

烟实夜蛾脂肪酸结合蛋白基因的克隆、 序列分析与表达

张 涛, 安世恒, 尹新明*

(河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002)

摘要: 应用 RT-PCR 技术, 从烟实夜蛾 *Helicoverpa assulta* 幼虫脂肪体组织和血细胞总 RNA 中反转录扩增脂肪酸结合蛋白(fatty-acid binding protein, FABP)基因的 cDNA 片段, 克隆到原核表达载体 pGEX-4T-2 上, 转化大肠杆菌 BL21 (DE3), 用 IPTG 进行诱导表达并进行检测。结果表明: 扩增得到的片段全长 399 bp (GenBank 登录号为 DQ299942), 编码 132 个氨基酸残基, 预测分子量 15.0 kD, 等点电 5.83。FABP 融合了 GST。原核表达后经电泳检测到约 41 kD 大小的外源蛋白, Western blot 检测表明是目的蛋白。

关键词: 烟实夜蛾; 脂肪酸结合蛋白; 基因克隆; 序列分析; 原核表达

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2007)05-0528-06

Cloning, sequence analysis and expression of a fatty-acid binding protein gene of *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae)

ZHANG Tao, AN Shi-Heng, YIN Xin-Ming* (College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: A fatty-acid binding protein (FABP) gene of *Helicoverpa assulta* was cloned and expressed for further study on its function. The cDNA encoding the FABP was isolated from the fat body and blood cell of *H. assulta* larvae by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). The fragment containing FABP gene was inserted into pGEX-4T-2 expressive vector, and the expression was induced by IPTG and then checked. The results showed that FABP in *H. assulta* was 399 bp in length (registered in GenBank with the accession no. DQ299942), encoding a peptide of 132 amino acid residues, and the predicted molecular weight was 15.0 kD. The FABP was fused with GST. Checked with SDS-PAGE, the prokaryotic expression product molecular weight was about 41 kD, and it was further confirmed with Western blot.

Key words: *Helicoverpa assulta*; fatty-acid binding protein (FABP); gene cloning; sequence analysis; prokaryotic expression

脂肪酸结合蛋白(fatty-acid binding protein, FABP)是一组多源性小分子细胞内蛋白质, 相对分子量大约为 12 ~ 16 kD (Ohkaru *et al.*, 1995)。Ockner 等(1972)在研究大鼠小肠脂肪酸吸收的调节时, 在肠粘膜上发现了脂肪酸结合蛋白, 后来又发现这种蛋白广泛存在于动物的心肌、小肠、肝脏、脂肪组织、脑和表皮中, 已发现的脂肪酸结合蛋白包括心肌型(H-FABP)等共 9 种(van Nieuwenhoven *et al.*, 1996)。脂肪酸结合蛋白可结合许多配体, 参与脂肪

酸的摄取与转运, 在脂质代谢中起重要作用(Storch and Thumser, 2000)。它在脂肪酸的生成过程中具有重要的生物学功能, 参与细胞内脂肪酸的运输, 调整细胞内脂肪酸的浓度, 协助将脂肪酸运至进行 β -氧化的场所, 以及甘油三酯和磷脂的合成部位(Veerkamp and Maatman, 1995)。研究表明, 脂肪酸结合蛋白与动物运动能力高度相关(唐量等, 2005; 胡红梅等, 2005)。目前有关昆虫脂肪酸结合蛋白的研究较少, 仅涉及美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea*

基金项目: 河南省杰出青年科研基金项目(0312001000); 河南省创新人才培养基金项目(20052007)

作者简介: 张涛, 1977 年生, 男, 硕士, 研究方向为昆虫分子生物学和毒理学, E-mail: taozhangcn@hotmail.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: xinmingyin@hotmail.com

收稿日期 Received: 2006-10-30; 接受日期 Accepted: 2007-01-05

(Heilmann *et al.*, 1998, 据 NCBI) 非洲沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* (Wu *et al.*, 2002) 烟草天蛾 *Manduca sexta* (Benning *et al.*, 1992) 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (Stapleton *et al.*, 2002, 据 NCBI) 和家蚕 *Bombyx mori* (Niu *et al.*, 2006, 据 NCBI) 等, 研究表明脂肪酸结合蛋白基因在动物中存在一定的同源性。昆虫脂肪酸结合蛋白的功能与体内脂类有关, 而昆虫脂质无论在量上还是在质上都有其资源研究和利用的特点(吴时敏和裘爱泳, 2005)。昆虫飞翔肌中的脂肪酸结合蛋白与人的 H-FABP 相似, 从氨基酸序列来看, 人与东亚飞蝗 *Locusta migratoria* 等价的碳平均方差为 $0.72 \text{ \AA}$ (Maatman *et al.*, 1994)。

烟实夜蛾 *Helicoverpa assulta* 是一种世界性的烟草害虫, 在我国除西藏外均有发生(辛海军等, 2005), 在基因水平上研究该虫继而利用基因工程的成果研制害虫生理生化干扰剂是非常迫切的。对烟实夜蛾的脂肪酸结合蛋白研究国内外尚未见报道。本实验拟通过 RT-PCR 方法, 扩增烟实夜蛾脂肪酸结合蛋白(Hass-FABP)基因 cDNA, 并对其进行克隆、测序、表达和检测。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试虫: 烟实夜蛾由河南农业大学植物保护学院昆虫学系实验室单管饲养。饲养条件: 温度 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$, 相对湿度 60% ~ 80%, 光周期 16L:8D。人工饲料由每 1 000 g 含主要能量物质麦麸 150 g、黄豆粉 80 g、酵母 30 g、干酪素 40 g、蔗糖 20 g 与适量维生素和防腐剂共融于琼脂胶中制成。

1.1.2 菌种及质粒: pMD18-T 载体购自 TaKaRa 公司, 大肠杆菌 JM109 和 BL21(DE3) 质粒 pGEX-4T-2 均来自本实验室。

1.1.3 主要试剂及工具: 总 RNA 抽提试剂 RNAiso Reagent、用于 RT-PCR 的 One Step RNA PCR Kit、质粒小样快速抽提试剂盒、T4 DNA 连接酶、限制性内切酶 *Bam*H I 和 *Xho* I、标准蛋白质分子量等购自 TaKaRa 公司, 辣根过氧化物酶底物 DAB 以及鼠抗 GST 单抗购自 BBI 公司, 辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗购自华美生物工程公司, 硝酸纤维素(NC)膜购自 Promega 公司, X-gal、IPTG、丙烯酰胺和 N,N'-甲叉双丙烯酰胺试剂由生工生物工程(上海)有限公司生产, 其他均为国产或进口分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 引物设计: 根据 GenBank 中美洲棉铃虫 FABP 基因序列(登录号为 AF074436, Heilmann *et al.*, 1998, 据 NCBI) 设计并由上海生物工程技术服务有限公司合成基因引物。正向引物: 5'-AGGATCCATGGCATTCTTTGGCAAG-3' (下划线表示 *Bam*H I 酶切位点); 反向引物: 5'-ACTCGAGTTAGGCCTTGTAGTATCTG-3' (下划线表示 *Xho* I 酶切位点)。

1.2.2 总 RNA 抽提: 选取烟实夜蛾 5 龄幼虫, 取 50 mg 脂肪体和血淋巴, 用 TaKaRa 公司的 RNAiso Reagent 试剂按照说明书进行总 RNA 的提取。

1.2.3 RT-PCR 扩增: 以提取的 RNA 为模板, 按照 TaKaRa 公司 One Step RNA PCR Kit 说明书进行 RT-PCR 扩增。反应条件为 50°C 反转录 30 min; 94°C 变性 2 min; 接着进行 30 个循环, 循环条件为 94°C 30 s, 56°C 30 s, 72°C 1 min, 最后 72°C 延伸 10 min。扩增完毕后, 用 1% 的琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色后拍照, 并用凝胶回收试剂盒回收目的片段。

1.2.4 PCR 产物的克隆、鉴定和序列测定: 将回收的 PCR 产物克隆到 pMD18-T 载体, 然后转化大肠杆菌 JM109, 蓝白斑筛选, 随机挑取一白色菌落, 培养后使用 TaKaRa 公司质粒小样快速抽提试剂盒提取质粒, 用 *Bam*H I 和 *Xho* I 双酶切方法, 鉴定重组克隆 pMD/Hass-FABP, 并委托 TaKaRa 公司测序。

1.2.5 重组表达质粒的构建: 经 *Xho* I 和 *Bam*H I 双酶切重组克隆 pMD/Hass-FABP 质粒, 回收 400 bp 大小的片段, 与同样以 *Xho* I 和 *Bam*H I 双酶切的原核表达载体 pGEX-4T-2 质粒连接。二者以 3:1 的摩尔比混合, 在 T4 连接酶的作用下于 14°C 连接过夜。转化大肠杆菌 JM109, 过夜培养后, 提取质粒 DNA, 用 *Xho* I 和 *Bam*H I 双酶切鉴定阳性克隆, 1% 琼脂糖凝胶电泳观察分析, 获得 Hass-FABP 与谷胱甘肽转移酶融合表达载体 pGEX/Hass-FABP。

1.2.6 诱导表达: 将鉴定正确的重组表达质粒 pGEX/Hass-FABP 转化大肠杆菌 BL21, 挑取阳性克隆接种于含 $100 \mu\text{g/mL}$ 氨苄青霉素 LB 培养基, 37°C 过夜培养, 将菌液以 1% 比例接种于 3 mL 同样 LB 培养基中, 37°C 培养 3 h 后加入诱导物异丙基- β -D-半乳糖苷(IPTG)至浓度为 0.5 mmol/L , 37°C 培养 4 h 后, 取培养液离心收集菌体。用 $100 \mu\text{L}$ $1 \times$ PBS 重悬菌体, 加等体积的 $2 \times$ SDS-PAGE Loading 缓冲液(100 mmol/L pH 6.8 Tris-HCl, 2% 巯基乙醇, 4% SDS, 0.2% 溴酚蓝, 20% 甘油)后剧烈振荡悬浮, 煮沸

10 min,离心后取上清液以备下步实验(张传溪,2001)。

1.2.7 SDS-PAGE 和 Western 印迹分析: 先进行 SDS-PAGE,再将胶转移到硝酸纤维素膜上,然后用封闭液过夜;接着结合鼠抗 GST 单抗,并洗脱;而后结合辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗,并洗脱;最后置于 DAB 中显色,蒸馏水中终止显色反应(张传溪,2001)。

2 结果与分析

2.1 烟实夜蛾脂肪酸结合蛋白基因的扩增和克隆

将烟实夜蛾总 RNA 经 RT-PCR 扩增的产物进行琼脂糖凝胶电泳分析。从分析结果可以看出,扩增产物长度约 400 bp,与预期长度一致。将纯化的扩增片段与 pMD18-T 载体连接,质粒 pMD/Hass-FABP

用 *Xho* I 和 *Bam* H I 双酶切方法鉴定,一条带大小约 400 bp,另一条带大于 2 000 bp,分别与 Hass-FABP 基因和 pMD18-T 质粒载体的大小相符合。

2.2 序列测定和分析

序列测定(图 1)分析表明,烟实夜蛾脂肪酸结合蛋白基因 *Hass-FABP* 开放式阅读框全长 399 bp (GenBank 登录号为 DQ299942),编码 132 个氨基酸残基,利用 ProtParam(<http://www.expasy.ch/tools/>)计算的分子量为 15.0 kD,等电点为 5.83。

使用 Clustal W 和 Genedoc 软件对烟实夜蛾与其他哺乳动物及昆虫的脂肪酸结合蛋白氨基酸进行多重联配,结果(图 2)表明:烟实夜蛾脂肪酸结合蛋白基因与鳞翅目近缘种美洲棉铃虫 FABP 的同源性高达 96%,与烟草天蛾和家蚕的同源性分别达到了 42% 和 40%。与双翅目的果蝇、哺乳动物马和牛 FABP 同源性为 32%,与人的 FABP 同源性为 27%。

```

1   ATGGCATTCTTTGGCAAGGAATACAAGTTTGAGAAGCAGGAGAACTTTGAGGATTTCGTC
1   M A F F G K E Y K F E K Q E N F E D F V
61  AATGCTTTGGGCTCACTCCCGAGCAGACTCAAGGCTACCTCGCTACACCCGACCCCTC
21  N A L G L T P E Q T Q G Y L A Y T P T L
121 AAGTTCACGCAAGATGGTGACTCGTACACCGTGATCACCATCACGCCCAAGACTAAAAGT
41  K F T Q D G D S Y T V I T I T P K T K S
181 GAAGTCACCTTCAAGTCTGGAGTCGAGTTCGATGATAACAATGCTAACCGACACTGCAAG
61  E V T F K S G V E F D D N N A N R H C K
241 ACCACGTACACCGTTGCCGGCGACACCATCACCCAGGTGCAGAAGTACGATGACGGCAAC
81  T T Y T V A G D T I T Q V Q K Y D D G N
301 AGCCTGACCATCACAGGAAGTTCTCTGGCAACGAGATGGTTGTGACTCTGGCAACCAGC
101 S L T I T R K F S G N E M V V T L A T S
361 AAATGGGACGGAGTTGCTCGCAGATACTACAAGGCCTAA
121 K W D G V A R R Y Y K A *
```

图 1 *Hass-FABP* 基因的核苷酸序列及推导的氨基酸序列

Fig. 1 Nucleotide and amino acid sequence of *Hass-FABP* gene

2.3 烟实夜蛾脂肪酸结合蛋白基因原核表达载体的构建

经 *Xho* I 和 *Bam* H I 双酶切重组克隆 pMD/Hass-FABP 质粒,回收 400 bp 大小的片段,与相同双酶切的原核表达载体 pGEX-4T-2 质粒连接。转化大肠杆菌 JM109,过夜培养后,提取质粒 DNA,再双酶切,电泳观察,得到 400 bp 大小目的片段,表明 pGEX/Hass-FABP 原核表达载体构建成功。

2.4 烟实夜蛾脂肪酸结合蛋白基因在大肠杆菌中的表达与检测

含有 pGEX/Hass-FABP 的 BL21(DE3)工程菌在

IPTG 诱导下,可产生 41 kD 左右的特异蛋白质条带,而经 IPTG 诱导的含有 pGEX-4T-2 的 BL21(DE3)工程菌以及 BL21(DE3)则没有相应的特异条带(图 3:A),说明表达产物是融合了 26 kD GST 的目的蛋白。对表达产物与 GST 同时进行 Western 印迹分析,结果表明 pGEX/Hass-FABP 蛋白条带和单 GST 条带同时与抗 GST 抗体发生很强的交叉反应,表明融合蛋白得到了表达且分子量大于单 GST,与预测结果一致(图 3:B)。

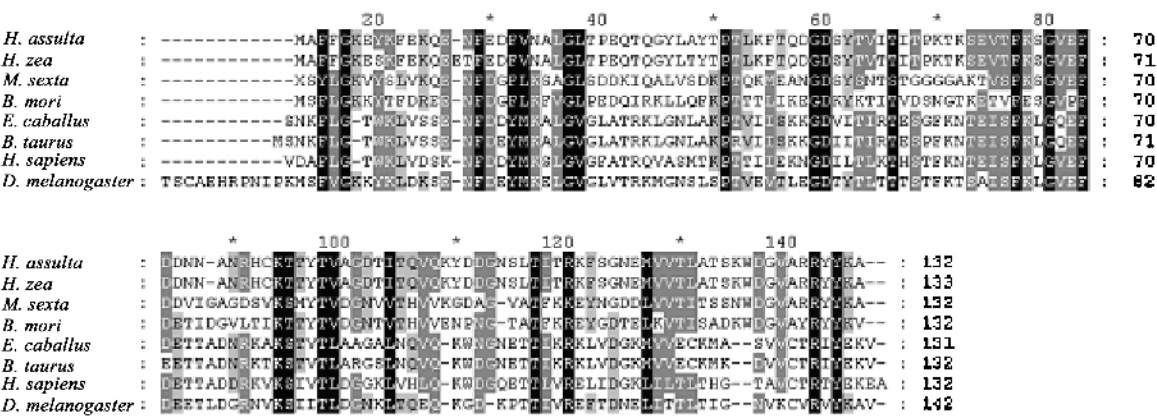


图 2 不同物种脂肪酸结合蛋白基因氨基酸序列比对

Fig. 2 Alignment of amino acid sequences of fatty-acid binding protein genes from different species

H. assulta : 烟实夜蛾 *Helicoverpa assulta* ; *H. zea* : 美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* ; *M. sexta* : 烟草天蛾 *Manduca sexta* ; *B. mori* : 家蚕 *Bombyx mori* ; *E. caballus* : 马 *Equus caballus* ; *B. taurus* : 牛 *Bos taurus* ; *H. sapiens* : 人 *Homo sapiens* ; *D. melanogaster* : 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*。黑色代表 100% 同源性 The black represents 100% identity ; 灰色代表 80% 同源性 The gray represents 80% identity .

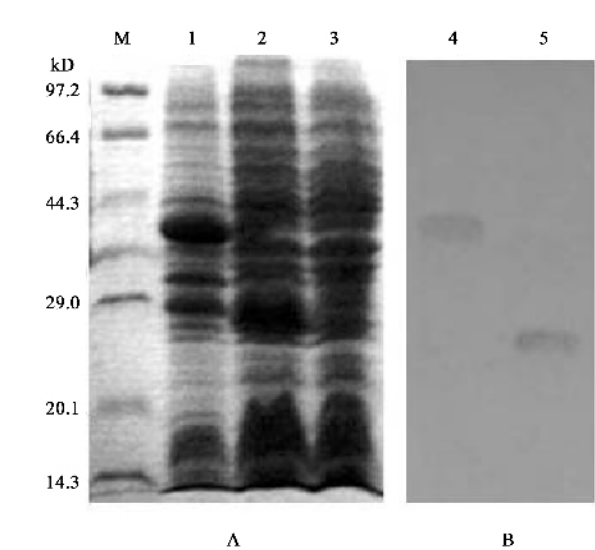


图 3 重组质粒 pGEX/Hass-FABP 在大肠杆菌中的表达
Fig. 3 Expression of pGEX/Hass-FABP in *Escherichia coli*
A : 12% SDS-PAGE ; B : Western blot ; M : 蛋白质分子量标准 Protein molecular weight marker ; 1 : 诱导的 pGEX/Hass-FABP 表达菌全菌体 The total cell of *E. coli* pGEX/Hass-FABP induced by IPTG ; 2 : 诱导的 pGEX-4T-2 表达菌全菌体 The total cell of *E. coli* pGEX-4T-2 induced by IPTG ; 3 : 表达菌全菌体 The total cell of *E. coli* ; 4 : Hass-FABP-GST ; 5 : GST .

3 讨论

已有研究表明 , 脂肪酸结合蛋白对其他物种在脂类摄取与转运中起重要作用。在昆虫的生活史中 , 脂类具有重要作用 , 它是虫体细胞膜的重要组成

部分 , 既为昆虫的肌肉系统和生理反应提供必要的能量 , 也是昆虫性信息素的前体物质 , 而且与昆虫的抗寒性有关 (雷朝亮和荣秀兰 , 2003) 。目前 , 国内罕见关于昆虫脂肪酸结合蛋白的报道 , 所以昆虫学研究者应该加强这方面的研究 , 以揭示其对于昆虫体内脂肪酸的功能。

Benning 等 (1992) 采用 X 射线或核磁共振技术获得了脂肪酸结合蛋白的结构。而在对昆虫 FABP 基因的研究中 , 又以蝗虫飞翔肌中 FABP 基因居多 (Wu *et al.* , 2002 ; Lucke *et al.* , 2006) 。本研究运用分子生物学实验技术克隆了 Hass-FABP 基因 , 并成功在大肠杆菌中表达。

本研究采用 RT-PCR 方法所获取的目的基因克隆后可直接用于基因工程的表达 , 在不能确定 Hass-FABP 是否含有内含子的情况下 , 采用 RT-PCR 方法特异性的扩增出 Hass-FABP 抗原编码区基因序列 , 所得到的片段可直接用于克隆表达 , 并已证明构建成功。近年来 , 先后有在大肠杆菌中表达其他物种 FABP 的报道 (Smith and Johnson , 1988 ; Schaap *et al.* , 1996) 。为了获得足够量的蛋白用以进一步研究 , 作者选用了简便、高效及生产成本低的原核表达系统载体 pGEX-4T-2。其优点在于 : 表达产率高 , 重组蛋白主要以可溶形式存在于胞质中 , 融合蛋白的分离纯化简单易行。GST 融合蛋白作为大肠杆菌中表达的蛋白 , 已被广泛应用 , 并多见报道 (Liu *et al.* , 2003 ; 王弘珺等 2005) 。利用 GST 融合蛋白沉降技术可以检测蛋白质互作 , GST 融合蛋白常被用

于制备抗体,这些抗体可用于 Western 印迹来研究蛋白质的互作(Sambrook and Russell, 2002)。本研究成功应用 pGEX-4T-2 表达载体表达出 GST 融合蛋白并使用 Western 印迹技术检测。分析和检测结果均表明与已报道的其他 FABP 的理化性质基本一致。这为进一步纯化融合蛋白及制备多克隆抗血清打下基础。

烟实夜蛾与其他哺乳动物及昆虫 FABP 基因的同源性分析结果表明,只有以其为依据设计引物的美洲棉铃虫 FABP 的同源性较高,而与其他物种的同源性都不高。考虑到 FABP 存在 9 种不同的类型,可能本研究克隆的 FABP 基因与其他物种的不属于同一种类型。由此推测昆虫体内存在 FABP 的不同空间和时间表达。

由于 FABP 在人类多种疾病(Tuncman *et al.*, 2006)以及其他研究中有重要价值,如:家畜家禽(利用和调节脂肪)(姜延志和李学伟, 2006)、寄生虫(从宿主获得其自身不能合成的长链脂肪酸及固醇类物质)(Lee *et al.*, 2006),且这方面的相关报道颇多,并达到了相当的深度(Chmurzyńska, 2006),因此可以将这些成果应用到昆虫 FABP 的研究中,以期获得较快的研究进展。

参 考 文 献 (References)

- Benning MM, Smith AF, Wells MA, Holden HM, 1992. Crystallization, structure determination and least-squares refinement to 1.75 Å resolution of the fatty-acid-binding protein isolated from *Manduca sexta* L. *Journal of Molecular Biology*, 228 : 208 – 219.
- Chmurzyńska A, 2006. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism. *Journal of Applied Genetics*, 47(1): 39 – 48.
- Hu HM, Xu HW, Ying K, Ji CN, Li Y, Xie Y, Mao YM, 2005. Effects of aerobic exercise and rosiglitazone on the expression of PPAR γ , GLUT4 and FABPs genes in NOD mice. *Chinese Journal of Sports Medicine*, 24(1): 55 – 59. [胡红梅, 许豪文, 应康, 季朝能, 李瑶, 谢毅, 毛裕民, 2005. 有氧运动和罗格列酮对 NOD 小鼠 PPAR γ , GLUT4 和 FABPs 基因表达的影响. 中国运动医学杂志, 24(1): 55 – 59]
- Jiang YZ, Li XW, 2006. Molecular cloning and tissue-specific expression of intestinal-type fatty acid binding protein in porcine. *Acta Genetica Sinica*, 33(2): 125 – 132. [姜延志, 李学伟, 2006. 猪 I-FABP 基因的分子克隆与组织特异性表达分析. 遗传学报, 33(2): 125 – 132]
- Lee JS, Kim IS, Sohn WM, Lee J, Yong TS, 2006. A DNA vaccine encoding a fatty acid-binding protein of *Clonorchis sinensis* induces protective immune response in Sprague-Dawley rats. *Scandinavian Journal of Immunology*, 63(3): 169 – 176.
- Lei CL, Rong XL, 2003. General Entomology. Beijing: China Agriculture Press. 181 – 313. [雷朝亮, 荣秀兰, 2003. 普通昆虫学. 北京: 中国农业出版社. 181 – 313]
- Liu RZ, Denovan-Wright EM, Wright JM, 2003. Structure, mRNA expression and linkage mapping of the brain-type fatty acid-binding protein gene (*fabp7*) from zebrafish (*Danio rerio*). *European Journal of Biochemistry*, 270(4): 715 – 725.
- Lucke C, Qiao Y, van Moerkerk HT, Veerkamp JH, Hamilton JA, 2006. Fatty-acid-binding protein from the flight muscle of *Locusta migratoria*: evolutionary variations in fatty acid binding. *Biochemistry*, 45(20): 6 296 – 6 305.
- Maatman RGH, Degano M, van Moerkerk HTB, van Marrewijk WJA, van der Horst DJ, Sacchettini JC, Veerkamp JH, 1994. Primary structure and binding characteristics of locust and human muscle fatty-acid-binding protein. *European Journal of Biochemistry*, 221: 801 – 810.
- Ockner RK, Manning JA, Poppenhausen RB, William KLH, 1972. A binding protein for fatty acid in cytosol of intestinal mucosa, liver, myocardium and other tissues. *Science*, 177: 56 – 58.
- Ohkaru Y, Asayama K, Ishii H, Nishimura S, Sunahara N, Tanaka T, Kawamura K, 1995. Development of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of human heart type fatty acid-binding protein in plasma and urine by using two different monoclonal antibodies specific for human heart fatty acid-binding protein. *Journal of Immunological Methods*, 178: 99 – 111.
- Sambrook J, Russell DW, 2002. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd ed. Beijing: Science Press. 1 474 – 1 486. [萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 DW, 2002. 分子克隆实验指南. 第 3 版. 北京: 科学出版社. 1 474 – 1 486]
- Schaap FG, Specht B, van der Vusse GJ, Borchers T, Glatz JF, 1996. One-step purification of rat heart-type fatty acid-binding protein expressed in *Escherichia coli*. *Journal of Chromatography B, Biomedical Applications*, 679: 61 – 67.
- Smith DB, Johnson KS, 1988. Single-step purification of polypeptides expressed in *Escherichia coli* as fusions with glutathione S-transferase. *Gene*, 67(1): 31 – 40.
- Storch J, Thumser AEA, 2000. The fatty acid transport function of fatty acid binding protein. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1486(1): 28 – 44.
- Tang L, Tian ZJ, Xiong ZY, Zhang YQ, 2005. Study of the genes expression of SCD-2 and B-FABP in the mice brain of exercise-induced fatigue by genechip cDNA microarray. *Chinese Journal of Applied Physiology*, 21(2): 137 – 139. [唐量, 田振军, 熊正英, 张英起, 2005. 应用基因芯片技术对疲劳性运动小鼠脑组织脂肪酸代谢相关基因表达的初步研究. 中国应用生理学杂志, 21(2): 137 – 139]
- Tuncman G, Erbay E, Hom X, Vivo ID, Campos H, Rimm EB, Hotamisligil GS, 2006. A genetic variant at the fatty acid-binding protein *aP2* locus reduces the risk for hypertriglyceridemia, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(18): 6 970 – 6 975.
- van Nieuwenhoven FA, van der Vusse GJ, Glatz JFC, 1996. Membrane-associated and cytoplasmic fatty acid-binding protein. *Lipids*, 31 (Suppl.): 223 – 227.
- Veerkamp JH, Maatman RGHJ, 1995. Cytoplasmic fatty acid binding proteins: their structure and genes. *Progress in Lipid Research*, 34(1):

17 – 52.

Wang HJ , Wang YC , Xia XP , Peng JX , Tan H , Zhao Y , 2005 . Expression of mouse Foxp3 fragment and preparation of polyclonal antibody against Foxp3 . *Progress in Biotechnology* , (11) : 27 – 30 . [王弘珺 , 王颖超 , 夏雪培 , 彭建霞 , 谭获 , 赵勇 , 2005 . 小鼠 Foxp3 片段的表达和多克隆抗体的制备 . 中国生物工程杂志 , (11) : 27 – 30]

Wu Q , Chang W , Rickers-Haunerland J , Higo T , Haunerland NH , 2002 . Characterization of a new fatty acid response element that controls the expression of the locust muscle FABP gene . *Molecular and Cellular Biochemistry* , 239 : 173 – 180 .

Wu SM , Qiu AY , 2005 . Developments of functional insect lipids and oils . *Natural Product Research and Development* , 13 (1) : 52 – 55 . [吴时敏 , 裘爱泳 , 2005 . 昆虫功能性脂质与油脂的开发 . 天然产物研究与开发 , 13 (1) : 52 – 55]

Xin HJ , Wang G , Wang KY , Gu CB , Xia XM , 2005 . The occurrence and management of the *Helicoverpa assulta* . *Pesticides* , (1) : 42 – 44 . [辛海军 , 王刚 , 王开运 , 顾春波 , 夏晓明 , 2005 . 烟青虫的发生及防治 . 农药 , (1) : 42 – 44]

Zhang CX , 2001 . Analysis of Baculovirus Polyhedrin Gene and Protein Kinase , and Expression of Human Erythropoietin Gene in Baculovirus-insect System . Beijing : Higher Education Press . 87 – 103 . [张传溪 , 2001 . 昆虫杆状病毒 ph、pk 基因分析和人 EPO 基因在杆状病毒-昆虫系统中的表达 . 北京 : 高等教育出版社 . 87 – 103]

(责任编辑 : 黄玲巧)