

烟粉虱 MED 隐种 TRP 基因全长 cDNA 克隆及生物信息学分析*

李倩^{1,2**} 吕志创² 李子玲¹ 万方浩^{2***}

(1. 广西大学农学院, 南宁 530004; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点研究室, 北京 100193)

摘要 【目的】近几年,昆虫温度适应的感知机理备受研究者的关注。由瞬时感受器离子通道(Transient receptor potential, TRP)介导的温度感知系统是影响昆虫温度感知的关键组成。研究温度感知机制关键调控因子的功能可为明确温度感知以及温度适应调控机理提供理论依据。TRP具有感知高温、低温以及在适温范围内温度选择等功能,对昆虫感知温度有重要的作用。【方法】本研究以烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius)Mediterranean(MED)隐种为研究对象,采用反转录PCR(Reverse transcription PCR, RT-PCR)和cDNA末端快速扩增PCR(Rapid amplification of cDNA ends PCR, RACE-PCR)技术。【结果】首次克隆获得烟粉虱 MED 隐种 TRP 基因的 cDNA 全长序列,命名为 *BtTRP*。结果表明,该基因含有一个 3 501 bp 的开放阅读框,编码 1 166 个氨基酸,其编码产物有 6 次跨膜结构,属于瞬时感受器离子通道家族成员。同源性比较分析表明, *BtTRP* 与豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 和欧洲熊蜂 *Bombus terrestris* 的 TRP 编码的氨基酸序列的一致性较高,分别为 75%和 71%。【结论】该结果为进一步明确 *BtTRP* 在烟粉虱温度感知中的作用奠定基础。

关键词 烟粉虱, TRP, 温度感知, 基因克隆

Molecular cloning and bioinformatics analysis of the *Bemisia tabaci* Mediterranean (MED) transient receptor potential (TRP) gene

LI Qian^{1,2**} LÜ Zhi-Chuang² LI Zi-Ling¹ WAN Fang-Hao^{2***}

(1. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530004, China; 2. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract [Objectives] Recently, researchers have paid more attention to the insect temperature sensing mechanism of which the transient receptor potential (TRP) is one of key components. Studying the temperature sensing mechanism will provide a theoretical basis for understanding the regulatory mechanism involved in temperature adaptation. TRP plays important roles in perceiving temperature, such as avoiding extreme temperatures and choosing the optimum temperature. [Methods] In the present study, we used 3' RACE and 5' RACE to isolate the TRP gene cDNA sequence from the *Bemisia tabaci* (Gennadius) Mediterranean (MED) cryptic species, and bioinformatics to characterize the TRP genes molecular structure and analyze its phylogenetic relationships. [Results] The TRP gene of *B. tabaci* MED, named *BtTRP*, had an open reading frame of 3 501 bp, encoding 1 166 amino acids. The encoded products included 6 transmembrane structures, which are one of the features of transient receptor ion channels. *Bemisia tabaci* MED *BtTRP* displayed 75% and 71% similarity with that of *Acyrtosiphon pisum* (Harris) and *Bombus terrestris* (Linnaeus), respectively. [Conclusion] These results provide basic information for further study of the *BtTRP* gene function underlying *B. tabaci* MED temperature perception, and provide a theoretical basis for understanding the temperature perception of insects and their adaptability.

Key words *Bemisia tabaci*, TRP channel, thermoreceptor, gene cloning

* 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31100269); 973 计划项目 (2009CB119200); 公益性行业(农业)科研专项 (201303019)

**第一作者 First author, E-mail: lqbutterfly@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: wanfanghao@caas.cn

收稿日期 Received: 2014-01-29, 接受日期 Accepted: 2014-12-29

烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 属半翅目 Hemiptera, 粉虱科 Aleyrodidae, 小粉虱属 *Bemisia*, 是多食性的刺吸性害虫, 主要分布在热带和亚热带地区。烟粉虱是一个包含 30 个以上隐种的物种复合体 (Perring 2001 ;De Barro *et al.*, 2011 ; Hu *et al.*, 2011 ; 刘树生, 2012), 其中烟粉虱 MED (Mediterranean) 隐种 (同“Q 型烟粉虱”) 起源于地中海 (Dinsdale *et al.*, 2010 ;De Barro *et al.*, 2011 ;Hu *et al.*, 2011), 具有强入侵性, 现已广泛分布于世界各地, 给许多国家和地区的农作物造成了毁灭性的灾害 (Simon *et al.*, 2003 ; Delatte, 2005)。2003 年, 在中国云南昆明首次发现烟粉虱 MED 隐种 (褚栋等, 2005), 随后在北京、河南、浙江等地相继发生并猖獗危害 (Chu, 2006), 现几乎分布于全国各个省市 (Hu *et al.*, 2011)。

烟粉虱入侵并成功扩张的机制包括多方面、多层次的内容 (Wan *et al.*, 2009), 而在全球变化的环境下, 生态适应是其关键环节之一 (万方浩等, 2005)。生态适应涉及的因素主要包括生物因素和非生物因素, 在非生物因素中, 温度是影响其种群动态和扩散分布的重要因素 (Olivier *et al.*, 2007 ; Deutsch *et al.*, 2008)。已有研究表明, 烟粉虱入侵机制与其温度适应性密切相关 (Berlinger *et al.*, 1996 ; Cui *et al.*, 2008 ; Yu *et al.*, 2012)。MED 隐种对温度具有较强的抵抗力是其能扩散为全世界重要害虫的关键因素之一, 是其入侵并成功扩张的重要机制之一 (余昊, 2009 ; Yu *et al.*, 2012)。MED 隐种具有很强的耐高温能力, 使其在炎热的季节能猖獗危害; 而在寒冷季节, 逐渐扩大的保护地为其提供了越冬场所, 使得其累积大量虫口数以致暴发 (Wan *et al.*, 2009)。昆虫耐热性的获得与热激蛋白 (Heat shock proteins, HSP) 的分子伴侣作用有关, 热激蛋白在生物热胁迫生态适应和进化上起着重要作用 (Parsell and Lindquist, 1993 ; Feder and Hofmann, 1999)。前期研究表明热激蛋白基因在烟粉虱耐热性中起着关键性作用 (Lü and Wan, 2008, 2011), 为更好地理

解烟粉虱温度适应能力, 研究烟粉虱怎样感知外界温度并将其传递至体内的温度感知机制尤为重要。已有研究表明, 瞬时感受器离子通道 TRP (Transient receptor potential) 是生物感知外界温度的关键通道 (Montell and Rubin, 1989 ; Kyeongjin *et al.*, 2012 ; Fowler and Montell, 2012)。

瞬时感受器离子通道 TRP 是位于细胞膜上的一类重要的离子通道。被激活时, 允许包括钙离子在内的阳离子进行跨膜运输。最早发现于果蝇的视觉系统中, 突变体果蝇对持续的光刺激产生瞬时而非持续的峰电位, 因而得名 (Cosens and Manning, 1969)。TRP 家族是由 TRPC (Canonical TRP)、TRPA (ANKTM1)、TRPN (NOMPC)、TRPV (Vanilloid 受体)、TRPM (Melastatin)、TRPP (Polycystin)、TRPML (Mucolipin) 7 个亚家族组成 (Ramsey *et al.*, 2006 ; Romanovsky, 2007 ; Venkatachalam and Montell, 2007 ; Fowler and Montell, 2012)。由于 TRP 通道的亚型较多, 功能复杂, 直到最近其结构和功能的关系才基本阐释清楚。

TRP 亚家族蛋白结构都含有 6 个跨膜结构域, 且在第 5 和第 6 跨膜片段间形成一个孔道环 (Rohacs *et al.*, 2005 ; Fowler and Montell, 2012); 蛋白的 N-和 C-末端均在胞内 (Venkatachalam and Montell, 2007); C-末端含有“EWKFFAR”的 TRP 盒的 25 个氨基酸组成的高度保守的结构域 (Clapham, 2003 ; Rohacs *et al.*, 2005)。TRP 编码的 TRP 蛋白为非选择性阳离子通道, 激活时主要引起 Ca^{2+} 内流 (Hardie and Minke, 1992), Ca^{2+} 作为细胞内的第二信使在细胞内各种短时程和长时程作用中有重要作用, 该通道属于受体活化钙通道 (Vaca *et al.*, 1994 ; Xu *et al.*, 1997)。TRP 作为感受器中的门控分子, 起到外部环境和神经系统中介的作用, 可以将热刺激、化学刺激以及机械刺激等转化成内向电流。TRP 在模式生物果蝇中研究较为透彻, 主要具有光感应、温度感知、机械感应和生化感应等生物学功能 (Montell and Rubin, 1989 ; Fowler and Montell, 2012)。其中, 与昆虫温度有关的亚家族主要有

TRPA、TRPV 和 TRPM。典型的温度感知的 TRP 亚家族是 TRPV1, 果蝇成虫以及幼虫靠 TRPV 来避免毒害性的高温和低温, 并区别适温范围内的细微的温度变化。TRPV1 由一定程度热激而激活 (≥ 42) (Caterina *et al.*, 1997)。TRPA 对高温有感知作用, 果蝇成虫有 3 种 TRP 通道直接参与热激反应, 都是 TRPA 家族的, 包括 TRPA1、Pain 和 Pyrexia (Pyx)。Pyx 通道由接近 40 的高温直接激活, 有助于果蝇在极端高温环境中正常活动 (Lee *et al.*, 2005)。TRPA1 和 Pain 也有助于果蝇避免伤害性的高温侵害 (46) (Neely *et al.*, 2011)。果蝇幼虫在极端高温 (> 39) 下表现出逃逸行为, 这个行为是在 mdIV 神经元作用下 TRPA1 和 Painless (Pain) 通道共同控制的 (Tracey *et al.*, 2003; Neely *et al.*, 2011; Hwang *et al.*, 2012; Zhong *et al.*, 2012)。Pain 是对伤害性的高温最直接的感受器, 其温度激活阈值是 39~42 (Sokabe *et al.*, 2008), 由 mdIV 神经元调控表达 (Tracey *et al.*, 2003)。TRPM8 在哺乳动物中有冷感受器作用 (Mckemy *et al.*, 2002; Peier *et al.*, 2002)。TRPM 在昆虫中不仅起冷觉感受作用, 且在 Mg^{2+} 和 Zn^{2+} 内稳态方面也有重要作用 (Georgiev *et al.*, 2010; Hofmann *et al.*, 2010)。研究表明 TRPL 是果蝇冷觉感受器, 在离体实验下, lav 和 TRPL 可以被低温激活 (Rosenzweig *et al.*, 2008; Kwon *et al.*, 2010), 但 TRPL 和 lav 的冷感觉机制还不明确。

为了更好地理解烟粉虱 MED 隐种的温度感知能力, 本研究利用 RACE 方法, 首次获得了烟粉虱 MED 隐种 TRP 的 cDNA 全长序列, 对其推导的氨基酸序列进行比对和分析, 期望为进一步研究烟粉虱的温度感知机制和日后发现控制烟粉虱危害的方法提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

实验所用烟粉虱 MED 隐种为中国农业科学院植物保护研究所生物入侵研究室长期饲养种

群, 以番茄 *Lycopersicum esculentum* Mill (中杂九号) 为寄主植物, 无用药史, 温室饲养温度为 (26 ± 1), 相对湿度 60%~80%, 光周期为 16L:8D。

1.2 仪器及试剂

普通 PCR 仪、电泳仪、琼脂糖凝胶电泳成像系统均为美国 Bio-Rad 公司的产品; RNA 提取试剂 Trizol Regent 购自 Invitrogen 公司; RACE 试剂盒 (SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kit) 购自 Cloentch 公司; 反转录试剂盒 (Super Script First-Strand Synthesis System) 凝胶回收试剂盒、TransStart Taq DNA Polymerase 及 PCR 相关试剂 (dNTPs mix、10 × TransStart Taq Buffer) 克隆载体 pEASY-T1、Trans1-T1 感受态细胞购自 Transgen 公司。引物合成与产物测序由上海生工生物工程技术服务有限公司完成。

1.3 总 RNA 提取及 cDNA 第一链的合成

随机选取 200 头烟粉虱 MED 隐种成虫提取总 RNA, 采用 Trizol (Invitrogen, USA) 一步法进行提取, 采用 Implen 超微量紫外可见分光光度计 (NanoPhotometer™ P-Class) 和 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 的纯度和完整性。采用 Super Script First-Strand Synthesis System 试剂盒反转录合成第一链 cDNA, 并于 -20 保存备用。

1.4 TRP 基因 cDNA 序列片段的获得

根据 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 数据库中公布的烟粉虱 MED 隐种转录组信息, 寻找 TRP 基因的序列, 利用 Primer Premier 5.0 设计引物 *BtTRP*-F1 和 *BtTRP*-R1 (表 1), 进行中间片段 PCR 扩增。PCR 反应体系 (25 μ L): 0.5 μ L cDNA 模板, 0.5 μ L dNTPs (10 μ mol/L), 2.5 μ L 10 × PCR buffer, 0.5 μ L TransStart Taq DNA Polymerase, 上下游引物 (10 mmol/L) 各 1 μ L, 19 μ L 灭菌水。PCR 反应条件为 94 5 min; 94 30 s, 55 30 s, 72 1 min, 35 个循环; 72 10 min。

PCR 扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行鉴定, 经琼脂糖凝胶回收试剂盒纯化后, 与 TransGen pEASY-T1 Cloning Vector 连接, 转化至 Trans1-T1 感受态细胞中, 接种至含 Ampicillin、X-gal 和 IPTG 的 LB 固体培养基 37 °C 培养 12 h。挑取白色单菌落于含 Amp 的 LB 液体培养基中摇床培养 10 h, 选出重组克隆, 送上海生工生物工程技术服务有限公司测序。

1.5 TRP 基因 cDNA 的 5' 末端和 3' 末端的获得

根据克隆得到的 TRP 基因 cDNA 序列中间片段设计 5' RACE 引物和 3' RACE 引物 (表 1), 采用 SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kit (Clontech) 试剂盒, 并严格按照试剂盒说明书操作, 扩增得到目的条带, 将克隆测序后的序列利用 DNAMAN 和 GENTle 软件拼接获得 TRP 基因的 cDNA 序列全长。

1.6 TRP 基因序列分析

利用 NCBI 网站进行 Blast 蛋白同源性比对分析; 采用 ORF finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) 预测开放性阅读框; 运用 DNAMAN、GeneDoc 和 EditSeq 软件进行 DNA 序列分析; 采用 Clustal X 和 Genedoc 对氨基酸进行多重联配分析。

从 GenBank 数据库下载昆虫纲 TRP 基因的同源蛋白, 与 *BtTRP* 氨基酸序列一起进行系统发育分析, 使用分子进化遗传分析软件 MEGA5.2 进行遗传距离分析, 再根据遗传距离

以邻接法 (Neighbor-Joining Method) 构建系统进化树, 系统发育树分支的置信度采用自展法 (Bootstrap analysis, BP), 重复 1 000 次检验分子系统树各处的置信度。

2 结果与分析

2.1 烟粉虱 MED 隐种 TRP 基因的克隆

根据 NCBI 数据库中公布的烟粉虱 MED 隐种 TRP 基因的转录组序列设计引物 (*BtTRP*-F 和 *BtTRP*-R), 采用反转录 PCR 扩增得到约为 600 bp 的特异条带, 对扩增条带回收测序后进行 Blast 搜索, 发现与来自其他昆虫的 TRP 基因相似度很高, 推测所得的片段是烟粉虱 MED 隐种 TRP 基因的 cDNA 片段。采用 5' RACE 扩增得到一条特异性较强的 1 125 bp 的序列, 3' RACE 扩增得到一条 2 805 bp 的序列, 拼接后得到了一条长度为 3 906 bp 的序列 (图 1)。开放阅读框长 3 501 bp, 5' 端非编码区 147 bp, 3' 端非编码区 258 bp。该基因编码 1 166 个氨基酸, 预测分子量大小为 132 ku。

2.2 烟粉虱 MED 隐种 TRP 基因的生物信息学分析

将本研究克隆得到的基因推导的氨基酸序列与其他物种的同源序列进行多重比对, 对推测氨基酸序列结构特征分析显示其具有 TRP 的典型特征。利用 TMHMM 在线软件预测发现烟粉虱 MED 隐种编码的氨基酸序列有 S1-S6 的 6 次跨膜的结构域 (图 2), 且在第 5 和第 6 跨膜片

表 1 PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences for amplifying the TRP cDNA sequence using PCR

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence	产物 (bp) Product (bp)
<i>BtTRP</i> -F <i>BtTRP</i> -R	CGCACCATCCCTCATAGCC GTCGGGTCCAAACCATTCG	583
5' RACE outer primer 5' RACE inner primer	AATACACGGTTGCATAGACAGGA GGGGAGACCATCATACCAAATAGC	1 125
3' RACE outer primer 3' RACE inner primer	TGGAGAGTCGTGGGAACCAGGAGA GCTATTTGGTATGATGGTCTCCCCG	2 805

```

1      ATGGGGAGGCCGACGGAGCGGGCCACCCGAGCCGGACAGTCTGTGCTTGTCTGTTTTCGCCACGATGGAGTAATC
79     CGTTCATCCAGTTCCTGGGTAGTGTCTCCATTTTTTGGATAACGCTTTTCCAGGTGCGAGGGGCGAGGATGAAGCGG
1      M K P
157    ACGGAAATCGAAGGAGGACCTCCTGGGGTCGAAGGAGAACCTAAAAAATCCCGAGAGTCTTTCAGTTCGACCGCGGCG
4      T E S K E D L L G S K E N L K N P R E S T G G
235    GAGGTTCGCCCTCACCAGATCGAGAAAAGGTTCTCTTGTCTCAGCGAAAGGGGAGATATCGCCTCGGTCAAAAGGATA
30     E V A L T Q I E K R F L L L S E R G D I A S V K R I
313    ATCGCTGAGCACAAGATCACCAGAACTATTGAACATCAACTGCGTTGATCCTCTGAACAGGTGAGCACTCATCGCA
56     I A E H K D H P E L L N I N C V D P L N R S A L I A
391    GCGATCGAAAATGAAAATATAGAGTTAATAAGAGTCTCTCGAACTTGGGATTGAAGTCAAGGATGCTTCTTCTGCAC
82     A I E N E N I E L I R V L L E L G I E V K D A L L H
469    GCAATTAAGGAAGAGTACGTTGAAGCTGTGGAGATTCTACTTGAATGGGAAGAAAAATCCACAAACCTGGGCAGGCT
108    A I K E E Y V E A V E I L L E W E E K I H K P G Q P
547    TATAGTTGGGAAGCTGTTGACGGGAGCTCTTCGACATTTACACCGGACATAACACCGCTCATATTGGCTGCTCACATG
134    Y S W E A V D G S S S T F T P D I T P L I L A A H M
625    AACAAATACGAAATCCTGAAAATTTTGTGGATCGAGGCGCCACACTCCCGCGCCACAGATGTTAGGTGTGGCTGC
160    N N Y E I L K I L L D R G A T L P A P H D V R C G C
703    GACGAATGTGTAATTCAGAGTGAAGGATCTTTTGGACATTCACAGCTCGGATCAACGCGTACAGAGCTTTAACCC
186    D E C V T S S E Q D S L R H S Q A R I N A R I M T
781    GCACCATCCCTCATAGCCCTCTCTCCAGGGATCCCTCCTTACCGCCTTCGAGTTATCATGGGAGTGCAGCAGACTC
212    A P S L I A L S S R D P L L T A F E L S W E L R L K
859    AGCAAGATGGAAGCGGAATCCGCTCTGAATATAATGAAATGAGAGGTATTGTGACAGATTTGCAACCTCCTTGCTA
238    S K M E A E F R S E Y N E M R G I C Q T F A S H M
937    GACCAGCGCGAACCTCGTATGAAGTGGAGGTGATCTTAATCATAATCCTGATGGAGAGTCTGGGGAACCGAGGAG
264    D H A R T S Y E L E V M L N H N P D G E S W E P M T
1015   AGGCAAACTCTGAGAGAGTGAAGCTAGCTATCAAAATCAAAACAAAAGCGTTTGTGCTCATCAAAATGTACAACAG
290    R Q T L E R L K L A I K Y K Q K A F V A H P N V Q Q
1093   CTGCTGGCAGCTATTTGGTATGATGGTCTCCCGGATTTTCGACGAAAAGGAGTATTGGTCAAGCTTTTGTAGTGTGA
316    L L A A I W Y D G L G F F R R K G M I G Q A F E C G
1171   AAGTTAGGTGCAATGTTCTCTGTCTACGCAACCGTGTATTGACAGCGCCTGAATCGGAGATGGGCCAGTTCAGAAA
342    K L G A M F P V Y A T V Y L T A P E S E M G Q F M K
1249   AAACCGTTTGTAAAGTTCATCTGAATCAACCTCCTACGCTTTTCTTCTGATGTTATTGGCCTTGGCATCACAAAGA
368    K P F F V K F I C N S T S Y A F F L M L L A L A S Q R
1327   GCGGAATTTCTTGAATCGAATGTTTGGACCCGATCGGATGAAAGAGATACTGAAAGAGTGGGATCGAAAGGAAAGA
394    A E F L A I E W F G P D W M K E I L K E W T R K E R
1405   GGATCAATACCTGGTCTCATAGAATCTTTTATTTTGTATATCATAAGTTGATTGGGGTGAATGAGAGCATTG
420    G S I P G L I E S F I I L Y I I S L I W G E M R A L
1483   TGGTCTGGTGGCTTAGAGGACTATGTTTCAGATTTTGGGAATATAGTGGATTTCATCACCAGTGTATTCTATATGATA
446    W S G G L E D Y V S D L W N I V D F I T N V F Y M I
1561   TGGATTGTCTCAGAGGAAGTCTGATATCATTTGTCGAAAGAGAGCATAAAAGTGGCCTCGATCCATGCTATCCTCGT
472    W I C L R G T A Y I I V Q R E H K S G L D P W Y I A
1639   GATAAGTGGGACATGTTTGTATCTCTATCAGAAAGTGTGCTTTTCAGCCAGTATGATCTTCAGTTTCTTAAAA
498    D K W D M F D P H L L S E G A F A A S M I F S F L K
1717   TTGTTTCATATCTTCAGTATCAATCCTCATCTTGGTCCACTGCAAAATTCGTTGGGACGAATGATTGTCGACATC
524    L V H I F S I N P H L G P L Q I S L G R M I F S V D I I
1795   AAATTTTCTTCATCTACACATTTGCTTTTTCGTTATGTTTGTGTTATGAATCAGTTACTTTTGGTACTATCTGAT
550    K F F F I Y T L V L F A Y G C G M N Q L L W Y Y A D
1873   CTTGAGAGGAAAAGTGTATCATCTGAACGAGGATTATGCTGATTTTGGTGGTCAAGATAAAGCTTACACATGG
576    L E R K K C Y H L N E D Y A D F D G Q D K A C T I W
1951   AGACGTTTTCGAAATTTATTTGAAACATCTCAGTCTCTGTTCTGGGCCAGTTTCGGTTTATGTTGATCTGTATCGTT
602    R R F A N L F E T S S S L F W A S F G L V D L V S F
2029   GATCTGACTGGTATTAAAGAGTTTCACCGGGTTTGGGCTCTTCTGCTTTTCGGATCATACTCCGTTATCATATCAT
628    D L T G I K S F T R F W A L L L L F G S Y V I N I I
2107   GTCTCTCAACATGTTGATTGCCATGATGTCCAACAGTTACCAATCATCTCTGAACGATCCGATATCTGAATGGAAA
654    L E C L N M L I A M M S N S Y Q I I S E R S D T E W K
2185   TTTGCTCGAAGTGACCTATGGATCAGTTACTTTGAGGATGGCGACACTGTTCTCCACCATTCACCTATCACCATT
680    F A R S D L W I R S Y F E D G D T V P P F N L S P S
2263   GTTAAATCTATGAAAAGAATGATGGGAATCAAACTGGGAAAATCAGCACTGGTTCGATGAAGAACAAAAGTCGAGCT
706    V K S M K R M M G I A K T G K I S T G S M K N K S R A
2341   AAAGCTATGGAGCGTCACGAAGCAGTCATGAACTATTGGTCAGGCGATATGTTGTGGCTGAGCAAGGAAGAGAGAT
732    K A M E R H E A V M K L L V R R Y V V A E R K R D
2419   GAGTTCGGCATCACAGAAGATGATGTTATGGAATTCGACAAGATATTTCAACCCCTTCGTTTGAACCTGCATATC
758    E F G I T E D D V M E I R Q D I S T L R I D I
2497   CTCGGAACAAACGGAATGAAGACACCGAGCGTGGACAAAGAGGATCAAGCAGTGGGCAAGAAAGGTGCTGTGATGAG
784    L T N G M K T P S V D K E D Q A V G K K R V M E
2575   CGTCGTTTGTGAAGGACTTCAGATCGGCCTGGTTGAGGGTATAATTAGTGTATGTCATATCTCTGAGAAAGAGGCA
810    R L L K D F Q I G L V E G I I S D V I S E K E P
2653   AGGGATGTCTTCAGCAAGATTGCTCGTCAATTTGTAAGGACTCAAGTGAAGAAAGAAAGGACTGGAACCGTATTGCC
836    R D V F S K I A R A I G K D S S A K K K D W N A I A
2731   GCCAAGAAAGCATCCAGCGCGAACTTATGGAAGCACCAGCGAGGCTGTGGAGCGTCGGCAATCACGCCAGAGTTG
862    A K K A S S R E L I G S T S E A V E R R Q Q S L L
2809   CGCCGGCAGATCTCGAATCAAGGATCAGCAATGGCAATATGGATCCCGAGAGCTGGTTGAGTACAATCCCAAG
888    R R H I L E H Q G S A M A N M D P E K L V E Y N P K
2887   TTGCAAGAAATATGACCTGCTGCTGCAATCGCTATGCAAAATCAAGATCTCAGAGATCAAGCAAGAAATGATGACGAT
914    L Q E Y A P A A A R I A Y A K F K I S K I K Q E Y A D
2965   AAAGGAATGAAGAAGGACCAAGACGATGTTTTCGAGCTGCTACAGTAAACAGGAAGGACGAAACAAACCATCC
940    K G N E E E G K D D V F E P A T V T I K D E T K P S
3043   CAAAGTGGCTCCATCGCAGCGCCGAGACCCAAAGCAACCAAGAACCCCGCAGCTGGAGCCATTCGAGTCCCGGAC
966    Q S G S I A R P R P K S T K K P P A P G A I P G P D
3121   GATGGCAAGAAAGACTTCGGTTCGCAACTCCGATCCAAGAAGATCCAAGAGAGGCTGGCCGCACTCCAAGCCAGAA
992    D G K K D F R S R T P I Q E D P R E A G R T P T P E
3199   CCAATCAAAATGCTCAAGACATCGATTTCCTCTCAAGCAAGTATCAGTCGATCAAAAAGCTGGGCGCTCAGACAAA
1018   P I K M L K T S I S S L K Q V S V D Q K A G P S D K
3277   AAACCCGCGCCCGGGGGCTCCGGCTCCGAAAGTAGAGGTCAACCGAGCTAAATCACCTGCAAAAACAGAGGAGCC
1044   K P A A P G A P A P K V E V T A A K S P A K T E A A
3355   CCGGCAAAACCTGAAGAAAAGAGCCACACCTGCTAAACAGAGGAAAAGAGCCTGCGCTGCTGCTGCTACGCT
1070   P A K P E E K K P T P A K P E E K K P A A A A T P
3433   AAAGCAGACGAAAAGAGGACGAGAAGAAAAGAAAAGAGGACGAGAAGAAAGATGAGAAGAAAGAGGAAAAGAAA
1096   K A D E K K D E K K E E K K D E K K E E K K
3511   GACGATAAAAAGCCGGCCCTGCTCCGAAAAACAGATGATAAGGATAAGCCTCCCTCGCCGAAGAAAACGATGATC
1122   D D K K P G P A F K K P D D K D K P P S T K T M I
3589   CACACAAAACCTGGTGGTAAATCAACAGTCACCGGCAAGTACTGACTGGATGGTTGTAAGTATTTCAAAAGTAAC
1148   H T K P G G K S T V T G E V L T G W L *
3667   GTGTACTGGCTCAAAAACGATTAATATTTTCACTTCAGTGGTTTTTTTAACTAGCAAAATTTTCTGCTTTA
3745   AAATTTCTTTTCAATTTGGCAGAAACGAGTCTTGTGATGCTGAGGGATTTGTGATTAAAGTATTGTTCTTACATAA
3823   AAGTTCCGCGACCAAGAGTTGCGGTGCCCTGGTTTTCTCTGAAATCAACTCCAAAAAAGAAAAAAGAAAAA
3901   AAAAAA

```

图 1 烟粉虱 MED 隐种 TRP 基因 cDNA 全长序列及氨基酸序列

Fig. 1 Nucleotide and deduced amino acid sequence of the trp cDNA of *Bemisia tabaci* MED

跨膜结构域用下划线标识。The transmembrane structure is underlined.

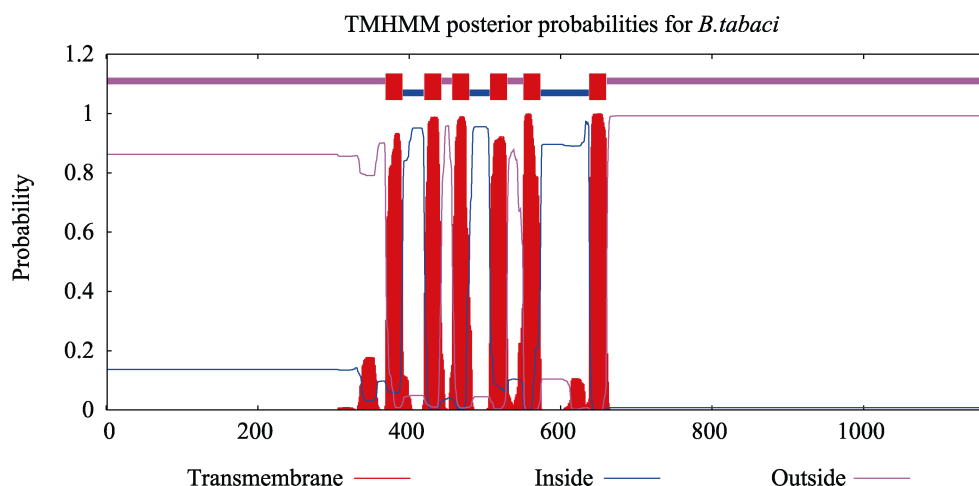


图 2 烟粉虱 MED 隐种 TRP 蛋白质跨膜结构分析

Fig. 2 Transmembrane structure prediction of the TRP protein in *Bemisia tabaci* MED

段间形成一个孔道环。S1-S6 跨膜结构域所处位置分别为 369-391 位氨基酸、420-442 位氨基酸、457-479 位氨基酸、507-529 位氨基酸、551-573 位氨基酸、638-660 位氨基酸 (图 1)。S1-S6 每个跨膜结构域的氨基酸个数都是 23 个氨基酸。含有“EWKFAR”的 TRP 盒组成的高度保守的结构域, 位于 675-700 氨基酸位置处 (图 3)。锚定蛋白位于 69 位到 173 位氨基酸之间 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>)。由此可推测本研究克隆获得的基因为编码烟粉虱 MED 隐种的瞬时感受器离子通道, 因此, 将本研究克隆得到的基因命名为 *BtTRP*。

此外, 该 *BtTRP* 基因推导的氨基酸序列与其他物种同源基因编码的 TRPs 蛋白序列一致性依次为豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 75% (GenBank 登录号: XP_003240303.1)、欧洲熊蜂 *Bombus terrestris* 71% (GenBank 登录号: XP_003402180.1)、意蜂 *Apis mellifera* 71% (GenBank 登录号: XP_001120503.2)、黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 69% (GenBank 登录号: AAA28976.1)、致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* 67% (GenBank 登录号: XP_001869048.1) (图 3)。由于目前 NCBI 数据库对 TRP 的分类不够细致, 对于 TRP 基因的分类只具体到了 TRP-1 和 TRP-2 两类, 把 *BtTRP* 基因的氨基酸序列提交到 NCBI 数据库分析比对

发现, 与 *BtTRP* 一致性较高的物种的 TRP 均为 TRP-2。因此, 推测本研究所克隆得到的 TRP 属于 TRP-2 亚家族。

调用 NCBI 数据库中其他物种的 TRP 基因编码的氨基酸序列, 与本研究克隆得到的 *BtTRP* 基因编码的氨基酸序列进行系统进化分析, 以甲壳纲 Crustacea 枝角目 Cladocera 的蚤状溞 *Daphnia pulex* 为外群, 基于昆虫纲 8 个目共 22 个物种的完整 TRP 氨基酸序列, 利用 MEGA5.2 软件构建了系统进化树 (Neighbor-joining tree) (图 4)。结果表明, 昆虫 TRP 基因在进化上具有较好的保守性, 烟粉虱 MED 隐种 TRP 在进化上与同属于半翅目 Hemiptera 的豌豆蚜 *A. pisum* TRP (GenBank 登录号: XP_003240303.1) 最为接近, 与膜翅目 Hymenoptera 和蜚蠊目 Blattaria 的遗传距离相对较近, 与双翅目 Diptera、鞘翅目 Coleoptera、虱目 Anoplura 及鳞翅目 Lepidoptera 遗传距离相对较远。

3 讨论

昆虫瞬时感受器离子通道是调节温度感知、机械感觉、重力和声音感知以及有害化学物质感知等功能的一类重要离子通道蛋白质 (Montell and Rubin, 1989; Fowler and Montell, 2012)。在昆虫温度感知方面具体表现在感知

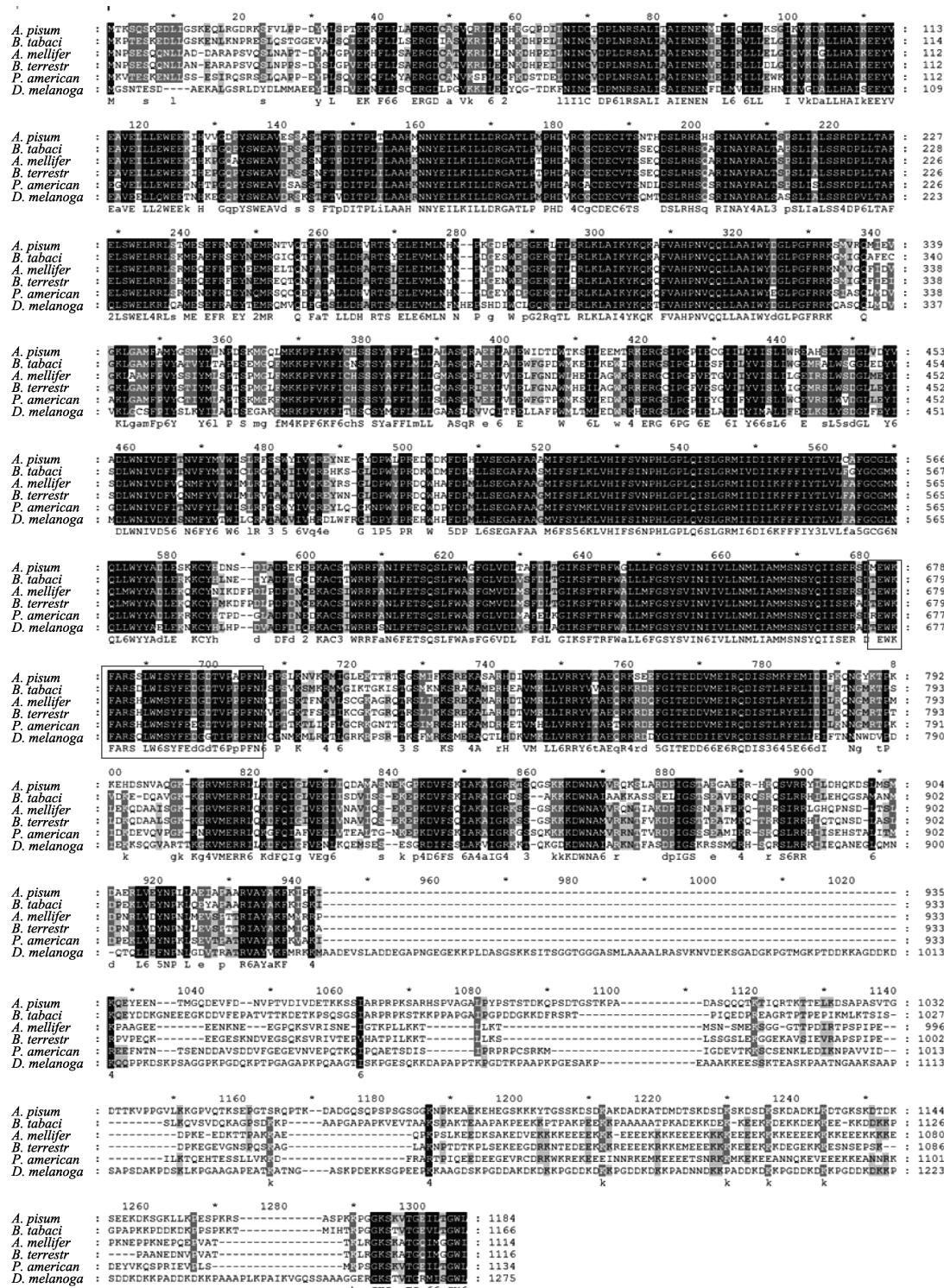


图3 烟粉虱 MED 隐种 TRP 基因推导氨基酸序列与其他昆虫 TRP 对比分析

Fig. 3 Comparison of the deduced amino acid sequence of TRP genes from *Bemisia tabaci* MED and other insects

A. pisum: 豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* TRP (XP_003240303.1); *A. mellifera*: 意蜂 *Apis mellifera* TRP (XP_001120503.2); *B. terrestris*: 欧洲熊蜂 *Bombus terrestris* TRP (XP_003402180.1); *P. Americana*: 美洲大蠊 *Periplaneta Americana* TRP (AGG86916.1); *D. melanogaster*: 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* TRP (AAA28976.1); *B. tabaci*: 烟粉虱 MED 隐种 *Bemisia tabaci* MED TRP. 方框示 TRP 结构域。The TRP domain is in the box.

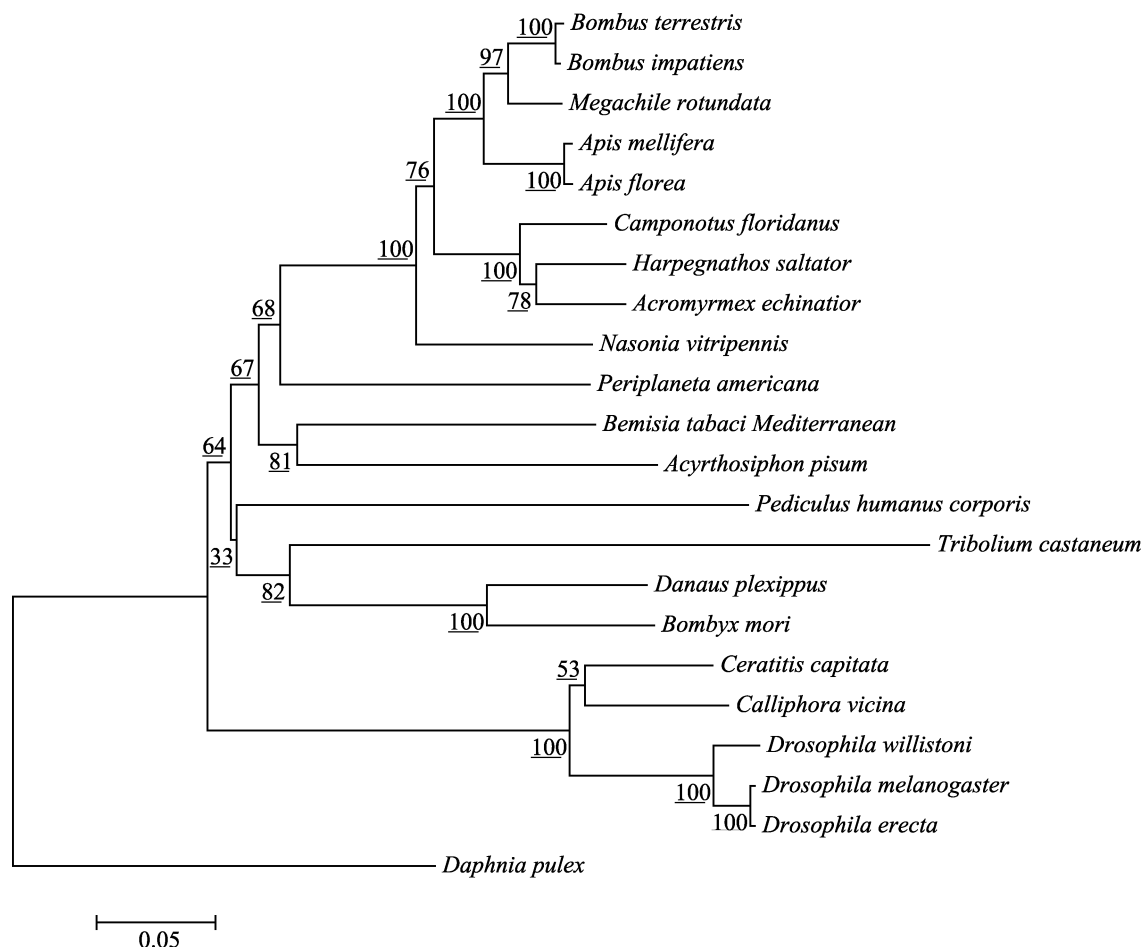


图 4 利用邻接法构建的 *BtTRP* 基因与其同源基因的系统发育树

Fig. 4 Neighbor-joining phylogenetic tree of *BtTRP* and *trp* from related species

各基因来源及 GenBank 登录号 The origin of TRPs and their GenBank accession numbers: 熊蜂 *Bombus terrestris* (XP_003402180.1); 熊蜂 *Bombus impatiens* (XP_003489572.1); 切叶蜂 *Megachile rotundata* (XP_003705368.1); 意蜂 *Apis mellifera* (XP_003489572.1); 小蜜蜂 *Apis florea* (XP_003696373.1); 佛罗里达弓背蚁 *Camponotus floridanus* (EFN73452.1); 印度跳蚁 *Harpegnathos saltator* (EFN82264.1); 顶切叶蚁 *Acromyrmex echinator* (EG164238.1); 蝇蛹金小蜂 *Nasonia vitripennis* (XP_001605329.1); 美洲大蠊 *Periplaneta americana* (AGG86916.1); 豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* (XP_003240303.1); 地中海实蝇 *Ceratitis capitata* (XP_004536899.1); 红头丽蝇 *Calliphora vicina* (CAB02410.1); 果蝇 *Drosophila willistoni* (XP_002073367.1); 果蝇 *Drosophila melanogaster* (NP_476768.1); 果蝇 *Drosophila erecta* (XP_001981285.1); 人体虱 *Pediculus humanus corporis* (XP_002423380.1); 赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* (XP_968670.2); 大虹斑蝶 *Danaus plexippus* (EHJ65374.1); 家蚕 *Bombyx mori* (XP_004922653.1); 蚤状溞 *Daphnia pulex* (EFX85740.1).

不适宜的高温、低温以及适温条件下的温度选择等。参与温度感知的 TRP 亚家族对于昆虫在适应环境感知温度过程中发挥重要作用。据报道, Pyx (Pyrexia) 是果蝇在极端高温环境中进行正常活动的必需元件, 表现为 Pyx 发生突变的果蝇成虫在 40 °C 环境中是不能正常活动的

(Lee *et al.*, 2005)。TRPA1 和 Pain 也有利于果蝇避免伤害性的高温 (46 °C) (Lee *et al.*, 2005)。此外, TRPA1 是果蝇幼虫选择 18 °C 而不是 19~24 °C 等稍高点的温度所必须的 (Kwon *et al.*, 2010)。

目前, 多种昆虫的 TRP 基因已经克隆得到,

如果蝇 (Montell and Rubin, 1989)、豌豆蚜 (Kyeongjin *et al.*, 2012)、家蚕 (牛伟涛, 2011) 等。TRP 可形成功能性的同聚或异聚四聚体, 从而在信号转导中发挥作用。烟粉虱 MED 隐种 TRP 基因 (*BtTRP*) 通道的 N 端的锚定蛋白结合部位位于 69 位到 173 位氨基酸之间。锚定蛋白与 TRP 通道相互作用可以抑制 IP₃ 受体调节的胞内钙库的 Ca²⁺ 释放。它们的作用可能将 TRP 通道与细胞骨架连接在一起, 也可能在异聚体的形成过程中发挥重要作用。一般 TRP 基因 C 末端的氨基酸保守结构式含有 25 个, 而本实验克隆得到的 *BtTRP* 在 C 末端有一个由 30 个氨基酸组成的高度保守的结构域, 位于 1 096-1 125 位氨基酸位置。该结构是否与其温度感知的特点有关, 需要进一步研究。目前得到的不同物种 TRP 的氨基酸跨膜结构分析发现, N-和 C-都位于细胞内, 而本研究克隆得到的 *BtTRP*, 氨基酸结构的 N-和 C-都在细胞膜内部, 该特点对于烟粉虱的温度感知能力的影响还需进一步验证。此外, 不同物种 TRP 的氨基酸序列共同特点是都含有 6 次跨膜的结构域, 且第 5 和第 6 结构域共同形成通道孔区 (Venkatachalam and Montell, 2007)。本实验利用 TMHMM 在线软件进行氨基酸跨膜结构分析发现 *BtTRP* 为 6 次 α 跨膜结构。该结构和电压门控型离子通道 (Voltage-gated ion channels) 如钠通道、钙通道以及部分钾通道的 α 亚单位类似, 不同的是 TRP 蛋白的第 4 跨膜没有感受电压变化的跨膜氨基酸。不同的 TRP 亚家族具有自身的特点, 但它们都具有高度保守的 6 次跨膜结构, 和电压门控离子通道类似, 如钙通道、钠通道等。感知到外界温度变化, 激活 TRP 通道及胞内一系列与温度适应相关的反应, 使昆虫选择适宜的温度。推测烟粉虱 MED 隐种通过 *BtTRP* 感知外界温度, 并通过信号级联反应传递到胞内, 激活热激蛋白等与其温度适应相关的热激元件, 进而选择适宜生存的温度。

构建系统发育进化树表明昆虫 TRP 在进化上相对比较保守, 同一目的昆虫并于同一进化枝上。目前 NCBI 数据库对 TRP 的分类不够细致, 对于 TRP 基因的分类只具体到了 TRP-1 和

TRP-2 两类, 且烟粉虱 MED 隐种 TRP 与同属于半翅目的豌豆蚜 TRP-2 的同源性较高, 达到 75%。具有与豌豆蚜等昆虫相同的氨基酸保守结构域, 在系统发育树上的关系比较近。因此, 推测本研究克隆得到的 TRP 与豌豆蚜的 TRP-2 属同一家族。

目前对昆虫 TRP 的研究多集中在生化特征方面, 关于 NCBI 数据库中已提交的 TRP 基因命名不细致, 使得 TRP 各亚家族编码基因的结构和功能的关系尚不明确。本研究首次克隆获得了入侵昆虫烟粉虱 MED 隐种 TRP 基因, 分析了该基因的基本结构特点, 为进一步研究其功能特点奠定基础, 为揭示 TRP 基因在烟粉虱 MED 隐种的温度适应性研究提供参考。下一步研究需要进一步进行 TRP 对烟粉虱在温度感知方面的作用及其与 HSPs 基因的联合作用加以论证, 并通过 RNAi 等手段进行功能分析从而进一步了解瞬时感受器离子通道在烟粉虱 MED 隐种的温度感知和温度适应中的作用。

参考文献 (References)

- Berlinger MJ, Nina LS, Taylor RA, 1996. Survival of *Bemisia tabaci* adults under different climatic conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 80(3): 511–519.
- Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D, 1997. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389: 816–824.
- Chu D, Zhang YJ, Brown JK, Cong B, Xu BY, Wu QJ, Zhu GZ, 2006. The introduction of the exotic Q biotype of *Bemisia tabaci* (Gennadius) from the Mediterranean region into China on ornamental crops. *Florida Entomological Society*, 89(2): 168–174.
- Chu D, Zhang YJ, Cong B, Xu BY, Wu QJ, 2005. Identification for Yunnan Q-biotype *Bemisia tabaci* population. *Chinese Bulletin of Entomology*, 42(1): 54–56. [褚栋, 张友军, 丛斌, 徐宝云, 吴青君, 2005. 云南 Q 型烟粉虱种群的鉴定. 昆虫知识, 42(1): 54–56.]
- Clapham DE, 2003. TRP channels as cellular sensors. *Nature*, 426: 517–542.
- Cosens DJ, Manning A, 1969. Abnormal electroretinogram from a *Drosophila* mutant. *Nature*, 224: 285–287.
- Cui XH, Xie M, Wan FH, 2008. Effects of brief exposure to high

- temperature on survival and fecundity of two whitefly species: *Bemisia tabaci* B-biotype and trialeurodes vaporariorum (Homoptera: Aleyrodidae). *Scientia Agricultura Sinica*, 41: 424–430.
- De Barro PJ, Liu SS, Boykin LM, Dinsdale AB, 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Review Entomology*, 56: 1–19.
- Delatte H, Reynaud B, Granier M, Thornary L, Lett JM, Goldbach R, Peterschmitt M, 2005. A new silverleaf- inducing biotype Ms of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) indigenous to the islands of the south-west Indian Ocean. *Bulletin of Entomological Research*, 95: 29–35.
- Deutsch CA, Tewksbury JJ, Huey RB, Shelson KS, Ghalambor CK, Haak DC, Martin PR, 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *National Academy of Sciences of the USA*, 105(8): 6668–6672.
- Dinsdale A, Cook L, Riginos C, Buckley YM, Barro PD, 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase I to identify species level genetic boundaries. *Entomological Society of America*, 103(2): 196–208.
- Feder ME, Hofmann GE, 1999. Heat shock proteins, molecular chaperones, and the stress response. evolutionary and ecological physiologu. *Annual Reviews*, 61: 243–282.
- Fowler MA, Montell C, 2013. *Drosophila* TRP channels and animal behavior. *Life Sciences*, 92(8/9): 394–403. .
- Georgiev P, Okkenhaug H, Drews A, Wright D, Lambert S, Flick M, Carta V, Martel C, Oberwinkler J, Raghu P, 2010. TRPM channels mediate zinc homeostasis and cellular growth during *Drosophila* larval development. *Cell Metabolism*, 12: 386–397.
- Hardie RC, Minke B, 1992. The *trp* gene is essential for a light-activated Ca^{2+} channel in *Drosophila* photoreceptors. *Neuron*, 8: 643–651.
- Hofmann T, Chubanov V, Chen X, Dietz AS, Gudermann T, Montell C, 2010. *Drosophila* TRPM channel is essential for the control extracellular magnesium levels. *PLoS ONE*, 5: e10519.
- Hu J, De Barro PD, Zhao H, Wang J, Nardi F, Liu SS, 2011. An extensive field survey combined with a phylogenetic analysis reveals rapid and widespread invasion of two alien whiteflies in China. *PLoS ONE*, 6: e16061.
- Hwang RY, Stearns NA, Tracey WD, 2012. The ankyrin repeat domain of the TRPA protein painless is important for thermal nociception but not mechanical nociception. *PLoS ONE*, 7: e30090.
- Kwon Y, Shen WL, Shim HS, Montell C, 2010. Fine thermotactic discrimination between the optimal and slightly cooler temperatures via a TRPV channel in chordotonal neurons. *Neuroscience*, 30: 10465–10471.
- Kyeongjin K, Vincent CP, Elaine CC, Lina N, Alexandra MD, Adam MJ, Kimberly R, Marc AT, Paul AG, 2012. Modulation of TRPA1 thermal sensitivity enables sensory discrimination in *Drosophila*. *Nature*, 481: 76–80.
- Lee Y, Lee J, Bang S, Hyun S, Kang J, Hong ST, Bae E, Kaang BK, Kim J, 2005. Pyrexia is a new thermal transient receptor potential channel endowing tolerance to high temperatures in *Drosophila melanogaster*. *Nature Genetics*, 37: 305–310.
- Liu SS, 2012. *Bemisia tabaci* is a species complex. *Chinese Journal of Biological Control*, 28(4): 466.[刘树生, 2012. 烟粉虱是一个物种复合体. 中国生物防治学报, 28(4): 466.]
- Lü ZC, Wan FH, 2008. Differential gene expression in whitefly (*Bemisia tabaci*) B-biotype females and males under heat-shock condition. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part D*, 3: 257–262.
- Lü ZC, Wan FH, 2011. Using double-stranded RNA to explore the role of heat shock protein genes in heat tolerance in *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Journal of Experimental Biology*, 214: 764–789.
- McKemy DD, Nienhausser WM, Julius D, 2002. Identification of a cold receptor reveal a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature*, 416: 52–58.
- Montell C, Rubin GM, 1989. Molecular characterization of the drosophila trp locus: a putative integral membrane protein required for phototransduction. *Neuron*, 2(4): 1313–1323.
- Neely GG, Keene AC, Duchek P, Chang EC, Wang QP, Aksoy YA, Rosenzweig M, Costigan M, Woolf CJ, Garrity PA, Penninger JM, 2011. TRPA1 regulates thermal nociception in *Drosophila*. *PLoS ONE*, 6: e24343.
- Niu WT, 2010. Cloning of *TRP* gene of *Bombyx mori*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 39(9): 5141–5115. [牛伟涛, 2011. 家蚕 TRP 基因的克隆. 安徽农业科学, 39(9): 5141–5115.]
- Olivier B, Amandine L, Claire V, Jacques F, 2007. Modelling temperature-dependent bionomics of *Bemisia tabaci* (Q-biotype). *Physiological Entomology*, 32: 50–55.
- Parsell DA, Lindquist S, 1993. The function of heat shock proteins in stress to lurance: degradation and reactivation of damaged proteins. *Annual Review of Genetics*, 27: 437–496.
- Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, Reeve AJ, Andersson DA, Story GM, Earley TJ, Dragoni L, McIntyre P, Bevan S, Patapoutian A, 2002. A TRP channel that senses cold stimuli and

- menthol. *Cell*, 108: 705–715.
- Perring TM, 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection*, 20: 725–737.
- Ramsey IS, Delling M, Clapham DE, 2006. An introduction to TRP channels. *Annual Review of Physiology*, 68: 619–647.
- Rohacs T, Lopes CM, Michailidis I, Logothetis DE, 2005. $P_1(4, 5) P_2$ regulates the activation and desensitization of TRPM8 channels through the TRP domain. *Nature*, 8(5): 626–634.
- Romanovsky AA, 2007. Thermoregulation: some concepts have changed. functional architecture of the thermoregulatory system. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*, 292 (1): R37–R46.
- Rosenzweig M, Kang K, Garrity PA, 2008. Distinct TRP channels are required for warm and cool avoidance in *Drosophila melanogaster*. *National Academy of Sciences of the USA*, 105: 14669–14673.
- Simon B, Cenis JL, Demichelis S, Rapisarda C, Caciagli P, Bosco D, 2003. Survey of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotypes in Italy with the description of a new biotype (T) from *Euphorbia characias*. *Bulletin of Entomological Research*, 93: 259–264.
- Sokabe T, Tsujiuchi S, Kadowaki T, Tominaga M, 2008. *Drosophila* painless is a Ca^{2+} -requiring channel activated by noxious heat. *Neuroscience*, 28: 9929–9938.
- Tracey WD, Wilson RI, Laurent G, Benzer S, 2003. *painless*, a *Drosophila* gene essential for nociception. *Cell*, 113: 261–273.
- Vaca L, Sinkins WG, Hu Y, Kunze DL, Schilling WP, 1994. Activation of recombinant trp by thapsigargin in Sf9 insect cells. *American Journal of Physiology*, 267: C1501–C1505.
- Venkatachalam K, Montell C, 2007. TRP channels. *Annual Review of Biochemistry*, 76: 387–417.
- Wan FH, Zheng XB, Guo JY, 2005. Biology and Management of Invasive Alien Species in Agriculture and Forestry. Beijing: Science Press. 3–6. [万方浩, 郑小波, 郭建英, 2005. 重要农林外来入侵物种的生物学与控制. 北京: 科学出版社. 3–6.]
- Wan FH, Zhang GF, Liu SS, Luo C, Ch D, Zhang YJ, Zang LS, JM, Lü ZC, Cui XH, Zhang LP, Zhang F, Zhang QW, Liu WX, Liang P, Lei ZR, Zhang YJ, 2009. Invasive mechanisms and management of *Bemisia tabaci* biotype B. *Chinese Science Serial C-Life Science*, 52(1): 88–95.
- Xu XZ, Li HS, Guggino WB, Montell C, 1997. Coassembly of TRP and TRPL produces a distinct store-operated conductance. *Cell*, 89: 1155–1164.
- Yu H, 2009. Gene Expression and Their Functions of Heat Shock Proteins in Invasion Whiteflies PH.D. Dissertation. Beijing: The Chinese Academy of Agricultural Sciences doctoral dissertation. [余昊, 2009. 入侵粉虱热激蛋白基因表达与功能. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Yu H, Wan FH, Guo JY, 2012. Different thermal tolerance and *hsp* gene expression in invasive and indigenous sibling species of *Bemisia tabaci*. *Biological Invasions*, 14(8): 1587–1595.
- Zhong LX, Bellemer A, Yan H, Honjo K, Robertson J, Hwang RY, Pitt GS, Tracey WD, 2012. Thermosensory and nonthermosensory isoforms of *Drosophila melanogaster* TRPA1 reveal heat-sensor domains of a thermoTRP channel. *Cell Reports*, 1: 43–55.