

AGO在非编码RNA功能中的作用

张美玲 陈思佳 钟照华*

(哈尔滨医科大学微生物学教研室, 哈尔滨 150081)

摘要 AGO(argonaute)蛋白家族存在于几乎所有的物种中, 是一种高度保守的碱性蛋白。AGO蛋白在细胞整个生命进程中发挥重要作用, 参与mRNA降解、基因沉默、蛋白翻译等多种细胞进程。AGO蛋白也可与不同的非编码RNA结合发挥重要的作用。研究非编码RNA基因的作用机制, 有助于发现新的与器官形成、胚胎发育和生长相关的调控因子, 进一步探究人类疾病发病机制, 为开发新的治疗各种疾病的手段提供理论基础。该文主要对AGO在非编码RNA中的生物学作用加以综述。

关键词 AGO; 非编码RNA; 基因沉默; 转录; 翻译

The Role of AGO in Non-coding RNA Function

Zhang Meiling, Chen Sijia, Zhong Zhaohua*

(Department of Microbiology, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

Abstract The argonaute (AGO) protein family is found in almost all species and is a highly conserved basic protein. AGO protein plays an important role in the whole life process of cells, and participates in various cellular processes such as mRNA degradation, gene silencing, and protein translation. Understanding the mechanism of non-coding RNA genes is helpful to discover new regulators of organogenesis, embryonic development and growth, to understand the pathogenesis of human diseases, and to provide theoretical basis for the development of new treatments for various diseases. This review focuses on the biological role of AGO in non-coding RNA.

Keywords AGO; non-coding RNA; gene silencing; transcription; translation

AGO(argonaute)蛋白家族包含三个亚家族, 最早从果蝇细胞分离出来, 是一种高度保守的碱性蛋白, 大小约为100 kDa^[1]。依据序列比对分析, AGO蛋白家族可分为三个亚家族: PIWI-like亚家族(简称PIWI)、Argonaute-like亚家族(简称AGO)以及*C. elegans*-specific group 3亚家族^[2]。AGO蛋白家族存在于几乎所有的物种中, 但是其在数量上有所差别。其中, PIWI与黑腹果蝇类似, 而*C. elegans*-specific group 3亚家族仅存在于线虫中, Piwi-like亚家族则仅表达于生殖细胞中, AGO与拟南芥的AGO1类

似, 而AGO-like亚家族在哺乳动物各种组织细胞中均高度表达^[3]。在真核细胞中, 许多小的非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)可与AGO蛋白结合, 形成RNA诱导的沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC), 此复合物可靶向调节某些特定mRNA, 对细胞基因的表达进行转录后调控^[4]。

生物体中的RNA主要分为两大类: 编码RNA与非编码RNA。非编码RNA即不能编码蛋白质的RNA, 包括siRNA、miRNA、piRNA、tRNA、rRNA、snoRNA、lncRNA、circRNA等多种已知功能

收稿日期: 2018-11-06 接受日期: 2019-01-28

国家自然科学基金(批准号: 81871652、81571999)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0451-86685122, E-mail: zhongzh@hrbmu.edu.cn

Received: November 6, 2018 Accepted: January 28, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81871652, 81571999)

*Corresponding author. Tel: +86-451-86685122, E-mail: zhongzh@hrbmu.edu.cn

网络出版时间: 2019-07-16 16:03:56 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190716.1603.008.html>

的RNA和某些未知功能的RNA^[5], 未知功能的RNA仍有待研究。这些RNA的共同特点是不能翻译成蛋白质, 但可从基因组水平上转录而来, 并且在RNA水平上即可行使各自的生物学功能。大量的非编码RNA, 在生物体中组成了非常复杂的RNA调控网络。在胚胎发育早期、干细胞分化以及肿瘤的发生发展等多种细胞进程中都发挥着重要的调控作用^[6]。对于ncRNA基因作用机制的进一步了解, 有助于发现新的与器官形成、胚胎发育和生长相关的调控因子, 促进对人类疾病发病机制的理解, 为开发治疗各种疾病的新手段提供理论基础。

1 AGO的结构

AGO蛋白是RNA诱导基因沉默过程中的重要组成成分。真核细胞的AGO由N结构域、PAZ结构域、MID结构域和PIWI结构域组成^[7]。这四个结构域通过连接器Linker(L1)和Linker(L2)连接, 组成N-PAZ和MID-PIWI双叶模式^[8]。其中, 双叶结构的间隙可以为RNA及其互补片段提供容纳空间^[9]。N结构域在RISC复合体形成时发挥重要作用, AGO可以自发地把RNA包裹在内, 将其解螺旋并切割, 也可以与其他结构协作完成此过程^[10]。AGO和Dicer酶都含有PAZ结构域, 可以通过单链核苷酸上的OB褶皱结构与RNA 3'端多出的两个碱基相结合, 进一步引导RNA锚定在AGO的PAZ结构域上, 从而实现RISC的向导功能^[11]。将PAZ突变后发现突变后的AGO仍然可以与小RNA相互作用, 但无法形成RISC复合体。因而可以认为, PAZ结构域在AGO形成RISC复合体中是不可或缺的一部分^[12]。位于PAZ和PIWI结构域中间的MID结构域的折叠结构可以与RNA的5'端伸出物相结合, 并与MID区结合位点相邻近的辅助位点协同发挥作用^[13]。结合位点与辅助位点都具有相同的磷酸根离子和高度保守的帽状结构(m7GpppG)。在肺腺癌患者中, 此帽状结构阻止mRNAs与7-甲基鸟嘌呤的结合, 进而抑制mRNA转录^[14]。PIWI结构域

是AGO亚家族特有的结构域, 可与靶mRNA相互作用, 其按照类似RNaseH的方式折叠, 并且在AGO家族的某些成员中表现内切酶活性。在人类AGO2中, PIWI区有依赖碱基互补配对原则发挥核酸内切酶活性的活性催化位点, 是切割靶基因mRNA的重要成分^[15](AGO具体结构见图1)。

2 非编码RNA的分类

非编码RNA即不能编码蛋白质的RNA, 在细胞发育甚至整个生命发育进程中发挥重要作用^[16]。按照长度可将ncRNA分为三类: (1)小于50 nt: miRNA、siRNA、piRNA; (2)50 nt~500 nt: rRNA、tRNA、snRNA、snoRNA等; (3)大于500 nt: 长非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)如mRNA-like的非编码RNA以及不含polyA尾的非编码RNA、circRNA等^[17]。有研究报道, 一般高等生物转录后大部分RNA为ncRNA^[18]。随着科技的发展, 近年来已经开发了多种复杂的高通量测序技术, 利用此技术发现多种小非编码RNA(ncRNA)的降解途径, 如可通过与AGO蛋白结合来调节基因表达^[19]。非编码RNA在细胞发育甚至整个生命发育进程中发挥重要作用, 如细胞生长、分化、发育、免疫及肿瘤形成^[20]。另外像rRNA、siRNA、tRNA、ri-siRNA、snoRNA等多种已知功能的ncRNA也能与AGO蛋白结合发挥其特定的生物学功能^[21]。表1是AGO蛋白调控的具有代表性ncRNA总结。

2.1 AGO在非编码RNA中的生物学作用

2.1.1 AGO蛋白通过siRNA途径促进mRNA降解
信使RNA(messenger RNAs, mRNAs)主要作用为与蛋白质结合形成核糖核蛋白^[22]。mRNAs降解在生物发育过程中发挥重要作用, 但mRNAs降解也需要某些蛋白的参与, AGO蛋白在mRNA切割过程中的作用不可忽视。在siRNA通路中, RLC(RISC loading complex)可招募AGO蛋白形成holo-RISC, 之后siRNA的正义链被AGO蛋白进行切割并解螺旋从而形成活化的RISC^[23]。活化的RISC以反义链为模板

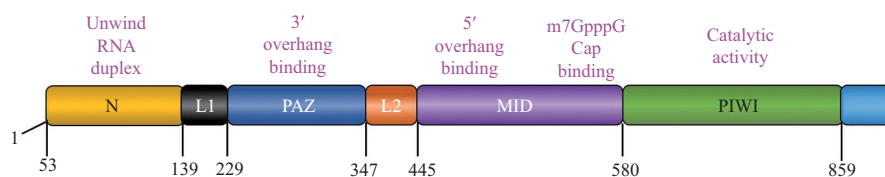


图1 人类AGO结构

Fig.1 Human AGO

表1 AGO蛋白调控的non-codingRNA
Table 1 AGO protein-bound non-coding RNA

缩写 Abbreviation	全名 Full name	功能 Function	参考文献 Reference
siRNA	Small interfering RNA	RNA cleavage	[23-24]
miRNA	Micro RNA	Translation regulation	[25-29]
piRNA	PIWI-interacting RNA	epigenetic gene silencing in germ line cells	[30-34]
tRNA	transfer RNA	mRNA translation	[36-41]
risiRNA	Antisense ribosomal siRNA	Inhibition of ribosome expression	[42-46]
snoRNA	Small nucleolar RNA	pre-rRNA processing, rRNA, tRNA, snRNA modifications	[47-49]

在细胞质中与对应的靶mRNA进行切割,从而降解靶mRNA^[24]。

2.1.2 AGO蛋白通过miRNA途径抑制翻译过程 在真核生物中被发现的ncRNA,是目前研究最透彻的一类转录后调控因子^[25],在miRNA通路中,AGO蛋白家族与miRNA被装载到AGO蛋白中协同发挥作用,来发挥抑制翻译的作用^[26]。关于AGO蛋白与miRNA的结合机制的相关研究已经很详尽。大量研究表明,miRNA可通过翻译抑制来诱导基因沉默^[27]。翻译起始时,因为AGO-miRNA复合物会与靶mRNA的5'端竞争翻译起始因子,从而影响翻译起始复合物的产生^[28];翻译延伸阶段,AGO-miRNA复合物识别并引导靶mRNA的poly-A尾发生脱腺苷化从而降解靶mRNA;另外,AGO-miRNA复合物也会招募多肽酶促使多肽降解^[29]。对于miRNA基因作用机制的进一步了解,有助于发现新的与器官形成、胚胎发育和生长相关的调控因子,促进对人类疾病发病机制的理解。

2.1.3 PIWI蛋白促进piRNA调控基因沉默 piRNA (PIWI-interacting RNA)是近年来新发现的从哺乳动物生殖细胞中分离得到的一类ncRNA^[30],主要在生殖系统细胞系和干细胞中表达,在维持生殖系DNA完整性、抑制转座子转录、抑制翻译、参与异染色质的形成、执行表观遗传调控和生殖细胞发生等均起到至关重要作用^[31]。有文献报道,piRNA只有与PIWI蛋白结合才能发挥其生物学功能^[32]。PIWI亚家族属于AGO蛋白家族成员,研究表明,piRNA与PIWI亚家族蛋白成员结合形成piRNA复合物(piRC),进而发挥调控基因沉默的作用^[33]。piRNA引导PIWI蛋白切割前体转录物来产生piRNA^[34],PIWI蛋白切割前体转录物产生前体piRNA(pre-piRNA)^[35],PIWI蛋白通过此机制启动和维持piRNA生物发生(AGO蛋白诱导基因沉默的具体途径详见

图2)。

2.2 AGO蛋白与risiRNA结合抑制核糖体RNA表达

反义核糖体小干扰RNA(antisense ribosomal siRNA, risiRNA)属于内源性小干扰RNA,在其5'端有三个磷酸基团,3'端为羟基。risiRNA由RNA依赖的RNA聚合酶合成^[37]。有研究表明,risiRNA通过与AGO蛋白结合来抑制核糖体RNA的表达。此时AGO蛋白NRDE-3由细胞质转移至核仁从而抑制rRNA前体的表达^[38]。即risiRNA只有与AGO蛋白相结合才能抑制核糖体RNA的表达^[39]。risiRNA可能参与多种WAGO(worm-specific argonaute)介导的基因沉默机制,主要通过结合不同的WAGO并激发各自的基因沉默机制发挥作用,如WAGO-1蛋白定位于核周P-颗粒,这表明risiRNA在细胞质中也可能具有一定的功能^[40]。然而,risiRNA如何指导细胞质中AGO蛋白来调节rRNA监测、核糖体转换以及翻译的机制尚不清楚。risiRNA可能通过以下机制调节翻译,(1)在细胞质中,risiRNA可能通过诱导其靶向RNA的切割抑制翻译^[41];(2)通过核糖体的装配阻断蛋白质合成。risiRNA也可抑制核仁中的rRNA转录,但具体机制仍需进一步探索。

2.3 AGO蛋白与tRNA的结合与翻译密切相关

AGO蛋白同tRNA的结合与翻译的进程密切相关,tRNA约占细胞中所有转录物的15%,是高度结构化及高度修饰的RNA聚合酶III(Pol III)转录物,tRNA基因使用2型Pol III启动子,包扩Pol III转录因子的内部结合位点TFIIIC以及可以与Pol III转录因子上游接触的TFIIIB^[42]。tRNA及其基因序列还具有某些翻译外的作用,在人类和小鼠的基因中,TFIIIC结合的tRNA基因序列起阻断增强子和屏障染色质绝缘子的作用^[43]。有趣的是,RNA干扰机制也与染色质绝缘子功能有关,研究表明,AGO蛋白可

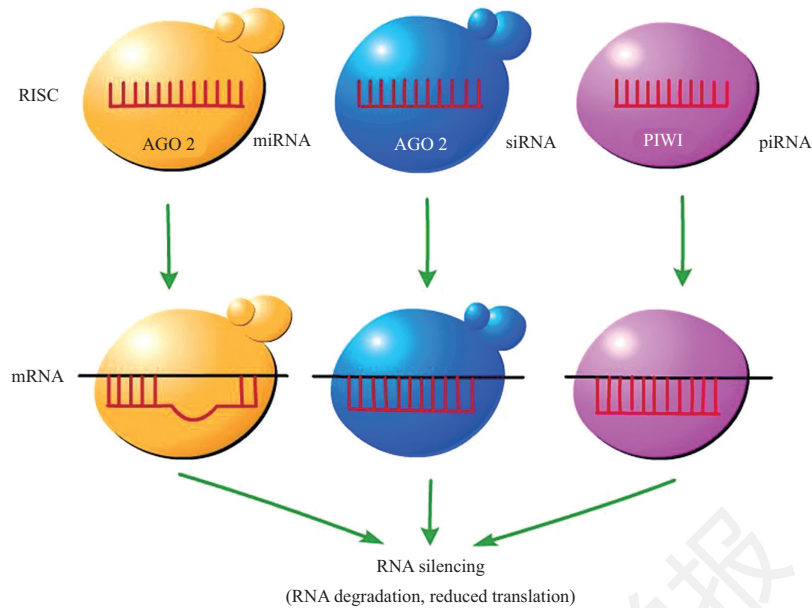


图2 AGO蛋白诱导基因沉默的三种途径(根据参考文献[36]修改)

Fig.2 Three pathways for AGO protein-induced gene silencing (modified from reference [36])

与绝缘子结合并且对Fab-8绝缘子的功能起着至关重要的作用^[44]。AGO蛋白也可与tRNA前体以及被转录的基因相互作用^[45]，在活性tRNA基因上，AGO、TFIIIC和Pol III的组合以距离依赖性方式促进侧翼*Pol II*基因的抑制^[46]，AGO/TFIIIC/Pol III介导的邻近*Pol II*基因的抑制代表了一种新的调节机制，可能与某些细胞类型的特异性有关^[47]。

2.4 AGO蛋白促进snoRNA指导snRNA、tRNA和mRNA的转录后修饰

核仁小分子RNA(snoRNA)是一类广泛分布于

真核生物细胞核仁的小分子ncRNA。有研究表明，snoRNA能够指导snRNA、tRNA和mRNA的转录后修饰，除此之外，还参与核糖体RNA的生物合成^[48]，但snoRNA若想发挥生物学功能必需有AGO蛋白的参与。高通量测序和RNase保护实验显示，snoRNA片段广泛表达，并且称snoRNA衍生的RNA为sdRNA^[49]。某些sdRNA类似于miRNA与AGO蛋白结合来影响翻译。而其他sdRNA较长，与hnRNP形成复合物影响基因表达^[50](snoRNA结构见图3)。

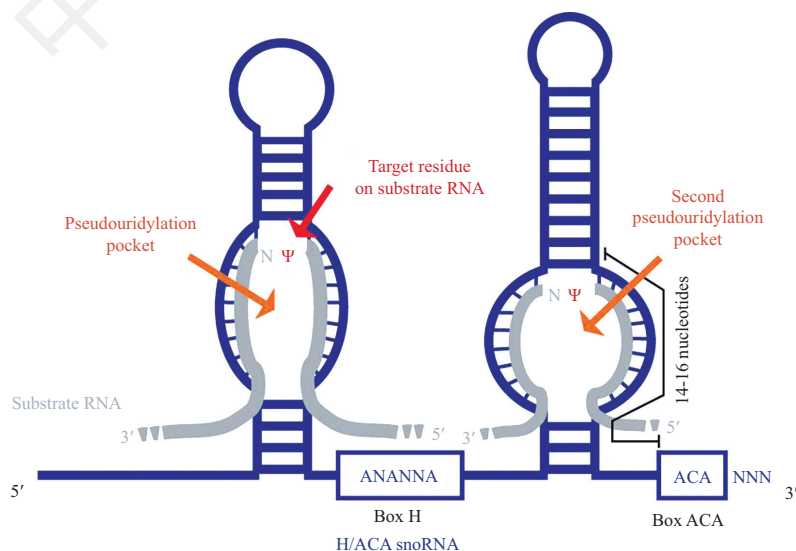


图3 snoRNA的结构

Fig.3 Structure of snoRNA

3 展望

目前已有的研究结果显示,多种非编码RNA通过与AGO蛋白结合来调节基因的表达、转录及翻译过程,以维持细胞在正常情况或外界刺激下基因表达水平的平衡。虽然我们对ncRNA与AGO结合后发挥的生物学作用有一定的了解,但ncRNA种类繁多,AGO蛋白和不同ncRNA结合发挥的功能及机制各不相同。目前我们对ncRNA的了解仍然不充分,依然有大量ncRNA仍在研究中,这些ncRNA是否需要AGO介导来发挥其生物学活性,可能是未来一个重要的研究领域。

参考文献 (References)

- Matsui M, Li L, Janowski BA, Corey DR. Reduced expression of argonaute 1, argonaute 2, and TRBP changes levels and intracellular distribution of RNAi factors. *Sci Rep* 2015; 5(1): 12855-67.
- Kobayashi H, Tomari Y. RISC assembly: coordination between small RNAs and argonaute proteins. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1859(1): 71-81.
- Kotaro N. Anatomy of RISC: how do small RNAs and chaperones activate Argonaute proteins. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2016; 7(5): 637-78.
- Olina AV, Kulbachinskiy AV, Aravin AA, Esysunina DM. Argonaute proteins and mechanisms of RNA interference in eukaryotes and prokaryotes. *Biochem* 2018; 83(5): 483-97.
- Isaac C, Patel TR, Zovoilis A. Non-coding RNAs in virology: an RNA genomics approach. *Review* 2018; 34(1): 1-17.
- Ørom UA, Shiekhattar R. Long noncoding RNAs usher in a new era in the biology of enhancers. *Cell* 2013; 154(6): 1190-3.
- Jannot G, Boisvert ME, Banville IH, Simard MJ. Two molecular features contribute to the Argonaute specificity for the microRNA and RNAi pathways in *C. elegans*. *RNA* 2008; 14(5): 829-35.
- Willkomm S, Oellig CA, Zander A. Structural and mechanistic insights into an archaeal DNA-guided Argonaute protein. *Nature* 2017; 2(20): 17035-25.
- Zhu L, Jiang H, Sheong FK, Cui X, Wang Y, Gao X, *et al.* Understanding the core of RNA interference: The dynamic aspects of Argonaute-mediated processes. *Prog Biophys Mol Biol* 2017; 128: 39-46.
- Poterala A, Rzeszowska J. The classification, structure and functioning of Ago proteins in Eukaryotes. *Postepy Hig Med Dosw* 2016; 70(0): 1005-16.
- Ma Y, Liu S, Wang Y. Isonucleotide incorporation into middle and terminal siRNA duplexes exhibits high gene silencing efficacy and nuclease resistance. *Org Biomol Chem* 2017; 15(24): 5161-70.
- Boland A, Huntzinger E, Schmidt S. Crystal structure of the MID-PIWI lobe of a eukaryotic Argonaute protein. *Proc Natl Acad Sci* 2011; 108(26): 10466-71.
- Wang X, Chang L, Wang H. Dcp1a and GW182 induce distinct cellular aggregates and have different effects on microRNA pathway. *Dna Cell Biol* 2017; 36(7): 565-70.
- Keun CS, Young RM, Pratik SI. Post-translational regulation of miRNA pathway components, AGO1 and HYL1, in plants. *Molecules* 2016; 39(8): 581-6.
- Peters, Lasse, Meister, *et al.* Argonaute proteins: mediators of RNA silencing. *Molecular* 2007; 26(5): 611-23.
- Worku T, Bhattarai D, Ayers D, Wang K, Wang C, Rehman ZU, *et al.* Long non-coding RNAs: the new horizon of gene regulation in ovarian cancer. *Cell Physiol Biochem* 2017; 44(3): 948-66.
- Klinge CM. Noncoding RNAs: long non-coding RNAs and microRNAs in endocrine-related cancers. *Endocr Relat Cancer* 2018; 25(4): R259-82.
- Gstir R, Schaffner S, Scheideler M, Misslinger M, Griehl M, Daschil N, *et al.* Generation of a neuro-specific microarray reveals novel differentially expressed noncoding RNAs in mouse models for neurodegenerative diseases. *RNA* 2014; 20(12): 1929-43.
- Daugaard I, Hansen TB. Biogenesis and function of Ago-associated RNAs. *Trends Genet* 2017; 33(3): 208-19.
- Homolka D, Ivanek R, Forejt J. Differential expression of non-coding RNAs and continuous evolution of the X chromosome in testicular transcriptome of two mouse species. *PLoS One* 2011; 6(2): 17198-101.
- Willkomm S, Restle T. Conformational dynamics of Ago-mediated silencing processes. *Int J Mol Sci* 2015; 16(7): 14769-85.
- Singh G, Pratt G, Yeo GW, Moore MJ. The clothes make the mRNA: past and present trends in mRNP fashion. *Annu Rev Biochem* 2015; 84(1): 325-54.
- Matrangola C, Tomari Y, Shin C, Bartel DP, Zamore PD. Passenger-strand cleavage facilitates assembly of siRNA into Ago2-containing RNAi enzyme complexes. *Cell* 2005; 123(4): 607-20.
- Baldwin T, Islamovic E, Klos K, Schwartz P, Gillespie J, Hunter S, *et al.* Silencing efficiency of dsRNA fragments targeting *Fusarium graminearum* TRI6 and patterns of small interfering RNA associated with reduced virulence and mycotoxin production. *Plos One* 2018; 13(8): 2789-95.
- Mollaie HR, Monavari SH, Arabzadeh SA, Shamsi-Shahrabadi M, Fazlalipour M, Afshar RM. RNAi and miRNA in viral infections and cancers. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(12): 7045-56.
- Hendelman A, Kravchik M, Stav R, Zik M, Lugassi N, Arazi T. The developmental outcomes of P0-mediated argonaute destabilization in tomato. *Planta* 2013; 237(1): 363-77.
- Dhanasekaran K, Kumari S, Kanduri C. Noncoding RNAs in chromatin organization and transcription regulation: an epigenetic view. *Subcell Biochem* 2013; 7(61): 343-72.
- Farh KK, Grimson A, Jan C, Lewis BP, Johnston WK, Lim LP, *et al.* The widespread impact of mammalian microRNAs on mRNA repression and evolution. *Science* 2005; 310(5755): 1817-21.
- Kim J, Krichevsky A, Grad Y, Hayes GD, Kosik KS, Church GM, *et al.* Identification of many microRNAs that copurify with polyribosomes in mammalian neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(1): 360-65.
- Mohn F, Handler D, Brennecke J. Noncoding RNA. piRNA-guided slicing specifies transcripts for zucchini-dependent, phased piRNA biogenesis. *Science* 2015; 348(6236): 812-6.
- Izumi N, Shoji K, Sakaguchi Y. Identification and functional

- analysis of the pre-piRNA 3' trimmer in silkworms. *Cell* 2016; 164(5): 962-73.
- 32 Wang Y, Jin B, Liu P, Li J, Chen X, Gu J. piRNA profiling of dengue virus type 2-infected asian tiger mosquito and midgut tissues. *Viruses* 2018; 10(4): 213-7.
- 33 Gainetdinov I, Colpan C, Arif A. A single mechanism of biogenesis, initiated and directed by PIWI proteins, explains piRNA production in most animals. *Mol Cell* 2018; 71(5): 775-90.
- 34 Senti KA, Jurczak D, Sachidanandam R. piRNA-guided slicing of transposon transcripts enforces their transcriptional silencing via specifying the nuclear piRNA repertoire. *Genes Dev* 2015; 29(16): 1747-62.
- 35 Manakov SA, Pezic D, Marinov GK. MIWI2 and MILI have differential effects on piRNA biogenesis and DNA methylation. *Cell Rep* 2015; 12(8): 1234-43.
- 36 Jeang KT. RNAi in the regulation of mammalian viral infections. *BMC Biology* 2012; 10(1): 10-58.
- 37 Zhou X, Chen X, Yun W. A new layer of rRNA regulation by small interference RNAs and the nuclear RNAi pathway. *RNA Biol* 2017; 14(11): 1492-8.
- 38 Guang S, Bochner AF, Pavelec DM. An Argonaute transports siRNAs from the cytoplasm to the nucleus. *Science* 2008; 321(5888): 537-41.
- 39 Lapinaite A, Doudna JA, Cate J. Programmable RNA recognition using a CRISPR-associated argonaute. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018; 115(13): 3368-73.
- 40 Sjögren L, Floris M, Barghetti A. Farnesylated heat shock protein 40 is a component of membrane-bound RISC in arabidopsis. *J Biol Chem* 2018; 293(43): 16608-22
- 41 Kaya E, Doxzen KW, Knoll KR, Wilson RC, Strutt SC, Kranszus PJ, *et al.* A bacterial Argonaute with noncanonical guide RNA specificity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113(15): 4057-62.
- 42 Huang SQ, Sun B, Xiong Z. The dysregulation of tRNAs and tRNA derivatives in cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2018; 37(1): 101-07.
- 43 Woolnough JL, Atwood BL, Giles KE. Argonaute 2 binds directly to tRNA genes and promotes gene repression in cis. *Mol Cell Biol* 2015; 35(13): 2278-94.
- 44 Kuscic C, Kumar P, Kiran M. tRNA fragments (tRFs) guide Ago to regulate gene expression post-transcriptionally in a Dicer independent manner. *RNA* 2018; 24(8): 1093-105.
- 45 Karaikos S, Grigoriev A. Dynamics of tRNA fragments and their targets in aging mammalian brain. *F1000Res* 2016; 24(5): 2758-65.
- 46 Sun C, Fu Z, Wang S. Roles of tRNA-derived fragments in human cancer. *Cancer Lett* 2017; 414: 16-25.
- 47 Honda S, Kawamura T, Loher P, Morichika K, Rigoutsos I, Kirino Y, *et al.* The biogenesis pathway of tRNA-derived piRNAs in bombyx germ cells. *Nucleic Acids Res* 2017; 45(15): 9108-20.
- 48 Falaleeva M, Stamm S. Processing of snoRNAs as a new source of regulatory non-coding RNAs: snoRNA fragments form a new class of functional RNAs. *Bioessays* 2013; 35(1): 46-54.
- 49 Kishore S, Gruber AR, Jedlinski DJ, Syed AP, Jorjani H, Zavolan M. Insights into snoRNA biogenesis and processing from PAR-CLIP of snoRNA core proteins and small RNA sequencing. *Genome Biol* 2013; 14(5): R45-50.
- 50 Li W, Saraiya AA, Wang CC. The profile of snoRNA-derived microRNAs that regulate expression of variant surface proteins in *Giardia lamblia*. *Cell Microbiol* 2012; 14(9): 1455-73.