

RPL11基因稳定敲低细胞系的构建及验证

刘伟¹ 郭佩东¹ 贾楠楠² 孙英杰² 谭磊² 刘炜玮² 仇旭升²
廖瑛² 宋翠萍² 丁铲^{1,2*} 孟春春^{2*}

(¹福建农林大学动物科学学院(蜂学院), 福州 350002; ²中国农业科学院上海兽医研究所, 上海 200241)

摘要 针对RPL11基因设计三条不同的shRNA, 并分别克隆至带绿色荧光标签的pRNAT-U6.1载体, 以用于构建RPL11稳定敲低的细胞系。将重组质粒转染至HeLa细胞中并加入G418进行筛选, 随后通过有限稀释法将阳性细胞亚克隆纯化。将扩大培养的亚克隆细胞进行Western blot和qPCR实验验证获得RPL11基因稳定敲低的细胞株。利用CCK-8细胞活力检测试剂盒和Puromycin标记法测定RPL11基因稳定敲低细胞系的生长活力和新生蛋白合成能力, 结果表明, RPL11基因稳定敲低后并不影响细胞的活力和新生蛋白合成能力, 该细胞系为后续研究RPL11的非核糖体功能奠定了基础。

关键词 RPL11; 稳定敲低细胞系; 新合成蛋白; 细胞活力

Construction and Verification of RPL11 Gene Stable Knockdown Cell Lines

LIU Wei¹, GUO Peidong¹, JIA Nannan², SUN Yingjie², TAN Lei², LIU Weiwei², QIU Xusheng²,
LIAO Ying², SONG Cuiping², DING Chan^{1,2*}, MENG Chunchun^{2*}

(¹College of Animal Science (College of Apiculture), Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

²Shanghai Veterinary Research Institute, CAAS, Shanghai 200241, China)

Abstract In order to construct stable knockdown cell lines of RPL11, three different shRNA target sequences of RPL11 gene were designed and ligated to PrNAT-U6.1 with green fluorescent label to obtain recombinant plasmids. The recombinant plasmids were transfected into HeLa cells, and G418 was added for pressure screening. The positive cells were subcloned and purified by limited dilution method. Western blot and qPCR were used to verify the expanded culture of monoclonal cells, and RPL11 gene stable knockdown cell line was obtained. CCK-8 cell viability test kit and puromycin labeling method were used to determine the growth activity and new protein synthesis ability of RPL11 stable knockdown cell lines. The results showed that RPL11 stable knockdown did not affect the cell viability and protein synthesis level, which laid a foundation for the follow-up study of RPL11 non ribosomal function.

Keywords RPL11; stable knockdown cell lines; newly synthesized protein; cell vitality

核糖体大亚基蛋白RPL11在进化上是一种高度保守的蛋白质, 在人和低等原生动物的同源率为66%, 在脊椎动物之间的同源性高达95%

以上^[1]。最近研究发现, 核糖体蛋白RPL11与戴蒙德-布莱克凡贫血(Diamond-Blackfan anemia)和致癌通路相关^[2-3]。DAI等^[4-5]的研究发现, c-Myc能诱导

收稿日期: 2021-02-10 接受日期: 2021-05-06

上海市兽医生物技术重点实验室开放基金(批准号: Klab201702)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13801622612, E-mail: shoveldeen@shvri.ac.cn; Tel: 13916684906, E-mail: mengcc@shvri.ac.cn

Received: February 10, 2021 Accepted: May 6, 2021

This work was supported by the Open Fund of Shanghai Key Laboratory of Veterinary Biotechnology (Grant No.Klab201702)

*Corresponding authors. Tel: +86-13801622612, E-mail: shoveldeen@shvri.ac.cn; Tel: +86-13916684906, E-mail: mengcc@shvri.ac.cn

RPL11的转录, RPL11能够负调控c-Myc的表达水平及转录活性。在RPL11-MDM2-p53通路中, RPL11通常扮演着“感应器”的角色, 研究发现, 羧基末端结合蛋白质-1(protein interacting with carboxyl terminus-1, PICT-1)是调控RPL11-MDM2-p53通路的一个关键的负调控因子^[6]。小鼠的*PICT1*基因被敲除后, 小鼠胚胎存在致死现象, 这是由小鼠的p53被激活引起体内细胞的细胞周期阻滞和细胞凋亡所导致的; 胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES)缺失*PICT1*会促进某些核糖体蛋白(ribosomal proteins, RPs)与MDM2结合, 激活p53, 其中包括RPL11、RPL5、RPL23以及RPS7, 但是在*PICT1*基因缺失的细胞中, 只有在敲除*RPL11*后才会影响p53激活, 而敲除*RPL5*、*RPL23*或*RPS7*后对p53没有影响, 这说明PICT1与RPL11的结合对于调控p53的活性具有重要作用^[7]。还有研究发现, 富含谷氨酸的WD40重复序列蛋白1(glutamate-rich WD40 repeat-containing 1, GRWD1)通过RPL11-MDM2通路负调控p53, 细胞中过表达GRWD1能抑制p53激活, 这是因为GRWD1的过度表达竞争性地与RPL11结合, 抑制了RPL11-MDM2之间的相互作用, 减弱了RPL11与MDM2之间的结合, 使MDM2对P53修饰作用增强, 抑制了P53激活, 从而促进了肿瘤发生^[8]。在一些研究结果中表明, 核糖体受损会引起严重的发育缺陷和遗传疾病, 研究核糖体蛋白在抗击癌细胞的应用或在其他方面的功能作用具有深远的临床意义。

鉴于RPL11为60S核糖体起始合成的关键蛋白和其在动物生理功能中的重要作用, 如果将细胞中的*RPL11*完全敲除势必会影响细胞的存活。因此我们尝试利用表达绿色荧光的RNAi专用载体pRNAT-U6.1构建*RPL11*基因稳定敲低的细胞模型, 以用于后续RPL11蛋白相关功能的研究。

1 材料和方法

1.1 实验材料

本实验所用的HeLa细胞由本实验室保存; 干扰空载质粒pRNAT-U6.1购买于苏州泓迅生物科技股份有限公司; G418 sulfate购买于上海生工生物工程有限公司; 感受态DH5- α 和无内毒素质粒小提中量试剂盒购买于天根生化科技(北京)有限公司; 限制性内切酶*Bam*H I、*Hind* III购买于美国Thermo公司; T4 DNA连接酶购买于南京诺唯赞生物科技股份有

限公司; DNA凝胶回收试剂盒购买于北京美基生物科技有限公司; 非脂质体转染试剂FuGENE HD购买于美国Promega公司; 细胞培养液DMEM和细胞培养血清购买于Gibco公司; 嘌呤霉素Puromycin购买于Selleck公司; CCK-8试剂盒(Cell Counting Kit-8)购买于同仁化学公司; 鼠Puromycin单克隆抗体、家兔RPL11抗体购买于Abcam公司; 鼠 β -actin多克隆抗体购买于美国Sigma公司。

1.2 实验方法

1.2.1 Sh-RNA引物设计 在GenBank中找到*RPL11*基因(登录号: NM_001199802.1), 采用Life Technologies公司提供的BLOCK-iTM RNAi Designer软件(<http://rnaidesigner.lifetechnologies.com/rnaexpress/>)在线设计干扰RNA序列。完整的shRNA引物序列包括: 正义链sh-F: 5'-限制性内切酶位点+干扰靶位点+发卡结构(TTCAAGACG)+干扰靶位点互补链+转录终止子(TTTTTT)-3'; 反正义链sh-R: 3'-干扰靶位点互补链+发夹结构(AAGTTCTCT)+干扰靶位点+转录终止子的互补链(AAAAAA)+限制性内切酶位点-5', 将设计好的基因序列送至上海生工生物工程有限公司完成shRNA的合成。设计好的shRNA完整序列如表1所示。

1.2.2 shRNA-RPL11干扰重组质粒的构建 首先将pRNAT-U6.1干扰空载质粒双酶切线性化, 其反应体系为3 μ g pRNAT-U6.1干扰空载质粒、3 μ L *Bam*H I限制性酶切酶、3 μ L *Hind* III限制性酶切酶、3 μ L *Hind* III buffer、18 μ L ddH₂O, 37 °C水浴锅酶切作用2 h后, 1%琼脂糖凝胶电泳, 用胶回收试剂盒回收得到线性化的pRNAT-U6.1干扰空载质粒。将合成的shRNA-RPL11-1、shRNA-RPL11-2、shRNA-RPL11-3连接至pRNAT-U6.1线性化载体, 连接反应体系如下: 2 μ L 酶切载体、14 μ L sh-DNA、2 μ L 10 \times T4 DNA ligase buffer、2 μ L T4连接酶, 4 °C连接过夜。三个重组质粒分别被命名为: shRNA-RPL11-1、shRNA-RPL11-2、shRNA-RPL11-3, 用DH5- α 感受态转化连接产物, 挑取单菌落, 扩大培养, 抽取部分菌液送至上海生工生物工程有限公司进行测序, 确定干扰重组质粒是否构建成功。

1.2.3 细胞最低致死药物浓度测定和细胞系亚克隆筛选 由于敲低重组质粒带有G418耐药抗性, 需要确定HeLa细胞在G418连续作用12天后全部死亡的最低浓度, 进行细胞筛选, 分别设置Mock不加

表1 shRNA引物序列
Table 1 Sequences of primers for shRNA

序列名称 Sequence name	引物序列 Primer sequence	限制性内切酶 Restriction enzyme
sh-RPL11-1(F)	5'- <u>GAT</u> CCC AGA AGA AAT CTT GGA GAA TTC AAG AGA TTC TCC AAG ATT TCT TCT <u>GTT TTT</u> TA-3'	BamH I
sh-RPL11-1(R)	3'-GGT CTT CTT TAG AAC CTC TTA AGT TCT CTA AGA GGT TCT AAA GAA GAC AAA AAA <u>TTC GA</u> -5'	Hind III
sh-RPL11-2(F)	5'- <u>GAT</u> CCG GGA GTA TGA GTT AAG AAA TTC AAG AGA TTT CTT AAC TCA TAC TCC <u>CTT TTT</u> TA-3'	BamH I
sh-RPL11-2(R)	3'-GCC CTC ATA CTC AAT TCT TTA AGT TCT CTA AAG AAT TGA GTA TGA GGG AAA AAA <u>TTC GA</u> -5'	Hind III
sh-RPL11-3(F)	5'- <u>GAT</u> CCG TTT CAG CAT CGC AGA CAA TTC AAG AGA TTG TCT GCG ATG CTG AAA <u>CTT TTT</u> TA-3'	BamH I
sh-RPL11-3(R)	3'-GCA AAG TCG TAG CGT CTG TTA AGT TCT CTA ACA GAC GCT ACG ACT TTG AAA AAA <u>TTC GA</u> -5'	Hind III
qRPL11-F	5'-CCC CGT CAT CCT CTG ATT GG-3'	
qRPL11-R	5'-ACC CT GCT TAA CCA AGG CTC-3'	

下划线部位为限制性酶切位点,红色字体为环形结构基因,蓝色为终止信号基因。

Restriction restriction sites are underlined. Ring structure genes are in red, and stop signaling genes are in blue.

药组, DMEM加药组(600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组、700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组、800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组), 每个组做三个重复。将HeLa细胞接种于12孔板中, 待细胞密度达到孔内面积的70%时, 分别加入含不同浓度药物的完全培养基, 培养12天。每隔4天更换一次含不同浓度G418的培养基继续培养。

根据药敏实验结果得到HeLa G418最低致死药物浓度为700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后, 待6孔板中的细胞长至60%时, 根据非脂质体转染试剂FuGENE的使用说明书将三个重组质粒与转染试剂按1:3(转染1 μg 质粒加入3 μL 转染试剂)的比例在100 μL 的Opti-MEM中混匀孵育15 min后加入到6孔板中转染, 24 h后将培养液换为含药物浓度为700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的DMEM完全培养基, 连续培养12天, 每隔4天更换一次培养液, 药物浓度逐步增加至1 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 防止筛选过程中的细胞产生耐药性。

HeLa细胞在G418连续作用12天后, 利用荧光显微镜判断6孔板中阳性细胞存活比例, 用胰酶将细胞消化重悬, 用倍比稀释的方法, 将细胞悬液转移至96孔板中, 筛选单克隆纯阳性细胞。通过荧光显微镜判断选出带有GFP荧光标签的阳性单株细胞, 进行扩大培养。用于后续稳定敲低鉴定以及相应实验。

1.2.4 RPL11稳定敲低细胞系新生蛋白翻译效率和细胞活力测定 为了确定*RPL11*稳定敲低细胞系的稳定性, 以及敲低*RPL11*基因后细胞生长活力是否受到影响。将亚克隆细胞连续扩大培养15代, 每隔5代, 分别收取蛋白样和RNA样, 进行Western blot实验和荧光定量PCR检测, 在Western blot实验中用1 \times TBST将RPL11兔抗(1:1 000)稀释后4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,

检验细胞系中RPL11蛋白的表达情况, 确定细胞系中RPL11蛋白的表达是否被持续抑制。确定细胞系中的*RPL11*基因被稳定敲低后, 利用Puromycin能标记新合成的蛋白的特性, 在6孔板的维持液中加入终浓度为20 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的Puromycin, 作用1 h后收集蛋白样进行Western blot实验, 用1 \times TBST按一定比例将Puromycin鼠抗(1:1 000)稀释后4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 检测RPL11敲低细胞系中新合成的蛋白量。利用酶标仪和CCK-8试剂盒测定细胞系的活力值, 检测RPL11稳定敲低细胞系的生长状况。

1.2.5 统计学分析 Western blot检测蛋白表达量的灰度值采用ImageJ软件处理, 实验数据使用GraphPad Prism 8软件进行分析, 采用非配对t检验统计分析方法, $P < 0.05$ 表示差异显著有统计学意义, $P > 0.05$ 表示差异不显著有统计学意义。

2 结果

2.1 G418最低致死浓度的确定和亚克隆细胞筛选

药物组的结果如图1所示, G418在前4天对HeLa细胞并不致死, 但加入G418 8天后引起HeLa细胞死亡比较明显, 且存在剂量依赖效应。在G418加入12天后600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组仍有大量细胞存活; 而700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组细胞全部死亡, 但其在第8天有少量细胞存活。而800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组中在第8天细胞只有极少数存活, 到第9天细胞则完全死亡, 故该浓度容易将10天才形成的阳性细胞也杀死(图1)。因此我们选择G418浓度为700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作为最适使用浓度, 用于后续细胞系筛选。

根据pRNAT-U6.1质粒基因序列以及酶切位

点位置设计测序引物, 检测三个重组质粒(shRNA-RPL11-1、shRNA-RPL11-2、shRNA-RPL11-3)的构建情况。测序结果表明, 载体连接成功且未发生突变或移码问题, 可用于后续的细胞系构建。三个重组质粒在HeLa细胞中转染24 h后, 用含700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ G418的DMEM培养基筛选细胞, 经过12天的药筛后剩余细胞用倍比稀释法筛选出亚克隆细胞, 结果如图2所示: 得到单株带有GFP标签且有G418抗性的亚克隆细胞系用于后续的敲低鉴定。

2.2 RPL11稳定敲低细胞系敲低效率鉴定

将三个重组质粒转染至HeLa细胞, 经过药物筛选和荧光鉴定获得亚克隆细胞, 再将亚克隆细胞扩大培养, Western blot实验检测细胞系RPL11基因敲低情况。RPL11蛋白表达结果如图3A和图3B所示:

三个不同干扰位点构建的敲低细胞系中的RPL11蛋白表达量与Mock组相比均受到明显抑制, 差异非常显著($P < 0.001$), 且shRNA-RPL11-3株细胞系与其他两株相比差异具有统计学意义($P < 0.01$)。后续我们选择敲低效果最好的shRNA-RPL11-3用于细胞系稳定性测试。

为验证shRNA表达载体能否在细胞内持续产生shRNAs, 进而抑制靶基因RPL11的表达, 我们将shRNA-RPL11-3株连续传代培养15代, 并每隔5代收取样品分别进行qPCR(引物序列参照表1)和Western blot检测RPL11的表达情况。结果如图4A所示: 细胞系传代至第5代、第10代、第15代时, RPL11的转录水平分别为对照组的36.9%、40.0%和38.9%, 差异显著($P < 0.01$, $P < 0.05$), 而各代之间的敲低效率无

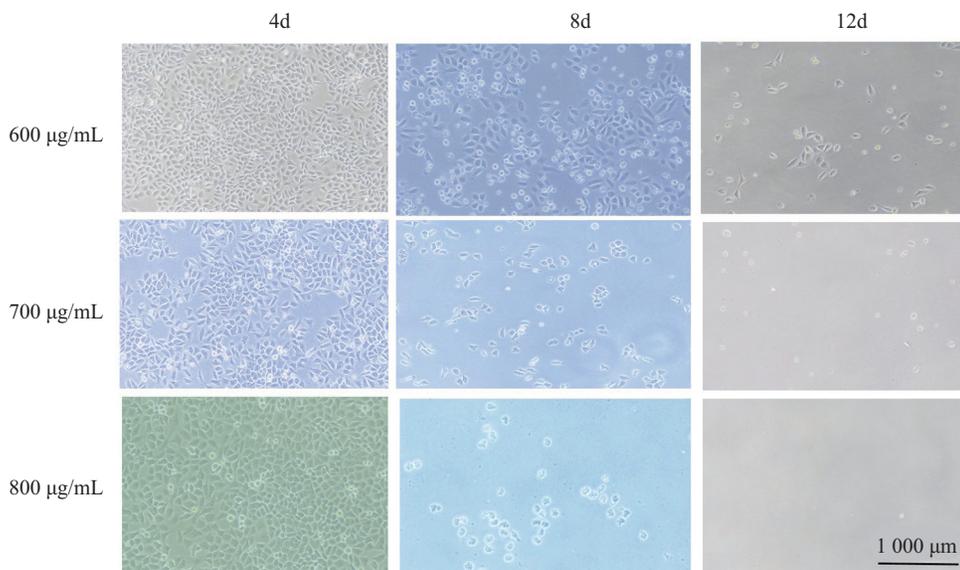


图1 确定HeLa细胞在G418作用下的细胞全部死亡的最低浓度

Fig.1 Determined the minimum concentration of total cell death of HeLa cells under G418

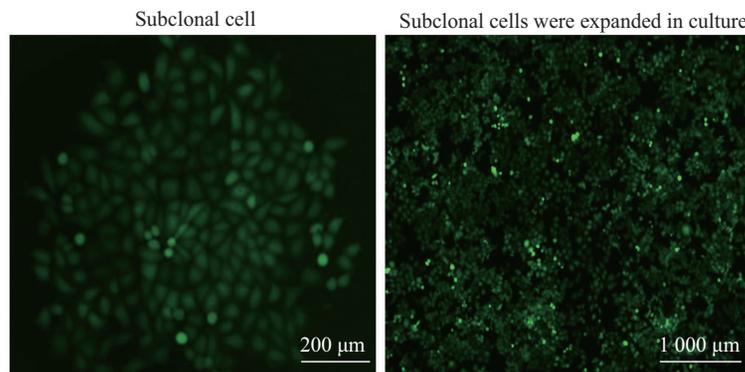
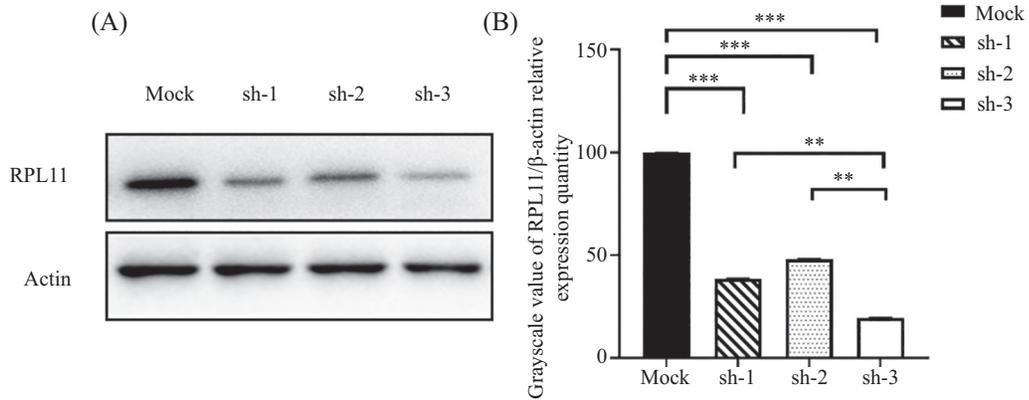


图2 亚克隆细胞筛选和扩大培养

Fig.2 Subclonal cell screening and expanding

显著差异($^{ns}P>0.05$)。同时Western blot结果(图4B和图4C)显示, *RPL11*稳定敲低的细胞系与Mock组相比*RPL11*蛋白表达抑制效果差异极显著($P<0.01$,

$P<0.05$), 且传代组之间的*RPL11*蛋白表达量差异不显著($^{ns}P>0.05$), 表明该细胞系传代至第15代时细胞内的shRNA表达载体仍能持续产生shRNAs。

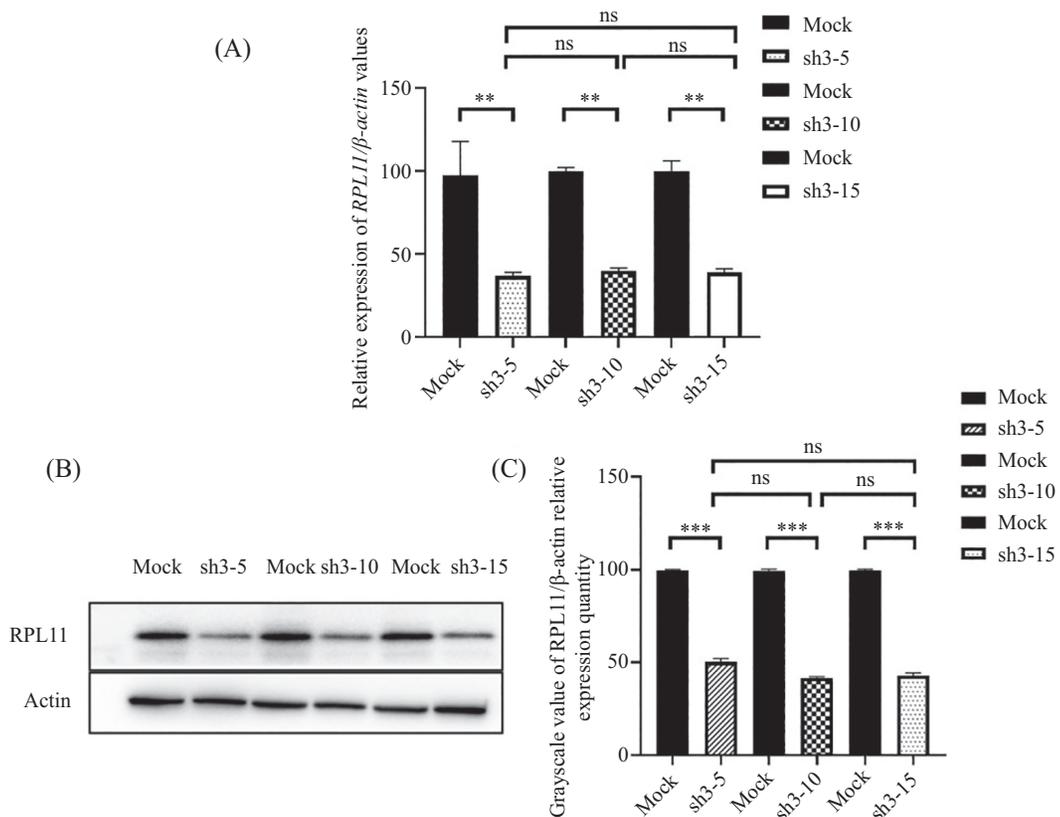


A: 不同靶点的敲低细胞系*RPL11*表达量; B: *RPL11*蛋白表达量灰度值比较。 ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

A: *RPL11* expression levels of knockdown cell lines with different targets; B: identification of protein expression level gray value comparison. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

图3 *RPL11*敲低细胞系的鉴定

Fig.3 Identification of *RPL11* knockdown cell lines

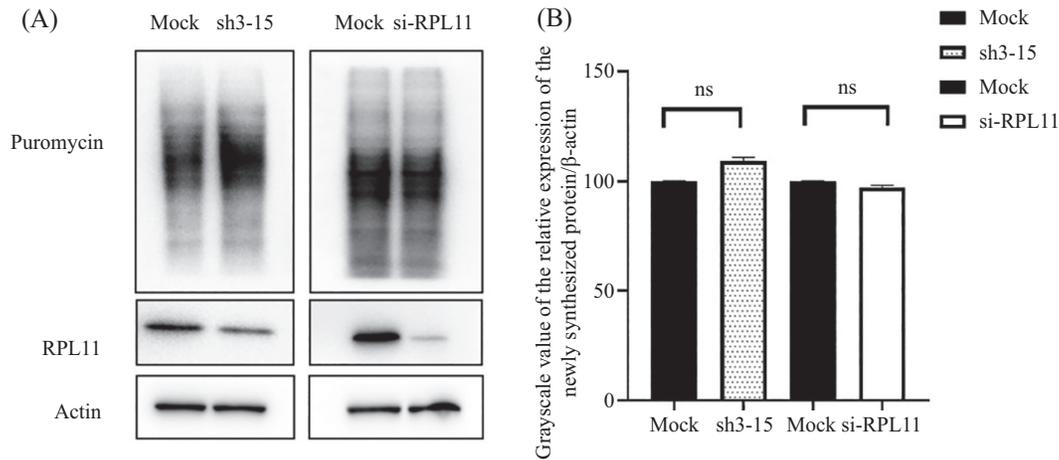


A: qPCR检测敲低细胞系传代稳定性; B: 蛋白水平检测细胞系传代稳定性; C: 鉴定蛋白表达量灰度值比较。 ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, $^{ns}P>0.05$ 。

A: stability evaluation of knockdown cell lines by qPCR; B: protein level was used to detect the passage stability of cell lines; C: identification of protein expression level gray value comparison. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, $^{ns}P>0.05$.

图4 敲低细胞系传代稳定性检测

Fig.4 Stability test of knockdown cell lines

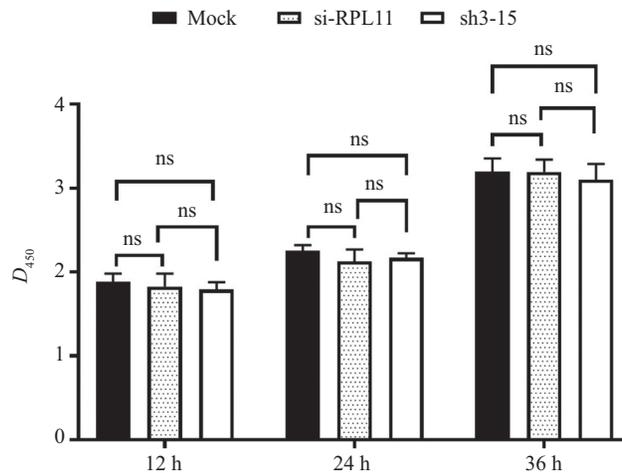


A: 细胞中新合成蛋白表达量; B: 新合成蛋白表达量灰度值比较。^{ns} $P>0.05$ 。

A: expression of newly synthesized proteins in cells; B: grayscale comparison of the expression level of newly synthesized protein. ^{ns} $P>0.05$.

图5 细胞新合成蛋白合成效率测定

Fig.5 Detection of the efficiency of new synthesized protein



^{ns} $P>0.05$.

图6 细胞活力比较

Fig.6 Comparison of the cell viability

2.3 RPL11稳定敲低细胞系新生蛋白翻译效率测定

将RPL11稳定敲低的HeLa细胞系设为实验组, RPL11小干扰RNA处理过的HeLa为阳性对照组, 未经过任何处理的HeLa细胞设为Mock组。在细胞贴壁24 h后用Puromycin标记收集蛋白样进行Western blot实验, 用Puromycin抗体检测细胞中新合成蛋白的情况, 结果如图5A和图5B所示: RPL11稳定敲低的HeLa细胞系、小干扰RNA处理过的HeLa与Mock组相比新合成的蛋白量都无显著差异(^{ns} $P>0.05$), 说明RPL11被敲低后不影响细胞新合成蛋白。

2.4 RPL11稳定敲低细胞系的细胞活力测定

为验证细胞中的RPL11被稳定敲低后是否影响细胞活力, 将RPL11稳定敲低的HeLa细胞系设为实

验组, RPL11小干扰RNA处理过的HeLa为阳性对照组, 未经过任何处理的HeLa细胞设为Mock组。分别在细胞贴壁后12 h、24 h、36 h用细胞生长活力的测定试剂盒CCK-8检测各孔450 nm波长处的吸光度(D)值, 结果如图6所示: RPL11敲低的HeLa细胞系(实验组)和Mock组、小干扰RNA处理组(阳性对照组)之间450 nm波长处的吸光度(D)值都无显著差异(^{ns} $P>0.05$), 三组细胞的生长状况一致。

3 讨论

本研究利用表达绿色荧光蛋白的RNAi专用载体pRNAT-U6.1为骨架, 成功构建了三个针对RPL11不同区域的稳定干扰质粒。后续通过G418筛选和

亚克隆培养方法,成功构建了1株RPL11稳定敲低的HeLa细胞系。细胞活力检测显示,该细胞系与野生型无明显差异,随后Puromycin标记法测定显示,RPL11稳定敲低后并不影响细胞新生蛋白合成。

研究表明,真核细胞中的核糖体蛋白不仅是核糖体组成部分,而且其在细胞生长和分化、胚胎发育和病毒复制过程都起重要作用。例如:果蝇体内的核糖体数量减少或核糖体蛋白质合成受阻时,果蝇幼虫发育迟缓伴随有翅膀和眼睛畸形,呈隐性致死性^[9]。RPL29是软骨细胞生长和分化的重要调节因子,能促进早期软骨形成、维持软骨细胞增殖,避免骨骼缩短^[10-11]。敲除原代小鼠胚胎成纤维细胞中的RPLP1不改变蛋白质的合成,但RPLP1的缺失会增加翻译错误率,产生未折叠的蛋白质,影响其他特定蛋白亚群的蛋白质运输和信号转导。RPLP1的翻译“微调”对于胚胎和大脑的发育以及细胞增殖也是必不可少的^[12]。核糖体大亚基蛋白RPL40是VSV帽依赖性翻译所必需的,当小干扰RNA(siRNA)干扰宿主RPL40后VSV感染宿主能力明显下降^[13]。当宿主细胞中的mRPL4过度表达会限制病毒的组装能力^[14]。在汉坦病毒翻译起始机制中,核衣壳蛋白(N)与核糖体蛋白RPS19结合,优先促进病毒mRNAs的翻译^[15]。

近年在RPL11非糖体翻译功能中,研究人员发现将蠕虫中的RPL11基因抑制后,蠕虫仍能存活但生殖率和孵化率受到明显抑制^[16]。将小鼠胚胎中的RPL11基因完全敲除后小鼠胚胎则发育终止;而成年鼠中的RPL11被敲除后成年鼠只能存活数周,并伴随有骨髓不生和肠萎缩的症状^[17]。核糖体大亚基蛋白RPL9也是核糖体大亚基的重要组成蛋白,研究表明RPL9是抑制肿瘤形成的重要因子^[18]。将RPL9在细胞中过表达后感染MMTV,可以特异性诱导Gag蛋白在核仁中大量积累。Gag蛋白和RPL9在核仁内相互作用促进了病毒在宿主中复制。用siRNA将RPL9基因敲低后,Gag蛋白的表达量虽然未降低但病毒的复制受到明显抑制^[19]。

已有研究证实,RPL11在肿瘤发生、胚胎发育中发挥重要调节作用,但其在病毒感染中还未见相关功能研究的报道。本实验室前期发现,NDV感染后RPL11发生显著降解,但其降解机制和生物学功能不明确^[20]。本研究所构建RPL11稳定敲低的HeLa细胞系将成为后续研究其在NDV感染中的非核糖体功能的有力工具。

参考文献 (References)

- [1] ZHANG Y, WOLF G W, BHAT K, et al. Ribosomal protein L11 negatively regulates oncoprotein MDM2 and mediates a p53-dependent ribosomal-stress checkpoint pathway [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(23): 8902-12.
- [2] RIO S, GASTOU M, KARBOUL N, et al. Regulation of globin-heme balance in Diamond-Blackfan anemia by HSP70/GATA1 [J]. *Blood*, 2019, 133(12): 1358-70.
- [3] ZHANG Z, JIA H, ZHANG Q, et al. Assessment of hematopoietic failure due to Rpl11 deficiency in a zebrafish model of Diamond-Blackfan anemia by deep sequencing [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 896.
- [4] DAI M S, SEARS R, LU H. Feedback regulation of c-Myc by ribosomal protein L11 [J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(22): 2735-41.
- [5] DAI M S, LU H. Crosstalk between c-Myc and ribosome in ribosomal biogenesis and cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2008, 105(3): 670-7.
- [6] UCHI R, KOGO R, KAWAHARA K, et al. PICT1 regulates TP53 via RPL11 and is involved in gastric cancer progression [J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(8): 2199-206.
- [7] SASAKI M, KAWAHARA K, NISHIO M, et al. Regulation of the MDM2-P53 pathway and tumor growth by PICT1 via nucleolar RPL11 [J]. *Nat Med*, 2011, 17(8): 944-51.
- [8] KAYAMA K, WATANABE S, TAKAFUJI T, et al. GRWD1 negatively regulates p53 via the RPL11-MDM2 pathway and promotes tumorigenesis [J]. *EMBO Rep*, 2017, 18(1): 123-37.
- [9] ANDREW L. The minute genes in *Drosophila* and their molecular functions [J]. *Adv Genet*, 1998, 38: 69-134.
- [10] CATHERINE B K S, DANIEL S O, RICHARD J F, et al. Global growth deficiencies in mice lacking the ribosomal protein HIP/RPL29 [J]. *Dev Dyn*, 2007, 236(2): 447-60.
- [11] DANIEL S O, LAURA G S, ZHOU X Z, et al. Ribosomal protein L29/HIP deficiency delays osteogenesis and increases fragility of adult bone in mice [J]. *J Orthop Res*, 2009, 27(1): 28-35.
- [12] LAURA P, ANA A C, SERGI G, et al. RPLP1, a crucial ribosomal protein for embryonic development of the nervous system [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99956.
- [13] AMYSY L, REBECA B K, SEAN P J, et al. A ribosome-specialized translation initiation pathway is required for cap-dependent translation of vesicular stomatitis virus mRNAs [J]. *PNAS*, 2013, 110(1): 324-9.
- [14] LISA G, BRIAN H L, ANDREW Y, et al. Large ribosomal protein 4 increases efficiency of viral recoding sequences [J]. *J Virol*, 2012, 86(17): 8949-58.
- [15] HAQUE A, MIR M A. Interaction of hantavirus nucleocapsid protein with ribosomal protein S19 [J]. *J Virol*, 2010, 84(23): 12450-3.
- [16] SIJIA B, JIALE L, JUAN X, et al. RNAi mediated knockdown of Rpl11, Rps2, and tra-2 led to reduced reproduction of *Phytoseiulus persimilis* [J]. *EXP Appl Acarol*, 2019, 78: 505-20
- [17] MORGADO-PALACIN L, VARETTI G, LLANOS S, et al. Partial loss of Rpl11 in adult mice recapitulates diamond-blackfan anemia and promotes lymphomagenesis [J]. *Cell Rep*, 2015, 13(4): 712-22.
- [18] LEZZERINI M, PENZO M, O'DONOHUE M F, et al. Ribosomal protein gene RPL9 variants can differentially impair

- ribosome function and cellular metabolism [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(2): 770-87.
- [19] BEYER A R, BANN D V, RICE B, et al. Nucleolar trafficking of the mouse mammary tumor virus gag protein induced by interaction with ribosomal protein L9 [J]. *J Virol*, 2013, 87(2): 1069-82.
- [20] 徐智凯, 杨彬, 李梦娇, 等. 新城疫病毒对宿主核糖体蛋白RPL11降解机制的初步研究[J]. *中国预防兽医学学报*(XU Z K, YANG B, LI M J, et al. Preliminary study on degradation mechanism of host ribosomal protein RPL11 by Newcastle disease virus [J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*), 2020, 10(10): 1025-32.