

DOI:10.13350/j.cjpb.230111

· 论著 ·

淡色库蚊抗性转录因子 FTZ-F1 蛋白原核表达与鉴定*

徐杨¹, 周阳², 李祺瑞¹, 周丹², 马磊², 沈波², 孙艳^{2**}

(1. 南京中医药大学基础医学实验教学中心, 江苏南京 210023; 2. 南京医科大学现代病原学重点实验室)

【摘要】 目的 对淡色库蚊抗性转录因子 FTZ-F1 蛋白进行原核表达并鉴定。方法 对转录因子 FTZ-F1 蛋白进行生物信息学分析, 包括蛋白的理化性质, 二级结构及三维同源模型。采用 PCR 技术扩增 FTZ-F1 基因, 比对分析后选取 FTZ-F1 基因保守区和功能区片段, 片段长度为 1122bp, 然后将其连接至 pET-32a(+) 载体, 构建重组质粒 pET-32a(+)-FTZ-F1, 再转入入感受态细胞 BL21(DE3) 后用 IPTG 诱导重组质粒 pET-32a(+)-FTZ-F1 的表达, 运用 SDS-PAGE 和 Western blot 初步鉴定重组蛋白 FTZ-F1 的表达, 采用 His 标签镍离子蛋白纯化柱对表达产物进行纯化和增加蛋白的量, 用 SDS-PAGE 和 Western blot 鉴定重组蛋白 FTZ-F1 的表达。结果 FTZ-F1 蛋白有 744 个氨基酸, 相对分子质量为 79.57×10^3 。1% 琼脂凝胶鉴定 PCR 扩增为单一条带, 大约为 2 240 bp, 测序结果表明重组质粒 pET-32a(+)-FTZ-F1 构建正确。采用 SDS-PAGE 检测重组蛋白 FTZ-F1, 结果表明蛋白 FTZ-F1 在原核表达系统中主要以可溶性形式表达, 其相对分子质量约为 38.9×10^3 。Western blot 检测重组蛋白 FTZ-F1, 采用抗 His 标签抗体识别 FTZ-F1, 结果表明为单一条带。纯化后的蛋白浓度为 1.25 mg/ml, 纯度为 90%。结论 成功构建了重组质粒 pET-32a(+)-FTZ-F1, 鉴定重组蛋白 FTZ-F1 的表达, 为该蛋白生物学功能的研究奠定了基础。

【关键词】 淡色库蚊; 杀虫剂抗性; 蚊子; FTZ-F1; 转录因子; 表达鉴定; 蛋白纯化

【中图分类号】 R384.1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)01-0058-05

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Jan;18(1):58-62.]

Prokaryotic expression and identification of the resistant transcription factor FTZ-F1 in *Culex pipiens pallens*

XU Yang¹, ZHOU Yang², LI Qi-rui¹, ZHOU Dan², MA Lei², SHEN Bo², SUN Yan² (1 Experimental Teaching Center of Basic Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2 Key Laboratory of Pathogen Biology, Nanjing Medical University)

【Abstract】 **Objective** To create a system for prokaryotic expression and identify the expressed product of FTZ-F1, a transcription factor related to deltamethrin resistance in *Culex pipiens pallens*. **Methods** the FTZ-F1 gene was analyzed by bioinformatics, including physical and chemical properties, secondary structure and three-dimensional homology model. The conserved and functional fragment of FTZ-F1 gene with a length of 1 122 bp was amplified and ligated to pET-32a(+) vector to construct the recombinant plasmid pET-32a(+)-FTZ-F1. Then the recombinant plasmid was transformed into competent cell BL21(DE3) and its expression was induced with 0.5 mM IPTG. The expressed product was purified through Ni-NTA affinity chromatography and identified by SDS-PAGE and Western blotting. **Results** Bioinformatics analysis showed that FTZ-F1 had 744 amino acids and the molecular weight was 79.57×10^3 . 1% agarose gel electrophoresis and sequencing indicated that the fragment of FTZ-F1 gene was successfully amplified and the recombinant plasmid pET-32a(+)-FTZ-F1 was constructed correctly. The expression of the recombinant protein FTZ-F1 was mainly in a soluble form in the prokaryotic expression system by SDS-PAGE, and its molecular weight was about 38.9×10^3 . The purified protein was characterized as a single band by Western blotting using anti-His tag antibody and its concentration was about 1.25 mg/ml, the purity was about 90%. **Conclusion** The recombinant plasmid pET-32a(+)-FTZ-F1 was successfully constructed and the expression of the recombinant protein FTZ-F1 was identified and purified, which laid a foundation for the study of the biological function of the protein.

【Key words】 *Culex pipiens pallens*; insecticide resistance; mosquito; FTZ-F1; transcription factor; Prokaryotic expression; protein purification

***蚊传播多种疾病, 包括疟疾、登革热、日本脑炎病毒、西尼罗河病毒、黄热病病毒和丝虫病等。长期以来, 蚊媒病一直是危害人类健康的重要公共卫生问题之一, 而杀虫剂是防控这项工作中最重要的组成部分。由于其有效性和安全性, 拟除虫菊酯是世界范围内广

* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 81672056)。

** **【通讯作者】** 孙艳, E-mail: sunyan@njmu.edu.cn

【作者简介】 徐杨(1992-), 女, 江苏连云港人, 硕士研究生, 主要从事蚊媒抗药性分子机制研究。
E-mail: xuyang9072@163.com

泛使用的用于室内喷洒的杀虫剂,是唯一用于处理蚊帐的化学品,是非洲预防疟疾的主要工具^[1]。然而,由于大量、广泛使用杀虫剂,导致蚊对杀虫剂的抵抗力不断增强,蚊媒病呈上升趋势,因此蚊杀虫剂抗性已经成为控制蚊媒病的主要威胁^[2-3]。控制蚊杀虫剂抗性发展的机制备受关注,亟待制定新的、更有效的策略,以预防、控制抗性并最终减少蚊媒病的流行。

转录因子不仅影响昆虫基因的表达和形态发育,在抗药性机制方面也发挥至关重要的作用^[4]。在黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)中,转录因子 Nrf2/Maf 增强了 *Cyp6a2* 的 5 个等位基因的转录,且始终与 DDT 抗性相关^[5]。此外转录因子 Maf-S 调节多种解毒基因的表达,包括 *CYP6M2* 和 *GSTD1*,通过敲低该转录因子降低解毒基因的表达,使得蚊对拟除虫菊酯和 DDT 杀虫剂的敏感性增加^[6]。转录因子 FTZ-F1 (*fushi tarazu-factor1*) 在淡色库蚊 (*Culex pipiens pallens*) 抗性品系中高表达,且调节抗性主效表皮蛋白 CPLCG5 的表达,使蚊的表皮变薄和结构紊乱,显著增加蚊对溴氰菊酯的敏感性^[7]。转录因子 FTZ-F1 在小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 抗性品系中高表达,且通过调节 P450 抗药性基因 *CYP6PG1* 的表达影响小菜蛾氯苯甲酰胺抗性水平^[8]。转录因子 FTZ-F1 最初在果蝇中被鉴定,是核激素受体超家族的一员,在核激素受体超家族中高度保守^[9]。FTZ-F1 已经在许多昆虫中被鉴定出来,例如淡色库蚊 (*Culex pipiens pallens*),小菜蛾 (*Plutella xylostella*)、家蚕 (*Bombyx mori*)、埃及伊蚊 (*Aedes aegypti*)、马铃薯甲虫 (*Leptinotarsa decemlineata*) 等^[7-8,10-12]。可见转录因子 FTZ-F1 在抗药性上起着至关重要作用,但是关于转录因子 FTZ-F1 蛋白的性质和功能尚不十分清楚。本研究对 FTZ-F1 基因编码蛋白进行生物信息学预测分析,为进一步了解 FTZ-F1 的蛋白特性提供理论依据,采用基因工程的方法表达并纯化重组 FTZ-F1 蛋白,为研究其功能奠定基础。

材料与方法

1 材料

1.1 供试蚊虫 淡色库蚊溴氰菊酯敏感品系 (deltamethrin-susceptible strain, DS-strain): 2009 年在山东省济宁市唐口地区采集的淡色库蚊自然种群,于本室饲养,未接触任何杀虫剂。采用幼虫浸渍法测定对溴氰菊酯的半数致死浓度 (the median lethal concentration, LC₅₀) 为 0.04 mg/L; 淡色库蚊溴氰菊酯抗性品系 (deltamethrin-resistant strain, DR-strain): 以上述敏感品系为起始种群,幼虫经溴氰菊酯 LC₅₀ 浓度不断筛选至 84 代,经幼虫浸渍法测定 LC₅₀

为 3.4 mg/L。蚊虫饲养条件:室内温度 26±1℃,光照时间为 14 h/d,相对湿度为 65%~80%,成蚊喂以 10% 葡萄糖水并用小白鼠饲料产卵传代。

1.2 菌株和质粒 pCl007 Blunt Vector 购自中国 TSINGKE 公司,表达载体 pET-30a (+) 由本实验室保存;大肠埃希菌 DH5α 和 BL21 (DE3) 购自中国 TSINGKE 公司。

1.3 试剂 RNA 提取试剂盒购自德国 QIAGEN 公司;PrimerScript[®] RT Master Mix、PrimeScript[™] RT reagent Kit、Hind III、NdeI 内切酶、Recombinant DNase I、pET-30a (+)、DNA Ligation Kit 和 DNA marker DL2000 购自日本 TaKaRa 公司;Goldview 核酸染料购自上海 Yeasen 公司;Agorse 购自北京擎科生物;质粒小提试剂盒和 DNA 回收试剂盒均购自北京天根生化科技公司;His 标签蛋白纯化试剂盒购自北京碧云天生物公司;HRP 标记 6×Hi 标签抗体和 HRP 标记羊抗鼠 IgG 购于武汉谷歌生物公司;引物由擎科生物有限公司合成。

2 方法

2.1 FTZ-F1 基因的生物信息学分析 在 NCBI 数据库中获取 FTZ-F1 的蛋白质序列。利用在线网站 ExpasyProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) 计算 FTZ-F1 的物理和化学参数,包括分子量、理论等电点、氨基酸组成等。利用在线网站 SOPMA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 分析 FTZ-F1 的蛋白二级结构,包括 α-螺旋、延伸链、β-转角和无规则卷曲等。利用在线网站 Swissmodel (<https://swissmodel.expasy.org/>) 分析 FTZ-F1 的三维同源模型。

2.2 扩增转录因子 FTZ-F1 基因的 ORF 序列 根据 GenBank 公布的碱基序列,利用软件 Primer 6.0 设计 PCR 引物。FTZ-F1 的引物 F: 5'-CGAGCTCACCCAGCAAGAATCCGTCCTA; 引物 R: 3'-CCA-TATGACGAAAATGCCGCCTCCTT (加粗为保护性碱基,下划线分别为酶切位点 Hind III 和 NdeI 序列。) 引物由擎科公司合成。以淡色库蚊 cDNA 为模板扩增 FTZ-F1 基因。反应体系 (50 μl): 上、下游引物 (10 μmol/L) 和 cDNA 模板各 1 μl, I-5[™] 2× High-Fidelity Master Mix 25 μl, dd H₂O 22 μl。反应程序: 98℃ 预变性 2 min; 98℃ 变性 10 s; 60℃ 退火 15 s; 72℃ 延伸 30 s; 共 35 个循环; 72℃ 终延伸 5 min; 运用 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 产物。

2.3 基因合成与密码子优化 采用 BLAST 跟其他物种的 FTZ-F1 序列比对分析,得出 FTZ-F1 的保守区和功能区,将此区域序列进行基因合成和密码子优

化(由南京金斯瑞公司合成)。

2.4 构建 pET-32a(+)-FTZ-F1 将此区域片段与克隆载体 pET-32a(+)⁴ 37 °C 过夜连接。连接产物转化 DH5 α 后 37 °C 培养 12 h, 挑取单菌落于液体 LB 培养基中培养, 提取质粒进行酶切鉴定并测序(由南京擎科生物公司完成)。用 Hind III 和 NdeI 限制性内切酶对鉴定正确的重组质粒和 pET-30a(+)⁵ 进行酶切和胶回收, 使用 T4 连接酶 25 °C 连接 2 h, 将 100 ng 质粒 DNA 加入 BL21(DE3) 菌株中, 轻轻混匀。冰上孵育 30 min。热激管在 42 °C 下保持约 90 s, 不摇晃。将试管置于冰上放置 3 min。加入 100 μ l 室温 LB 培养基。在 37 °C 下以 200 r/min 摇动和孵育管 60 min。涂抹在含有 50 μ g/ml 卡那霉素的 LB 琼脂平板上。倒置培养板过夜。挑取单菌落进行培养, 提取质粒进行酶切鉴定测序。

2.5 pET-32a(+)-FTZ-F1 的诱导表达及鉴定 挑取单菌落接种含有 50 μ g/ml 卡那霉素的 LB 培养基中。将细胞置于摇床中, 37 °C, 200 r/min 摇动。当 A₆₀₀ 值达到 0.6~0.8 时, 浓度为 0.5 mmol/L IPTG, 分别在 15 °C 诱导 16 h 和 37 °C 诱导 4 h, 作为阴性对照。使用 SDS-PAGE 和 Western blot 检测蛋白表达和溶解度。

结果

1 转录因子 FTZ-F1 的生物信息学分析

在 NCBI 数据库中获得淡色库蚊 FTZ-F1 编码的蛋白质序列。分析显示 FTZ-F1 有 744 个氨基酸, 相对分子质量为 79.57 $\times 10^3$, 理论等电点为 7.3。SOP-MA 预测显示, FTZ-F1 的二级结构由 α -螺旋(31.47%)、延伸链(16.80%)、 β -转角(6.99%)和无规则卷曲(44.76%)组成。FTZ-F1 与 PDB 数据库中的果蝇 FTZ-F1 序列相似性为 80.34%, 匹配度已达到 0.77(区间 -4~0, 越接近 0, 评估待测蛋白与模板蛋白的匹配度越好)(图 1)。

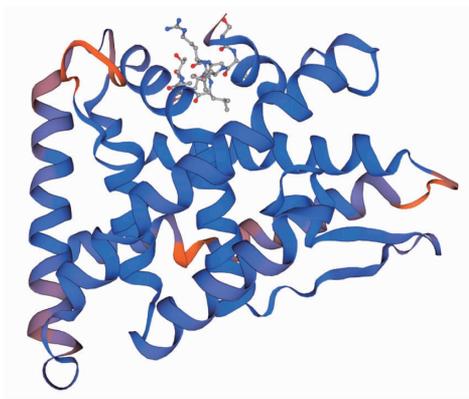
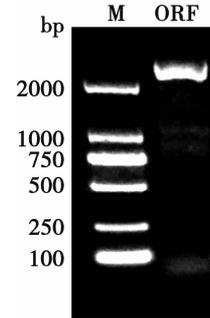


图 1 转录因子 FTZ-F1 蛋白的三维结构同源模型
Fig.1 Three dimensional model of transcription factor FTZ-F1

2 FTZ-F1 基因的扩增

对 FTZ-F1 基因的 ORF 区进行 PCR 扩增, 1% 琼脂糖凝胶电泳分析扩增片段大小为 2 240 bp, 与预期一致(图 2)。对扩增的 FTZ-F1 的 ORF 片段测序, 与 GenBank 公布的淡色库蚊 FTZ-F1 蛋白(AZB52928.1)序列的同源性为 100%。



M DNA 分子质量标准 ORF 开放阅读框

图 2 PCR 法获得的 FTZ-F1 ORF 产物

M DL2000 marker ORF Open Reading Frame

Fig.2 PCR product identification of FTZ-F1 gene

3 FTZ-F1 表达鉴定区域片段的选定

由于 FTZ-F1 蛋白的全长序列结构复杂性和较多的重复序列, 选取特殊和易表达的片段进行分析和表达。将获得的 ORF 序列 BLAST 比对^[12], 此序列的非常保守(图 3), 且包含了 DNA 结合域、锌指结构和 FTZ-F1 盒子(图 4)。为了保证该序列的完整性和易表达, 所以两边适当得延长此序列, 以此作为表达鉴定的片段(图 5B)。

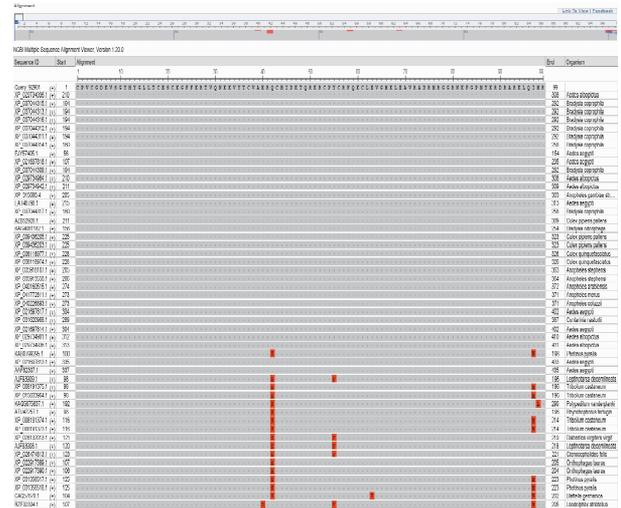


图 3 淡色库蚊 FTZ-F1 鉴定的片段序列与其他物种 FTZ-F1 同源氨基酸序列比对分析

Fig.3 Alignment analysis of FTZ-F1 fragment sequence identified in *Culex pipiens pallens* with the homologous amino acid sequence of other species

4 pET-32a(+)-FTZ-F1 重组载体的构建

将此表达区域进行基因合成与密码子优化, 连接

pET-32a(+)-FTZ-F1 转化 BL21(DE3) 感受态细胞进行培养。提取重组质粒后酶切, 获得 4 419 bp 的载体片段和 2 125 bp 的目的基因片段(图 5C), 与预期值相符。对重组质粒测序, 与淡色库蚊 FTZ-F1 蛋白(AZB52928.1) 的同源性为 100%, 重组载体构建正确。

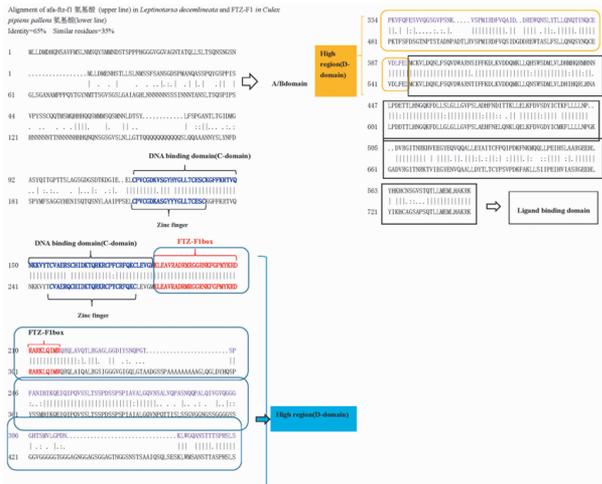


图 4 蛋白 FTZ-F1 功能区域分析
Fig. 4 Protein FTZ-F1 functional region analysis



A pET-32a(+)-FTZ-F1 质粒构建示意图 B FTZ-F1 鉴定片段的氨基酸和 DNA 序列 C 扩增 FTZ-F1 鉴定片段

图 5 FTZ-F1 鉴定片段的克隆

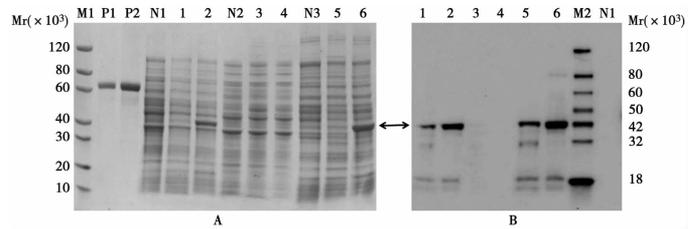
A Plasmid construct map of pET-32a(+)-FTZ-F1 B Amino acid and DNA sequence of FTZ-F1 fragment C Amplification of FTZ-F1 identification fragments

图 5 Cloning of FTZ-F1 identification fragments

5 重组蛋白的诱导表达、鉴定及纯化

重组蛋白 pET-32a(+)-FTZ-F1 于 37 °C 培养至 A₆₀₀ 值为 0.6 ~ 0.8 左右时加入 0.5 mmol/L IPTG 诱导表达, 收集菌体进行超声破碎。用 12% SDS-PAGE 检测目的蛋白的表达情况, 结果见图 6A。该蛋白质在上清和沉淀中均有表达。在无诱导细胞裂解液的上清液、15 °C 下诱导 16 h 的细胞裂解物上清液、在 37 °C 下诱导 4 h 的细胞裂解物上清液和在 37 °C 下诱导 4 h 的细胞裂解物碎片沉淀中表达明显。重组 FTZ-F1 相对分子质量约 38.9 × 10³ (图 6B), 且为单一条带。重组蛋白经 His 标签镍离子蛋白纯化柱纯化后进行 SDS-PAGE 电泳和 Western blot。以 His 标

签抗体为一抗, 羊抗鼠 IgG 为二抗进行 Western blot, 结果表明条带单一, 纯化后的蛋白浓度为 1.25 mg/ml, 纯度为 90% (图 7)。

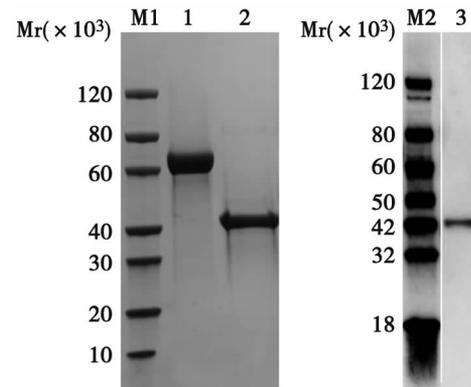


M1 蛋白分子质量标准 M2 蛋白分子质量标准 P1 BSA (1 μg) P2 BSA (2 μg) N1 无诱导细胞裂解液 1 细胞裂解液在 15 °C 下诱导 16 h 2 细胞裂解液在 37 °C 下诱导 4 h N2 无诱导细胞裂解液的上清液 3 在 15 °C 下诱导 16 h 的细胞裂解物上清液 4 在 37 °C 下诱导 4 h 的细胞裂解物上清液 N3 未经诱导的细胞裂解物碎片沉淀 5 在 15 °C 下诱导 16 h 的细胞裂解物碎片沉淀 6 在 37 °C 下诱导 4 h 的细胞裂解物碎片沉淀 Western blot 的一抗是 anti-His 抗体

图 6 重组 FTZ-F1 的 SDS-PAGE 和 Western blot 分析

M1 Protein marker M2 Western blot marker PC1 BSA (1 μg) PC2 BSA (2 μg) NC Cell lysate without induction 1 Cell lysate with induction for 16 h at 15 °C 2 Cell lysate with induction for 4 h at 37 °C NC1 Supernatant of cell lysate without induction 3 Supernatant of cell lysate with induction for 16 h at 15 °C 4 Supernatant of cell lysate with induction for 4 h at 37 °C NC2 Debris of cell lysate without induction 4 Debris of cell lysate with induction for 16 h at 15 °C 6 Debris of cell lysate with induction for 4 h at 37 °C The primary antibody for western blot is anti-His antibody.

图 6 SDS-PAGE (left) and Western blot (right) analysis for FTZ-F1 cloned in pET-30a(+)- and expressed in BL21(DE3) strain



M1 蛋白分子质量标准 M2 蛋白分子质量标准 1 BSA (5 μg) 2 FTZ-F1 (5 μg) 3 FTZ-F1 (5 μg) 一抗为小鼠抗-His mAb

图 7 纯化重组 FTZ-F1 的 SDS-PAGE 和 Western blot 分析

M1 Protein Marker M2 Protein Marker 1 BSA (5.00 μg) 2 FTZ-F1 (Reducing condition, 5.00 μg) 3 FTZ-F1 (Reducing condition) Primary antibody: Mouse-anti-His mAb

图 7 SDS-PAGE and Western blot analysis of FTZ-F1

讨论

核受体转录因子在其变态、生殖和滞育中有着至关重要的作用。FTZ-F1 为果蝇核激素受体超家族的成员, 存在于多种组织细胞内^[13]。FTZ-F1 在昆虫发育过程中有至关重要的作用, 扮演多种角色。前期大量研究结果主要侧重 FTZ-F1 在胚胎发生, 幼虫发

育,化蛹和变态方面的作用。研究发现 FTZ-F1 在昆虫抗性上有作用。例如 FTZ-F1 在小菜蛾(*Plutella xylostella*)抗性品系中高表达,介导 P450 的表达。FTZ-F1 在淡色库蚊(*Culex pipiens pallens*)抗性品系高表达,介导表皮蛋白的表达,都赋予了抗性昆虫的抗性^[7-8],这两篇报道给予转录因子 FTZ-F1 新的角色和功能。此外,FTZ-F1 是性别决定性的重要调节因子,其调节雌性昆虫卵巢和雄性昆虫精囊的发育^[14-16]。通过使用果蝇作为模型昆虫,FTZ-F1 对肿瘤侵袭和肿瘤生长至关重要^[17]。因此,FTZ-F1 现在不仅是转录因子,而且是多功能蛋白。

本研究通过 PCR 扩增获得淡色库蚊转录因子 FTZ-F1 基因有 2 240 bp 的开放阅读框,编码 744 个氨基酸,且 FTZ-F1 氨基酸序列具有核受体转录因子的典型结构域,包括 DNA binding domain、Zinc finger、FTZ-F1 box 等。是一种高度保守的蛋白质。通过蛋白结构分析发现 FTZ-F1 蛋白有较多的重复序列,ORF 区较长,且结构复杂,若表达全长则增加了蛋白的表达鉴定的难度。通过与已知报道的马铃薯甲虫(*Leptinotarsa decemlineata*)序列比对,发现其保守区和功能区片段,将其作为表达片段^[12]。本研究通过克隆 FTZ-F1 序列,获得了具有表达的重组蛋白 FTZ-F1,为进一步研究该蛋白质对杀虫剂抗性的作用奠定理论基础。

【参考文献】

- [1] Dev V. Long-lasting insecticidal nets for malaria control[J]. Current Science, 2009, 97(4): 469-470.
- [2] Hemingway J, Field L, Vontas J. An overview of insecticide resistance[J]. Science, 2002, 298(5591): 96-97.
- [3] Kelvin AA. Outbreak of Chikungunya in the Republic of Congo and the global picture[J]. J Infect Dev Ctries, 2011, 5(6): 441-444.
- [4] Arnosti DN. Analysis and function of transcriptional regulatory elements: insights from *Drosophila*[J]. Annu Rev Entomol, 2003 (48): 579-602.
- [5] Wan H, Liu Y, Li M, et al. Nrf2/Maf-binding-site-containing functional Cyp6a2 allele is associated with DDT resistance in *Drosophila melanogaster* [J]. Pest Manag Sci, 2014, 70(7): 1048-1058.
- [6] Ingham VA, Pignatelli P, Moore JD, et al. The transcription factor Maf-S regulates metabolic resistance to insecticides in the malaria vector *Anopheles gambiae*[J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 669.
- [7] Xu Y, Yang X, Sun X, et al. Transcription factor FTZ-F1 regulates mosquito cuticular protein CPLCG5 conferring resistance to pyrethroids in *Culex pipiens pallens* [J]. Paras Vect, 2020, 13(1): 514.
- [8] Li X, Shan C, Li F, et al. Transcription factor FTZ-F1 and cis-acting elements mediate expression of CYP6BG1 conferring resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella*[J]. Pest Manag Sci, 2019, 75(4): 1172-1180.
- [9] Yu Y, Li W, Su K, et al. The nuclear hormone receptor Ftz-F1 is a cofactor for the *Drosophila homeodomain* protein Ftz[J]. Nature, 1997, 385(6616): 552-555.
- [10] Eystathioy T, Swevers L, Iatrou K. The orphan nuclear receptor BmHR3A of *Bombyx mori*: hormonal control, ovarian expression and functional properties[J]. Mech Dev, 2001, 103(1-2): 107-115.
- [11] Li C, Kapitskaya MZ, Zhu J, et al. Conserved molecular mechanism for the stage specificity of the mosquito vitellogenic response to ecdysone[J]. Dev Biol, 2000, 224(1): 96-110.
- [12] Liu XP, Fu KY, Lu FG, et al. Involvement of FTZ-F1 in the regulation of pupation in *Leptinotarsa decemlineata* (Say) [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2014(55): 51-60.
- [13] Lavorgna G, Ueda H, Clos J, et al. FTZ-F1, a steroid hormone receptor-like protein implicated in the activation of fushi tarazu [J]. Science, 1991, 252(5007): 848-851.
- [14] Mohamad Ishak NS, Kato Y, Matsuura T, et al. Sequence Conservation and Sexually Dimorphic Expression of the Ftz-F1 Gene in the Crustacean *Daphnia magna*[J]. PLoS ONE, 2016, 11(5): e0154636.
- [15] Knapp EM, Li W, Singh V, et al. Nuclear receptor Ftz-f1 promotes follicle maturation and ovulation partly via bHLH/PAS transcription factor Sim[J]. Elife, 2020, 27(9): e54568.
- [16] Mello TRP, Aleixo AC, Pinheiro DG, et al. Hormonal control and target genes of ftz-f1 expression in the honeybee *Apis mellifera*: a positive loop linking juvenile hormone, ftz-f1, and vitellogenin[J]. Insect Mol Biol, 2019, 28(1): 145-159.
- [17] Song S, Andrejeva D, Freitas FCP, et al. suppresses growth and tumor formation in [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116(28): 14055-14064.

【收稿日期】 2022-08-05 【修回日期】 2022-10-20