

小地老虎 UV 视蛋白基因的克隆及序列分析

闫 硕 张青文 熊晓菲 韩娜娜 王 琼 张 璟 刘小侠*

中国农业大学农学与生物技术学院昆虫学系 北京 100193

摘要:视蛋白是感光物质的重要组成成分,是动物感知周围光环境的重要途径之一。本文以小地老虎(*Agrotis ypsilon*) 3日龄成虫为材料,利用 RT-PCR 和 RACE 末端扩增技术克隆得到小地老虎 UV 视蛋白基因的 cDNA 序列。序列分析表明,小地老虎视蛋白基因的 cDNA 序列 1 632 bp,包括一个 1 140 bp 的完整开放阅读框架,编码 379 个氨基酸,理论蛋白分子量(Mw) 41.50 ku,等电点(pI) 7.56。GenBank 登录号为 JN185654。UV 视蛋白包括 7 个跨膜拓扑结构和一个 G 蛋白偶联受体家族,第 107 位赖氨酸与 UV 视蛋白的紫外敏感性有重要关系。同源性分析显示,小地老虎 UV 视蛋白基因与其他昆虫的 UV 视蛋白基因具有较高同源性。本研究对深入探究 UV 视蛋白在动物夜行生活中的作用具有重要意义。

关键词:小地老虎;UV 视蛋白;视觉;光感受器;3D 结构

中图分类号:Q953 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2012)01-01-08

Molecular Cloning and Sequence Analysis of UV Opsin in *Agrotis ypsilon*

YAN Shuo ZHANG Qing-Wen XIONG Xiao-Fei HAN Na-Na WANG Qiong

ZHANG Jing LIU Xiao-Xia*

Department of Entomology, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: Opsin is the main content of photoactive substances, and it is important for the light perception of animals. Total RNA was isolated from the third day adult of the *Agrotis ypsilon*. The cDNA sequence was cloned by RT-PCR and rapid amplification of cDNA ends (RACE). UV opsin cDNA sequence is 1 632 bp in length, containing an open reading frame of 1 140 bp, which encodes a polypeptide of 379 amino acids residues. The predicted molecular weight of the amino acid is about 41.50 ku, with an isoelectric point of 7.56. GenBank accession number: JN185654. The analysis of phylogenetic relationship showed that the cloned gene had high amino acid sequences homology with other insect UV opsins. The molecular cloning of UV opsin gene may play an important role in the study of nocturnal insect vision in the night.

Key words: *Agrotis ypsilon*; UV opsin; Vision; Photoreceptor; 3D structure

视觉是昆虫感知周围光环境的最重要的途径,昆虫的视觉形成主要依赖于一系列具有不同光谱敏感性的光感受细胞,光感受细胞对光谱的敏感性主要由视色素吸收的光谱决定。视色素由视蛋白和发色团结合而成,视蛋白是具有 7 个跨膜结构域的 G 蛋白偶联受体超家族中的一个庞大的家族^[1]。发色团的结构相对简单,由于发色团的形式只有少数几种,且大多数物种含有相同的发色团,所以视色素的光谱敏感峰值一般是由视蛋白序列决定的。昆虫的

多样性极其丰富,生活的光环境也多种多样,经过长期的光适应,昆虫的视色素进化成为长波和短波两大类,短波视色素一般又可以分为 UV 敏感视色素和蓝光敏感视色素,UV 和蓝光

基金项目 农业行业科研专项(No. 201003025);

* 通讯作者, E-mail: liuxiaoxia611@cau.edu.cn;

第一作者介绍 闫硕,男,硕士;研究方向:昆虫分子生态学;

E-mail: yanshuocex@yahoo.com.cn.

收稿日期:2011-07-15,修回日期:2011-11-11

视色素在大多数昆虫中均存在,不同视色素的组成是根据昆虫不同的需求和所处的光环境而形成的^[2]。昆虫的每个小眼具有 8~9 个光感受细胞,一般情况下每个光感受细胞中只存在 1 种视蛋白基因的表达,但在一些蝴蝶中可能存在 2 种视蛋白基因的共表达现象,这就增加了光感受细胞的敏感波谱范围^[3-4]。UV 敏感视蛋白(ultraviolet wavelength-sensitive opsin)可能对于昆虫的捕食和取食、雌雄的相互识别交配以及信息传递等有着重要作用^[5-7]。有研究表明,紫外线对于帝王斑蝶(*Danaus plexippus*)迁飞定向有着重要作用^[8],而对于夜行性昆虫来说,夜晚也具有少量的光,光谱范围偏向短波^[9],短波视蛋白可能与夜行性相适应具有相应的特点。

小地老虎(*Agrotis ypsilon*)隶属于鳞翅目夜蛾科。在我国各省区均有分布,寄主范围十分广泛,具有长距离迁飞习性,主要危害蔬菜类、粮棉类、果树、林木、烟草和花卉等作物^[10-13]。对于鳞翅目昆虫来说,UV 视蛋白的研究主要集中在蝴蝶中,而对于鳞翅目夜行性昆虫的研究非常少。现只有烟草天蛾(*Manduca sexta*)的 UV 视蛋白基因被克隆,但并没有进行功能的验证^[14]。小地老虎是典型的夜行性昆虫,而且其幼虫期也在地下,本研究通过对 UV 视蛋白基因的克隆和功能预测分析,为深入研究 UV 视蛋白在夜行生活中的作用提供基础。

1 材料与方 法

1.1 实验材料与试剂 实验用虫采自河北廊坊。中国农业大学 IPM 实验室室内长期饲养,饲养温度(26±1)℃,光周期 16L:8D。幼虫用白菜饲养,成虫 10% 蜂蜜水饲喂。

DNA 胶回收试剂盒 Gel Extraction Kit 购自 Omega 公司;DNA 聚合酶 TransTaq-T、克隆载体 pEASY-T1 Cloning Vector、大肠杆菌感受态细胞,均购自北京全式金生物技术有限公司;RNA 提取试剂盒 RNeasy Mini Kit、反转录酶 Omniscript RT Kit 购自德国 Qiagen 公司;RACE 采用 Ambion 公司的 First Choice RLM-RACE 试剂盒;PCR 引物由上海生工生物工程公司合成;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 总 RNA 的提取及反转录 总 RNA 的提取及反转录均参照试剂盒进行。RNA 提取过程中加入 DNA 酶消化处理,使用紫外分光光度计 NanoDrop 2000 测定 RNA 的 A₂₈₀ 和 A₂₆₀ 以计算总 RNA 的浓度,提取得到的总 RNA 于 -80℃ 保存备用。反转录得到的 cDNA 样品于 -20℃ 保存备用。

1.3 设计引物克隆基因的 5' 端序列 通过比对鳞翅目昆虫 UV 视蛋白基因序列,在起始密码子 ATG 的上游和下游分别设计一对简并引物 UvF 和 UvR(表 1)。PCR 反应体系(20 μl): 14.4 μl ddH₂O, 2 μl PCR 10 × Buffer, 1.6 μl dNTP(2.5 mmol/L), 1 μl cDNA 模板,各 0.4 μl 上下游引物(10 μmol/L), 0.2 μl DNA 聚合酶(5 U/μl)。PCR 反应程序:94℃ 预变性 5 min; 94℃ 30 s, 50℃ 30 s, 72℃ 90 s, 35 个循环;72℃ 延伸 7 min 终止反应。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,按照载体说明,将目的条带回收后与克隆载体连接并转化至大肠杆菌感受态细胞内。菌落在含有 X-gal 和 IPTG 的培养基上培养 12 h 后,选取含有目的片段的阳性单克隆送至北京擎科生物技术有限公司测序。

1.4 利用 RACE 技术克隆基因的 3' 端序列 根据已经得到的 UV 视蛋白的 5' 端序列设计 3' RACE 的 2 个上游引物,分别为 RUV1 和 RUV2(表 1),结合试剂盒提供的 2 个下游引物进行巢式 PCR。2 次 PCR 反应程序经过优化为:94℃ 预变性 3 min;94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 90 s, 35 个循环;72℃ 延伸 7 min 终止反应。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。检测结果正确后,测序。

表 1 引物序列

Table 1 Oligonucleotide primer sequences

引物用途 Application of primer	引物名称 Primer	引物序列 Sequence(5' - 3')
5' 端克隆	UvF	GCACHCTRCYGAGGRCTGCT
5' gene segment cloning	UvR	CGTTGNAATTCTTGCCCTGTA
3' RACE 克隆	RUV1	TATAGTGGTATCGGCGCAGG
3' RACE cloning	RUV2	TGCAGTTACGTGTTCCCAT

1.5 序列分析 通过 NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 查询序列并进行不同物种的序列比对;利用 SOPMA (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?

page = /NPSA/npsa_sopma.html) 完成氨基酸二级结构的预测;跨膜区预测通过 TMPred (http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html) 完成;通过 Computepl/Mw tool (http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html) 完成蛋白质分子量等电点的预测;通过 PROSITE SCAN (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_proscan.html) 完成蛋白质功能位点的分析;3D 结构的构建及拉马钱德兰图借助在线站点 SWISS MODEL WORKSPACE (<http://swissmod-el.expasy.org>)、软件 PyMOL Viewer 1.3 和软件 Deep View 4.0.1 预测分析完成;用 CLUSTAL X 1.81 和 MEGA 4.0 软件构建系统发育树^[15-17]。

2 结 果

2.1 小地老虎 UV 视蛋白基因的克隆与序列分析 利用 RT-PCR 和 RACE 技术克隆得到了一条长 1 632 bp 的 cDNA 片段,包含一个完整的开放阅读框架(1 140 bp)、5'端和 3'端分别有 45 bp 和 447 bp 的非编码区,编码 379 个氨基酸,理论蛋白分子量(Mw) 41.50 ku,等电点(pI) 7.56。将克隆得到的 cDNA 序列在 NCBI 上进行比对,同源性高的皆为 UV 视蛋白基因,所以我们克隆得到了小地老虎的 UV 视蛋白基因(图 1),GenBank 登录号为:JN185654。

序列分析显示,小地老虎 UV 视蛋白氨基酸序列 α 螺旋占 39.84%,延伸链占 18.73%, β 转角占 3.17%,随机卷曲占 38.26%;氨基酸功能位点包括 N 糖基化位点、蛋白激酶 C 磷酸化位点、酪蛋白激酶 II 磷酸化位点、N 豆蔻酰化位点、视蛋白视黄醛结合位点和 G 蛋白偶联受体家族,部分位点标在图 1 中。3D 结构的构建基于模型 2ziyA (3.70 Å) 完成(图 2),与其序列一致性达到 31.975%,Evalue:0。运用拉马钱德兰图检测所模拟蛋白结构的合理性,表明视蛋白 3D 结构模型的二面角分布和立体构象合理,基本符合两个二面角 φ 和 ψ 分布的基本要求(图 3)。

2.2 基于 UV 视蛋白氨基酸序列进化树的构建及同源性分析 系统发育树的构建使用 NJ

法,借助氨基酸序列构建,非参数重复取样估计方法评估系统发育树节点的可靠性(1 000 个重复)。进化关系分析表明,小地老虎 UV 视蛋白氨基酸序列与其他物种同源性较高,小地老虎与烟草天蛾亲缘关系最近,与其他蝶类次之,这是由于它们共同隶属于鳞翅目的缘故。鳞翅目、膜翅目、鞘翅目和双翅目形成了几个不同的分支,以上分类的结果与传统分类完全一致(图 4),且分支点代表的置信度值均超过 50,可信度高。

3 讨 论

紫外敏感性在动物界中是普遍存在的现象,大多数昆虫都存在 UV 光受体。昆虫是一个庞大的群体,有着多样化的生活环境和行为方式,包括昼行性和夜行性的物种,对于 UV 视蛋白的研究多集中于昼行性昆虫。有研究表明,UV 视蛋白吸收光谱敏感峰值及范围可能在雌雄虫间存在差异,从而起到雌雄虫间相互识别的作用^[7],一些鸟类通过翅反射紫外线从而起到性选择的作用^[18-19]。在蛭蛱蝶属蝴蝶中存在两种 UV 视蛋白的表达,其紫外线敏感峰值发生偏移,这种现象在鳞翅目昆虫中是首次发现^[20]。UV 视觉在某些蜜蜂对花的寻找和识别中起到重要作用,蜜蜂对于花色的识别是多种视蛋白的相互作用的结果^[6,21-22]。黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)的视觉系统研究得比较透彻,在 R7 细胞中存在 Rh3 或者 Rh4 的表达,而两种视蛋白均对紫外线敏感^[23]。对鳞翅目夜行性昆虫的研究就很少了,现只有对烟草天蛾的研究,集中于基因克隆分析及表达方面,并没有进行深入的功能分析^[14,24]。

本研究首次克隆得到了小地老虎 UV 视蛋白基因的全序列。在 5'端非编码区设计引物避开了繁琐的 5'RACE 过程,节省了人力物力。

序列分析显示,UV 视蛋白氨基酸序列包含 7 个跨膜拓扑结构和 1 个 G 蛋白偶联受体家族,与视蛋白的结构吻合。克隆得到的 UV 视蛋白还具有 N 豆蔻酰化位点、蛋白激酶 C 磷酸化位点、酪蛋白激酶 II 磷酸化位点、N 糖基化位

```

1 GCACACTACTGAGGACTGCTCACTCTGCCAAGGTTCAATCAACATGTACAATCAAACAGAAAATACATACTACGATGCACACTTTGCA
1 M Y N Q T E N A Y Y D A H F A
91 CCTTTC AAGTCTGGAGGGCCGAGTGGCGTGGAGATGCTGGGCGATGGACTGACGGGAGATGACCTGGCCATGGTCCCGAACACTGGCTG
16 P F K S G G P S G V E M L G D G L T G D D L A M V P E H W L
181 GCCTTCCCGGCTCCCCGGCAAGCGGCATACTGCGCTCGCGTCTTTACATAATCTTTACTGCAGCCGCTTTAGTAGGAAATGGACTA
46 A F P A P P A S A H T A L A L L Y I F F T A A A L V G N G L
271 GTTATCTTCATATTTTCTACAACGAAAAGCTTACGAACTTCGAGCAACCTTTTAATTTTGCAACTAGCAATTTTAGATTTTCATCATGATG
76 V I F I F S T T K S L R T S S N L L I L Q L A I L D F I M M
361 GCAAAAGCTCCAATTTTATTTACAATAGTGAATGCGAGGCTTTGCCAGTGGAACTATAGGCTGTCAGCTTTTCGCGCTGATGGGGCGG
106 A K A P I F I Y N S A M R G F A S G T I G C Q L F A L M G A
451 TATAGTGGTATCGGGCAGGCATGACCAATGCTTGTATCGCATATGACAGGCATTCACAATCACCCGCCCTCTCGATGGGGATTGTCT
136 N S G I G A G M T N A C I A Y D R H S T I T R P L D G R L S
541 CGCGCAAAGTTCTACTGATGATTGCAATTTACTTGGATATACAGTACACCATGGGCTCTACTACCCTTTCAAATCTGGGGCAGATAT
166 R G K V L L M I A F T W I Y S T P W A L L P L F K I W G R Y
631 GTTCTGAGGGTATTGACATCCTGTACGTTTCGATTACCTGACGAATACATTGACACCAAATTATTCGTCGCGTGTATTTTACGTCG
196 V P E G Y L T S C T F D Y L T N T F D T K L F V A C I F T C
721 AGTTACGTGTTCCCATGTCCATGATCATATATTTTACAGTGAATCGTAAAGCAAGTGTTCACATGAGGCTGCCTTGAGAGAGCAG
226 S Y V F P M S M I I Y F Y S G I V K Q V F A H E A A L R E Q
811 GCTAAGAAGATGAATGTGAATCACTTCGATCGAACCAGAAATGCAAACGAGAATCAGCTGAAATCCGAATAGCTAAGGCAGCACTACC
156 A K K M N V E S L R S N Q N A N A E S A E I R I A K A A L T
901 GTGTGCTTCTTATTTGTAGCGTGGACTCCTTACGGGATTATGTCGCTTATAGGAGCTTTTGGAGATCAACAACACTACTACACAGGG
286 V C F L F V A S W T P Y G I M S L I G A F G D Q Q L L T P G
991 GTTACAATGATTCAGCTGTAGCATGCAAAGCTGCGCTGTATAGATCCCTGGGTTTATGCCATCAGTACCCGAAAGTACAGCAAGAA
316 V T M I P A V A C K A V A C I D P W V Y A I S H P K Y R Q E
1081 TTGCAACGTCGTATGCCATGGTTGCAAATTAAGAACCAGATGATACCGTATCGACTGCGACCAGCAATACTGTATCCAGCGCCCCAGCC
346 L Q R R M P W L Q I Q E P D D T V S T A T S N T V S S A P A
1171 GCGACACCTGCTTAAACAACGCTTTATTAATATGTTAATATTTGAGCTCAAATGAGAAACACACTGTAGGCAAAAAGTACCTACCAAC
376 A T P A *
1261 AGAATGAAACTATTATTAAGTTGATATTTATTTTGTACTTTTACTAGAAGTCATCAGTCGATGCTGTCTCCAAAAGATTTTATGTTG
1351 GCTAATTCTCAAGTAATCACATAATCAGGACACCATCTCCTTTAAAAAAAATATAAATAGCTATATACGCTCGTATATGCAAAAAG
1441 TCTATACTAAGTACTACTCTTTTCGCTAGCTGTACCTACCGCTTACTTTTAAATAAATGGATAATTCATCTATTATAACGACAACGGC
1531 ATGTTTAAACGGACTGAAGTATTACCTTATATAATCAAATTAATGACTATGTAACCTTAGACGTGAAGTCAATGTTTACATACAATGCA
1621 AATGATGAAGTC

```

图1 小地老虎 UV 视蛋白基因的 cDNA 序列以及推导得到的氨基酸序列

Fig. 1 cDNA sequence and deduced amino acid sequence of the UV opsin gene in *Agrotis ypsilon*

起始密码子 ATG 加粗标出,终止密码子 TAA 加粗并用星号标出,跨膜拓扑结构(57~80,89~113,129~150,169~189,217~242,282~303,315~338)涂黑标出,视蛋白视黄醛结合位点(319~335)实线框标出,N-豆蔻酰化位点(20~25,123~128,134~139,138~143,140~145,142~147)虚线框标出,G-蛋白偶联受体家族(140~156)下划线标出,蛋白激酶 C 磷酸化位点(82~84,85~87,263~265)双下划线标出。

The start codon ATG is indicated with bold, and the stop codon TAA is indicated with bold and by an asterisk. Transmembrane topology is outlined in gray. Visual pigment (opsin) retinal binding site is boxed. N-myristoylation site is indicated with dashed box. G-protein coupled receptors family is underlined. Protein kinase C phosphorylation site is double underlined.

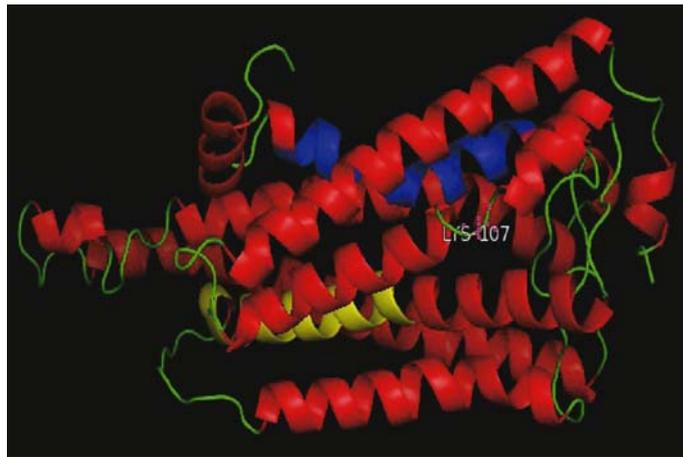


图2 小地老虎视蛋白三维结构带状图

Fig. 2 The cartoon model of *Agrotis ypsilon* UV opsin

红色代表 α 螺旋,绿色代表 Ω 环。G蛋白偶联受体家族用黄色标出,视蛋白视黄醛结合位点用蓝色标出,第107位赖氨酸与UV视蛋白的紫外敏感性有重要关系。

The red colour represents α -helix, the green colour represents Ω -loop, the yellow colour represents G-protein coupled receptors family, and the blue colour represents visual pigment (opsin) retinal binding site. Lysine 107 confers UV sensitivity.

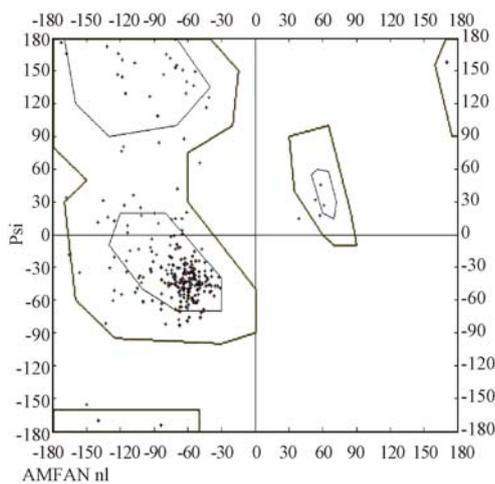


图3 视蛋白三维结构的拉马钱德兰图

Fig. 3 Ramachandran plot of β -tubulin 3D structure

黄线封闭区域:最适宜区域,蓝线内区域:允许区。

Yellow closed region: the most suitable region, and blue closed region: permissible region.

点和视蛋白视黄醛结合位点。视蛋白视黄醛结合位点是视蛋白与发色团相结合的位点,其中第7个跨膜拓扑结构中的赖氨酸(K)与视黄醛发色团的Schiff碱结合^[25]。107位赖氨酸(K)与UV视蛋白的紫外敏感性有重要关系,与牛(*Bos taurus*)的视紫红质甘氨酸90是同源

的^[26]。151~152位的DR参与G蛋白偶联受体的活化作用^[27]。对UV视蛋白的3'非编码区分析发现,UV视蛋白基因并不存在多聚腺苷酸信号序列(AATAAA),这点与烟草天蛾相似^[14]。由于鳞翅目夜行性昆虫UV视蛋白的研究很少,所以需要进一步验证3'端非编码区的结构。缺少终止信号可能是由于引物与内部重复的腺嘌呤结合,从而导致没有与poly(A)的尾巴结合。当然,也可能是UV视蛋白基因在夜行性鳞翅目昆虫中不存在终止信号。

UV视蛋白氨基酸序列在鳞翅目昆虫中比较保守,小地老虎UV视蛋白与烟草天蛾(GenBank登录号:AAD11965)、壮铜灰蝶(*Lycaena rubidus*) (GenBank登录号:AAT91641)、丛林斜眼褐蝶(*Bicyclus anynana*) (GenBank登录号:AAL91507)的氨基酸序列一致性分别达到87.07%、83.42%、79.79%,可见,UV视蛋白基因在鳞翅目物种中是高度保守的。使用视蛋白基因作为物种系统发育关系的研究还是很多的,对于亲缘关系鉴定以及物种演变是一个有力的证据^[28]。

鳞翅目昆虫具有许多生物节律的行为,如产卵、羽化、飞行等,但我们并不了解光感受器

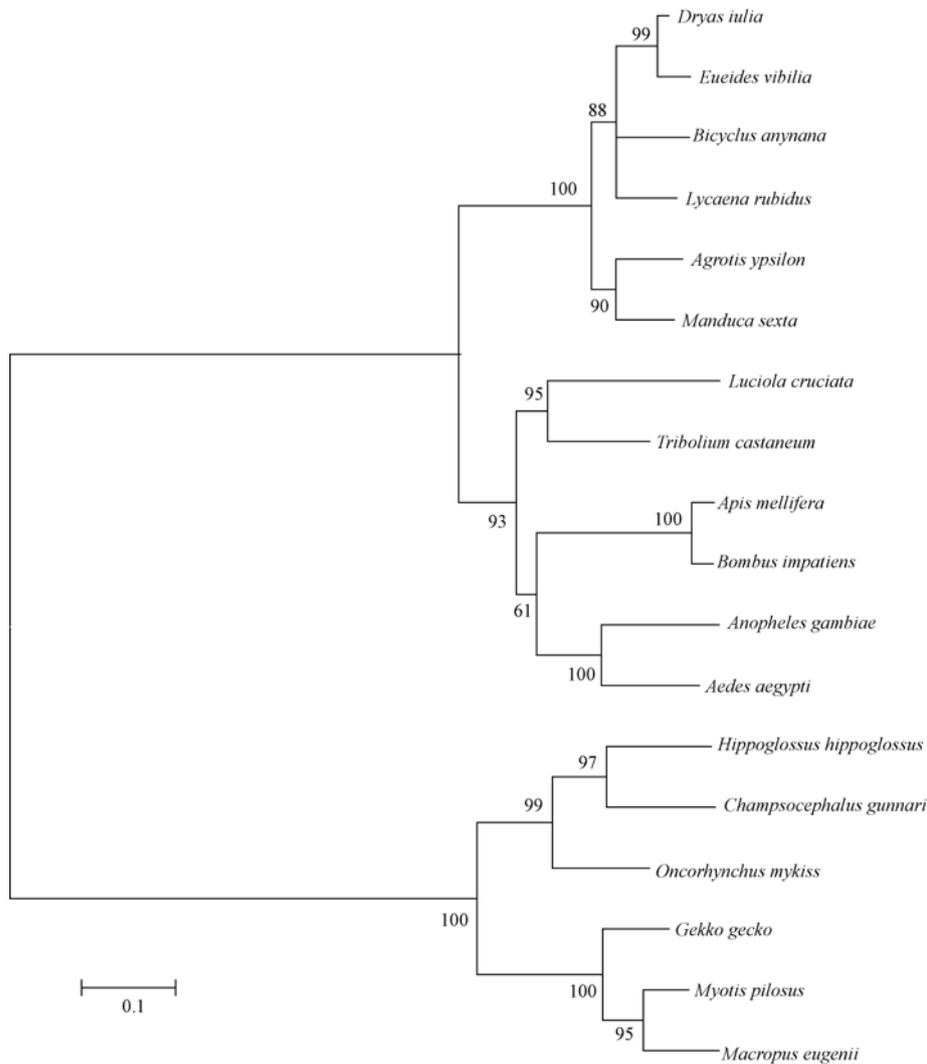


图 4 基于 UV 视蛋白氨基酸序列的 Neighbor-Joining 系统树

Fig. 4 Neighbor-Joining tree based on UV opsin amino acid sequence

小枝长度代表遗传距离,分支点数值为置信度值。

Branch length indicates evolutionary distance, and bootstrap supporting values are shown at branch nodes.

Manduca sexta: 烟草天蛾 (AAD11965); *Dryas iulia*: 茉莉亚蝶 (ADD13973); *Eueides vibilia*: 旅神佳袖蝶 (ADD13975); *Lycaena rubidus*: 壮铜灰蝶 (AAT91641); *Hippoglossus hippoglossus*: 大西洋大比目鱼 (AAM17917); *Oncorhynchus mykiss*: 虹鳟鱼 (AAP35091); *Champscephalus gunnari*: 裘氏鳄头冰鱼 (BAJ15894); *Gekko gecko*: 大壁虎 (AAG61163); *Myotis pilosus*: 大足鼠耳蝠 (ACF70481); *Macropus eugenii*: 尤金袋鼠 (AAP37944); *Apis mellifera*: 意蜂 (DAA05738); *Bombus impatiens*: 凤仙花熊蜂 (AAV67326); *Luciola cruciata*: 源氏萤 (BAH56228); *Tribolium castaneum*: 赤拟谷盗 (XP_970344); *Bicyclus anynana*: 丛林斜眼褐蝶 (AAL91507); *Anopheles gambiae*: 甘比亚疟蚊 (XP_001688790); *Aedes aegypti*: 埃及伊蚊 (XP_001653866)。

调节这些生物行为的机理。昆虫对环境光的感受是多种光感受器的综合作用,要成功阐明昆虫生物节律等行为,需要对多种光感受器进行综合的研究。本研究成功克隆了小地老虎 UV 视蛋白基因,今后的工作将集中于小地老

虎 UV 视觉基因功能的研究,进而阐明该基因在小地老虎中的生理功能。生物所处的光环境可能与视蛋白的组成不匹配。人们曾经认为灵长类动物的祖先是夜行性的,且有一些灵长类动物现在仍未改变这一习性,但研究表明,在一

些夜行性灵长类动物中也存在 UV 视蛋白基因,从而证明它们是由昼行性转变成夜行性的^[29]。有研究表明金仓鼠 (*Mesocricetus auratus*) 缺少 UV 视蛋白,对紫外不敏感^[30],这种现象在其他物种中也有发现^[31]。对萤火虫 (*Luciola cruciata*) 的研究表明,UV 视蛋白基因在 1 d 内的表达水平是稳定的,暗示着 UV 视蛋白在长期的进化中已经发生了功能的改变^[32]。小地老虎 UV 视蛋白可能对黑暗长时间适应已经发生了功能的改变,也可能执行着一些其他的功能。关于 UV 视蛋白在夜行性昆虫中的功能还需要进一步验证。

参 考 文 献

- [1] 李志强,何舜平. 脊椎动物视蛋白基因分子进化的研究进展. 水生生物学报,2009,33(6): 1193-1197.
- [2] 王波. 榕小蜂紫外线敏感视蛋白基因的分子进化. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文,2009.
- [3] Briscoe A D, Chittka L. The evolution of color vision in insects. Annual Review Entomology, 2001, 46(1): 471-510.
- [4] Briscoe A D. Reconstructing the ancestral butterfly eye: focus on the opsins. Journal of Experimental Biology, 2008, 211(11): 1805-1813.
- [5] Arikawa K, Inokuma K, Eguchi E. Pentachromatic visual system in a butterfly. Naturwissenschaften, 1987, 74(6): 297-298.
- [6] Chittka L. Does bee color vision predate the evolution of flower color? Naturwissenschaften, 1996, 83(3): 136-138.
- [7] Arikawa K, Wakakuwa M, Qiu X D, et al. Sexual dimorphism of short-wavelength photoreceptors in the small white butterfly, *Pieris rapae crucivora*. Journal of Neuroscience, 2005, 25(25): 5935-5942.
- [8] Froy O, Gotter A L, Casselman A L, et al. Illuminating the circadian clock in monarch butterfly migration. Science, 2003, 300(5623): 1303-1305.
- [9] Winter Y, López J, Von Helversen O. Ultraviolet vision in a bat. Nature, 2003, 425(6958): 612-614.
- [10] 杨建全,陈乾锦,陈家骅,等. 不同温度对小地老虎实验种群的影响. 福建农业大学学报, 2000, 29(3): 337-341.
- [11] 李芳, 谌建春, 陈家骅. *Bt* 对小地老虎呼吸作用的影响. 昆虫天敌, 2002, 24(1): 15-19.
- [12] 陆琼, 张永军, 于洪春, 等. Cry2Ab 杀虫蛋白对小地老虎幼虫致死效果及体内酶活性的影响. 植物保护学报, 2009, 36(1): 16-20.
- [13] 施翔宇, 封洪强, 刘中芳, 等. 实验条件下黏虫、棉铃虫和小地老虎的定向行为比较. 植物保护, 2010, 36(4): 60-63.
- [14] Chase M R, Bennett R R, White R H. Three opsin-encoding cDNAs from the compound eye of *Manduca sexta*. Journal of Experimental Biology, 1997, 200(18): 2469-2478.
- [15] Arnold K, Bordoli L, Kopp J, et al. The SWISS-MODEL Workspace: A web-based environment for protein structure homology modelling. Bioinformatics, 2006, 22(2): 195-201.
- [16] Schwede T, Kopp J, Guex N, et al. SWISS-MODEL: an automated protein homology-modeling server. Nucleic Acids Research, 2003, 31(13): 3381-3385.
- [17] Guex N, Peitsch M C. SWISS-MODEL and the Swiss-Pdb Viewer: an environment for comparative protein modeling. Electrophoresis, 1997, 18(15): 2714-2723.
- [18] Bennett A T D, Cuthill I C, Partridge J C, et al. Ultraviolet vision and mate choice in *Zebra finches*. Nature, 1996, 380(6573): 433-435.
- [19] Hunt S, Cuthill I C, Bennett A T D, et al. Preferences for ultraviolet partners in the blue tit. Animal Behavior, 1999, 58(4): 809-815.
- [20] Nozawa M, Suzuki Y, Nei M. Is positive selection responsible for the evolution of a duplicate UV-sensitive opsin gene in *Heliconius* butterflies? Proc Natl Acad Sci, 2010, 107(23): E96.
- [21] Spaethe J, Tautz J, Chittka L. Visual constraints in foraging bumblebees: flower size and color affect search time and flight behavior. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(7): 3898-3903.
- [22] Dyer A G, Chittka L. Bumblebee search time without ultraviolet light. J Exp Biol, 2004, 207(10): 1683-1688.
- [23] Chou W H, Huber A, Bentreop J, et al. Patterning of the R7 and R8 photoreceptor cells of drosophila: evidence for induced and default cell-fate specification. Development Biology, 1999, 126(4): 607-616.
- [24] Lampel J, Briscoe A D, Wasserthal L T. Expression of UV-, blue-, long-wavelength-sensitive opsins and melatonin in extraretinal photoreceptors of the optic lobes of hawkmoths. Cell Tissue Res, 2005, 321(3): 443-458.
- [25] 冯琛莉, 戴锦晖, 褚仁远. 视蛋白的研究进展. 国际眼科纵览, 2006, 30(4): 217-220.

- [26] Salcedo E, Zheng L J, Phistry M, et al. Molecular basis for ultraviolet vision in invertebrates. *The Journal of Neuroscience*, 2003, 23(34): 10873 – 10878.
- [27] Baldwin J M, Schertler G F X, Unger V M. An alpha-carbon template for the transmembrane helices in the rhodopsin family of G-protein-coupled receptors. *J Mol Biol*, 1997, 272(1): 144 – 164.
- [28] Pohl N, Sison-Mangus M P, Yee E N, et al. Impact of duplicate gene copies on phylogenetic analysis and divergence time estimates in butterflies. *BMC Evolutionary Biology*, 2009, 9(1): 99.
- [29] Tan Y, Yoder A D, Yamashita N, et al. Evidence from opsin genes rejects nocturnality in ancestral primates. *Proc Natl Acad Sci*, 2005, 102(41): 14712 – 14716.
- [30] Calderone J B, Jacobs G H. Cone receptor variations and their functional consequences in two species of hamster. *Visual Neuroscience*, 1999, 16(1): 53 – 63.
- [31] Peichl L, Behrmann G, Kröger R H H. For whales and seals the ocean is not blue: a visual pigment loss in marine mammals. *European Journal of Neuroscience*, 2001, 13(8): 1520 – 1528.
- [32] Oba Y, Kainuma T. Diel changes in the expression of long wavelength-sensitive and ultraviolet-sensitive opsin genes in the Japanese firefly, *Luciola cruciata*. *Gene*, 2009, 436(1/2): 66 – 70.

中俄双边动物磁导航暨环境感知与行为观测技术 研讨会顺利召开

动物磁导航、环境感知与行为观测技术是当今动物行为学的前沿领域。2011年8月9~10日,由国家自然科学基金委、俄罗斯基础研究科学基金会资助,河海大学主办的“中俄双边动物磁导航暨环境感知与行为观测技术研讨会”在河海大学常州校区召开。来自俄罗斯莫斯科大学、俄罗斯科学院动物研究所、德国奥尔登堡大学以及中国科学院动物研究所、中国科学院成都生物研究所、大丰麋鹿国家级自然保护区、北京大学、西安交通大学、河海大学等国内外知名院校和科研机构的专家、学者和研究人员 20 余人出席了本次研讨会。会上,德国奥尔登堡大学 Henrik Mouritsen 教授、中国科学院动物研究所蒋志刚教授、俄罗斯科学院动物研究所 Nikita Chernetsov 博士、河海大学刘小峰教授等 10 余位专家、学者分别作了特邀报告和主题报告,并就动物定向与导航、环境感知、行为生态观测技术等学术问题以及相关的前沿研究问题进行了广泛的研讨和交流。

(河海大学 刘小洪)