View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Xiamen University Institutional Repository

学校编码：10384　　　　分类号______密级______
学号：21720061152239　　　　UDC ______

厦门大学

硕士　学　位　论　文

Ran GTPase-myosin 蛋白复合体在对虾抗病毒细胞吞噬中的作用

Function analysis of Ran-myosin complex in shrimp hemocytes' phagocytosis against virus (WSSV) infection

刘炜风

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：2009 年 4 月 29 日

论文答辩时间：2009 年 5 月 30 日

学位授予日期：2008 年　月　日

答辩委员会主席：王义权　教授

评　阅　人：____________

2009 年 5 月

厦门大学博硕士论文摘要库

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

厦门大学博硕士论文摘要库

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）：

年　月　日

厦门大学博硕士论文摘要库

目录

中文摘要 1
英文摘要 2
1 前言 3
1.1 对虾的免疫系统........ 3
1.1.1 细胞免疫........ 3
1.2.2 体液免疫........ 4
1.2 Ras 蛋白超家族及其成员在吞噬中的作用........ 6
1.3 Ras 蛋白超家族成员 Ran GTPase 的研究进展 8
1.3.1 Ran 的结构特征及其分布 9
1.3.2 Ran 活性的调控 9
1.3.3 Ran 的功能 10
1.4 本论文研究的目的及意义........ 14
2 材料与方法 15
2.1 材料........ 15
2.1.1 试验用动物、细胞、菌株和质粒........ 15
2.1.2 主要试剂........ 15
2.1.3 引物........ 16
2.1.4 主要仪器设备........ 16
2.1.5 常用溶液和培养基........ 17
2.2 实验方法........ 22
3 结果与分析 39
3.1 Ran GTPase 在抗病虾和正常虾的体内转录、表达差异 39
3.1.1 Northern Blot 检测 Ran GTPase 在 mRNA 水平上的转录差异........ 39
3.1.2 Western Blot 检测 Ran GTPase 在蛋白水平上的表达差异........ 42
3.1.3 Ran GTPase 与 myosin 蛋白的相互作用........ 44
3.2 Ran GTPase 蛋白在对虾血细胞对 WSSV 的吞噬过程中起调节作用 45
3.2.1 Ran GTPase 基因敲低对血细胞吞噬的影响 45
3.2.2 Ran GTPase 过量表达对血细胞吞噬的影响 49
3.3 Ran GTPase 蛋白在对虾抵御 WSSV 感染中的作用 50
3.3.1 Real-time PCR 检测 WSSV 病毒浓度方法的建立 50
3.3.2 Ran GTPase 基因的表达量变化对 WSSV 病毒拷贝数的影响 52
3.4 Ran-myosin 蛋白互作对酶活的影响 53

厦门大学博硕士论文摘要库

3.4.1 Ran-His 在 *E.coli BL21* 中的重组表达 53
3.4.2 myosin-GST 融合蛋白在 *E.coli BL21* 中的重组表达 56
3.4.3 Ran-myosin 相互作用对酶活的影响的初步测定 58
3.5 果蝇 S2 细胞对 WSSV 吞噬过程的初步观察 60
4 讨论 62
5 结论与展望 65
参考文献 **66**
附录 **74**
致谢 **75**

厦门大学博硕士论文摘要库

Contents

Chinese abstract……………………………………………………………...1

English abstract…………………………………………………………...2

1 Introduction…………………………………………………………...3

1.1 Immune system of shrimp…………………….. ……………………………….3

1.1.1 Cellular immunity …………………………..……………………….3

1.1.2 Humoral immunity …………………………..……………………..…..4

1.2 Ras superfamily and their function in phagocytosis……………..……….……......6

1.3 The research progress of Ran………………………..……………..……..……..8

1.3.1 The structure and distribution of Ran……..……………………..……….9

1.3.2 Regulation of Ran's activity……….………………………..………..……9

1.3.3 Ran's function……….……………………………………….….…..……10

1.4 The purpose and significance of this study……………………………………14

2 Materials and methods…………………………………………………...……15

2.1 Materials……………………………………………………………….…...15

2.1.1 Animals, cells, bacteria and plasmids ……………………….………15

2.1.2 Reagents and kits ……………………………………………...………15

2.1.3 Primers ………………………..………………………….…………16

2.1.4 Apparatus and equipments ………………………………………..16

2.1.5 Solutions and media ……………………………………………17

2.2 methods ……………………………………………………………….………22

3 Results and analyses……………………………………………………………39

3.1 The transcription and expression of Ran GTPase in virus-resistant and virus-sensitive shrimps………………………………………………………39

3.1.1 Detection of the Ran transcription by Northern Blot…………………...39

3.1.2 Detection of the Ran expression by Western Blot……………………..…..42

3.1.3 The interaction beween Ran and myosin ….…………………………44

3.2 The function of Ran in the phagocytosis of shrimp hemocytes against

厦门大学博硕士论文摘要库

WSSV……………….……………………………………………………………45
3.2.1 Effect of of Ran gene knockdown on the phagocytosis activity of shrimp hemocytes…………………………………………………………………45
3.2.2 Effect of Ran gene overexpression on the phagocytosis activity of shrimp hemocytes…………………………………………………………………49
3.3 The function of Ran in viral infection..50
3.3.1 Establishment of the method to detect concentration of WSSV by Real-time PCR…………………………………………………………..50
3.3.2 The effect of Ran expression on the WSSV infection...............................52
3.4 The effect of Ran-myosin interaction on their enzymes' activities.......................53
3.4.1 The expression of recombinant Ran-His in *E.coli Bl21*………………...53
3.4.2 The expression of recombinant myosin-GST in *E.coli Bl21*…………....56
3.3.3 The elementary detection of the effect of interaction on enzymes'acticities...58
3.4 The elementary observation of phagocytosis process of Drosophila S2 cells.......60
4 Discussion……………………………………………………………………62
5 Conclusions and perspectives ………………………………………………..65
References ……………………………………………………………………...66
Appendix……………………………………………………………………..……74
Acknowledgements ……………………………………………………….....75

厦门大学博硕士论文摘要库

厦门大学博硕士论文摘要库

摘要

Ran GTPase 蛋白是属于小 G 蛋白超家族的一类成员，主要分布于细胞核内，这类蛋白已经被广泛证明参与到细胞核与细胞质间的物质运输系统中。然而，Ran GTPase 蛋白在免疫系统中的作用却仍然不清楚。

我们的研究发现，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。基于蛋白间相互作用的研究，我们发现 PjRan 蛋白可以与 myosin 蛋白相互作用并形成蛋白复合体，由于 myosin 蛋白可通过 actin 而参与细胞吞噬过程，因此 PjRan-myosin 蛋白复合体可能与吞噬有关。为了了解 PjRan 蛋白在对虾细胞吞噬中的作用，一方面采用 RNA 干扰技术敲低 PjRan 基因的表达，检测对虾血细胞吞噬的变化；另一方面采用 PjRan 过量表达分析，研究其对细胞吞噬的影响。结果表明，通过 RNA 干扰技术抑制 PjRan 基因的表达后，对虾血细胞的吞噬作用显著下降；相反，PjRan 基因表达量的增加使对虾血细胞的吞噬活性显著增强。研究表明，PjRan 基因的沉默导致对虾白斑综合症病毒（WSSV）的拷贝数显著增加，而 PjRan 基因的过量表达则导致 WSSV 的拷贝数显著降低。以上的研究结果表明，PjRan 蛋白能通过调控对虾血细胞的吞噬过程从而参与对虾的抗病毒免疫。为了进一步了解 PjRan-myosin 蛋白复合体调控吞噬过程，我们初步测定了 PjRan 蛋白与 myosin 蛋白之间酶活的相互影响，并采用荧光标记技术对 PjRan-myosin 蛋白复合体在果蝇 S2 细胞中的吞噬过程进行了初步观察。

综上所述，我们的研究揭示了 Ran GTPase 蛋白的一个崭新的功能，它可以通过与细胞骨架蛋白的直接相互作用调控细胞吞噬过程，从而起抗病毒作用。我们的研究展示了一条新的无脊椎动物（对虾）抗病毒免疫的信号通路，从而帮助我们更好地了解无脊椎动物对抗病毒感染的分子机制。

关键词： 对虾，Ran GTPase，蛋白相互作用，抗病毒吞噬，RNA 干扰

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

Ran GTPases, one family of small G protein superfamily, have been widely demonstrated to be involved in transport system between cytoplasm and nucleus. However the function of Ran GTPase in immunity remains unclear.

In our study, it was found that the Ran GTPase (designated as *PjRan*) was up-regulated in virus-resistant shrimp, indicating that the PjRan might be implicated in the innate immune system against virus infection. Based on protein interactions, it was found that the PjRan was interacted with myosin, a crucial protein in the process of phagocytosis to form a protein complex. The PjRan gene knockdown by RNAi and the overexpression of PjRan assays showed that the PjRan could regulate shrimp hemocytic phagocytosis by interaction with myosin. Further data was evidenced that the depletion of PjRan by RNAi caused a significant increase of shrimp white spot syndrome virus (WSSV) copies and the overexpression of PjRan resulted in a significant decrease of WSSV copies, suggesting that the PjRan participated in the antiviral immunity by regulating phagocytosis. For the purpose of further understanding how the PjRan-myosin protein complex regulates the process of shrimp phagocytosis, the enzymatic activities of the two proteins was elementarily tested. To observe the phagocytosis process regulated by the PjRan-myosin protein complex, the phagocytosis of *Drosophila* S2 cells with FITC-labeled WSSV was observed by immunofluorescence staining.

In this context, our study revealed a completely novel aspect of Ran GTPase in phagocytosis by the direct interaction with the cytoskeleton protein and presented a novel pathway concerning to antiviral immunity, which would help to better understand the molecular events in immune response against virus infection in invertebrates.

Key words: shrimp, Ran GTPase, protein interaction, antiviral phagocytosis, RNAi

厦门大学博硕士论文摘要库

1 前言

1.1 对虾的免疫系统

免疫系统是生物抵御异物入侵的防御机构，保护机体免受病原体和有害异物的侵害的防御屏障。免疫系统由具有免疫功能的器官、组织、细胞、免疫效应因子和有关的基因组成。对于免疫系统的研究，脊椎动物已经建立了较为系统的免疫学理论和实验方法，但无脊椎动物的免疫一开始不被重视，起步较晚。甲壳类动物的免疫大概在20世纪60年代后开始研究。一般认为，无脊椎动物只存在非特异性的、原始的免疫系统[1]。对虾是无脊椎动物，只有原始的、非特异性的、半免疫性的防御系统。对虾的免疫系统主要包括免疫器官、免疫细胞、可溶性血淋巴因子和有关的酶类。

对虾的免疫由几道屏障构成。体壁（甲壳）的防护、阻挡作用构成机体的第一道防线，当第一道防线被异物或病原突破后，异物或病原就会经食道、鳃等与外界相通的器官或体腔进入机体，血淋巴循环在免疫过程中进行滤过作用[2]，将其固定在一定的组织器官（主要包括淋巴器官、血窦和鳃）内，而后病原或异物在血细胞、淋巴细胞、血清免疫因子联合作用下被杀死、清除，或随蜕皮排出体外[3]。免疫系统协同作用达到抗感染或免除疾患的目的[4]。

总的来讲，对虾的免疫系统分为细胞性免疫系统和体液性免疫系统。

1.1.1 细胞免疫

生物体对抗异物入侵过程中，血细胞和淋巴细胞对异物的吞噬、杀灭和排除作用称为细胞性免疫。细胞性免疫是感染早期生物体识别异己的重要反应，它包括血细胞和淋巴细胞的吞噬作用、结节形成和包囊作用等。其中吞噬作用（phagocytosis）是重要的非特异性清除异物的过程[2, 5]，也是细胞性免疫过程中最普遍的细胞防御方式。从目前的研究结果来看，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。趋化、吸附、吞入和消化杀菌四个阶段是吞噬过程[6, 7]的主要阶段。淋巴细胞具有比血细胞更强的吞噬活性，它没有经过蛋白识别阶段。病原被滤入淋巴样器官后，首先进入淋巴小管的腔中，接着淋巴因子受趋化作用游出基底膜大量进入管腔进行吞噬。血细胞的吞噬过程与淋巴细胞的吞噬过程略为不同。异物入侵后生物体，它们首先被血清糖蛋白识别，这

厦门大学博硕士论文摘要库

种识别具有特异性，异物可能在此过程中被带上标记。被血清糖蛋白标记过的异物能够引起吞噬细胞对其进行吸附。吞噬细胞吸附到异物上，然后伸出伪足，或者形成凹陷将异物吞噬。在吞噬过程中，血细胞能将吞入的异物分解，同时血细胞自身也会解体。

血细胞是对虾免疫的主要执行者。它既是体液免疫的提供者，又是免疫细胞的担当者。目前对于血细胞的分类和命名尚无统一标准，一般根据血细胞在光镜下有无颗粒、颗粒多少及颗粒大小分为无颗粒细胞（透明细胞）、小颗粒细胞（半颗粒细胞）和颗粒细胞[8]。无颗粒细胞呈卵圆形，只有少量呈球形，表面光滑，细胞器少，由于电子密度低而呈透明状。无颗粒细胞具有两种不同的形态，一种具有巨噬细胞的性质，另一种具有类似淋巴细胞的性质并称之为“浆样细胞”[9]。小颗粒细胞为卵圆形或纺锤形，胞质中有大量的线粒体和核糖体，特征性结构式细胞之中有大量体积小的高电子密度颗粒。大颗粒细胞体积最大，成卵圆形，特征性结构式胞质中有较多体积大的颗粒。颗粒由单位膜包被，其间充满均质的高电子密度物质。

根据研究，三种血细胞因为具有不同的免疫酶而具有不同的免疫功能[10]，其中无颗粒细胞具有吞噬功能，“浆样细胞”在接受抗原刺激后，在内质网中有免疫物质合成，并以细胞表面形成泡状突起的方式进行释放。颗粒细胞虽无吞噬能力，但同样具有细胞毒作用和释放的酚氧化酶原的能力，如用活化的酚氧化酶系统的组分处理可迅速使之发生胞吐作用并释放出有活性的酚氧化酶参与体液免疫[11]。小颗粒细胞具有活跃的胞吐作用、细胞毒作用、识别异物以及贮存和释放的酚氧化酶原的能力，是防御反应之关键细胞。

1.1.2 体液免疫

细胞免疫是对虾最重要的免疫因子，除了细胞免疫之外，体液性免疫因子在对虾免疫防御中也发挥着十分重要的作用。体液性免疫因子包括先天和诱导产生的各种生物大分子，主要是血淋巴中的各类抗病毒因子、抗菌因子、血凝因子、识别因子、细胞激活因子、凝集素、溶血素及酚氧化酶、溶菌酶等具有免疫活性的酶类以及活性氧中间产物。这些免疫因子的作用在于发挥调理作用，促使吞噬细胞更易于吞噬外来颗粒；识别异物，包括外来人侵的病毒和病原菌；通过凝集、沉淀、包囊、溶解等方式抑制病原体的生长及扩散，或者直接将其杀灭并排出体

外；另外，体液性免疫因子还可能参与止血、凝固、物质吸收与运输以及创伤修复等生理作用[12]，体液性免疫因子参与上述过程的激励仍需进一步研究。

由一些蛋白组成的酚氧化酶原（prophenoloxidase，proPO）激活系统类似高等动物的补体激活途径，它包含一个由模式识别分子（pattern-recognition proteins, PRPs），几种酶原的蛋白酶以及酚氧化酶原组成的蛋白酶链，它们在无脊椎动物免疫中发挥重要功能。它可以导致黑色素产生，细胞粘附，包囊和吞噬作用以及结节形成[13，14]，它也是对虾的重要防御和识别系统。Xu[15]的研究发现，对虾的QM基因与对虾体内酚氧化酶活性有着直接的关系，并且得出QM基因是通过与血蓝蛋白的相互作用对对虾体内酚氧化酶活性进行调控的。在节肢动物中，血蓝蛋白与酚氧化酶之间有密切的关系，血蓝蛋白与酚氧化酶之间在序列、理化性质和结构等方面相似度较高，血蓝蛋白除了携氧功能外，还与抵抗外界侵略者入侵有关，即血蓝蛋白具有类酚氧化酶样的酶活性，在体内一定条件的激发下可以血蓝蛋白的发挥酚氧化酶样酶活性参与免疫过程。

非特异性免疫系统成分之一抗菌肽被认为是体液免疫的重要组成部分，他们通常是小分子（不超过100个氨基酸），带正电。抗菌肽是对原核生物有特异抗性的小分子，它是体液免疫的重要组成部分，是宿主防御细菌、真菌和病毒等病原微生物入侵的重要分子屏障[16]。在昆虫和螯肢动物中已有几种抗菌肽被鉴定，单甲壳动物中被鉴定的很少，如蟹 *Carcinus maenas*[17]和虾 *Penaeus vannamei*[18]中。*Penaeus vannamei* 中的 penaeidin 及其 cDNA 的全部序列已被确定。最近从螯虾 *Pacifastacus leniusculus* 血淋巴中纯化并定性了两种低分子量抗菌肽 astacidin 1 和 2。Astacidin 1 含 16 个氨基酸残基，可抗革兰氏阳性和阴性细菌，它与其他已知的抗菌肽没有同源性，可被 LPS 或糖苷诱导上调表达[19]。Astacidin 2 含 14 个氨基酸残基，与从半翅类昆虫 *Palomena prasina* 中纯化的一种富含脯氨酸的抗菌肽 metalnikowin 1 有很高的同源性[20]。

另一种已发现的重要体液免疫因子是对虾血淋巴中的溶菌酶体酶。它也是吞噬细胞杀菌的物质基础，当吞噬细胞对异物颗粒进行吞噬或包囊后，发生脱颗粒现象，细胞内的溶酶体与吞噬小泡内的异物进行融合。溶酶体释放其中的溶菌酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶、β-葡萄糖苷酸酶及其它各种水解性酶类，将外来人侵物水解消化，消化后的残渣碎片被排出细胞外，

厦门大学博硕士论文摘要库

从而完成对外来入侵物的清除。

由于在无脊椎动物体内缺乏免疫球蛋白等特异性的免疫因子，因此它们不能通过抗原抗体结合反应来清除异物。体液免疫因子凝集素作为一种重要的体液免疫因子，拥有专一性受体识别因子。在体液免疫过程中，它们能够通过与糖蛋白或糖脂相互作用凝集细胞或沉淀糖缀合物的碳水化合物结合蛋白或糖蛋白，在此过程中，凝集素专一性识别特异的糖蛋白或糖脂。

1.2 Ras 蛋白超家族及其成员在吞噬中的作用

Ras 蛋白超家族的成员在序列上具有较为高度的同源性，大部分蛋白成员的同源性在 40%到 85%之间。Ras 蛋白超家族的成员各自具有不同的功能和目标分子。最近的研究已经阐明了一些具有高度相似性的 Ras 蛋白超家族成员却介导不同的生物过程的机制。

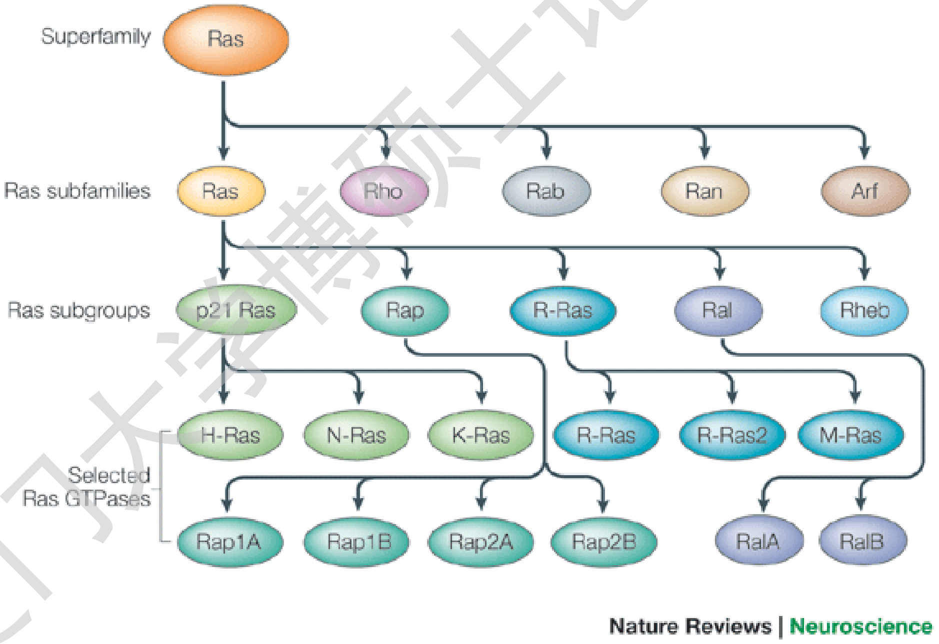

图 1. Ras 蛋白超家族成员（引自文献21）

Fig1. Ras superfamily

小 G 蛋白超家族成员是细胞内一系列过程的重要调节因子，包括细胞分化，细胞分裂，膜泡运输，细胞骨架的控制等。很多 Ras 超家族的成员都是连接胞外信号通过跨膜受体像细胞质或核内运输的关键因子。Ras 超家族成员通过保守的机制起作用[图 2]：Ras 蛋白结合 GTP 和结合 GDP 时的 GTP 酶的活性是不一样

厦门大学博硕士论文摘要库

的。总的来说，当 Ras 蛋白结合 GTP 是被认为是在信号分子通路中处于激活的状态，而当结合 GDP 时则是处于非激活状态。调节 Ras GTPase 的蛋白包括 GTP 酶激活因子（GAPs），它可以通过激活 Ras 蛋白的 GTP 酶活从而使其更倾向于与 GDP 结合，使 Ras 处于非激活状态。GTP 交换因子（GEFs）可以通过促进 GDP 向 GTP 的转换，增加 Ras 的活性，使其处于激活状态。

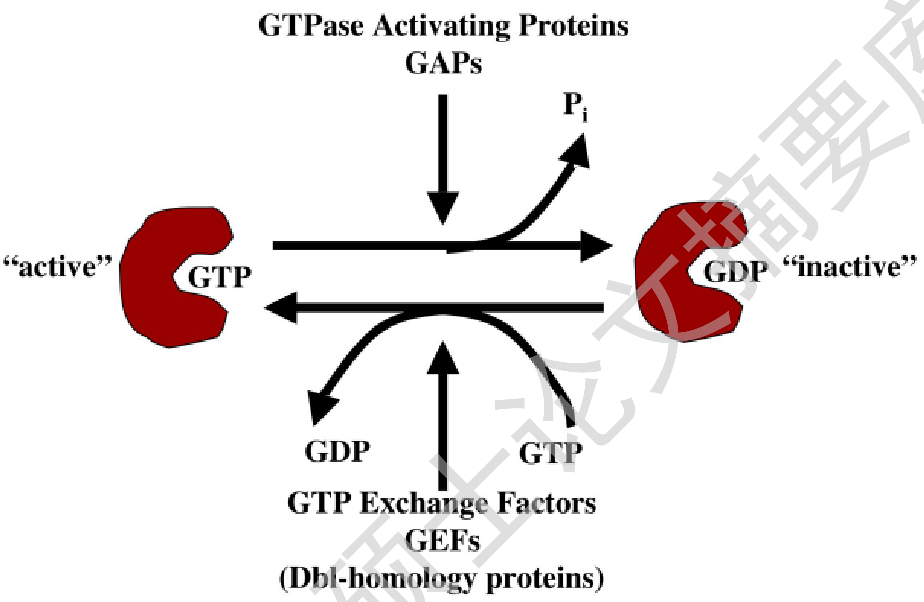

图 2. Ras 的作用机制（引自文献22）

Fig 2.The mechanism of Ras' function

先天性免疫是指当生物体遭受外来抗原入侵后所立即才用的一种抗原非特异性的免疫机制，是生物体对入侵物的第一道防御机制。在先天性免疫系统中，吞噬作用是清除入侵微生物和其他类物质的最基本的机制。吞噬作用通过结合 actin 蛋白多聚化，actin 蛋白去多聚化，myosin 蛋白为基础的收缩过程和最终由裂解酶和其他氧化复合物参与的对吞噬物的降解过程清除入侵物[23]。在吞噬过程中，一些小 G 蛋白超家族成员包括 Rho GTPase 和 Rab GTPase 等被发现参与其中[24，25]。

Rac 和 Cdc42 蛋白是属于 Rho GTPase 家族的成员。在 Fc 受体介导的对易被吞噬的免疫小球的吞噬过程中[23，26]，这两种蛋白被发现聚集在吞噬部位，并且从它们的没有活性的 GDP 结合形态转变为激活的具有活性的 GTP 结合形态[26，27，28，29]。Cdc42 蛋白的定点聚集和激活导致了伪足的伸展和对吞噬目标的包被。Rac 蛋白被发现参与了接下来的对吞噬目标的内吞过程[30]。Rac 蛋白和 Cdc42 蛋白这

两种蛋白对于 Arp2-Arp3（Arp2/3）复合体在吞噬部位的成功聚集都是必须的[31]。在 Arp2-Arp3（Arp2/3）复合体中，Arp2/3 促进了 actin 蛋白在内吞位置的成核过程，从而促进了接下来的多聚化过程。而 actin 蛋白的成核与多聚化过程都是细胞有效内吞过程中所必需的步骤。I 类型的 PtdIns4p 5-激酶同样被聚集到吞噬位置，并且催化产生定位的 PtdIns（4，5）P2 来调节 actin 蛋白[32]。这个脂激酶是由 Rho GTPase 家族的 Rac 蛋白直接起作用激活的[33]。另外一种丝氨酸/苏氨酸激酶 PAK（p21-激活的激酶），它是 Rac 蛋白介导的信号通路和 Cdc42 蛋白介导的信号通路这两条信号通路的下游作用因子[34]。这个丝氨酸/苏氨酸激酶聚集在内吞部位，同时通过对 cofilin 蛋白的抑制作用增加 actin 蛋白的多聚化过程[35，36]。在对由补助分子 iC3b 处理过的吞噬小球的吞噬过程中，吞噬小球是由 CR3 补助受体所识别的[26]。研究发现，RhoA 参与了这个过程，并在其中充当了关键性的角色[26]。在这个吞噬过程中，与由 Fc 受体介导的吞噬过程类似，Arp2/3 复合体是必需的，并且它依赖于 RhoA 蛋白的激活。

同属于小 G 蛋白超家族的另外一种蛋白，Rab GTPase 同样也参与了吞噬小泡的形成和成熟过程[37，38，39]。一些研究表明 Rab11 蛋白与巨噬细胞对细菌的内吞过程有关。其作用机制可能是通过调节从吞噬小泡的循环再生到吞噬体形成过程中膜的运输过程而得以实现的[40]。据报道在一种包含有特化的吞噬细胞的单细胞真核生物 *Dictyostelium* 中，Rab14 相关的 GTPase 酶在调控同种的吞噬小泡和溶酶体的融合过程中扮演了非常重要的角色[38]。在单细胞真核生物 *Dictyostelium* 中，另外一种小 G 蛋白 Rab21 GTPase 蛋白同样参与了对吞噬过程的调控。它通过与两种含 LIM 结构域的蛋白 LimF 蛋白和 ChLim 蛋白的相互作用从而调控吞噬过程[41]。最近研究人员发现在南美白对虾中，一种 Rab GTPase 蛋白（PjRab）能够形成一个包含 Rab GTPase 蛋白，actin 蛋白，tropomyosin 蛋白和一种对虾白斑综合症病毒（WSSV）膜蛋白 VP466 蛋白的 4 种蛋白的复合体，进而调控对虾血细胞的吞噬过程，对抗病毒的侵染过程[25]。

1.3 Ras蛋白超家族成员Ran GTPase的研究进展

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。分子结构分析表明，该蛋白属于原癌基因Ras大家族中的一员，因而得名为Ran

厦门大学博硕士论文摘要库

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