

粘虫海藻糖酶基因的理化性质及表达

登增卓嘎

(西藏自治区农牧科学院农业研究所,西藏 拉萨 850000)

**摘要:**序列分析表明,获得的 *MsTreh* 基因全长 1 410bp,编码 468 个氨基酸。生物学信息表明, *MsTreh* 是定位于质膜和内质网为主的蛋白。实时定量 RT-PCR 结果表明,在不同组织中 *MsTreh* 均有表达,且表达水平有差异,在脂肪和表皮中的表达最高。  
**关键词:**粘虫;海藻糖酶;蛋白  
**中图分类号:**Q962      **文献标志码:**A

Physicochemical Properties and Expression of Trehalase Gene in *Mythimna separate*

Dengzengzhuoga

(Institute of Agriculture, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850000, China)

**Abstract:** Sequence analysis showed that the *MsTreh* gene was 1 410 bp in length, encoding 468 amino acids. Biological information indicates that *MsTreh* is a protein mainly located on the plasma membrane and endoplasmic reticulum. Real-time quantitative RT-PCR results showed that *MsTreh* was expressed in different tissues with different expression levels, and the highest expression in fat and epidermis.  
**Key Words:** armyworm; trehalase; protein

粘虫 [*Mythimna separata* (Walker)] 属于鳞翅目 (Lepidoptera), 夜蛾科 (Noctuidae) 昆虫。在西藏主要分布在藏东南地区, 主要以幼虫为害取食麦类、玉米等禾谷类粮食作物, 为害严重时可作作物叶片全部食光, 造成严重损失<sup>[1]</sup>。因其群聚性、迁飞性、杂食性、暴食性, 粘虫成为全国性重要农业害虫。粘虫属迁飞性害虫, 春季和夏季从低纬度向高纬度地区, 或从低海拔向高海拔地区迁飞; 秋季回迁时, 从高纬度向低纬度地区, 或从高海拔向低海拔地区迁飞。

海藻糖是昆虫重要的血淋巴糖, 是昆虫生长发育所需能量的主要来源<sup>[2]</sup>, 同时海藻糖在不同生物抗逆境过程中也起着非常重要的作用, 如干旱、缺氧。昆虫在利用海藻糖时, 必须将海藻糖分解成葡萄糖才能被利用, 而海藻糖酶的作用是将海藻糖分解成葡萄糖<sup>[3]</sup>。

1 材料方法

1.1 供试材料

粘虫采自西藏自治区林芝市玉米田, 带回西藏自治区农牧科学院农业研究所室内养殖。

1.2 RNA 提取及 RT-PCR 检测

用 TRizol 法提取总 RNA, 利用琼脂糖凝胶电泳和超微量紫外分光光度计检测 RNA 质量及浓度<sup>[4]</sup>, -20℃保存, 待用。

PCR 反应条件: 95℃, 5 min; 95℃, 15 s; 58℃, 20 s; 40 个循环; 68℃, 10 min。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

引物	序列
MsTreh-F	ACAAATCGTTGATAGATATG
MsTreh-R	CTCTGATGCTGTCTGAGC
β-actin	ACGAACGATTCCGTTGCCCT
β-actin	TCTGCATACGGTCGGCGATG

收稿日期: 2022-06-12

作者简介: 登增卓嘎 (1984-), 女, 助理研究员, 主要从事农业信息管理工作, E-mail: 1613496967@qq.com。

### 1.3 海藻糖酶蛋白的生物学信息分析

利用 ExPASy ProtParam tool 在线软件 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 对基因蛋白理化性质进行了分析;利用在线软件 Wolfpsort (Wolfpsort.hgc.jp/) 进行了亚细胞定位;利用在线软件 SignalP 6.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP>) 预测了信号肽。

## 2 结果与分析

### 2.1 海藻糖蛋白的理化性质

通过 NCBI Blast 及 DNASTar 软件,分析得到的海藻糖酶基因的完整开放阅读框,共有 1 410 个碱基。利用 ProtParam 在线软件分析了海藻糖酶基因编码蛋白的理化性质,结果表明:海藻糖酶基因编码一个含 468 个氨基酸的蛋白,该蛋白分子式为  $C_{4283}H_{7158}N_{1410}O_{1816}S_{303}$ ,分子质量为 117 176.49,蛋白质等电点为 pI 5.01,蛋白不稳定系数为 44.04,脂肪系数为 24.82,平均亲水性系数 0.683。

### 2.2 海藻糖酶蛋白的结构对比

利用在线软件 SignalP 6.0 分析发现,海藻糖酶蛋白不含信号肽。利用 WOLF PSORT 在线工具分析了海藻糖酶蛋白的亚细胞定位,预测结果显示,质膜定位系数 87.5%,内质网定位系数 12.5%。利用在线软件 Phyre2 进行了 3D 结构建模,海藻糖酶蛋白的保守结构域三维结果模型如图 1 所示,结果显示,海藻糖酶 66% 的氨基酸残基与对照模板具有 100% 的相识度。



图1 海藻糖酶蛋白的保守结构域三维结果模型

### 2.3 海藻糖酶基因的表达量

利用实时定量 RT-PCR 技术检测了基因在粘虫不同组织中的表达(见图2)。结果表明,海藻糖酶基因在不同组织中都有表达,在脂肪和表皮中的表达最高,在唾液腺和神经节中的表达最低。

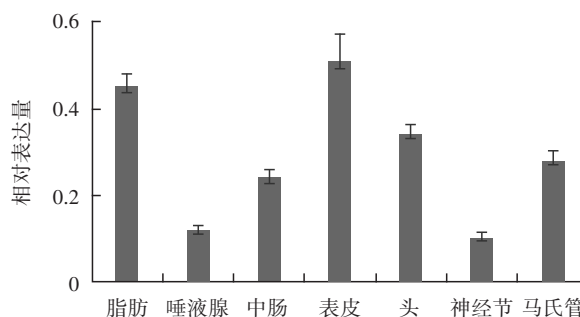


图2 海藻糖酶基因在粘虫不同组织中的表达

## 3 讨论

从转录组数据中拼接得到了一个海藻糖酶的编码序列,并对其进行了初步的生物学分析。粘虫海藻糖酶蛋白没有跨膜结构,不含信号肽。亚细胞定位预测将蛋白定位于质膜和内质网中,符合其为代谢酶的特征。

取幼虫不同组织进行粘虫海藻糖酶的表达分析实验,为进一步研究海藻糖酶的作用方式提供了一定的参考。定量结果表明:海藻糖酶在粘虫各组织中均有表达,说明海藻糖酶在粘虫中广泛分布;海藻糖酶在不同的组织中表达量存在显著特异性,尤其是在脂肪和表皮中,表达量极显著高于其他组织,这与海藻糖的合成主要是在脂肪中一致。粘虫海藻糖酶在海藻糖代谢中的关键作用为进一步研究粘虫生物防治奠定了一定的基础。

### 参考文献:

- [1] 饶文兵,徐久永,章先飞,等.粘虫谷氨酰胺转氨酶(MsTGase)活力测定条件的正交优化及其在幼虫体内的分布[J].昆虫学报,2019,62(1):41-48.
- [2] 刘倩,罗迪,ROMAN J,等.意大利蝗海藻糖酶基因克隆及卵低温驯化下的表达模式[J].昆虫学报,2022,65(2):157-166.
- [3] 朱本全,杜馨.昆虫海藻糖酶及其抑制剂研究进展[J].生物化工,2019,5(6):156-158.
- [4] 唐芬芬,杨伟克,谢昆,等.BmNPV对家蚕海藻糖酶活性及其基因表达的影响[J].河南农业科技,2021,50(9):157-162.