



樱桃红蟑螂抗菌肽果蝇霉素基因 *SIDros* 克隆及体内诱导表达

刘露遥¹, 桂 航¹, 任书瑾¹, 伊丽姆努尔·玉山¹,
章冰川¹, 李 飞¹, 何树林^{1,2,*}, 周 操^{1,2,*}

(1. 重庆师范大学生命科学学院, 重庆 401331;

2. 重庆师范大学昆虫与分子生物学研究所, 媒介生物控制和利用重庆市重点实验室, 重庆 401331)

摘要:【目的】本研究旨在鉴定樱桃红蟑螂 *Shelfordella lateralis* 的抗菌肽果蝇霉素基因, 并探究其发育和组织表达特性及其在细菌与杀虫剂诱导下的表达情况。【方法】基于樱桃红蟑螂转录组数据对樱桃红蟑螂的果蝇霉素基因进行鉴定, 并通过 RT-PCR 进行验证; 利用 RT-qPCR 测定樱桃红蟑螂不同发育阶段(1 龄若虫、4 龄若虫及 6 日龄雌成虫和雄成虫)、4 龄若虫不同组织(头、胸、肠道、足、脂肪体、血淋巴和体壁)及注射大肠杆菌 *Escherichia coli*、金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 和溴氰菊酯(1×10^{-5} mg/L)后 4 龄若虫中果蝇霉素基因的表达量。【结果】克隆得到了樱桃红蟑螂果蝇霉素基因 *SIDros* 的 cDNA 序列(GenBank 登录号: PQ464795), 其开放阅读框长 201 bp, 编码 66 个氨基酸。*SIDros* 在樱桃红蟑螂 6 日龄雄成虫中大量表达; *SIDros* 在 4 龄若虫头、体壁、胸和血淋巴中的表达量较高; 注射大肠杆菌后 12, 24 和 48 h 时 4 龄若虫中 *SIDros* 的表达量显著高于对照组(注射蒸馏水); 注射金黄色葡萄球菌后 6, 12, 24 和 72 h 时 4 龄若虫中 *SIDros* 的表达量都显著高于对照组(注射蒸馏水); 注射溴氰菊酯 96 h 时 4 龄若虫中 *SIDros* 的表达量显著高于对照组(注射丙酮)。【结论】樱桃红蟑螂中存在抗菌肽果蝇霉素基因, 并且细菌和杀虫剂胁迫均能诱导其表达。研究结果可为研究樱桃红蟑螂抗菌肽的功能及其进一步开发新型抗菌药物打下基础。

关键词: 樱桃红蟑螂; 抗菌肽; 果蝇霉素; 基因表达; 溴氰菊酯; 细菌

中图分类号: Q969.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2025)07-1023-08

Cloning and *in vivo* induced expression of the antimicrobial peptide Drosomycin gene *SIDros* in *Shelfordella lateralis* (Blattodea: Blattellidae)

LIU Lu-Yao¹, GUI Hang¹, REN Shu-Jin¹, YUSHAN Yi-Li-Mu-Nu-Er¹, ZHANG Bing-Chuan¹, LI Fei¹, HE Shu-Lin^{1,2,*}, ZHOU Cao^{1,2,*} (1. College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China; 2. Chongqing Key Laboratory of Vector Control and Utilization, Institute of Entomology and Molecular Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract:【Aim】The aim of this study is to identify antimicrobial peptide Drosomycin gene in *Shelfordella lateralis*, and examine the developmental and tissue expression properties and the expression of antimicrobial peptide Drosomycin gene induced by bacteria and insecticide.【Methods】Drosomycin gene of *S. lateralis* was identified based on the transcriptome data of *S. lateralis* and further validated through RT-PCR. The expression levels of the Drosomycin gene in *S. lateralis* at different developmental stages (1st instar nymph, 4th instar nymph, and the 6-day-old female and male adults), in different

基金项目: 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术课题(QZYY-2025-214); 贵州省企事业科协“新质黔沿”引领项目; 重庆市教委科学技术研究项目(KJQN202200533); 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2021jcyj-msxmX0235)

作者简介: 刘露遥, 女, 2004 年 3 月生, 重庆永川人, 本科生, 研究方向为有害生物综合防治, E-mail: 3086292116@qq.com

* 通讯作者 Corresponding authors, E-mail: zhouc@cqnu.edu.cn; shulinhe@cqnu.edu.cn

收稿日期 Received: 2024-10-21; 接受日期 Accepted: 2025-02-20

tissues (head, thorax, gut, leg, fat body, hemolymph and integument) of the 4th instar nymphs, and in the 4th instar nymphs after injection of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and deltamethrin (1×10^{-5} mg/L) were assayed by using RT-qPCR. 【Results】The cDNA sequence of Drosomycin gene *SlDros* (GenBank accession no.: PQ464795) of *S. lateralis* was cloned. The open reading frame of *SlDros* was 201 bp in length encoding 66 amino acids. *SlDros* was highly expressed in the 6-day-old male adults. *SlDros* was mainly expressed in the head, integument, thorax and hemolymph of the 4th instar nymphs. The expression levels of *SlDros* in the 4th instar nymphs at 12, 24 and 48 h after injection of *E. coli*, and those at 6, 12, 24 and 72 h after injection of *S. aureus* were significantly increased as compared with those of the control group injected with distilled water. At 96 h post-injection of deltamethrin, the expression level of *SlDros* in the 4th instar nymphs was significantly higher than that of the control group injected with acetone. 【Conclusion】The antimicrobial peptide Drosomycin gene is present in *S. lateralis*, and stress of bacteria or insecticide can induce its expression. These results provide a foundation for studying the function of antimicrobial peptides in *S. lateralis* and the further development of new antimicrobial drugs.

Key words: *Shelfordella lateralis*; antimicrobial peptide; drosomycin; gene expression; deltamethrin; bacteria

樱桃红蟑螂 *Shelfordella lateralis*, 又名侧缘余氏蠊, 隶属于蜚蠊目 (Blattodea) 蜚蠊科 (Blattidae) 余氏蠊属 *Shelfordella*。该虫于 2018 年首次在中国新疆阿拉山口地区发现(尹小平等, 2020)。樱桃红蟑螂作为美洲大蠊 *Periplaneta americana* 的近缘属, 同样具有强大的繁殖能力和环境适应能力。目前围绕美洲大蠊的药用资源开发进行了大量的研究, 在促进组织修复、抗炎、抗肿瘤等方面取得了一定成果(田朝娥等, 2024), 例如开发出的康复新液(刘伟伟等, 2017)、心脉隆注射液(蔡海霞等, 2022)、肝龙胶囊(刘姝等, 2020)等已在临床治疗中被广泛使用。然而目前关于樱桃红蟑螂的药用价值尚未见报道。

抗菌肽(antimicrobial peptide, AMPs)是一类由 12 ~ 50 个带正电荷的氨基酸组成的短肽, 因此分子质量较小, 一般只有 2 ~ 7 kD, 广泛存在于生物体中, 主要包括微生物、两栖动物、昆虫以及哺乳动物等(张建胜等, 2024)。昆虫抗菌肽的功能非常广泛, 作为昆虫先天免疫系统的重要效应因子, 不仅具有免疫调节活性, 可以激活免疫系统, 还具有抗菌、抗感染以及抗肿瘤等功能(许晓燕和夏婧, 2020; 梁国柱等, 2023)。迄今为止, 在昆虫中已经发现了超过 300 种抗菌肽(Wang *et al.*, 2016)。根据氨基酸组成和结构特点, 昆虫抗菌肽可以分为 4 类, 即: 天蚕素类、防御素类、富含脯氨酸肽和富含甘氨酸肽(Yi *et al.*, 2014)。除此之外, 还有一些其他的抗菌肽, 比如从黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的血淋

巴中提取出来的果蝇霉素(Drosomycin), 也是第 1 个被鉴定出来的抗真菌肽(Fehlbaum *et al.*, 1994)。在果蝇 *Drosophila* 的研究中发现, 其幼虫体内的 Drosomycin 基因被激活后能够显著增强对真菌和革兰氏阳性菌的抗性(Chiu *et al.*, 2005); 黑腹果蝇体内的 Drosomycin 和 Drosomycin-2 可以抑制寄生虫伯氏疟原虫卵状体的发育(De Gregorio *et al.*, 2001)。在烟草的研究中也发现, 植株内过表达 *Drosomycin*, 能够提高烟草对烟草赤星病的抗性(任小东, 2012); 而樱桃红蟑螂作为美洲大蠊的近缘属, 其体内是否具有果蝇霉素基因, 其功能与已知昆虫的果蝇霉素有何异同, 目前尚未见研究报道。

抗菌肽具有广谱抗菌活性、水溶性好、种类多等特点。由于抗菌肽对机体安全、无毒、无副作用, 相对于抗生素来说, 抗菌肽不易使病原菌产生耐药性(刘雪兰等, 2024), 因此抗菌肽被认为是有效的抗生素替代品(Zhang *et al.*, 2022), 具有巨大的应用潜力。目前, 抗菌肽在临床医学、畜牧业、农业、食品加工等行业都有广泛的应用。例如, 在医学研究中发现, 抗菌肽对眼部微生物有抗性, 并且能够促进角膜伤口的愈合(Tummanapalli and Willcox, 2021)。在畜牧业以及农业方面, 抗菌肽能够抑制甚至杀死一些易感菌(段旭彤等, 2023)。而在食品加工行业, 抗菌肽可以用作食品防腐剂, 从而起到食品保鲜的作用(杨悦等, 2021)。抗菌肽的开发应用具有巨大的潜力, 为了高效地获得抗菌肽, 目前的研究表明可以通过生物或者非生物胁迫的方式诱导生物体表

达抗菌肽。例如,通过热源胁迫诱导黑水虻 *Hermetia illucens* 幼虫产生抗菌肽(陈燕等, 2023); 苏云金芽胞杆菌 *Bacillus thuringiensis*(Bt) 能够诱导棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 天蚕素抗菌肽基因 *HacD* 转录水平上调(袁伟宁等, 2024); 家蚕 *Bombyx mori* 注射蜕皮激素(20E)可以诱导抗菌肽基因 *CecropinB6* 的表达上调(王禹生等, 2023)。而这些生物或者非生物胁迫的方式是否可以诱导樱桃红蟑螂抗菌肽的表达还需要进一步的研究。本研究以樱桃红蟑螂为试验材料,通过对转录组数据进行鉴定获得了其果蝇霉素基因,并对该基因的序列和表达特征进行分析,对其诱导表达的条件进行优化,为研究樱桃红蟑螂体内抗菌肽的功能及其进一步开发新型抗菌药物打下基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫及杀虫剂

樱桃红蟑螂的饲养条件为:温度(28 ± 2) °C,相对湿度 65% ~ 75%,阴暗条件下通过大豆、麦麸、玉米三合一饲料(网购)进行饲养。98% 的溴氰菊酯原药购买自常熟恒耀新材料有限公司。

1.2 总 RNA 的提取及 cDNA 的合成

通过 HP Total RNA Kit 试剂盒(Omega, 美国)试剂盒提取樱桃红蟑螂的总 RNA,并使用超微量分光光度计测定总 RNA 的浓度和纯度,再使用 PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser (TaKaRa, 大连)试剂盒合成 cDNA。

1.3 基因克隆

根据 NCBI 上已公布的樱桃红蟑螂的转录组数据(SRR23684285),经过 *de novo* 组装初步获得樱桃红蟑螂果蝇霉素基因序列,利用 Primer Premier 6.0 软件设计特异性引物(表 1),并使用 2 × Taq PCR StarMix with Loading Dye 试剂(GenStar, 北京)以 RT-PCR 法对基因组中获得的序列进行验证。PCR 产物经电泳检测合格后采用 E. Z. N. A® Cycle-Pure Kit (Omega, 美国)试剂盒对目的条带进行回收与纯化,将得到的目的条带进行 TA 克隆,并将克隆后的产物送往公司进行测序。

1.4 基因序列分析

利用 ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>)分析樱桃红蟑螂 *Drosomycin* 基因的开放阅读框;运用 DNAMAN 推导其编码氨基酸序列进行多重序列比对分析;使用 ProtParam ([https://](https://web.expasy.org/protparam/)

web.expasy.org/protparam/)预测蛋白质的分子量和理论等电点(pI)。利用 SignalP 5.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-5.0/>)进行信号肽预测。通过 Pfam (<http://pfam.xfam.org/>)和 SMART 在线网站(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)预测其编码蛋白的保守结构域。使用 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>)预测蛋白的三级结构。从 NCBI 数据库中下载其他昆虫 *Drosomycin* 基因的氨基酸序列,并采用 MEGA6.0 软件中的邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统发育树,设定 bootstrap 值为 1 000 次检验。

1.5 样品收集及基因表达量 RT-qPCR 测定

1.5.1 不同发育阶段和组织取样:收集樱桃红蟑螂 1 和 4 龄若虫及 6 日龄雌成虫和雄成虫。在 PBS 中解剖 4 龄若虫的头、胸、肠道、足、体壁、脂肪体及血淋巴。每发育阶段和组织样品包含 2 ~ 5 头个体为 1 个生物学重复,各种样品均设置 3 个生物学重复。RNA 提取和 cDNA 合成同 1.2 节。

1.5.2 杀虫剂和细菌胁迫处理和取样:使用显微注射法,每头 4 龄若虫注射 1 μL 溴氰菊酯(1×10^{-5} mg/L),收集注射后 24, 48, 72 和 96 h 的样品,以注射同体积的蒸馏水为对照组,每个样品包含 2 头存活的樱桃红蟑螂。同样,分别对每头 4 龄若虫注射 2 μL 的大肠杆菌 *Escherichia coli* (OD 值 ≈ 6.0) 和金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (OD 值 ≈ 6.0) (Deng *et al.*, 2009),注射后分别于 3, 6, 12, 24, 48 和 72 h 各取 2 头存活的个体作为 1 个生物学重复,各时间均设置 3 个生物学重复。RNA 提取和 cDNA 合成同 1.2 节。

1.5.3 RT-qPCR 测定:使用 2 × T5 Fast qPCR Mix (SYBR Green I) 试剂盒,通过 RT-qPCR 法对果蝇霉素基因的表达量进行测定,以 *SlActine* 为内参基因,使用 Primer Premier 6.0 设计引物(表 1)。反应体系:上下游引物($10 \mu\text{mol/L}$)各 0.5 μL, 2 × T5 Fast qPCR Mix (SYBR Green I) 5 μL, cDNA 模板 1 μL, ddH₂O 3 μL。反应程序:95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 30 s, 60 °C 退火并延伸 30 s, 39 个循环; 60 ~ 95 °C 生成熔解曲线。每个样品的均进行 3 次 RT-qPCR 技术重复。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法 (Livak and Schmittgen, 2001) 计算 *SlDros* 的相对表达量。

1.6 数据分析

基因表达量数据均以平均值 ± 标准误表示。使用 Tukey 氏 HSD 法对 *SlDros* 在不同发育阶段、组织和微生物胁迫下的表达量进行多重比较分析;使用

表 1 本研究所用引物
Table 1 Primers used in this study

基因 Genes	引物 Primers	引物序列(5′-3′) Primer sequences	用途 Use
<i>SlDros</i>	AMP1-F1	CAAGCAGGCAGCATCTATCT	RT-PCR
	AMP1-R1	TTGGGACTCTACTGTACTGAAA	
<i>SlDros</i>	YSIAMP1-F	CTCGAAGAACCTTGCATCCATT	RT-qPCR
	YSIAMP1-R	CAGACAGTCACCAGACACAATC	
<i>SlActine</i>	YSIAct-F1	TGTGCTATGTTGCCCTGGACTT	
	YSIAct-R1	GCTTCTGGACAACGGAACCTCT	

独立样本 *t* 检验对杀虫剂胁迫中的表达量进行差异显著性分析。

2 结果

2.1 樱桃红蟑螂 *SlDros* 基因克隆与序列特征

通过验证,获得了一条长度为 424 bp 的序列,经过序列比对和保守结构域分析确定其为果蝇霉素基因;将其命名为 *SlDros* (GenBank 登录号:PQ464795)。其开放阅读框全长为 201 bp,编码 66 个氨基酸。预测的蛋白质分子为 7.35 kD,理论等电点为 7.51。序列多重比对结果显示樱桃红蟑螂 *SlDros* 的氨基酸序列与其他昆虫的 *Drosomycin* 序列具有较高的一致性。系统发育树显示,樱桃红蟑螂的 *SlDros* 与德国小蠊 *Blattella germanica* 的 *Drosomycin* 聚集在同一个分支上,具有较近的亲缘关系,然后再与白蜡窄吉丁 *Agrilus planipennis*、带斑黄瓜叶甲 *Diabrotica balteata* 和玉米根萤叶甲虫 *Diabrotica virgifera virgifera* 等鞘翅目昆虫的 *Drosomycin* 形成分支(图 1)。*SlDros* 蛋白三级结构由 α -螺旋、 β -折叠和无规则卷曲组成。

2.2 樱桃红蟑螂 *SlDros* 的时空表达

不同发育阶段表达谱表明(图 2: A), *SlDros* 在樱桃红蟑螂 6 日龄雄成虫中大量表达,表达量显著高于 1 和 4 龄若虫和 6 日龄雌成虫中的表达量。不同组织中表达谱表明(图 2: B), *SlDros* 在樱桃红蟑螂 4 龄若虫各个组织均有表达,其中在头中的表达量最高;在血淋巴、胸部和体壁中的表达量较高;在脂肪体、足的表达量较低;在肠道中表达量最低。

2.3 细菌和杀虫剂胁迫下 *SlDros* 的表达量

对 4 龄若虫注射大肠杆菌后, *SlDros* 的表达量呈先下降后上升最后再下降的趋势;在注射后 12, 24 和 48 h 时, *SlDros* 的表达量显著高于对照组(注射蒸馏水)的($P < 0.05$)。同样,对 4 龄若虫注射金黄色葡萄球菌后 *SlDros* 的表达量先上升后下降;在注射后 6, 12, 24 以及 72 h 时, *SlDros* 的表达量都显著高于对照组(注射蒸馏水) ($P < 0.05$) (图 3: A)。注射溴氰菊酯后 *SlDros* 的表达量呈先下降再上升的趋势;在注射后 96 h 时 *SlDros* 的表达量显著高于对照组(注射丙酮) ($P < 0.01$),为对照组的 3.73 倍(图 3: B)。

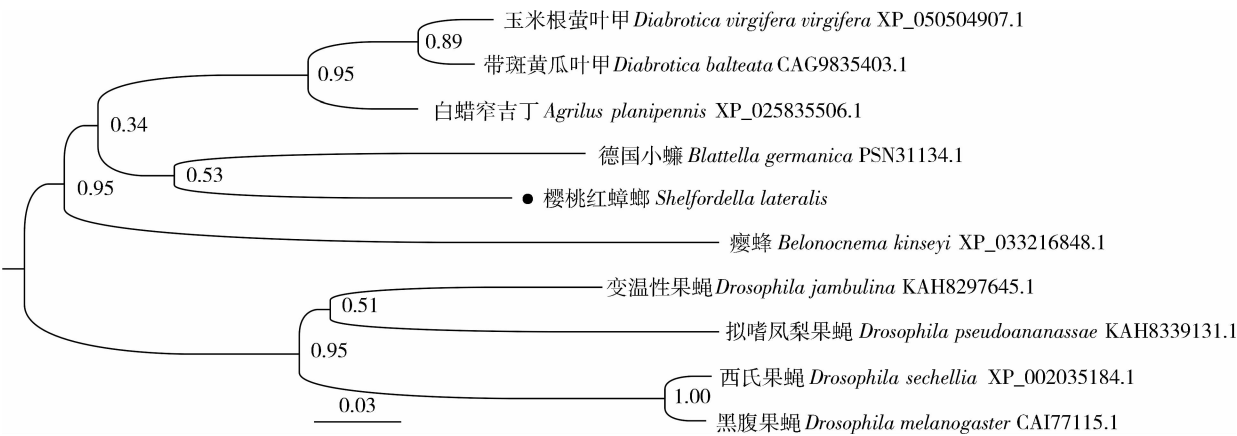


图 1 邻接法构建的基于樱桃红蟑螂 *SlDros* 与其他昆虫 *Drosomycin* 氨基酸序列的系统进化树(1 000 次重复)
Fig. 1 Phylogenetic tree of *SlDros* of *Shelfordella lateralis* and *Drosomycins* from other insects based on amino acid sequences constructed by neighbor-joining method (1 000 replicates)

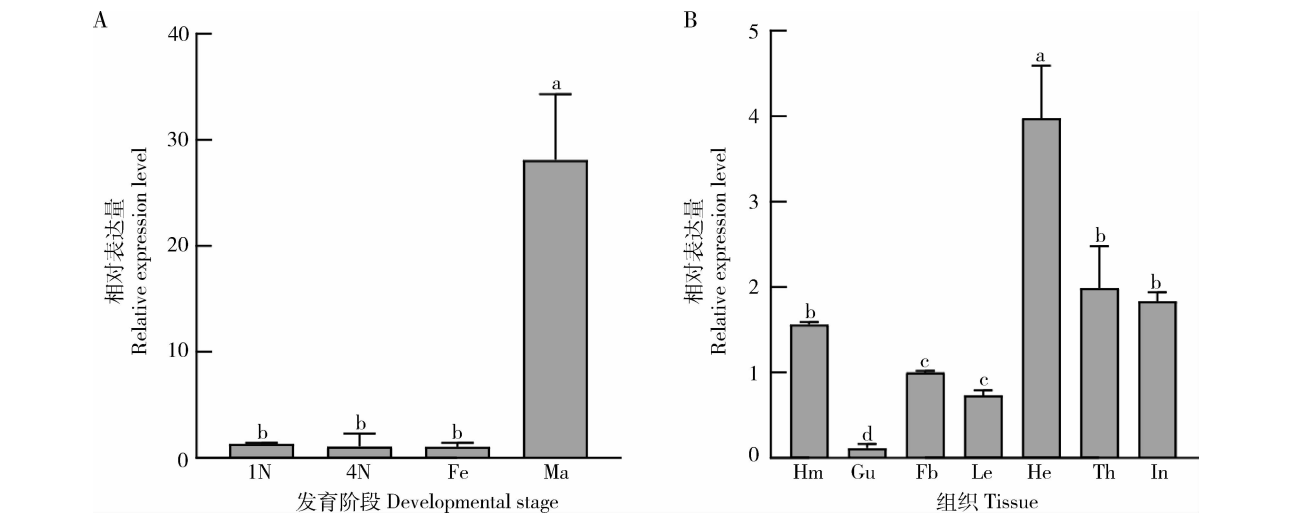


图2 *SIDros* 在樱桃红蟑螂不同发育阶段(A)和4龄若虫不同组织(B)中的表达量
Fig. 2 Expression levels of *SIDros* at different developmental stages (A) and in different tissues of the 4th instar nymphs (B) of *Shelfordella lateralis*

1N: 1龄若虫 1st instar nymph; 4N: 4龄若虫 4th instar nymph; Fe: 6日龄雌成虫 6-day-old female adult; Ma: 6日龄雄成虫 6-day-old male adult. Hm: 血淋巴 Hemolymph; Gu: 肠道 Gut; Fb: 脂肪体 Fat body; Le: 足 Leg; He: 头 Head; Th: 胸 Thorax; In: 体壁 Integument. 图中数据为平均值 $\pm$ 标准误; 柱上不同小写字母表示不同发育阶段或不同组织间基因表达量差异显著 ($P < 0.05$, Tukey 氏 HSD)。Data in the figure are mean $\pm$ SE. Different letters above bars indicate significant difference in the gene expression level among different developmental stages or in different tissues ($P < 0.05$, Tukey's HSD).

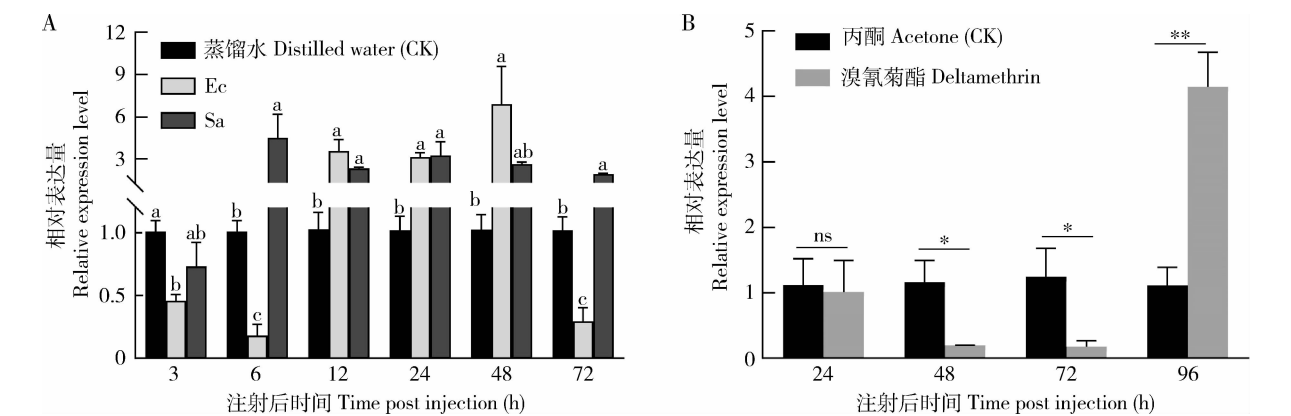


图3 大肠杆菌(Ec)和金黄色葡萄球菌(Sa)(A)和溴氰菊酯(B)胁迫下樱桃红蟑螂4龄若虫中 *SIDros* 的表达量
Fig. 3 Expression levels of *SIDros* in the 4th instar nymph of *Shelfordella lateralis* the under the stress of *Escherichia coli* (Ec) and *Staphylococcus aureus* (Sa) (A) and deltamethrin (B)

图中数据为平均值 $\pm$ 标准误; 柱上不同小写字母表示不同处理时间间基因表达量差异显著 ($P < 0.05$, Tukey 氏 HSD); 柱上符号代表与对照组比较的差异显著性 (ns: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$) (t 检验)。Data in the figure are mean $\pm$ SE. Different lowercase letters above bars indicate significant difference in the gene expression level among different treatment time ($P < 0.05$, Tukey's HSD). Significant differences compared with the control are indicated by symbols above bars (ns: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$) (t -test).

3 讨论

Drosomycin 最早是从黑腹果蝇的中发现的第一个抗真菌肽 (Fehlbaum *et al.*, 1994), 其结构包含 α -螺旋和 β -折叠。在本研究中, 通过已公布的樱桃红蟑螂转录组数据库, 并通过 RT-PCR 验证, 最终获得

了 1 个 *Drosomycin* 基因。其蛋白质三级结构和已知的黑腹果蝇 *Drosomycin* 的蛋白质三级结构 (Landon *et al.*, 1997) 十分相似, 同样具有 α -螺旋和 β -折叠。尽管现在关于 *Drosomycin* 基因的报道仍然主要集中在果蝇中, 但是通过 NCBI 数据库检索发现, 有 21 个德国小蠊 *Drosomycin* 蛋白序列被登记。虽然德国小蠊的这些序列都是通过基因组鉴定得到的, 并

没有得到验证,但这些序列也足以证明在德国小蠊中是存在 *Drosomycin* 基因的。另外,在鞘翅目和膜翅目中也有少数种类在 NCBI 数据库中公布了 *Drosomycin* 基因 (图 1)。这些结果表明, *Drosomycin* 基因可能在更多的昆虫中存在。但是这些基因的功能和果蝇中目前报道的 *Drosomycin* 基因是否一致还有待进一步研究。

进一步研究发现, *SlDros* 在不同发育阶段中都有表达 (图 2),但是在羽化后 6 d 的雄成虫中表达量最高。在黑腹果蝇的研究中发现, *Drosomycin* 家族基因具有发育阶段特异性的表达模式,如 7 个 *Drosomycin* 在卵中均无表达,而在蛹中仅检测到 *Drosomycin* 和 *Drosomycin-2* 有表达, *Drosomycin* 和 *Drosomycin-2*, *Drosomycin-3*, *Drosomycin-4* 和 *Drosomycin-5* 在幼虫和成虫中均有表达 (Tian *et al.*, 2008)。这些发育阶段特异性表达的 *Drosomycin*,可能在昆虫特定的生长发育阶段扮演着重要的角色,但具体的功能还有待进一步研究。另外,在果蝇的研究中发现,脂肪体在免疫反应过程中能够合成 *Drosomycin*,并将其分泌到血淋巴中 (Tzou *et al.*, 2000)。然而,在果蝇的研究中发现, *Drosomycin* 也可以在与外部环境直接接触的各种上皮组织中表达 (Ferrandon *et al.*, 1998; Tzou *et al.*, 2000)。在本研究中也发现了类似的结果, *SlDros* 在樱桃红蟑螂的头部、胸部和体壁均具有较高的转录水平。这些组织部位均是能够与外界直接接触,而 *Drosomycin* 作为一种重要的抗真菌肽,在表皮等组织中的大量表达将有助于昆虫抵御外界真菌对虫体的入侵。

Drosomycin 作为一种重要的抗真菌肽,能够被真菌诱导表达,但也有研究发现,细菌胁迫也能够诱导其表达。在黑腹果蝇研究中发现,以大肠杆菌或金黄色葡萄球菌处理成虫 3–48 h 后能够显著诱导 *Dro2*, *Dro3*, *Dro4*, *Dro5* 的转录水平 (Deng *et al.*, 2009);在本研究中也发现 (图 3: A),对樱桃红蟑螂 4 龄若虫注射大肠杆菌和金黄色葡萄球菌后 6–12 h, *SlDros* 表达量显著高于对照组。这些结果表明, *Drosomycin* 是能够被细菌诱导表达。并且在一些研究中也发现, *Drosomycin* 同样具有抗革兰氏阴性菌的作用 (Fehlbaum *et al.*, 1994; Buchon *et al.*, 2009; Zhang and Zhu, 2009)。虽然在本研究中已经发现 *SlDros* 能够在大肠杆菌胁迫下显著高表达,但其是否同样也能够抗革兰氏阴性菌中表现出显著的抑制作用还需要进一步研究。在另外的研究中也发现,杀虫剂作为环境中常见的非生物胁迫因子,

同样可以通过影响昆虫的免疫来调节抗菌肽的表达 (林珠凤等, 2017)。例如:以吡虫啉 (LD_{50}) 处理东亚飞蝗 *Locusta migratoria* 后, *Defensin-1* 的转录水平相对于对照组上调了 5.17 倍 (高洪礼, 2016)。意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 在氟啶虫胺胍 (LD_{50}) 处理下,其体内 *Defensin* 的表达量被显著上调 (王安然, 2020)。在本研究中也发现了类似的发现 (图 3: B),溴氰菊酯胁迫能显著诱导樱桃红蟑螂 *SlDros* 的表达。这些研究结果表明,杀虫剂能够在一定条件下诱导昆虫抗菌肽的表达,从而激活昆虫的体液免疫。

总之,本研究通过樱桃红蟑螂的转录组数据鉴定到了一个 *Drosomycin* 基因,将其命名为 *SlDros*,并对其在大肠杆菌、金黄色球菌和溴氰菊酯诱导下的表达进行研究。结果表明大肠杆菌、金黄色球菌以及溴氰菊酯胁迫均能够诱导 *SlDros* 的表达,但不同诱导条件下的最佳诱导时间不同。该研究结果可为进一步研究樱桃红蟑螂体内抗菌肽的功能及其进一步开发新型抗菌药物打下基础。

参考文献 (References)

Buchon N, Broderick NA, Poidevin M, Pradervand S, Lemaitre B, 2009. *Drosophila* intestinal response to bacterial infection: Activation of host defense and stem cell proliferation. *Cell Host Microbe*, 5(2): 200–211.

Cai HX, Zhao SJ, Zhao CL, Qi XF, Sun J, Ma PZ, 2022. Retrospective analysis of clinical application of Xinmailong injection. *Chin. Tradit. Pat. Med.*, 44(3): 1032–1035. [蔡海霞, 赵淑娟, 赵成龙, 祁献芳, 孙俊, 马培志, 2022. 心脉隆注射液临床应用的回顾性分析. *中成药*, 44(3): 1032–1035]

Chen Y, Xiong R, Liu SS, Wang WK, Zhou Q, 2023. Antimicrobial peptide induction and activity detection of black soldier fly. *Neijiang Technol.*, 44(8): 49–50, 43. [陈燕, 熊尧, 刘莎莎, 王伟康, 周琪, 2023. 黑水虻抗菌肽诱导以及活性检测. *内江科技*, 44(8): 49–50, 43]

Chiu H, Ring BC, Sorrentino RP, Kalamaz M, Garza D, Govind S, 2005. dUbc9 negatively regulates the Toll-NF-kappa B pathways in larval hematopoiesis and drosomycin activation in *Drosophila*. *Dev. Biol.*, 288(1): 60–72.

De Gregorio E, Spellman PT, Rubin GM, Lemaitre B, 2001. Genome-wide analysis of the *Drosophila* immune response by using oligonucleotide microarrays. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98(22): 12590–12595.

Deng XJ, Yang WY, Huang YD, Cao Y, Wen SY, Xia QY, Xu PL, 2009. Gene expression divergence and evolutionary analysis of the drosomycin gene family in *Drosophila melanogaster*. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2009: 315423.

Duan XT, Li HY, Zhang R, Wang XL, 2023. Progress of insect

antimicrobial peptides. *J. Shenyang Pharm. Univ.*, 40(10): 1401 – 1408. [段旭彤, 李浩杨, 张嵘, 王夏璐, 2023. 昆虫抗菌肽的研究进展. 沈阳药科大学学报, 40(10): 1401 – 1408]

Fehlbaum P, Bulet P, Michaut L, Lagueux M, Broekaert WF, Hetru C, Hoffmann JA, 1994. Insect immunity. Septic injury of *Drosophila* induces the synthesis of a potent antifungal peptide with sequence homology to plant antifungal peptides. *J. Biol. Chem.*, 269(52): 33159 – 33163.

Ferrandon D, Jung AC, Crique M, Lemaitre B, Uttenweiler-Joseph S, Michaut L, Reichhart J, Hoffmann JA, 1998. A drosomycin-GFP reporter transgene reveals a local immune response in *Drosophila* that is not dependent on the Toll pathway. *EMBO J.*, 17(5): 1217 – 1227.

Gao HL, 2016. Effects of Imidacloprid Treatment on Gene Expression Related to Detoxification and Defense in *Locusta migratoria*. MSc Thesis, Nanjing Agricultural University, Nanjing. [高洪礼, 2016. 吡虫啉处理对东亚飞蝗解毒和防卫基因表达的影响. 南京: 南京农业大学硕士学位论文]

Landon C, Sodano P, Hetru C, Hoffmann J, Ptak M, 1997. Solution structure of drosomycin, the first inducible antifungal protein from insects. *Protein Sci.*, 6(9): 1878 – 1884.

Liang GZ, Ruan SM, He YM, Yang HL, 2023. Prospects of antimicrobial peptides as immunomodulators in the treatment of bacterial infections. *J. Kunming Med. Univ.*, 44(10): 189 – 195. [梁国柱, 阮诗娟, 何艳梅, 杨海龙, 2023. 抗菌肽作为免疫调节剂治疗细菌感染的潜力. 昆明医科大学学报, 44(10): 189 – 195]

Lin ZF, Ji XC, Liang YP, Zhao HY, Chen HY, 2017. Research advances on sub-lethal dose of insecticides and insect immune response. *J. Trop. Biol.*, 8(4): 482 – 487, 494. [林珠凤, 吉训聪, 梁延坡, 赵海燕, 陈海燕, 2017. 亚致死剂量杀虫剂与昆虫免疫反应的研究进展. 热带生物学报, 8(4): 482 – 487, 494]

Liu S, Shao MY, Miao ZM, Huang RR, Mu YC, Lai Y, 2020. Effect of Ganlong Capsule on HBV transfected HepG2. 2. 15 cells and its mechanism. *Lishizhen Med. Materia Medica Res.*, 31(12): 2877 – 2880. [刘姗, 邵明园, 缪志敏, 黄茹润, 母育成, 赖泳, 2020. 肝龙胶囊对 HBV 转染的 HepG2. 2. 15 细胞的作用及其机制. 时珍国医国药, 31(12): 2877 – 2880]

Liu WW, Hou YJ, Xu HX, 2017. Clinical observation of Kangfuxin solution after perianal abscess operation. *Henan J. Surg.*, 23(4): 101 – 102. [刘伟伟, 侯亚静, 徐宏霞, 2017. 肛周脓肿术后应用康复新液的临床疗效观察. 河南外科学杂志, 23(4): 101 – 102]

Liu XL, Dong YL, Zotte D, Fu CY, Zhang H, Shi TH, Li X, Wei XF, Liu RT, Yan PP, 2024. Study on induction, isolation and antibacterial activity of antibacterial peptides from *Tenebrio molitor*. *J. Anhui Agric. Sci.*, 52(6): 86 – 90, 273. [刘雪兰, 董以雷, Zotte D, 伏春燕, 张亨, 石天虹, 李霞, 魏祥法, 刘瑞亭, 阎佩佩, 2024. 黄粉虫抗菌肽的诱导·分离及其抗菌活性研究. 安徽农业科学, 52(6): 86 – 90, 273]

Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} method. *Methods*, 25(4): 402 – 408.

Ren XD, 2012. Over-expression of *Drosomycin* Gene from *Drosophila melanogaster* in Plants Enhances Diseases Resistance. MSc Thesis, Southwest University, Chongqing. [任小东, 2012. 超量表达果蝇 *Drosomycin* 基因提高植株的抗病能力. 重庆: 西南大学硕士学位论文]

Tian CH, Gao B, Rodriguez MD, Lanz-Mendoza H, Ma B, Zhu SY, 2008. Gene expression, antiparasitic activity, and functional evolution of the drosomycin family. *Mol. Immunol.*, 45(15): 3909 – 3916.

Tian CE, Gao J, Shen YM, Liu B, Ma XY, Li LM, Chen SM, Geng FN, 2024. Anti-inflammatory effect of the extract of fresh *Periplaneta americana*. *Pharmacol. Clin. Chin. Mater. Med.*, 40(8): 60 – 64. [田朝娥, 高洁, 沈咏梅, 刘彬, 马秀英, 李利民, 陈思敏, 耿福能, 2024. 美洲大蠊鲜虫提取物的抗炎作用研究. 中药药理与临床, 40(8): 60 – 64]

Tummanapalli SS, Willcox MD, 2021. Antimicrobial resistance of ocular microbes and the role of antimicrobial peptides. *Clin. Exp. Optom.*, 104(3): 295 – 307.

Tzou P, Ohresser S, Ferrandon D, Capovilla M, Reichhart JM, Lemaitre B, Hoffmann JA, Imler JL, 2000. Tissue-specific inducible expression of antimicrobial peptide genes in *Drosophila* surface epithelia. *Immunity*, 13(5): 737 – 748.

Wang AR, 2020. Effects of Sulfoxafloer on the Health of Worker Bees and the Quality of Reared Queens in Honeybee (*Apis mellifera ligustica*). MSc Thesis, Anhui Agricultural University, Hefei. [王安然, 2020. 氟啟虫胺腈对意大利蜜蜂工蜂健康和蜂王培育质量的影响. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文]

Wang YS, Tian XL, Xiao Y, Zhang J, Liang K, Huang HX, Deng XJ, 2023. Upregulation of CecropinB6 expression was triggered by 20E in silkworm, *Bombyx mori*. *J. Environ. Entomol.*, 45(5): 1306 – 1317. [王禹生, 田小利, 肖阳, 张杰, 梁宽, 黄浩贤, 邓小娟, 2023. 20E 诱导家蚕抗菌肽 CecropinB6 的上调表达. 环境昆虫学报, 45(5): 1306 – 1317]

Wang GS, Li X, Wang Z, 2016. APD3: The antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic Acids Res.*, 44(D1): D1087 – D1093.

Xu XY, Xia Q, 2020. Progress in immunomodulatory effects and their mechanisms of insect antimicrobial peptides. *J. Med. Postgrad.*, 33(7): 771 – 776. [许晓燕, 夏婧, 2020. 昆虫抗菌肽免疫调控作用及机制研究进展. 医学研究生学报, 33(7): 771 – 776]

Yang Y, Li Y, Wang XF, Wang L, Jiao LY, 2021. Antimicrobial peptides and their applications in food storage and preservation. *J. Food Sci. Biotechnol.*, 40(4): 9 – 16. [杨悦, 李燕, 王小方, 汪磊, 焦路阳, 2021. 抗菌肽及其在食物储藏与保鲜中的应用. 食品与生物技术学报, 40(4): 9 – 16]

Yi HY, Chowdhury M, Huang YD, Yu XQ, 2014. Insect antimicrobial peptides and their applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 98(13): 5807 – 5822.

Yin XP, Liu G, Bai C, Zhang ZG, Yue QY, 2020. First record of *Shelfordella lateralis* in Alashankou, China. *Acta Parasitol. Med. Entomol. Sin.*, 27(2): 117 – 120. [尹小平, 刘戈, 白岑, 张兆

冠, 岳巧云, 2020. 侧缘余氏蠨在中国阿拉山口的首次发现. 寄生虫与医学昆虫学报, 27(2): 117 – 120]

Yuan WN, Wei YH, Guo JG, Liu YY, Zhang MJ, Guo ZJ, 2024. Effects of Bt induced immune sensitization on cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) in relation to the cecropin (*HacD*) expression. *Plant Prot.*, 50(4): 161 – 167. [袁伟宁, 魏玉红, 郭建国, 刘月英, 张美娇, 郭致杰, 2024. Bt 对棉铃虫天蚕素抗菌肽基因(*HacD*)转录的影响. 植物保护, 50(4): 161 – 167]

Zhang JS, Zhu YF, Nan JD, Chen GW, Hao CH, Jia B, Zhang B, Zhang GH, 2024. Research progress of mechanism of action of antimicrobial peptides and their application in broiler production. *Guangdong Feed.*, 33(7): 34 – 36. [张建胜, 朱元芳, 南景东, 陈国旺, 郝彩虹, 贾斌, 张备, 张国华, 2024. 抗菌肽作用机制及在肉鸡生产中的应用研究进展. 广东饲料, 33(7): 34 – 36]

Zhang R, Xu LJ, Dong CM, 2022. Antimicrobial peptides: An overview of their structure, function and mechanism of action. *Protein Pept. Lett.*, 29(8): 641 – 650.

Zhang ZT, Zhu SY, 2009. Drosomycin, an essential component of antifungal defence in *Drosophila*. *Insect Mol. Biol.*, 18(5): 549 – 556.

(责任编辑: 马丽萍)