷酸交换因子(RCC1)是位于间期细胞核内与染色体结合的45KD的蛋白,可50万倍的提高鸟苷酸交换的速率,使Ran由GDP结合态转变为GTP结合态^[13]。而GTP酶激活蛋白Ran GAP1是位于间期细胞胞浆的65KD的同源二聚蛋白,可10万倍的提高Ran的GTP水解速率,使Ran由活性的GTP结合态转变为GDP结合态^[15,16]。因此,Ran在核内主要以GTP结合的形式存在,而在胞质内主要以GDP结合的形式存在;因此,为了完成结合和水解GTP的一个完整周期,Ran必须在细胞核和细胞质之间穿梭转运。除此之外,一类包括importin- β 和相关的转运受体的蛋白质与Ran-GTP的结合,能够促进Ran-GTP在出入核时与所转运的底物结合或

解离。而一些与Ran结合蛋白1（RanBP1）同源的Ran-GTP结合蛋白虽没有Ran GAP活性，但是在体外能使Ran GAP介导的Ran-GTP水解的速率提高将近10倍。

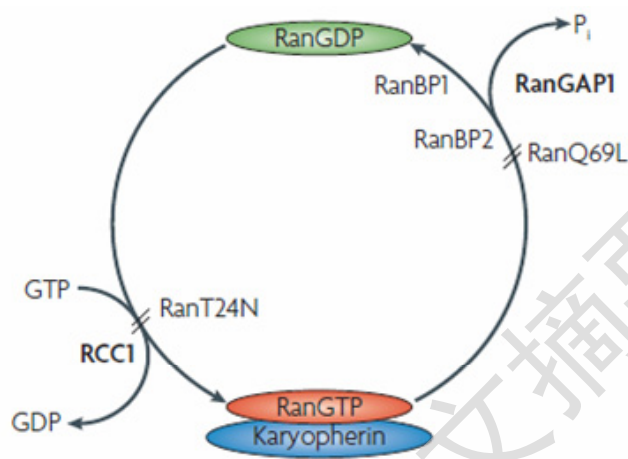


图1 Ran 的 GTP-GDP 循环（引自文献[17]）

Fig.1 The GTP-GDP cycle of Ran

1.2.3 Ran 的生物学功能

1.2.3.1 核质转运

Ran在核质转运过程中的重要角色已为大家所公认。伴随Ran-GTP 酶的循环,引起转运复合体的组合和解聚,从而完成物质的出入核转运,Ran 在这一过程中的作用模式已得到普遍接受。在这一模式中Ran 调节入核和出核受体的物质转运的方式是不同的[18]。出核受体在核内与其底物结合时底物是在RCC1的作用下与Ran-GTP 形成复合物的,出核后在Ran GAP 和RanBP1作用下,Ran-GTP 水解后受体才与底物分离。与此相反,入核受体在胞浆中与底物结合时是不含Ran GTP 的,而是以Ran-GDP的形式与含有NLS的蛋白形成复合物,入核后当受体-底物复合物与Ran GTP 结合后将底物释出,而后受体以Ran-GTP结合的形式返回到胞浆,Ran-GTP 在此依赖 RanGAP/RanBP1 水解(图2)。

Ran的这种功能,在RNA的出核转运中发挥着重要作用,因为几乎所有的RNA在核内产生,并且必须外运到细胞质才能在细胞新陈代谢中起作用。RNA 出核转

运需要出核转运因子exportin 参与, Ran-GTP 调节完成。Ran GTP的作用是:在核内,维持稳定出核转运因子exportin 与RNA 形成稳定复合物出核;在胞质内,

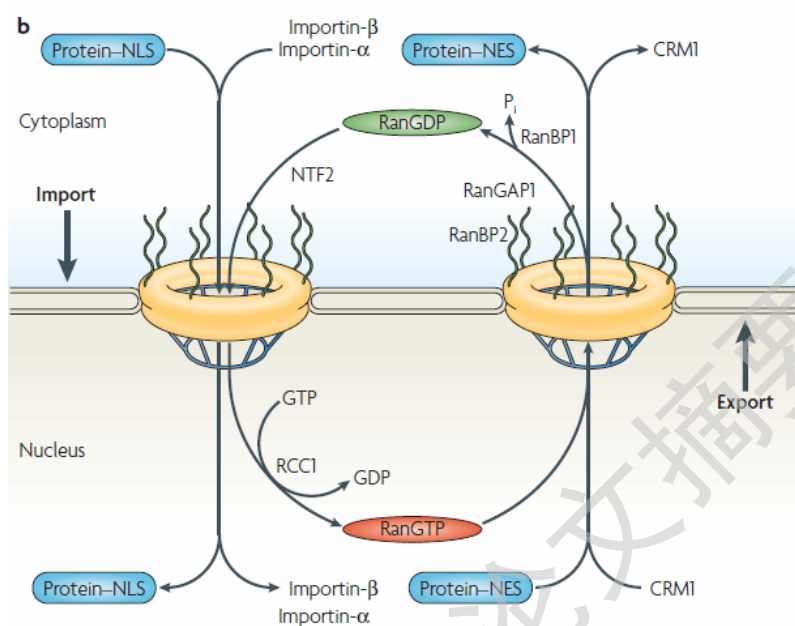


图 2: Ran 通过核孔进出核膜 (引自文献[17])

Fig.2 Ran shuttles across the nuclear envelope through nuclear pores

Ran-GTP离开复合物,释放出RNA。大多数RNA (mRNA, snRNA, rRNA 等)依赖这种Ran GTP 调节出核^[19]。但tRNA 和某些酵母热激蛋白mRNA 的出核转运不受Ran/ RCC1 失活的阻抑^[20],可能是参与运输这些RNA 的因子本身存在核内,不需Ran-GTP 调节入核。

1.2.3.2 核膜装配的调控功能

Ran对核膜装配起着核心性调控作用^[21,22]。在细胞分裂早期,Ran 离开染色质,分散到细胞质中,其中一部分定位在纺锤体和中心粒上;在细胞分裂后期和末期,随着核膜的重新装配,Ran 又重新回到细胞核内^[23]。在研究核膜装配机理中发现,Ran 多糖Beads 诱导核膜装配是一个主动的过程,需要Ran 处于完全的酶活性状态及RCC1和RanBP1 的参与^[22],Ran 的突变体Ran T24N 和RanQ69L 均不能有效地诱导核膜装配,尽管这2种突变体都可部分地募集核膜前体膜泡,但这些膜泡不能够有效地融合成完整的核膜^[24],膜泡的融合需要Ran的调控^[25]。这证明Ran 及其GTP/GDP连接形式的转换在核膜囊泡融合过程中是必需的,或者是介导染色

体使染色体刺激已连接上的囊泡融合所必需的^[26,21]。

1.2.3.3 纺锤体组装的调控功能

1999年, Zhang等^[23]、Carazo-Salas等^[27]、Kalab等^[28]、Ohba等^[29]和Wilde等^[30]几乎同时发现Ran具有调控纺锤体/星体组装作用。以非洲爪蟾卵提取物为材料研究发现, 加入GTP锁定形式的Ran突变体或者加入RCC1以提高Ran GTP的比例, 能促进分裂期纺锤体的组装, 即Ran GTP能稳定纺锤体结构, 而加入GDP锁定形式的突变体RanT24N, 则纺锤体的组装受到干扰, 并促进纺锤体/星体的去组装^[21]。后来的研究发现, 在整个有丝分裂过程中RCC1连接在染色体上, 作为Ran的核苷酸互换因子, 使染色体周围产生高浓度的Ran-GTP, Ran-GTP与染色体以依赖于和不依赖于RCC1两种形式直接连接, 在纺锤体的组装中起重要作用^[31, 32, 33]。Bamba等^[34]报道: 在*C. elegans*中利用RNAi技术干扰胚胎期的Ran通路, Ran, RCC1或RanGAP的表达降低, 导致胚胎期染色体数目改变和染色体不能平均分配, 这说明着丝粒与有丝分裂纺锤体微管连接错误, 但是中心体的位置和数量正常, 星体微管也看不出任何异常。用同样方法抑制RCCI的产生, 则导致胚胎染色体定位错误, 分裂后子细胞染色体数目不相同; 若胚胎的Ran GAP缺失, 第一次细胞分裂就出现染色体不正确分配, 细胞外周只有一团没完全解聚的染色体分布。这些说明Ran-GTP/Ran-GDP转换对正常纺锤体形成和功能发挥具有决定作用^[31, 34]。

若在卵提取物中加入Ran GTP或GTP结合状态的Ran突变体, importin β 则与RanGTP结合, 释放出来MuMA (nuclear mitotic apparatus protein) 蛋白, 也促进星体的组装^[24], Ran-GTP促进星体/纺锤体组装的机制被认为是Ran GTP与MuMA竞争性结合星体/纺锤体抑制因子importin β , 使MuMA 释放出来, 促进星体/纺锤体组装。研究还发现importin α 也与importin β 有类似的功能^[35]。TPX2 (Targeting protein for Xklp2) 也是APA (aster-promoting activity, 促星体组装活性)的成分之一^[36], 也是一种微管结合蛋白, 主要调控kinesin 样马达蛋白Xklp2与微管的结合^[35]。importin α 与TPX2 结合抑制星体/纺锤体组装。而RanGTP可以与TPX2 竞争结合Importin α , 将TPX2 的APA 活性释放出来, 促进星体/纺锤体组装^[22, 38]。Arnaoutov等^[38]研究发现exportin 蛋白中能识别核外信号NES 的受体Crm1, 定位于着丝粒上, 募集Ran-GTP与Ran-GAP1, RanBP2 形成三聚

体结合到着丝粒上, 调节纺锤体的组装。RanGEF/Pim1也是细胞有丝分裂纺锤体的组装必需的^[38]。

1.2.3.4 Ran 及其结合蛋白参与调控 DNA 复制

研究发现, Ran突变体的表达抑制DNA的复制^[39, 40, 41], 而这种抑制作用可以通过加入过量的Ran-GTP解除, 通过进一步研究发现, 在抑制DNA复制过程中, RanT24N紧密地与RCCI结合并抑制RCCI的Ran GEF功能。因而认为, Ran-GTP酶活性循环是DNA复制所需要的。

在去膜精子头加入爪蟾卵提取物的核组装实验中, 当DNA开始复制时, 加入野生型Ran或Ran的突变体, DNA的复制都能继续, 但是, 当在DNA开始复制之前核组装反应开始时加入Ran的突变体, 则DNA的复制不能进行^[42, 43]。因为在DNA复制之前, 首先需要进行细胞核组装, 上述实验说明Ran及其结合蛋白调控细胞核组装, 从而调控DNA复制。

在所有真核细胞中, 染色体的复制和分裂受严格控制, 在一个细胞周期中, DNA复制一次且只能复制一次^[44]。实现一个细胞周期一次DNA复制的机制是: 细胞通过调节复制复合体前体(prereplication complexes, pre-RCs)的组装来对其控制。在G1期, 作为DNA复制启动因子的MCMs蛋白(minichromosome maintenance proteins)连接到pre-RC(复制复合体前体), 然后cdk2在G1-S转化过程中通过pre-RC启动DNA复制, 还防止pre-RC形成过多, 实现对DNA复制的控制; 在进入下一个细胞周期之前, MCMs不能再与pre-RC结合, 因而保证DNA不能再次复制^[45], RanGTP则通过参与MCMs到pre-RCs的连接过程, 调节DNA的复制过程^[46]。

1.2.3.5 Ran参与免疫

最新研究揭示: 在无脊椎动物对虾中, 对虾 Ran GTPase(命名为PjRan)在抗病虾中的转录量和表达量相对于正常虾(非抗病虾)的表达量显著增高, 暗示PjRan蛋白可能参与到对虾对抗病毒感染的先天性免疫系统中^[47]。进一步研究发现, 基于蛋白间相互作用的研究, PjRan蛋白能通过myosin轻链蛋白的相互作用调控对虾血细胞的吞噬过程从而参与对虾的抗病毒免疫^[48]。

1.3 miRNA 的研究概况

1993年, Lee等^[49]首先在线虫(*c. elegans*)的胚胎发育期发现一种长度约为22个核糖核苷酸的小分子非编码RNA, 能调节线虫细胞发育时序, 将其命名为

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库