

西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因的生物信息学分析

卜翠萍^{1,2,3} 奚耕思^{3*} 梁爱萍^{1*} 刘杰^{1,2}

1. 中国科学院动物进化与系统学重点实验室, 中国科学院动物研究所 北京 100101

2. 中国科学院研究生院 北京 100049

3. 陕西师范大学生命科学院 西安 710062

摘要 利用生物信息学方法分析了西方蜜蜂 *Apis mellifera* 毒蕈碱型乙酰胆碱受体的核酸和氨基酸序列, 并对其组成成分、疏水/亲水区、跨膜拓扑结构域、分子系统进化关系进行了预测和推断。结果显示, 该受体定位在第8条染色体上, 由618个氨基酸组成, 分子量69 906.5 D, 等电点 (pI) 8.56; 是G蛋白偶联型受体, 含N-糖基化位点、蛋白激酶C磷酸化位点、cAMP/cGMP依赖蛋白激酶磷酸化位点。

关键词 西方蜜蜂, 毒蕈碱型乙酰胆碱受体, 生物信息学, 蛋白结构和功能。

中图分类号 Q966

乙酰胆碱 (ACh) 是昆虫中枢神经系统重要的兴奋性神经递质, 其受体因作用方式和药理学的不同而分为两类: 烟碱型受体 (nicotinic receptor, nAChR) 和毒蕈碱型受体 (muscarinic receptor, mAChR)。mAChR广泛存在于昆虫的中枢神经系统, 已有实验证明果蝇、家蚕、蜚蠊等昆虫中存在分子量约75-80kD的多肽mAChR, 且在神经系统中起着重要作用 (Shapiro *et al.*, 1989; Blake *et al.*, 1993; Aizono *et al.*, 1997; Orr *et al.*, 1991)。神经突触中的mAChR是膜受体家族的成员, 属于G蛋白偶联受体。mAChR与配体结合后发生构象变化, 进一步使胞内的G蛋白活化介导多种激素、神经递质、神经肽、趋化因子以及光、气味等的信号转导, 参与感觉、运动、学习、记忆等生理活动。

自2002年美国国立卫生研究院把西方蜜蜂 *Apis mellifera* 列入了优先测序的物种名单以来, 蜜蜂基因组约2.36亿个碱基对被测定, 共辨别出了1万多个基因 (Pennisi, 2006)。这些基因中大多数新基因是通过GNOMON (2004年NCBI开发的预测基因新方法) 预测得到的 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/bef/AmeGnomon.html>), 西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因 (XM_395760) 就是其中之一 (Beye *et al.*, 2006)。本文用生物信息学方法对西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因 (XM_395760) 进行分析, 系统归类该预测基因的资源, 并为进一步从实验水平研究提供详尽的理论资料。

1 材料与方法

1.1 重要数据库和生物学软件

主要数据库为美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) GenBank 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Databases/index.html>)、EST数据库和UniGene数据库以及美国休斯敦的贝勒医学院 (Baylor College of Medicine) HoneyBee 数据库 (<http://www.hgsc.bcm.tmc.edu/projects/honeybee/>)。核酸和蛋白分析相关软件为核酸序列同源性分析软件BLASTN2.2.2 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>), NCBI, USA), megaBLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/BlastGen/BlastGen.cgi?taxid=7460>) 和 BLASTV2.0 (<http://www.hgsc.bcm.tmc.edu/blast/?organism=Amelifera>); 蛋白质基本性质分析工具 ExPASy 数据库中的 ProtParam Tool, 疏水性分析软件 ProtScal 程序, 二级结构预测程序 nnpredict (<http://www.cmpchem.ucsf.edu/~nami/nnpredict.html>), 蛋白跨膜结构预测软件 TMHMM Server v. 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>), 蛋白功能分析数据库 Prosite, 序列匹配分析软件 ClustalW1.83 (EMBL, Germany), 系统进化分析软件 Mega 4.0。

2 结果与分析

2.1 预测基因定位分析

目前NCBI上提交的西方蜜蜂EST共78 000条。

国家自然科学基金重点项目 (30530110) 及国家基础科学人才培养基金项目 (NSFGJ0630964J0109) 资助。

* 通讯作者, E-mail: liangap@ioz.ac.cn, xigengsi@snnu.edu.cn

收稿日期: 2008-07-10, 修订日期: 2009-02-26。

利用 NCBI/Blast 软件的“BLASTN”程序分析 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/BlastGen/BlastGen.cgi?taxid=7460>) 西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因包含的 EST 序列, 从结果中得知该基因是由 UniGene Ame. 1342 中 7 条 EST 序列拼接获得。这 7 条 EST 的序列号分别为:

BI505590.1、BI513593.1、BI517003.1、BI510489.1、BI506781.1、BI505520.1、BI503247.1。利用 NCBI/Blast 软件的 megaBLAST 程序 Blast 西方蜜蜂 Genome, 确定该基因在染色体和重叠群 (Contigs) 上的定位。该基因定位在西方蜜蜂第 8 条染色体、重叠群 8 上的 12529646 12522902 之间 (图 1)。

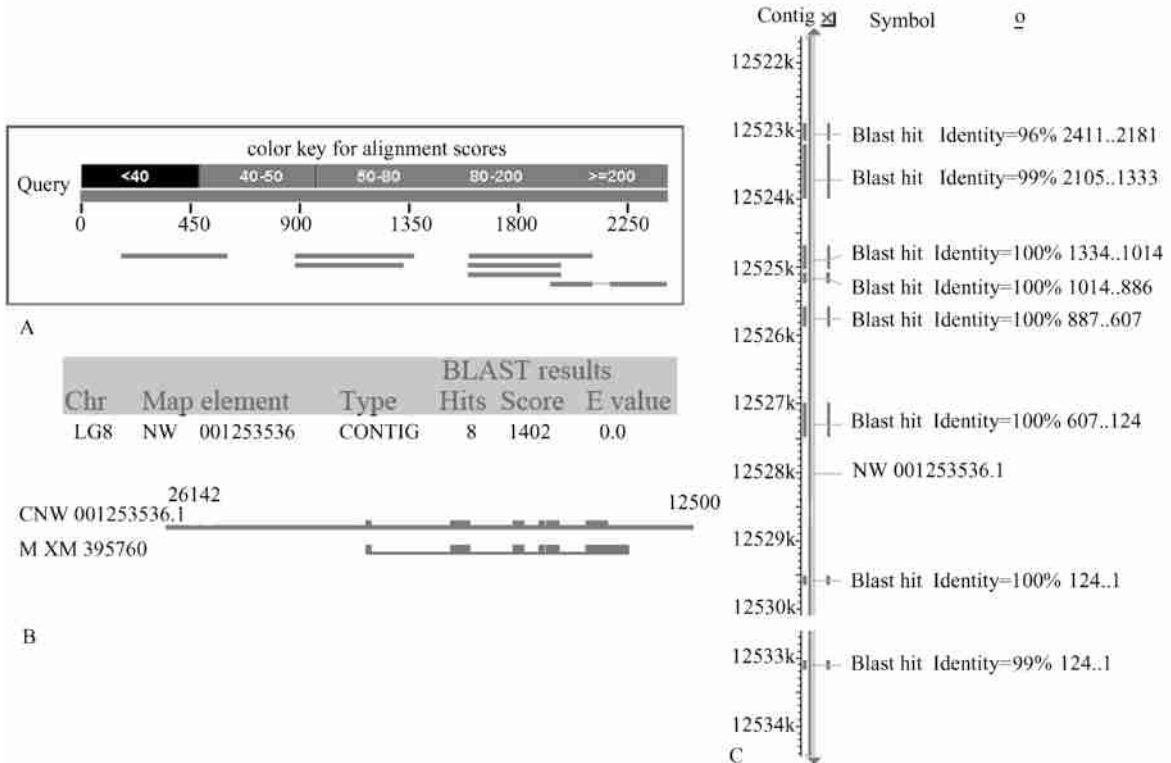


图 1 蜜蜂预测毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因的 EST 分析

Fig 1. EST analysis on the *Apis mellifera* muscarinic acetylcholine receptor gene.

A. 蜜蜂预测毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因 BLAST 所得 7 条 EST 序列 (Alignment of *Apis mellifera* muscarinic acetylcholine receptor gene in *Apis mellifera* EST database)

B. 该基因的染色体定位 (The orientation of chromosome of *Apis mellifera* muscarinic acetylcholine receptor gene)

C. 该基因 EST 序列的染色体定位 (The orientation of chromosome of the correlative ESTs)

2.2 西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因编码蛋白的基本性质分析

2.2.1 氨基酸组成、分子量、等电点分析

西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因编码 618 个氨基酸, 分子量: 69 906.5 D, 理论等电点: 8.56; 其中碱性氨基酸 66 个, 酸性氨基酸 59 个, 疏水性氨基酸 222 个, 极性氨基酸 181 个; 原子组成: Carbon (C) 3154, Hydroge (H) 4902, Nitrogen (N) 830, Oxygen (O) 904, Sulfur (S) 31。如图 2 所示 5 种动物: 蜜蜂、果蝇、线虫、斑马鱼和人, 该蛋白 20 种氨基酸组成, 其中 Ala, Ile, Leu, Lys, Ser, Thr, 在这几种动物中均含量丰富; Asp, Ile, Trp, Tyr 在蜜蜂中比其他动物中含量丰富。表 1 是

对这 5 种动物毒蕈碱型乙酰胆碱受体特殊氨基酸组成和理化性质的分析。这 5 种动物是昆虫纲、尾感器纲、鱼纲和哺乳纲中的代表动物, 从表 1 中可以看出, 虽然在整体理化性质和特殊氨基酸组成上具有趋同性, 但还是存在明显差异; 其中蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体的等电点最低, 酸性氨基酸含量最高。

2.2.2 疏水性和跨膜区分析

利用位于 ExPASy 的 ProtScale (<http://www.expasy.org/cgi-bin/protscale.pl>) 程序计算西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体的疏水性图谱 (图 3)。图中显示出整个蛋白质中疏水性最大值是 3.789, 最小值是-3.611; 大约有 7 个疏水区, 第 84~106 位、

第118~140位、第155~177位、第198~220位、第244~266位、第535~557位、第572~594位分别存在一个疏水区。用TMHMM2.0软件 (<http://genome.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0>) 分析该蛋白跨膜区, 得西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体

有7个跨膜区, 分别位于第84~106位、第118~140位、第155~177位、第198~220位、第244~266位、第535~557位、第572~594位(图4)。与疏水性分析结果完全一致, 这表明膜蛋白的跨膜区和高疏水性区的明显相关性。

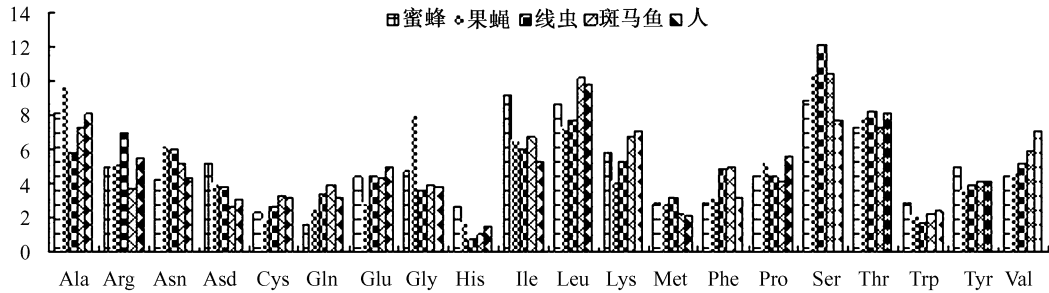


图2 5个物种(蜜蜂、果蝇、线虫、斑马鱼、人)毒蕈碱型乙酰胆碱受体的20种氨基酸组成

Fig 2. The contents of 20 amino acids of muscarinic acetylcholine receptor among five species (*Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Danio rerio*, *Homo sapiens*).

表1 5个物种(蜜蜂、果蝇、线虫、斑马鱼、人)毒蕈碱型乙酰胆碱受体特殊氨基酸组成和理化性质分析

Table 1. A comparison of composition and physical and chemical characters of muscarinic acetylcholine receptor among five species (*Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Danio rerio*, *Homo sapiens*).

动物	氨基酸残基数	分子量/ kDa	pI	氨基酸比例/ %			
				碱性氨基酸	酸性氨基酸	极性氨基酸	疏水性氨基酸
蜜蜂	618	69.906	8.56	10.70	9.55	29.29	35.92
果蝇	723	78.347	9.23	9.27	6.78	32.50	33.33
线虫	585	66.470	9.42	12.31	8.21	36.41	31.11
斑马鱼	490	55.110	9.15	10.41	6.94	34.08	37.35
人	532	60.073	9.39	12.59	7.89	30.64	35.90

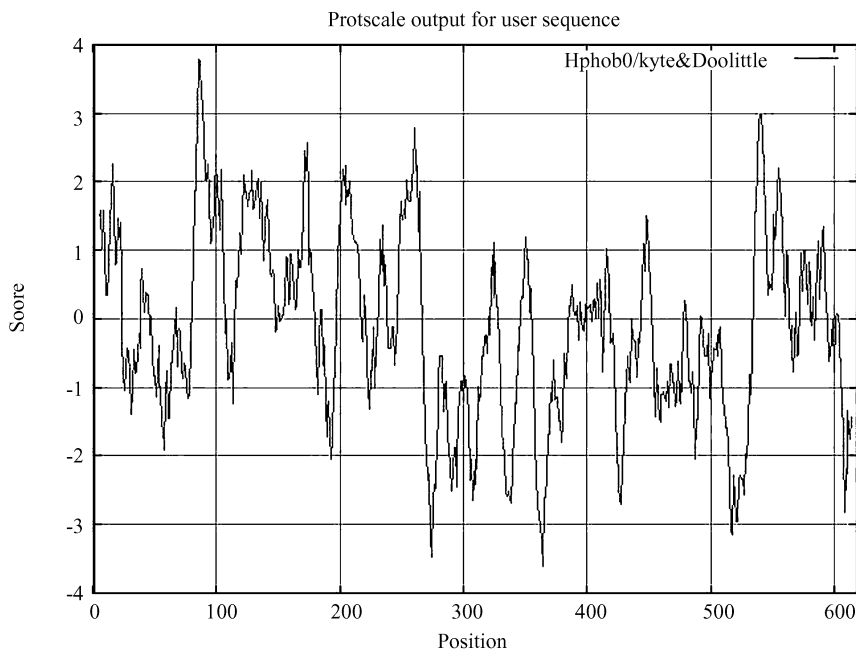


图3 ProtScale 程序分析蜜蜂 CHRM1 的疏水性结果

Fig 3. Predicted hydrophobicity/ hydrophilicity for mAChR in *Apis mellifera* by ProtScale.

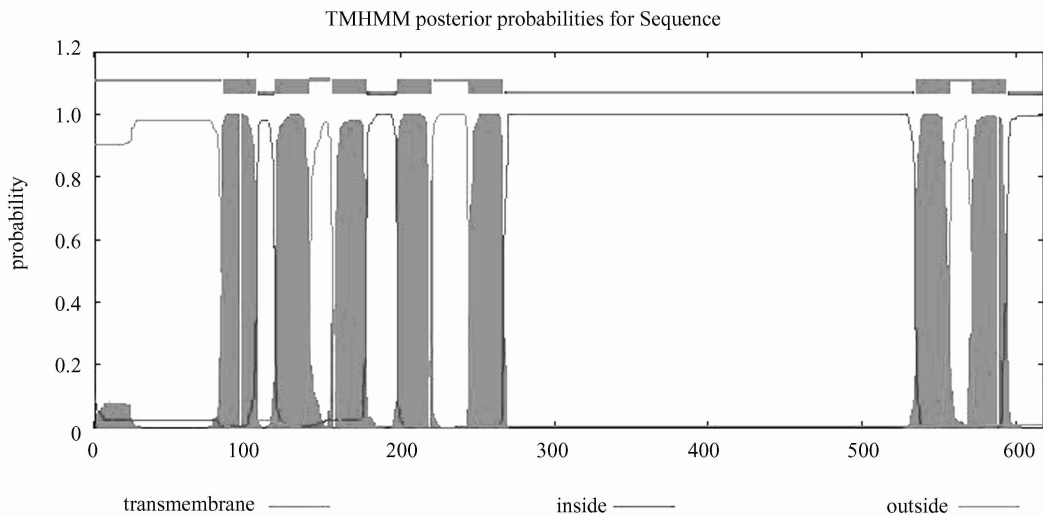


图4 TMHMM 2.0软件分析蜜蜂CHRM1的跨膜区结果

Fig. 4. Predicted transmembrane segments for mAChR in *Apis mellifera* by TMHMM 2.0.

2.3 西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因编码蛋白功能预测

毒蕈碱型乙酰胆碱受体是膜受体家族的成员,属于G蛋白偶联受体,通过与异三聚体鸟苷酸结合蛋白(G蛋白)偶联介导信号转导过程。GPCR是由紧密相邻的7个跨膜螺旋所组成的三维结构构成,7个跨膜区(TM I-VII)由3个胞外环(O_{E3})和3个胞内环(i_{I3})连接而成(Dohlman *et al.*, 1991)。将西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体氨基酸序列与果蝇和人类的对应序列作序列匹配性分析(ClustalW1.83),从蜜蜂的氨基酸序列中找到目前已研究明确的mAChR功能位点(见图5)。实验结果表明:1) mAChR在 O_1 和 O_3 环内各有一个保守的半胱氨酸残基(Cys),二者形成二硫键,维持受体蛋白稳定的分子构象(Dohlman *et al.*, 1991); 2) 配体与M受体的结合发生在7个跨膜区环状排列形成的口袋里,所有M受体的配体,都有一个带正电荷的氨基,它与TM III中天冬氨酸(Asp)带负电荷的羧基形成离子键,此为配体、受体结合方式;另外对乙酰胆碱的结合特性起关键作用的苏氨酸(Thr)和酪氨酸(Tyr)残基都位于离膜表面1~2个环的螺旋区域(TM III、V、VI、VII),在TM III区域,这些氨基酸残基与Asp残基在同一水平,这些氨基酸可能和TM III的Asp氨基酸残基共同决定乙酰胆碱在M受体上的结合区域;同时位于TM IV区域的一个Pro残基,对于高亲和力的配体结合是必需的,Pro残基可能与配体识别没有直接关系,而是间接地通过构象变化参与高亲和力的配体结合(Kurtenbach *et al.*, 1990; Wess *et al.*, 1992; Birdsall *et al.*, 1993; Wess, 1993; Wess *et al.*, 1993); 3) 受体激活的构象

变化中TM III区域的Asp残基和位于TM V、VI区域的Thr、Tyr起着重要作用, TM V和VI区域将第3个胞内环(i_3 环)连结,是G蛋白识别和激活的关键区域。TM VI区域的Pro残基可能是另一个与受体激活有关的残基(Wess *et al.*, 1992; Wang *et al.*, 1991); 4) 在TM II和 i_2 相接的部位有一个保守的氨基酸残基三联体(Asp, Arg, Tyr),对受体的表达和功能至关重要(Dohlman *et al.*, 1991); 5) 许多受体的胞内区域(尤其是 i_2 - i_4 环)与G蛋白相偶联,位于 i_2 环的初始部分的一个高度保留的Asp残基对有效的G蛋白偶联非常重要(Wess *et al.*, 1992), i_3 环能够决定M受体与G蛋白偶联的特异性; 6) 胞外N末端有一个或多个糖基化部位,但糖基化不是受体表达和发挥功能所必需的(Dohlman *et al.*, 1991); 7) C末端的棕榈酰化发生在近胞膜处的Cys残基上,参与G蛋白的偶联(Dohlman *et al.*, 1991)。

通过搜索PROSITE数据库,获得的西方蜜蜂、果蝇和人mAChR多肽序列中,可能包含的结构域和功能位点。结果显示它们都包括G蛋白偶联受体家族的标志区:ASVLNLLIISFD RYFSV。表2比较了其N-糖基化位点、蛋白激酶C磷酸化位点、cAMP/cGMP依赖蛋白激酶磷酸化位点。N-糖基化位点都有Asn-X-Ser/Thr(NXS/T)序列子(sequence),其中X可以是Pro以外的任何氨基酸(王镜岩等, 2002)。蛋白激酶C磷酸化位点和cAMP/cGMP依赖蛋白激酶磷酸化位点都富含极性氨基酸Ser、Thr、Arg、Lys。

2.4 西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因编码蛋白分子进化分析

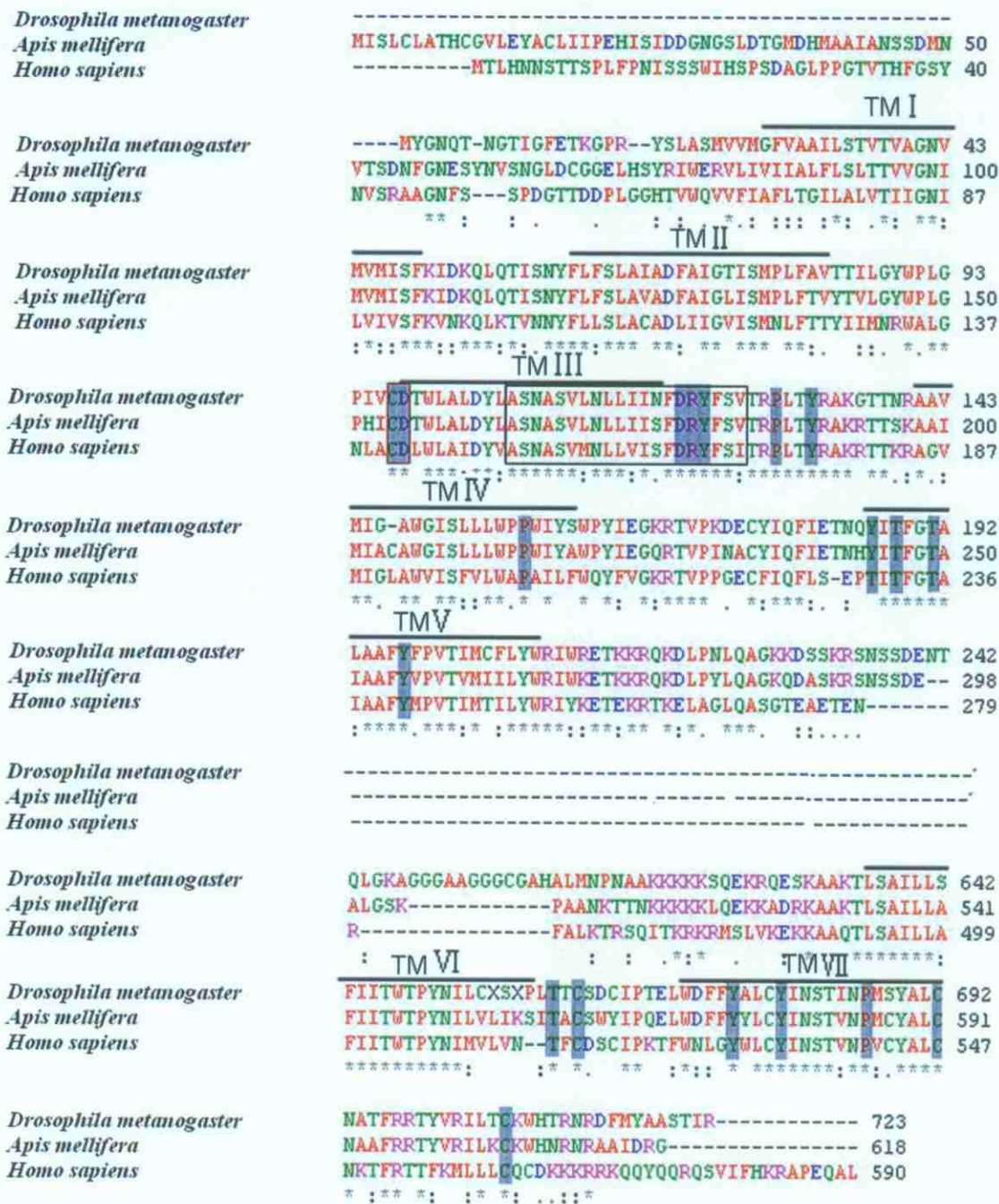


图5 ClustalW1. 83 比对果蝇、蜜蜂、人 mAChR 氨基酸序列结果; TM I、TM II、TM III、TM IV、TM V、TM VI、TM VII 为 7 个跨膜区; 阴影部分为该受体功能位点, 方框区为 G 蛋白耦联受体家族的标志区

Fig 5. Multiple alignment of amino acid sequence among *Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster* and *Homo sapiens* by ClustalW1. 83. The seven transmembrane segments were indicated with TM I, TM II, TM III, TM IV, TM V, TM VI and TM VII. The substrate binding motifs were gray shaded. The G protein coupled receptors family 1 signature was framed.

用 Blast 软件与 GenBank 中已注册的 mAChR 序列进行比较, 发现与西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体高度同源的序列, 选取部分相似序列用 Mega4.0 软件建立 N-J 系统发育树, 所得无根树见图 6。来源相同的物种在进化树上往往聚集成簇, 序列间的遗传距离对应于进化树中连接两个物种直线长度。结果显示, 同源的 mAChR 可归为 4 大类, 分别为哺乳

纲、鱼纲、昆虫纲、尾感器纲; 其中哺乳纲和鱼纲同属于脊索动物门, 昆虫纲属于节肢动物门, 尾感器纲属于线虫动物门, 从该蛋白的进化关系上看, 昆虫纲和尾感器纲的亲缘关系更近。

3 讨论

随着人类和多种模式生物基因组计划的实施,

表 2 蜜蜂、果蝇、人 mAChR 中 N-糖基化位点、蛋白激酶 C 磷酸化位点、cAMP/ cGMP 依赖蛋白激酶磷酸化位点分析
 Table 2. A comparison of N-glycosylation site, protein kinase C phosphorylation site, cAMP- and cGMP dependent protein kinase phosphorylation site among *Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster* and *Homo sapiens*.

	N-糖基化位点	蛋白激酶 C 磷酸化位点	cAMP/ cGMP 依赖蛋白激酶磷酸化位点
蜜蜂	NGSL (30-33)、NSSD (45-48)、NVTS (50-53)、NESY (58-61)、NVSN (62-65)、NASV (166-169)、NSSD (294-297)、NATH (320-323)、NKTT (512-515)、NSTV (580-583)	SYR (75-77)、SFK (105-107)、TYR (188-190)、TSK (195-197)、TKK (272-274)、SKR (290-292)、SGR (358-360)、SSR (374-376)、SGK (429-431)、STK (436-438)、SIK (468-470)、TrR (483-485)、TNK (515-517)	KRfT (192-195)、RRpS (484-487)
果蝇	NQIN (4-7)、NGII (7-10)、NASV (109-112)、NSSD (236-239)、NYSM (372-375)、NTSG (423-426)、NASH (437-440)、NGTG (449-452)、NGSG (453-456)、NATH (464-467)、NSTI (681-684)、NATF (693-696)	SK (48-50)、TyR (131-133)、TnR (138-140)、TkK (214-216)、SsK (231-233)、SkR (232-234)、TwR (264-266)、SrK (295-297)、SiK (299-301)、TK (305-307)、SiK (315-317)、SgR (326-328)、ThR (466-468)、SK (532-534)、TrR (556-558)、TIR (695-697)、TcK (705-707)、TiR (721-723)	KKdS (228-231)、RKsS (296-299)、RRmS (573-576)、KKkS (620-623)
人	NNST (5-8)、NSTF (6-9)、NISS (15-18)、NVSR (41-44)、NFSS (48-51)、NASV (153-156)、NSTK (379-382)、NSSV (444-447)、NSTV (536-539)、NKTF (548-551)	SK (92-94)、TyR (175-177)、TtK (181-183)、TkR (182-184)、TeK (258-260)、SsR (286-288)、SmK (299-301)、SnR (303-305)、TtK (316-318)、SwK (319-321)、StK (380-382)、TaK (437-439)、SfK (457-459)、TkR (476-478)、TIR (550-552)、TK (554-556)	KRfT (179-182)、KRmS (479-482)

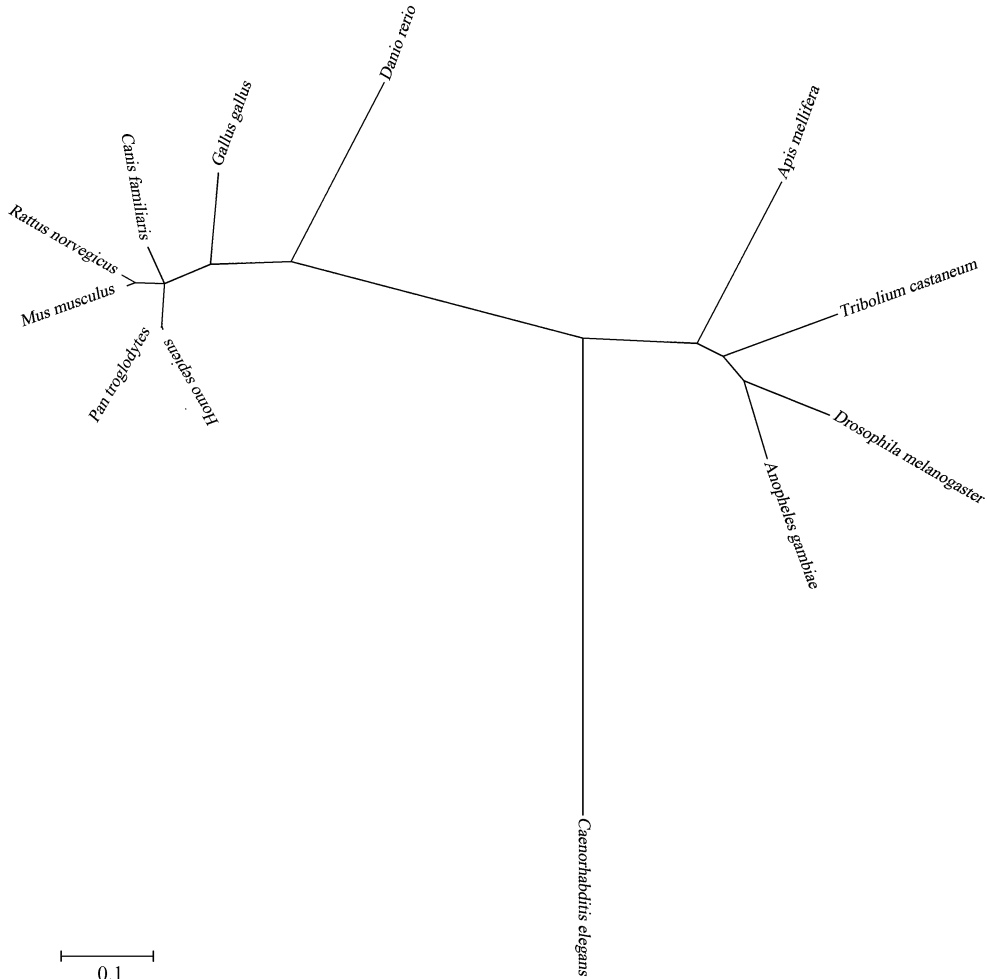


图 6 果蝇、疟蚊、拟谷盗、西方蜜蜂、人、黑猩猩、小家鼠、褐家鼠、狗、鸡、斑马鱼、线虫 12 个物种的系统发育树 (NJ tree)

Fig 6. Neighbor-Joining (NJ) tree of twelve species (*Drosophila melanogaster*, *Anopheles gambiae*, *Tribolium castaneum*, *Apis mellifera*, *Homo sapiens*, *Pan troglodytes*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Canis familiaris*, *Gallus gallus*, *Danio rerio*, *Caenorhabditis*

表达序列标签 (expressed sequence tag, EST) 在基因结构与功能研究中的应用日益广泛 (Adams *et al.*, 1991; Adams *et al.*, 2000; Stolc *et al.*, 2004; International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004), 各种生物信息学技术也应运而生并不断完善, 充分利用生物信息学资源和技术研究基因组结构与功能、发现新的功能基因、揭示基因起源与分子进化规律等已成为后基因组时代的核心任务。

蜜蜂是基因组计划选定的模式生物之一, 社会行为极为复杂, 具有内聚力, 能够成功应付许多社会生活面临的挑战, 包括交流、衰老、社交机能不良以及传染性疾疾病等 (Waring 2004; Munn, 2004; Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006)。它的认知能力非常复杂, 尽管其大脑只有果蝇大小的一半, 却有着超凡的交流能力, 是目前唯一已知的除人类之外具有符号语言的动物。研究发现蜜蜂通过胆碱能系统中的毒蕈碱型乙酰胆碱受体构建劳做相关的脑组织, 蜜蜂被喂养毒蕈碱型受体激动剂 (pilocarpine) 增大的蕈形体体积等同于蜜蜂劳做一周后增大的蕈形体体积 (Ismail, 2006; Weinberger, 2006)。对西方蜜蜂毒蕈碱型乙酰胆碱受体基因及相应氨基酸序列的组成成分、理化性质、结构特征、功能等进行分析, 得出 5 种动物 (蜜蜂、果蝇、线虫、斑马鱼、人) mAChR 的分子量、理论等电点、酸性和碱性氨基酸的比例、总氨基酸带电荷的比例、极性氨基酸的比例、疏水性氨基酸的比例基本一致, 其中蜜蜂 mAChR 的理论等电点最低, 酸性氨基酸含量最高含量; 蜜蜂 mAChR 功能域的氨基酸组成与果蝇和人的一致, 具有 G 蛋白偶联受体家族的标志区: ASVLNLLIISFDYFYSV, 且 Ach 与 mAChR 结合起关键作用的氨基酸位点都完全一致。

mAChR 是胆碱能神经系统中重要的受体, 已在多种生物中克隆并进行了深入研究。在社会性昆虫蜜蜂中展开 mAChR 的研究对进一步揭示蜜蜂复杂行为的神经生理机理, 具有重大意义。

致谢 中国科学院动物研究所韩春生研究员在论文修改过程中提出了宝贵意见, 特此致谢。

REFERENCES (参考文献)

Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A. *et al.* 2000. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287: 2185-2195.
 Adams, M. D., Kelley, J. M., Gocayne, J. D. *et al.* 1991. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science*, 252: 1651-1656.
 Aizono, Y., Endo, Y., Sattelle, D. B. and Shirai, Y. 1997. Prothoracicotropic hormone-producing neurosecretory cells in the silkworm *Bombyx mori*, express a muscarinic acetylcholine receptor. *Brain Research*, 763: 131-136.
 Beyre, M., Gattermeier, I., Hasselmann, M. *et al.*, 2006. Exceptionally

high levels of recombination across the honey bee genome. *Genome Research*, 16: 1339-1344.
 Blake, A. D., Anthony, N. M., Chen, H. H., Harrison, J. B., Nathanson, N. M. and Sattelle, D. B. 1993. *Drosophila* nervous system muscarinic acetylcholine receptor: transient functional expression and localization by immunocytochemistry. *Molecular Pharmacology*, 44 (4): 716-724.
 Birdsall, N. J. M., Spalding, T. A. and Corrie, E. C. 1993. Studies on muscarinic receptors using nitrogen mustards. *Life Science*, 52: 561-567.
 Dohman, H. G., Thorner, J., Caron, M. G. and Lefkowitz, R. J. 1991. Model system for the study of seven transmembrane segment receptors. *Annual Review of Biochemistry*, 60: 653-688.
 Honeybee Genome Sequencing Consortium. 2006. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*, 443 (7114): 919-920.
 International Chicken Genome Sequencing Consortium. 2004. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature*, 432: 695-716.
 Ismail, N., Robinson, G. E. and Fahrbach, S. E. 2006. Stimulation of muscarinic receptors mimics experience dependent plasticity in the honey bee brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 (1): 207-211.
 Kurtenbach, E., Curtis, C. A. M., Pedder, E. K., Aiken, A., Harris, A. C. and Hulme, E. C. 1990. Muscarinic acetylcholine receptors. Peptide sequencing identifies residues involved in antagonist binding and disulfide bond formation. *Journal of Biological Chemistry*, 265 (23): 13702-13708.
 Orr, G. L., Orr, N. and Hdlirgworth, R. M. 1991. Distribution and pharmacological characterization of muscarinic cholinergic receptors in the cockroach brain. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 16: 107-122.
 Pennisi, E. 2006. Honey bee genome illuminates insect evolution and social behavior. *Science*, 314: 578-579.
 Munn, P. A. 2004. Genome of honey bees sequenced in USA. *Bee World*, 85 (1): 12-13.
 Wang, G-D, Buck, M. A. and Fraser, C. M. 1991. Site directed mutagenesis of α -2a adrenergic receptors: identification of amino acids involved in ligand binding and receptor activation by agonists. *Molecular Pharmacology*, 40: 168-179.
 Wang, J-Y, Zhu, S-G and Xu, G-F 2002. Biochemistry (Volume One). Third Edition. High Education Press, Beijing. [王镜岩, 朱圣庚, 徐长法, 2002. 生物化学 (上册). 第 3 版. 北京: 高等教育出版社]
 Waring, C. 2004. Sequencing of the honeybee genome. *Bee Craft Journal*, 86 (2): 6.
 Weinberger, N. M. 2006. Food for Thought: Honeybee Foraging, Memory, and Acetylcholine. *Science STKE*, 336: 23.
 Wess, J. 1993. Molecular basis of muscarinic acetylcholine receptor function. *Trends in Pharmacological Sciences*, 14: 308-313.
 Wess, J., Maggio, R. and Vogt, L. Z. 1992. Role of conserved threonine and tyrosine residues in acetylcholine binding and muscarinic receptor binding. *Journal of Biological Chemistry*, 267: 19313-19319.
 Wess, J., Nanavati, S., Vogel, Z. and Maggio, R. 1993. Functional role of proline and tryptophan residues highly conserved among G protein-coupled receptors studied by mutational analysis of the M3 muscarinic receptor. *European Molecular Biology Organization Journal*, 12: 331-338.
 Wess, J., Gdula, D. and Brann, M. R. 1992. Structural basis of the subtypes selectivity of muscarinic agonists: a study with chimeric M2/M5 muscarinic receptors. *Molecular Pharmacology*, 41: 369-374.
 Shapiro, R. A., Wakimoto, B. T., Subers, E. M. and Nathanson, N. M. 1989. Characterization and functional expression in mammalian cells of genomic and cDNA clones encoding a *Drosophila* muscarinic acetylcholine receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86: 9039-9043.
 Sdc, V., Gaulter, Z., Mason, C., Halasz, G., van Batenburg, M. F., Rifkin, S. A., Hua, S., Herreman, T., Tongprasit, W. and Bar Bano, P. E. 2004. A Gene Expression Map for the Euchromatic Genome of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 306: 655-660.

A BIOINFORMATICS ANALYSIS ON THE *APIS MELLIFERA* MUSCARINIC ACETYLCHOLINE RECEPTOR GENE

BU Cui-Ping^{1,2,3}, XI Geng-Si^{3*}, LIANG Ai-Ping^{1*}, LIU Jie^{1,2}

1. Key Laboratory of Zoological Systematics and Evolution, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3. College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

Abstract The *Apis mellifera* muscarinic acetylcholine receptor gene (XM_395760), which was registered in GenBank, was analyzed and predicted by the tools of bioinformatics in the following aspects: a composition of nucleic acid and amino acid sequence, equipotential, hydrophobicity or hydrophilicity, transmembrane topological structure, the comparison of homologous proteins and phylogenetic relationship. The results showed that *Apis mellifera* mAChR gene was located at the

chromosome 8, which had a putative protein of 618 amino acids with a predicted mol. wt. of 69 906.5 D and isoelectric point of 8.56, and that *Apis mellifera* mAChR belonged to a large family of membrane-bound receptors which were coupled to G-protein and included N-glycosylation sites, protein kinase C phosphorylation sites, cAMP- and cGMP-dependent protein kinase phosphorylation sites by PROSITE motifs.

Key words *Apis mellifera*, muscarinic acetylcholine receptor, bioinformatics, protein structure and function.