

小金蝠蛾幼虫 β -1,3-葡聚糖识别蛋白 β GRP1 基因的分子特征与生物信息学分析

贺元川^{1,2}, 罗昌树¹, 游华建^{1,2}, 陈仕江^{1,2*}

(1. 重庆市中药研究院, 重庆 400065; 2. 甘孜州康定贡嘎中华虫草产业有限责任公司, 四川康定 626000)

摘要 [目的]探索冬虫夏草寄主昆虫小金蝠蛾幼虫的 β -1,3-葡聚糖识别蛋白 β GRP1 基因的结构特征与进化关系。[方法]通过 PCR 法克隆获得小金蝠蛾幼虫 β GRP1 基因的编码序列, 并采用 ProtParam, NetPhos 2.0 Server cDNA、MEGA 等软件分析 β GRP1 蛋白的理化特征和进化分析。[结果]小金蝠蛾幼虫 β GRP1 基因编码序列 1 593 bp, 推断可编码 530 氨基酸组成的蛋白, 该蛋白为分泌型蛋白, 含有 20 个氨基酸的信号肽, 包含 2 个功能结构域, 该结构域与葡聚糖的识别密切相关; 同源分析和分子系统进化树分析表明, 鳞翅目昆虫中的 β GRPs 基因家族分为 4 个进化分枝, 其中小金蝠蛾与勾蝠蛾为单独的一个进化分枝, 小金蝠蛾幼虫 β GRP1 进化较钩蝠蛾早, 介于 I 型和 III 型分支。[结论]该蛋白具有识别 β -1,3-葡聚糖的结构域, 并可能通过丝氨酸磷酸化激活酚酶源级联系统, 启动免疫, 为进一步探索 β GRP1 蛋白的免疫功能奠定基础。

关键词 冬虫夏草; 小金蝠蛾; β -1,3-葡聚糖识别蛋白; 先天免疫

中图分类号 Q966 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2021)19-0095-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.19.023



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Molecular Characteristics and Bioinformatics Analysis of β -1,3-glucan Recognition Protein β GRP1 Gene of *Hepialus xiaojinensis* Larvae

HE Yuan-chuan^{1,2}, LUO Chang-shu¹, YOU Hua-jian^{1,2} et al (1. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065; 2. Gongga Chinese Caterpillar Fungus Industry Co., Ltd., Kangding, Sichuan 626000)

Abstract [Objective] The study aimed to explore the structural characteristics and evolutionary relationship of the β -1,3-glucan recognition protein β GRP1 gene of the larvae of the host insect *Hepialus xiaojinensis*. [Method] The coding sequence of the β GRP1 gene of *Hepialus* larvae was cloned by PCR, and the physical and chemical characteristics and evolutionary analysis of β GRP1 protein were analyzed by ProtParam, NetPhos 2.0 Server cDNA, MEHA and other methods. [Result] The coding sequence of β GRP1 of the larvae of *Hepialus xiaojinensis* is 1 593 bp, which is inferred to encode a protein composed of 530 amino acids. This protein is a secreted protein, contains a signal peptide of 20 amino acids and contains 2 functional domains, which probably combined with dextran. The analysis results of molecular phylogenetic tree showed that the *Lepidopteran* insects β GRPs gene family was divided into 4 evolutionary branches. The evolution of β GRP1 of the larvae of *Hepialus xiaojinensis* is earlier than that of *Hepialus pu*, which lies between type I and III. [Conclusion] The study indicates that the protein has a domain that recognizes β -1,3-glucan, and may activate the phenolase-derived cascade system through serine phosphorylation to initiate immunity, which supply protein foundation for research the immune function of β GRP1.

Key words *Ophiocordyceps sinensis*; *Hepialus xiaojinensis*; β -1,3-glucan recognition protein; Innate immunity

冬虫夏草是我国名贵中药材, 主要分布于青藏高原海拔 3 000 m 以上的高寒草甸和高寒灌木丛草甸地区, 是冬虫夏草菌感染蝙蝠蛾幼虫后形成的虫菌复合体, 具有补肾益肺、止化痰的功效, 用于肾虚精亏, 阳痿遗精, 腰膝酸痛, 久咳虚喘, 咯血, 与人参、鹿茸并称为中药三宝, 也是藏区农牧民的主要经济收入来源, 被誉为“国菌”^[1-2]。现代研究结果显示, 冬虫夏草富含腺苷、多糖、甾醇等多种活性物质, 具有免疫调节、抗疲劳、抗炎、抗氧化、抗癌, 保护心血管、肾脏等生理药理活性^[3-5], 是养生保健常用的名贵中药材之一, 市场需求逐年增加。由于冬虫夏草生长缓慢, 自我更新能力低, 而全球气候变暖, 过度采挖等导致资源量逐年减少, 因此需要进行快速规模化的人工培植, 补充不断锐减的野生资源, 同时为加快野生资源的恢复提供技术支撑。冬虫夏草形成过程中需要其成功感染蝙蝠蛾幼虫, 并避免感染粉棒束

孢、绿僵菌等其他致死性病原菌。病原菌感染蝙蝠蛾幼虫与其先天免疫密切相关, 模式识别受体能识别除冬虫夏草菌外的致死病原菌, 激活体内免疫, 以清除病原菌, 从而有效提高感菌幼虫的存活率。转录组数据分析, β -1,3-葡聚糖识别蛋白在病原菌感染蝙蝠蛾幼虫过程发挥着重要的免疫作用^[6]。

模式识别受体与病原分子模式的识别和结合是启动昆虫体内天然免疫机制的关键, 其中 β -1,3-葡聚糖识别蛋白可以识别结合革兰氏阴性细菌和真菌细胞壁 β -1,3-葡聚糖, 被认为是组成型的表达, 并与病原相关分子模式识别结合, 启动蛋白水解酶级联反应, 激活酚氧化酶的活性, 产生对外源微生物具有毒性的醌, 从而杀死入侵体内的外源微生物^[7-9]。目前 NCBI 数据库中收录的 β GRPs 氨基酸序列, 包含了 N 端的糖识别域和 C 端的糖基水解酶 16 家族成员相似的结构域, 但是丧失了糖基水解酶的活性^[10]。目前数据库收录的鳞翅目蝙蝠蛾科昆虫仅有 1 种, 其进化为独立的分支, 其中 β GRP4a、 β GRP4b 含有 β -1,3-葡聚糖酶序列相似但没有葡聚糖酶活性位点的 C 末端结构域, β GRP4b 在 N-末端区域约有 80 个氨基酸残基的缺失, 可能形成家族蛋白新的功能^[11-12]。

小金蝠蛾由于生长发育快, 人工培植成虫的繁殖能力强, 是目前冬虫夏草人工培植虫种的种质资源。小金蝠蛾

基金项目 重庆市科技局基础研究与前沿探索项目 (cstc2019jcyj-msxmX0679); 重庆市科技局技术创新与应用发展项目 (cstc2019jsex-msxmX0094); 重庆市中药研究院基本科研业务费项目 (jibky20190010)。

作者简介 贺元川 (1985—), 女, 四川隆昌人, 助理研究员, 硕士, 从事食药菌培植与病害研究。* 通信作者, 研究员, 从事冬虫夏草人工培植研究。

收稿日期 2020-12-08

作为冬虫夏草的优势寄主昆虫之一,对其免疫相关蛋白的研究处于起步阶段,文献报道主要集中于转录组分析免疫相关蛋白的表达,但是对于免疫相关基因的研究比较缺乏,除了对免疫激活下游的酚氧化酶基因有报道,对于小金蝠蛾的 β GRP1基因的研究鲜见相关报道^[6,13]。该研究从寄主小金蝠蛾幼虫克隆 β GRP1基因,采用生物信息学开展基因分子特征和进化分析,以期为进一步研究该基因的功能奠定基础,为病原菌的侵染机理研究提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 小金蝠蛾幼虫。来源于康定雅家梗虫草基地,温度12~15℃,湿度60%~65%,为人生果、珠芽蓼等饲养的4龄幼虫。

1.1.2 主要试剂。OMEGA公司的RNA试剂盒、胶回收试剂盒,全式金公司的HiFi DNA聚合酶,反转录试剂盒,引物合成、测序由上海生工完成,其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

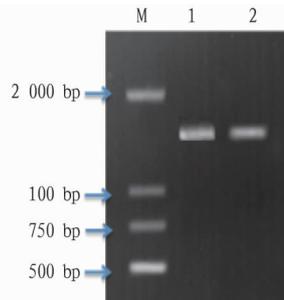
1.2.1 小金蝠蛾幼虫RNA的提取及cDNA的合成。取4龄幼虫,分别收集幼虫的血淋巴、脂肪体等组织,经液氮研磨后,按照RNA提取试剂盒中操作方式进行总RNA提取,浓度测定,经由反转录试剂盒的操作方法合成cDNA第一链,-80℃保存。

1.2.2 小金蝠蛾幼虫基因的序列克隆。在西南大学家蚕生物学国家重点实验室对粉棒束孢侵染蝙蝠蛾幼虫转录组测序结果分析,发现8条注释为蝙蝠蛾幼虫的 β GRPs基因的相关序列,根据文献和数据库鳞翅目昆虫的 β GRP比对分析,选择其中1条与蒲氏勾蝠蛾 β GRP相似度最高的序列设计引物克隆小金蝠蛾幼虫 β GRP1基因的cDNA片段。 β GRP-F1: GGAATTCCATATGCAATATGACGTACCACCGGC; β GRP-R1: ACGCGTCGACTTATAAAGCGTAGACTCGGAC。PCR扩增反应体系(50 μ L):正向引物、反向引物各1 μ L, cDNA 2 μ L, dNTP(2.5 mmol/L) 2 μ L, 10 buffer 5 μ L, GC enhancer 2.0 μ L, HiFi 0.2 μ L, dd H₂O 26.2 μ L, 热启动后94℃预变性2 min, 94℃30 s, 60℃1 min, 72℃1 min 30 s, 循环35次, 72℃5 min, PCR产物经琼脂糖凝胶电泳检测, 切胶, 回收PCR产物, 连接pEASY-t1载体, 构建重组质粒pMD19t- β GRP1, 热击法转化大肠杆菌*E. coli* DH 5 α 感受态细胞, 培养后挑选阳性克隆子进行PCR验证, 并送至上海生工公司完成测序。

1.2.3 数据处理与分析。对测序的序列进行生物信息学分析, 利用ProtParam和NetPhos 2.0 Server进行蛋白质理化性质、疏水性、跨膜结构、磷酸化位点预测分析; 用Conserved Domains分析目的蛋白结构域; 通过TMHMM 2.0和Signal IP5.0 Server预测跨膜结构和信号肽; 使用NCBI的blast与其他物种进行同源性分析及多重序列比对分析; 以葡聚糖酶为外群, 以MJ法应用MEGA 7.0构建系统进化树, 自引导检验估计系统树中结点进行1 000次bootstrap检验重复。

2 结果与分析

2.1 β GRP1基因的克隆 PCR扩增的 β GRP1目的基因, 1.0%琼脂凝胶电泳检测, 得到片段大小为1 600 bp左右(图1), 初步确定是目的片段, 构建重组质粒克隆的基因与勾蝠蛾基因相似度51%, 被认为克隆得到了小金蝠蛾 β GRP1基因。



注: M. marker; 1. PCR扩增获得的编码区cDNA; 2. 质粒pMD19t- β GRP1的PCR扩增产物

Note: M. marker; 1. PCR results of coding β GRP1 cDNA; 2. pMD19t- β GRP1 PCR amplification

图1 β GRP1基因的PCR扩增结果

Fig. 1 PCR amplification results of β GRP1 gene

2.2 序列特征与理化性质分析 小金蝠蛾幼虫 β GRP1核苷酸序列开放阅读框1 593 bp, 起始密码子ATG, 终止密码子TAA, ProtParam软件在线分析编码蛋白的氨基酸序列蛋白残基数量530, 氨基酸分布见表1。不含有Sec、Pyl氨基酸, 化学式C₂₇₀₁H₄₁₄₇N₇₁₃O₇₈₉S₂₁, 分子量59.905 2 kD, 理论等电点6.38, 呈近中性, 不稳定系数36.55, 属于稳定蛋白, 脂肪系数78.85, 半衰期30 h, 亲水性平均系数为-0.269, 显示为亲水性蛋白, ProtScale在线预测 β GRP1亲疏水性预测见图2, 正值表示疏水性, 负值表示亲水性, 多肽链大部分为亲水性, 预测为亲水性蛋白, 结果与ProtParam预测一致。NetPhos 2.0 Server预测 β GRP1含有丝氨酸有18处, 苏氨酸有5处, 酪氨酸有6处位点可能被磷酸化。

表1 小金蝠蛾蛋白氨基酸分布

Table 1 Amino acid distribution of β GRP1

序号 No.	氨基酸 Amino acid	比率 Ratio/%
1	Ala	4.5
2	Asp	5.5
3	Glu	6.2
4	Ile	6.0
5	Met	2.3
6	Tyr	3.0
7	Ser	8.9
8	Arg	5.1
9	Gly	1.7
10	Cys	7.5
11	Leu	7.5
12	Phe	6.2
13	Thr	5.3
14	Val	7.4
15	Asn	5.7
16	Gln	2.5
17	His	1.1
18	Lys	6.2
19	Pro	4.7
20	Trp	4.5

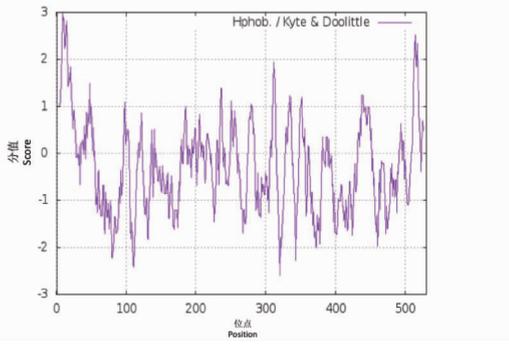


图 2 小金蝠蛾 β GRP1 蛋白疏水性分析

Fig. 2 Hydrophobicity analysis Hxi β GRP1 of *Hepialus xiaojinensis*

2.3 跨膜结构域和保守功能域的分析 利用 TMHMM 对 β GRP1 蛋白的跨膜结构进行了预测,如图 3 所示,该蛋白在 N 端 5~27 氨基酸位置可能存在跨膜螺旋结构,属于跨膜蛋白。TargetP2.0 和 Signalp5.0 预测 β GRP1 蛋白属于分泌性蛋白,N 端存在 20 个氨基酸信号肽,剪切位点在 20~21,分值为 0.813 7,如图 4、5 所示。利用 NCBI 数据库的 CDD 分析了蛋白序列所含有结构域(图 5),结果显示,该蛋白包括能够识别入侵微生物的糖类结合结构域(CBM39)和结合 β -1,3-葡聚糖的糖苷水解酶结构域(GH16- β -GRP) 2 个结构域,二者同时出现有利于结合三螺旋 β 葡聚糖结构,由此可见,该蛋白可能主要负责识别和结合真菌细胞壁中的 β -1,3-葡聚糖,从而激活和启动昆虫的天然免疫^[14]。

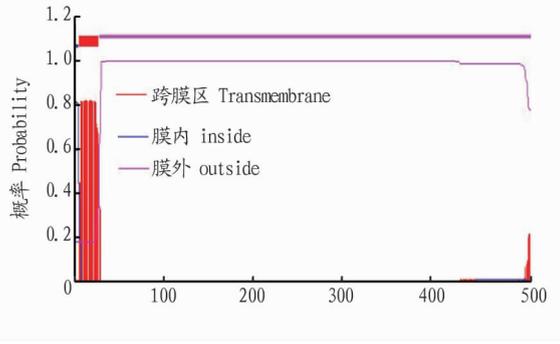


图 3 小金蝠蛾 β GRP1 跨膜结构域预测分析

Fig. 3 The transmembrane domain prediction of Hxi β GRP1

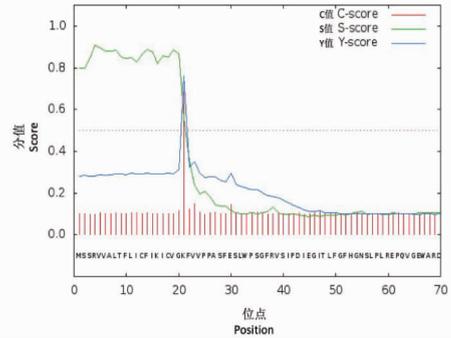


图 4 小金蝠蛾 β GRP1 信号肽预测分析

Fig. 4 The signal peptide prediction of Hxi β GRP1

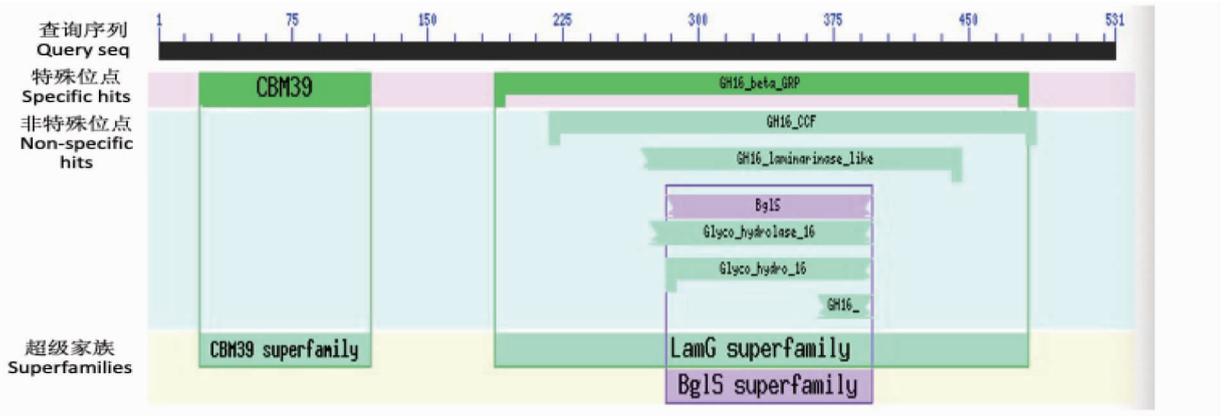


图 5 小金蝠蛾 β GRP1 的功能域预测

Fig. 5 Prediction of the conserved domains of Hxi β GRP1

2.4 基因的遗传进化分析 葡聚糖识别蛋白是昆虫参与先天免疫的重要蛋白,为了揭示鳞翅目昆虫基因的亲缘关系,以小金蝠蛾幼虫的序列进行 blast 分析,与蒲氏勾蝠蛾的相似性为 51.43%,选择 NCBI 数据库中 β GRPs 蛋白用 MEGA7.0 以鳞翅目昆虫的 β -1,3-葡聚糖酶作为外群进行蛋白比对分析和构建系统进化树。从进化树可以看出(图 6),鳞翅目昆虫 β GRPs 家族蛋白分为 4 个进化分支,其中蝙蝠蛾科的蒲氏勾蝠蛾和小金蝠蛾为独立的进化分支,进化时间上介于 I 型和 III 蛋白,目前 I 型蛋白的研究结果显示 I 型的 β GRPs 可在血细胞、脂肪体以及上皮细胞中组成型表达,当遇到病原菌入侵时可分泌至血淋巴中行使免疫识别功能,并能结合 β -1,3-葡聚糖后与丝氨酸蛋白酶作用,激活酚氧

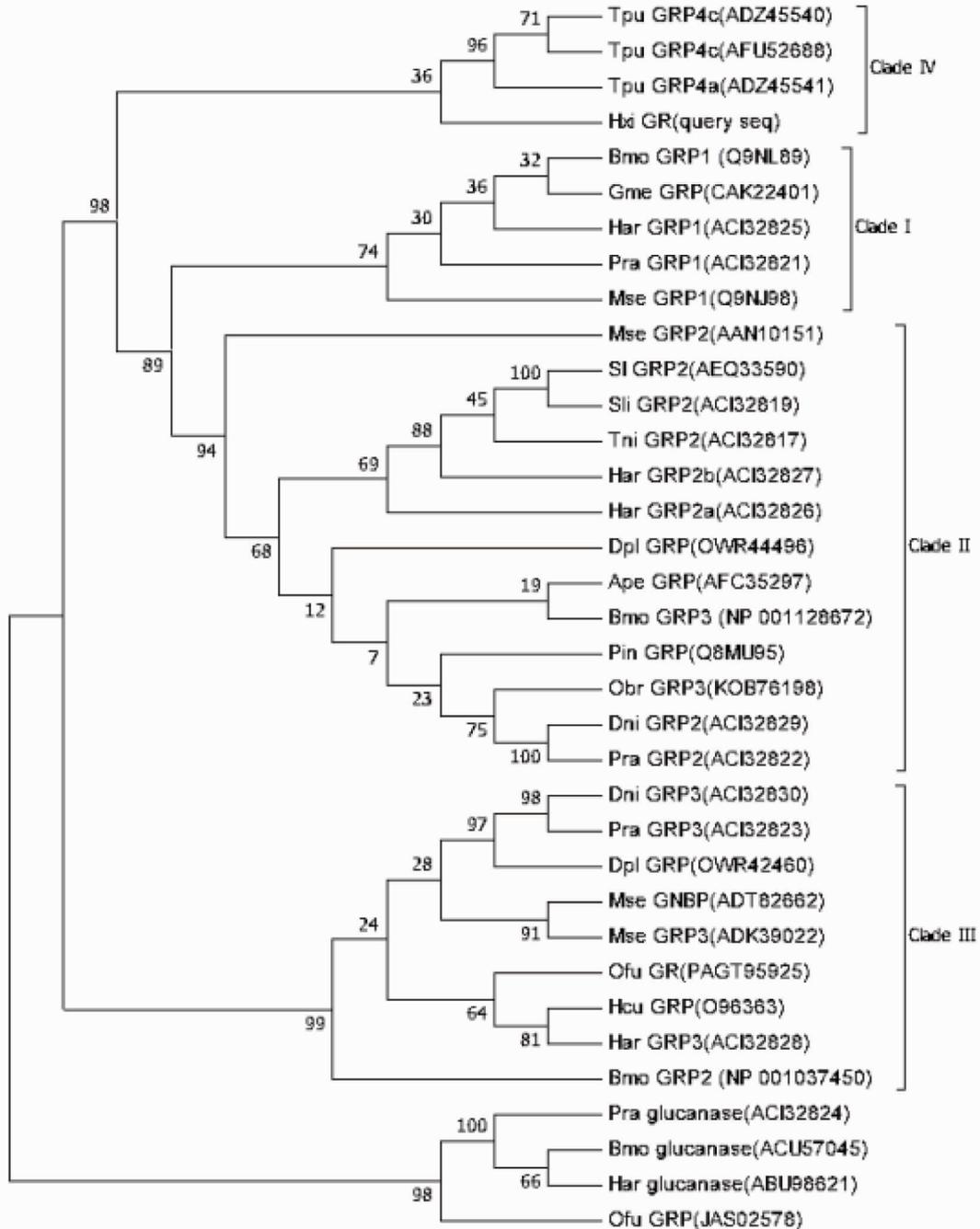
化酶原级联系统^[15]。从上述的蛋白结构预测分析,可推测小金蝠蛾的蛋白功能上可能与家蚕类似,即识别病原葡聚糖后与丝氨酸蛋白酶作用,激活酚氧化酶原级联系统,促进昆虫发生黑化、集聚等免疫反应,以抵抗病原微生物入侵^[16]。

3 结论与讨论

根据上述结果分析小金蝠蛾幼虫 Hx β GRP1 蛋白从属于 GH16 和 CBM39 家族,含有保守的 C 末端葡聚糖酶相似结构域,但是与部分 β GRPs 家族成员一样不具有葡聚糖酶活性,由此推测该蛋白可能有 1,3-葡聚糖酶进化而来,丧失了糖基水解酶活性,但保留了葡聚糖酶的结合能力,可作为昆虫体内的模式受体参与病原物的识别反应,激活机体的免疫反应^[17]。小金蝠蛾幼虫 β GRP1 蛋白 N 端 GH16 葡聚糖识别结

构域参与入侵微生物识别的 β -1,3-葡聚糖结合,与糖基水解酶家族 16 同时出现,有助于识别并结合三螺旋 β -1,3-葡聚糖结构,该蛋白的磷酸化位点丰富,可能与酶原级联系统密切相关^[18]。由此可见,该蛋白可能与家蚕 β GRP1 的功能类似,通过该蛋白结合真菌表面的 β -1,3-葡聚糖,激活先天

免疫级酚氧化酶原系统,以应对病原菌的入侵。蝙蝠蛾幼虫生长环境主要是高海拔、低温低气压的特殊环境,在进化的速度出现了差异。小金蝠蛾与蒲氏勾蝠蛾分属 2 个进化分支,蒲氏勾蝠蛾比小金蝠蛾更早出现分化。



注:以鳞翅目 β -1,3-葡聚糖酶作为外群,小金蝠蛾幼虫 β GRP1 用方框标记

Note: Lepidopteran β -1,3-glucanase serve as an outgroup, β GRP1 from *Hepialus xiaojinensis* were marked by rectangle

图 6 鳞翅目昆虫 β GRP 的 ML 分子进化树

Fig. 6 Maximum likelihood phylogenetic tree of β GRP family proteins from Lepidopteran insects

冬虫夏草是我国珍稀药用真菌,需要冬虫夏草菌成功侵染才能形成,然而冬虫夏草菌的寄主蝙蝠蛾昆虫生长于高寒地带,因此研究基础相对薄弱。近年来,随着重庆市虫药研究院蝙蝠蛾幼虫人工种群的建立,为昆虫的研究提供了条

件,开展小金蝠蛾 β GRP1 重要免疫分子的研究,将为冬虫夏草与幼虫的互作关系研究提供理论参考。根据生物信息学分析结果表明,小金蝠蛾 β GRP1 蛋白的存在与真菌细胞壁

(下转第 101 页)

费等相关经营生产成本后的净收入作为年净收益,然后利用有限期年金公式计算毛竹年 1 hm² 的价值,评估对象桂林国有林场共有 45.4 hm² 毛竹,价值为 33 676.07 元/hm²,因此建阳区桂林国有林场拟转让的 45.4 hm² 毛竹资产价值为 1 528 900 元。

3 讨论

近年来,虽然我国针对森林资源资产评估出台了诸多条例和相关管理方法,但并未在法规和相关管理方法中对各类林种进行细化,这阻碍了我国毛竹林及其附属行业的发展^[8],因此应加快毛竹有关准则及管理方法的建设,使毛竹资源资产评估成为系统性、专业性的评估,将评估毛竹的过程规范化。同时,由于竹林经营地处环境艰苦的山区,技术人员的流动性大,而林业的生长周期长,造成有关评估的原资料不完整,收集数据的难度大,使评估项目同宗不同评现象屡见不鲜。鉴于此,可在地方设置相关林种的电子资料,根据年份、竹价、笋价等进行档案的列举,在每次更新数据时,将有效的信息进行筛选,提高评估结果的准确性^[9]。国有林场的毛竹林价值评估业务也不断增加^[10],该研究应用的毛竹林价值评估方法较为清晰,便于委托人理解该项资产

(上接第 98 页)

葡聚糖结合功能结构域,并存在多个丝氨酸磷酸化位点,由此推测在小金蝠蛾幼虫遇到冬虫夏草菌侵染时,可能识别并结合细胞壁葡聚糖,并与丝氨酸蛋白酶作用,激活酚氧化酶原级联系统,从而影响冬虫夏草菌的侵染。在鳞翅目的模式昆虫家蚕中研究发现,真菌感染会提高家蚕 βGRP 的表达量,其他昆虫证实 βGRP 在真菌侵染发挥了重要作用。小金蝠蛾幼虫 βGRP1 和蝙蝠蛾科勾蝠蛾幼虫 βGRP4a、4b 都属于分泌蛋白,都有约 20 个氨基酸的信号肽,但是小金蝠蛾 βGRP1 存在跨膜结构。该研究为深入研究冬虫夏草寄主昆虫小金蝠蛾 βGRP1 的生化特性及分子免疫性奠定了基础,对研究冬虫夏草菌的侵染机理和丰富昆虫天然免疫体系具有重要意义,有助于推动冬虫夏草资源的开发和保护。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2015 版 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:115.
- [2] JIRAUNGKOORSKUL K, JIRAUNGKOORSKUL W. Review of naturopathy of medical mushroom, *Ophiocordyceps sinensis*, in sexual dysfunction[J]. *Pharmacognosy reviews*, 2016, 10(19):1-5.
- [3] XU J, HUANG Y, CHEN X X, et al. The mechanisms of pharmacological activities of *Ophiocordyceps sinensis* fungi[J]. *Phytotherapy research*, 2016, 30(10):1572-1583.
- [4] YUE K, YE M, ZHOU Z J, et al. The genus *Cordyceps*: A chemical and pharmacological review[J]. *The journal of pharmacy and pharmacology*, 2013, 65(4):474-493.
- [5] BELWAL T, BHATT I D, KASHYAP D, et al. *Ophiocordyceps sinensis* [M]//Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements. Amsterdam: Elsevier, 2019:527-537.
- [6] MENG Q, YU H Y, ZHANG H, et al. Transcriptomic insight into the immune defenses in the ghost moth, *Hepialus xiaojinensis*, during an *Ophiocordyceps sinensis* fungal infection[J]. *Insect biochemistry and molecular*

的计算过程。随着我国毛竹产业不断壮大,资产评估人员不断专业化,评估理论和方法也不断完善,能够提供更精准的资产评估数据,从而有利于促进乡村全面振兴,加快竹区农民脱贫致富。

参考文献

- [1] 陈荣. 毛竹林资源资产评估研究[D]. 福州:福建农林大学,2012.
- [2] 陈平留,刘健,陈昌雄. 森林资源资产评估[M]. 北京:高等教育出版社,2009.
- [3] 邢美华,黄光体,张俊飏. 森林资源价值评估理论方法和实证研究综述[J]. 西北农林科技大学学报(社会科学版),2007,7(5):30-35.
- [4] 池上评,任文元,黄兴亮,等. 国家储备林质量精准提升工程项目人工商品林赎买定价分析及建议:以建瓯市为例[J]. 绿色科技,2020(19):131-134.
- [5] 应富华,陈志平,毛爽爽. 毛竹林资产评估初探[J]. 林业实用技术,2013(6):15-17.
- [6] 王强. 森林资源资产评估方法探讨[D]. 北京:对外经济贸易大学,2006.
- [7] 王宏伟,霍振彬,赵建平. 对《森林资源资产评估技术规范》中若干问题的探讨[J]. 林业资源管理,2009(1):31-34.
- [8] 陈平留,刘健,郑德祥. 福建省森林资源资产评估存在的问题与对策[J]. 林业经济问题,2001,21(3):133-135,140.
- [9] 魏远竹. 森林资源资产评估管理研究[J]. 科技导报,2006,24(6):58-62.
- [10] 郭木桂,李士坤. 漳平市竹产业现状及发展对策[J]. 现代农业科技,2009(16):206-208.

- [11] biology, 2015, 64:1-15.
- [7] 梁虹,王安利,王维娜. 无脊椎动物模式识别蛋白研究进展[J]. 生理科学进展,2006,37(2):156-159.
- [8] SUZUKI N, SUZUKI S, MILLAR D G, et al. A critical role for the innate immune signaling molecule IRAK-4 in T cell activation[J]. *Science*, 2006, 311(5769):1927-1932.
- [9] MEDZHITOV R, JANEWAY C. Innate immune recognition: Mechanisms and pathways[J]. *Immunological reviews*, 2000, 173(1):89-97.
- [10] 孙梓宣. 蒲氏勾蝠蛾寄生物及模式识别受体 GRP 与 apoLp-III 的研究[D]. 广州:中山大学,2012.
- [11] 雷桅,杨晓容,黄安石,等. 冬虫夏草寄生蒲氏钩蝠蛾 β-1,3-葡聚糖识别蛋白家族的分子结构与功能分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2015, 34(6):1300-1500.
- [12] SUN Z X, WU W J, ZHANG G R. Structure and expression of β-1,3-glucan recognition proteins from the ghost moth, *Thitarodes pui* (Hepialidae), and their response to *Beauveria bassiana* infection[J]. *J Insect Physiol*, 2011, 57(12):1660-1669.
- [13] 龙成燕,全超群,陈若霓,等. 小金蝠蛾酚氧化酶原基因的克隆及表达分析[J]. 西北农业学报,2019,28(12):2060-2068.
- [14] PILI-FLOURY S, LEULIER F, TAKAHASHI K, et al. *In vivo* RNA interference analysis reveals an unexpected role for GNBP1 in the defense against Gram-positive bacterial infection in *Drosophila adults*[J]. *Journal of biological chemistry*, 2004, 279(13):12848-12853.
- [15] MA C, KANOST M R. A beta1,3-glucan recognition protein from an insect, *Manduca sexta*, agglutinates microorganisms and activates the phenoloxidase cascade[J]. *The journal of biological chemistry*, 2000, 275(11):7505-7514.
- [16] OCHIAI M, ASHIDA M. A pattern-recognition protein for beta-1,3-glucan. The binding domain and the cDNA cloning of beta-1,3-glucan recognition protein from the silkworm, *Bombyx mori*[J]. *The journal of biological chemistry*, 2000, 275(7):4995-5002.
- [17] LEMAITRE B, HOFFMANN J. The host defense of *Drosophila melanogaster*[J]. *Annual review of immunology*, 2007, 25:697-743.
- [18] TAKAHASHI K, OCHIAI M, HORIUCHI M, et al. Solution structure of the silkworm βGRP/GNBP3 N-terminal domain reveals the mechanism for β-1,3-glucan-specific recognition[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(28):11679-11684.