

钱加珺, 张文德, 张佳欣, 等. 东方蜜蜂微孢子虫染色体结构维持 (SMC) 蛋白的分子特性与系统进化分析 [J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(4): 556-562.
QIAN Jiajun, ZHANG Wende, ZHANG Jiaxin, et al. Molecular characteristics and phyletic evolution of structural maintenance of chromosome (SMC) protein in *Nosema ceranae*[J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(4): 556-562.

东方蜜蜂微孢子虫染色体结构维持 (SMC) 蛋白的分子特性与系统进化分析

钱加珺✉, 张文德, 张佳欣, 赵 萧, 赵浩东, 高旭泽,
朱乐冉, 陈大福, 付中民, 郭 睿✉

(福建农林大学 动物科学学院 (蜂学学院)/福建省蜂疗研究所, 福建 福州 350002)

摘要:【目的】解析东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* 染色体结构维持 (Structural maintenance of chromosome, SMC) 蛋白的分子特性, 鉴定东方蜜蜂微孢子虫和其他物种的 SMC 的保守基序和结构域, 并进行系统进化分析, 旨在丰富东方蜜蜂微孢子虫 SMC 的基本信息, 为功能研究的深入开展提供依据。【方法】使用 ExPASy 网站的相关软件预测和分析 SMC 的理化性质、信号肽、磷酸化位点、二级结构和三级结构, 利用 MEME 软件鉴定东方蜜蜂微孢子虫和其他物种 SMC 的保守基序, 采用 TBtools 软件鉴定东方蜜蜂微孢子虫和其他物种 SMC 的结构域, 通过 Mega 11.0 软件采用邻接法构建东方蜜蜂微孢子虫和其他物种的 SMC 系统进化树。【结果】东方蜜蜂微孢子虫 SMC 包含 1 102 个氨基酸, 分子式为 $C_{5787}H_{9418}N_{1526}O_{1771}S_{41}$, 相对分子质量约 130 020, 脂溶系数为 93.49, 等电点为 8.28, 平均亲水系数为 -0.740, 亲水氨基酸多于疏水氨基酸, 不含典型信号肽; 包含 50 个丝氨酸磷酸化位点、26 个酪氨酸磷酸化位点及 28 个苏氨酸磷酸化位点; 包含 787 个 α -螺旋、106 条 β -折叠、49 个 β -转角及 160 个无规则卷曲; 可同时定位于细胞核、细胞质和线粒体。在东方蜜蜂微孢子虫、海伦脑炎微孢子虫 *Encephalitozoon hellem*、麦格水蚤汉氏孢虫 *Hamiltosporidium magnivora*、颗粒病微孢子虫 *Nosema granulosis*、康氏泰罗汉孢虫 *Thelohania contejeani*、菲尼斯毕罗酵母 *Piromyces finnis*、指间毛癣菌 *Trichophyton interdigitale*、紫色毛癣菌 *Trichophyton violaceum*、发癣菌 *Trichophyton tonsurans* 和黑曲霉 *Aspergillus melleus* 的 SMC 中预测到相同的 9 个保守基序; 东方蜜蜂微孢子虫和上述其他 9 个物种的 SMC 中均含有 1 个 SMC_N 结构域和 1 个 SMC_hinge 结构域。进一步分析发现, 东方蜜蜂微孢子虫与菲尼斯毕罗酵母的 SMC 序列相似性最高 (61.96%), 与康氏泰罗汉孢虫的 SMC 序列相似性最低 (34.73%); 东方蜜蜂微孢子虫与颗粒病微孢子虫的 SMC 聚为一支, 置信度达到 99%, 进化距离最近。【结论】本研究明确了东方蜜蜂微孢子虫 SMC 的分子特性, 丰富了 SMC 的基本信息, 并揭示 SMC 在东方蜜蜂微孢子虫和其他微孢子虫中具有较高的保守性, 为功能研究的深入开展提供了依据。

关键词: 微孢子虫; 东方蜜蜂微孢子虫; 染色体结构维持 (SMC) 蛋白; 生物信息学; 分子特性; 系统进化

中图分类号: S891

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2023)04-0556-07

Molecular characteristics and phyletic evolution of structural maintenance of chromosome (SMC) protein in *Nosema ceranae*

收稿日期: 2022-07-14 网络首发时间: 2023-05-11 09:15:43

首发网址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20230510.1127.004.html>

作者简介: 钱加珺, 硕士研究生, 主要从事蜜蜂病原分子生物学研究, E-mail: 18900297790@163.com; 通信作者: 郭 睿, 副教授, 博士, 主要从事昆虫-病原互作、昆虫及其病原分子生物学及前沿组学研究, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (32172792); 国家现代农业产业技术体系专项资金项目 (CARS-44-KXJ7); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿); 福建农林大学动物科学学院 (蜂学学院) 科研扶持项目 (郭睿); 福建省大学生创新创业训练计划项目 (202210389128)

QIAN Jiajun , ZHANG Wende, ZHANG Jiaxin, ZHAO Xiao, ZHAO Haodong, GAO Xuze,
ZHU Leran, CHEN Dafu, FU Zhongmin, GUO Rui 
(College of Animal Sciences (College of Bee Science), Fujian Agriculture and Forestry University/
Apitherapy Research Institute of Fujian Province, Fuzhou 350002, China)

Abstract: **【Objective】** To analyze the molecular characteristics of structural maintenance of chromosome (SMC) protein in *Nosema ceranae*, identify conserved motifs and structural domains within SMC in *N. ceranae* and other species followed by phyletic evolution analysis, thus enriching basic information about *N. ceranae* SMC and offering a basis for further functional study. **【Method】** Related software on Expasy website were utilized to predict and analyze physical and chemical property, signal peptide, phosphorylation site, secondary structure and tertiary structure of SMC. MEME software was employed to identify conserved motifs within SMC in *N. ceranae* and other species. TBtools software was used to identify structural domains within SMC. Based on SMC in *N. ceranae* and other species, phylogenetic tree was constructed with neighbor-joining method by Mega 11.0 software. **【Result】** SMC contained 1 102 amino acids, the molecular formula was $C_{5\,787}H_{9\,418}N_{1\,526}O_{1\,771}S_{41}$, the relative molecular weight was approximately 130 020, the lipid solubility coefficient was 93.49, the isoelectric point was 8.28, the average hydrophilic coefficient was -0.740 , the number of hydrophilic amino acids was more than that of hydrophobic amino acids, and there was no typical signal peptide. SMC contained 50 serine phosphorylation sites, 26 tyrosine phosphorylation sites and 28 threonine phosphorylation sites. It as well included 787 α -helix, 106 β -sheet, 49 β -turn, and 160 random coil. SMC were simultaneously localized in nucleus, cytoplasm and mitochondria. Furthermore, SMC in *N. ceranae*, *Encephalitozoon hellem*, *Hamiltosporidium magnivora*, *Nosema granulosus*, *Thelohania contejeani*, *Piromyces finnis*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton tonsurans* and *Aspergillus melleus* all contained nine same conserved motifs and two structural domains such as SMC_N and SMC_hinge. Further investigation indicated that the similarity of amino acid sequences of SMC between *N. ceranae* and *P. finnis* was the highest (61.96%), while that between *N. ceranae* and *T. contejeani* was the lowest (34.73%); SMC in *N. ceranae* and *N. granulosus* were clustered into a branch with the confidence of 99%, and their evolutionary distance was the closest. **【Conclusion】** The results define the molecular characteristics of *N. ceranae* SMC and enrich basic information about SMC, disclose that SMC in *N. ceranae* and other microsporidia are highly consevative, and provide a basis for further functional study.

Key words: Microsporidian; *Nosema ceranae*; Structural maintenance of chromosome (SMC) protein;
Bioinformatics; Molecular characteristic; Phyletic evolution

东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* 是一种专性感染成年蜜蜂中肠上皮细胞的单细胞真菌病原, 对蜂王、工蜂、雄蜂和幼虫均有感染性^[1]。东方蜜蜂微孢子虫感染能引起蜜蜂中肠上皮细胞结构破坏、细胞凋亡和免疫应答抑制, 哺育力下降, 寿命缩短, 严重影响蜂群群势和生产力^[2]。目前, 东方蜜蜂微孢子虫的参考基因组^[3] 和全长转录组^[4] 均已公布, 为深入开展相关分子生物学研究奠定了基础。

染色体结构维持 (Structural maintenance of chromosome, SMC) 蛋白在细菌、古生菌和真核生物中广泛存在, 可直接参与染色体的形成与结构维持等动态变化及 DNA 的复制、重组和修复等过程,

因而对染色质结构的组织、细胞分裂过程中遗传物质的准确分离等均具有关键作用^[5]。在水稻中, *SMC1* 和 *SMC3-1* 基因被证实参与 DNA 双链断裂损伤修复和有丝分裂等生物学过程^[6]。作为 SMC 复合体蛋白的成员之一, 凝聚蛋白复合体 I 通过分级折叠启动早期的染色质凝聚, 起到塑造、稳定染色体的作用^[7]。敲除凝聚蛋白复合体 I 或 II 的特异亚基均能引起中期染色体结构的明显异常^[8]。然而对于东方蜜蜂微孢子虫, SMC 相关研究至今依然缺失。

近期, 笔者团队测定了 nce-miR-15325 及其靶向的核凝聚复合体亚基 (Nuclear condensin complex

subunit, NCCS) 基因在东方蜜蜂微孢子虫侵染意大利蜜蜂工蜂过程中的表达谱, 并发现 nce-miR-15325 与 NCCS 具有相似的表达规律。本研究利用生物信息学方法解析东方蜜蜂微孢子虫 NCCS 编码的 SMC 的分子特性, 预测和分析东方蜜蜂微孢子虫和其他物种 SMC 的保守基序和结构域, 并进行系统进化分析, 以期丰富东方蜜蜂微孢子虫 SMC 的基础信息, 并为深入开展相关功能研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 SMC 的分子特性分析

根据前期基于东方蜜蜂微孢子虫转录组数据^[9]预测出的 NCCS 序列, 利用 NCBI 网站 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) 上的 ORF 工具预测相应的氨基酸序列。通过 Expasy 网站 (https://www.expasy.org/resources) 上的 Protparam、ProtScale 和 SWISS-model 等软件分析 SMC 的理化性质、亲水性和三级结构。使用 SignalP 4.1 Server、NetPhos 3.1 Server、TMHMM 及 SOPMA 等软件^[10] 预测 SMC 的信号肽、磷酸化位点、跨膜结构域和二级结构。采用 PSORT II 软件 (https://www.genscript.com/psort.html)^[11] 进行 SMC 的亚细胞定位预测。

1.2 SMC 的保守基序和结构域预测

使用 MEME 软件 (https://meme-suite.org/)^[12] 预测东方蜜蜂微孢子虫、海伦脑炎微孢子虫

Encephalitozoon hellem、菲尼斯毕罗酵母 *Piromycesc finnis*、发癣菌 *Trichophyton tonsurans* 和黑曲霉 *Aspergillus melleus* 等 10 个物种 SMC 的保守基序。通过 Pfam 网站 (http://pfam.xfam.org/search#tabview=tab1) 查找东方蜜蜂微孢子虫等 10 个物种 SMC 保守结构域相关信息。采用 TBtools 软件预测上述 10 个物种 SMC 的结构域, 选择默认参数。

1.3 SMC 蛋白的系统进化分析

利用 Blast 工具将东方蜜蜂微孢子虫 SMC 氨基酸序列比对到 NCBI GenBank 数据库 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), 搜索序列相似性较高的其他物种的 SMC。通过 Mega 11.0 软件^[13] 对东方蜜蜂微孢子虫和其他物种的 SMC 进行氨基酸序列多重比对, 采用邻接法构建基于 SMC 的系统进化树, 选择软件默认参数。

2 结果与分析

2.1 SMC 的分子特性

东方蜜蜂微孢子虫 NCCS 含有 3 093 个核苷酸, 编码的 SMC 含有 1 102 个氨基酸。SMC 的分子式为 C₅₇₈₇H₉₄₁₈N₁₅₂₆O₁₇₇₁S₄₁, 相对分子质量约 130 020, 等电点为 8.28; 包含 195 个负电荷氨基酸, 其中天冬氨酸和谷氨酸分别有 67 和 128 个; 包含 202 个正电荷氨基酸, 其中赖氨酸和精氨酸分别有 169 和 33 个; 含量最高和最低的氨基酸分别为赖氨酸和色氨酸 (表 1)。

表 1 东方蜜蜂微孢子虫 SMC 的氨基酸组成
Table 1 Amino acid composition of SMC in Nosema ceranae

氨基酸 Amino acid	数量 Number	占比/% Proportion	氨基酸 Amino acid	数量 Number	占比/% Proportion
丙氨酸 Ala	27	2.50	亮氨酸 Leu	128	11.60
精氨酸 Arg	33	3.00	赖氨酸 Lys	169	15.30
天冬酰胺 Asn	94	8.50	蛋氨酸 Met	28	2.50
天冬氨酸 Asp	67	6.10	苯丙氨酸 Phe	35	3.20
半胱氨酸 Cys	13	1.20	脯氨酸 Pro	12	1.10
谷氨酰胺 Gln	31	2.80	丝氨酸 Ser	64	5.80
谷氨酸 Glu	128	11.60	苏氨酸 Thr	43	3.90
甘氨酸 Gly	29	2.60	色氨酸 Trp	1	0.10
组氨酸 His	15	1.40	酪氨酸 Tyr	46	4.20
异亮氨酸 Ile	101	9.20	缬氨酸 Val	38	3.40

SMC 的脂溶系数为 93.49, 平均亲水系数为 -0.740, 亲水氨基酸数量比疏水氨基酸多 (图 1A), 说明该蛋白为亲水性蛋白。SMC 中不存在典型的信号肽, 说明其为胞内蛋白 (图 1B)。另外, 在 SMC 中预测到 104 个磷酸化位点, 包含 50 个丝氨酸、

26 个酪氨酸和 28 个苏氨酸磷酸化位点 (图 1C)。二级结构分析结果显示, SMC 含有 787 个 (71.42%) α -螺旋, 106 条 (9.62%) β -折叠, 49 个 (4.45%) β -转角和 160 个 (14.52%) 无规则卷曲 (图 2A)。三级结构分析结果显示, SMC 的模板为

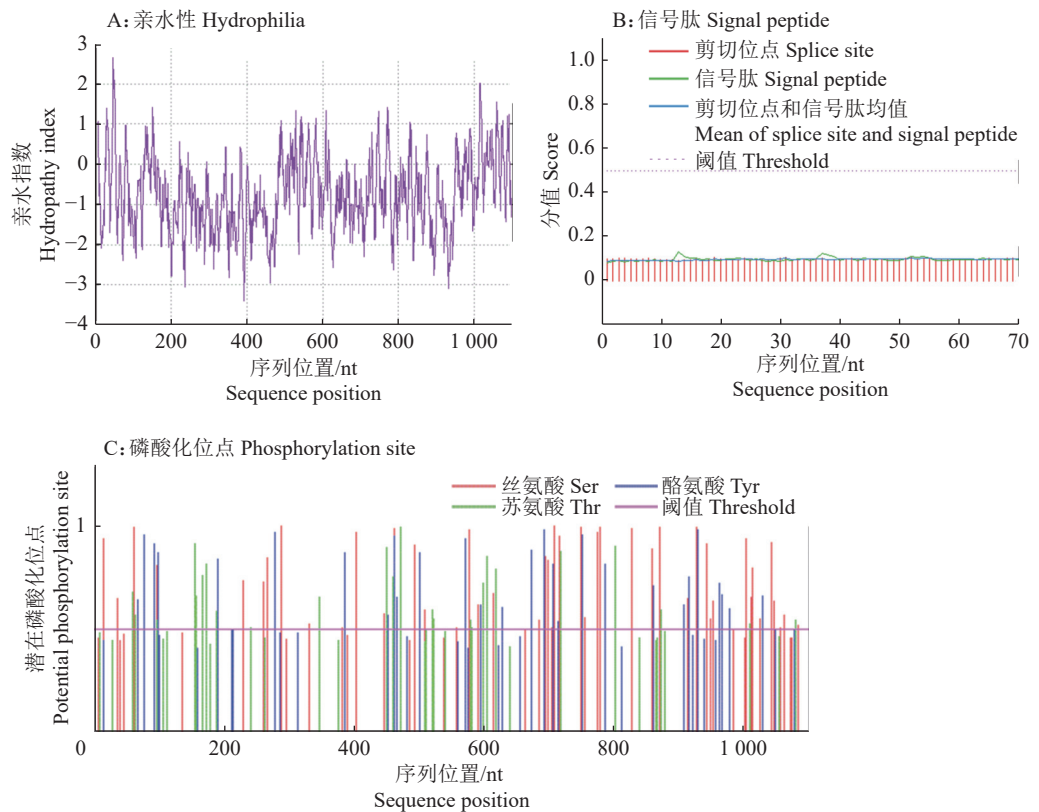


图 1 东方蜜蜂微孢子虫 SMC 的分子特性预测

Fig. 1 Molecular characteristic prediction of SMC in *Nosema ceranae*

6yv.1.B, 序列相似性为 31.26%, 其中 61.00% 的残基自信度达 80% 以上 (图 2B)。此外, SMC 同时定

位于细胞核、细胞质和线粒体, 占比分别为 78.30%、8.70% 和 13.00%。

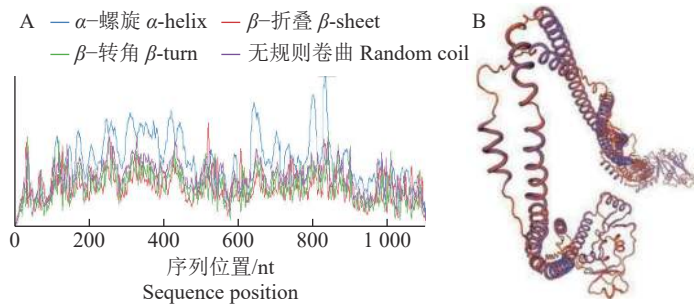


图 2 东方蜜蜂微孢子虫 SMC 的二级结构 (A) 和三级结构 (B) 预测

Fig. 2 Prediction of secondary structure (A) and tertiary structure (B) of *Nosema ceranae* SMC

2.2 SMC 的保守基序与结构域分析

在东方蜜蜂微孢子虫 SMC 中预测到 9 个保守基序, 分别为 Motif 1、2、3、4、5、6、7、8、9; 类似地, 在海伦脑炎微孢子虫、颗粒病微孢子虫 *Nosema granulosis*、麦格水蚤汉氏孢虫 *Hamiltosporidium magnivora*、康氏泰罗汉孢虫 *Thelohania contejeani*、菲尼斯毕罗酵母、指间毛癣菌 *Trichophyton interdigitale*、紫色毛癣菌 *Trichophyton violaceum*、发癣菌和黑曲霉的 SMC 中同样预测上述 9 个 Motif(图 3), 说明 SMC 在东方蜜蜂微孢子虫和其他

真菌物种中高度保守。

在东方蜜蜂微孢子虫 SMC 中预测到 4 个结构域, 包括 1 个 SMC_N、1 个 SMC_hinge、1 个 AAA_29 和 1 个 AAA_23; 在海伦脑炎微孢子虫、指间毛癣菌和黑曲霉 SMC 中同样预测到 1 个 SMC_N、1 个 SMC_hinge、1 个 AAA_23 和 1 个 AAA_21; 在颗粒病微孢子虫、麦格水蚤汉氏孢虫 TBU02480.1 和康氏泰罗汉孢虫 SMC 中预测到 2 个相同的结构域, 包括 1 个 SMC_N 和 1 个 SMC_hinge; 在麦格水蚤汉氏孢虫 TBU02444.1

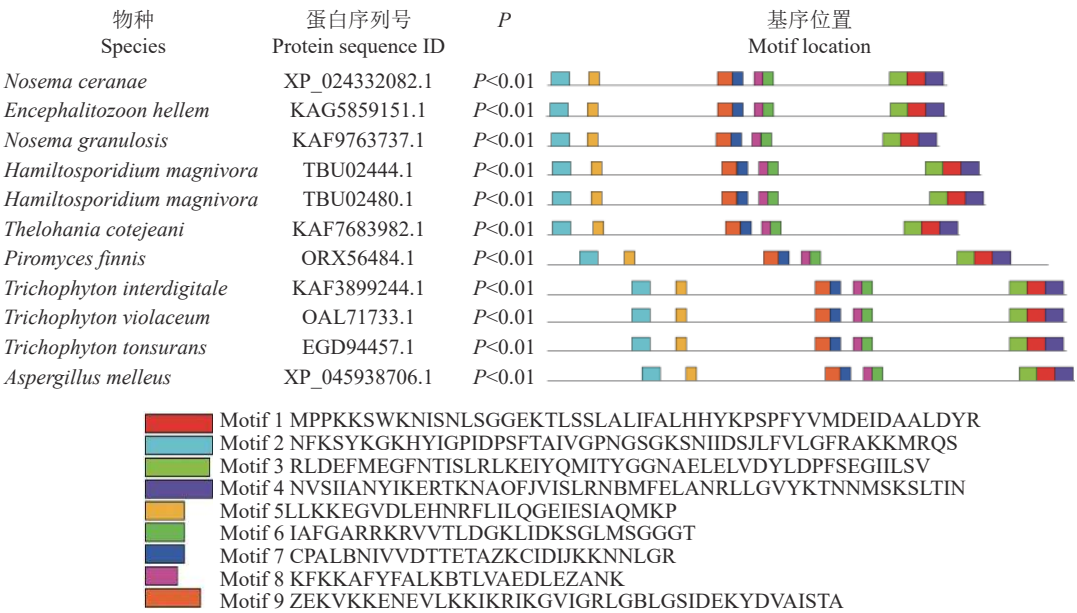


图 3 东方蜜蜂微孢子虫和其他 9 个物种 SMC 包含的保守基序

Fig. 3 Conserved motifs included in SMC of *Nosema ceranae* and other nine species

SMC 中预测到 6 个结构域, 包括 1 个 SMC_N、1 个 SMC_hinge、1 个 AAA_29、1 个 AAA_21、1 个 AAA_23 和 1 个 AAA_15; 在菲尼斯毕罗酵母 SMC 中预测到 5 个结构域, 包括 1 个 SMC_N、1 个 SMC_hinge、1 个 AAA_29、1 个 AAA_21 和 1 个 AAA_23; 在紫色毛癣菌 SMC 中预测到 3 个结构域, 包括 1 个 SMC_N、1 个 SMC_hinge 和 1 个 AAA_15; 在发癣菌 SMC 中预测到 3 个结构域, 包括 1 个 AAA_21、1 个 SMC_N 和 1 个 SMC_hinge

(图 4)。进一步分析发现东方蜜蜂微孢子虫和其他 9 个物种的 SMC 中均含有 1 个 SMC_N 和 1 个 SMC_hinge(图 4)。以上结果进一步说明 SMC 在东方蜜蜂微孢子虫和其他真菌物种中高度保守。

2.3 SMC 的系统进化分析

如表 2 所示, 东方蜜蜂微孢子虫、海伦脑炎微孢子虫、颗粒病微孢子虫、康氏泰罗汉孢虫、菲尼斯毕罗酵母、指间毛癣菌、紫色毛癣菌、发癣菌和黑曲霉均仅含有 1 个 SMC, 而麦格水蚤汉氏孢虫含有

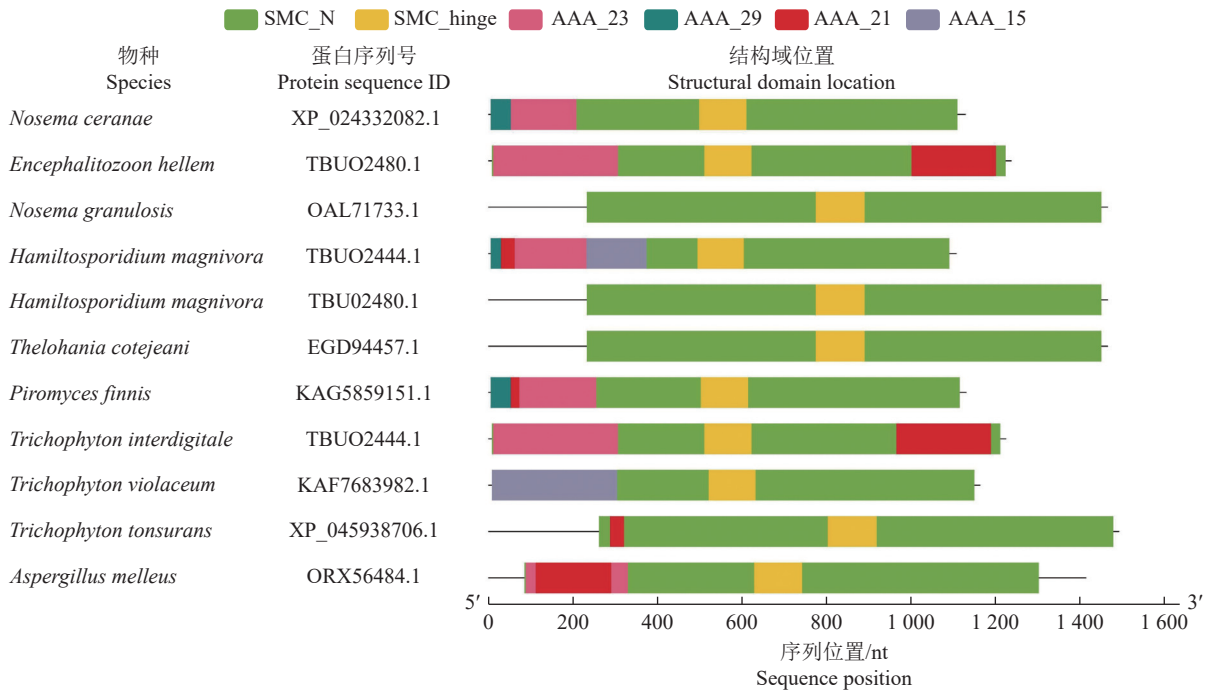


图 4 东方蜜蜂微孢子虫和其他 9 个物种 SMC 的结构域比较

Fig. 4 Comparison of structural domains within SMC in *Nosema ceranae* and other nine species

表 2 东方蜜蜂微孢子虫与其他 9 个物种的 SMC 蛋白概览

Table 2 Overview of SMC proteins in *Nosema ceranae* and other nine species

物种 Species	数量 Number	GenBank数据库收录号 Accession ID in GenBank database
东方蜜蜂微孢子虫 <i>Nosema ceranae</i>	1	XP_024332082.1
海伦脑炎微孢子虫 <i>Encephalitozoon hellem</i>	1	KAG5859151.1
颗粒病微孢子虫 <i>Nosema granulosis</i>	1	KAF9763737.1
麦格水蚤汉氏孢虫 <i>Hamiltosporidium magnivora</i>	2	TBU02444.1、TBU02480.1
康氏泰罗汉孢虫 <i>Thelohania contejeani</i>	1	KAF7683982.1
菲尼斯毕罗酵母 <i>Piromyces finnis</i>	1	ORX56484.1
指间毛癣菌 <i>Trichophyton interdigitale</i>	1	KAF3899244.1
紫色毛癣菌 <i>Trichophyton violaceum</i>	1	OAL71733.1
发癣菌 <i>Trichophyton tonsurans</i>	1	EGD94457.1
黑曲霉 <i>Aspergillus melleus</i>	1	XP_045938706.1

2 个 SMC。

氨基酸序列多重比对结果显示, 东方蜜蜂微孢子虫与菲尼斯毕罗酵母的 SMC 序列相似性最高, 达到 61.96%, 其次是与指间毛癣菌、发癣菌、紫色毛癣菌和黑曲霉, SMC 序列相似性均为 60.98%, 与康氏泰罗汉孢虫的 SMC 序列相似性最低 (34.73%)。

系统进化分析结果显示, 东方蜜蜂微孢子

虫、颗粒病微孢子虫、麦格水蚤汉氏孢虫、康氏泰罗汉孢虫和海伦脑炎微孢子虫的 SMC 聚为一个 大支, 而发癣菌、指间毛癣菌、紫色毛癣菌、黑曲霉和菲尼斯毕罗酵母的 SMC 聚为一个 大支; 东方蜜蜂微孢子虫与颗粒病微孢子虫的 SMC 聚为一支, 且置信度达到 99%, 说明二者 SMC 的进化距离最近 (图 5)。

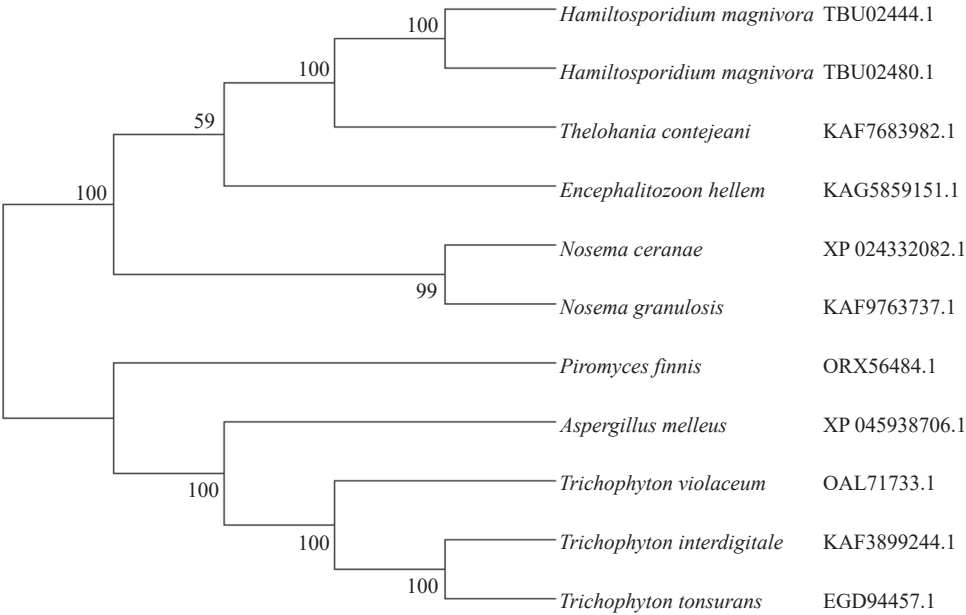


图 5 邻接法构建基于 SMC 的东方蜜蜂微孢子虫与其他 9 个物种的系统进化树

Fig. 5 Phelogenetic tree of *Nosema ceranae* and other nine species based on SMC by neighbor-joining method

3 结论与讨论

目前, 由于缺乏成熟的转基因操作技术体系, 东方蜜蜂微孢子虫绝大多数基因功能未明, 相关信息匮乏。本研究通过生物信息学手段对东方蜜蜂微孢子虫 *NCCS* 基因编码的 SMC 进行分子特性解析, 结果显示, SMC 的分子式为 $C_{5787}H_{9418}N_{1526}O_{1771}S_{41}$, 包含 1 102 个氨基酸, 相对分子质量约 130 020, 等

电点为 8.28, 脂溶系数为 93.49, 平均亲水系数为 -0.740 , 亲水氨基酸数量多于疏水氨基酸, 说明 SMC 可能是亲水性蛋白; 不含信号肽和跨膜螺旋区, 说明 SMC 可能为胞内蛋白和非跨膜蛋白。以上结果丰富了东方蜜蜂微孢子虫 *NCCS* 基因的基本信息, 为进一步开展相关功能研究提供了有价值的参考信息。另外, 预测 SMC 同时定位于细胞核、细胞质和线粒体, 但主要定位于细胞核 (占比

78.30%), 鉴于染色体主要存在于细胞核, 上述结果符合客观实际; 但预测到少量 SMC 分布于细胞质和线粒体, 一方面需要通过分子生物学试验加以验证, 另一方面暗示 SMC 功能的潜在多样性。

真核生物中存在 6 种 SMC, 这 6 种蛋白两两结合形成异二聚体, 进而结合其他组分形成复合体, 分别为黏结蛋白复合体、凝聚蛋白复合体和 SMC5-SMC6 复合体, 这些复合体在 DNA 修复、重组与复制等方面发挥重要作用^[14]。SMC 在进化上较为保守, 从微生物到哺乳动物的 SMC 蛋白都具有相似的结构^[15]。本研究在东方蜜蜂微孢子虫、海伦脑炎微孢子虫、麦格水蚤汉氏孢虫、颗粒病微孢子虫、康氏泰罗汉孢虫、菲尼斯毕罗酵母、指间毛癣菌、紫色毛癣菌、发癣菌和黑曲霉的 SMC 中均预测到 Motif 1~9 共 9 个保守基序; 此外, 发现东方蜜蜂微孢子虫和上述其他物种的 SMC 均含有 1 个 SMC_N 和 1 个 SMC_hinge。以上结果表明 SMC 在东方蜜蜂微孢子虫和其他真菌中具有高度保守性, 推测 SMC 在东方蜜蜂微孢子虫和上述其他真菌中发挥类似功能。本研究发现, 东方蜜蜂微孢子虫、颗粒病微孢子虫、海伦脑炎微孢子虫、麦格水蚤汉氏孢虫和康氏泰罗汉孢虫的 SMC 聚为一个大支, 说明这些物种的 SMC 亲缘关系较近; 东方蜜蜂微孢子虫与颗粒病微孢子虫的 SMC 聚为一支, 置信度为 99 %, 说明二者的 SMC 进化距离最近。

前人研究发现 SMC 的 C 端和 N 端相互结合形成 ATP 酶功能域, 因此 SMC 蛋白也属于 ABC (ATP binding cassette) 蛋白家族^[16], ABC 蛋白在东方蜜蜂微孢子虫的生命活动中起到重要作用^[17]。因此, 推测 SMC 在东方蜜蜂微孢子虫中发挥的功能类似于 ABC 蛋白。

通过建立东方蜜蜂微孢子虫侵染成年蜜蜂的模式进行东方蜜蜂微孢子虫的基因功能研究已见诸报道^[18-19]。我们下一步拟通过体外转录合成 NCCS 的 dsRNA, 并通过饲喂法探究东方蜜蜂微孢子虫侵染蜜蜂宿主过程中 NCCS 的功能。

参考文献:

[1] 梁勤, 陈大福. 蜜蜂保护学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 5-7.

[2] CORNMAN R S, CHEN Y P, SCHATZ M C, et al. Genomic analyses of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of honey bees[J]. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(6): e1000466.

[3] MARÍN-GARCÍA P J, PEYRE Y, AHUIR-BARAJA A E, et al. The role of *Nosema ceranae* (microsporidia: Nosematidae) in honey bee colony losses and current insights on treatment[J]. *Veterinary Sciences*, 2022, 9(3): 130. doi: 10.3390/vetsci9030130.

[4] 陈华枝, 杜宇, 范小雪, 等. 基于第三代纳米孔测序技术

的东方蜜蜂微孢子虫全长转录组构建及注释[J]. *昆虫学报*, 2020, 63(12): 1461-1472.

[5] YOSHINAGA M, INAGAKI Y. Ubiquity and origins of structural maintenance of chromosomes (SMC) proteins in eukaryotes[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2021, 13(12): evab256.

[6] 张建祥. 水稻 TOP6 和 SMC1/3 蛋白以及 miRNA 在体细胞 DSB 修复中的功能研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.

[7] KIM K D. Potential roles of condensin in genome organization and beyond in fission yeast[J]. *Journal of Microbiology*, 2021, 59(5): 449-459.

[8] ONO T, LOSADA A, HIRANO M, et al. Differential contributions of condensin I and condensin II to mitotic chromosome architecture in vertebrate cells[J]. *Cell*, 2003, 115(1): 109-121.

[9] GUO R, CHEN D F, XIONG C L, et al. First identification of long non-coding RNAs in fungal parasite *Nosema ceranae*[J]. *Apidologie*, 2018, 49(5): 660-670.

[10] ISON J, KALAS M, JONASSEN I, et al. EDAM: An ontology of bioinformatics operations, types of data and identifiers, topics and formats[J]. *Bioinformatics*, 2013, 29(10): 1325-1332.

[11] SEDAGHAT-NEJAD E, FAKHARIAN M A, PI J, et al. P-sort: An open-source software for cerebellar neurophysiology[J]. *Journal of Neurophysiology*, 2021, 126(4): 1055-1075.

[12] BAILEY T L, ELKAN C. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers[J]. *Proceedings: International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology*, 1994, 2: 28-36.

[13] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38(7): 3022-3027.

[14] HARVEY S H, KRIEN M J E, O'CONNELL M J. Structural maintenance of chromosomes (SMC) proteins, a family of conserved ATPases[J]. *Genome Biology*, 2002, 3(2): 3003.1.

[15] STRUNNIKOV A V, JESSBERGER R. Structural maintenance of chromosomes (SMC) proteins: Conserved molecular properties for multiple biological functions[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1999, 263(1): 6-13.

[16] HIRANO T. The ABCs of SMC proteins: Two-armed ATPases for chromosome condensation, cohesion, and repair[J]. *Genes & Development*, 2002, 16(4): 399-414.

[17] HUANG Q, LI W, CHEN Y, et al. Dicer regulates *Nosema ceranae* proliferation in honeybees[J]. *Insect Molecular Biology*, 2019, 28(1): 74-85.

[18] 王思懿, 胡颖, 刘小玉, 等. 东方蜜蜂微孢子虫 *LCFAL 2* 基因的分子特性及系统进化分析[J/OL]. *环境昆虫学报*, 2023. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1640.Q.20230215.1814.010.html>

[19] FAN Y C, WANG J, YU K J, et al. Comparative transcriptome investigation of *Nosema ceranae* infecting eastern honey bee workers[J]. *Insects*, 2022, 13(3): 241. doi: 10.3390/insects13030241.