

学校编码: 10384

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

学号: 21620071152002

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

\_\_\_\_\_ 硕 士 \_\_\_\_\_ 学 位 论 文

# 对虾 WSSV 感染相关 miRNA 的筛选 及 Drosha 在抗 WSSV 中的作用

## The screening of miRNAs involved in WSSV infection and the role of Drosha in shrimp against WSSV

徐丹丹

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: 2010 年 4 月 28 日

论文答辩时间: 2010 年 6 月 4 日

学位授予日期: \_\_\_\_\_ 年 月 日

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_ 教授

评 阅 人: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

2010 年 6 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(非编码小 RNA 在对虾抗病毒中的分子机制)课题(组)的研究成果,获得(国家自然科学基金重点项目)课题(组)经费或实验室的资助,在(章晓波教授)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): 徐丹丹

2010年6月10日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 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）：徐丹丹

2010年6月10日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 目录

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| 中文摘要                                 | 5  |
| 英文摘要                                 | 6  |
| 1 前言                                 | 7  |
| 1.1 miRNA 的成熟、功能及鉴定                  | 7  |
| 1.1.1 miRNA 的成熟                      | 7  |
| 1.1.2 miRNA 的功能                      | 14 |
| 1.1.3 miRNA 的鉴定                      | 16 |
| 1.1.4 miRNA 靶基因的预测                   | 19 |
| 1.2 病毒产生的 miRNA                      | 20 |
| 1.2.1 病毒 miRNA 的发现                   | 20 |
| 1.2.2 病毒 miRNA 组成与表达                 | 21 |
| 1.2.3 病毒 miRNA 的产生                   | 22 |
| 1.2.4 病毒 miRNA 对自身基因的调节              | 22 |
| 1.2.5 病毒 miRNA 对宿主基因的调节              | 24 |
| 1.2.6 病毒 miRNA 的预测                   | 25 |
| 1.3 Drosha 的功能与特征                    | 26 |
| 1.3.1 Drosha 的发现及特征                  | 26 |
| 1.3.2 Drosha 与 DGCR8 对 pri-miRNA 的加工 | 26 |
| 1.3.3 Drosha 与 DGCR8 的相互调节           | 28 |
| 1.4 本论文的研究目的与意义                      | 29 |
| 2 材料与方法                              | 30 |
| 2.1 材料                               | 30 |
| 2.1.1 试验用动物、细胞                       | 30 |
| 2.1.2 菌株和质粒                          | 30 |
| 2.1.3 试剂盒                            | 30 |
| 2.1.4 试剂                             | 30 |
| 2.1.5 溶液、培养基                         | 31 |

|                                   |            |
|-----------------------------------|------------|
| 2.1.6 主要仪器设备 .....                | 38         |
| 2.2 方法 .....                      | 39         |
| 2.2.1 WSSV 感染相关 miRNA 的筛选.....    | 39         |
| 2.2.2 Drosha 在 WSSV 感染中的作用.....   | 47         |
| <b>3 结果与分析</b> .....              | <b>64</b>  |
| 3.1 WSSV 感染相关 miRNA 的筛选.....      | 64         |
| 3.1.1 小 RNA 文库的构建与测序.....         | 64         |
| 3.1.2 不同处理小 RNA 的分析.....          | 66         |
| 3.2 Drosha 在 WSSV 感染中的作用.....     | 74         |
| 3.2.1 WSSV 感染后 Drosha 表达量的变化..... | 74         |
| 3.2.2 Drosha 对 WSSV 感染的影响 .....   | 88         |
| <b>4 讨论</b> .....                 | <b>90</b>  |
| <b>5 小结与展望</b> .....              | <b>93</b>  |
| <b>参考文献</b> .....                 | <b>94</b>  |
| <b>附录</b> .....                   | <b>105</b> |
| <b>致谢</b> .....                   | <b>106</b> |

## Contents

|  |    |
|--|----|
| <b>Chinese abstract</b> .....                                  | 5  |
| <b>English abstract</b> .....                                  | 6  |
| <b>1 Introduction</b> .....                                    | 7  |
| <b>1.1 Mature, function and identification of miRNAs</b> ..... | 7  |
| 1.1.1 Mature of miRNAs.....                                    | 7  |
| 1.1.2 Function of miRNAs.....                                  | 14 |
| 1.1.3 Identification of miRNAs .....                           | 16 |
| 1.1.4 miRNA's target gene prediction.....                      | 19 |
| <b>1.2 Virus derived miRNAs</b> .....                          | 20 |
| 1.2.1 Finding of viral miRNAs .....                            | 20 |
| 1.2.2 Construction and expression of viral miRNAs.....         | 21 |
| 1.2.3 Generation of viral miRNAs .....                         | 22 |
| 1.2.4 Regulation of viral genes by viral miRNAs.....           | 22 |
| 1.2.5 Regulation of host genes by viral miRNAs.....            | 24 |
| 1.2.6 viral miRNA prediction.....                              | 25 |
| <b>1.3 Function and characterization of Drosha</b> .....       | 26 |
| 1.3.1 Characterization of Drosha.....                          | 26 |
| 1.3.2 Process of pri-miRNA by Drosha and DGCR8.....            | 26 |
| 1.3.3 Drosha-DGCR8 interaction .....                           | 28 |
| <b>1.4 The purpose and significance of this study</b> .....    | 29 |
| <b>2 Materials and methods</b> .....                           | 30 |
| <b>2.1 Materials</b> .....                                     | 30 |
| 2.1.1 Exprimental animals and cells.....                       | 30 |
| 2.1.2 Strains and plasmids.....                                | 30 |
| 2.1.3 Kits.....  | 30 |
| 2.1.4 Reagents.....  | 30 |
| 2.1.5 Solutions and media.....                                 | 31 |
| 2.1.6 Major equipments .....                                   | 38 |



|   |     |
|---|-----|
| <b>2.2 Methods</b> .....  | 39  |
| 2. 2. 1 The screening of miRNAs involved in WSSV infection.....     | 39  |
| 2. 2. 2 The role of Drosha in shrimp against WSSV.....              | 47  |
| <b>3 Results and analyses</b> .....                                 | 64  |
| <b>3.1 Screening of miRNAs involved in WSSV infection</b> .....     | 64  |
| 3.1.1 Sequencing of small RNAs .....                                | 64  |
| 3.1.2 Analysis of differentially expressed miRNAs .....             | 66  |
| <b>3.2 The role of Drosha in shrimp against WSSV</b> .....          | 74  |
| 3.2.1 Drosha expression profiles in response to WSSV infection..... | 74  |
| 3.2.2 Effects of Drosha on WSSV infection .....                     | 88  |
| <b>4 Discussion</b> .....   | 90  |
| <b>5 Conclusions and perspectives</b> .....                         | 93  |
| <b>References</b> .....   | 94  |
| <b>Appendix</b> .....   | 105 |
| <b>Acknowledgements</b> .....                                       | 106 |

## 摘要

对虾白斑综合症病毒 (White Spot Syndromic Virus, WSSV), 是一种严重危害对虾养殖业的主要病原, 目前还未找到有效的防治办法。microRNA (miRNA) 是真核生物中一类长度约 21 个碱基并具有调控基因表达作用的非编码小 RNA。研究表明 miRNA 在发育、免疫等过程中发挥重要作用, 但与病毒感染相关的 miRNA 研究目前很少。因此, 本论文筛选和分析对虾中与 WSSV 感染相关的 miRNA, 揭示与病毒感染相关的 miRNA, 同时为对虾病害防治提供依据。

本论文对日本对虾中与 WSSV 感染有关的 miRNA 进行了探索。采用 WSSV 感染对虾, 在病毒感染后不同时间 (0h, 6h, 24h 和 48h), 以对虾类淋巴器官为材料, 分别构建小 RNA cDNA 文库, 并进行高通量测序, 设置注射生理盐水的对虾为对照。通过比较和分析不同处理中小 RNA 的序列和表达水平, 发现有 22 条对虾 miRNA 的表达量在 WSSV 感染过程中存在差异显著, 说明这些 miRNA 可能与病毒感染或对虾抗病毒有关。通过 NCBI blast 分析, 发现 22 条差异 miRNA 与已知的 miRNA 具有同源性, 这些差异的 miRNA 中, 有 3 条与肿瘤相关, 11 条与发育有关, 1 条与代谢合成有关, 1 条与免疫有关, 1 条与增殖分化有关。我们的研究结果为揭示非编码小 RNA 在对虾抵抗 WSSV 侵染中的作用机制奠定了基础。

Drosha 是 miRNA 成熟过程中的关键蛋白。我们从对虾中克隆得到 Drosha 基因, 序列分析发现对虾 Drosha 蛋白与果蝇 (*D. Melanogaster*) 的 Drosha 蛋白有很高的同源性, 对虾 Drosha 蛋白具有保守的 RNaseIII 与 dsRBD 结构域。RT-PCR 结果表明, Drosha 基因在对虾各组织中均有表达, 并在 WSSV 感染后表现为明显上调表达, 说明 Drosha 与病毒的感染或对虾抗病毒有关。采用特异性 siRNA 沉默 Drosha 基因的表达, 结果显示, 当 Drosha 的表达受到 siRNA 抑制后, WSSV 拷贝数显著上升。这些试验结果表明, Drosha 在对虾抵抗病毒侵染中发挥十分重要的作用。

**关键词:** 对虾, 白斑综合症病毒, miRNA, Drosha

---

**Abstract**

White spot syndrome virus is a major pathogen of shrimp, which makes serious economic loss in shrimp aquaculture. However, no effective strategy is available to control the virus at present. microRNAs are a class of non-coding RNAs about 21 nucleotides in length in eukaryotes, which function in the regulates of gene expression. Studies have revealed that miRNAs play key roles in development and immunity. But so far the roles of miRNAs involved in virus infection are seldom addressed. Therefore in this study, miRNAs related to WSSV infection were screened and analyzed to reveal the miRNAs involved in virus infection. Our study would be helpful for the control of shrimp diseases.

In our study, to obtain miRNAs involved in WSSV infection, shrimp was infected with WSSV. At various time postinfection (0h, 6h, 24h and 48h), the lymphoid organs of shrimp were collected and subjected to the construction of small RNA cDNA libraries. In these assays, the shrimp injected with physiological saline was used as control. The samples were subjected to high-throughput sequencing. By comparing and analyzing small RNA sequences and expression levels of small RNAs from different libraries, 22 miRNAs were found to be significantly up- or down-regulated in response to WSSV challenge, suggesting that they were involved in virus infection or antiviral immunity. Based on NCBI blast analyses, 22 miRNAs shared high homologies with known miRNAs, which were related to tumor (3 miRNAs), development (11 miRNAs), metabolism (1 miRNA), immune (1 miRNA) and differentiation (1 miRNA). The results would be helpful to reveal the roles of miRNAs in shrimp against virus infection.

The Drosha plays very important roles in the biogenesis of miRNAs. The shrimp Drosha gene was cloned. The sequence analysis showed that the shrimp Drosha, with conserved RNaseIII and dsRBD domains, shared high homology with that of fruitfly. As revealed by RT-PCR, Drosha was expressed in all tissues, and exhibited up-regulation in response to WSSV infection, indicating that it was involved in virus infection or antiviral immunity. RNAi assays indicated that the silencing of Drosha led to the significant increase of WSSV copies. The data showed that the Drosha gene took effects in antiviral immunity.

**Key words:** shrimp, WSSV, miRNA, Drosha

# 1 前言

## 1.1 miRNA 的成熟、功能及鉴定

### 1.1.1 miRNA 的成熟

1993 年 Lee 等人在研究秀丽新小杆线虫的发育过程中发现了 *lin-4* 基因, 它的转录产物为 22nt 的 RNA, 此 RNA 不编码任何蛋白质, 但能调控胚胎后期的发育<sup>[1]</sup>。2000 年, Reinhart 等人在线虫中又发现了第二个异时性开关基因 *Let-7*, 它的转录产物是 21nt 的 RNA 分子<sup>[2-3]</sup>, 它也能调控线虫的发育进程。随后人们在线虫、果蝇、人类等多种真核细胞中发现近千个相似的小分子 RNA<sup>[4-5]</sup>, 并将这些小分子 RNA 统称为 miRNA。miRNA 广泛存在于生物中并参与生命活动的重要过程, 如基因的表达与调控、细胞的增殖与凋亡、器官的形成、肿瘤的发生、病毒的防御、生物的生长发育等<sup>[6-8]</sup>。

成熟的 miRNA (microRNA) 是一类长约 22nt 的单链 RNA, 不编码任何蛋白质, 由大约 70nt 的发夹结构前体加工而来, 能够识别特定的 mRNA 并与其 3' 端非编码区域 (UTR) 互补配对, 导致该 mRNA 分子的翻译受到抑制<sup>[9]</sup>。miRNA 在线虫、果蝇、植物和哺乳动物等真核生物中都有所发现, 但原核生物中还未见相关报道。miRNA 在表达上具有组织和时序的特异性以及高度的进化保守性, 是调节功能基因表达的重要调控分子, 在生物的各项生命过程中发挥着重要的作用。

#### 1.1.1.1 miRNA 在基因组上的定位

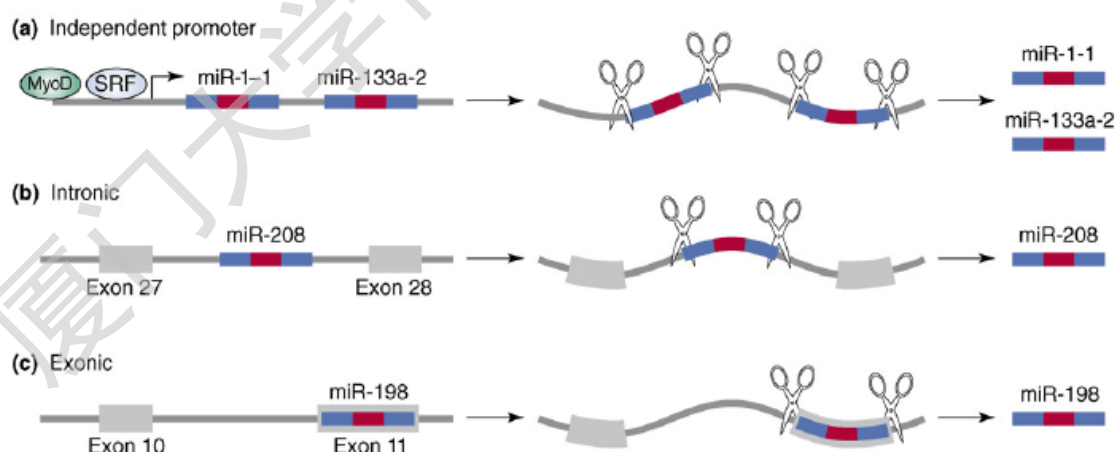


图1.miRNA基因组上的定位 (引自文献10)

Fig.1 Genomic organization of miRNAs (from ref 10)

miRNA 在基因组上的定位是不同的。在一些情况下, miRNA 的基因有它们自己独立的启动子与增强子, 如 miR-1-1 与 miR-133a-2 可以被转录因子 SRF 与 MyoD 调

节。在人与鼠中，约有40%的 miRNA 位于蛋白非编码区的内含子区或者编码蛋白的转录单位上的内含子区<sup>[10]</sup>，大部分内含子区的 miRNA 前体与它们所在区域的基因具有相同的转录方向，因此属于 RNA 前体的一部分。如在人和鼠的心脏中特异表达的 miR-208<sup>[11]</sup>，位于心脏的  $\alpha$ -myosin 重链的内含子28区。约有10%是位于外显子区，约30%的 miRNA 没有确定的转录起点，其余的来自于基因组的重复区域。大约有50%的 miRNA 位于多顺反子转录产物的 miRNA 簇中，并被剪切成多种miRNA。

### 1.1.1.2 miRNA 的产生途径

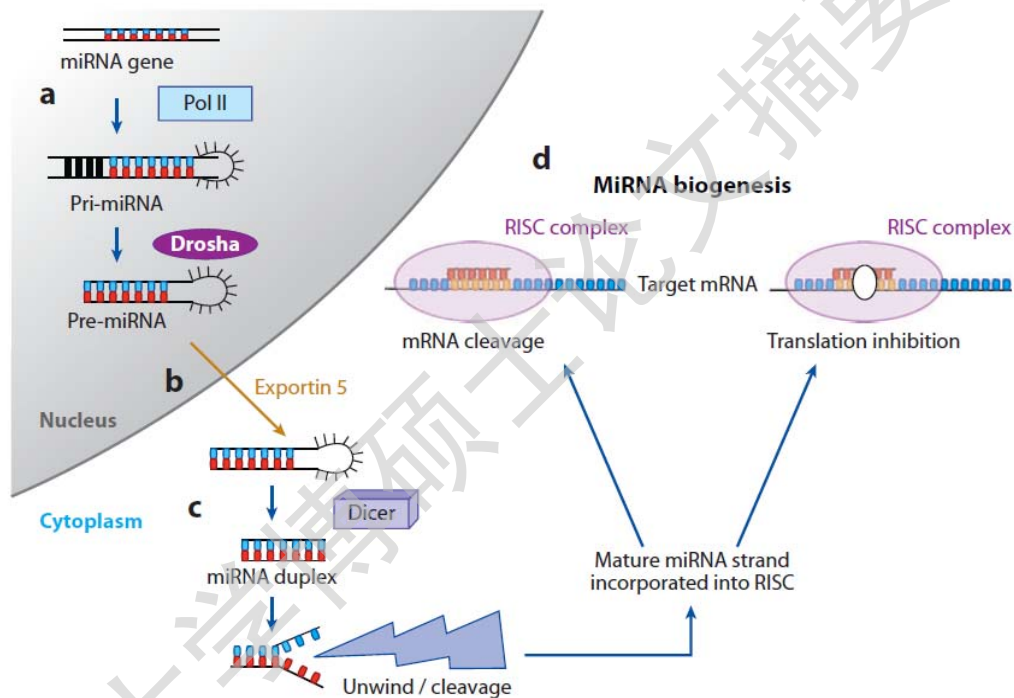


图2. miRNA 的产生途径（引自文献10）

Fig.2 miRNA biogenesis (from ref 10)

动物细胞中miRNA的产生过程如图2所示。编码miRNA的基因由RNA聚合酶II或者RNA聚合酶 III转录成具有发夹结构的pri-miRNA，然后在 RNaseIII Drosha的作用下剪切成60-70nt发夹结构的pre-miRNA(miRNA的前体)，不仅具有成熟miRNA的3'末端，而且使3'末端具有2nt的突出。Drosha与DGCR8/Pasha 蛋白构成一个微小RNA 处理器(microprocessor)的复合体，DGCR8/Pasha 蛋白识别pri-miRNA发夹结构的ssRNA-dsRNA结合处(S-D junction)并结合后，Drosha 蛋白上的两个 RNaseIII 结构域负责剪切。Drosha 的剪切位点位于每个茎环结构两侧的茎部，且通常相互错开两个核苷酸。

pre-miRNA 的3'端 2nt的突起被 Ran-GTP/Exportin 5识别, 从细胞核转运到细胞质中, 然后pre-miRNA 在Dicer 酶的作用下, 被切割成miRNA: miRNA\* 二聚体, 它包含成熟的miRNA 和它的互补链miRNA\*。miRNA\* 是pre-miRNA 上的一段RNA, 与成熟的miRNA 互补配对, miRNA\*链则迅速被降解, 只有miRNA单链可以选择性结合到RISC (RNA-induced Silencing Complex) 上去, 从而形成非对称性RISC复合体, 最终形成具有直接生物学效应的miRNA。miRNA 一旦与 RISC结合后就通过碱基完全或者不完全互补配对指导复合体与靶mRNA 结合, 使靶mRNA被剪切降解, 因此翻译受到抑制。事实上miRNA抑制翻译这一步是有争议的, 有的证据表明miRNA是阻止翻译的起始, 另外一些证据表明是阻断翻译的延伸。Ago 蛋白结合miRNA并和靶mRNA 一起积聚在加工体(processing bodies, P-bodies)中而后mRNA 降解。P-bodies 排除核糖体蛋白成分, 有可能为mRNA降解提供场所。P-bodies 有一些蛋白, 如GW182, Dcp1/Dcp2 去帽复合体, RCK/p54 解旋酶, 能与Ago 蛋白结合抑制翻译。

植物miRNA 的成熟过程与动物有所不同<sup>[12]</sup>, 因为植物中没有Drosha 的同源类似物, 在植物中通常很难检测到pre-miRNA。DCL1 是植物miRNA 成熟过程中类似于Dicer 的蛋白质, 位于细胞核内, 类似Drosha 功能的酶催化pri-miRNA 转变成pre-miRNA, 然后在DCL1 和其他类似蛋白的作用下, 通过对pre-miRNA 茎环结构的剪切, 在细胞核内生成中间产物miRNA: miRNA\* 二聚体。在类似Exportin-5 功能的HASTY协助从细胞核转运到细胞质, 成为单链的成熟miRNA。

### 1.1.1.3 miRNA成熟过程中参与的蛋白

在miRNA的成熟过程中有许多核糖核酸酶III (Ribonuclease III, RNase III) 的参与, RNaseIII在生物体中无处不在, 负责把RNA前体加工成有功能的RNA, 在蛋白合成、RNA干扰 (RNA interference, RNAi) 以及其他细胞功能中发挥着重要作用。核糖核酸酶III家族<sup>[13-15]</sup>成员包括大肠杆菌 (*Escherichia coli*) RNaseIII、Rnt1、Dicer 与Drosha, 它们功能的共同特点是通常能识别特异性位点或序列并剪切双链RNA (double strands RNA, ds RNA)。RNA干扰作为生命科学领域里最热门研究课题之一, 其中核糖核酸酶III成员Dicer 和 Drosha 在miRNA 和siRNA的产生过程中发挥着重要作用, 使核糖核酸酶III的结构和作用机制的研究越来越热门。

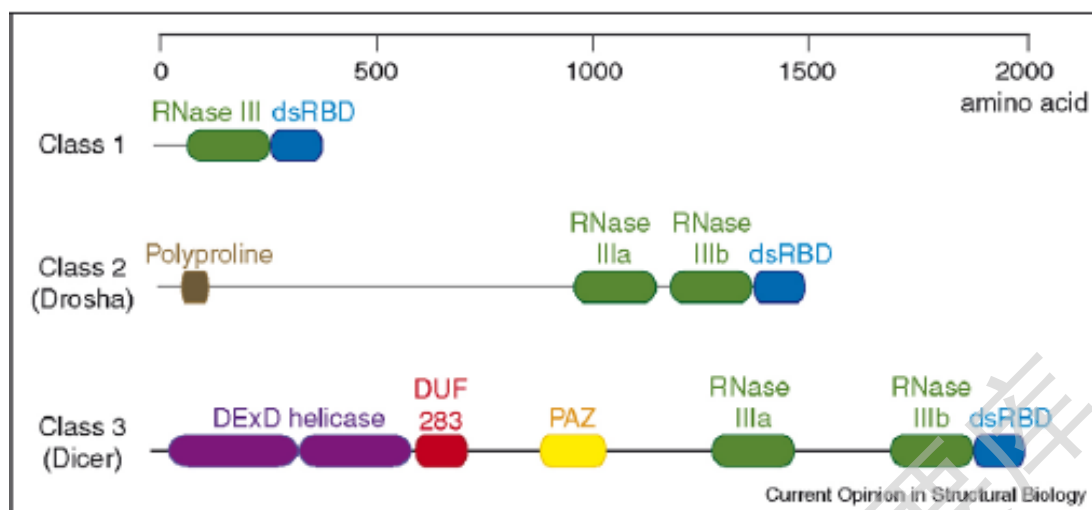


图3 RNA酶III 家族 (引自文献13)

Fig.3 RNase III family (from ref 13)

核糖核酸酶III家族是专门剪切双链RNA的核酸内切酶,所有核糖核酸酶III家族成员都拥有标志性的结构——核糖核酸酶结构域(通常称为核糖核酸酶III结构域)。双链RNA经过核糖核酸酶III加工后,形成5'磷酸基团和3'两个碱基突出。根据结构域的组成,可以把核糖核酸酶III分为三类,第一类核糖核酸酶III结构最简单,只包含一个核糖核酸酶结构域和双链RNA结合结构域(dsRNA binding domain, dsRBD);第二类在第一类的基础上增加了一个核糖核酸酶结构域,通常分别命名为RNase IIIa 和RNase IIIb;第三类是核糖核酸酶III中分子量较大,结构较为复杂的成员,通常具有了两个核糖核酸酶结构域,一个双链RNA结合结构域, N末端的DEXD/H解螺旋酶结构域(N-terminal DEXD/H-box helicase domain), 一个未知功能的结构域(unknown function ,DUF283) 和一个PAZ 结构域(PAZ domain), 该类典型的代表有Dicer 1。

Drosha 负责pri-miRNA核内加工,属于RNase III 家族第II 亚家族中的一种酶,其特征是C端有2 个RNaseIII 结构域和1个dsRNA结合结构域(double strands RNA binding domain, dsRBD), N端带有一长肽段<sup>[16]</sup>。在哺乳动物中仅有Drosha 不能将pri-miRNA 加工成70 nt 左右的pre-miRNA, 因为Drosha的dsRBD结构域还不能完全保证能与底物结合,还必须有DGCR8蛋白的识别作用参与才能进行。DGCR8 在DiGeorge综合征(一种致命性先天病症,其特征是无胸腺、甲状旁腺功能减退和心脏缺陷)中缺失,在无脊椎动物中被称Pasha<sup>[17]</sup>。DGCR8/pasha 和 Drosha 组成 Microprocessor 对pri-miRNA加工。DGCR8有两个dsRBDs 能识别pri-miRNA的特征, 即有适当长度的茎及茎两侧是单链RNA。DGCR8或者pasha负责识别底物,锚定在ssRNA-dsRNA结合处并

且引导Drosha在离结合处11bp, 离环22bp处切割, 并且产物末端有2bp的突出。此外, 还有多种RNA 结合蛋白, 包括RNA 解旋酶、dsRNA 结合蛋白及一些核蛋白等, 可能参与调节pri-miRNA 的核内加工<sup>[18-25]</sup>。

Dicer在ATP作用下, 把dsRNA或pre-miRNA加工成5'端为磷酸基、3'端为羟基, 且有2个突出的单核苷酸的21核苷酸左右(由于Dicer差异, 片段大小略有差别)小片段, 因此由长片段dsRNA产生的小片段RNA称为siRNA(Small interfering RNA), 而由具有发夹结构、长度为60-70bp的pre-microRNA产生的小RNA称为microRNA。这些小片段RNA在Dicer的辅助下与一个核酸酶复合物结合, 形成RNA诱导的沉默复合物(RNA induced silencing complex, RISC), 同样分为siRISC 和miRISC。Dicer是一个相对分子质量约200 000的多结构域蛋白质<sup>[26]</sup>, 通常含有6个结构域: 1个RNA 解旋酶—DEXD/H 盒子、1个含结合dsRNA 折叠的DUF283、1个结合dsRNA 末端的PAZ、2个RNaseIII 和1个dsRNA 结合结构域。大多数脊椎动物、尾索动物和蠕虫类动物都只有1个Dicer, 该蛋白既负责产生小干扰RNA(siRNA), 又负责产生微小RNA(miRNA), 而昆虫、真菌和植物往往有多个Dicer同系物<sup>[27]</sup>。在模式生物拟南芥中, 已发现了存在着四种Dicer类似物(Dicer-like protein, DCL), DCL-1, DCL-2, DCL-3和DCL-4。果蝇中有2个Dicer: Dcr-1 和Dcr-2, 分别负责miRNA 和siRNA 的生成<sup>[28-29]</sup>。除了加工生成小RNA 外, Dicer 在RNA 沉默复合物的装配中也发挥作用<sup>[30]</sup>, 一些dsRNA 结合蛋白与Dicer 一起促进miRNA 的加工或沉默复合物的装配。Loquacious 是果蝇Dcr-1 生成miRNA 的辅助蛋白质因子<sup>[31,32]</sup>。dsRNA 结合蛋白R2D2与果蝇Dcr-2 相互作用, 促进siRNA 装配到Ago2<sup>[33]</sup>。TRBP 是Loquacious 的人源同系物, 它同时与Dicer 和Ago2 相互作用, 形成一个三聚体, 不仅影响 miRNA 的加工, 而且一起构成沉默复合物 RISC 的装配平台<sup>[34]</sup>。另一个人源的PACT, 类似于TRBP, 能影响胞内成熟miRNA 的积累和siRNA 引发RNAi 的效率<sup>[35,36]</sup>。

Ago 家族蛋白质是RNA 诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)的核心成分, 有1个PAZ 结构域、1个具有RNaseH 核酸内切酶活性的PIWI 结构域<sup>[37]</sup>。PAZ 结构域能识别双链 miRNA 末端2bp的突出的3端, 能排除不相关的小RNA进入沉默通路。PIWI 结构域使Ago蛋白能剪切靶转录产物。Argonaut 蛋白家族最初是在植物中发现, 都具有PAZ (Piwi-Argonaute-Zwille)和PIWI 结构域。Ago 蛋白在物种间是高度保守的, 而且大多数真核生物都有多种Ago 家族成员, 不同的Ago 通常具有不同的功能<sup>[38]</sup>。Ago 蛋白的基因在裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 中是一种, 在线虫



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](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库