



周丽贞, 王瑞娟, 邹振, 吕志强. 清道夫受体 *MmSCRA-I* 调控中红侧沟茧蜂发育的作用研究 [J]. 环境昆虫学报, 2018, 40 (6): 1335 - 1342.

清道夫受体 *MmSCRA-I* 调控中红侧沟茧蜂发育的作用研究

周丽贞¹, 王瑞娟¹, 邹振², 吕志强^{1*}

(1. 西北农林科技大学植物保护学院, 陕西杨凌 712100; 2. 中国科学院动物研究所农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101)

摘要: 清道夫受体 (scavenger receptors, SCRs) 是细胞表面的一类跨膜糖蛋白, 参与识别多种病原体。中红侧沟茧蜂 *Micropilits mediator* 有 13 个清道夫受体基因, 为探究其功能, 本文通过系统进化分析, 确定与其他物种进化关系, 并运用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术检测中红侧沟茧蜂不同发育时期 SCRs 基因 mRNA 的表达水平。选取表达水平较高的 A 型清道夫受体 *MmSCRA-I* 基因进行 RNA 干扰。结果表明, 中红侧沟茧蜂蛹期 3 日龄注射 dsRNA 后, *dsSCRA-I* 注射组羽化率显著低于 dsGFP 注射组 ($P < 0.05$), 蛹期 3.5 日龄注射 dsRNA 后, 两组羽化率都升高, 但 *dsSCRA-I* 注射组羽化率仍显著低于 dsGFP 注射组 ($P < 0.05$)。干扰中红侧沟茧蜂 *MmSCRA-I* 基因后, 其羽化率降低, 说明 *MmSCRA-I* 基因在中红侧沟茧蜂蛹期发育过程中起到关键作用。

关键词: 中红侧沟茧蜂; 清道夫受体; *MmSCRA-I* 基因; 羽化率

中图分类号: Q963; S476

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2018) 06-1335-08

Scavenger receptor *MmSCRA-I* regulates the development of endoparasitoid wasps *Micropilits mediator*

ZHOU Li-Zhen¹, WANG Rui-Juan¹, ZOU Zhen², LÜ Zhi-Qiang^{1*} (1. College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China; 2. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: Scavenger receptors (SCRs) are a family of transmembrane glycoproteins that are involved in the recognition of pathogens. Here, we identified and characterized thirteen SCR genes from the endoparasitoid wasp, *Micropilits mediator*. To explore the function of SCRs in the parasitoid wasp, we analyzed the evolutionary relationship with SCRs from other species, used quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR) to analyze transcriptional levels of SCR genes in different developmental stages of *M. mediator*. The expressional level of *MmSCRA-I* gene is higher compared to other *MmSCR* genes. We knock-downed *MmSCRA-I* gene expression using RNA interference. The results showed that eclosion rate of 3-day-old and 3.5-day-old pupa after *MmSCRA-I* gene knockdown were significantly reduced. Altogether, our data demonstrated that *MmSCRA-I* might be involved in the development of *M. mediator*.

Key words: *Micropilits mediator*; scavenger receptors; *MmSCRA-I*; eclosion rate

基金项目: 陕西省科技攻关项目 (2016GYZX17); 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室开放课题 (Chinese IPM1714)

作者简介: 周丽贞, 女, 1989 年生, 河南许昌人, 硕士生, 研究方向为昆虫生物化学与免疫学, E-mail: zlz900620@126.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: zhiqiang.lu@nwsuaf.edu.cn

收稿日期 Received: 2017-12-14; 接受日期 Accepted: 2018-01-11

清道夫受体 (scavenger receptors , SCRs) 是由结构各异、功能多样的跨膜糖蛋白组成的受体超家族。在哺乳动物体内, 按照结构域的不同, 该家族可分为 8 个亚家族, 分别是 Class A、B、C、D、E、F、G 和 H (Means *et al.* , 2010)。清道夫受体可以有效地结合修饰后的低密度脂蛋白, 并激活免疫通路, 从而保护宿主免受病原体的危害 (Zheng *et al.* , 2014)。除此之外, 在类胡萝卜素的代谢和转运、凋亡细胞清除、信号传递和介导一氧化氮合酶 (eNOS) 的活性等方面, 清道夫受体也发挥着不可或缺的作用 (Dong *et al.* , 2015)。

清道夫受体作为一种重要模式识别蛋白 (pattern recognition receptor , PRPs) , 在昆虫天然免疫系统中起重要作用 (Gough and Gordon , 2000; Peiser *et al.* , 2000; Mukhopadhyay and Gordon , 2004)。与哺乳动物不同, 昆虫 SCR 家族包括 A、B 和 C 三种类型, 在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*、冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*、意大利蜜蜂 *Apis mellifera*、家蚕 *Bombyx mori* 等昆虫中已有明确报道。在昆虫中, B 型和 C 型清道夫受体主要参与识别外源病原体, 促进血细胞的吞噬作用, 从而清除病原体 (Rämét *et al.* , 2001; Guillou *et al.* , 2016; Kim *et al.* , 2017) , 而 A 型清道夫受体功能未知。

中红侧沟茧蜂 *Micropilits mediator* 是一种寄主非常广泛的昆虫内寄生蜂, 其寄主涉及鳞翅目夜蛾科和尺蛾科的 40 多种昆虫, 包括棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、粘虫 *Pseudaletia separate* 和甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae* 等重要农业害虫 (李建成等, 2010)。本研究从中红侧沟茧蜂 unigene 数据库得到 13 个清道夫受体基因, 通过系统进化分析, 确定与其他物种的亲缘关系, 并检测在中红侧沟茧蜂不同发育时期 13 个 SCR 基因 mRNA 的表达水平。进一步的 RNA 干扰结果表明, *MmSCRA-1* 基因在中红侧沟茧蜂蛹期发育过程中起到关键作用, 为中红侧沟茧蜂清道夫受体功能的深入研究奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试昆虫

中红侧沟茧蜂饲养于人工气候箱, 温度 $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $65\% \pm 5\%$, 光周期 14L : 10D。羽

化后, 成虫用蘸有 10% 蜂蜜水的棉球进行饲喂。

中红侧沟茧蜂寄主昆虫选用东方粘虫, 饲养环境与中红侧沟茧蜂相同。粘虫幼虫饲喂玉米苗, 成虫饲喂 10% 蜂蜜水。

1.1.2 主要试剂

Tripure Isolation Reagent , First Strand cDNA Synthesis 反转录试剂盒购自 Roche 公司; KAPA SYBR® FAST Universal 实时荧光定量 PCR 试剂盒购自 KAPA BIOSYSTEMS 公司; Gel Extraction PCR 产物回收试剂盒购自 Omega 公司; T7 RiboMAX™ Express RNAi System 试剂盒购自 Promega 公司。

1.1.3 主要仪器

Bioer Life Pro PCR 仪, BG-power 300 电泳仪, UVP 凝胶成像系统, Nanoject 显微注射仪, Hitachi CF16RX 冷冻离心机, Rotor-Gene Q 实时荧光定量 PCR 分析仪。

1.2 实验方法

1.2.1 系统进化分析

用黑腹果蝇、冈比亚按蚊 (Christophides *et al.* , 2002)、意大利蜜蜂 (Evans *et al.* , 2006) 的 SCR 基因序列对中红侧沟茧蜂拼接好的 unigene 进行 BlastX 分析, 共得到 13 个中红侧沟茧蜂 SCR 基因。将中红侧沟茧蜂 SCR 氨基酸序列与黑腹果蝇、家蚕、意大利蜜蜂、冈比亚按蚊、毁侧沟茧蜂 *Microplitis demolitor*、丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis* 和赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 的 SCR 氨基酸序列用 ClustalX 2.0 软件进行多序列比对, 利用 MEGA 6.0 软件选用最大似然法 (Maximum Likelihood , ML) 构建系统进化树, 并用 Treeview 软件展示系统进化树。

1.2.2 基因表达谱分析

不同发育阶段寄生蜂样本的 cDNA 文库的构建和测序由本实验室前期完成。利用 RSEM 软件包, 采用 FPKM 法 (Fragments Per kb per Million fragment) 计算基因的表达量, 将得到的结果用 R 语言 Pheatmap 制作基因表达图谱。

1.2.3 中红侧沟茧蜂发育时期样品收集

将中红侧沟茧蜂雌成虫和 2 龄粘虫幼虫按 1 : 20 比例移至繁蜂箱中, 并在繁蜂箱中悬挂蘸有 10% 蜂蜜水的棉球为寄生蜂成虫补充营养。寄生 3 h 后, 将寄生蜂移出繁蜂箱。分别在寄生后 1、2、5、7 d 解剖被寄生的粘虫, 得到寄生蜂卵、1 龄、2 龄、3 龄幼虫时期样品。在中红侧沟茧蜂蛹期第 3 天, 剖开蛹壳, 获取蛹期样品。在成虫

羽化后第 2 天, 分别收集雌蜂和雄蜂样品。各龄期样品均加入 Tripure, -80°C 保存。

1.2.4 引物设计与合成

根据已得到的中红侧沟茧蜂 13 条 *SCR* 基因序列, 利用 Primer 5.0 设计 RT-PCR 引物, 在 http://www.flymai.org/cgi-bin/RNAi_find_primers.pl 网站设计双链 RNA 合成所用引物, 引物序列见表 1。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 检测

用 Tripure 提取样品总 RNA, 用 First Strand cDNA Synthesis 试剂盒进行反转录得到 cDNA。实时荧光定量 PCR 反应条件如下: 95°C 预变性 10 min; 95°C 变性 15 s, 54°C 退火 15 s, 72°C 延伸 20 s, 40 个循环后, 95°C 10 s, 65°C 至 95°C 5 s。选用 *MmActin-2* 作为内参基因, 所有反应做 3 次重复, 4 次生物学重复。

1.2.6 双链 RNA 的合成

以 cDNA 为模板, 使用带有 T7 启动子序列的引物, 通过 PCR 扩增目的基因片段 (578 bp), 得到的 PCR 产物使用 Gel Extraction 试剂盒进行回收纯化, 作为体外合成 dsRNA 的模板, 按照 T7 RiboMAXTM Express RNAi System 试剂盒说明书进行操作, 合成 dsSCRA-1。通过 pGLO 载体克隆获得 GFP 的 DNA 模板, 按照上述方法合成 dsGFP (100 bp)。

1.2.7 羽化率统计

分别选用蛹期 3 日龄和 3.5 日龄中红侧沟茧蜂, 对照组分为未注射处理组和 dsGFP 注射组, 处理组注射 dsSCRA1, 每组各 20 头蜂茧。注射 dsRNA 的浓度为 $6.0 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, 每只蜂茧注射体积为 207 nL。在注射后 1、2、3 d, 统计中红侧沟茧蜂羽化数量。试验重复 3 次。

1.2.8 数据分析和处理

qRT-PCR 数据采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法进行计算分析, 公式为: $\Delta\Delta\text{Ct} = (\text{Ct}_{\text{目的基因}} - \text{Ct}_{\text{内参基因}})_{\text{处理组}} - (\text{Ct}_{\text{目的基因}} - \text{Ct}_{\text{内参基因}})_{\text{对照组}}$ 。利用 GraphPad Prism 5.0 绘制结果图, 用单因素方差分析法分析基因表达水平差异, 用 Kaplan-Meier 法估计和绘制羽化率曲线, 并用 Log-rank 检验进行组间比较。

2 结果与分析

2.1 系统进化分析

为了明确中红侧沟茧蜂 SCR 与其他物种的进

表 1 定量 PCR 和双链 RNA 合成所用引物

Table 1 Primer sequences for RT-PCR and dsRNA synthesis

基因 Gene	引物 (5'→3') Primer (5'→3')
<i>MmSCRA-1</i>	F: CCATCTACACCTGAGAACAA
	R: CCATCTACACCTGAGAACAA
<i>MmSCRA-2</i>	F: ACCATTACCACTACCACCAAGA
	R: AACCAATACTCCACCTCCAAGT
<i>MmSCRASP-2</i>	F: TGACGAAAGCACTTGAAGC
	R: GAACCCGTCGTCACAGACTT
<i>MmCD36-2</i>	F: ACTGGTGCCTGTATTGACA
	R: GCCGATCTTTACACGCCAAC
<i>MmCD36-3</i>	F: TCCAGCATGTGTACGCACTT
	R: CCGGAGTCCAATCGGTTTGA
<i>MmCD36-4</i>	F: CGTGTACTTGGCGGAGATA
	R: TCATCTTGAGACACACCCGC
<i>MmCD36-5</i>	F: TCAAACCATTGGCTCGCTCT
	R: AGTGCAAGATGTCGCAACCT
<i>MmCD36-6</i>	F: ACAAGAAGTTGGACCTTACG
	R: GTGAAGTCTGACGAGAC
<i>MmCD36-7</i>	F: GGAAGGTGGAAGTCCCGATG
	R: ACACACCCGTGAACGCTAAT
<i>MmActin-2</i>	F: GGCCCCATCAACCATCAAGA
	R: GGACCGGATTCTGCTACTC
<i>dsGFP</i>	F: TAATACGACTCACTATAGGGGTGTTCAAT GCTTTTCCCGT
	R: TAATACGACTCACTATAGGGCAATGTTGT GGCGAATTTTG
<i>dsSCRA-1</i>	F: TAATACGACTCACTATAGGGAGTTCAGAG ACGTCGCTTGG
	R: TAATACGACTCACTATAGGGACCCATTG CATACGAGGTGG

化关系, 选取已发现的其他物种 SCR 与 *MmSCR* 构建进化树。进化关系显示, 中红侧沟茧蜂清道夫受体分为 3 种类型: A 型、B 型和 C 型 (图 1)。A 型包括 *MmSCRA-1*、*MmSCRA-2*、*MmSCRASP-1* 和 *MmSCRASP-2*, B 型有 *MmCD36-1*、*MmCD36-2*、*MmCD36-3*、*MmCD36-4*、*MmCD36-5*、*MmCD36-6*、*MmCD36-7* 和 *MmCD36-8*, *MmSCR-C* 为 C 型。

*Mm*SCRASP-2、*Mm*CD36-1、*Mm*CD36-2、*Mm*CD36-4、*Md*SCR-B、*Nv*SCR-B、*Bm*SCR-B、*Am*SCR-B、*Mm*CD36-6、*Mm*CD36-7、*Mm*SCR-C 分别与 *Am*SCRA2、*Tc*SCR-B、*Am*SCR-C 亲缘关系较近。

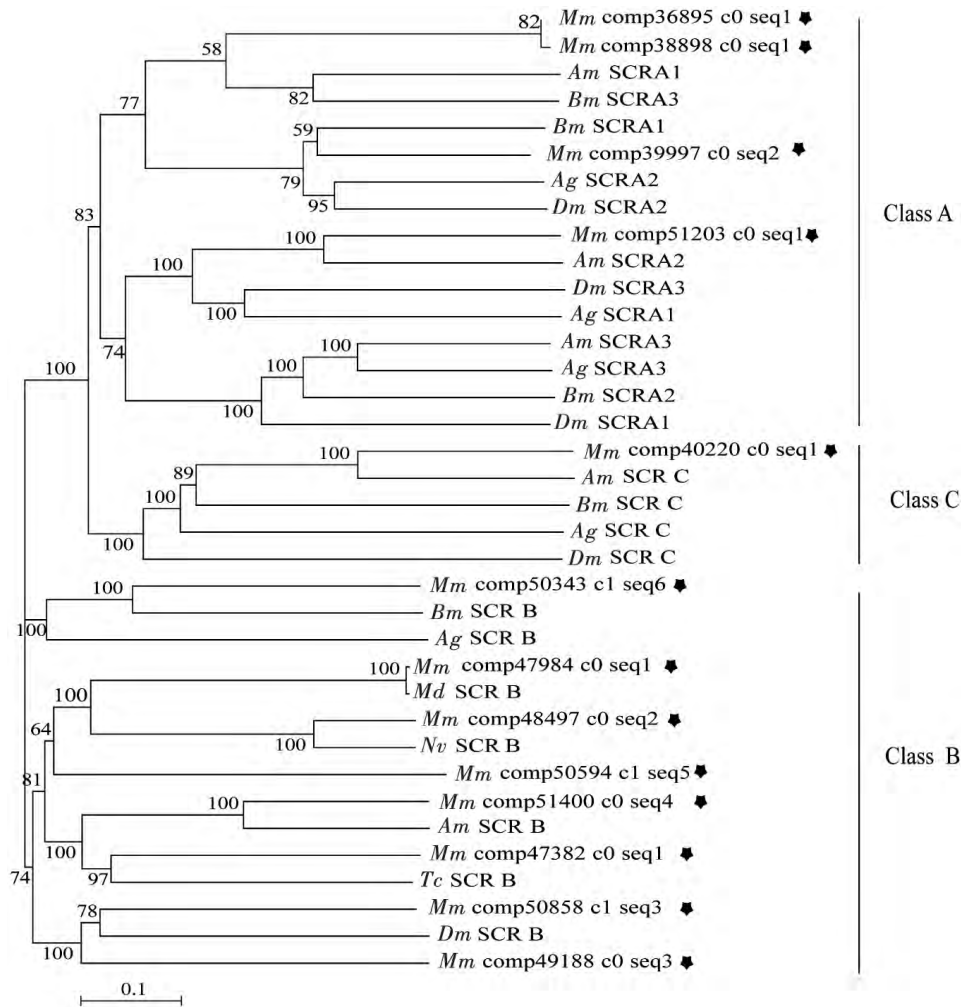


图1 中红侧沟茧蜂与其他昆虫清道夫受体的系统发育分析

Fig. 1 Phylogenetic analysis of scavenger receptors from *Micropilits mediator* and other insets

注: 黑色五角星标注为中红侧沟茧蜂清道夫受体, 依次为: *Mm* comp36895 c0 seq1 (*Mm*SCRA-1), *Mm* comp38898 c0 seq1 (*Mm*SCRASP-1), *Mm* comp39997 c0 seq2 (*Mm*SCRA-2), *Mm* comp51203 c0 seq1 (*Mm*SCRASP-2), *Mm* comp40220 c0 seq1 (*Mm*SCRC), *Mm* comp50343 c1 seq6 (*Mm*CD36-4), *Mm* comp47984 c0 seq1 (*Mm*CD36-1), *Mm* comp48497 c0 seq2 (*Mm*CD36-2), *Mm* comp50594 c1 seq5 (*Mm*CD36-8), *Mm* comp51400 c0 seq4 (*Mm*CD36-6), *Mm* comp47382 c0 seq1 (*Mm*CD36-7), *Mm* comp50858 c1 seq3 (*Mm*CD36-5), *Mm* comp49188 c0 seq3 (*Mm*CD36-3)。 *Dm*, 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*; *Ag*, 冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*; *Bm*, 家蚕 *Bombyx mori*; *Am*, 意大利蜜蜂 *Apis mellifera*; *Md*, 毁侧沟茧蜂 *Microplitis demolitor*; *Tc*, 赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*; *Nv*, 丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis*。这些昆虫 SCR 氨基酸序列在 NCBI 上的序列号如下, The SCR amino acid sequence numbers of these insects on NCBI are as followed: *Dm*SCRA1, NP_995773.1; *Dm*SCRA2, NP_524607.1; *Dm*SCRA3, NP_995773.1; *Dm*SCR B, NP_001137808.1; *Dm*SCR C, NP_608789.1; *Ag*SCRA1, XP_315637.3; *Ag*SCRA2, XP_312996.1; *Ag*SCRA3, XP_321085.4; *Ag*SCR B, XP_315733.4; *Ag*SCR C, XP_320557.4; *Bm*SCRA1, XP_021202139.1; *Bm*SCRA2, XP_021204064.1; *Bm*SCRA3, XP_021206684.1; *Bm*SCR B, NP_001037186; *Bm*SCR C, NP_001128387.1; *Am*SCRA1, XP_001120871.2; *Am*SCRA2, XP_392090.3; *Am*SCRA3, XP_016908723.1; *Am*SCR B, XP_396241.3; *Am*SCR C, XP_016768853.1; *Md*SCR B, XP_008558035.1; *Tc*SCR B, NP_001164151.1; *Nv*SCR B, XP_001601445.2。

2.2 基因表达图谱分析

从基因表达图谱 (图 2) 可以看出, 在幼虫阶段 *MmSCRA-1*、*MmSCRA-2*、*MmCD36-3* 表达水平较高, *MmCD36-3* 在卵中表达水平最高, 之后逐渐降低。 *MmCD36-7*、*MmSCRASP-2* 分别在 3 龄、蛹期表达水平较高, 而在发育初期表达水平较低。

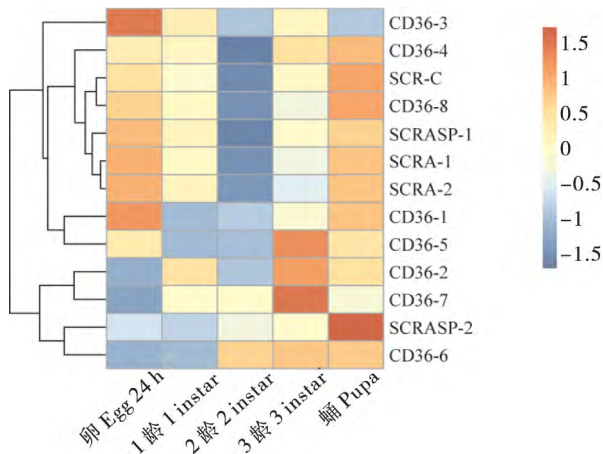


图 2 中红侧沟茧蜂清道夫受体基因在不同发育时期的基因表达图谱

Fig. 2 Expression profile of *Micropilits mediator* scavenger receptors at different developmental stages

注: 选取雌蜂基因表达量为对照, 蓝色表示基因表达量低于对照, 红色表示基因表达量高于对照。Note: The gene expression in females was selected as control, the blue indicates that gene expression level is lower than the control, and the red indicates that gene expression level is higher than the control.

2.3 qRT-PCR 结果

根据基因表达图谱选取在不同发育时期基因表达水平较高的 *MmSCRA-1*、*MmSCRA-2*、*MmSCRASP-2*、*MmCD36-2*、*MmCD36-3*、*MmCD36-4*、*MmCD36-5*、*MmCD36-6* 和 *MmCD36-7* 基因, 进一步利用 qRT-PCR 检测基因表达水平, 结果 (图 3) 显示: *MmSCRA-1*、*MmSCRA-2*、*MmCD36-3* 基因在中红侧沟茧蜂卵、1 龄、2 龄、3 龄表达水平较高; *MmCD36-2* 基因在 2 龄及成虫中表达水平较高; *MmSCRASP-2*、*MmCD36-4*、*MmCD36-5*、*MmCD36-6*、*MmCD36-7* 基因在幼虫时期比成虫时期表达水平低, 尤其是 *MmCD36-4* 基因在幼虫时期表达水平极低 ($P < 0.01$)。

2.4 中红侧沟茧蜂 *MmSCRA-1* 基因干扰

由于 *MmSCRA-1* 基因表达水平较高, 且在昆虫中 A 型清道夫受体功能未知, 为探究其功能,

我们对 *MmSCRA-1* 基因进行了 RNA 干扰。检测干扰效率时, 发现在羽化出的中红侧沟茧蜂中 *MmSCRA-1* 基因未被干扰掉 (图 4a), 而在未羽化的蜂蛹中第 3、4 天干扰效率较高 (图 4b), *MmSCRA-1* 基因表达水平降低约 70%。

2.5 干扰 *MmSCRA-1* 基因后中红侧沟茧蜂的羽化率

根据上述结果, 进一步统计干扰 *MmSCRA-1* 基因后中红侧沟茧蜂羽化情况。中红侧沟茧蜂蛹期有 4 d 左右, 为了减轻显微注射带来的机械损伤, 选择蛹期 3 日龄进行注射, 统计每天寄生蜂的羽化情况, 结果 (图 5a) 显示, dsSCRA-1 注射组和 dsGFP 注射组整体羽化率都比未注射处理的对照组羽化率要低, 但 dsSCRA-1 注射组羽化率显著低于 dsGFP 注射组 ($P < 0.05$)。

为了进一步减轻显微注射带来的机械损伤, 又选择蛹期 3.5 日龄进行注射, 羽化率统计结果 (图 5b) 显示, 3.5 日龄比 3 日龄注射整体羽化率有所升高, 但 dsSCRA1 注射组羽化率仍显著低于 dsGFP 注射组 ($P < 0.05$)。

3 结论与讨论

昆虫 SCR 家族分为 A、B 和 C 三种类型, 在黑腹果蝇中鉴定到 21 个 SCR 基因, 在冈比亚按蚊中获得 21 个 SCR 基因 (Christophides *et al.*, 2002), 意大利蜜蜂有 13 个 SCR 基因 (Evans *et al.*, 2006), 家蚕中有 18 个 SCR 基因 (Tanaka *et al.*, 2008)。本研究从中红侧沟茧蜂中鉴定到 13 个 SCR 基因, 同样包含 A、B 和 C 三种类型, 其中 A 型 4 个, B 型 8 个, C 型 1 个, 而且 C 型只在少数无脊椎动物中存在 (Yang *et al.*, 2016)。中红侧沟茧蜂 SCR 基因数量多, 种类全, 值得我们深入研究其功能, 为天敌昆虫的保护和利用提供新思路。

昆虫 B 型清道夫受体的功能研究较为广泛。黑腹果蝇 SCR-B 中的 Croquemort (Crq), 属于 CD36 家族, 在果蝇浆血细胞中表达, 当干扰 Crq 基因后, 浆血细胞对大肠杆菌 *Escherichia coli* 以及金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 的吞噬作用明显减弱 (Guillou *et al.*, 2016)。同样属于果蝇 CD36 家族的 Peste 基因, 参与果蝇血细胞对偶发分枝杆菌 *Mycobacterium fortuitum* 的吞噬作用 (Philips *et al.*, 2005)。本研究发现在中红侧沟茧蜂不同发

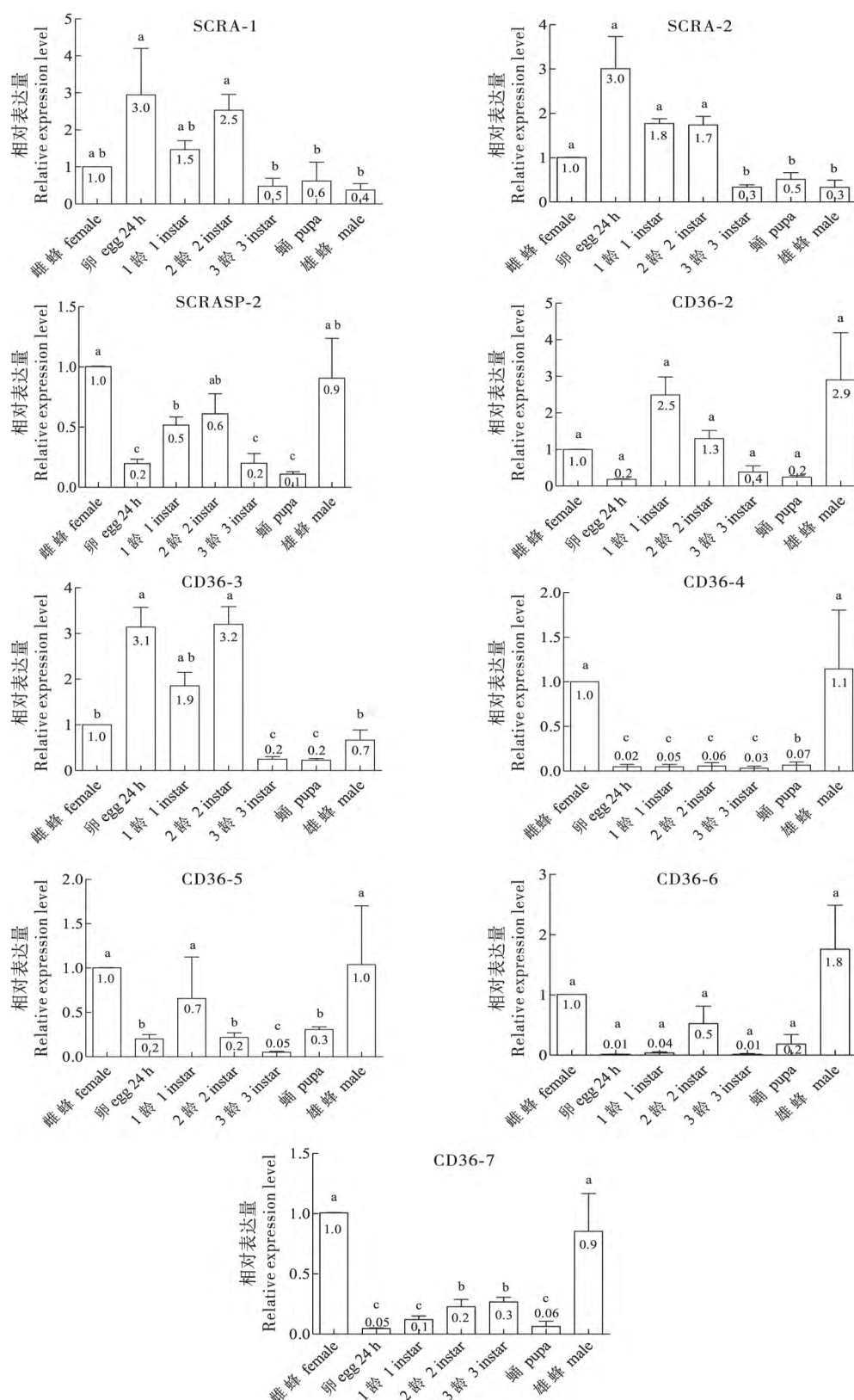


图3 中红侧沟茧蜂清道夫受体基因在不同发育时期的表达水平

Fig. 3 Expression levels of *Micropilits mediator* scavenger receptors at different developmental stages

注: 相同字母代表差异不显著, 不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$) 及差异极显著 ($P < 0.01$)。Note: The same letters represent no significant difference, the different letters represent significant difference ($P < 0.05$) and extremely significant difference ($P < 0.01$).

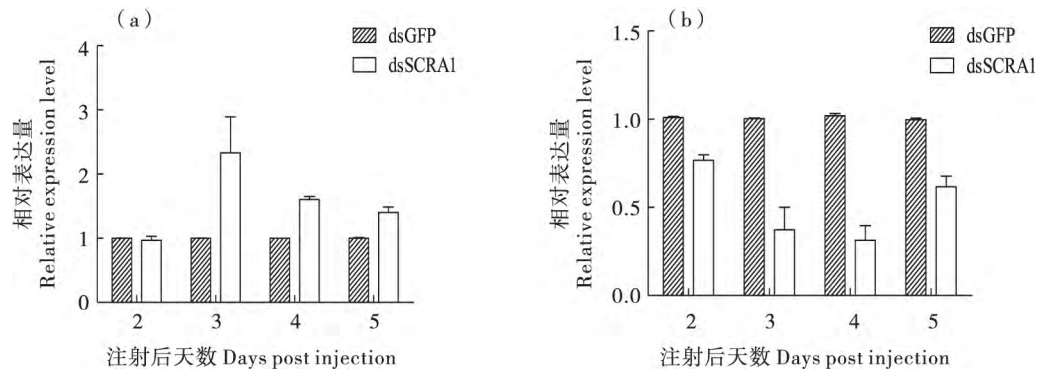


图4 (a) 羽化中红侧沟茧蜂中 *MmSCRA-1* 干扰效率; (b) 未羽化中红侧沟茧蜂 *MmSCRA-1* 干扰效率

Fig. 4 (a) *MmSCRA-1* RNAi efficiency of adults; (b) *MmSCRA-1* RNAi efficiency of pupa

注: 对照组注射 dsGFP, 处理组注射 dsSCRA1。Note: dsGFP was injected into the control group; dsSCRA1 was injected into the treatment group.

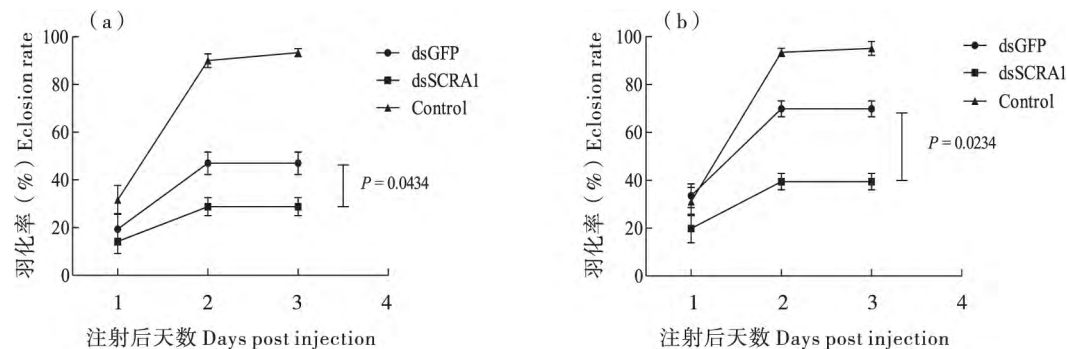


图5 (a) 3日龄蜂蛹干扰 *MmSCRA-1* 后羽化率; (b) 3.5日龄蜂蛹干扰 *MmSCRA-1* 后羽化率

Fig. 5 (a) Eclosion rate of 3-day-old pupa after RNAi of *MmSCRA-1*;

(b) Eclosion rate of 3.5-day-old pupa after RNAi of *MmSCRA-1*

注: Control 为未注射组, 另一对照组注射 dsGFP, 处理组注射 dsSCRA1。Note: There was no injection in one control group, dsGFP was injected into another control group; dsSCRA1 was injected into the treatment group.

育阶段, 不同 *MmSCR* 基因表达水平不同。*MmCD36-2*、*MmCD36-3* 在中红侧沟茧蜂卵、1 龄、2 龄、3 龄表达水平较高, 这些基因可能参与识别寄主粘虫体内病原菌, 从而保护寄生蜂幼虫免受感染。*MmCD36-4*、*MmCD36-5*、*MmCD36-6*、*MmCD36-7* 在成虫时期表达水平高, 它们可能参与寄生蜂成虫对环境中的病原菌的免疫防御反应。

在脊椎动物中, A 型清道夫受体研究得最为深入, 它是一种三聚体形式的 II 型跨膜糖蛋白, 包括 SRA1、MARCO、SCARA3、SCARA4 和 SCARA5 等成员 (Whelan *et al.*, 2012)。SRA1 参与结合修饰后的低密度脂蛋白以及清除病原菌 (Bowdish and Gordon, 2009)。MARCO 直接参与识别入侵的病原菌, 通过血细胞吞噬作用清除病原菌 (Arredouani *et al.*, 2004)。SCARA4 和 SCARA5

同样可以识别细菌 (Jiang *et al.*, 2006)。当机体受到氧化胁迫时, SCARA3 可以保护细胞免受过量活性氧带来的危害 (Whelan *et al.*, 2012)。SCRAs 还可以与病毒 dsRNA 结合, 使 dsRNA 进入到细胞内, 激活机体抗病毒反应 (DeWitte-Orr *et al.*, 2010)。而在昆虫中, A 型清道夫受体的功能尚不清楚。本研究运用 RNA 干扰的方法, 探究 *MmSCRA-1* 基因的功能。结果显示, 干扰 *MmSCRA-1* 基因后, 中红侧沟茧蜂的羽化率显著降低, 说明 *MmSCRA-1* 可能在中红侧沟茧蜂蛹期发育过程中起作用。已有结果表明, B 清道夫受体参与调控机体发育。斑马鱼 *Danio rerio* B 型清道夫受体 *Scarb2a* 参与脊索基底膜的形成, 当 *Scarb2a* 基因缺失时, 脊索腹面基底膜厚度增加, 从而导致斑马鱼躯干向上异常弯曲 (Diaz-Tellez *et al.*,

2016)。当果蝇缺失 B 型清道夫受体 *Crq* 基因时, 会使细胞因子 Upd3 长期处于高表达水平, 引起肠道干细胞大量增殖, 导致果蝇肠道呈现畸形状态, 进而使果蝇寿命缩短 (Woodcock *et al.*, 2005; Guillou *et al.*, 2016)。而最近有研究发现, 果蝇 B 型 I 类清道夫受体 SR-BI 在前胸腺和卵巢中参与蜕皮激素合成前体胆固醇的吸收和转运 (Talamillo *et al.*, 2013)。本研究发现 A 型清道夫受体 *MmSCRA-I* 参与中红侧沟茧蜂蛹期到成虫期的发育, 是否与蜕皮激素的合成有关, 很值得深入研究。

参考文献 (References)

- Arredouani M, Yang Z, Ning Y, *et al.* The scavenger receptor MARCO is required for lung defense against pneumococcal pneumonia and inhaled particles [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2004, 200 (2): 267.
- Bowdish DME, Gordon S. Conserved domains of the class A scavenger receptors: Evolution and function [J]. *Immunological Reviews*, 2009, 227 (1): 19.
- Christophides GK, Zdobnov E, Barillas-Mury C, *et al.* Immunity-related genes and gene families in *Anopheles gambiae* [J]. *Science*, 2002, 298 (5591): 159–65.
- Dewitteorr SJ, Collins SE, Bauer CM, *et al.* An accessory to the ‘Trinity’: SR-As are essential pathogen sensors of extracellular dsRNA, mediating entry and leading to subsequent type I IFN responses [J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6 (3): e1000829.
- Diaz-Tellez A, Zampedri C, Ramos-Balderas JL, *et al.* Zebrafish *scarb2a* insertional mutant reveals a novel function for the Scarb2/Limp2 receptor in notochord development [J]. *Developmental Dynamics*, 2016, 245 (4): 508–519.
- Dong ZP, Chai CL, Dai FY, *et al.* Expression pattern and tissue localization of the class B scavenger receptor BmSCRQB4 in *Bombyx mori* [J]. *Insect Science*, 2015, 22 (6): 739–747.
- Evans JD, Aronstein K, Chen YP, *et al.* Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2006, 15 (5): 645.
- Gough PJ, Gordon S. The role of scavenger receptors in the innate immune system [J]. *Microbes and Infection*, 2000, 2 (3): 305–311.
- Guillou A, Troha K, Wang H, *et al.* The *Drosophila* CD36 homologue croquemort is required to maintain immune and gut homeostasis during development and aging [J]. *PLoS Pathogens*, 2016, 12 (10): e1005961.
- Jiang Y, Oliver P, Davies KE, *et al.* Identification and characterization of murine SCARA5, a novel class A scavenger receptor that is expressed by populations of epithelial cells [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281 (17): 11834.
- Kim SG, Jo YH, Seong JH, *et al.* TmSR-C, scavenger receptor class C, plays a pivotal role in antifungal and antibacterial immunity in the coleopteran insect *Tenebrio molitor* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, 89.
- Li JC, Lu ZY, Qu ZG, *et al.* Research progress of *Microplitis mediator* and its application [J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2010, 14 (8): 4–11. [李建成, 路子云, 屈振刚, 等. 中红侧沟茧蜂研究及应用进展 [J]. 河北农业科学, 2010, 14 (8): 4–11]
- Means TK. Fungal pathogen recognition by scavenger receptors in nematodes and mammals [J]. *Virulence*, 2010, 1 (1): 37.
- Mukhopadhyay S, Gordon S. The role of scavenger receptors in pathogen recognition and innate immunity [J]. *Immunobiology*, 2004, 209 (1–2): 39.
- Peiser L, Gough PJ, Kodama T, *et al.* Macrophage class A scavenger receptor-mediated phagocytosis of *Escherichia coli*: Role of cell heterogeneity, microbial strain, and culture conditions *in vitro* [J]. *Infection and Immunity*, 2000, 68 (4): 1953.
- Philips JA, Rubin EJ, Perrimon N. *Drosophila* RNAi screen reveals CD36 family member required for mycobacterial infection [J]. *Science*, 2005, 309 (5738): 1251–1253.
- Poynter SJ, Weleff J, Soares AB, *et al.* Class-A scavenger receptor function and expression in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) epithelial cell lines RTgutGC and RTgill-W1 [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2015, 44 (1): 138–146.
- Rämet M, Pearson A, Manfruelli P, *et al.* *Drosophila* scavenger receptor CI is a pattern recognition receptor for bacteria [J]. *Immunity*, 2001, 15 (6): 1027.
- Talamillo A, Herboso L, Pirone L, *et al.* Scavenger receptors mediate the role of SUMO and Ftz-f1 in *Drosophila* steroidogenesis [J]. *PLoS Genetics*, 2013, 9 (4): e1003473.
- Tanaka H, Ishibashi J, Fujita K, *et al.* A genome-wide analysis of genes and gene families involved in innate immunity of *Bombyx mori* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2008, 38 (12): 1087–1110.
- Whelan FJ, Meehan CJ, Golding GB, *et al.* The evolution of the class A scavenger receptors [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2012, 12 (1): 1–11.
- Woodcock KJ, Kierdorf K, Pouchelon CA, *et al.* Macrophage-derived upd3 cytokine causes impaired glucose homeostasis and reduced lifespan in *Drosophila* fed a lipid-rich diet [J]. *Immunity*, 2015, 42 (1): 133.
- Yang MC, Shi XZ, Yang HT, *et al.* Scavenger receptor C mediates phagocytosis of White spot syndrome virus and restricts virus proliferation in Shrimp [J]. *PLoS Pathogens*, 2016, 12 (12): e1006127.
- Zheng Z, Ai J, Li XA. Scavenger receptor class B type I and immune dysfunctions [J]. *Current Opinion in Endocrinology Diabetes and Obesity*, 2014, 21 (2): 121.