

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.202206008



# 桃蚜关键抗性基因挖掘及 抗蚜 Cry 蛋白预测

瞿贵军, 林毅

(华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 为了挖掘桃蚜(*Myzus persicae*)的关键抗性基因并构建抗性调控网络,通过加权基因共表达网络分析(WGCNA)和差异表达基因分析(DEGs)对桃蚜抗性研究的 GEO 数据库进行分析,筛选出 2 426 个枢纽基因和 2 263 个差异表达基因探针.将关键抗性基因在 String 数据库中进行蛋白质相互作用(PPI)分析,获得 154 个桃蚜关键抗性基因,并绘制桃蚜的抗性调控网络.结果表明:*acpp* 基因的上调表达可能是大多数 Cry 蛋白不能有效杀死桃蚜的原因之一;参考抗蚜 Cry1Cb2 蛋白和 11 个靶标蛋白的对接规则,通过同源建模和分子对接等生物信息学技术,预测了 10 个新的 Cry 蛋白可能对桃蚜具有杀虫活性.

**关键词:** Cry 蛋白; 桃蚜; 生物信息学; 抗性基因

中图分类号: R 318.04

文献标志码: A

文章编号: 1000-5013(2023)01-0094-10

## Discovery of Key Resistance Genes of *Myzus persicae* and Prediction of Anti-Aphid Cry Proteins

QU Guijun, LIN Yi

(College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021)

**Abstract:** In order to discover the key resistance genes of the peach aphid (*Myzus persicae*) and construct the resistance control network, the GEO database of the resistance study of the *Myzus persicae* was analyzed by weighted gene coexpression network analysis (WGCNA) and differentially expressed genes analysis (DEGs), and 2 426 hub genes and 2 263 differentially expressed gene probes were screened. The key resistance genes were analyzed by protein-protein interaction (PPI) in the String database, then 154 key resistance genes of *Myzus persicae* were obtained, and the resistance control network of *Myzus persicae* was drawn. The results showed that the upregulation of *acpp* gene might be one of the reasons that most Cry proteins could not effectively kill the *Myzus persicae*. Referring to the docking rules of the anti-aphid Cry1Cb2 proteins and 11 target proteins, 10 new Cry proteins were predicted to have insecticidal activity against *Myzus persicae* through bioinformatics techniques such as homology modeling and molecular docking.

**Keywords:** Cry proteins; *Myzus persicae*; bioinformatics; resistance gene

桃蚜(*Myzus persicae*)的寄主植物多达 50 多科 400 余种,桃蚜主要以果树、蔬菜、烟草、花卉等数百种植物为食,是世界性的重要经济害虫之一<sup>[1]</sup>,也是世界传播病毒昆虫之首<sup>[2]</sup>.桃蚜的次级共生菌主要是保护其宿主免受病原体和天敌的侵害,增强对杀虫剂的抗性、新陈代谢和生物合成等<sup>[3]</sup>.桃蚜的

收稿日期: 2022-06-08

通信作者: 林毅(1976-),男,教授,博士,博士生导师,主要从事苏云金芽孢杆菌与昆虫之间的分子互作研究. E-mail: lyhxm@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31772227); 国家重点研发计划项目(2017YFD0201201)

生命周期复杂,目前主要通过化学杀虫剂杀桃蚜,但桃蚜对使用过的杀虫剂都能产生不同程度的耐药性,具有很强的遗传变异性和适应性<sup>[4]</sup>.目前,桃蚜在抗性克隆中通过细胞色素 P450(P450)和 UDP 葡萄糖醛酸转移酶(UGT)高度上调表达<sup>[5]</sup>.环境友好型生物农药 Cry 蛋白已被国际抗性行动委员会(IRAC)分类方案收录,作为杀虫剂活性成分<sup>[6]</sup>,在生物农药研发中,Cry41-related 蛋白可通过增强组织蛋白酶 B 活性杀死桃蚜<sup>[7]</sup>,而 Cry1Cb2 蛋白也有望成为一种有前途的抗蚜蛋白<sup>[8]</sup>.

近年来,在基因挖掘和调控机制等方面的研究中,加权基因共表达网络分析(WGCNA)<sup>[9]</sup>、差异表达基因分析(DEGs)<sup>[10]</sup>、GO/KEGG 富集分析、蛋白质互作网络分析(PPI)等综合生物信息技术分析取得了许多研究成果. He 等<sup>[11]</sup>通过 WGCNA 揭示昆虫真菌病原体的各种不利胁迫适应性响应的基因和信号通路. Li 等<sup>[12]</sup>通过差异表达基因分析,为评估传毒和非传毒桃蚜对植物病毒的反应机制提供依据. Chin 等<sup>[13]</sup>使用 Cytoscape 软件中的 CytoHubba 插件,根据网络特征对网络中的节点进行排名. 基于此,本文对 GSE18659,GSE37310 等 2 个 GEO 数据(16 个样本)<sup>[14-15]</sup>采用 WGCNA,DEGs,PPI,同源建模及 Z-dock 分子对接等生物信息技术进行桃蚜关键抗性基因的挖掘及抗蚜 Cry 蛋白预测.

# 1 材料与方法

## 1.1 基因芯片的重注释

在 NCBI 网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)下载桃蚜的基因芯片 GPL9470 探针序列文件和 G0061.0 版基因组注释文件,采用序列比对工具 SeqMap(<http://soft.sangerbox.com>)和基因注释工具,通过序列比对的方式,将基因组重新比对到探针序列上,从而获得最新的基因编号和注释.

## 1.2 关键抗性基因的挖掘

首先,采用加权基因共表达网络分析,在 Sangerbox 网站(<http://sangerbox.com/Too>)上对桃蚜抗性研究的 GSE18659,GSE37310 等 2 个 GEO 数据(16 个样本)进行在线分析,离群样本阈值设定为 0.00,共表达网络类型选择 unsign,hub 相关性阈值设定为 0.9,网络权重阈值设定为 0.00,模块最小基因数设定为 20.00,模块合并阈值设定为 0.25,敏感性(1~4)设定为 2.00,软阈值设定为 0.00,获得关键抗性基因文件和基因互作文件.

然后,采用 Cytoscape 软件的 Cytohubba 插件,对已用 R 语言筛选出 weight 值大于 0.48 的基因互作文件进行打分,通过 MCC 算法和 Degree 算法,得到两种算法各前 10 名基因探针对应的基因.

最后,通过 GEO 数据库自带基于 limma 包 R 语言的 GEO2R 工具,对 GSE18659 进行差异表达基因分析,根据校正后的  $P$  值  $P_{adj} < 0.05$ ,差异倍数  $|\log FC| > 1$ ,筛选出差异表达的关键抗性基因.在 DAVID 网站(<https://david.ncifcrf.gov>)选择桃蚜研究的模式生物豌豆蚜 *Buchnera aphidicola* str. APS (*Acyrtosiphon pisum*)生物体进行在线分析,获得 GO/KEGG 富集分析数据.

## 1.3 抗性调控网络的构建

将挖掘到的关键抗性基因通过 String 数据库(<https://string-db.org>)构建抗性调控网络.将模式生物豌豆蚜 (*Acyrtosiphon pisum*)的蛋白质互作数据(String 数据库)与桃蚜数据(Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org>)))进行合并,在豌豆蚜中去掉与桃蚜名称相同的蛋白,再与 WGCNA 和 DEGs 获得的桃蚜关键抗性基因进行名称比对,根据与关键基因描述名称是一致的原则进行筛选,获得蛋白质互作网络分析所需的蛋白名.

在 String 数据库中进行蛋白质互作分析时,分别选择桃蚜共生菌 *Buchnera aphidicola* str. USDA (*Myzus persicae*)生物体和豌豆蚜 (*Acyrtosiphon pisum*)生物体,通过桃蚜和豌豆蚜的相同蛋白名互换基因名实现两个调控网络串联,合并绘制桃蚜抗性调控网络.同时,通过 NCBI 网站提供的 blastx 工具,将前期 WGCNA 和 DEGs 得到的关键抗性基因序列转化为蛋白序列,在 String 数据库选择桃蚜共生菌 *Buchnera aphidicola* str. USDA (*Myzus persicae*)生物体进行蛋白质互作分析.将经 Multiple proteins 和 Multiple sequences 检索策略得到的蛋白互作数据合并,得到 string\_interactions. tsv 文件.最后,采用 Cytoscape 软件打开该数据重新绘制,获得桃蚜抗性调控网络图;采用基迪奥生物云工具(<https://www.omicsshare.com>)绘制抗性调控权重网络图,连通性方法选择硬阈值,权重范围选择默认值(0.5~1.0).

### 1.4 关键靶标蛋白库的构建

首先,在桃蚜抗性调控网络中筛选出 DEGs 中上调表达的关键基因.

然后,通过 Cytoscape 软件的 ClueGO,CluePedia 插件,选择模式生物豌豆蚜生物体对桃蚜关键抗性基因进行分析,得到值得关注的蛋白.

最后,整合蛋白互作数据的分析结论,绘制 Cry 蛋白杀桃蚜的靶标蛋白调控网络.采用 NCBI 网站的 Blastp 工具,在 UniProt 网站输入靶标蛋白名或登录号,得到同源序列.利用 Swiss-MODEL 网站 (<https://swissmodel.expasy.org>)进行同源建模,选择“Experimental Structures”的 Range 覆盖率最高或“Homology model”的 QMEANDisCo 分数最高,确定靶标蛋白库的分子对接实验模型.

### 1.5 Cry 抗蚜蛋白的预测

在 Molprobitry 网站(<http://molprobitry.biochem.duke.edu/index.php>)对同源建模的 3D 模型结果进行评估,在 Z-dock 网站(<https://zdock.umassmed.edu>)将评估合格的靶标蛋白与 Cry 蛋白的 3D 结构进行在线分子对接,所有参数设置为默认值,将实验结果文件导入 PyMol 软件进行观察,并与参考组进行对比.

## 2 实验结果与分析

### 2.1 桃蚜关键抗性基因的挖掘

通过 Cytohubba 插件得到 MCC 算法和 Degree 算法的前 10 个关键抗性基因探针,结果如表 1 所示.由表 1 可知:MCC 算法的第 3 位探针与 Degree 算法的第 5 位探针相同;MCC 算法的第 7 位探针与 Degree 算法的第 2 位探针相同;MCC 算法的第 10 位探针与 Degree 算法的第 10 位探针相同,且均为未注释的基因及蛋白;Degree 算法的第 8 位探针是腺苷三磷酸(ATP)依赖性蛋白 The DEAD-box RNA helicase.

表 1 MCC 算法和 Degree 算法的前 10 个关键抗性基因探针  
Tab.1 Top 10 key resistance gene probes of MCC algorithm and Degree algorithm

位次	MCC 算法		Degree 算法	
	探针	描述	探针	描述
1	M_persicae1234b	14-3-3zeta	M_persicae1119b	Aspartyl-tRNA synthetase
2	M_persicae7159a	aspartate aminotransferase	M_persicae9621a	uncharacterized LOC111039979
3	M_persicae245a	mevalonate kinase	M_persicae6240a	Rtnl1
4	M_persicae8195a	small integral membrane protein	M_persicae2725b	T-complex protein 1 subunit epsilon (Chaperonin 5)
5	M_persicae8244a	transitional endoplasmic reticulum ATPase TER94	M_persicae245a	mevalonate kinase
6	M_persicae3138a	26S proteasome regulatory subunit 8	M_persicae2263a	ADP-ribosylation factor GTPase-activating protein 1
7	M_persicae9621a	uncharacterized LOC111039979	M_persicae8110a	lethal (1) G0334
8	M_persicae9205a	similar to testis enhanced gene transcript	M_persicae1355b	similar to probable ATP-dependent RNA helicase DDX52 (DEAD box protein 52) (ATP-dependent RNA helicase ROK1-like)
9	M_persicae5714a	Myzus persicae multiple inositol polyphosphate phosphatase 1-like	M_persicae5197a	Rab-protein 11
10	M_persicae9142a	unknown protein	M_persicae9142a	unknown protein

通过加权基因共表达网络分析,可得 26 个基因共表达模块,将基因探针通过 Gene symbol 去重后,得到 2 426 个枢纽基因.抗性蛋白在模块中的分布情况,如表 2 所示.

由表 2 可知:细胞色素 P450、UDP 葡萄糖醛酸转移酶、羧酸酯酶 (CarE) 和谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 主要集中于 plum1,blue,cyan,brown 等 4 个基因共表达模块.

表 2 抗性蛋白在模块中的分布情况  
Tab. 2 Distribution of resistance proteins in modules

抗性蛋白	模块	探针
细胞色素 P450	plum1	M_persicae694b
		M_persicae6994a
		M_persicae2519a
		M_persicae7556a
	ivory	M_persicae4853a
	lavenderblush3	M_persicae4394a
	blue	M_persicae9053a
羧酸酯酶	brown	M_persicae5520a
		M_persicae720a
		M_persicae9215a
	cyan	M_persicae720b
UDP 葡萄糖醛酸转移酶	cyan	M_persicae4733a
		M_persicae8414a
		M_persicae3328b
		M_persicae8081a
	blue	M_persicae3328a
谷胱甘肽 S-转移酶	cyan	M_persicae8414a
		M_persicae1441b
		M_persicae1196a
		M_persicae4744a

模块特征向量聚类分析图,如图 1 所示. 由图 1 及相关分析可知:plum1 与 brown 模块呈正相关,与 blue,brown 等模块均呈负相关,blue 模块与 cyan 模块呈高度正相关,P450 与 CarE 在某些情况下可能存在协同表达,UGT 与 GST 则存在协同表达;在 cyan 模块中发现了 Cathepsin B;在 blue 模块中发现了 The DEAD-box RNA helicase 52, The DEAD-box RNA helicase, activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 1, Hsp60 protein, Heat shock protein cognate 4, ATP-dependent 6-phospho-fructokinase (PFKA) 和 6-phosphofructo-2-kinase 等;在 brown 模块中发现了 ATP-binding cassette sub-family, heat shock 70 kDa protein 4 和 heat shock 70 kDa protein 3.

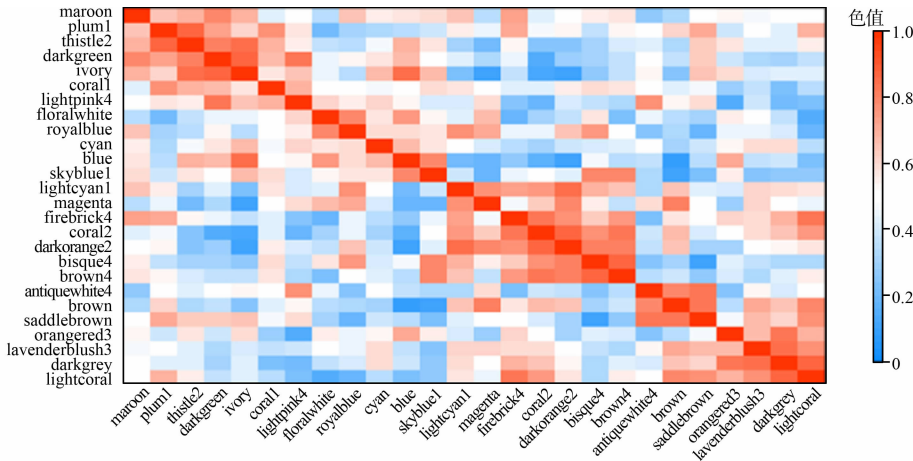


图 1 模块特征向量聚类分析图  
Fig. 1 Cluster analysis diagram of module feature vectors

在差异表达基因分析中,共筛选出 2 263 个差异表达基因探针;在 114 个上调表达基因中发现了 P450,CarE 和 GST, Hsp60 protein, Hsp83 protein(与分子伴侣 Hsp90 同源), The DEAD-box RNA helicase 52 (DDX52),Cathepsin B,6-phosphofructo-2-kinase. 对 DEGs 上调表达的关键基因与 WGC-NA 的关键枢纽基因取交集,以“Gene description”为基准去重,共获得 558 个关键抗性基因.

2.2 关键抗性基因的 GO/KEGG 富集分析

在 DAVID 网站选择模式豌豆蚜共生菌 *Buchnera aphidicola* str. APS (*Acyrtosiphon pisum*) 生物体进行在线分析,获得 GO/KEGG 富集分析的数据. 与桃蚜共生菌相关的关键抗性基因 GO 富集分析,如表 3 所示. 表 3 中: $n$  为基因数; $\eta$  为基因占比. 由表 3 可知:成功转化了 58 个关键抗性基因,在生物学过程中,关键抗性基因参与细胞氧化还原稳态和糖酵解过程;在细胞定位中,关键抗性基因富集于细胞质;从分子功能上看,关键抗性基因具有使 ATP 结合、氨基酰基 tRNA 编辑活性和核酸结合的作用. 由于这些关键抗性基因与桃蚜抗性相关,从基因数和基因占比来看,其主要富集于细胞质和 ATP 结合.

表 3 与桃蚜共生菌相关的关键抗性基因 GO 富集分析

Tab. 3 GO enrichment analysis of key resistance genes associated with symbiotic bacteria of <i>Myzus persicae</i>				
分类	项目	$n$	$\eta/\%$	$P$
生物学过程	细胞氧化还原稳态	3	5.17	0.076 656
	糖酵解过程	4	6.89	0.081 677
细胞定位	细胞质	34	58.62	4.262 173
分子功能	ATP 结合	25	43.10	0.000 088
	氨基酰基 tRNA 编辑活性	3	5.17	0.062 375
	核酸结合	4	6.89	0.066 526

与桃蚜共生菌相关的关键抗性基因 KEGG 富集分析,如表 4 所示. 由表 4 可知:这些关键抗性基因主要富集于氨酰 tRNA 生物合成、碳代谢、不同环境中的微生物代谢、糖酵解/糖异生、RNA 降解、谷胱甘肽代谢、磷酸戊糖途径、柠檬酸循环(TCA 循环)等通路; $pfka$ 、 $eno$  和  $pyka$  等 3 个基因参与碳代谢、微生物代谢和糖酵解/糖异生等 3 个通路,而  $pfka$  和  $eno$  基因也参与 RNA 降解通路.

表 4 与桃蚜共生菌相关的关键抗性基因 KEGG 富集分析

Tab. 4 KEGG enrichment analysis of key resistance genes associated with symbiotic bacteria of <i>Myzus persicae</i>					
项目	$n$	$\eta/\%$	$P$	基因	
氨酰 tRNA 生物合成	14	24.13	0.000 413	$vals, alas, asps, thrs, hiss, gltx, sers, phes, asnc, metg, glns, args, leus, iles$	
碳代谢	9	15.51	0.003 147	$eno, pfka, prsa, gnd, suca, lpda, acee, zwf, pyka$	
谷胱甘肽代谢	4	6.89	0.011 795	$gnd, gsha, gshb, zwf$	
糖酵解/糖异生	5	8.62	0.030 943	$eno, pfka, lpda, acee, pyka$	
RNA 降解	4	6.89	0.040 735	$eno, pfka, dnak, dead$	
不同环境中的微生物代谢	9	15.51	0.057 298	$eno, pfka, prsa, gnd, suca, lpda, acee, zwf, pyka$	
柠檬酸循环(TCA 循环)	3	5.17	0.068 757	$suca, lpda, acee$	
磷酸戊糖途径	4	6.89	0.087 897	$pfka, prsa, gnd, zwf$	

2.3 桃蚜抗性调控网络的构建

桃蚜抗性调控网络,如图 2 所示. 由图 2 可知:桃蚜抗性调控网络共有 154 个基因;最内圈黄色为上调表达的  $acee, dead, dnaj, acpp, actb-348, metk, sped, trxb, ydhd, sda, pyka$  等 11 个基因,这 11 个基因对应的桃蚜蛋白名和豌豆蚜蛋白名是一致的;中间圈为上调表达的基因;最外圈为非上调表达的基因.

2.4 关键靶标蛋白库的构建

上调表达的桃蚜关键抗性蛋白的 PPI 网络,如图 3 所示. 由图 3 可知:在 65 个上调表达的关键抗性基因中, $dead$  直接作用于  $dnak$ .

Cry 蛋白杀桃蚜的关键靶标蛋白,如表 5 所示.

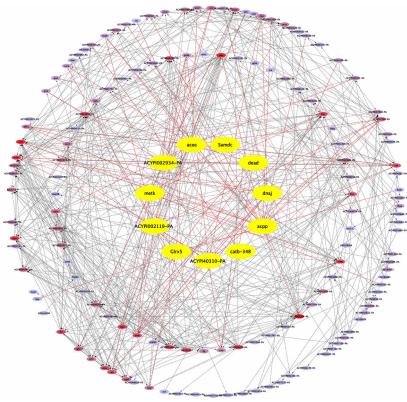


图 2 桃蚜抗性调控网络

Fig. 2 Resistance control network of *Myzus persicae*

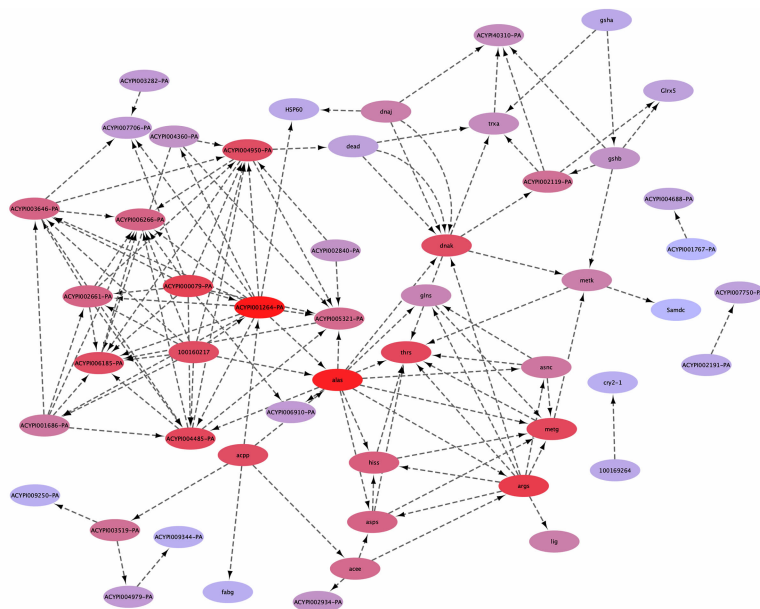


图 3 上调表达的桃蚜关键抗性蛋白互作网络

Fig. 3 PPI network of upregulated key resistance proteins of *Myzus persicae*

表 5 Cry 蛋白杀桃蚜的关键靶标蛋白

Tab. 5 Key target proteins of Cry proteins against *Myzus persicae*

基因	关键靶标蛋白	UniProt 名称
<i>acpp</i>	Acyl carrier protein (ACP)	W0NZU7
<i>eno</i>	Enolase	W0P4H1
<i>pfka</i>	ATP-dependent 6-phosphofructokinase (ATP-PFK)	W0P4T2
<i>dnak</i>	Chaperone protein DnaK (HSP70)	W0P465
<i>dead</i>	ATP-dependent RNA helicase DeaD	W0NZT0
100164879	Autophagy protein	—
<i>acypi006185-pa</i>	Pescadillo	—
<i>catb-348</i>	Cathepsin B	A9JSH3
<i>hsp60</i>	Heat shock protein 60	A0A7D5UL32
100169264	Glutathione S-transferase	—
<i>acypi007750-pa</i>	Actin-related protein	—
<i>acypi009989-pa</i>	Protein CLP1	—
<i>dnaj</i>	Chaperone protein DnaJ	W0P5A6
<i>pyka</i>	Pyruvate kinase	W0P006

对实验用到的 *acpp*, *eno*, *pfka*, *dnak*, *dead*, 100164879, *acypi006185-pa*, *catb-348*, *hsp60*, 100169264, *acypi007750-pa* 等 11 个靶标基因绘制 Cry 蛋白杀桃蚜的靶标蛋白网络, 如图 4 所示. 由图 4 可知: *eno* 和 *acpp* 直接与 *pfka* 互动, *dead* 能直接作用于 *dnak*.

ClueGo 术语/途径网络基因分布视图, 如图 5 所示. 由图 5 可知: 豌豆蚜 *LOC100169264* 是 Glutathione S-transferase D7 蛋白的基因, 它和 Cathepsin B 一同参与相关蛋白降解途径溶酶体, 而 Cathepsin B 蛋白还参与了蛋白降解途径自噬, Glutathione S-transferase 蛋白还参与了氧化磷酸化和吞噬体等途径; 豌豆蚜 *LOC100160371* 是 UDP-glucuronosyltransferase 蛋白的基因, 它和 Glutathione S-transferase 蛋白一同参与了吞噬体途

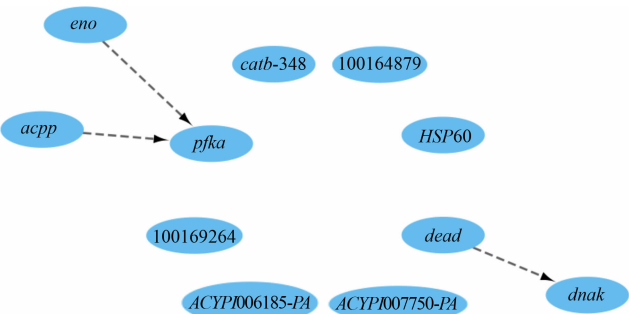


图 4 Cry 蛋白杀桃蚜的靶标蛋白网络

Fig. 4 Target proteins network of Cry proteins against *Myzus persicae*





主免疫反应的酶的激活<sup>[23]</sup>. Ae-ENO 是由胚胎膜分离的细胞产生的,这些细胞和毒液一起在宿主蚜虫的调节和营养开发中发挥重要作用. PFKA 是糖酵解最重要的调节酶,它和 LOC100162014 一同参与了糖酵解/糖异生途径,LOC100162014 是模式生物豌豆蚜几丁质酶样蛋白(CLP)的基因<sup>[24]</sup>. 此外,Cry-related 蛋白能够与桃蚜共生菌 PFKA 结合. DNAK 是豌豆蚜细胞内共生热休克蛋白同系物<sup>[25]</sup>,DNAK 伴侣蛋白也是蚜虫蜜露的蛋白质之一<sup>[26]</sup>,它可能在植物-蚜虫相互作用中充当介质. CshA 是一种二聚体 DEAD-box 解旋酶,可与核糖核酸酶合作进行 mRNA 转换<sup>[27]</sup>. 上调表达的 *acypi006185-pa* 是模式生物豌豆蚜的 Pescadillo homolog 基因,Pescadillo 是一种在恶性细胞中异常表达的细胞周期调节蛋白,在细胞增殖中起着至关重要的作用,并且可能是致癌转化和肿瘤进展所必需的<sup>[28]</sup>,研究发现 DEAD-box 解旋酶 DDX27 可以与 Pes1 特异性相互作用<sup>[29]</sup>. 模式生物豌豆蚜基因 10016879 在 String 数据库注释是自噬蛋白,参与自噬囊泡的形成,比较转录组分析高粱甘蔗桃蚜抗性的遗传机制发现在 SCA 感染后抗性基因型中自噬的基因上调表达<sup>[30]</sup>,另有研究发现,选择性自噬通过 NBR1 介导的病毒衣壳蛋白和颗粒靶向抑制花椰菜花叶病毒侵染,病毒触发的自噬很大程度上独立于 NBR1 的方式,防止受感染植物的广泛衰老和组织死亡,这种生存功能显著延长了病毒生存的时间,从而增加了蚜虫载体和 CaMV 传播获得病毒颗粒的机会<sup>[31]</sup>. Autophagy protein 极有可能参与了桃蚜的抗性作用. *acpp* 是酰基载体蛋白 ACP 的基因,ACP 是一类具有保守的丝氨酸残基的小分子量的酸性蛋白质,它也可作为抗菌剂的靶点<sup>[32]</sup>,参与桃蚜的代谢途径和次级代谢产物的生物合成途径,也有研究发现 delta914:0-酰基载体蛋白脂肪酸去饱和酶基因的表达对于在抗虫天竺葵(*Pelargonium xhortorum*)中发现的 omega 5 漆树酸是必需的<sup>[33]</sup>,参考受到广泛认可的 Bravo 穿孔模型<sup>[34]</sup>,Cry 蛋白由于高 pH 值和还原条件而溶解于中肠腔,并被肠道蛋白酶激活,产生毒素片段,但目前多数 Cry 蛋白杀桃蚜效果并不理想,这也可能与上调表达的桃蚜 *acpp* 基因有关系. ACP 和 PFKA 存在蛋白质互作,而 PFKA 参与了碳代谢、微生物代谢和糖酵解/糖异生等 3 个核心关键通路,也参与了 RNA 降解通路,还和几丁质酶样蛋白一同参与了糖酵解/糖异生途径.

对照参考组与靶标蛋白对接规则,通过 PyMol 软件查看实验组的对接结果可知,Cry1Aa,Cry4Ba,Cry1Ba,Cry5Ba,Cry1Ka,Cry1Bc,Cry1Be,Cry1Bb,Cry1Af,Cry15Aa 等 10 个 Cry 蛋白可能对桃蚜具有杀虫活性.

文中利用综合生物信息学技术对桃蚜的关键抗性基因进行挖掘,并对抗蚜 Cry 蛋白进行预测,为后续的桃蚜关键抗性基因研究及新药研发提供参考思路,具有一定的理论意义和学术意义.

## 参考文献:

- [1] WEBER G. Genetic variability in host plant adaptation of the green peach aphid, *Myzus persicae*[J]. Entomologia Experimentalis et Applicata,1985,38(1):49-56. DOI:10. 1111/j. 1570-7458. 1985. tb03497. x.
- [2] MINKS A K,HARREWIJN P. Aphids: Their biology, natural enemies and control[M]. Amsterdam:Elsevier Science Publishers,1988.
- [3] QIAN Li,JIA Fan,SUN Jingxuan,*et al.* Effect of the secondary symbiont *Hamiltonella defensa* on fitness and relative abundance of *Buchnera aphidicola* of wheat aphid, *Sitobion miscanthi*[J]. Frontiers in Microbiology,2018,9: 582-591. DOI:10. 3389/fmicb. 2018. 00582.
- [4] MARGARITOPOULOS J T,KATI A N,VOUDOURIS C C,*et al.* Long-term studies on the evolution of resistance of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) to insecticides in Greece[J]. Bulletin of Entomological Research,2021, 111(1):1-16. DOI:10. 1017/S0007485320000334.
- [5] PYM A,UMINA P A,REIDY-CROFTS J,*et al.* Overexpression of UDP-glucuronosyltransferase and cytochrome P450 enzymes confers resistance to sulfoxaflo in field populations of the aphid, *Myzus persicae*[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology,2022,143:103743. DOI:10. 1016/j. ibmb. 2022. 103743.
- [6] SPARKS T C,STORER N,PORTER A,*et al.* Insecticide resistance management and industry: The origins and evolution of the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) and the mode of action classification scheme[J]. Pest Management Science,2021,77(6):2609-2619. DOI:10. 1002/ps. 6254.
- [7] ZHAO Xiaodi,ZHANG Binwu,FU Lijun,*et al.* Possible insecticidal mechanism of cry41-related toxin against *Myzus*



- persicae* by enhancing cathepsin B activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(16): 4607-4615. DOI:10.1021/acs.jafc.0c01020.
- [8] TORRES-QUINTERO M C, ARENAS-SOSA I, ZUÑIGA-NAVARRETE F, *et al.* Characterization of insecticidal Cry1Cb2 protein from *Bacillus thuringiensis* toxic to *Myzus persicae* (Sulzer)[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2022, 189: 107731. DOI:10.1016/j.jip.2022.107731.
- [9] ZHANG Bin, HORVATH S. A general framework for weighted gene co-expression network analysis[J]. Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology, 2005, 4(1): 1-45. DOI:10.2202/1544-6115.1128.
- [10] RITCHIE M E, Phipson B, WU Di, *et al.* Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(7): e47. DOI:10.1093/nar/gkv007.
- [11] HE Zhangjiang, ZHAO Xin, LU Zhuoyue, *et al.* Comparative transcriptome and gene co-expression network analysis reveal genes and signaling pathways adaptively responsive to varied adverse stresses in the insect fungal pathogen, *Beauveria bassiana* [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2018, 151: 169-181. DOI:10.1016/j.jip.2017.12.002.
- [12] LI Dandan, ZHANG Chi, TONG Zeqian, *et al.* Transcriptome response comparison between vector and non-vector aphids after feeding on virus-infected wheat plants[J]. BMC Genomics, 2020, 21(1): 1-14. DOI:10.1186/s12864-020-07057-0.
- [13] CHIN C H, CHEN S H, WU H H, *et al.* CytoHubba: Identifying hub objects and sub-networks from complex interactome[J]. BMC Systems Biology, 2014, 8(4): 1-7. DOI:10.1186/1752-0509-8-S4-S11.
- [14] RAMSEY J S, JANDER G. Testing nicotine tolerance in aphids using an artificial diet experiment[J]. Journal of Visualized Experiments, 2008(15): e701. DOI:10.3791/701.
- [15] SILVA A X, JANDER G, SAMANIEGO H, *et al.* Insecticide resistance mechanisms in the green peach aphid *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) I: A transcriptomic survey[J]. Plos One, 2012, 7(6): e36366. DOI:10.1371/journal.pone.0036366.
- [16] CUTLER P, SLATER R, EDMUNDS A J F, *et al.* Investigating the mode of action of sulfoxaflor: A fourth-generation neonicotinoid[J]. Pest Management Science, 2013, 69(5): 607-619. DOI:10.1002/ps.3413.
- [17] PUINEAN A M, FOSTER S P, OLIPHANT L, *et al.* Amplification of a cytochrome P450 gene is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae* [J]. Plos Genetics, 2010, 6(6): e1000999. DOI:10.1371/journal.pgen.1000999.
- [18] NABESHIMA T, KOZAKI T, TOMITA T, *et al.* An amino acid substitution on the second acetylcholinesterase in the pirimicarb-resistant strains of the peach potato aphid, *Myzus persicae* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, 307(1): 15-22. DOI:10.1016/S0006-291X(03)01101-X.
- [19] BASS C, PUINEAN A M, ZIMMER C T, *et al.* The evolution of insecticide resistance in the peach potato aphid, *Myzus persicae* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2014, 51: 41-51. DOI:10.1016/j.ibmb.2014.05.003.
- [20] ELEFThERIANOS I, FOSTER S P, WILLIAMSON M S, *et al.* Characterization of the M918T sodium channel gene mutation associated with strong resistance to pyrethroid insecticides in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer)[J]. Bulletin of Entomological Research, 2008, 98(2): 183-191. DOI:10.1017/S0007485307005524.
- [21] FFRENCH-CONSTANT R H, ANTHONY N, ARONSTEIN K, *et al.* Cyclodiene insecticide resistance: From molecular to population genetics[J]. Annual Review of Entomology, 2000, 45(1): 449-466. DOI:10.1146/annurev.ento.45.1.449.
- [22] GUO Zhaojiang, KANG Shi, ZHU Xun, *et al.* The novel ABC transporter ABCH<sub>1</sub> is a potential target for RNAi-based insect pest control and resistance management[J]. Scientific Reports, 2015, 5(1): 1-14. DOI:10.1038/srep13728.
- [23] FALABELLA P, RIVIELLO L, DE STRADIS M L, *et al.* *Aphidius ervi* teratocytes release an extracellular enolase [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2009, 39(11): 801-813. DOI:10.1016/j.ibmb.2009.09.005.
- [24] BADARIOTTI F, KYPRIOTOU M, LELONG C, *et al.* The phylogenetically conserved molluscan chitinase-like protein 1 (Cg-Clp1), homologue of human HC-gp39, stimulates proliferation and regulates synthesis of extracellular matrix components of mammalian chondrocytes[J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(40): 29583-29596. DOI:10.1074/jbc.M605687200.

- [25] SATO S, ISHIKAWA H. Structure and expression of the *dnaKJ* operon of *Buchnera*, an intracellular symbiotic bacteria of aphid[J]. The Journal of Biochemistry, 1997, 122(1): 41-48. DOI: 10. 1093/oxfordjournals. jbchem. a021738.
- [26] SABRI A, VANDERMOTEN S, LEROY P D, *et al.* Proteomic investigation of aphid honeydew reveals an unexpected diversity of proteins[J]. Plos One, 2013, 8(9): e74656. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0074656.
- [27] HUEN J, LIN C L, GOLZARROSHAN B, *et al.* Structural insights into a unique dimeric DEAD-box helicase CshA that promotes RNA decay[J]. Structure, 2017, 25(3): 469-481. DOI: 10. 1016/j. str. 2017. 01. 012.
- [28] KINOSHITA Y, JARELL A D, FLAMAN J M, *et al.* Pescadillo, a novel cell cycle regulatory protein abnormally expressed in malignant cells[J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9): 6656-6665. DOI: 10. 1074/jbc. M008536200.
- [29] KELLNER M, ROHRMOSER M, FORNÉI, *et al.* DEAD-box helicase DDX27 regulates 3' end formation of ribosomal 47S RNA and stably associates with the PeBoW-complex[J]. Experimental Cell Research, 2015, 334(1): 146-159. DOI: 10. 1016/j. yexcr. 2015. 03. 017.
- [30] SERBA D D, MENG X, SCHNABLE J, *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals genetic mechanisms of sugarcane aphid resistance in grain sorghum[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(13): 7129. DOI: 10. 3390/ijms22137129.
- [31] HAFRÉN A, MACIA J L, LOVE A J, *et al.* Selective autophagy limits cauliflower mosaic virus infection by NBR1-mediated targeting of viral capsid protein and particles[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2017, 114(10): 2026-2035. DOI: 10. 1073/pnas. 1610687114.
- [32] KHANDEKAR S S, DAINES R A, LONSDALE J T. Bacterial  $\beta$ -ketoacyl-acyl carrier protein synthases as targets for antibacterial agents[J]. Current Protein and Peptide Science, 2003, 4(1): 21-29. DOI: 10. 2174/1389203033380377.
- [33] SCHULTZ D J, CAHOON E B, SHANKLIN J, *et al.* Expression of a delta 9 14: 0-acyl carrier protein fatty acid desaturase gene is necessary for the production of omega 5 anacardic acids found in pest-resistant geranium (*Pelargonium xhortorum*)[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1996, 93(16): 8771-8775. DOI: 10. 1073/pnas. 93. 16. 8771.
- [34] PARDO-LOPEZ L, SOBERON M, BRAVO A. *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain Cry toxins: Mode of action, insect resistance and consequences for crop protection[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37(1): 3-22. DOI: 10. 1111/j. 1574-6976. 2012. 00341. x.

(责任编辑: 钱筠 英文审校: 刘源岗)