棉铃虫活化的蛋白激酶 C 受体 1(*RACK1*)基因的分子鉴定*

侯元春 尹新明 安世恒 杜孟芳**

(河南农业大学植物保护学院 郑州 450002)

摘 要 活化的蛋白激酶 C 受体 l(receptor for activated C kinase 1,RACKl)广泛分布于真核生物和原核生物中,在生物体内具有极其重要的调节功能。本实验利用 RT-PCR 和 RACE 的方法扩增获得了棉铃虫 *Helicoverpa armigera*(Hübner) *RACK1* 基因全序列,序列分析结果表明,该基因开放阅读框为 957 bp,编码 319 个氨基酸残基。5′端非编码区长为 36 bp,3′端非编码区长为 112 bp。发育时相表达发现 *RACK1* 基因在棉铃虫的蜕皮时期大量表达,进一步的激素处理实验发现,蜕皮激素诱导 *RACK1* 基因表达,保幼激素和饥饿抑制 *RACK1* 基因表达。这些研究结果为进一步研究 *RACK1* 基因的功能奠定基础。

关键词 棉铃虫, *RACK1* 基因, 分子鉴定, 激素调控

Molecular identification of *Helicoverpa armigera* receptor for activated C kinase 1 gene

HOU Yuan-Chun YIN Xin-Ming AN Shi-Heng DU Meng-Fang**

(College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract The receptor for activated C kinase 1 (RACK1) has an important regulatory function and is ubiquitous in plants and animals. The receptor for activated C kinase 1 cDNA of *Helicoverpa armigera* (Hübner) was isolated using the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and rapid amplification of cDNA ends (RACE). Nucleotide sequence analysis revealed that the open reading frame (ORF) of *RACK1* was 957 bp in size and encoded 319 amino acid residues. A 3′untranslated region (UTR) of *RACK1* contained 112 nucleic acids and a 5′ UTR contained 36 nucleic acids. Temporal expression analysis found that *RACK1* was up-regulated during molting. Hormone-challenge experiments revealed that *RACK1* was up-regulated by molting hormones and inhibited by a juvenile hormone analogue and starvation. These results provide a fountain for further study of the function of *RACK1*.

Key words *Helicoverpa armigera*, *RACK1*, molecular identification, hormonal regulation

活化的蛋白激酶 c 受体 1(receptor for activated C kinase 1,RACK1)属于一类含有 WD-40 重复结构蛋白家族的亚家族,广泛分布于真核生物和原核生物中(Smith *et al.*, 2000)。RACK1 蛋白首先在 1991 年被发现,进一步研究认为 RACK1 是活化的蛋白激酶 C 的受体,作为一种重要的穿梭蛋白,对 PKC 进行正确的定位(Daria *et al.*,1991;Ron *et al.*, 1994)。

除了作为 PKC 的受体外,近年来的研究也发现 RACK1 蛋白本身也是一个磷酸化蛋白,是 Src 酪氨酸蛋白激酶的一种重要底物,向下传递生长因子受体酪氨酸蛋白激酶的信号,参与 Src 功能的调节和细胞生长的调节,作为支架蛋白在多个信号转导途径中起重要作用,例如模式生物拟南芥中,RACK1 在多种生理生化过程中起到重要的调节作用,在脊椎动物中枢神经系统中参与多种信号通路的调控。在果蝇的早期胚胎发生过程中,中胚层和内胚层的细胞中都有很强的表达(Vani *et al.*,1997;

* 资助项目:河南省重点科技攻关(092102110183)和创新人才(074200510018)资助项目。

**通讯作者,E-mail:dumengfang@ sohu.com

收稿日期:2011-03-18,接受日期:2011-05-26

Ashique *et al.*, 2006;Chen *et al.*,2006)等。

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* Hübner 是一种世界性农业害虫,危害棉花、玉米、小麦等多种农作物,广泛分布于非洲、亚洲、澳大利亚 、太平洋和欧洲等地区。人们对其进行了大量的遗传和分子水平的研究,但目前尚未发现对其 *RACK1* 基因的研究。本试验采用 RT-PCR、RACE、荧光定量 PCR 的方法,对棉铃虫 *RACK1* 基因进行克隆,并研究其在不同发育期的表达和转录情况,为进一步探究该基因在棉铃虫体内的功能奠定基础。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫与试剂

棉铃虫为河南农业大学实验室饲养,温度(26 ±1)℃,光周期 14 h/d。取不同发育时期的棉铃虫,立即放入离心管中,加入 RNAiso Reagent,然后置于 -40℃ 保存备用。pMD19 - T 载体购自 TaKaRa 公司,大肠杆菌 JM109 为本实验室保存。总 RNA 抽提试剂(RNAiso Reagent)、3′ - Full RACE 试剂盒、*rTaq*DNA 聚合酶、pMD19 - T 载体、荧光定量试剂盒(SYBR Primer Script RT-PCR Kit)购自 TaKaRa 公司;反转录试剂盒(RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit)为 MBI 公司产品;DL2000 Marker 购自 Solarbio 公司;DNA 凝胶回收试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司;保幼激素类似物(methoprene acid)、蜕皮激素(20 - 羟基蜕皮酮 20 - Hydroxyecdysone,简称 20E)均购自 Sigma 公司;其它均为国产或进口分析纯试剂。

1.2　试验方法

1.2.1　总 RNA 的提取　将 5 龄幼虫放入经 DEPC 处理过的 Eppendorf 管中匀浆,按照 TaKaRa RNAiso Reagent 试剂说明书提取总 RNA。

1.2.2　引物设计　对其它昆虫 *RACK1* 的核苷酸序列进行同源比对,在保守区设计并合成引物。本研究所用引物及其用途见表 1,引物由上海博尚生物技术有限公司合成。

1.2.3　RT-PCR 扩增棉铃虫 *RACK1* 基因片断　根据反转录试剂盒说明,以 5 龄幼虫总 RNA 为模板合成 cDNA 第 1 链,随后以合成的 cDNA 第 1 链为模板,利用 GP1 和 GP2 引物进行 PCR 扩增。PCR 反应条件为:94℃ 变性 3 min;随后 40 个循环的扩增,扩增条件为 94℃ 1 min,60℃ 50 s,72℃ 1 min;最后 72℃ 10 min。

表 1　引物序列列表

Table1　Lists of the primer sequences

引物名称 Names	引物序列 Primer sequences
P1	5′-GATGTCCACAGTGACTGGG -3′
P2	5′- CTTTCCAGATCCCAGATCT-3′
P3	5′- ACTGGCTGTGTGCTGCCTTC-3′
P4	5′-AAGATCTGGGATCTGGAAAG-3′
P5	5′-GCCATCGTTCAAGTCCCAGA -3′
P6	5′-GCCAGAGTGACCAAGGTGG-3′
P7	5′- ACCTTACCAACTGCAAGCTG -3′
P8	5′- TGATGTCATTGTGGTCCA -3′
18SrRNA F	5′-CCGCTGAAACTCCTTCGTGC-3′
18SrRNA R	5′-TGTCGGTCCGAAGACCTCAC-3′

1.2.4　基因克隆和序列测定　利用 1% 琼脂糖凝胶电泳对上述 PCR 产物进行分析,并纯化目的片段,基因克隆参照 Sambrook 和 Russeu(2002)的方法进行。序列测定由大连宝生物工程有限公司完成。

1.2.5　引物 3′RACE 和 5′RACE　为了获得棉铃虫 *RACK1* 基因完整 cDNA 序列,根据上述获得的基因序列,设计合成基因特异性引物 P3 和 P4 并分别与 3′RACE 试剂盒中的 Outer Primer 和 Inner Primer 引物配对进行套式 PCR 扩增,设计合成基因特异性引物 P5 和 P6 分别与 5′RACE 试剂盒中的 Outer Primer 和 Inner Primer 引物配对也进行套式 PCR 扩增。3′RACE 和 5′RACE 反应条件参照试剂盒说明书进行。3′RACE 和 5′RACE 产物的电泳分析、基因克隆和序列测定方法同 1.2.4。

1.2.6　序列分析　核苷酸序列分析采用 ChromasPro 软件,氨基酸序列分析采用生物信息学在线工具 http://www.expasy.org/tools/pi_tool.html,同源性比较采用 NCBI 中的 BLAST 工具,序列多重联配采用 ClustalW 和 Genedoc 软件。

1.2.7　实时荧光定量 PCR　Real-time PCR 采用相对定量的方法计算,以棉铃虫 18SrRNA 为内参基因,在 Mastercycler® ep realplex real-time PCR 检测系统上进行操作,反应条件如下:95℃ 预变性 10 s,95℃ 15 s,55℃ 15 s,68℃ 20 s,共 40 个循环;

95℃ 15 s,60℃ 15 s,95℃ 15 s 用于记录溶解曲线。基因的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法(Livak and Schmittgen,2001)计算。

1.2.8 *RACK1* 基因在棉铃虫幼虫不同发育期的表达 利用合成的不同发育期(5 龄蜕皮期至化蛹后第 2 天)棉铃虫幼虫 cDNA 第一链作为模板,以 P7 和 P8 为引物进行 Real-time PCR 扩增,以 18S rRNA 为内参基因。相对定量计算方法同 1.2.5。

1.2.9 激素对 *RACK1* 基因转录水平的影响 利用丙酮先将保幼激素类似物(methoprene acid)稀释至浓度为 5 μg·μL^{-1}的 M1 溶液,然后取 1 μL M1 溶液稀释至终浓度为 20 ng·μL^{-1}的 M2 溶液(冯从经等,2004),保幼激素注射量为 40 ng/头。对照为丙酮溶液。

用 95% 酒精将蜕皮激素(20 – 羟基蜕皮酮,即 20 – E)稀释成 20E1 溶液,然后取 1 μL 20 – E1 溶液,加入 200 μL ddH_2O,获得终浓度为 50 ng·μL^{-1}20E2 溶液(Zou and Fingerman,1999;Sun and Song,2006),蜕皮激素注射量为 100 ng/头。对照为 0.5% 酒精。

注射时,取 2 μL 注射液注射 6 龄 2 d 的棉铃虫幼虫。分别取注射激素后不同时间段及对照幼虫各 1 头提取 RNA。Real-time PCR 操作和计算方法 1.2.5。

1.2.10 饥饿处理 对 6 龄 2 d 棉铃虫幼虫进行饥饿处理,处理时间分别为 6、12、24 h,随后各取 1 头幼虫进行 RNA 提取。反转录与 Real Time PCR 反应按照试剂盒(SYBR Primer Script RT-PCR Kit)使用说明进行。Real-time PCR 操作和计算方法 1.2.5。

2 结果与分析

2.1 *RACK1* 基因序列的测定

对 PCR 片段、3′RACE 和 5′RACE 所获得的片段进行拼接,得到 *RACK1* 基因的全长序列(Genbank accession JF979035)(图 1)。序列分析发现,*RACK1* 基因全长 1 108 bp,开放阅读框包含 957 个核苷酸,预计编码 319 个氨基酸残基。同源性分析结果表明棉铃虫 *RACK1* 氨基酸序列与其它昆虫的 *RACK1* 氨基酸序列具有很高的一致性(图 2),高达 85% 以上,其中与甜菜夜蛾和小菜蛾的一致性最高(高达 98%)。*RACK1* 在不同昆虫之间很高的一致性表现出其在进化过程中的保守性。

```
                                                                gttggtgcttagccgctcagcaagtttttcgtgaag
ATGACTGAAACACTGAAGCTTAGAGGAACCCTCTGCGGCCACAATGGCTGGGTTACCCAAATTGCGACCAACCCTAAATACCCTGACATGATT
M  T  E  T  L  K  L  R  G  T  L  C  G  H  N  G  W  V  T  Q  I  A  T  N  P  K  Y  P  D  M  I
TTGTCTTCTTCCCGAGACAAAACCCTCATCGTATGGAAGCTGACCAGAGACGAGACTAACTACGGTGTACCGCAGAAGCGTCTGTACGGTCAC
L  S  S  S  R  D  K  T  L  I  V  W  K  L  T  R  D  E  T  N  Y  G  V  P  Q  K  R  L  Y  G  H
TCTCACTTCATCTCGGACGTTGTGCTCTCCAGTGACGGAAACTACGCTCTGTCTGGCTCCTGGGACAAGACCCTGCGTCTGTGGGATCTTGCT
S  H  F  I  S  D  V  V  L  S  S  D  G  N  Y  A  L  S  G  S  W  D  K  T  L  R  L  W  D  L  A
GCCGGCAAGACCACCAGGCGTTTCGAAGACCATACTAAGGATGTCCTCTCCGTGGCGTTCTCAGTTGACAACCGTCAGATCGTGTCTGGTTCC
A  G  K  T  T  R  R  F  E  D  H  T  K  D  V  L  S  V  A  F  S  V  D  N  R  Q  I  V  S  G  S
CGAGACAAGACCATCAAGCTGTGGAACACACTGGCTGAGTGCAAGTACACCATCCAGGATGATGGCCACAGTGACTGGGTGTCCTGCGTCCGC
R  D  K  T  I  K  L  W  N  T  L  A  E  C  K  Y  T  I  Q  D  D  G  H  S  D  W  V  S  C  V  R
TTCTCCCCCAACCATGCCAACCCCATCATCGTGTCTGCTGGTTGGGACCGCACCGTTAAGGTCTGGCACCTTACCAACTGCAAGCTCAAGATC
F  S  P  N  H  A  N  P  I  I  V  S  A  G  W  D  R  T  V  K  V  W  H  L  T  N  C  K  L  K  I
AACCACCTTGGTCACTCTGGCTACCTGAACACAGTCACCGTCTCCCCTGATGGTTCCCTCTGCGCCTCCGGTGGCAAGGACATGAAGGCCATG
N  H  L  G  H  S  G  Y  L  N  T  V  T  V  S  P  D  G  S  L  C  A  S  G  G  K  D  M  K  A  M
CTCTGGGACTTGAACGATGGCAAACATCTGCACACCCTGGACCACAATGACATCATCACATCATTGTGCTTCTCGCCCAACAGATACTGGCTG
L  W  D  L  N  D  G  K  H  L  H  T  L  D  H  N  D  I  I  T  S  L  C  F  S  P  N  R  Y  W  L
TGTGCTGCCTTCGGACCTTCCATCAAGATCTGGGATCTGGAAAGCAAGGAGATGGTTGAAGAGCTCAGGCCTGAGATCATCAACCAGACCCAG
C  A  A  F  G  P  S  I  K  I  W  D  L  E  S  K  E  M  V  E  E  L  R  P  E  I  I  N  Q  T  Q
ACCTCCAAGTCAGACCCACCCCAGTGCTTGTCTCTGGCGTGGTCCACAGACGGTCAGACCCTCTTCGCTGGCTACTCCGACAACATCATCAGA
T  S  K  S  D  P  P  Q  C  L  S  L  A  W  S  T  D  G  Q  T  L  F  A  G  Y  S  D  N  I  I  R
GTCTGGCAGGTGTCAGTCTCAGCGCGATAAggagctaccgaaacttagtttcatttatttttgtgctacttatcctgtaaactgcctgactgt
V  W  Q  V  S  V  S  A  R
aaggattaataagagatggaattgtttgactaaaaaaaaaaaaaaa
```

图 1 棉铃虫 *RACK1* 基因核苷酸和氨基酸序列

Fig. 1 The nucleotide and amino acid sequences of *Helicoverpa arimgera RACK1*

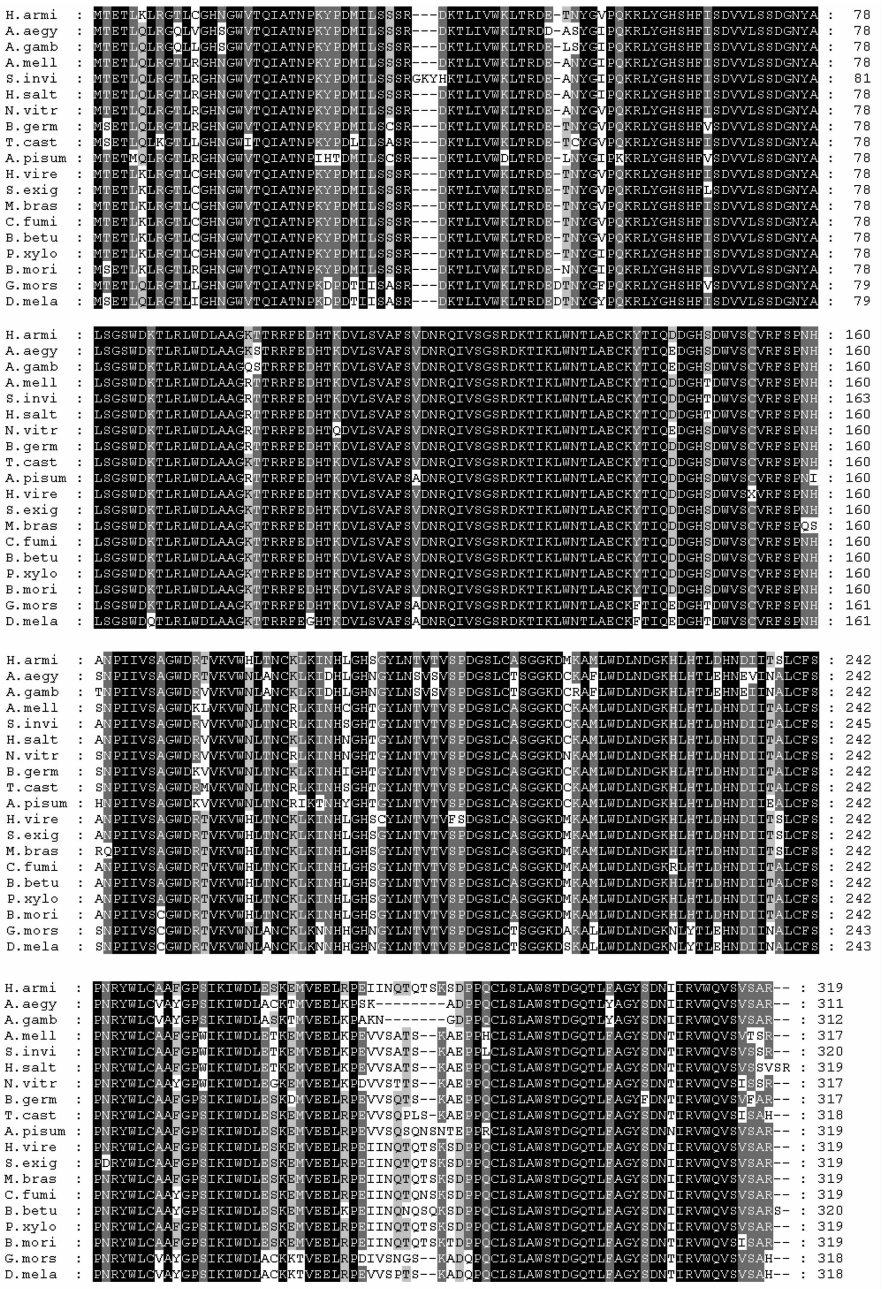

图 2　棉铃虫 *RACK1* 氨基酸与其它昆虫 *RACK1* 氨基酸的多重联配

Fig. 2　Amino acid sequence alignment of *Helicoverpa armigera RACK1* and other insect *RACK1*s

黑色阴影表示氨基酸 100% 一致,灰色表示 80% 一致,白色表示 80% 以下一致。

Amino acids 100% identity are in black box, 80% identity in grey box and identity below 80% in white box.

棉铃虫 *Helicoverpa armigera*(H. armi);小菜蛾 *Plutella xylostella*(P. xylo);甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*(S. exig);云杉卷叶蛾 *Choristoneura fumiferana*(C. fumi);美国斑点蛾 *Biston betular*ia(B. betu);甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae*(M. bras);烟蚜夜蛾 *Heliothis virescens*(H. vire);家蚕 *Bombyx mori*(B. mori);德国蜚蠊 *Blattella germanica*(B. germ);赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*(T. cast);蜜蜂 *Apis mellifera*(A. mell);丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis*(N. vitr);印度跳蚁 *Harpegnathos saltator*(H. salt);红火蚁 *Solenopsis invicta*(S. invi);豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum*(A. pisu);伊蚊 *Aedes aegypti*(A. aegy);冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*(A. gamb);刺舌蝇 *Glossina morsitans* morsitans(G. mors);果蝇 *Drosophila melanogaster*(D. mela).

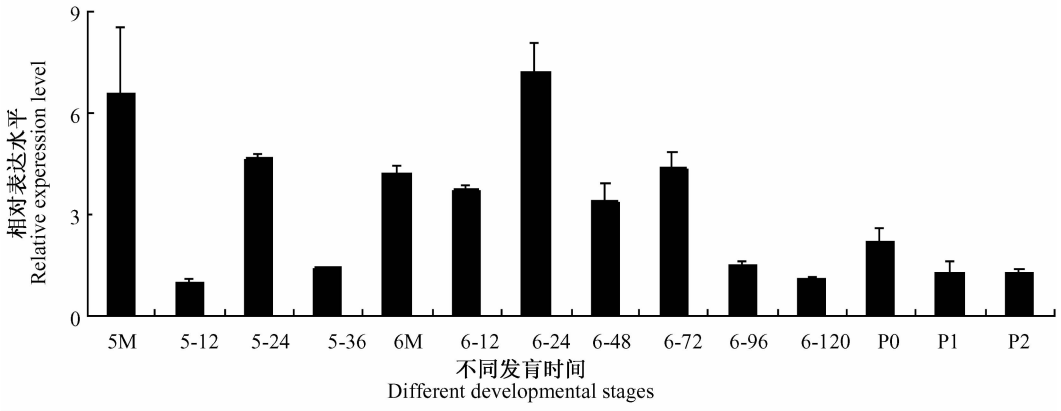

图 3 *RACK1* 基因的时序表达

Fig. 3 The temporal expression analysis of *Helicoverpa armigera RACK*1

5M:5 龄蜕皮期;5 – 12:5 龄 12 h;5 – 24:5 龄 24 h;5 – 36:5 龄 36 h;6M:6 龄蜕皮期;6 – 12:6 龄 12 h;6 – 24:6 龄 24 h;6 – 48:6 龄 48 h;6 – 72:6 龄 72 h;6 – 96:6 龄 96 h;6 – 120:6 龄 120 h;P0:化蛹期;P1:化蛹后第 1 天;P2:化蛹后第 2 天。

5M:molting stage of 5th instar; 5 – 12:12 h larve of 5th instar; 5 – 24:24 h larve of 5th instar; 5 – 36:36 h larve of 5th instar;6M:molting stage of 6th instar; 6 – 12:12 h larve of 6th instar;6 – 24:24 h larve of 6th instar; 6 – 48:48 h larve of 6th instar; 6 – 72:72 h larve of 6th instar; 6 – 96:96 h larve of 6th instar;6 – 120:120 h larve of 6th instar; P0:0 h pupa; P1:1 d pupa; P2:2 d pupa.

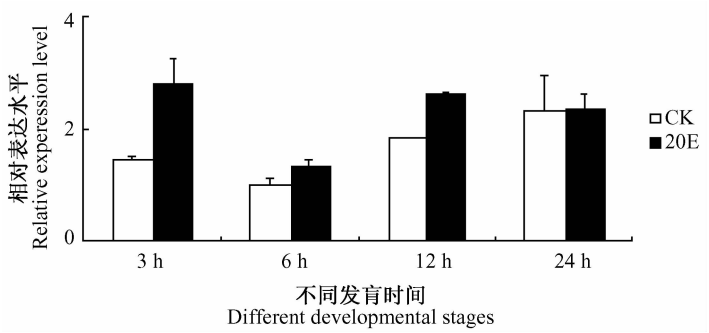

图 4 蜕皮激素对 *RACK1* 表达的影响

Fig. 4 The effect of 20E on the *RACK1* expression

CK:酒精对照 alcohol control; 20E:蜕皮激素 molting hormone.

2.2 *RACK1* 基因在棉铃虫不同发育时期的转录表达

利用荧光定量 PCR 分析 *RACK1* 基因在棉铃虫不同时期的表达结果显示(图 3),*RACK1* 基因总是在蜕皮过程中表达量升高,暗示着 *RACK1* 基因可能参与棉铃虫的蜕皮过程。

2.3 蜕皮激素对 *RACK1* 基因转录的影响

利用蜕皮激素处理棉铃虫后检测 *RACK1* 基因的表达,结果发现,从处理 3 h 到 12 h 蜕皮激素均诱导 *RACK1* 的表达(图 4)。

2.4 保幼激素对 *RACK1* 基因转录的影响

利用保幼激素类似物 methoprene 处理棉铃虫后检测 *RACK* 基因的表达,结果发现,从处理 3 h 到 12 h 蜕皮激素均显著抑制 *RACK1* 基因的表达(图 5)。

2.5 饥饿对 *RACK1* 基因转录的影响

饥饿对棉铃虫 *RACK1* 基因转录的影响分析显示(图 6),在棉铃虫开始取食时对棉铃虫进行饥饿处理可以显著抑制 *RACK1* 的转录,从饥饿 6 h

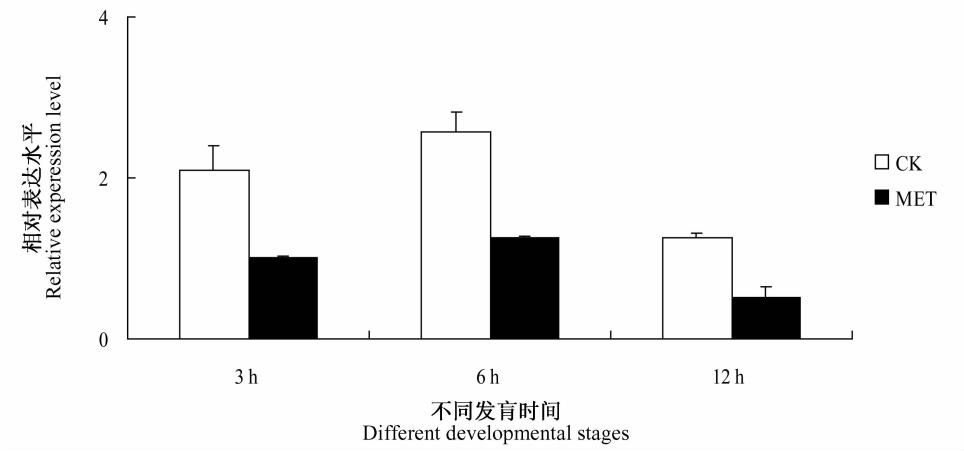

图 5　保幼激素对 *RACK1* 表达的影响

Fig. 5　The effect of methoprene on the *RACK1* expression

CK:丙酮对照 acetone control; MET:保幼激素类似物 juvenile hormone analogue.

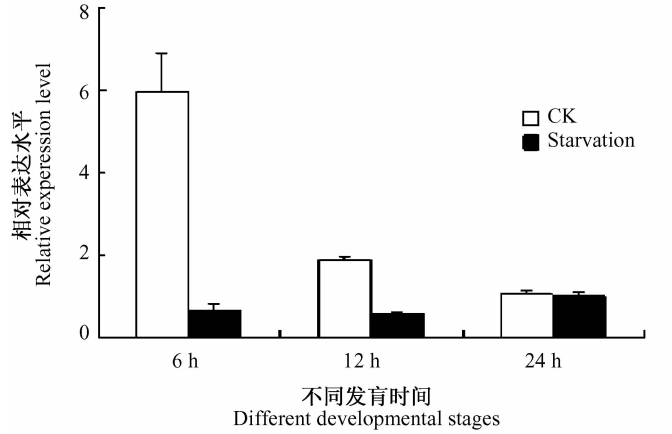

图 6　饥饿对 *RACK1* 基因转录的影响

Fig. 6　The effect of starvation on *RACK1* expression

CK:空白对照 blank control; Starvation:饥饿处理 treatment with starvation.

开始一直持续到 12 h,*RACK1* 的转录明显被抑制。

3　讨论

RACK1 是 WD－40 蛋白家族中的一个成员,是一种分子量为 36 ku 的 G 蛋白 β 亚单位的同族体(Van der Voorn and Ploegh, 1992; Ron *et al.*, 1994)。RACK1 作为 PKC 的受体蛋白在多个信号转导途径中起重要作用(Chen *et al.*,2006)。除了与 PKC 相互作用外,RACK1 还与酪氨酸激酶相互作用,是 Src 酪氨酸蛋白激酶的一种重要底物,向下传递生长因子受体酪氨酸蛋白激酶的信号,可能调控细胞生长(Chang, 2002)。在大鼠中,RACK1 蛋白的表达与胚胎着床及蜕膜化过程密切相关(郭淑华和潘志芳,2006)。爪蟾 *RACK1* 基因在多种组织中都有很强的表达,并且与头部的分化有关(Kwon *et al.*,2001)。在文昌鱼的胚胎发育过程中,*RACK1* 主要在分化中的神经管和体节胚层中表达,在文昌鱼的体节和肌肉的分化,以及某些成体组织中也发挥重要作用(黄向炜等,2007)。目前对 *RACK1* 基因的研究和认识越来越多,研究者普遍认为 *RACK1* 基因在诸多重要的生物反应过程中担任中心角色。

本研究利用 RT-PCR 及 RACE 的方法克隆了 *RACK1* 基因,序列分析结果显示出 *RACK1* 氨基酸

序列在昆虫中非常保守,其一致性高达 85% 以上,即使与一些哺乳动物如老鼠、人等的 *RACK1* 基因进行比对,其编码的氨基酸一致性也高达 80% 以上。这种高的一致性说明了 *RACK1* 基因在进化过程中是很保守的。

对于无脊椎动物的昆虫来说,蜕皮是一个生物学奇迹,也是目前昆虫生理生化研究的重点和难点。本研究分析了 *RACK1* 在棉铃虫中的时序的表达,发现该基因的表达与蜕皮激素的滴度变化相一致,推测可能是受蜕皮激素调控,进一步的激素处理也证实蜕皮激素诱导 *RACK1* 基因的表达,而保幼激素则抵消蜕皮激素对 *RACK1* 基因的诱导作用。实际上有研究表明蜕皮激素在作用的过程中激活 PKC 的活性(Sun and Song,2006),PKC 要起作用必须要与 RACK1 结合,通过 RACK1 进行信号的传递,在本实验中 *RACK1* 基因的表达与蜕皮激素的滴度变化相一致也就不奇怪了。本实验尽管已经克隆了 *RACK1* 基因,并鉴定出了一些基本特性,但要阐明 RACK1 的详细功能还需进一步的研究。

参考文献(References)

Ashique AM, Kharazia V, Yaka R, Phamluong K, Peterson AS, Ron D, 2006. Localization of the scarfolding protein RACKl in the developing and adult mouse brain. *Brain Res.*, 1069(1):31—38.

Chang BY, Harte RA, Cartwright CA, 2002. RACK1:a novel substrate for the Src protein-tyrosine kinase. *Oncogene*, 21(50):7619—7629.

Chen JG, Temple B, Liang J, Guo J, Alonso JM, Ecker JR, Jones AM, 2006. RACKl mediates multiple hormone responsiveness and developmental processes in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.*, 57:2697—2708.

Daria M, Hanita K, Jamie L, 1991. Identification of intracellular receptor proteins for activated protein kinase C. *PANS*, 88(9):3997—4000.

Kwon HJ, Bae S, Son YH, Chung HM, 2001. Expression of the *Xenopus* homologue of the receptor for activated C-kinase 1(RACK1) in the *Xenopus* embryo. *Dev. Genes Evol.*, 211(4):195—197.

Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods*, 25(4):402—408.

Ron D, Chen CH, Caldwell J, Jamieson L, Orr E, Mochly-Rosen D, 1994. Cloning of an intracellular receptor for protein kinase C: a homolog of the beta subunit of G proteins. *PNAS*, 91(3):839—843.

Sambrook J, Russeu DW, 2002. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd(ed.). NY: Cold Spring Harbor Loboratory Press. 84—87.

Smith NA, Singh SP, Wang MB, Stoutjesdijk PA, Green AG, Waterhouse PM, 2000. Total silencing by intron-spliced hairpin RNAs. *Nature*, 407:319—320.

Sun XP, Song QS, 2006. PKC-mediated USP phosphorylation is required for 20E-induced gene expression in the salivary glands of *Drosophila melanogaster*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 62(6802):116—127.

Van der Voorn L, Ploegh HL, 1992. The WD – 40 repeat. *FEBS Lett.*, 307(2):131—134.

Vani K, Yang G, Mohler J, 1997. Isolation and cloning of a *Drosophila* homolog to the mammalian RACKl gene, implicated in PKC-mediated signaling. *BBA-Mol. Cell Res.*, 1358(1):67—71.

Zou E, Fingerman M, 1999. Pattems of N-acetyl-beta-glucosaminidase isoenzymes in the epidermis and hepatopancreas and induction of N-acetyl-beta-glucosaminidase activity by 20 – hydroxyecdysone in the fiddler crab, *Uca pugilator*. *Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 124(3):345—349.

冯从经,戴华国,符文俊,2004. 保幼激素类似物及蜕皮甾类对亚洲玉米螟幼虫酚氧化酶活性的影响. 昆虫学报,47(5):562—566.

郭淑华,潘志芳,2006. *RACK1* 在大鼠子宫中的表达. 山东大学学报,44(12):1209—1212.

黄向炜,张伟,李忻怡,张晓辉,李宝钧,毛炳宇,张红卫,2007. 文昌鱼 *RACK1* 基因在胚胎发育中的表达. 中国科学,37(3):287—292.