

花绒寄甲细胞色素 P450 基因的分析

王海东, 李孟楼*

(西北农林科技大学 林学院)

细胞色素 P450 (cytochrome P450) 单加氧酶系是一类广泛分布于生物体内的重要的氧化酶系, 该酶系参与生物体的激素、脂肪酸和类激素甾醇等内源化合物的合成, 也对生物体的解毒发挥着重要作用。花绒寄甲 *Dastarcus helophoroides* (Fairmaire) 是蛀干害虫光肩星天牛、松褐天牛、云斑天牛、栗山天牛等最为有效的天敌, 成虫寿命达 8 年以上 (实验室内), 但有关其 P450 基因的特性研究还未见报道。

本研究以花绒寄甲成虫腹部总 RNA 为模板, 根据已报道的昆虫 CYP6 家族基因氨基酸保守序列设计 4 对简并引物 (E, F, G, H), 并以 Kaisa (2000) 设计的简并引物作 (A) 为对照, 进行 PCR 扩增。扩增产物片段分别为 240bp, 260bp 和 420bp。经过割胶回收和克隆测序共得 100 条 P450 基因序列 (每对引物产物测 20 个)。Blastx 比对表明, 其中 4 条与 CYP9 家族具有高同源性, 96 条与 CYP6 家族有高同源性, 所得 P450 基因片段诱导的氨基酸序列均含有 P450 基因共有的标志、即血红素结合位点 (FxxGxxxCxG)。基因片段诱导的氨基酸序列同源分析表明, CYP6 的 41 条序列与 CYP6 BK17 (*Tribolium castaneum*) 具有较高的同源性, 29 条序列与 CYP6BQ13 (*Tribolium castaneum*) 有较高的同源性, 16 条序列与 CYP6BK5 (*Tribolium castaneum*) 有较高的同源性, 5 条序列与 CYP6BR3 (*Tribolium castaneum*) 有较高同源性, 5 条序列与 P450 (*Pediculus humanus corporis*), 初步推断 96 个片段可能分属 CYP6BQ, CYP6BK, CYP6BR 三个亚族, 且这三个亚族的基因几乎全部与花绒寄甲同属鞘翅目的赤拟谷盗的 CYP6 相似。

另外, 通过对大小不同的产物片段诱导的氨基酸序列进行一致性分析发现, 大小不同的产物片段的氨基酸序列之间也具有很高的一致性。如 A1 (240bp) 和 H1 (260bp) 与 E7 (420bp) 氨基酸序列对应区域的一致性达到了 95%, G5 (420bp) 和 H3 (260bp) 与 E20 (420bp) 对应区域的一致性达到了 98%, 由此推断片段 A1, H1 和 E7 极有可能同属于一种 P450 基因, G5、H3 和 E20 也极有可能同属于一种 P450 基因。

尽管昆虫不同属、种之间 P450 基因家族的氨基酸序列同源性一般都小于 40%, 但在进化中高度保守的功能性区域包括血红素结合位点 FxxGxxxCxG、I 螺旋 (A/G) GxxT、C 螺旋 WxxxR、K 螺旋 ExxR 以及 PERF 区域等, 而血红素结合位点 (FxxGxxxCxG) 是所有 P450 基因所共有的特征。本实验克隆得到的 100 条序列虽然只有 P450 基因序列全长的 1/5~1/3,

但均含有 P450 基因的几个特征保守区域，者将为进一步研究花绒寄甲 P450 基因的全长及其相关作用提供基础。

作者简介：

王海东，男，汉族，中共党员。1987 年出生于山东省，淄博市，博山区。本科毕业于山东农业大学园艺学院，于 2010 年考取西北农林科技大学林学院硕士，导师李孟楼教授。研究方向为森林昆虫分子生物学，所做课题为“细胞色素 P450 与花绒寄甲衰老机制的关系”，受国家自然科学基金支持。没有学术论文发表，一篇 SCI 论文“Molecular cloning and sequence analysis of novel cytochrome P450 cDNA fragments from *Dastarcus helophoroides*”在审。