

褐飞虱 *flightin* 的原核表达及其差异表达检测*

张小琴** 胡玉琼 张传溪***

(浙江大学昆虫科学研究所 杭州 310058)

摘要 *flightin* 最早发现于果蝇 *Drosophila melanogaster* 的间接飞行肌中,并且定位于粗肌丝。这种蛋白对维持肌节的结构和功能起到了重要的作用,但在具有长短翅型分化的褐飞虱 *Nilaparvata lugens* Stål 的不同翅型间差异并不清楚。本研究以长翅型雌虫褐飞虱 cDNA 为模板,通过 PCR 扩增得到褐飞虱 *flightin* 基因 ORF 全长,将其连接到表达载体 pGEX-6P-1 中以与谷胱甘肽 S-转移酶(GST)融合表达。将表达载体转入大肠杆菌表达株 Rosseta,在不同温度、不同浓度 IPTG 的条件下诱导表达 *flightin*,得到了最优表达条件,获得了高水平可溶性表达。在用 GST 抗体进行 Western blotting 验证 GST-*flightin* 融合重组蛋白表达的正确性后,我们通过 GST 柱纯化了的 GST-*flightin*,进而用纯化后的蛋白免疫新西兰兔制备了高特异性的多克隆抗体。最后,我们用制备的多克隆抗体检测了长、短翅型雌成虫和不同发育阶段的褐飞虱体内 *flightin* 的表达差异。结果显示,*flightin* 仅在长翅型成虫中表达,在短翅型雌成虫中未检测到其明显表达,而且 *flightin* 只在成虫期表达。本研究为进一步研究褐飞虱的 *flightin* 与其它蛋白互作、翅肌发育和翅型分化打下了基础。

关键词 褐飞虱, *flightin*, 原核表达, 多克隆抗体, 翅型差异, 发育差异

Prokaryotic expression of the *Nilaparvata lugens flightin* gene and its differential expression in different life stages

ZHANG Xiao-Qin** HU Yu-Qiong ZHANG Chuan-Xi***

(Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract *Flightin*, located in thick filament, was originally found in the indirect flight muscle of *Drosophila melanogaster*. It is important in these muscles both for structural integrity and sarcomere function. Prior to this study, differences in the muscle components of macropterous and brachypterous adults of the brown planthopper (BPH, *Nilaparvata lugens* Stål) had not been studied. We amplified the *flightin* gene from the cDNA of macropterous female adults and inserted it into the expression vector pGEX-6P-1 for fusion expression with gultathione S transferase (GST). The recombinant vector was then inserted into *Escherichia coli* Rosseta. After optimization of the expression conditions at different temperatures and concentrations of IPTG, high level of expression of *flightin* was achieved. The soluble expressed GST-*flightin* was purified and used to immunise rabbits for preparing a polyclonal antibody against *flightin*. Using the prepared antibody, we searched for *flightin* expression in different developmental stages and in two-winged forms. We found that *flightin* was uniquely expressed in the adult stage and only expressed in macropterous female adults. No positive bands were detected in eggs, nymphs and brachypterous female adults. This study provides a basis for the study of wing muscle development and wing dimorphism, as well as for research into the interaction of *flightin* with other proteins in the BPH.

Key words *Nilaparvata lugens*, *flightin*, prokaryotic expression, polyclonal antibody, wing dimorphism, developmental expression

* 资助项目:“973”项目(2010CB126200)。

** E-mail: zoezhang8803@ yahoo. cn

*** 通讯作者, E-mail: chxzhang@ zju. edu. cn

收稿日期:2012-11-30,接受日期:2012-12-26

昆虫的飞行主要依赖其胸部的飞行肌,包括直接飞行肌和间接飞行肌。在较高等的昆虫中,直接飞行肌主要控制昆虫翅在运动中的旋转;而间接飞行肌则通过控制胸部背板的运动来间接调控翅的拍动,并提供飞行主要动力。

flightin 最早发现于果蝇的间接飞行肌中,并且定位于粗肌丝。这种蛋白对维持肌节的结构和功能起到了重要的作用。通过敲除果蝇中的 *flightin*, Reedy 等 (2000) 发现 *flightin* 可能和肌球蛋白有互作关系。最为明显的是, *flightin* 被敲除后,间接飞行肌纤维几乎瓦解;Z 盘的规则排列的结构也变成了不规则的碎片;肌节变长,而且其横切面规则的几何结构也消失了。同样,类似的试验也发现 *flightin* 对果蝇的间接飞行肌粗肌丝的长度也有影响,敲除了 *flightin* 后,粗肌丝长度增加了 40% (Contompasis *et al.*, 2010)。同时, *flightin* 的磷酸化对间接飞行肌的结构稳定和能量输出也有着重要的作用 (Barton, 2007)。

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* Stål 是一种具有翅型分化的半翅目昆虫。其成虫有长翅型和短翅型,长翅型成虫具有长距离迁飞的能力,而短翅型成虫丧失了飞行能力。目前 *flightin* 只在果蝇中有研究,而在其他昆虫特别是不完全变态昆虫和具有翅型分化的昆虫中,其功能和性质还未知。褐飞虱作为重要的不完全变态特别是具有翅二型现象的昆虫, *flightin* 在其体内也可能发挥着十分重要的作用。本研究通过表达 *flightin* 的全长基因,纯化了 *flightin* 的重组蛋白,并利用纯化蛋白制备了兔多克隆抗体。利用褐飞虱的 *flightin* 多克隆抗体对长短翅成虫间 *flightin* 的表达差异做了初步检测和研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试供虫体 试验所用褐飞虱来自于测基因组种群,在室内 (28 ± 0.5) °C 恒温, L: D = 16:8 的光周期下培养。

1.1.2 菌体和质粒 *Escherichia coli* TG1 和 Rosseta 菌株由作者实验室保存;克隆载体 pEASY-Blunt 载体购自全式金 (该载体适用于平末端的克隆,含有氨苄青霉素和卡那霉素两种筛选标记。使用时将 PCR 产物与 pEASY-Blunt cloning vector 混合, 37°C 连接 15 min, 放置冰上即可用于转化实

验);表达载体 pGEX-6P-1 购自 Novagen 公司。

试剂 Trizol 购自上海英俊生物技术有限公司; M-MLV 反转录酶、T4 DNA Ligase、PrimeSTAR® HS DNA Polymerase (该聚合酶兼具高保真性和高扩增效率,用于扩增基因)、Taq DNA Polymerase (用于验证)、BamH I 和 Xho I 内切酶、DNA marker (DL5 000) 均为 Takara 生物工程 (大连) 公司生产;DNA 小量质粒抽提、快速纯化/回收试剂盒为申能博彩生物技术有限责任公司生产。SDS-PAGE 电泳标准蛋白为 Formanta 公司产品, N, N, N', N'-四甲基乙二胺 (TEMED)、IPTG (异丙基-β-D-硫代半乳糖苷)、氨苄青霉素为杭州昊天生物科技有限公司产品, Protease Inhibitor Cocktail EDTA-Free (100 ×) 为 Thermo Scientific 产品, 30% Acrylamide/Bis Solution 购自 Bio-Rad 公司。洗脱液 (elution buffer): 50 mmol/L Tris-Cl, 10 mmol/L 还原型谷胱甘肽 (reduced glutathione), pH 调至 8.0。PVDF 膜为 Millipore 公司产品, 辣根过氧化物酶 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 购自联科生物科技有限公司, Anti-GST 多克隆抗体购自 Proteintech 公司。弗氏完全佐剂 (Freund's Adjuvant Complete)、弗氏不完全佐剂 (Freund's Adjuvant Incomplete) 为 Sigma 公司产品。Western HRP Substrate (化学发光液) 购自 Millipore 公司。

1.2 方法

1.2.1 *flightin* 表达引物设计及序列扩增 根据我们测定的褐飞虱转录组 (Xue *et al.*, 2010) 中的 *flightin* 基因 ORF 序列, 用 primer premier 5 软件在序列两端分别设计用于表达的上游和下游引物。其中下游引物在 *flightin* 3' 端 UTR 区域设计, 因此扩增片段长度为 723 bp, 比 *flightin* 的 ORF (630 bp) 序列要长。并在两端分别加上酶切位点 BamH I 和 Xho I。引物序列如下: *flightin* sense 5'-GGATCCATGGCTGACCCAGACGCAC-3' 和 *flightin* antisense 5'-CTCGACTGACA-GACTCGTGTTA-TGATAG-3'。用褐飞虱长翅成虫的 cDNA 为模板进行 PCR。PCR 的条件是: 94°C 预变性 3 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s, 30 个循环, 72°C 保温 10 min。PCR 产物用 1% 浓度的琼脂糖凝胶电泳鉴定, 并切胶回收相应大小目的基因片段。

1.2.2 目的条带克隆及鉴定 将回收的目的基

因片段连接到 *pEASY-Blunt* 的克隆载体上, 3 μL PCR 产物与 1 μL 载体混合, 37 $^{\circ}\text{C}$ 连接 15 min, 连接产物转化入 TG1 的克隆菌株中。经 37 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 在氨苄青霉素 (Amp) 抗性筛选培养, 挑斑做菌落 PCR 鉴定。随后, 将鉴定正确的菌落挑斑培养, 提取重组质粒做双酶切鉴定, 经 1% 浓度的琼脂糖凝胶电泳鉴定后, 回收酶切后的目的片段。

1.2.3 表达载体构建 将酶切后的目的片段用 *T4* 连接酶 16 $^{\circ}\text{C}$ 过夜连接到 pGEX-6P-1 表达载体中, 并将重组载体 pGEX-6P-1-*flightin* 转化入 Rosseta 表达菌株中。经 37 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 挑斑做菌落 PCR 鉴定, 并将鉴定正确的菌斑送公司测序, 确定克隆的正确性和目的片段在表达载体中没有发生移码现象。

1.2.4 原核表达 挑取鉴定正确的阳性克隆至 5 mL Amp LB 培养基中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、220 r/min 培养 12 h。从母菌中取 100 μL 至新鲜的 5 mL LB 培养基中, 在 30 $^{\circ}\text{C}$ 、220 r/min 和 37 $^{\circ}\text{C}$ 、220 r/min 的条件下分别培养至 OD 600 为 0.8; 再加入 IPTG 使其终浓度分别为 0.1、1、10 mmol/L, 诱导表达 12 h 后收集菌体, 超声波破碎, 离心后取上清做 SDS-PAGE 检测目的蛋白表达情况。从小量表达的结果中挑出表达效果最好的一个, 在该条件下做大量诱导表达。从母菌中取 1 mL 至 100 mL Amp (终浓度为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) LB 液体培养基中, 180 r/min 培养至 OD 600 为 0.8, 加入 IPTG 诱导 12 h 后收集菌体。8 000 r/min 离心 5 min, 用 1 \times PBS 重悬洗涤两遍。再用 4 mL 1 \times PBS 重悬, 并加入 1% Protease Inhibitor, 置于冰上, 用超声波破碎至澄清; 12 000 r/min 离心 5 min, 收集得到的上清即可用于过柱纯化。

1.2.5 *flightin* 表达上清过柱纯化 将待用的 1 \times PBS、稀释的蛋白样品、elution buffer 分别用 0.22 μm 滤膜过滤, 并在超声波中处理 30 min, 除去液体中的空气。用新注射器吸取 10 mL 1 \times PBS, 接上 GST 纯化柱子, 使液体通过层析柱流下平衡柱子, 控制流速为 1~2 mL/min。将适当稀释的蛋白样品用同样的方法过柱, 使目的蛋白吸附在层析柱上, 流速控制在 0.2~1 mL/min。然后, 用 5 mL Elution buffer 洗脱, 流速为 1~2 mL/min。过柱回收的液体用 Centrifugal Filter Devices (Amicon[®] Ultra-4) 超滤浓缩, 6 000 r/min、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 20 min, 超滤管中的液体即为纯化后的浓缩蛋

白。

1.2.6 *flightin* 多克隆抗体制备 将纯化后的蛋白用于免疫新西兰大白兔。第 1 次免疫取 500 μg 纯化后的蛋白与等量的弗氏完全佐剂, 充分混合后于背部皮内多点注射; 每隔 2 周取纯化后的蛋白与等量弗氏不完全佐剂混合, 进行 3 次加强免疫。第 4 次免疫后将大白兔颈动脉取血, 按常规方法制备抗血清。

1.2.7 Western bolt 鉴定 取 20 μg 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳, 电转印至 PVDF 膜上。转膜后用封闭液 (含 5% 脱脂牛奶的 TTBS) 封闭 2 h, 再用 TTBS 在摇床上洗涤 3 次, 每次 10 min。按 1:10 000 的比例加入一抗 (Anti-GST), 摇床上孵育 1~2 h; 去封闭液, 用 TBS 洗涤 3 次, 每次 10 min; 按 1:10 000 的比例加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG, 摇床孵育 1 h; 用 TBS 洗涤 3 次, 每次 10 min; 用 Western HRP Substrate 化学发光显色。

2 结果与分析

2.1 *flightin* 片段扩增与克隆

以长翅雌虫褐飞虱 cDNA 为模板, 用加过酶切位点的引物扩增得到褐飞虱 *flightin* 基因 ORF 全长及部分 3' 非编码区序列 (图 1:A)。通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳, 可以看到在 723 bp 处有明显的特异性条带, 与设计的片段长度大小相符。将此特异性条带切胶回收, 连接到 *pEASY-Blunt* 克隆载体, 并挑斑鉴定。同时, 测序克隆载体也同样验证了序列的正确性。序列长度为 723 bp, 与转录组测定一致。其中 *flightin* 开放阅读框 (ORF) 为 630 bp, 可编码含 209 个氨基酸残基的蛋白, 预测分子量分别为 25.49 ku。氨基酸序列比黑腹果蝇的 *flightin* 长 27 个 aa, 序列相似性为 49%。

2.2 *flightin* 重组表达载体构建

将 *pEASY-Blunt-flightin* 重组载体酶切, 经过 1% 的琼脂糖凝胶电泳, 在 723 bp 相应的大小有明显的条带 (图 1:B)。将酶切后的条带切胶回收后, 连接表达载体 pGEX-6P-1, 并将连接好的表达载体转化入表达菌株 Rosseta。通过菌落 PCR 鉴定, 1% 的琼脂糖凝胶电泳显示在相应大小有目的基因的片段, 表明表达载体序列构建成功 (图 1:C)。

2.3 *flightin* 重组蛋白的诱导表达和 western

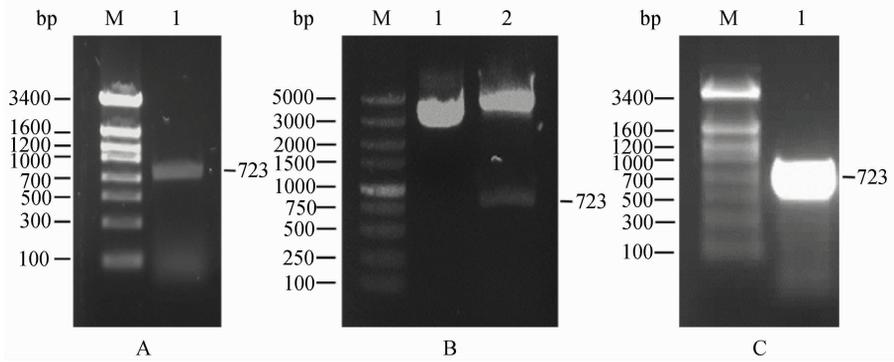


图 1 褐飞虱 *flightin* 基因克隆和表达载体构建

Fig. 1 Cloning of the *flightin* gene from the brown planthopper and construction of its expression vector

A. *flightin* 基因 PCR 扩增。M: DNA 分子量标准; 1: *flightin* 基因片段 PCR 产物。B. 重组克隆质粒 pEASY-Blunt-*flightin* 酶切鉴定。M: DNA 分子量标准; 1: 重组克隆质粒 pEASY-Blunt-*flightin*; 2: 重组克隆质粒 pEASY-Blunt-*flightin* 经 *Bam*H I 和 *Xho* I 双酶切。C. 重组表达质粒 pGEX-6P-1-*flightin* 菌落 PCR 鉴定。M: DNA 分子量标准; 1: 重组表达质粒 pGEX-6P-1-*flightin* 菌落 PCR 片段。

A. PCR amplification of *flightin* gene. M: DNA marker; 1: the product of PCR. B. double digestion of pEASY-Blunt-*flightin*. M: DNA marker; 1: pEASY-Blunt-*flightin*; 2: double digestion of pEASY-Blunt-*flightin*. C. PCR analysis of pGEX-6P-1-*flightin*. M: DNA marker; 1: the product of pGEX-6P-1-*flightin* PCR.

blotting 鉴定

在不同表达条件 (IPTG 浓度和诱导温度) 下分析蛋白表达情况。SDS-PAGE 显示, 在表达产物的沉淀和上清中 52 ku 处均可见到明显的表达蛋白。根据不同条件的实验结果, 发现第 7 泳道即 37℃, IPTG 浓度为 10 mmol/L, 诱导表达 12 h 时, 上清中 52 ku 处条带表达量最大 (图 2: A)。为了进一步验证 *flightin* 重组蛋白表达的正确性, 采用 GST 多抗对表达的菌裂解液上清进行验证, 以确定是否有 GST 融合蛋白的可溶表达。根据 western blotting 化学发光的结果, 在阳性对照和表达样品中均可见到明显的发光条带信号, 并且条带大小和预测的相同, 说明 GST-*flightin* 融合蛋白得到成功表达, 并且表达产物很大部分是可溶性的 (图 2: B), 这为进一步回收和利用表达产物提供了方便。

2.4 *flightin* 重组蛋白的纯化及多克隆抗体的制备

在 OD600、0.8、10 μmol/L IPTG、37℃、200 r/min、12 h 条件下做大量表达。将表达菌的裂解液上清样品用于 GST 过柱纯化并浓缩。利用 BCA 法测蛋白浓度, 标准曲线方程为: $y = 1.2785x + 0.0208$ ($R^2 = 0.9962$; y 为蛋白浓度: μg/μL, x 为吸光值: OD562), 测得 10 μL 浓缩蛋白的吸光值为 0.586, 带入公示计算得浓缩后蛋白浓度为 0.77

μg/μL。同时用牛血清白蛋白 (BSA) 法验证蛋白含量, 取 1 μL 纯化浓缩后的蛋白与不同梯度 (0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 μg) 的 BSA 蛋白作对比, 进行 SDS-PAGE 电泳, 以估测蛋白浓度。由图 3 可知, 1 号泳道为纯化样品, 样品纯度较高, 几乎没有杂带; 条带的粗细程度介于第 3、第 4 泳道之间, 所以 *flightin* 蛋白浓度为 0.6 ~ 0.8 μg/μL, 与 BCA 法测定的结果一致。将纯化后的蛋白用于免疫新西兰大白兔, 4 次免疫成功制备了抗血清。

2.5 用多克隆抗体检测不同发育阶段及不同翅型褐飞虱体中 *flightin* 的含量差异

取羽化后第 3 天的长、短翅褐飞虱成虫, 研磨测蛋白浓度后, 各取 10 μg 蛋白跑胶, 然后用 western blotting 检测蛋白在不同翅型褐飞虱中的表达差异 (图 4: A)。flightin 在 26 ku 处有明亮条带, 且只在长翅褐飞虱中检测到, 在短翅雌成虫中未检测到明显的表达条带。

进一步对卵、1 ~ 5 龄若虫、初羽化和羽化 3 d 成虫等不同发育阶段的褐飞虱体内蛋白进行 western blotting 分析, 在卵期, 若虫期和刚羽化的成虫并没有检测到 *flightin* 蛋白, 只有在成虫期开始后 *flightin* 蛋白才开始表达 (图 4: B)。这与我们解剖褐飞虱间接飞行肌在成虫期开始发育的情况

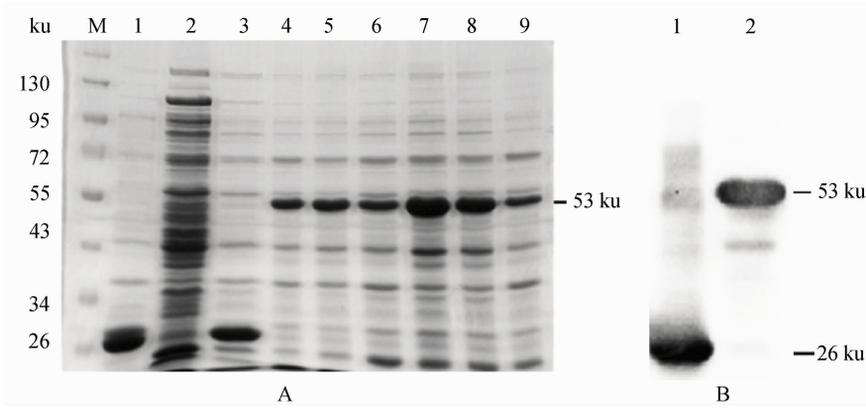


图2 *flightin* 基因在大肠杆菌中诱导表达及表达产物 western blotting 鉴定
 Fig. 2 Expression of *flightin* in *Escherichia coli* and identification of the expressed products using the antibody against GST

A. 在不同条件下诱导表达。M: 蛋白分子量标准; 1: 含表达质粒 pGEX-6P-1 表达菌裂解液上清; 2: Rosetta 空菌; 3: 含表达质粒 pGEX-6P-1 菌裂解后沉淀; 4~6: 含重组表达质粒 pGEX-6P-1-*flightin* 表达菌在 30℃, IPTG 浓度分别为 0.1、1.0、10 mmol/L 条件下分别诱导表达 12 h 菌裂解液上清; 7~9: 含重组表达质粒 pGEX-6P-1-*flightin* 表达菌在 37℃ IPTG 浓度分别为 0.1、1.0、10 mmol/L 条件下分别诱导表达 12 h 菌裂解液上清。

B. 重组蛋白用 GST 抗体进行的 western blotting 鉴定。M: 蛋白分子量标准; 1: 含重组表达质粒 pGEX-6P-1-*flightin* 菌裂解液上清; 2: 含空载体 pGEX-6P-1 表达菌裂解液上清。

A. expression of *flightin* in *E. coli*. M: DNA marker; 1: supernatant of pGEX-6P-1; 2: Rosetta; 3: subside of pGEX-6P-1; 4-6: supernatant of pGEX-6P-1-*flightin* expressed under the conditions of 30℃ and IPTG; 0.1, 1.0, 10 mmol/L; 7-9: supernatant of pGEX-6P-1-*flightin* expressed under the conditions of 37℃ and IPTG; 0.1, 1.0, 10 mmol/L.

B. identification of the recombinant protein by western blotting analysis using the antibody against GST. M: DNA marker; 1: supernatant of pGEX-6P-1-*flightin*; 2: supernatant of pGEX-6P-1.

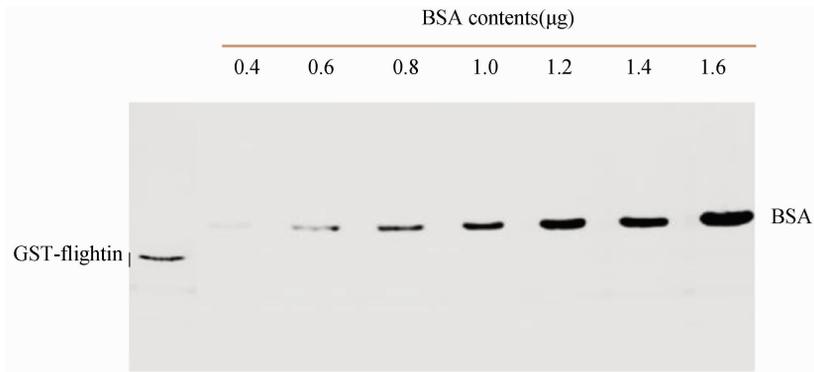


图3 纯化后 GST-*flightin* 融合蛋白的浓度测定

Fig. 3 Concentration evaluation of the purified GST-*flightin*

第 1 泳道为纯化后的 GST-*flightin*; 第 2~8 泳道为牛血清白蛋白含量梯度 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 μg。

First lane in the SDS-PAGE is the purified GST-*flightin*; lane 2-8 are the different contents of BSA (0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 μg).

是一致的,但与果蝇在蛹期开始表达有所不同。

3 讨论

flightin 蛋白最初由 Vigoreaux 等 (1993) 在果

蝇的间接飞行肌中发现。间接飞行肌是一组胸肌纤维,具有稳定的神经输入,细胞内钙水平保持较高水平。果蝇的翅具有振荡收缩能力并能高频率摆动,拉力的改变会影响间接飞行肌的延伸活化。

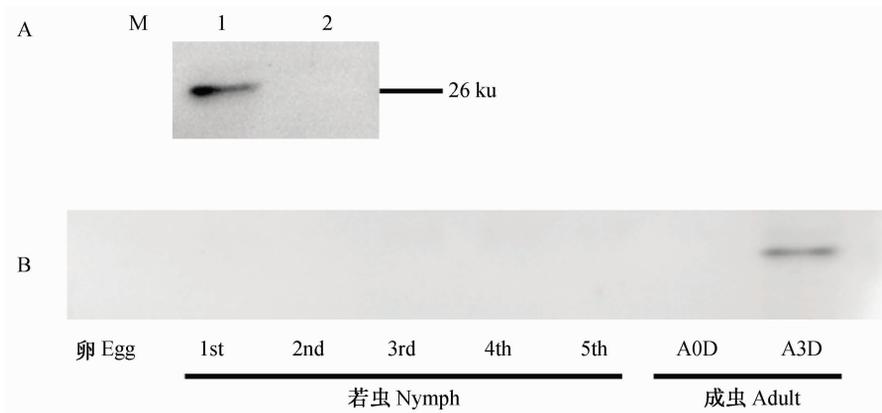


图 4 褐飞虱不同翅型和不同发育阶段体中 *flightin* 含量的 western blotting 分析

Fig. 4 Western blotting analysis of *flightin* in macropterous and brachypterous adults of the brown planthopper

A. 不同翅型褐飞虱体内 *flightin* 表达差异比较。M: 蛋白分子量标准; 1: 长翅型褐飞虱雌成虫; 2: 短翅型褐飞虱雌成虫。

B. 不同发育阶段 *flightin* 表达比较。卵, 若虫 1~5 龄, 初羽化和羽化 3 d 长翅型成虫。

A. comparison of *flightin* in macropterous and brachypterous adults. M: DNA marker; 1: macropterous female adults; 2: brachypterous female adults.

B. *flightin* expression at different developmental stages. egg, first to 5th instar nymphs (1st-5th), adults just after emergence (A0D) and 3 days after emergence (A3D).

这使得间接飞行肌 (indirect flight muscle, IFM) 可以自然频率控制翅/胸机械共振系统。在果蝇中 *flightin* 是仅出现在间接飞行肌上的一种新型蛋白, 大小为 20 ku (Vigoreaux *et al.*, 1993)。在完整的肌肉组织中, *flightin* 位于粗肌丝外侧, 并与肌球蛋白紧密结合共同调节肌肉收缩和伸展作用, 是控制间接飞行肌的重要蛋白 (Pringle, 1978)。

本文克隆了褐飞虱 *flightin* 基因, 将其成功表达, 与 GST 融合表达的蛋白部分是可溶的, 这为用 pull-down 技术检测褐飞虱 *flightin* 的互作蛋白提供了很好的基础。我们用纯化的蛋白制备了相应的抗体, 并利用制备的抗体, 对不同发育阶段和不同翅型褐飞虱进行了 western blotting 检测。我们发现 *flightin* 只在褐飞虱成虫期特异表达, 并且只在长翅型成虫中检测到其表达, 在短翅型雌成虫中没有检测到其表达。进一步解剖发现, 在这两种翅型的成虫中, 发育成熟的长翅型成虫具有发达的间接飞行肌, 而短翅型的间接飞行肌极度萎缩, 说明长翅型 *flightin* 表达量高于短翅型的结果可能主要是因为间接飞行肌的差异引起的, 这也是长短翅褐飞虱中 *flightin* 差异表达的原因。

褐飞虱是水稻上的重要害虫之一, 也是一种迁飞性害虫, 在我国大部分地区不能越冬。大量

迁入的褐飞虱对我国水稻产区粮食安全生产造成了严重威胁 (程遐年等, 2003)。*flightin* 与昆虫飞行肌密切相关, 是其飞行能力的重要调控因子, 同时这种蛋白在褐飞虱长短翅型成虫间的表达差异十分显著。目前对褐飞虱翅型分化的分子机制还不太清楚, 如果能从蛋白水平上分析褐飞虱长短翅的区别, 进而得出两种翅型的分化分子机理, 对褐飞虱的迁飞预警和防治将具有重大意义。

参考文献 (References)

- Barton B, Ayer G, Maughan DW, Vigoreau JO, 2007. Site directed mutagenesis of *Drosophila* *flightin* disrupts phosphorylation and impairs flight muscle structure and mechanic. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 28:219-230.
- Contompasis JL, Nyland LR, Maughan DW, Vigoreaux JO, 2010. *Flightin* is necessary for length determination, structural integrity, and large bending stiffness of insect flight muscle thick filaments. *J. Mol. Biol.*, 2(395):340-348.
- Pringle JWS, 1978. Stretch activation of muscle: function and mechanism. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 201:107-130.
- Reedy MC, Bullard B, Vigoreaux JO, 2000. *Flightin* is essential for thick filament assembly and sarcomere stability in *Drosophila* flight muscles. *J. Cell Biol.*, 151(7):1483

- 1499.

Vigoreaux JO, Saide JD, Valgeirsdottir K, Pardue LM, 1993.

Flightin, a novel myofibrillar protein of *Drosophila* stretch-activated muscles. *J. Cell Biol.*, 121(3):587-598.

Xue J, Bao YY, Li BL, Cheng YB, Peng ZY, Liu H, Xu

HJ, Zhu ZR, Lou YG, Cheng JA, Zhang CX, 2010.

Transcriptome analysis of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *PLoS ONE*, 5(12):e14233.

程遐年, 吴进才, 马飞, 2003. 褐飞虱研究与防治. 北京: 中国农业出版社. 248-256.