

## 不同鳞翅目昆虫细胞色素 P450 基因(*CYPs*)的比较基因组学分析

艾均文\* 龚昕 薛宏 何行健 刘昌文 肖建中 刘勇 郑颖

湖南省蚕桑科学研究所,长沙 410127

\*通讯作者, [jwai718@sina.com](mailto:jwai718@sina.com)

**摘要** 细胞色素 P450(cytochrome P450, CYP)涉及许多昆虫生理功能,包括对信号分子的代谢、宿主植物的适应性及杀虫剂的抗性等。鳞翅目(Lepidoptera)昆虫的种类仅次于鞘翅目(Coleoptera),包含了大量的农业害虫。根据鳞翅目烟草天蛾(*Manduca sexta* L.)的基因组数据,开展CYPs的全基因组学分析,在该基因组中发现了110个可能的CYPs,可分为29个家族,其中有大量CYPs以串联重复形式排列。将分析所得序列与蝶类昆虫黑脉金斑蝶(*Danaus plexippus* L.)和模式昆虫家蚕(*Bombyx mori* L.)的CYPs进行比较基因组学分析,结果表明,在CYP2与线粒体集团(clan)中存在12对CYPs直向同源基因,而CYP3与CYP4集团的CYPs呈现种属特异性扩增趋势。通过比较分析鳞翅目昆虫与其他非鳞翅目昆虫的CYPs发现,鳞翅目昆虫之间不仅存在更多的直向同源基因对,而且鉴别出的直向同源基因群也更多,但出现新的家族与亚家族数量相对较少。不同鳞翅目昆虫基因组中的CYPs存在相当广泛的线性保守现象。这些不同昆虫间的比较基因组学分析将促进鳞翅目昆虫CYPs的研究,也有助于害虫治理新靶标的选择。

**关键词** 鳞翅目昆虫,细胞色素 P450(CYP),多样性,线性保守,比较基因组学分析

## Comparative Genomic Analysis of Cytochrome P450 Genes (*CYPs*) in Different Lepidopteran Insects

AI Jun-Wen\* GONG Xin XUE Hong HE Xing-Jian LIU Chang-Wen XIAO Jian-Zhong LIU Yong ZHENG Ying

The Sericultural Research Institute of Hunan Province, Changsha 410127, China

\* Corresponding author, [jwai718@sina.com](mailto:jwai718@sina.com)

**Abstract** Cytochrome P450 enzymes (CYPs) are involved in many physiological functions in insects, such as the metabolism of signal molecules, adaption to host plants and insecticide resistance. Species of Lepidoptera, which include the most disruptive agricultural pests, rank only secondly to those of Coleoptera. On basis of the draft genome sequence of lepidopteran insect, *Manduca sexta* L., a genome-wide analysis of CYPs was performed and 110 CYP-related sequences were obtained, which could be classified into 29 families according to standard nomenclature, a lot of which were tandemly arranged on chromosomes. We furtherly compared the CYP-related sequences with those of monarch butterfly (*Danaus plexippus* L.) and the model insect silkworm (*Bombyx mori* L.). The result revealed that there were 12 pairs of orthologs in CYP2 and mitochondrial clans, whereas many CYPs in CYP3 and CYP4 clans were present with species-specific expansions. There were more orthologous CYP pairs among lepidopteran insects in comparison with those between lepidopteran insects and the other insect orders. Many orthologous groups of paralogous genes could

基金项目:湖南省科技支撑计划项目(No. 2013NK3071)、现代农业(蚕桑)产业技术体系建设专项(No. CARS-22)和公益性行业(农业)科研专项(No. 201503141)

收稿日期:2014-08-25 接受日期:2014-10-11

be also distinguished from the phylogenetic tree in spite that a high frequency of species-specific expansion, relatively few different CYP families and subfamilies were represented among different lepidopteran insects. Extensive synteny of **CYPs** was also maintained in the different lepidopteran insect genomes. The insights obtained from comparative genomic analysis will greatly facilitate researches on all lepidopteran **CYPs**, and in particularly on selective targets for innovative pest management.

**Keywords** Lepidopteran insect, Cytochrome P450 (CYP), Diversity, Synteny conservation, Comparative genomic analysis

昆虫是地球上最繁盛的生物种群,其中鳞翅目(Lepidoptera)昆虫就达16万种,种类仅次于鞘翅目(Coleoptera)昆虫,并且包含了大量的农业与森林主要害虫,对其进行综合防治与抗性治理是面临的重大挑战(The International Silkworm Genome Consortium, 2008)。细胞色素 P450(cytochrome P450, CYP)作为最古老和最庞大的超基因家族,其酶系是昆虫中涉及抗性的三大主要代谢解毒酶类之一。CYPs参与昆虫和宿主植物之间的防御与反防御,促进协同进化;参与杀虫剂等环境有毒物质的代谢,介导昆虫抗性。此外,其还参与了保幼激素、蜕皮激素和脂肪酸等内源化合物的合成与降解,调节昆虫的生长与发育等(Feyereisen, 2005; 吴益东等, 1997)。Feyereisen等(1989)克隆了第一个昆虫**CYP**基因,之后利用现代分子生物学方法研究昆虫**CYPs**逐渐成为了热点。特别是本世纪以来多种昆虫基因组测序工作已相继完成,对其**CYPs**的研究也随之进入了基因组学研究时代(Feyereisen, 2005; 艾均文等, 2011)。

继鳞翅目模式昆虫家蚕(*Bombyx mori* L.)率先完成基因组测序后(The International Silkworm Genome Consortium, 2008),蛱蝶科的黑脉金斑蝶(*Danaus plexippus* L.)(Zhan et al., 2011)、袖蝶科的诗神袖蝶(*Heliconius melpomene* L.)(The *Heliconius* Genome Consortium, 2012)、天蛾科的烟草天蛾(*Manduca sexta* L.)、夜蛾科的小菜夜蛾(*Plutella xylostella* L.)(Lin et al., 2013)与灰翅夜蛾(*Spodoptera littoralis* L.)、螟蛾科的水稻二化螟(*Chilo suppressalis* L.)(Wang et al., 2014)等多个鳞翅目昆虫也先后完成了基因组测序,这为在全基因组范围内揭示鳞翅目昆虫**CYPs**的结构、分布、表达及进化规律,进而完成其基因功能研究提供了必要条件。特别是鳞翅目昆虫分化时间仅有1亿年左右(d'Alencon et al., 2010),对这些进化关系紧密的生物类群的超基因家族开展比较基因组学分析,不仅有助于研究单个

基因功能,还有利于探明该类群物种分化后对各自不同生存环境产生适应性的规律(Good et al., 2014)。至今,在已测序的鳞翅目昆虫中开展**CYPs**全基因组学分析的研究很少(Ai et al., 2011),或是由于序列完整性较低,或是序列未予公开(Wang et al., 2014; Lin et al., 2013)。基于此,本研究根据烟草天蛾基因组80.7倍覆盖度的454测序数据,在全基因组范围内对其**CYPs**进行比对搜索,进而利用所得序列与家蚕及黑脉金斑蝶的**CYPs**在全基因组水平上进行比较基因组学分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 序列来源

烟草天蛾(*Manduca sexta* L.)、黑脉金斑蝶(*Danaus plexippus* L.)与家蚕(*Bombyx mori* L.)的基因组序列来自NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。黑脉金斑蝶、家蚕、果蝇(*Drosophila melanogaster* L.)、冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae* L.)、人(*Homo sapiens* L.)和水稻(*Oryza sativa* L.)的CYP氨基酸序列来自细胞色素 P450 主页(<http://drnelson.uthsc.edu/cytochrome450.html>)。灰翅夜蛾(*Spodoptera littoralis* L.)和棉铃虫(*Helicoverpa armigera* L.)等不同鳞翅目昆虫的CYP氨基酸序列来自GenBank。

### 1.2 序列分析

昆虫CYPs虽然表现出序列多样性和高度分化的特征,但仍具有多个特征结构域(Feyereisen, 2005)。C端标志性结构域为所有CYPs的共同特征, FxxGxxxCxG为其信号序列(x代表任意氨基酸,下同)。此外,昆虫CYPs还存在其他特征结构域,如:螺旋C(WxxxR)、螺旋I(AGxD/ET)、螺旋K(ExxR)及“PERF”(PxxFxPE/DRF)等,可用来鉴定不同类型CYP序列的完整性。如果从基因组预测的基因不具有完全的开放阅读框,参照Ai等(2011)的方法,将已确定含有**CYP**基因的一段基因组

scaffold序列进行所有可能的不同相位编码序列翻译,结合规范的GT/AG规则,与已知的CYPs序列比对,尽可能延伸其序列。为探明昆虫CYPs在基因组内分布的一般性规律,将蚕蛾科的家蚕、蛱蝶科的黑脉金斑蝶、天蛾科的烟草天蛾的CYPs进行比较基因组学分析。

### 1.3 主要分析程序与软件

本地数据库的建立与预测基因的搜索均采用BLAST工具;通过BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>)在线比对,分析预测的CYPs和其他物种CYPs的相似性;利用GeneWise程序(<http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/genewise/>)对基因组内含有预测CYPs的种子序列进行不同阅读框翻译;CYPs同源性的聚类分析:利用Clustalx1.83进行多重比对,之后用MEGA4.0软件按UPGMA法构建进化树,1000次重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 烟草天蛾CYPs的预测分析

首先利用烟草天蛾的基因组核酸序列建立本地数据库,再用不同物种CYPs的氨基酸序列对数据库进行TBLASTN搜索。搜索到的预测序列进行BLASTP在线比对,若与已知CYPs氨基酸序列有较高的相似性( $E\text{-value} \leq 1e-6$ ),则认为其是可能的CYPs,结果共获得110条预测的烟草天蛾CYPs基因序列。根据昆虫CYPs特征性序列及一般性规律分析发现(Feyereisen, 2005),只有部分序列为全长序列,这与Neslon等(2004)进行CYP基因组预测的分析结果相一致。即根据基因组数据预测基因时,分析软件常会发生错误装配,或遗失基因某一部分外显子,或由于基因簇中存在多个同源性较高的序列导致装配时出现嵌合序列,有时甚至会遗漏掉整个CYP基因。因此在本研究中,继续将包含有非完整预测CYP基因的基因组scaffold序列作为种子序列,利用GeneWise程序、BioEdit软件及BLAST工具,进一步将其延伸,结果从烟草天蛾的基因组中分析得到了至少包含有350 aa的CYPs序列共98条。

### 2.2 3种昆虫CYPs的不同分布与功能分析

将氨基酸序列长度 $\geq 350$  aa的家蚕CYPs(79

条)(Ai et al., 2011; 艾均文等, 2011)、烟草天蛾CYPs(98条)、黑脉金斑蝶CYPs(74条)进行氨基酸序列比对,构建系统进化树。如图1所示,由于每个昆虫CYPs数量庞大,用传统的分类单元构建系统进化树时常会发生“夹入式”结构,昆虫CYPs分成了4个不同集团(clan),即CYP2 clan、CYP3 clan、CYP4 clan与Mito. clan(线粒体集团)(Feyereisen, 2005)。

#### 2.2.1 三种昆虫CYPs的不同分布

对上述3种昆虫的所有预测的CYPs序列(其中家蚕84条、烟草天蛾110条、黑脉金斑蝶86条)按所属集团进行分类统计,其分布数量与分布比例均存在一定差异(表1)。CYP2集团的基因个数较少,但数量基本恒定,仅家蚕中缺失了基因CYP304。线粒体集团主要是因为CYP333家族基因数量存在变化而产生差异,CYP333与外源物质代谢有关(Ai et al., 2011);此外家蚕中缺少了CYP428家族。在CYP3集团中家蚕缺少了CYP321家族,而CYP4集团中黑脉金斑蝶出现了新家族CYP405和CYP421,这2个集团的多个相同家族与亚家族在3种昆虫中所包含的基因数量不等(图1和表1)。大多数CYP2集团与线粒体集团的CYPs主要与昆虫生长发育相关,功能相对保守,而CYP3与CYP4集团的CYPs主要与植物次生物质和外源有毒物质的代谢有关,功能多样(Feyereisen, 2005)。

#### 2.2.2 CYPs直向同源基因的保守功能分析

通过系统进化树分析发现,在功能相对保守的CYP2与线粒体集团中存在大量的直向同源基因,在3种昆虫中呈现出1:1:1的直向同源基因共12对,而在数量众多、功能多样的CYP3与CYP4集团中只有4对(表1)。CYP4L与CYP365A至少在1种昆虫中存在2个或多个横向同源基因,但由于获得的序列长度偏短,未参与进化树的构建。目前,昆虫CYP2与线粒体集团大多数直向同源基因的重要功能已被不同研究工作所证实。对果蝇Halloween突变家族基因的研究发现,至少有5个CYPs分别参与了蜕皮激素合成的不同步骤(Feyereisen, 2011),其直向同源基因在家蚕等鳞翅目昆虫中的保守功能也得到了证实(Ai et al., 2011; Feyereisen, 2011)。蜕皮激素对昆虫生长、发育和繁殖有着重要的调控作用。其中,CYP306A1(Phantom, *phm*)、CYP302A1(Disembodied, *dib*)、CYP315A1(Shadow, *sad*)和CYP314A1(Shade, *shd*)分别参与了最后4个步骤,即

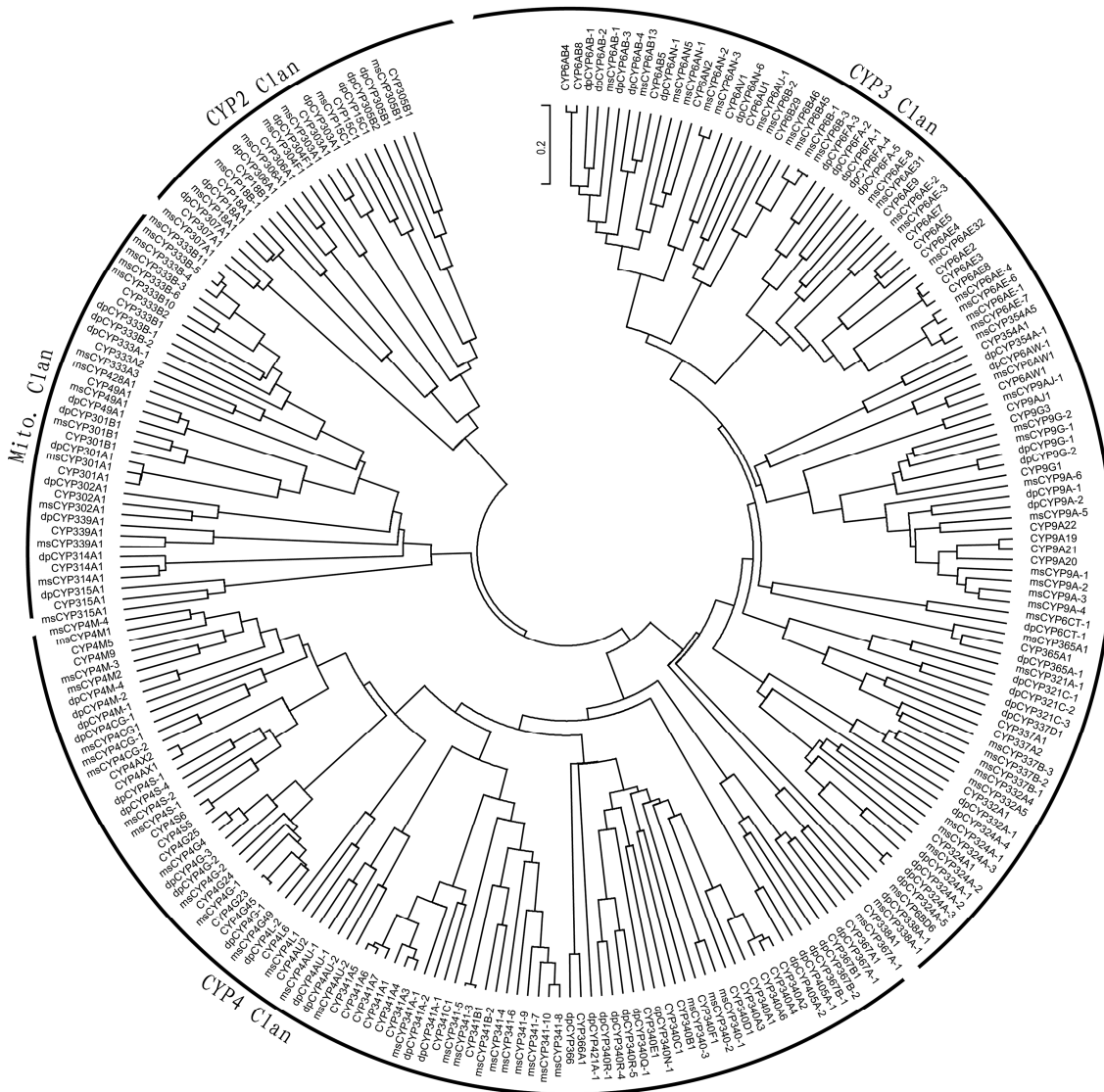


图1 家蚕、烟草天蛾及黑脉金斑蝶细胞色素CYPs的系统进化树

Figure 1 Phylogenetic tree of CYPs in *Bombyx mori* L., *Manduca sexta* and *Danaus plexippus*

基因名称前未加前缀的为家蚕CYPs; ms: 烟草天蛾; dp: 黑脉金斑蝶; 括弧外标示CYPs所属的特定集团; dpCYP6AF-2等命名中加“-”表示基因暂定名

The names of CYPs without prefix belong to the *Bombyx mori* L.; dp: *Danaus plexippus*; ms: *Manduca sexta*; CYP clans are marked with the arc; Some sequences are given placeholder names with a short ransverse line like dp CYP6AF-2

由2,22,25-三脱氧蜕皮酮(ketodiol, 2,22,25-dE, 2,22,25-trideoxyecdysone)合成具有催化活性的 $\beta$ -蜕皮素(20E, 20-hydroxyecdysone)的反应过程。另一个基因CYP307A1 (Spook, *spo*)参与了昆虫蜕皮激素合成过程中“黑匣子”(black box)的某一步骤,即中间产物7-脱氢胆固醇(7-dehydrocholesterol, 7dc)转化成另一中间产物2,22,25-三脱氧蜕皮酮的过程(Feyereisen, 2011)。果蝇的CYP18A1能将具有活性的 $\beta$ -蜕皮素转化成非活性的20,26-二羟蜕皮酮,即参与

了蜕皮激素的降解代谢,为C-26羟基化酶基因(Guittard et al., 2011)。家蚕CYP18A1的表达变化与其体内蜕皮激素的波动相一致,原位杂交发现该基因在前胸腺表达,该基因应参与了家蚕蜕皮激素的代谢(艾均文等, 2008; Hossain et al., 2008)。鳞翅目昆虫特有的CYP339A1在家蚕中经蜕皮激素诱导后在脂肪体中的转录水平上调了421倍(高瑞娜等, 2010),该基因也可能与家蚕蜕皮激素代谢有密切联系。家蚕CYP15C1在保幼激素合成的咽侧体

表 1 3种昆虫基因组中各CYP家族所属集团(Clan)及各集团所包含的基因数量

Table 1 Number of genes in each CYP clan and CYP families found in these clans

CYP集团	家蚕 <i>Bombyx mori</i> L.		烟草天蛾 <i>Manduca sexta</i>		黑脉金斑蝶 <i>Danaus plexippus</i>		1:1:1直向同源基因
CYP Clan	CYP 家族	基因数量	CYP 家族	基因数量	CYP 家族	基因数量	1:1:1 orthologues
	CYP family	No. of genes	CYP family	No. of genes	CYP family	No. of genes	
CYP2集团	<b>CYP15,18,</b>	7	<b>CYP15,18,</b>	8	<b>CYP15,18,</b>	8	<b>CYP15C,18A,303A,</b>
CYP2 clan	<b>303,305~307</b>		<b>303~307</b>		<b>303~307</b>		<b>306A,307A</b>
线粒体集团	<b>CYP49,301,302,</b>	11	<b>CYP49,301,302,</b>	16	<b>CYP49,301,</b>	12	<b>CYP49A1,301A,</b>
Mito. clan	<b>314,315,333,</b>		<b>314,315,333,</b>		<b>302,314,315,</b>		<b>301B,302A,314A,</b>
	<b>339</b>		<b>339,428</b>		<b>333,339,428</b>		<b>315A,339A</b>
CYP3集团	<b>CYP6,9,324,</b>	30	<b>CYP6,9,321,</b>	47	<b>CYP6,9,321,</b>	36	<b>CYP6AW,338A,354A</b>
CYP3 clan	<b>332,337,338,</b>		<b>324,332,337,</b>		<b>324,332,337,</b>		
	<b>354,365</b>		<b>338,354,365</b>		<b>338,354,365</b>		
CYP4集团	<b>CYP4,340,341,</b>	36	<b>CYP4,340,341,</b>	39	<b>CYP4,340,341,</b>	30	<b>CYP367A</b>
CYP4 clan	<b>366,367</b>		<b>366,367</b>		<b>366,367,405,421</b>		

中表达,能将法尼酸转换成保幼激素酸,即参与了保幼激素的合成,其突变体 *Dimolting(mod)* 则因缺乏这一必需的调控激素,导致生命周期缩短,提早化蛹,蛹体与蛾体均明显缩小(Daimon et al., 2012)。在目前所有测序昆虫基因组中均存在的直向同源基因的 *CYP301A1*,通过果蝇的 *piggyBac* 插入突变实验,证明其参与昆虫表皮的形成(Sztaf et al., 2012)。*CYP303A1* 在果蝇的感受器官刚毛槽细胞中特异表达,该昆虫突变体 *nompH* 缺乏正常行走、展翅及飞翔等能力,感受器官中的神经元与其他组织细胞不能正常形成(Willinghama, Keilb, 2004)。而 *CYP49A1*、*CYP301B1* 及其他集团的4个直向同源基因,其功能尚待进一步研究。

### 2.2.3 CYPs特异扩增的功能多样性分析

在黑脉金斑蝶与烟草天蛾中还出现了不同于家蚕的种属特异性CYPs扩增。如黑脉金斑蝶的 *CYP340*、*CYP6AB*、*CYP321C*、*CYP324A* 和 *CYP6AF*,烟草天蛾的 *CYP341*、*CYP333*、*CYP6B*、*CYP6AE* 和 *CYP324A*,这些家族或亚家族中来自于同一物种的CYPs更多地聚集在进化树的同一或邻近进化枝上;同时也出现了一些新的基因家族,如 *CYP304*、*CYP321*、*CYP405*、*CYP421*、*CYP428*。蝶类昆虫黑脉金斑蝶基因组中出现的新家族与亚家族相对较多。这些特异性扩增的CYPs,绝大多数来自CYP3与CYP4集团,主要参与了植物毒素与外源环境中有毒物质的代谢。如凤蝶属昆虫取食含有天然次生有毒物质呋喃香豆素的植物,其中北美黑凤蝶 (*Papilio polyxenes* L.)的 *CYP6B1* 与北美大黄凤蝶

(*Papilio glaucus* L.)的 *CYP6B4* 就分别参与了线型花椒毒素的解毒(Ma et al., 1994; Petersen et al., 2001)。美洲棉铃虫(*Helicoverpa zea* L. 危害旱芹 (*Apium graveolens* L.)叶片后,旱芹会产生茉莉酮酸酯和水杨酸酯等植物信号分子,在旱芹体内诱导产生呋喃香豆素,并且能诱导美洲棉铃虫4个CYP6B基因上调表达,说明美洲棉铃虫截获植物防卫信息后诱导活化自身解毒酶来武装自己以应对植物的防御措施,昆虫与取食植物之间在长期的进化过程中形成了一套巧妙的相互适应机制(Li et al., 2002)。柑橘凤蝶(*Papilio xuthus* L.)的 *CYP341A2*(Hajime et al., 2005)、灰翅夜蛾的 *CYP324A1*(Pottier et al., 2012)、甘蓝夜蛾 (*Mamestra brassicae* L.)的 *CYP4S4*、*CYP4L4*、*CYP4G20*、*CYP9A13*(Maibeche-Coisne, et al., 2005)以及家蚕的 *CYP4G22*、*CYP366A1*、*CYP6AE2*(Ai et al., 2011)在化学感应器官中表达,应与昆虫相应的环境选择与食物识别有关。此外,这些数量众多的特异性扩增基因或突变等位基因具有诱导因素的多样性与底物的重叠性,组成了为应对外界环境的不断变化而选择表达的基因储备库(Feyereisen, 2005),导致了昆虫应答外界压力时的选择弹性与应对异生物质时的交互抗性(Scott, Kasai, 2004)。家蚕在二嗪农、吡虫啉与茚氯菊脂等不同类型的农药诱导后, *CYP4M5*、*CYP4G25*、*CYP333A2* 和 *CYP9A20* 等基因表达明显上调(Yamamoto et al., 2010)。美洲棉铃虫氰戊菊酯抗性品系TWB中的 *CYP337B3* 是染色体不均等交换产生的一个嵌合基因,能将氰戊菊酯羟基化而

产生4'-羟基氰戊菊酯,使这一昆虫对氰戊菊酯的抗药性增加了42倍(Joußen et al., 2012)。

### 2.3 不同昆虫CYPs的成簇排列与共线性分析

在3个昆虫基因组中,CYPs串联成簇排列现象普遍存在,其中家蚕2/3的CYPs以串联形式存在(Ai et al., 2011),烟草天蛾中的串联基因更多,可能是该基因组框架图中存在许多gap所致,黑脉金斑蝶则相对较少。从现有烟草天蛾基因组框架图中发现的最大的基因簇由5个CYP9A组成,黑脉金斑蝶中最大的基因簇由5个CYP6FA组成。在家蚕基因组精细图中发现的最大的基因簇为26号染色体上的CYP340基因簇,由9个基因组成(Ai et al., 2011)。因此,可以通过这些串联复制CYPs之间或CYPs与其他基因之间的线性保守关系(d'Alençon et al., 2010),结合基因结构特征来判断不同CYPs在各昆虫基因组间的直向同源关系。

CYP306A1、CYP18A1和CYP18B在3个基因组中串联成簇排列,其中黑脉金斑蝶缺失了CYP18B(图2A),不同昆虫的CYP306A1与CYP18A1的保守功能已得到证实(Ai et al., 2011; Guittard et al., 2011)。鳞翅目特有的CYP9A也普遍在夜蛾科的棉铃虫与草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda* L.)等多个昆虫中串联排列(d'Alençon et al., 2010),家蚕的4个CYP9A基因位于17号染色体上(Ai et al., 2010; 2011),烟草天蛾CYP9A的共线性出现在scaffold00502,成簇的CYP9A-1~CYP9A-4在间隔多个串联的乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenases, ADH)基因后,出现了另一个不同转录方向的CYP9A-5基因,这进一步印证了这一基因簇在数量扩增过程中存在反向复制的推断(Ai et al., 2010),CYP9A-5与家蚕CYP9A22在基因簇中位置相同,氨基酸序列同一性最高,并且其直向同源关系在系统进化树中也得到了体现(图1),但在黑脉金斑蝶中未发现这种直向同源关系(图2B)。在进化树中呈现1:1:1直向同源关系的CYP301A与CYP301B在3个基因组中均以串联形式存在(图2C)。CYP4M在3个基因组中均存在串联排列,只是它们在特异分化过程中烟草天蛾产生了加倍复制(图2D),这种特异分化现象也出现在CYP6AB、CYP340和CYP341等串联基因中。此外,还发现了有些串联排列CYPs在其中的2种昆虫间也存在着共线性关系。如:家蚕与烟草天蛾的CYP4G和CYP6AE及来自不同集团的

基因CYP354A与CYP315A、CYP4L与CYP333B,烟草天蛾与黑脉金斑蝶的CYP324A等。

### 3 讨论

对昆虫CYPs的全基因组学分析有助于深入了解该超基因家族的多样性。本研究在烟草天蛾基因组中得到了110条CYPs特征序列,而在已测序的昆虫基因组中,CYPs数量最多的是致倦库蚊(*Culex quinquefasciatus* L.),含有204个(Yang, Liu, 2011),最少的则是人体虱(*Pediculus humanus* L.,只有37个(Lee et al., 2010)。不同基因组中CYPs的数量与种类不同,主要与这些昆虫的取食对象及生存环境相关(Tribolium Genome Sequencing Consortium, 2008),致倦库蚊为食腐性昆虫,人体虱仅寄生于人类。在鳞翅目昆虫CYPs全基因组学分析中发现,家蚕(Ai et al., 2011; 艾均文等, 2011)、水稻二化螟(Wang et al., 2014)、黑脉金斑蝶、小菜夜蛾(Lin et al., 2013)中的CYPs数量分别为84(79个功能基因)、77、86和156。小菜夜蛾是世界主要鳞翅目害虫,取食种类繁多,主要为十字花科等植物,具有世界迁飞性与解毒能力强等特点(Lin et al., 2013),其CYPs数量最多;烟草天蛾属杂食性害虫,取食茄科植物(其中烟草还含有大量尼古丁等有毒物质),CYPs数量次之;黑脉金斑蝶是唯一的迁徙性蝴蝶,幼虫以毒性马利筋为食,CYPs数量再次之;而二化螟取食水稻等作物及禾本科杂草,家蚕为寡食性昆虫,CYPs数量相对较少。

在基因组图谱及高通量测序的基础上,对包括CYP在内的超基因家族开展基因分布与基因组结构的比较基因组学分析,是研究这些数量众多、功能多样的基因家族的重要手段。在鳞翅目昆虫基因组中,隶属于CYP2和线粒体集团,功能相对保守的CYPs数量较少且基本恒定,而隶属于CYP3与CYP4集团,功能多样的CYPs数量众多且在不同基因组中产生了差异性分化。相对于家蚕、黑腹果蝇、蜜蜂(*Apis mellifera* L.)等昆虫的CYPs的基因组比较分析结果(Ai et al., 2011; 艾均文, 2008),这些鳞翅目昆虫基因组之间不仅存在更多的直向同源基因,而且存在着数量更多的基因家族或亚家族基因的直向同源基因群,说明鳞翅目昆虫基因组在较短的进化时间内,只是祖先基因组中的某些CYPs在不同基因组中得到了不同数量的扩增,呈现出了

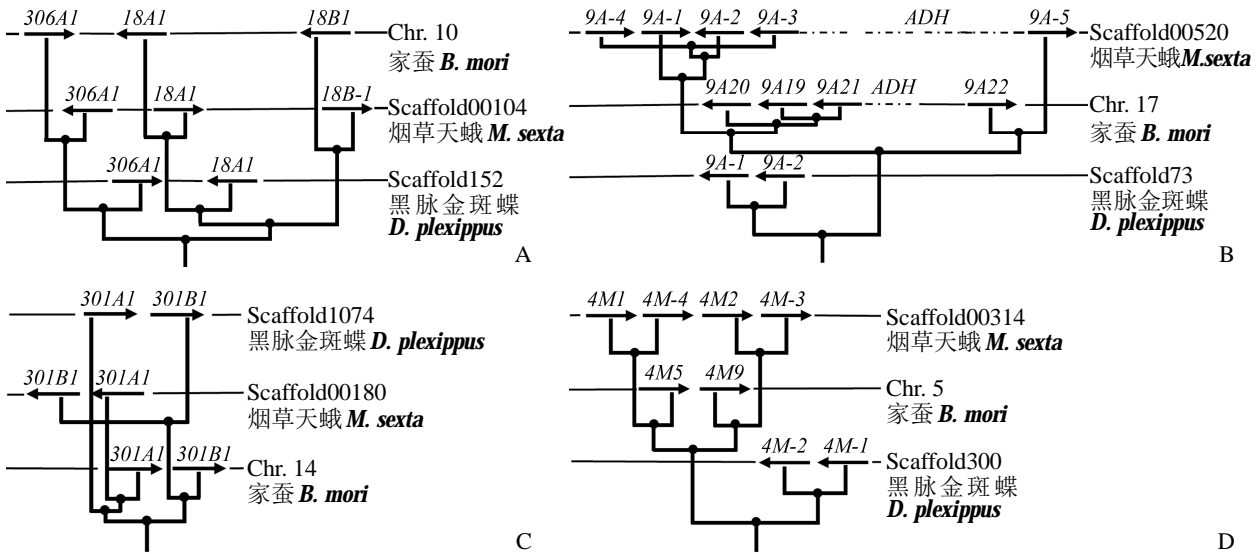


图2 3个鳞翅目昆虫基因组中串联排列的CYPs共线性示意图

Figure 2 Syntenic schemes of the tandem CYPs in 3 lepidopteran genomes

A: *CYP18*与*CYP306*混合基因簇; B: *CYP9A*基因簇; C: *CYP301*基因簇; D: *CYP4M*基因簇; *ADH*: 乙醇脱氢酶基因

A: *CYP18* and *CYP306* mixed gene cluster; B: *CYP9A* gene cluster; C: *CYP301* gene cluster; D: *CYP4M* gene cluster; *ADH*: Alcohol dehydrogenases gene

一定的种属特异性;在鳞翅目昆虫基因组之间其直向同源关系更加明显,*CYPs*的序列分化程度相对较低,出现新的家族或亚家族数量较少。越来越多的研究表明,鳞翅目昆虫基因组之间存在着相当广泛的线性保守现象(d'Alencon et al., 2010),不同昆虫基因组间的比较分析不仅可推进*CYP*超基因家族基因的多样功能与进化规律研究,而且还可为鳞翅目昆虫抗性治理与靶标筛选提供更加丰富的理论依据。

#### 4 结论

不同鳞翅目昆虫间*CYP*数量差异较大。与昆虫生长发育相关的*CYPs*,其功能相对保守,数量基本恒定;而与抗性代谢相关的*CYPs*,其功能与昆虫特殊生存环境及取食习性相关,数量变化较大。鳞翅目昆虫*CYPs*存在相当广泛的共线性关系。本研究结果不仅有助于昆虫*CYPs*的功能研究,对昆虫的进化分析,害虫治理新靶标的选择也具有重要意义。

#### 参考文献

艾均文. 2008. 家蚕(*Bombyx mori*)全基因组细胞色素P450基因结构与进化分析及*CYP18A1*克隆与功能分析[D].

博士学位论文,西南大学,导师:朱勇;向仲怀.(Ai J W. 2008. Genome-wide structure and evolutionary analysis of cytochrome P450 genes, and cDNA cloning and function of the key gene *CYP18A1* in the silkworm, *Bombyx mori*[D]. Dissertation for Ph.D., Southwest University, Supervisor: Zhu Y; Xiang Z H.)

艾均文,王根洪,李艳红,等. 2008. 家蚕P450基因*CYP18A1*的克隆、序列分析及转录活性[J]. 昆虫学报, 51(3): 237-245.(Ai J W, Wang G H, Li Y H, et al. 2008. Molecular cloning, sequence analysis and transcriptional activity determination of cytochrome P450 gene *CYP18A1* in the silkworm, *Bombyx mori*[J]. Acta Entomologica Sinica, 51(3): 237-245.)

艾均文,薛宏,何行健,等. 2011. 家蚕细胞色素P450基因的研究进展[J]. 昆虫学报, 54(8): 918-926. (Ai J W, Xie H, He X J, et al. 2011. Research advances in cytochrome P450 genes in the silkworm, *Bombyx mori*[J]. Acta Entomologica Sinica, 54(8): 918-926.)

高瑞娜,卫正国,张婷,等. 2010. 蜕皮激素诱导下家蚕*CYP3*基因家族的表达变化[J]. 昆虫学报, 53(9): 943-948. (Gao R N, Wei Z G, Zhang T, et al. 2010. Changes in the expression of the *CYP3* family genes under the induction of ecdysone in *Bombyx mori*[J]. Acta Entomologica Sinica, 53(9): 943-948.)

吴益东,沈晋良,陈进,等. 1997. 棉铃虫六龄幼虫微粒体细胞色素P450和细胞色素b5的测定及组织分布

- [J]. 农业生物技术学报, 5(3): 297-306. (Wu Y D, Shen J L, Chen J, et al. 1997. Determination and tissue distribution of microsomal cytochrome P450 and cytochrome b5 in six-instar larva of *Helicoverpa armigera* Hubner[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 5(3): 297-306.)
- Ai J W, Yu Q Y, Cheng T C, et al. 2010. Characterization of multiple *CYP9A* genes in the silkworm, *Bombyx mori*[J]. Molecular Biology Reports, 37(3): 1657-1664.
- Ai J W, Zhu Y, Duan J, Yu Q Y, et al. 2011. Genome-wide analysis of cytochrome P450 monooxygenase genes in the silkworm, *Bombyx mori*[J]. Gene, 480(1-2): 42-50.
- Daimon T, Kozaki T, Niwa R, et al. 2012. Precocious metamorphosis in the juvenile hormone-deficient mutant of the silkworm, *Bombyx mori*[J]. PLoS Genetics, 8(3): e1002486.
- d'Alencon E, Sezutsu H, Legeai F, et al. 2010. Extensive synteny conservation of holocentric chromosomes in *Lepidoptera* despite high rates of local genome rearrangements[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 107(17): 7680-7685.
- Feyereisen R. 2011. Arthropod CYPomes illustrate the tempo and mode in P450 evolution [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1814(1): 19-28.
- Feyereisen R. 2005. Insect cytochrome P450[C]//, Gilbert L I, Iatrou K, Gill S S (Eds.). Comprehensive Molecular Insect Science, vol.4. Elsevier, Oxford, pp: 1-77.
- Feyereisen R, Koener J F, Farnsworth D E, et al. 1989. Isolation and sequence of cDNA encoding a cytochrome P450 from an insecticide-resistant strain of the housefly, *Musca domestica*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 86: 1465-1469.
- Good R T, Gramzow L, Battlay P, et al. 2014. The molecular evolution of cytochrome P450 genes within and between *Drosophila* species[J]. Genome Biology and Evolution, 6(5): 1118-1134.
- Guittard E, Blais C, Maria A, et al. 2011. CYP18A1, a key enzyme of *Drosophila* steroid hormone inactivation, is essential for metamorphosis[J]. Developmental Biology, 349(1): 35-45.
- Hajime Ono, Katsuhisa Ozaki, Hiroshi Yoshikawa. 2005. Identification of cytochrome P450 and glutathione-S-transferase genes preferentially expressed in chemosensory organs of the swallowtail butterfly, *Papilio xuthus* L.[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 35(8): 837-846.
- Hossain M, Shimizu S, Matsuki M, et al. 2008. Expression of 20-hydroxyecdysone-induced genes in the silkworm brain and their functional analysis in post-embryonic development[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 38(11): 1001-1007.
- Joußen N, Agnolet S, Lorenz S, et al. 2012. Resistance of Australian *Helicoverpa armigera* to fenvalerate is due to the chimeric P450 enzyme CYP337B3[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 109(38): 15206-15211.
- Lee S H, Kang J S, Min J S, et al. 2010. Decreased detoxification genes and genome size make the human body louse an efficient model to study xenobiotic metabolism[J]. Insect Molecular Biology, 19(5): 599-615.
- Li X, Schuler M A, Berenbaum M R. 2002. Jasmonate and salicylate induce expression of herbivore cytochrome P450 genes[J]. Nature, 419(6908): 712-715.
- Lin Q, Jin F, Hu Z, et al. 2013. Transcriptome analysis of chlorantraniliprole resistance development in the diamondback moth *Plutella xylostella*[J]. PLoS ONE, 8(8): e72314.
- Ma R, Cohen M B, Berenbaum M R, et al. 1994. Black swallowtail (*Papilio polyxenes*) alleles encode cytochrome P450s that selectively metabolize linear furanocoumarins[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 310(2): 332-340.
- Maibeche-Coisne M, Merlin C, Francois MC, et al. 2005. P450 and P450 reductase cDNAs from the moth *Mamestra brassicae*: Cloning and expression patterns in male antennae[J]. Gene, 346(14): 195-203.
- Nelson D R, Zeldin D C, Hoffman S M G, et al. 2004. Comparison of cytochrome P450 (CYP) genes from the mouse and human genomes, including nomenclature recommendations for genes, pseudogenes and alternative-splice variants[J]. Pharmacogenetics, 14(1): 1-18.
- Petersen R A, Zangerl A R, Berenbaum M R, et al. 2001. Expression of CYP6B1 and CYP6B3 cytochrome P450 monooxygenases and furanocoumarin metabolism in different tissues of *Papilio polyxenes* (Lepidoptera: Papilionidae)[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 31(6-7): 679-690.
- Pottier M A, Bozzolan F, Chertemps T, et al. 2012. Cytochrome P450s and cytochrome P450 reductase in the olfactory organ of the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* [J]. Insect Molecular Biology, 21(6): 568-580.
- Scott J G, Kasai S. 2004. Evolutionary plasticity of monooxygenase-mediated resistance[J]. Pesticide Biochemistry



- and Physiology, 78(3): 171-178.
- Sztal T, Chung H, Berger S, et al. 2012. A cytochrome P450 conserved in insects is involved in cuticle formation[J]. PLoS ONE, 7(5): e36544.
- The *Heliconius* Genome Consortium. 2012. Butterfly genome reveals promiscuous exchange of mimicry adaptations among species[J]. Nature, 487(7405): 94-98.
- The International Silkworm Genome Consortium. 2008. The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm, *Bombyx mori*[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 38: 1036-1045.
- Tribolium Genome Sequencing Consortium. 2008. The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum* [J]. Nature, 452: 949-955.
- Wang B J, Shahzad M F, Zhang Z, et al. 2014. Genome-wide analysis reveals the expansion of cytochrome P450 genes associated with xenobiotic metabolism in rice striped stem borer, *Chilo suppressalis*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 443(2): 756-760.
- Willinghama A T, Keilb T. 2004. A tissue specific cytochrome P450 required for the structure and function of *Drosophila* sensory organs[J]. Mechanisms of Development, 121(10): 1289-1297.
- Yamamoto K, Ichinose H, Aso Y, et al. 2010. Expression analysis of cytochrome P450s in the silkworm, *Bombyx mori*[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 97(1): 1-6.
- Yang T, Liu N. 2011. Genome analysis of cytochrome P450s and their expression profiles in insecticide resistant mosquitoes, *Culex quinquefasciatus*[J]. PLoS ONE, 6(12): e29418.
- Zhan S, Merlin C, Boore J L, et al. 2011. The monarch butterfly genome yields insights into long-distance migration [J]. Cell, 147(5): 1171-1185.

(责任编辑 李建琴)