

引用格式:

张佳欣, 高旭泽, 陈梦君, 宋宇轩, 荆欣, 刘治滩, 冯佩林, 陈大福, 郭睿. 意大利蜜蜂 Hippo 信号通路相关基因及其全长转录本的鉴定与分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(5): 529–534.
ZHANG J X, GAO X Z, CHEN M J, SONG Y X, JING X, LIU Z T, FENG P L, CHEN D F, GUO R. Identification and investigation of genes and their full-length transcripts relative to Hippo signaling pathway in *Apis mellifera ligustica*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(5): 529–534.
投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



意大利蜜蜂 Hippo 信号通路相关基因 及其全长转录本的鉴定与分析

张佳欣¹, 高旭泽¹, 陈梦君¹, 宋宇轩¹, 荆欣¹, 刘治滩¹, 冯佩林¹, 陈大福^{1,2}, 郭睿^{1,2*}

(1.福建农林大学动物科学学院(蜂学学院), 福建 福州 350002; 2.福建省蜂疗研究所, 福建 福州 350002)

摘 要: 采用 Blast 工具将已鉴定到的意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*, 简称意蜂)全长转录本比对 Nr 数据库, 共鉴定到意蜂 Hippo 信号通路中相关的 49 个基因及其 550 条全长转录本。运用 Gffcompare 软件将鉴定到的 Hippo 信号通路相关全长转录本与西方蜜蜂参考基因组(Amel_HAv3.1)上注释的转录本进行比较, 分别延长西方蜜蜂参考基因组注释到 Hippo 信号通路的 9 个基因的 5' UTR 和 7 个基因的 3' UTR。通过 Astalavista 软件鉴定到 Hippo 信号通路相关的 4 个基因的 7 次可变剪切(AS)事件, 包括 2 次外显子跳跃、2 次内含子保留和 3 次可变 5' 端剪接。通过 PCR 验证了 1 个基因的 AS 事件真实性。利用 TAPIS pipeline 鉴定到意蜂 Hippo 信号通路相关的 24 个基因含有 1 个及以上可变多聚腺苷酸化(APA)位点, 其中含有 1 个 APA 位点的基因数量最多。通过 TBtool 软件鉴定 APA 位点上游 motif 的一致性序列 HVNCCNBNDYVDVHVNDVDCNBBDDNNHNNVNNVMNN。

关 键 词: 西方蜜蜂; 意大利蜜蜂; Hippo 信号通路相关基因; 全长转录本

中图分类号: Q969.557.7

文献标志码: A

文章编号: 1007–1032(2023)05–0529–06

Identification and investigation of genes and their full-length transcripts relative to Hippo signaling pathway in *Apis mellifera ligustica*

ZHANG Jiabin¹, GAO Xuze¹, CHEN Mengjun¹, SONG Yuxuan¹, JING Xin¹,
LIU Zhitan¹, FENG Peilin¹, CHEN Dafu^{1,2}, GUO Rui^{1,2*}

(1.College of Animal Sciences (College of Bee Science), Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2.Apitherapy Research Institute of Fujian Province, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: The previously identified full-length transcripts of *Apis mellifera ligustica* were aligned to the Nr database by Blast tool, a total of 49 genes and their 550 full-length transcripts relevant to the Hippo signaling pathway were identified. The identified 550 full-length transcripts relative to the Hippo signaling pathway were compared with the annotated transcripts in the *Apis mellifera* (*A. mellifera*) reference genome (Amel_HAv3.1) using the gffcompare software, the 5' UTRs of 9 genes and the 3' UTRs of 7 genes annotated to the Hippo signaling pathway in the *A. mellifera* reference genome were respectively prolonged. Based on the Astalavista software, 7 alternative splicing (AS) events in 4 genes were identified, including two exon skipping, two intron retention and three alternative 5' splicing sites. The authenticity of AS events in 1 gene was verified by PCR. On basis of the TAPIS pipeline, 24 genes associated with the Hippo signaling pathway were identified to contain at least 1 alternative polyadenylation (APA) sites individually; among

收稿日期: 2023–03–21

修回日期: 2023–08–25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32172792); 国家现代农业产业技术体系专项资金项目(CARS–44–KXJ7); 福建省自然科学基金面上项目(2022J01131334); 福建农林大学科技创新专项基金项目(KFb22060XA)

作者简介: 张佳欣(1998—), 女, 湖北十堰人, 硕士研究生, 主要从事蜜蜂分子生物学研究, jiaxin19981005@163.com; *通信作者, 郭睿, 博士, 副教授, 主要从事昆虫-病原互作研究, fafu_ruiguo@126.com

them, the genes containing 1 APA site were the most abundant. By using the TBtool software, the consensus sequence of HVNCCNBNDYVDVVHVNDVVDYCNBBDDNNHNNVNNVMNN was identified.

Keywords: *Apis mellifera*; *Apis mellifera ligustica*; Hippo signaling pathway-related genes; full-length transcript

西方蜜蜂(*Apis mellifera*) 在全球广泛分布, 常用于农作物授粉、养蜂生产和科学研究, 具有重要的生态和经济价值^[1]。意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*, 简称意蜂)是西方蜜蜂的四大亚种之一, 具有优良的生产性能。WALLBERG 等^[2]组装和注释了西方蜜蜂染色体级别基因组(Amel_HAv3.1)。

Hippo 信号通路在黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*)中被首次发现^[3], 作为一条进化较为保守的激酶级联反应链, 在细胞增殖、组织生长、内环境稳态、免疫防御及病原侵染等诸多生物学过程中起关键作用^[4]。陈庆等^[5]在果蝇中鉴定到 Hippo 通路上的 4 种主要激酶, 即 Hippo(Hpo)、Salvador(Sav)、Warts(Wts)和 Mob 肿瘤抑制因子(Mats), 发现它们中的任何一种失活都会促进细胞生长和抑制细胞凋亡而导致细胞无限增殖。LI 等^[6]发现家蚕(*Bombyx mori*)中 *BmHpo*、*BmSav*、*BmWts*、*BmMats* 和 *BmYki* 基因的序列高度保守, 在家蚕 BmN-SWU1(NS)细胞系中上调和下调 *BmHpo* 后, *BmHpo* 抑制细胞增殖, 说明 Hippo 信号通路参与调控 BmN-SWU1(NS)细胞的增殖。

目前, 全长转录组研究仅在果蝇和家蚕等少数昆虫中见诸报道, 多数昆虫的相关研究仍然缺失。蜜蜂的全长转录组研究迄今仅有 2 例报道: ZHENG 等^[7]通过纳米孔测序, 发现在西方蜜蜂蜂王和工蜂级型发育过程中转录本的表达量发生动态变化, 基因的可变多聚腺苷酸化(APA)和可变剪切(AS)导致转录本结构变得复杂; 范小雪等^[8]利用纳米孔测序技术对意蜂工蜂中肠组织 RNA 进行测序并获得了长读段数据。在范小雪等研究基础上, 笔者运用生物信息学方法鉴定意蜂 Hippo 信号通路相关基因和全长转录本, 进而对基因的 AS 事件和 APA 位点进行鉴定, 以期展示意蜂 Hippo 信号通路相关基因和全长转录本的全面信息, 为开展相关基因和剪接体的功能研究提供参考。

1 意蜂纳米孔测序长读段数据来源

范小雪等^[8]制备意蜂 7 日龄和 10 日龄工蜂中肠样品, 完成了 RNA 提取、cDNA 建库、纳米孔测序及数据质控, 获得了长读段测序数据, 以此长读段测序数据作为本研究数据来源。

2 研究方法

2.1 意蜂 Hippo 信号通路相关基因和全长转录本的鉴定

参照蔡宗兵等^[9]的方法, 使用 Blast 工具(采用默认参数)将鉴定到的意蜂全长转录本序列比对到 Nr 数据库(<https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/db/FASTA/>), 根据注释信息筛选 Hippo 信号通路相关基因和全长转录本。

2.2 西方蜜蜂参考基因组注释的 Hippo 信号通路相关基因的结构优化

按照杜宇等^[10]的方法, 利用 gffcompare(<http://ccb.jhu.edu/software/stringtie/gffcompare.shtml>)将鉴定到的 Hippo 信号通路相关全长转录本与西方蜜蜂参考基因组(Amel_HAv3.1)上已注释的转录本进行比较, 优化已注释基因的结构, 并鉴定未注释的新基因和新转录本。如果在已注释基因边界外区域有比对上的读段, 则将基因的非翻译区(UTR)向上游或下游延伸, 以修正边界。

2.3 意蜂 Hippo 信号通路相关基因的 AS 事件鉴定及 PCR 验证

参照陈华枝等^[11]的方法, 运用 Astalavista 软件鉴定意蜂工蜂 Hippo 信号通路相关基因的 AS 事件, 采用默认参数。进一步统计内含子保留(IR)、外显子跳跃(ES)、可变 5'端剪接(A5SS)等 3 种类型的 AS 事件数量。

随机选择肌动蛋白克隆 205 样异构体 X1 基因(AS 类型为 ES)进行 PCR 验证, 以验证 Hippo 信号通路中的 AS 事件准确性。根据核苷酸序列设计跨剪接位点的特异性引物(上游 AACAAAGAACGGTG,

下游 TCATCTCCGACCAACCAG)。以肌动蛋白基因 *actin*(GeneBank ID LOC107999330)作为内参,并设计相应的特异性引物(上游 TTATATGCCAACAC TGTCTTT,下游 AGAATTGATCCACCAATCCA)。委托上海生工生物工程有限公司合成引物。使用 RNA 抽提试剂盒(Promega)分别提取意蜂 7 日龄和 10 日龄工蜂中肠样品的总 RNA,等量混合后作为模板进行反转录,得到的 cDNA 作为模板进行 PCR 扩增。反应体系和程序按照范小雪等^[10]的报道设置。PCR 产物经 3%的琼脂糖凝胶电泳检测后,使用核酸凝胶成像仪(Bio-red)观察和拍照。

2.4 意蜂 Hippo 信号通路相关基因的 APA 位点鉴定

参照杜宇等^[12]的方法,利用 TAPIS pipeline^[13]鉴定酚氧化酶及丝氨酸蛋白酶相关基因的 APA 位点,参数设置: -meme-minw 6, -meme-maxw 6, -norc, -fimo-skip, -spamo-skip。采用 TBtools v1.046 软件分析所有 APA 位点的上游 50 bp 的序列特征,进而鉴定出 motif。

3 结果与分析

3.1 意蜂 Hippo 信号通路相关基因和全长转录本的鉴定

采用 Blast 工具,将已鉴定到的意蜂全长转录本比对 Nr 数据库,共鉴定到意蜂 Hippo 信号通路中相关的 49 个基因及其 550 条全长转录本。由于鉴定到的相关基因和全长转录本数量较多,仅在表 1 中展示意蜂 Hippo 信号通路相关的 15 个基因及其全长转录本。注释到 14-3-3 蛋白 ε 全长转录本最多,为 14 条;注释到转录增强因子 TEF-1 亚型 X4 的全长转录本为 13 条;注释到支架蛋白,肌动蛋白、克隆 205 蛋白,肌动蛋白、肌肉,丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 STE20,类 RasGTP 结合蛋白,未特征蛋白, G1/s 特异性周期蛋白 EL, LIM 结构域蛋白,类克隆 403 蛋白 3,未特征蛋白、转录变体 X3,蛋白 Wnt-1,互作蛋白类 RIP3-like 和 Ras 关联结构域蛋白 2 的全长转录本均为 1 条(表 1)。

表 1 意蜂 Hippo 信号通路相关基因和全长转录本的信息

| Table 1 Detailed information about genes and full-length transcripts relative to Hippo signaling pathway in <i>Apis mellifera ligustica</i> | | |
|---|--|--------------------|
| 基因 ID | 转录本 ID | Nr 数据库注释 |
| LOC408951 | rna22499, rna22500, rna22501, rna22502, rna22505, rna22504, rna22503, rna22506, rna22508, rna22507, rna22509, rna22511, rna22510, rna22512 | 14-3-3 蛋白 ε |
| LOC408616 | rna613, rna614, rna615, rna616, rna617, rna618, rna619, rna620, rna621, rna622, rna623, rna624, rna625 | 转录增强因子 TEF-1 亚型 X4 |
| LOC552413 | rna10228 | 支架蛋白 |
| LOC551176 | rna11068 | 肌动蛋白, 克隆 205 蛋白 |
| LOC725404 | rna11069 | 肌动蛋白, 肌肉 |
| LOC551659 | rna12505 | 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 STE20 |
| LOC552419 | rna12889 | 类 RasGTP 结合蛋白 |
| LOC725708 | rna13360 | 未特征蛋白 |
| LOC411327 | rna17403 | G1/s 特异性周期蛋白 EL |
| LOC408431 | rna23947 | LIM 结构域蛋白 |
| LOC552637 | rna27385 | 类克隆 403 蛋白 3 |
| LOC107964603 | rna11771 | 未特征蛋白, 转录变体 X3 |
| LOC113218545 | rna18892 | 互作蛋白类 RIP3-like |
| LOC413502 | rna2829 | 蛋白 Wnt-1 |
| LOC724888 | rna8593 | Ras 关联结构域蛋白 2 |

3.2 西方蜜蜂参考基因组注释到 Hippo 信号通路的基因结构优化

对西方蜜蜂参考基因组上注释到 Hippo 信号通路上的 16 个基因进行了结构优化。其中,正链和

负链延长的基因分别为 10 个和 6 个;5'端延长的基因有 9 个,延长长度 69 445~1 863 562 bp;3'端延长的基因有 7 个,延长长度 1474~1 179 780 bp(表 2)。

表 2 西方蜜蜂参考基因组上注释到 Hippo 信号通路的基因结构优化结果

| Table 2 The results of structural optimization of genes annotated to the Hippo signaling pathway in <i>A. mellifera</i> reference genome | | | | | |
|--|--------------------------------|-----|--------|---------|---------|
| 基因 ID | 优化后的区域 | 正负链 | 优化后的末端 | 原始位置 | 优化后的位置 |
| LOC411327 | NW_016019231.1:443246–444877 | – | 5′ | 443387 | 443246 |
| LOC409286 | NW_016017900.1:795882–799534 | + | 5′ | 796182 | 795882 |
| LOC552413 | NW_016018566.1:2975098–2990710 | + | 5′ | 2978716 | 2975098 |
| LOC413669 | NW_016018200.1:291402–294039 | – | 3′ | 293860 | 294039 |
| LOC550710 | NW_016019064.1:739924–743671 | + | 5′ | 739945 | 739924 |
| LOC550710 | NW_016019064.1:739924–743671 | + | 3′ | 743303 | 743671 |
| NM_001185145.1 | NW_016019108.1:1863259–1878104 | – | 5′ | 1863562 | 1863259 |
| LOC726958 | NW_016019208.1:22990–29197 | + | 3′ | 28972 | 29197 |
| LOC408292 | NW_016019319.1:69445–71528 | – | 5′ | 69657 | 69445 |
| LOC408292 | NW_016019319.1:69445–71528 | – | 3′ | 71484 | 71528 |
| LOC412617 | NW_016019663.1:1175720–1179708 | + | 5′ | 1175731 | 1175720 |
| LOC412617 | NW_016019663.1:1175720–1179708 | + | 3′ | 1179171 | 1179708 |
| LOC552637 | NW_016019852.1:164382–167797 | – | 5′ | 165067 | 164382 |
| LOC413502 | NW_016017548.1:148–4067 | + | 3′ | 1474 | 4067 |
| LOC413440 | NW_016018245.1:132423–165928 | + | 5′ | 132500 | 132423 |
| LOC413440 | NW_016018245.1:132423–165928 | + | 3′ | 164375 | 165928 |

3.3 意蜂 Hippo 信号通路相关基因的 AS 事件及验证结果

意蜂 Hippo 信号通路相关的 49 个基因中, 鉴定到 4 个基因的 7 次 AS 事件, 涉及外显子跳跃(ES)、内含子保留(IR)和可变 5′端剪接(A5SS)等 3 种类型(表 3), 其中, 肌动蛋白、克隆 205 蛋白编码基因(GeneBank 登录号 LOC551369)发生 2 次外显子跳

跃, 未表征蛋白编码基因(GeneBank 登录号 LOC107964603)发生 2 次内含子保留, 丝氨酸苏氨酸蛋白磷酸酶 2a 催化亚基编码基因(GeneBank 登录号 LOC550710)和 14–3–3 蛋白 ε 编码基因(GeneBank 登录号 LOC408951)分别发生 2 次和 1 次可变 5′端剪接(表 3)。

表 3 意蜂 Hippo 信号通路相关基因的 AS 事件信息

| Table 3 Detail information about AS events of genes related to Hippo signaling pathway in <i>Apis mellifera ligustica</i> | | | | |
|---|--|----------|---------------------------------|---------------------|
| 基因 ID | 转录本 ID | AS 事件类型 | 区域 | Nr 数据库注释 |
| LOC551369 | ONT.2960.15/ONT.2960.21,ONT.2960.16/ONT.2960.20 | 外显子跳跃 | NC_037642.1:1313313 3–13145381C | 肌动蛋白, 克隆 205 蛋白 |
| LOC551369 | ONT.2960.15/ONT.2960.19,ONT.2960.18/ONT.2960.20 | 外显子跳跃 | NC_037642.1:1313313 5–13145387C | 肌动蛋白, 克隆 205 蛋白 |
| LOC107964603 | ONT.3171.2,ONT.3171.1 | 内含子保留 | NC_037643.1:6522201 –6530388C | 未特征蛋白 |
| LOC107964603 | ONT.3171.1/ONT.3171.2/ONT.3171.4/ONT.3171.5/ONT.3171.8,ONT.3171.7 | 内含子保留 | NC_037643.1:6522199 –6530388C | 未特征蛋白 |
| LOC550710 | ONT.3443.1/ONT.3443.4/ONT.3443.8/rna12889,ONT.3443.10 | 可变 5′端剪接 | NC_037643.1:1658785 5–16592972W | 丝氨酸苏氨酸蛋白磷酸酶 2a 催化亚基 |
| LOC550710 | ONT.3443.9,ONT.3443.1/ONT.3443.10/ONT.3443.8/rna12889 | 可变 5′端剪接 | NC_037643.1:1658782 2–16592974W | 丝氨酸苏氨酸蛋白磷酸酶 2a 催化亚基 |
| LOC408951 | ONT.3584.2/ONT.3584.3/ONT.3584.5/ONT.3584.6/ONT.3584.9,ONT.3584.1/ONT.3584.7 | 可变 5′端剪接 | NC_037644.1:2330021 –2336448W | 14–3–3 蛋白 ε |

C 和 W 分别代表负义链和正义链。

图 1–A 显示外显子跳跃类型。琼脂糖凝胶电泳结果显示, 通过 PCR 扩增鉴定到肌动蛋白异构体 X2 基因的 2 个目的片段, 大小分别约为 659 bp 和

375 bp(图 1–B), 与基于 Nanopore 测序数据的预测结果(图 1–C)一致, 证实了该 AS 事件的真实性。

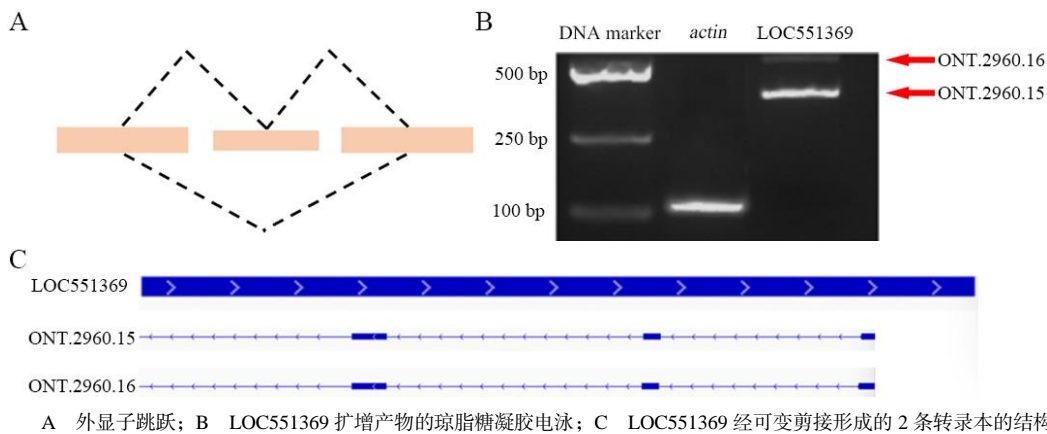


图 1 意蜂肌动蛋白异构体 X2 基因的可变剪接事件验证

Fig. 1 Validation of variable splicing events in the *actin* isoform X2 gene of *Apis mellifera ligustica*

3.4 意蜂 Hippo 信号通路相关基因的 APA 位点鉴定结果

在意蜂 Hippo 信号通路相关的 49 个基因中, 鉴定到 24 个基因含有 1 个及以上 APA 位点(表 4)。其中, 含有 1 个 APA 位点的基因数量最多, 为 4 个; 含有 2 和 3 个 APA 位点的基因均为 3 个; 含有 4 个 APA 位点的基因有 2 个(图 2-A)。由于鉴定到

的相关基因数量较多, 仅在表 4 中展示意蜂 Hippo 信号通路相关的 5 个基因及其全长转录本, 其中含有 1、2、3、4 和 5 个 APA 位点的相关基因分别展示 1 个。此外, 在 Hippo 信号通路相关基因的 APA 位点上游鉴定到 motif 的一致性序列为 HVNCCNBNDYVDVHVNBVDYCNBBDNNN HNNVNNVMNN(图 2-B)。

表 4 意蜂 Hippo 信号通路相关的 5 个基因的 APA 位点信息

| Table 4 Information about APA sites in five genes associated with the Hippo signaling pathway in <i>Apis mellifera ligustica</i> | | | | |
|--|-----|--------|---------|---|
| 基因 ID | 正负链 | 比对上的读段 | APA 位点数 | APA 位点 |
| LOC409286 | + | 74 | 5 | 1633356, 1633111, 1633390, 1634215, 1624172 |
| LOC725404 | + | 2 | 1 | 967 |
| LOC408951 | - | 25 | 3 | 517460, 526295, 526000 |
| LOC552419 | + | 129 | 4 | 743655, 743427, 74123 |
| LOC552545 | + | 232 | 2 | 13154403, 13154067 |

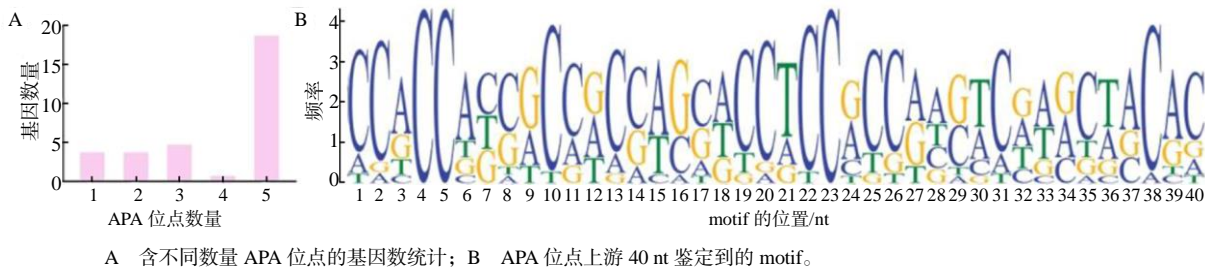


图 2 意蜂 Hippo 信号通路相关基因所含的 APA 位点及其上游的 motif

Fig.2 APA sites included in genes relevant to the Hippo signaling pathway in *Apis mellifera ligustica* and motifs located at upstream of APA sites

4 结论与讨论

基于前期获得的纳米孔长读段数据, 本研究共鉴定到意蜂 Hippo 信号通路相关的 49 个基因及其 550 条全长转录本, 并对西方蜜蜂参考基因组上注释到 Hippo 信号通路的 9 个基因的 5'UTR 和 7 个基因的 3'UTR 分别进行了延长。共鉴定到意蜂 Hippo 信号通路相关的 3 个基因的 7 次 AS 事件, 涉及 ES、

IR 和 A5SS 等 3 种类型。推测上述 3 个基因通过发生 ES、IR 和 A5SS 影响意蜂 Hippo 信号通路, 进而调节器官大小及个体发育等过程。

本研究共鉴定到意蜂 Hippo 信号通路相关的 24 个基因含有 1 个及以上 APA 位点, 基因占比约为 49%, 说明意蜂 Hippo 信号通路相关基因普遍发生 APA 且存在丰富的 APA 位点, 与白蝇(*Trialeurodes vaporariorum*)^[14]、草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)^[15]

和黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)^[16]等昆虫中的研究结果相似。另外,在APA位点的上游鉴定到 motif 的一致性序列为 HVNCCNBNDYVDVHVH NDBVDYCNBBDNNHNNVNNVMNN,与前人在其他动植物如小鼠(*Mus musculus*)^[17]、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)^[18]和东方蜜蜂微孢子虫(*Nosema ceranae*)^[11]中鉴定到 motif 均不相同,表明不同物种基因APA位点上游的 motif 具有种属特异性。这些 motif 如何调节意蜂APA位点形成,进而影响Hippo信号通路,需进一步研究。

参考文献:

- [1] 曾志将. 养蜂学[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2017: 10–11.
- [2] WALLBERG A, BUNIKIS I, PETTERSSON O V, et al. A hybrid de novo genome assembly of the honeybee, *Apis mellifera*, with chromosome-length scaffolds[J]. BMC Genomics, 2019, 20(1): 1–19.
- [3] 李俊宏, 令狐月月, 陈兰芬. Hippo 信号通路调控免疫细胞稳态维持的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(15): 1793–1801.
- [4] 李雅雯, 程保辉, 赵海亮. Hippo 通路在适应性免疫中的作用研究进展[J]. 医学综述, 2022, 28(4): 654–659.
- [5] 陈庆, 殷焦. Hippo 通路在感染及肿瘤免疫中的相关作用研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2019, 44(9): 791–796.
- [6] LI N N, TONG X L, ZENG J, et al. Hippo pathway regulates somatic development and cell proliferation of silkworm[J]. Genomics, 2019, 111(3): 391–397.
- [7] ZHENG S Y, PAN L X, CHENG F P, et al. A global survey of the full-length transcriptome of *Apis mellifera* by single-molecule long-read sequencing[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(6): 5827.
- [8] 范小雪, 张凯遥, 朱乐冉, 等. 意大利蜜蜂丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶基因和全长转录本鉴定及验证[J]. 昆虫学报, 2023, 66(4): 478–485.
- [9] 蔡宗兵, 王紫馨, 吴鹰, 等. 中华蜜蜂细胞色素 P450 基因及其全长转录本的鉴定及分析[J]. 昆虫学报, 2023, 66(1): 11–18.
- [10] 杜宇, 祝智威, 王杰, 等. 利用第三代纳米孔长读段测序技术构建和注释蜜蜂球囊菌的全长转录组[J]. 中国农业科学, 2021, 54(4): 864–876.
- [11] 陈华枝, 范小雪, 范元婵, 等. 东方蜜蜂微孢子虫基因的可变剪接及可变腺苷酸化解析[J]. 菌物学报, 2021, 40(1): 161–173.
- [12] 杜宇, 王杰, 蒋海宾, 等. 基于第三代长读段测序数据解析蜜蜂球囊菌基因的可变剪切与可变腺苷酸化[J]. 微生物学报, 2021, 61(3): 667–682.
- [13] ABDEL-GHANY S E, HAMILTON M, JACOBI J L, et al. A survey of the sorghum transcriptome using single-molecule long reads[J]. Nature Communications, 2016, 7: 11706.
- [14] FAROOQ M, ZAHRA NAQVI R, AMIN I, et al. Transcriptome diversity assessment of *Gossypium arboreum* (FDH228) leaves under control, drought and whitefly infestation using PacBio long reads[J]. Gene, 2023, 852: 147065.
- [15] FANG L Y, GUO L N, ZHANG M, et al. Analysis of polyadenylation signal usage with full-length transcriptome in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Insects, 2022, 13(9): 803.
- [16] SANFILIPPO P, WEN J Y, LAI E C. Landscape and evolution of tissue-specific alternative polyadenylation across *Drosophila* species[J]. Genome Biology, 2017, 18(1): 1–22.
- [17] LUO Z H, NIU M W, GONG S H, et al. Intestinal epithelial chemokine (C-C motif) ligand 7 overexpression protects against high fat diet-induced obesity and hepatic steatosis in mice[J]. Chinese Medical Journal, 2020, 133(15): 1805–1814.
- [18] JING Y J, LIN R C. The VQ motif-containing protein family of plant-specific transcriptional regulators[J]. Plant Physiology, 2015, 169(1): 371–378.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗维