

# 花绒寄甲 *ERR* 和 *bHLH* 基因筛选与序列分析

张正青,李孟楼\*

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

**摘 要:**采用 Blast X 比对、ORFfinder 查询开放阅读框、MEGA 建立 Neighbour-Joining 系统发育树、EXPASY 分析序列组成及 ProtScale 和 HNN 预测氨基酸序列的基本性质及二级结构等生物信息学手段,对花绒寄甲的 *ERR* 和 *bHLH* 基因研究,共得到具有完整开放阅读框的 *ERR* 序列 1 条和 *bHLH* 序列 5 条,其氨基酸序列二级结构均由  $\alpha$ -螺旋、延伸链、无规则卷曲组成,并确定花绒寄甲 *bHLH* 转录因子基序长度为 52~55 aa。花绒寄甲 *ERR* 和 *bHLH* 基因在转录组中得到确定,它们在进化关系中与鞘翅目模式昆虫赤拟谷盗更为接近,花绒寄甲的 *bHLH* 转录因子基序长度与家蚕和果蝇一致。

**关键词:**花绒寄甲;*ERR*;*bHLH*;系统发育;二级结构

**中图分类号:**S763.3      **文献标志码:**A      **文章编号:**1001-7461(2016)06-0190-07

## Identification and Sequence Analysis of *ERR* and *bHLH* Gene in *Dastarcus helophoroide* Transcriptome

ZHANG Zheng-qing, LI Meng-lou\*

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** In order to research on *ERR* and *bHLH* gene in *Dastarcus helophoroides*, we used Blast X for sequence blasting, ORFfinder for searching the open reading frame, MEGA method for constructing Neighbour-joining phylogenetic tree, EXPASY for analyzing sequence composition, ProtScale and HNN analysis for analyzing physicochemical properties and forecasting the amino acid secondary structure, and other bioinformatics method. One complete *ERR* open reading frame and five complete *bHLH* open reading frames were obtained in total. The secondary structure of *ERR* and *bHLH* amino acid sequence consisted of alpha-helix, extended strand and random coil. The length of *D. helophoroides bHLH* transcription factor sequence motif was 52—55 aa. The *ERR* and *bHLH* genes were determined in *D. helophoroide* transcriptome, and they were more similar to coleopteran model insect *Tribolium castaneum* in evolutionary relationship analysis. Moreover, the length of *bHLH* transcription factor sequence motif in *D. helophoroides* was consisted with that in *Bombyx mori* and *Drosophila melanogaster*.

**Key words:** *Dastarcus helophoroide*; *ERR*; *bHLH*; phylogeny relationship; secondary structure

花绒寄甲 (*Dastarcus helophoroides*) 因其能够寄生于多种蛀干类害虫天牛的幼虫,被认为是一种有效的生物防治类天敌昆虫,其寄主包括光肩星天牛 (*Anoplophora glabripennis*)、松褐天牛 (*Monochamus alternatus*)、云斑天牛 (*Batocera*

*horsfieldi*)、栗山天牛 (*Mussicus raddei*)、锈色粒肩天牛 (*Apriona swainsoni*) 和黄胸木蜂 (*Xylocopa appendiculata*) 等<sup>[1-5]</sup>。近年来,已相继研究了花绒寄甲的生态学、分子生物学等方面研究<sup>[6-9]</sup>。但对于生长发育调控过程中其重要作用的因子,如雌激素

收稿日期:2016-02-28 修回日期:2016-06-22

基金项目:国家自然科学基金(31170608)。

作者简介:张正青,女,在读博士,研究方向:森林保护及有害生物防治。E-mail:zhangzhengqing0802@hotmail.com

\* 通信作者:李孟楼,男,教授,博士生导师,研究方向:森林害虫防治及杀虫剂毒理。E-mail:limenglou@hotmail.com

相关受体 (estrogen-related receptor, ERR) 和碱性螺旋-环-螺旋 (basic hleix-loop-helix, bHLH) 转录因子的研究尚未见报道。ERR 分子结构由位于 N 端的 A/B 区域、DNA 结合域、铰链区 D 和配体结合域 (ligand binding domain, LBD) 组成<sup>[10]</sup>。bHLH 转录因子是存在于真核生物中的一类大家族蛋白质,在调控神经元发生、肌细胞生成、血细胞生成、性别决定和肠组织发育等过程中发挥重要作用。bHLH 转录因子因含有由 60 个氨基酸组成的 bHLH 基序而得名,基本结构由一个能与 DNA 结合的碱性区域 (basic region) 和  $\alpha$  螺旋 1-环- $\alpha$  螺旋 2 (hleix1-loop-helix2) 组成,其中环的长度在不同 bHLH 蛋白中会有差异<sup>[11]</sup>。

近年来关于 *ERR* 和 *bHLH* 的研究集中在哺乳动物、昆虫<sup>[12-13]</sup>,研究其在疾病控制和生命调控中的作用。本研究利用生物信息学方法,从花绒寄甲转录组库中筛选 *ERR* 和 *bHLH* 基因,分析基因序列及相应氨基酸序列的基本性质、结构特征、功能及系统演化关系等,为今后深入研究提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

在已有的花绒寄甲转录组库 (GBCX01000001-GBCX01042172) 中的 NR 数据库、KEGG 数据库、COG 数据库、GO 数据库和 Swissprot 数据库,根据关键词 *ERR* 和 *bHLH* 筛选相应基因。

### 1.2 方法

1.2.1 序列比对 将筛选得到的 *ERR* 序列和 *bHLH* 序列,通过 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 的核酸及蛋白质数据库 (Blast X 和 Blast P) 与其他昆虫已注册的相应序列进行比对,确定其相似性和一致性。

1.2.2 序列分析 依据 Clustal W、MEGA5.02 以及 DNASTar 软件对序列进行比对,分析氨基酸序列同源性及确定其功能区域<sup>[12]</sup>。利用在线软件 ExPASy (<http://www.expasy.ch/tools/>) 提供的一级结构预测工具 ProtParam 分析核酸及氨基酸序列的组成,并预测各氨基酸序列的基本性质<sup>[14]</sup>。用 ORF Finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) 在线工具分析各序列的开放阅读框 (open reading frame, ORF)。

1.2.3 系统发育分析 对花绒寄甲 *ERR* 和 *bHLH* 基因的氨基酸序列进行系统发育分析,从 NCBI 蛋白数据库下载其他物种的相关氨基酸序列。用 Clastal W 软件比对后用 Mega 5.02 进行系统进化分析,采用 Neighbor-joining (NJ) 算法构建

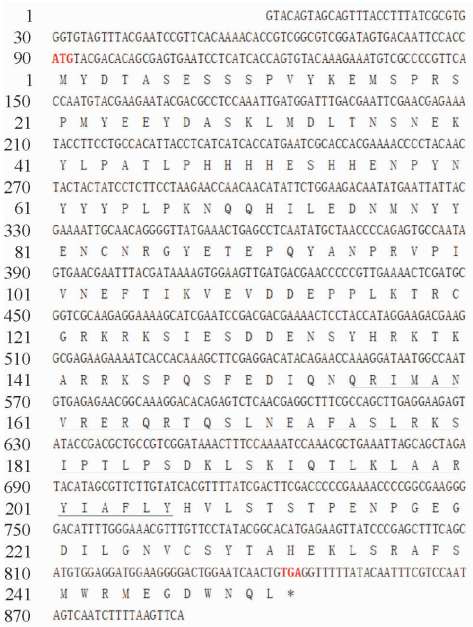
进化树,置信度设置为 1 000<sup>[15]</sup>。

1.2.4 亲水性/疏水性分析和蛋白质二级结构预测 利用在线工具 ProtScale ([www.expasy.ch/tools/pscale](http://www.expasy.ch/tools/pscale)) 预测 *ERR* 和 *bHLH* 基因氨基酸的亲水性和疏水性情况,并在线软件 ExPASy 提供的 HNN 工具完成氨基酸序列的二级结构预测。

## 2 结果与分析

### 2.1 花绒寄甲 *ERR* 和 *bHLH* 基因核苷酸序列分析

据关键词 *ERR* 和 *bHLH*, 从花绒寄甲转录组中共筛选到 5 条 *ERR* 序列和 9 条 *bHLH* 序列。通过在 NCBI 中的 Blast X 在线工具比对发现,有 8 条序列为正确注释序列。其中, *ERR* 序列中仅 1 条与数据库中其他物种的 *EER* 序列同源,且拥有完整的开放阅读框。*bHLH* 序列比对得到 5 条完整开放阅读框和 2 条非完整序列 (Unigene 18753 和 Unigene 32589)。5 条具有完整开放阅读框的序列分别注释为: *Twist*, *Hey*, *AP-4*, *ARNT* 和 *protein dimmed*; 2 条非完整序列分别注释为转录因子 15 和转录因子 21。6 条完整序列的核苷酸和氨基酸 \* 表 1) 比对注释后上传至 NCBI 的 GenBank 数据库中 (登录号: KU301327-KU301332)。由于各基因序列的长度差异较大,分别对其核苷酸和氨基酸序列进行了注释,以 *Twist* 基因为例,其编码序列长度为 756 bp (起始密码子 ATG, 终止密码子 TGA), 5' 端非编码区 89 bp, 3' 端非编码区 43 bp (图 1)。其余 5



注:起始密码子和终止密码子分别用红色粗体表示, *bHLH* 基序用黑色下划线表示。

图 1 花绒寄甲 *Twist* 基因核苷酸及氨基酸序列

Fig. 1 The nucleic acid and amino acid sequences of *Twist* gene in *D. helophoroides*

条序列中,ERR 基因编码序列长度为 1 317 bp(起始密码子 ATG,终止密码子 TAG),5'端非编码区 6 bp,3'端非编码区 193 bp;Hey 基因编码序列长度为 1 322 bp(起始密码子 ATG,终止密码子 TAA),5'端非编码区 179 bp,3'端非编码区 133 bp;AP-4 基因编码序列长度为 1 161 bp(起始密码子 ATG,终止密码子 TGA),5'端非编码区 27 bp,3'端非编码区 153 bp;ARNT 基因编码序列长度为 1 860 bp(起始密码子 ATG,终止密码子 TGA),5'端非编码区 146 bp,3'端非编码区 6 bp;*protein dimmed* 基因编码序列长度为 573 bp(起始密码子 ATG,终止密码子 TAG),5'端非编码区 215 bp,3'端非编码区 325 bp。

2.2 花绒寄甲 ERR 和 bHLH 蛋白氨基酸序列分析

通过 ORF Finder 和 ProtParam 软件对花绒寄甲 ERR 和 bHLH 各序列的氨基酸残基、分子量、理

论等电点、分子式、酸性/碱性氨基酸比例、脂溶性指数和疏水性值等基本性质进行了预测分析(表 1)。各蛋白序列中含量最丰富氨基酸也有较大差异,其中 ERR 含量最丰富的为非极性疏水氨基酸亮氨酸(Leu,10.5%);Twist 和 ARNT 含量最丰富的为极性亲水氨基酸丝氨酸(Ser,9.6%和 9.2%);Hey 含量最丰富的为极性中性氨基酸天冬氨酸(Asn,10.2%);AP-4 和 *protein dimmed* 含量最丰富的为酸性亲水性氨基酸谷氨酸(Glu,11.4%和 14.2%)。花绒寄甲 *ERR* 和 *bHLH* 基因编码的蛋白序列中,6 条序列的理论稳定系数均>40,说明各蛋白序列均处于不稳定状态,且以 AP-4 的状态最不稳定而 Twist 相对较稳定。就亲水性大小而言,各蛋白序列的预测总平均疏水性指数均为负值,表明其均为亲水性蛋白,且亲水性大小为:*protein dimmed*>Twist>Hey>AP-4>ARNT>ERR。

表 1 花绒寄甲 ERR 和 bHLH 基因核苷酸及氨基酸序列组成成分

基因序列	ERR	Twist	Hey	AP-4	ARNT	protein dimmed
转录组编号	Unigene 25301	Unigene 19207	Unigene 21433	Unigene 16974	CL2240	CL2598
登录号	KU301327	KU301328	KU301329	KU301330	KU301331	KU301332
一致性	82%	66%	67%	71%	76%	85%
序列长度	1 517	888	1 644	1 341	2 012	1 113
开放阅读框	1 317	756	1 322	1 161	1 860	573
起始位点及密码子	7; ATG	90; ATG	180; ATG	28; ATG	147; ATG	216; ATG
终止位点及密码子	1 320; TAG	843; TGA	1 509; TAA	1 186; TGA	2 003; TGA	786; TAG
氨基酸残基	438 aa	251 aa	443 aa	386 aa	619 aa	190 aa
分子量	49.403	29.403	51.35	43.24	68.25	22.06
理论等电点	5.92	6.56	6.91	5.43	6.12	5.21
分子式	C <sub>2141</sub> H <sub>3449</sub> N <sub>609</sub> O <sub>660</sub> S <sub>35</sub>	C <sub>1285</sub> H <sub>1982</sub> N <sub>368</sub> O <sub>404</sub> S <sub>11</sub>	C <sub>2219</sub> H <sub>3471</sub> N <sub>661</sub> O <sub>702</sub> S <sub>22</sub>	C <sub>1855</sub> H <sub>3037</sub> N <sub>555</sub> O <sub>613</sub> S <sub>10</sub>	C <sub>2979</sub> H <sub>4589</sub> N <sub>857</sub> O <sub>932</sub> S <sub>29</sub>	C <sub>912</sub> H <sub>1493</sub> N <sub>291</sub> O <sub>323</sub> S <sub>11</sub>
含量最丰富氨基酸	Leu (10.5%)	Ser (9.6%)	Asn (10.2%)	Glu (11.4%)	Ser (9.2%)	Glu (14.2%)
酸性/碱性氨基酸比例	13.2/13.7	13.9/17.1	12.6/17.4	13.7/13.0	11.1/13.1	20.0/17.9
带电氨基酸比例	26.9	31	30	26.7	24.2	37.9
脂溶性指数	85.02	87.93	64.24	81.32	61.50	60.58
蛋白质不稳定性指数	65.31	51.19	59.27	71.52	56.62	60.26
	属不稳定蛋白	属不稳定蛋白	属不稳定蛋白	属不稳定蛋白	属不稳定蛋白	属不稳定蛋白
疏水性值	-0.288	-1.067	-0.967	-0.734	-0.625	-1.141
	属亲水性蛋白	属亲水性蛋白	属亲水性蛋白	属亲水性蛋白	属亲水性蛋白	属亲水性蛋白

2.3 系统发育分析

通过与 GenBank 中其他物种已注释氨基酸序列比对,花绒寄甲的 *ERR* 和 *bHLH* 序列与鞘翅目昆虫赤拟谷盗(*Tribolium castaneum*)相应序列的同源性较高,一致性达 65%以上。运用 Meg5 软件基于 Neighbor-Joining 法构建基于昆虫 *ERR* 基因和 *bHLH* 基因氨基酸序列的系统发育关系树(图 2)。距离校正使用泊松模型,自举分析通过 1 000 次循环。进化分析结果与 Blast 比对结果基本一致。根据基因的不同,将进化树图划分为 6 个不同的部分。花绒寄甲各序列分别与其他物种相应序列

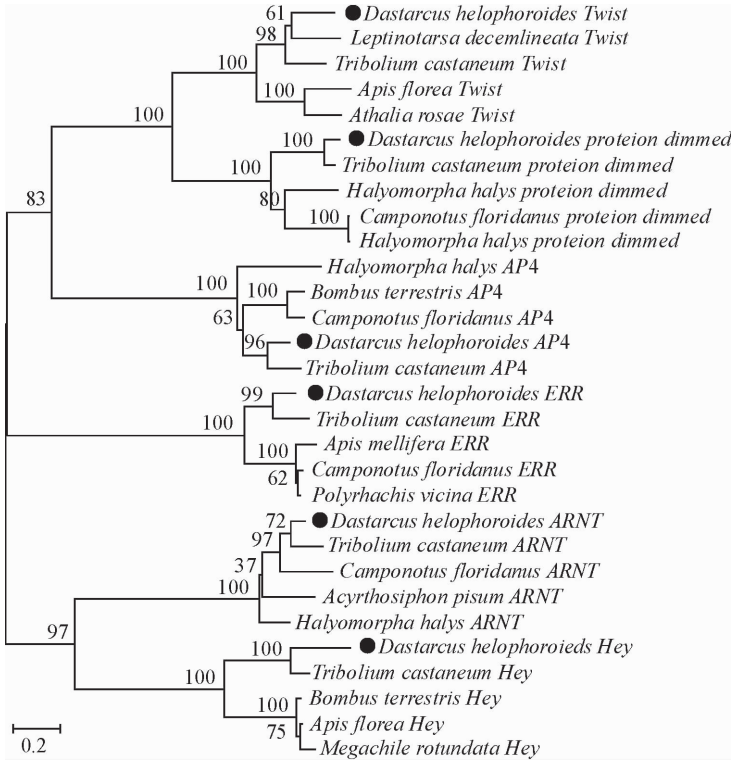
聚集在一个分支里,节点值均为 100%,表明这些基因的功能可能具有一定的相似性。在不同基因分类群中,花绒寄甲序列先和鞘翅目昆虫聚集后再与其他昆虫的相应序列形成一簇。如 *ERR* 基因的分支中,鞘翅目昆虫(花绒寄甲和赤拟谷盗的 Bootstrap 值为 99%)与膜翅目蚊科昆虫分别处于不同的进化枝。花绒寄甲的 *ERR*,*Hey*,*AP-4*,*ARNT* 和 *protein dimmed* 基因均分别与赤拟谷盗的相应基因形成姐妹群。而 *Twist* 基因中,花绒寄甲 *Twist* 先和鞘翅目昆虫马铃薯叶甲(*Leptinotarsa decemlineata*)的 *Twist* 聚为一支,再和赤拟谷盗形成姐妹

群。此外,花绒寄甲 *protein dimmed*、*Hey*、*AP-4* 和 *ARNT* 基因在各自的进化分支中,也都形成了符合传统分类学的进化关系,与赤拟谷盗之间的 Bootstrap 值分别为 100%、100%、96% 和 72%。

2.4 二级结构预测分析

采用 HNN 法对花绒寄甲 *ERR* 和 *bHLH* 氨基酸序列的二维结构进行预测。预测结果(图 3)表明,*ERR* 蛋白质序列的二级结构由 48.40%的  $\alpha$  螺

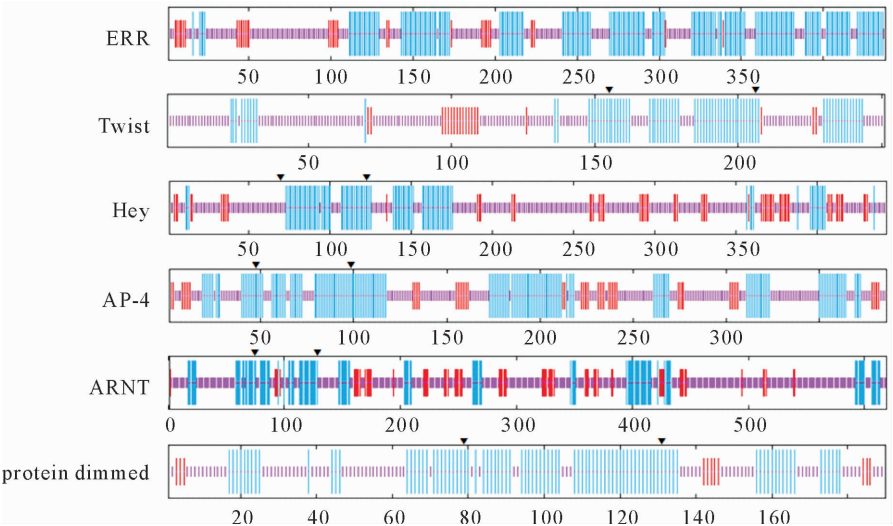
旋、43.61%的无规则卷曲和 7.99%的延伸序列构成,其中  $\alpha$  螺旋和无规则卷曲是其氨基酸结构元件的主要构成部分。对花绒寄甲 *bHLH* 的氨基酸序列的二维结构进行分析,*Twist*、*Hey*、*AP-4*、*ARNT*、*protein dimmed* 分别由 29.88%、21.90%、40.93%、21.49%、49.47% 的  $\alpha$  螺旋,62.55%、63.66%、46.37%、65.75%、44.74% 的无规则卷曲和 7.57%、14.45%、12.69%、12.76%、5.79% 的延伸序



注:1. 黑色圆点表示花绒寄甲基因,2. 分支处的 Bootstrap 值位于分支上方。

图 2 花绒寄甲 *ERR* 和 *bHLH* 基因系统发育树(N-J)

Fig. 2 The Phylogenetic analysis of *D. helophoroides* *ERR* and *bHLH* genes



注:蓝色表示  $\alpha$ -螺旋,紫色表示无规则卷曲,红色表示序列延伸,黑色箭头表示 *bHLH* 基序位置

图 3 花绒寄甲 *ERR* 和 *bHLH* 氨基酸序列二级结构预测

Fig. 3 The secondary structure of the *D. helophoroides* *ERR* and *bHLH* proteins

列构成。比对家蚕和果蝇的 bHLH 基序,确定花绒寄甲转录因子各基因的 bHLH 基序,如 Twist 的 bHLH 基序: QRIMANVRERQRTQSLNEAFASLRKSIPTLP SDKLSKIQT LKLAARYIA FLY (52 aa); Hey 的 bHLH 基序: PMSHRIIEKRRRDRMNNCLADLSRLIPT EYLKKGRGRI EKTEIHEMAIKH MKYLQ(55 aa); AP-4 的 bHLH 基序: RRE- IANSNERRRMQSINNGFQSLRSLLP HHEGEKLSKAAILQQTA EYIYSLE (52 aa); ARNT 的 bHLH 基序: SRENHCEIERRRRNKMTAYITELSDMVPTCSALARKPDKLTILRMAVAHM-KALR(54 aa); protein dimmed 的 bHLH 基序: RRLESNERERM RMHSLNDA FEQLREVIPHIKMERKLSKIETLT LAKNYIMAL T(53 aa)。

### 3 结论与讨论

近年,对花绒寄甲的研究从最初的生态学和生物防治研究,逐步扩展到分子生物学领域<sup>[16]</sup>。雌激素相关受体是属于核受体超家族的一种孤儿核受体,参与调控动物能量代谢细胞增殖分化和性腺发育等多种生理过程。在生物学功能上,ERRs 以非配体依赖性方式被共激活分子激活后,在线粒体功能能量代谢、细胞增殖分化及神经系统疾病的发生发展中发挥重要的作用<sup>[17-18]</sup>。转录因子 bHLH 家族普遍存在于真核生物中,其结构域由大约 60 个氨基酸残基组成,富含碱性氨基酸残基。作为一类重要的转录因子,bHLH 参与调节多种生物学过程并调控目的基因的转录<sup>[19-20]</sup>。本研究采用生物信息学分析方法,从花绒寄甲转录组数据库中检索出雌激素相关受体 ERR 和 bHLH 转录因子相关序列。运用各种生物信息学分析手段分别研究了 ERR 和 bHLH 各基因与其他物种相应序列的一致性和同源性,确定了各基因的核苷酸及氨基酸序列,预测分析了各基因氨基酸序列的基本性质、二级结构及 5 条 bHLH 氨基酸序列的基序。

本研究共得到 6 条全长序列,包括 1 条 ERR 基因序列和 5 条 bHLH 基因序列。通过和其他物种各基因的比较发现,花绒寄甲 ERR 基因序列长度小于黑腹果蝇、致倦库蚊、埃及伊蚊以及意大利蜂的 ERR 基因,但是大于赤拟谷盗的 ERR 基因<sup>[12]</sup>。由于 ERR 基因的 DNA 结合区(DBD)和配体结合区(LBD)非常保守,因此,序列间大小的差异主要是由于铰链区的长度的变化<sup>[21]</sup>。对 ERR 氨基酸序列的二级结构的预测分析,其主要是由由  $\alpha$ -螺旋、延伸链、无规则卷曲所组成。其氨基酸 N 端区域(N terminal domain,NTD)包含非配体依赖的转录激

活功能区(activation function1,AF-1),参与翻译后修饰中 ERRs 转录活性的调控<sup>[22]</sup>。ERRs 的转录活性是通过与共激活分子或共抑制分子相互作用来调节,其中最为主要的共激活分子是过氧化物酶体增生物激活受体共激活因子 1(PGC-1)家族<sup>[23]</sup>。在生理性刺激下,PGC-1 $\alpha$  诱导表达后增强 ERR $\alpha$  的转录活性,从而在线粒体功能和能量代谢中产生重要作用<sup>[24]</sup>。拟黑多刺蚁(*Polyrhachis vicina*) ERR-mRNA 在脑神经和视觉神经系统中表达水平较高,推测此基因与昆虫的嗅觉辨别、视觉学习、记忆功能和行为等关系密切<sup>[25]</sup>。ERR 基因在三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)蜕皮阶段其在主要分泌蜕皮激素的 Y 器官中显著表达<sup>[18]</sup>。推测雌激素相关受体 ERR 在昆虫的生理过程中发挥重要作用,可以作为研究花绒寄甲寄主选择和发育阶段变化的重要基因。

bHLH 转录因子序列根据其结构和功能的不同,分为 6 个高阶组(Higher-order group)共 45 个家族,本研究得到的 5 条序列分别属于 4 个不同的高阶组,包括 A 组的 Twist 家族和 protein dimmed 家族、B 组的 AP-4 家族、C 组的 ARNT 家族以及 E 组的 Hey 家族<sup>[26]</sup>。昆虫的 bHLH 转录因子的研究主要集中在模式昆虫果蝇中。其中, Twist (转折)家族 bHLH 蛋白最初在果蝇中发现,由 *twi* (Twist)基因编码,在果蝇中胚层谱系的形成中调控一系列不同的细胞过程,与 da 蛋白形成二聚体,阻遏体细胞肌肉生成所需基因的表达<sup>[27]</sup>。protein dimmed 家族在果蝇中也称为 Mist 家族,由 *Mistr* (Mist1-related)基因编码,赋予果蝇神经内分泌细胞产生、维持并释放大分泌蛋白的表型特征<sup>[28]</sup>。果蝇拥有 1 个 AP4 家族成员和 2 个 Hey 家族成员,分别由 *crp* (Cropped)基因和 *Hey/Stich1* (Sticky ch 1)编码,两者的功能尚未介绍<sup>[29]</sup>。果蝇的 ARNT 家族成员,由 *tgo* (Tango)基因编码,其蛋白与 *Sim* 和 *Trh* 基因形成二聚体,结合到相应的增强子 DNA 上并激活基因的转录<sup>[30]</sup>。bHLH 高阶组的各氨基酸序列 Mist、protein dimmed、AP4、Hey 和 ARNT 的二级结构包含了碱性区域和  $\alpha$  螺旋 1-环- $\alpha$  螺旋 2,其中各序列的 bHLH 基序分别由 52—55 个氨基酸构成<sup>[11]</sup>。根据 Atchley 于 1997 年提出的,判别某序列是否属于 bHLH 基序的标准初步定为“在 19 个保守位点中有 11 个以上位点的氨基酸与预测基序相符”<sup>[31]</sup>。将花绒寄甲 bHLH 序列与家蚕和果蝇的各序列比对,发现其氨基酸数基本相同并包含了 12 个以上的保守位点。高度保守位点包括碱性区域第 9 位的 E、12 位的 R,螺旋 1 中 23

位的 L 以及螺旋 2 中第 41 位的 K、55 位的 L。其中位于“碱性区域”和“螺旋 1”区域的位置与其他物种相比固定不变,位于“螺旋 2”区域的位置会随“环”长度的变化而不同,但螺旋 2 中氨基酸的相对位置保持不变<sup>[32]</sup>。

为进一步了解各基因与其他物种各基因类群之间的关系,构建了同源性分析进化树。比对和同源性结果显示,除 *Twist* 与马铃薯叶甲的同源性较高外,其他基因均与模式昆虫鞘翅目赤拟谷盗的相应序列相似。花绒寄甲先与鞘翅目昆虫聚为一支,然后再与膜翅目蚁科昆虫形成姐妹群,与传统的分类学结果一致,与不同昆虫间的亲缘关系相符<sup>[9]</sup>。除本研究所列出的 6 种基因外,花绒寄甲的其他基因包括促进蜕皮激素和保幼激素等内源物的合成与代谢的 *P450* 基因、细控制胞凋亡机制的 *Caspase* 基因以及清除活性氧 *ROS* 的 *SOD* 基因均与赤拟谷盗中的同源基因关系更近<sup>[33-34]</sup>。本研究为将来深入研究基因在花绒寄甲生殖生理活动中的重要作用奠定基础。由于雌激素相关受体 *ERRs* 和转录因子 *bHLH* 在生物体内广泛地参与下游基因激活剂共转录,参与了线粒体功能能量代谢、氧化应激和细胞增殖分化等重要的生理过程。而花绒寄甲作为一种长寿命昆虫,在生长发育和衰老的过程中体内的调控机制研究尚属空白,因此,针对于不同组织和发育阶段的 *ERR* 基因和 *bHLH* 高阶组基因表达有待进一步研究。

参考文献:

[1] 周嘉熹,鲁新政,禄玉中.引进花绒坚甲防治黄斑星天牛试验报告[J].昆虫知识,1985,22(2):84-86.

[2] URANO T. Preliminary release experiments in laboratory and outdoor cages of *Dastarcus helophoroides* (Fairmaire) (Coleoptera:Bothrideridae) for biological control of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera:Cerambycidae) [J]. Bulletin of the Forestry and forest Products Research Institute,2003( 2):255-261.

[3] MIURA K, ABE T, NAKASHIMA Y, *et al.* Field release of parasitoid *Dastarcus helophoroides* (fairmaire) (Coleoptera: Bothrideridae) on pine logs infested with *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera:Cerambycidae) and their dispersal [J]. Journal of the Japanese Forestry Society,2003,85:12-17.

[4] 杨忠岐.利用天敌昆虫控制我国重大林木害虫研究进展[J].中国生物防治,2004,20(4):221-227.

[5] 李孟楼,王培新,马峰,等.花绒坚甲对光肩星天牛的寄生效果研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,35(6):152-156.

LI M L, WANG P X, MA F, *et al.* Study on the parasitic efficiency of *Dastarcus helophoroides* on *Anoplophora glabripennis* [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Sci-

ence Edition,2007,35(6):152-156. (in Chinese)

[6] 雷琼,李孟楼,杨忠岐.花绒坚甲的生物学特性研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2003,31(2):62-66.

LEI Q, LI M L, YANG Z Q. Research on *Dastarcus helophoroides* biological characteristics [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition,2003,31(2):62-66. (in Chinese)

[7] 尚梅,苏宝锋,李孟楼.花绒寄甲幼虫人工饲料的研究[J].西北林学院学报,2009,24(1):136-139.

SHANG M, SU B F, LI M L. Fodder development for *Dastarcus helophoroides* Larvae (Coleoptera:Colydllidae) [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2009, 24(1): 136-139. (in Chinese)

[8] WANG H D, LI F F, HE C, *et al.* Molecular cloning and sequence analysis of novel cytochrome P450 cDNA fragments from *Dastarcus helophoroides* [J]. J. Insect Sci. ,2014(14):28.

[9] ZHANG Z Q, WANG X J, LI R Z, *et al.* The mitochondrial genome of *Dastarcus helophoroides* (Coleoptera:Bothrideridae) and related phylogenetic analyses [J]. Gene,2015,560(1):15-24.

[10] GIGUÈRE V, YANG N, SEGUI P, *et al.* Identification of a new class of steroid hormone receptors [J]. Nature,1988,331(6151):91-94.

[11] 王勇,陈克平,姚勤.bHLH 转录因子家族研究进展[J].遗传,2008,30(7):821-830.

[12] 欧阳霞辉,兰玉婷,赵有红,等.几种昆虫雌激素相关受体基因(ER)的生物信息学分析[J].西北民族大学学报:自然科学版,2011,32(2):73-80,90.

OUYANG X H, LAN Y T, ZHAO Y H, *et al.* The biological characteristics of several insect estrogen-related receptor (ERR) genes [J]. Journal of Northwest University for Nationalities: Natural Science,2011,32(2):73-80. (in Chinese)

[13] 王勇,姚勤,陈克平.动物 bHLH 转录因子家族成员及其功能[J].遗传,2010,32(4):307-330.

[14] GASTEIGER E, HOOGLAND C, GATTIKER A, *et al.* Protein identification and analysis tools on the ExPASy Server [M]. New York: The Proteomics Protocols Handbook Humana Press,2005:571-607

[15] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, *et al.* MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution,2011,28(10):2731-2739.

[16] 李孟楼,李有忠,薛思林,等.花绒坚甲的分布型及其在天牛虫道内的生态位研究[J].西北林学院学报,2007,22(2):97-100.

LI M L, LI Y Z, XUE S L, *et al.* Study on the distribution characteristics of *Dastarcus helophoroides* and its ecological niche in living larvae tunnels of longhorne beetle [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22(2): 97-100. (in Chinese)

[17] 黄婉玲,叶钦勇.雌激素相关受体在神经系统疾病中的作用[J].国际神经病学神经外科学杂志,2013,40(4):363-367.

[18] 陆洋,吴旭干,潘桂平,等.三疣梭子蟹雌激素相关受体基因在蜕皮过程中的表达分析[J].上海海洋大学学报,2016,25



(3):321-327. .

LU Y ,WU X G,PAN G P,*et al.* Expression analysis of PtERR during the molting cycle in *Portunus trituberculatus* [J]. Journal of Shanghai Ocean University,2016,25 (3):321-327. (in Chinese)

[19] 赵朋,王叶菁,位曙光,等. 家蚕 bHLH 转录因子 Bmdimm 与 Bmchip 的相互作用[J]. 中国农业科学,2016,49 (10):2027-2038.

ZHAO P,WANG Y J,WEI S G,*et al.* Interaction of bHLH transcription factor bmdimm and bmchip in *Bombyx mori*[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49 (10): 2027-2038. (in Chinese)

[20] 何洁,顾秀容,魏春华,等. 西瓜 *bHLH* 转录因子家族基因的鉴定及其在非生物胁迫下的表达分析[J]. 园艺学报,2016,43 (2):281-294.

HE J,GU X R,WEI C H,*et al.* Identification and expression analysis under abiotic stresses of the *bHLH* transcription factor gene family in watermelon [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016,43 (2):281-294. (in Chinese)

[21] 黄静茹,李文杏,黄辉洋,等. 中国鲎(*Tachypleus tridentatus*) 雌激素相关受体基因的克隆与分析[J]. 海洋与湖沼,2011,42 (6):779-786.

[22] TREMBLAY A M,WILSON B J,YANG X J,*et al.* Phosphorylation-dependent sumoylation regulates estrogen-related receptor-alpha and-gamma transcriptional activity through a synergy control motif[J]. Mol. Endocrinol. ,2008,22(5):70-84.

[23] DELPHINE M P,SOAZIG L P,CAROLINE J,*et al.* Estrogen-related receptor $\alpha$  and PGC-1-related coactivator constitute a novel complex mediating the biogenesis of functional mitochondria [J]. The FEBS Journal,2010,277 (3):713-725.

[24] GENEVIÈVE D,VINCENT G. Oestrogen-related receptors in breast cancer: control of cellular metabolism and beyond [J]. Nature Rev Cancer,2013,13 (1):27-36.

[25] 欧阳霞辉,李春鸣,魏锁成,等. 不同品级拟黑多刺蚁(*Polyrhachis vicina*) 脑部雌激素相关受体基因的表达 [J]. 陕西师范大学学报:自然科学版,2012,40 (3):62-66.

OUYANG X H,LI C M,WEI S C,*et al.* Expression of estrogen related gene in the brain of different caste of *Polyrhachis vicina*[J]. Journal of Shaanxi Normal University:Natural Science Edition,2012,40 (3):62-66. (in Chinese)

[26] 王勇,党春望,郭敏,等. 家蚕 *bHLH* 基因的染色体定位与系统发生分析[J]. 蚕业科学,2010,36 (6):0910-0920.

WANG Y,DANG C W,GUO M,*et al.* Chromosomal location and phylogenetic analysis of *bHLH* genes in the silkworm, *Bom byxmori*[J]. Science of Sericulture, 2010, 36 (6): 910-920.

[27] CASTANON I,VON STETINA S,KASS J,*et al.* Dimerization partners determine the activity of the *Twist bHLH* protein during *Drosophilamesoderm development* [J]. Development,2001,128(16):3145-3159.

[28] HEWES R S,PARK D,GAUTHIER S A,*et al.* The bHLH protein dimmed controls neuroendocrine cell differentiation in *Drosophila*[J]. Development,2003,130 (9):1771-1781.

[29] LEDENT V,PAQUET O,VERVOORT M. Phylogenetic analysis of the human basic helix-loop-helix proteins [J]. Genome Biol. ,2002,3 (6):RESEARCH0030.

[30] SONNENFELD M,WARD M,NYSTROM G,*et al.* The *Drosophila* tangogene encodes a bHLH-PAS protein that is orthologous to mammalian ARNT and controls CNS midline and tracheal development[J]. Development, 1997, 124 (22): 4571-4582.

[31] ATCHLEY W R,FITCH W M. A natural classification of the basic helix-loop-helix class of transcription factors [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. U. ,1997,94 (10):5172-5176.

[32] MOORE A W,BARBEL S,JAN L Y,*et al.* A genome wide survey of basic helix-loop-helix factors in *Drosophila*. Proc Nail Acad. Sci. USA,2000,97 (19):10436-10441.

[33] 王海东. 花绒寄甲 P450 基因的分子克隆与表达[D]. 杨陵:西北农林科技大学,2013.

[34] 宋旺. 花绒寄甲 *Caspase-1* 基因的表达研究[D]. 杨陵:西北农林科技大学,2014.