

乳草长蝽 *Ubx* 基因克隆及多转录本分析

田晓轩, 谢 强, 卜文俊*

(南开大学生命科学学院昆虫学研究所, 天津 300071)

摘要: 针对非完全变态类昆虫发育关键基因的研究相对匮乏, 尤其缺少 *Hox* 基因家族的基因结构和序列信息。为了研究 *Hox* 基因家族成员之一的 *Ubx* 基因在非完全变态类昆虫中的结构特点, 本实验选取乳草长蝽 *Oncopeltus fasciatus* (Dallas, 1852) 为代表, 应用 RACE 和 RT-PCR 技术, 对其 *Ubx* 基因的全长开放阅读框进行克隆。结果显示: 乳草长蝽 *Ubx* 基因 (*Of-Ubx*) 开放阅读框全长 888 bp, 推测的完整蛋白含有 295 个氨基酸。Southern blot 证实 *Ubx* 基因以单拷贝形式存在且含有内含子。在 *Of-Ubx* 的 YPWM 基序和同源异型结构域之间存在选择性剪接位点, 可产生 3 种不同转录本。分析以上实验结果, 发现乳草长蝽与黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) 的 *Ubx* 基因拥有相似的剪接位置、剪接体组合和边界序列, 提示它们很可能具有相似的剪接机理。这是 *Ubx* 基因的多转录本现象在昆虫纲中果蝇属以外类群中的首次详尽报道。

关键词: 乳草长蝽; *Ubx* 基因; 克隆; 开放阅读框; 多转录本

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2011)04-0390-07

Cloning and multiple transcript analysis of *Ubx* in the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera: Lygaeidae)

TIAN Xiao-Xuan, XIE Qiang, BU Wen-Jun* (Institute of Entomology, College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: The researches focusing on key developmental genes in non-holometabola insects are relatively insufficient, especially for the reports on the structure and sequences of *Hox* genes. In order to understand the structure of *Ubx* gene (a member of *Hox* genes) in non-holometabola insects, we selected the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Dallas, 1852), as a representative, and used RACE and RT-PCR to clone the whole ORF of *Ubx* gene. The results showed that the full-length ORF of *Ubx* gene of *O. fasciatus* (*Of-Ubx*) is 888 bp, encoding 295 aa. Southern blot analysis verified that *Of-Ubx* exists as a single copy and has introns within it. We found alternative splicing sites between YPWM and homeodomain motif, which lead to 3 types of transcript variants. Compared with the *Ubx* gene from *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830), *Of-Ubx* had similar splicing sites, conserved elements around splicing sites and isoform combination, suggesting that their splicing mechanism should be similar. This is the first detailed report about the multiple transcripts of *Ubx* genes within Insecta except for the genus *Drosophila*.

Key words: *Oncopeltus fasciatus*; *Ubx* gene; cloning; open reading frame; multiple transcripts

作为关键而保守的发育基因, 同源异型基因族 (homeotic genes, *Hox*) 不仅在动物个体体节特征的发育上起着关键作用, 其功能进化也深刻影响了两侧对称动物身体模式 (zootype) 的演化和多样性形成 (McGinnis *et al.*, 1984; Slack *et al.*, 1993; 翟宗昭和杨星科, 2006)。围绕 *Hox* 基因的研究开辟了通过关键发育基因探究生物进化机理的新途径, 促使了进化发育生物学 (evolutionary developmental biology, Evo-Devo) 的诞生。

Ultrabithorax (*Ubx*) 基因是模式生物黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) 的 8 个 *Hox* 基因中被研究最为广泛的一个。其在果蝇的后胸及前腹节表达, 决定了包括上皮、中枢和外周神经系统以及中胚层组织中许多细胞系的体节特异性特征 (Akam, 1983; Weatherbee *et al.*, 1998; Hersh *et al.*, 2007)。Ubx 蛋白中的同源异型结构域 (homeodomain) 基序与下游靶标 DNA 结合, 其 N 端另一保守基序 YPWM 则与辅因子 Extradenticle

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30725005; J0930005)

作者简介: 田晓轩, 男, 1982 生, 天津人, 博士研究生, 主要从事昆虫分子系统学研究, E-mail: plantman@mail.nankai.edu.cn

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wenjunbu@nankai.edu.cn

收稿日期 Received: 2010-09-06; 接受日期 Accepted: 2011-01-30

(Exd)结合。在 *Ubx* 基因中, 这两基序之间有巨大的内含子和 3 个独立的小外显子, 分别命名为元件 B, microexon I(mI) 和 microexon II(mII), 对其选择性剪切产生了 6 种 *Ubx* 蛋白亚型(O'Connor *et al.*, 1988; Kornfeld *et al.*, 1989)。免疫化学反应证实, 6 种不同的蛋白亚型在果蝇胚胎中有不同的时空表达图式(Lopez and Hogness, 1991), 不同的 *Ubx* 亚型间不具完全可替代性(Reed *et al.*, 2010)。其中, Ia(含 mI 和 mII) 和 Ib(含 B, mI 和 mII) 型主要在上皮、中胚层和外周神经系统表达, IIa(含 mII) 和 IIb(含 B 和 mII) 型主要在中枢神经系统、上皮、中胚层和外周神经系统中表达, IVa(含 B) 和 IVb 型则主要在中枢神经系统中表达。6 种亚型的 *Ubx* 蛋白分别在表达组织中发挥决定体节特异性特征的作用(Reed *et al.*, 2010)。

在果蝇 *Ubx* 基因中, 对小外显子 B, mI 和 mII 的选择性剪接, 是通过分步进行的再剪接(resplicing)方式实现的。如果去除 5' 端外显子与小外显子 mI 间的内含子, 可在二者连接处产生保守的 5' 剪接位点, 作为之后一并剪除 mI 和下游内含子的信号。mII 也拥有相似的结构和推测剪接过程。采用这种再剪接机制, 可避免进行长距离剪接时剪接信号位点间的竞争(Hatton *et al.*, 1998)。目前认为, 小外显子以修饰调整同源异型结构域和 YPWM 之间距离的方式发挥作用。此外, 果蝇 *Ubx* 基因的 3' 端非编码区(untranslated region, UTR)也存在不同的转录本, 并在特定情况下受到 miRNA 的调控(Thomsen *et al.*, 2010)。

Ubx 基因的选择性剪接及其表达图式, 在果蝇属中广泛且保守存在(Bomze and López, 1994), 但在其他昆虫中暂未发现。事实上, 在昆虫纲中, 大量的研究只集中于全变态类模式昆虫。在非完全变态类昆虫中, 目前尚无 *Ubx* 基因完整蛋白编码信息和不同转录本报道。

乳草长蝽 *Oncopeltus fasciatus* (Dallas, 1852) 隶属于半翅目异翅亚目蝽次目红长蝽科, 又名美洲脊胸长蝽, 其中文名源于英文俗名 milkweed bug。该物种主要分布在美国东南部, 经常栖居于普通乳草类植物。作为半翅目中的模式昆虫, 因为易于饲养和解剖, 其被广泛应用于发育生物学研究已达半个多世纪(Butt, 1949)。作者以其作为非完全变态类昆虫的代表, 对其 *Ubx* 基因的开放阅读框(open reading frame, ORF)全长进行克隆, 并推测完整蛋白序列, 探讨其多转录本现象, 为今后 *Ubx* 基因结

构与功能研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

乳草长蝽 *O. fasciatus* 材料取自英国剑桥大学动物学系, 其最初来源为美国 Carolina Biological Supply 公司。在 25°C 培养条件下, 乳草长蝽从产卵到孵化若虫共需 7.5 ~ 8 d, 其后若虫经历 5 次蜕皮长为成虫。从卵至死亡共计 9 ~ 11 周。收集所有龄期的卵并置于液氮快速灭活, 随后标本保存于 -70°C 低温冰箱中。

本实验所用 PCR 引物由 Sigma 公司合成。SmartTM Race cDNA Amplification Kit 试剂盒购自 Clontech 公司, 逆转录酶、Taq 酶、DNase I (RNase free) 和地高辛标记与检测试剂盒购自 Roche 公司。胶回收试剂盒为 Qiagen 公司产品。pGEM[®]-T 载体购自 Promega 公司。Trizol 试剂和大肠杆菌 *Escherichia coli* DH5 α 感受态细胞购自 Invitrogen 公司。

1.2 乳草长蝽总 RNA 的提取和 cDNA 第一链的合成

因 *Ubx* 基因在乳草长蝽的胚胎阶段有持续的表达, 取所有龄期的卵混合物(约 50 ~ 100 mg), 按 Trizol 试剂操作说明提取总 RNA。加入总 RNA 和 M-MuLV RT 反转录试剂进行 cDNA 第一链的合成, 引物为 Oligo(dT)18 或特异性引物。经 DNase I 处理去除基因组 DNA。

1.3 乳草长蝽 *Ubx* 基因全长 ORF 与选择性剪接体的获得

根据乳草长蝽不完全 *Ubx* 基因序列(GenBank 登录号为 AY627359.1 和 AY627360.1) 设计 RACE 引物, 扩增 *Ubx* 的 5' 和 3' 末端, 实验步骤参照 SmartTM Race cDNA Amplification Kit 说明进行。根据测序得到的末端序列, 设计引物 *Ubx*UTRF 与 *Ubx*UTRR 扩增 *Ubx* ORF 全长, 并经测序证实。本实验所用引物序列见表 1。引物由英国 Geneservice 公司合成。

使用 *Ubx*UTRF 与 *Ubx*UTRR 作为一级引物, 以跨 YPWM 区域的 *Ubx*-sF 和跨同源异型结构域区域的 *Ubx*-sR 作为嵌套引物, 以 cDNA 为模板进行选择剪接体扩增。扩增程序为 94°C 预变性 1 min; 94°C 变性 30 s, 62°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 30 个循环; 72°C 延伸 10 min。产物经琼脂糖凝胶电泳后分出条带, 分别经切胶纯化后克隆并送 Source BioScience 公司完成测序。

表 1 本研究所用的引物
Table 1 Primer pairs used in this study

引物 Primer	序列 Sequence (5' - 3')	作用 Function
<i>Ubx</i> -F1	AGTCCACGCCCTCTGTACACCGA	3'RACE
<i>Ubx</i> -F2	CGATCAAGGAGCTGAACGAGCAGGAGAA	
<i>Ubx</i> -R1	TGATTGGCAGGCTGTCGATGGAGTTGT	5'RACE
<i>Ubx</i> -R2	GCTTCGTGGTGGACTAGTTGACGCTGGT	
<i>Ubx</i> UTRF	TTATFACGCTCCGTCAGTAGTCTGT	扩增全长编码区
<i>Ubx</i> UTRR	TACAAGATAAACGGAAGGTGGACGA	Amplification of the whole encoding region
<i>Ubx</i> -sF	ACTCCATCGACAGCCTGCCAATCAC	选择性剪接区域扩增
<i>Ubx</i> -sR	CCTTCTTCAGCTTCATCTCCTGTTCT	Amplification of the alternative splicing regions
T7	TAATACGACTCACTATAGGG	载体引物
SP6	TATTTAGGTGACACTATAG	Vector primers

1.4 乳草长蜡 *Ubx* 基因的基因组结构

在经限制性内切酶酶切的基因组 DNA 中, Southern blot 杂交可用来检测是否存在与探针同源的片段。作者使用 DIG High Prime DNA Labeling and Detection Starter Kit 标记 *Ubx* ORF 全长片段和 *Ubx* 5' 片段(包含 YPWM 上游区域, 但不包含多变剪接位点), 以制备地高辛标记探针。使用 *Eco*R I 等内切酶酶切乳草长蜡基因组 DNA。将酶切后 DNA 进行琼脂糖凝胶电泳, 各泳道上样量为 15 μ g, 并同时上样 DNA 分子量标准。电泳后, 将凝胶与格尺置于紫外灯下共同拍照, 据 DNA 分子量标准条带估算, 自点样孔向下不同距离处的分子量。使用传统印迹方法将 DNA 片断直接转移至尼龙滤膜上, 使用预先准备的地高辛标记探针杂交滤膜, 最后经 $2 \times$ SSC/0.1% SDS 及 $1 \times$ SSC/0.1% SDS 洗膜后, 使用 NBT/BCIP 方法显色, 显示出与探针同源的杂交片段。并根据与格尺距离的比较, 粗略估计杂交条带的分子量, 以此初步检测 *Ubx* 在乳草长蜡基因组中的拷贝数和内含子情况。

1.5 生物信息学和序列分析

使用 Primer 5.0 软件设计引物。使用 BioEdit 软件处理测序结果并预测蛋白一级序列。利用 NCBI 的 BLAST 和 ORF Finder 程序进行 *Ubx* 序列同源性和开放阅读框分析。利用 PROSITE 数据库 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/ppsearch>) 进行 *Ubx* 蛋白基序 (motif) 分析。利用 DNASTar Protean 软件预测 *Ubx* 蛋白二级结构和功能区域。

2 结果

2.1 乳草长蜡完整 *Ubx* 基因全长 ORF 的克隆

通过 RACE 与 RT-PCR 分析, 获得包含 *Ubx* 全

长 ORF 的 cDNA 片段 (GenBank 登录号为 HQ166177)。序列全长 1 075 bp, 5' UTR 158 bp, 3' UTR 29 bp, ORF 为 888 bp, 编码 295 个氨基酸。经 BLAST 确认, 该 cDNA 片段与先前报道的 *Ubx* 不完整序列 (GenBank 登录号分别为 AY627359.1 和 AY627360.1) 有高度一致性。但原序列 AY627359.1 中存在明显的读码框易位和起始密码子读取错误。由于存在选择性剪接, 总 RNA 中应含有 3 种不同 *Ubx* 亚型的转录本。此克隆为表达量最大的, 不含两个插入小外显子的转录本。

根据核酸信息预测蛋白质序列, 并使用 PROSITE 数据库进行基序分析, 发现了同源异型结构域 (HOMEBOX_1) 与 YPWM (ANTENNAPEPIA) 两个匹配基序。

2.2 乳草长蜡 *Ubx* 基因单拷贝及内含子检验

根据 Southern blot 结果, 全长 *Ubx* ORF 探针在乳草长蜡基因组 DNA 中杂交, 得到 *Eco*R I 5 kb 杂交条带, *Hind* III 10 kb 与 6 kb 条带和 *Nco* I / *Ssp* I 1.35 kb 与 800 bp 条带 (图 1: A)。 *Ubx* 5' 探针在乳草长蜡 *O. fasciatus* 基因组 DNA 中杂交, 得到 *Eco*R I >12 kb 条带, *Hind* III 10 kb 条带, *Pst* I \geq 12 kb 条带和 *Nco* I / *Ssp* I 800 bp 条带 (图 1: B)。

Ubx 5' 探针在各个酶切泳道仅得出一条杂交条带, 支持 *Ubx* 基因在乳草长蜡基因组中为单拷贝, 与其他昆虫中情况相同。全长 *Ubx* ORF 探针在 *Hind* III 和 *Nco* I / *Ssp* I 酶切泳道分别得到两条杂交条带, 而所有内切酶在全长 *Ubx* ORF 中并无酶切位点, 此结果支持在 *Ubx* 5' 的 YPWM 区域下游存在内含子, 酶切即发生在内含子中。含有 *Ubx* 5' 区域的 *Eco*R I >12 kb 条带和 *Pst* I \geq 12 kb 条带, 在全长 *Ubx* ORF 探针杂交中可能因区域背景较高而未能被分辨出来。

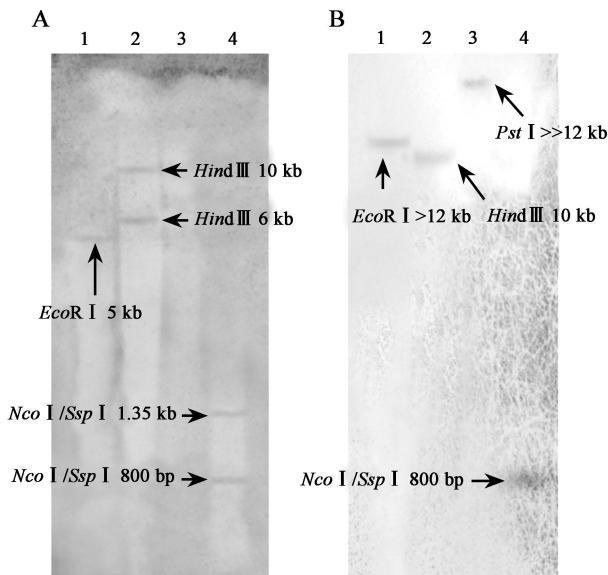


图 1 乳草长蝽 *Ubx* 基因 Southern blot 结果

Fig. 1 Southern blot of *Ubx* gene in *Oncopeltus fasciatus* genomic DNA

A: 使用全长 *Ubx* ORF 探针杂交 Hybridization with *Ubx* whole ORF probe;
 B: 使用 *Ubx* 5' 区域探针杂交 Hybridization with *Ubx* 5' region probe. 1: *EcoRI* 酶切 *EcoRI* digestion; 2: *HindIII* 酶切 *HindIII* digestion; 3: *PstI* 酶切 *PstI* digestion; 4: *NcoI/SspI* 酶切 *NcoI/SspI* digestion.

2.3 乳草长蝽 *Ubx* 基因的 3 种 cDNA

以 cDNA 为模板进行 RT-PCR 反应, 扩增 YPWM

与同源异型结构域之间选择性剪接常发区域, 目标产物长度约 250 ~ 350 bp, 经克隆测序后得到 3 种不同的 cDNA 序列形式, 分别命名为乳草长蝽 *O. fasciatus* *Of-Ubx-I* 型 (GenBank 登录号: HQ166175)、*Of-Ubx-II* 型 (GenBank 登录号: HQ166176) 和 *Of-Ubx-IV* 型 (GenBank 登录号: HQ166177)。序列比对发现, I 型 cDNA ORF 比 II 型 ORF 5' 端多 45 bp, 将此片段命名为小外显子 I (*O. fasciatus* microexon I, *Of-mI*); II 型 ORF 较 IV 型 ORF 5' 端多 48 bp, 将此片段命名为小外显子 II (*O. fasciatus* microexon II, *Of-mII*)。

2.4 乳草长蝽 *Ubx* 基因的选择性剪接体

通过 Southern blot 分析, 确定 *Ubx* 基因应为单拷贝基因。因此, 以上发现的 3 种转录本应为基于相同的基因组 DNA, 经过选择性剪接产生。序列信息对比见图 2。

比较其与黑腹果蝇的选择性剪接体, 可发现两者剪接发生位置、两侧外显子序列及剪接体组成都很相似。但比较两者间小外显子序列, 相应片段核苷酸的序列一致性低于 36%, 氨基酸则低于 15%。剪接位点信息的比较见表 2。这暗示了进化限制更多的是针对多变剪接的位置与长度而非一级序列。

A

Ubx-sF

ACTCCATCGACAGCCTGCCAATCACACATTTTACCCATGGATGGCCATTGCAGgt 55
aagttggaacatggcctagcgggaagaacactcgcaagacgagggtaaggcggagtatacgacagagggaa 126
ggagctgcattggctgttgaGAGCGAACGGCCTCCGACGGCGCGGACGACAGACCTAC 184
 ACGAGGTACCAGACGCTGGAGCTGGAGAAGGAGTTCCACACGAACCACTACCT 237
 CACGAGGCGGCGGAGGGTAGAGATGGCCCACGCCCTCTGTCTCACCGAGCGGC 290
 AGATCAAGATCTGGTTCCAGAACAGGAGGATGAAGCTGAAGAAGG 335

Ubx-sR

B

LHRQPANHTFYPWMAIAGKLEHGLAEHSDDEGKAELYDRGKELHWLLRAN 51
 GLRRRGRQTYTRYQTLELEKEFHNTNHYLTRRRRVEMAHALCLTERQIKIWFQ 103
 NRRMKLKK 111

图 2 乳草长蝽选择性剪接体的部分核苷酸(A)和氨基酸序列(B)

Fig. 2 Partial nucleotide (A) and amino acid sequences (B) of *Ubx* cDNA alternative splicing region in *Oncopeltus fasciatus*

A: 核苷酸序列 Nucleotide sequence. 下划线指示所用引物位置, 斜体小写字母指示小外显子 mI, 加下划线斜体小写字母指示小外显子 mII 区域 The underlined letters indicate the sites of primers, the italic lowercase letters indicate microexon I, and the underlined italic lowercase letters indicate microexon II; B: 氨基酸序列 Amino acid sequence. 下划线指示 mI 区域, 方框指示 mII 区域 The underlined letters indicate the region of microexon I, and the letters with frame indicate the region of microexon II.

表 2 黑腹果蝇与乳草长蜡选择性剪接位点比较
Table 2 The comparison of alternative splicing sites between *Drosophila melanogaster* and *Oncopeltus fasciatus*

动物模型 Animal model	Of-mI			Of-mII			3'外显子 3' Exon				
	剪接位点 5'端 (aa) 5' terminal of the splicing site (amino acid)	5'外显子/mI (nt) 5' Exon/microexon I (nucleotide)	长度 (nt) Length (nucleotide)	氨基酸序列 Amino acid sequence	氨基酸序列 Amino acid sequence	5'外显子/mII (nt) 5' Exon/microexon II (nucleotide)	长度 (nt) Length (nucleotide)	氨基酸序列 Amino acid sequence	氨基酸序列 Amino acid sequence	一致性指标 (%) Index of conformity of amino acid sequence	剪接位点 3'端 (aa) 3' terminal of the splicing site (amino acid)
黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	TFYPWMAIAG	CAC/GUAAGA	51	KIRSDLTQYGGIST DMG		CAC/GUAAGA	51	KRYSESLAGSL LPDWLC			TNGLRRRRGRQ
乳草长蜡 <i>Oncopeltus fasciatus</i>	TFYPWMAIAG	CAC/GUAAGU	45	KLEHGLAEHSQ DEG		CAC/GUAAGC	48	KAELYDRGKEL HWLLIR		11.7	ANGLRRRRGRQ

mI 和 mII 的 5' 边界序列符合外显子/内含子的 GT-AG 原则。进一步比较外显子 E5' 与 mI, E5' 与 mII 两处连接位点, 发现连接处产生的保守区域与果蝇中极为相似, 且均为潜在的 5' 端剪接位点(表 2)。这暗示了 mI 和 mII 可陆续与 E5' 拼接, 并被处

理为内含子。3 个选择性剪接体是采用与果蝇相同的, 结合外显子跳跃(exon skip)和 5' 端选择性剪接(alternative 5' splicing)方式的再剪接机制形成的(图 3)。该剪接方式报道很少, 在 *Hox* 基因家族中仅见于果蝇 *Ubx* 基因的报道(Hatton *et al.*, 1998)。

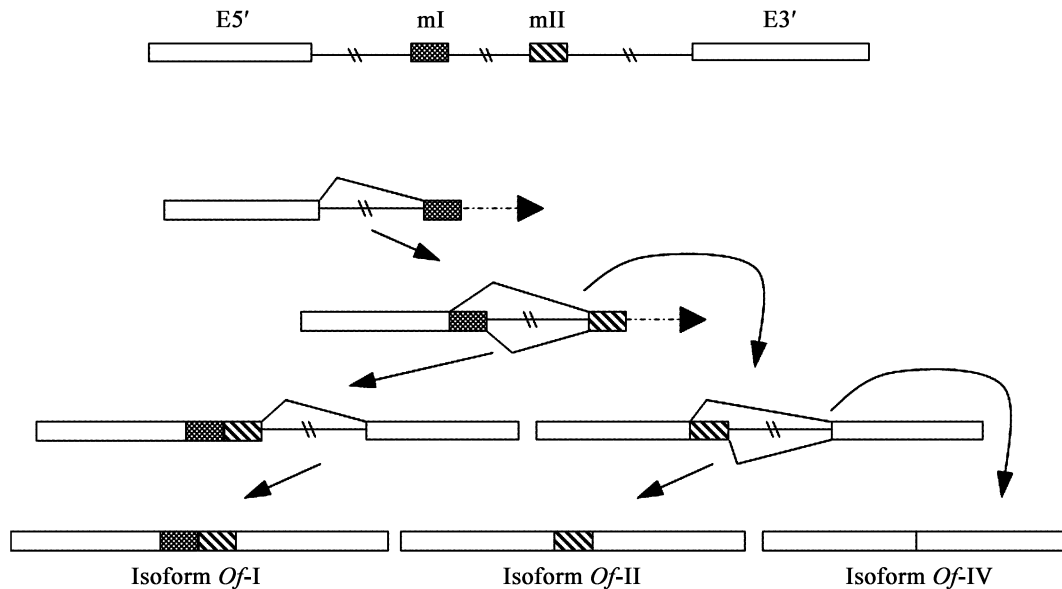


图 3 乳草长蜡 *Ubx* 基因选择性剪接机制

Fig. 3 The mechanism of alternative splicing of *Ubx* gene in *Oncopeltus fasciatus*

E5': 5'端外显子 Exon 5'; mI: 小外显子 I Microexon I; mII: 小外显子 II Microexon II; E3': 3'端外显子 Exon 3'; Isoform Of-I: I 型乳草长蜡 *Ubx* 转录本 Transcript of *Ubx* gene in *O. fasciatus*, type I; Isoform Of-II: II 型乳草长蜡 *Ubx* 转录本 Transcript of *Ubx* gene in *O. fasciatus*, type II; Isoform Of-IV: IV 型乳草长蜡 *Ubx* 转录本 Transcript of *Ubx* gene in *O. fasciatus*, type IV.

3 讨论

由 *Of-Ubx*-I 型、II 型和 IV 型 cDNA 分别推导氨基酸序列, 并使用 DNASTar Protean 软件进行小外显子 mI 和 mII 蛋白序列的二级结构、亲水性和柔韧性等的预测。根据 Garnier-Robson 算法和 Kyte-Doolittle 算法, mI 与 mII 区域呈 α -螺旋结构, 并具明显的亲水性。比较黑腹果蝇 *Ubx* 基因中的小外显子片段, 其具亲水性和柔韧性, 但二级结构并不明确, 推测为 β -折叠或转角结构。据此猜测, 选择性剪接中小外显子的二级结构在进化上并不保守, 而亲水性对其可能更具意义。

对以上证据进行综合分析, 可以确定在黑腹果蝇和乳草长蜡之间, *Ubx* 基因的结构, 尤其是选择性剪接现象具有高度的相似性。选择性表达的小外显子, 均是在保守的位置, 通过调整同源异型结构域和 YPWM 之间的距离来发挥作用, 其序列和二

级结构则并不保守。二者均采用少见的再剪接机制, 提示了 YPWM 和同源异型结构域间距离的分步调节, 可能是实现不同转录本功能多元化的主要方式。

此外, *Ubx* 基因还存在不同的 3' UTR 剪接, 相对于 AY627360.1 中的序列, 本实验通过 3' RACE 获取的 3' UTR 区域长度更短 (GenBank 登录号: HQ179764), 且两者都具有末尾 ploy A 信号。这也暗示了乳草长蜡与黑腹果蝇类似, 更短的 3' UTR 具有更少的 miRNA 调控位点。利用不同长度 3' UTR 的表达选择, 可以使 *Ubx* 基因接受不同程度的 miRNA 转录后调控(Thomsen *et al.*, 2010)。

致谢 感谢英国剑桥大学动物系博物馆分子实验室 Michael Akam 教授, 本实验部分工作在其实验室内完成, 特此致谢。

参考文献 (References)

Akam ME, 1983. The location of *Ultrabithorax* transcripts in *Drosophila*

- tissue sections. *EMBO J.*, 2(11): 2075–2084.
- Bomze HM, López AJ, 1994. Evolutionary conservation of the structure and expression of alternatively spliced *Ultrabithorax* isoforms from *Drosophila*. *Genetics*, 136(3): 965–977.
- Butt FH, 1949. Embryology of the Milkweed Bug, *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera). Agriculture Experiment Station, Cornell University.
- Hatton AR, Subramaniam V, Lopez AJ, 1998. Generation of alternative *Ultrabithorax* isoforms and stepwise removal of a large intron by resplicing at exon-exon junctions. *Mol. Cells*, 2(6): 787–796.
- Hersh BM, Nelson CE, Stoll SJ, Norton JE, Albert TJ, Carroll SB, 2007. The UBX-regulated network in the haltere imaginal disc of *D. melanogaster*. *Dev. Biol.*, 302(2): 717–727.
- Kornfeld K, Saint RB, Beachy PA, Harte PJ, Peattie DA, Hogness DS, 1989. Structure and expression of a family of *Ultrabithorax* mRNAs generated by alternative splicing and polyadenylation in *Drosophila*. *Genes & Development*, 3(2): 243–258.
- Lopez AJ, Hogness DS, 1991. Immunochemical dissection of the *Ultrabithorax* homeoprotein family in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88(22): 9924–9928.
- McGinnis W, Garber RL, Wirz J, Kuroiwa A, Gehring WJ, 1984. A homologous protein-coding sequence in *Drosophila* homeotic genes and its conservation in other metazoans. *Cell*, 37(2): 403–408.
- O'Connor MB, Binari R, Perkins LA, Bender W, 1988. Alternative RNA products from the *Ultrabithorax* domain of the bithorax complex. *Embo. J.*, 7(2): 435–445.
- Reed HC, Hoare T, Thomsen S, Weaver TA, White RA, Akam M, Alonso CR, 2010. Alternative splicing modulates Ubx protein function in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 184(3): 745–758.
- Slack JM, Holland PW, Graham CF, 1993. The zootype and the phylotypic stage. *Nature*, 361(6412): 490–492.
- Thomsen S, Azzam G, Kaschula R, Williams LS, Alonso CR, 2010. Developmental RNA processing of 3' UTRs in Hox mRNAs as a context-dependent mechanism modulating visibility to microRNAs. *Development*, 137(17): 2951–2960.
- Weatherbee SD, Halder G, Kim J, Hudson A, Carroll S, 1998. *Ultrabithorax* regulates genes at several levels of the wing-patterning hierarchy to shape the development of the *Drosophila* haltere. *Genes Dev.*, 12(10): 1474–1482.
- Zhai ZS, Yang XK, 2006. Hox genes and insect wing modification. *Acta Entomologica Sinica*, 49(6): 1027–1033. [翟宗昭, 杨星科, 2006. Hox 基因与昆虫翅的特化. 昆虫学报, 49(6): 1027–1033]

(责任编辑: 赵利辉)