

中华按蚊 *GSTO1* 基因的鉴定及生物信息学分析*

洪 瑞, 李可人, 吴传剑, 闫振天, 陈 斌

(重庆师范大学昆虫与分子生物学研究所, 重庆市动物生物学重点实验室 重庆 401331)

摘要: 谷胱甘肽转移酶(GSTs)是有机体内一类具有解毒和抗氧化等多功能的超家族蛋白酶。昆虫中, 谷胱甘肽转移酶主要分为七大家族, Omega 家族(*GSTO*)为研究较少的家族。在本研究中, 通过 Blast 方法搜索中华按蚊(*Anopheles sinensis*)转录组数据, 得到中华按蚊 *GSTO1* cDNA 序列, 全长 1059 bp, 其中阅读框 ORF 长 744 bp, 编码 248 个氨基酸。推测该基因编码蛋白的分子量和等电点分别为 28.5 kDa 和 6.92。分析发现该蛋白不存在跨膜区和信号肽, 亚细胞定位预测显示该蛋白质位于细胞质中。同源性分析表明 *GSTO1* 蛋白与达氏按蚊氨基酸序列相似性最高。本研究进一步丰富了 GST 蛋白的基础数据, 为进一步研究昆虫 *GSTO* 蛋白的功能奠定了理论基础。

关键词: 谷胱甘肽 S-转移酶; 中华按蚊(*Anopheles sinensis*); *GSTO1* 基因; 鉴定; 生物信息学分析

中图分类号: Q966

谷胱甘肽转移酶(GSTs)是广泛存在于各生物组织细胞中的多功能酶, 它可以催化还原型谷胱甘肽的巯基与生物体内的外源性或内源性有害物质的亲电基团偶联, 增加有害物质的疏水性, 使其易于排出体外。也参与细胞内转运、激素合成和抗氧化应激^[1-3]。结构和特征分析发现, GSTs 由两个结构域构成即: N-末端结构域、C-末端结构域。N-末端结构域通常位于 1-80 位氨基酸, 其中包含催化所必须的、与 GSH 相互作用的丝氨酸、半胱氨酸或酪氨酸残基。在 N-末端结构域还存在一个类似于硫氧还蛋白的拓扑学结构: $\beta\alpha\beta\alpha\beta\alpha$ 结构^[7]。依据序列相似性, 染色体定位以及免疫特性, 昆虫的谷胱甘肽转移酶分为七大家族: Delta、Epsilon、Omega、Sigma、Theta、Zeta 以及 Unclassified^[4]。目前对 GSTs 蛋白功能研究多集中于昆虫对杀虫剂的抗性研究领域^[4,8]。

Omega 家族在 2000 年分析人类的 EST 数据库中发现^[5], 到目前为止, 在植物、酵母、昆虫、细菌、哺乳动物中均发现该家族基因的存在^[6]。Omega(*GSTO*)通过催化 GSH 与亲电子试剂的结合, 催化过氧化氢发生还原反应, 结合体内致癌物质、化学试剂和氧化应激产物等, 来保护体内的 DNA 等大分子物质免受氧化损伤, 也在抗脂质过氧化反应中起到重要作用。研究发现, *GSTOs* 参与无机砷的生物转化途径, 保护机体免受急性或慢性的砷中毒^[9]。*GSTOs* 也可以调节脱氢抗坏血酸的减少和再循环^[10]。对桔小实蝇 *GSTOs* 的研究发现, 该家族基因对桔小实蝇蛹的发育过程特别在化蛹过程中有一定作用^[11]。在昆虫中, 研究主要集中于谷胱甘肽转移酶在抗药性中所起到的作用, 目前的研究发现, Delta 和 Epsilon 两大家族为主要的抗药性相关家族。对 Omega 家族的研究相对较少, 其功能还有待进一步的研究。

本研究基于中华按蚊转录组, 通过生物信息学方法研究中华按蚊谷胱甘肽转移酶Omega家族*O1*基因(*AsGSTO1*)的序列特征、蛋白质结构, 并运用N-J(neighbor-joining method, NJ)法分析其系统发育关系。为进一步研究昆虫*GSTOs*的功能以及揭示*AsGSTO1*基因功能奠定理论基础。

1 材料与方 法

1.1 数据来源

原始数据来自重庆师范大学的昆虫与分子生物学研究所中华按蚊转录组数据(SRA 登录号: SRA073189)^[12]。其它昆虫包括达氏按蚊(*Anopheles darling*)、冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*)等的 *GSTO1* 蛋白的同源序列从 NCBI 的 GenBank 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中下载^[13]。

1.2 序列的搜索与鉴定

在中华按蚊转录组数据库中, 以下载的冈比亚按蚊 *GSTO1* 的氨基酸序列为 query 序列, 通过 tblastn 进行同源性搜索, 阈值为 E-value < -5。在搜索结果中找到与冈比亚按蚊 *GSTO1* 相似性最高的 EST 序列, ID 号为 CL754.Contig1_5, 将该序列通过 BLASTP 与 NCBI 的 nr 库进行比对, 进一步鉴定和验证该序列。

1.3 序列的分析

通过 DNAMAN 软件分析鉴定得到的 cDNA 序列得到其开放阅读框并翻译成氨基酸序列; BioEdit 软件预测该 cDNA 序列的碱基组成; Codon Usage Database 软件用来(<http://www.kazusa.or.jp/codon/countcodon.html>)分析该 cDNA 序列的密码子使用频率; 采用 ExPASy 软件(<http://web.expasy.org/protparam>)预测该蛋白质的等电点、理论分子量、分子式等; 分别使用 ProtScale(<http://www.expasy.org/cgi-bin/protscale.pl>)和 TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)软件分别对蛋白进行疏水性和跨膜区分析; 使用 SignalP4.0 软件

* 收稿日期: 修回日期:

资助项目: “两江学者”计划专项经费; 美国国立卫生研究院 NIH 项目(1R01AI095184); 国家自然科学基金(31071968, 31372265); 重庆市科技攻关重点项目(CSTC2012GG-YYJSB80002); 重庆师范大学基金青年项目(13XLQ05, 2011XLS32)。

作者简介: 洪瑞, 女, 研究方向为昆虫分子生物学, E-mail: 565099715@qq.com; 通讯作者: 陈斌, 教授, E-mail: binchen@cqu.edu.cn

(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)进行信号肽分析预测; 使用蛋白质亚细胞定位 wolfsort 软件 (<http://www.genscript.com/results/141761381932733.html>) 对蛋白进行定位预测; 利用 NPS (<http://npsa-pbil.ibcp.fr/>) 提供的 PHD 方法对中华按蚊 *GSTO1* 的蛋白二级结构进行在线分析; 通过 SMART 软件 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 分析该蛋白的保守结构域; 使用 SWISS-MODEL(<http://s-wissmodel.expasy.org/>)进行同源建模和 3D 结构预测分析。

1.4 序列同源性与系统发育分析

以 As*GSTO1* 氨基酸为询问序列, 用 BLASTP 在 NCBI 的 GenBank 中搜寻同源基因序列, 选出 4 条具有代表性的序列, 使用 clustalX 程序与中华按蚊序列对齐, 依据冈比亚按蚊 *GSTO1* 分析预测 As*GSTO1* 蛋白序列的保守位点和功能区域; 使用 MEGA5.0 软件基于 N-J 法推断所分析序列的系统发育关系, 并用黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*) 的同源 GST 蛋白序列 O1(NP_648237.1)作为外群。

2 结果与分析

2.1 中华按蚊 *GSTO1* 基因 DNA 序列和蛋白序列

2.2.1 通过生物信息学方法发现, 该 cDNA 序列(GenBank 登录号: KM657434)已具备了全长序列的基本保守区, 具有起始子(ATG)和终止子(TAA)^[6] (图 2.1)。该序列共包含 1059 bp, 其中编码区为 744 bp, 编码 247 个氨基酸, 5 端非翻译区为 113 bp, 3 端非翻译区为 30 bp。

```

-113                                     TGGATTCCAGCAAGTCCGGTGC
-90   CAAAAGCCAATCTGTGATTGTTTAACAAAACCTCAAGTGTCCGGTTCGATAGAAA CGAAGCAACACCATTGGAAGCGAACCATCCATC
1     ATGAGCAA CGGAAAACATTTGGCCAAAGGTTCCACGGCACCGGTTCTGCCGAGCATGGGAAGCTGGTCTGTACTCGATGCGTTTCTGC
1     M S N G K H L A K G S T A P V L P D D G K L V L Y S M R F C
91   CCCTACGCCCCAGCGGTTCACTGATGCTGGA CGCCAAGAAGATCCCGTACCATAC CGTCTACATTAACTGAGCGAGAAACCGGAGTGG
31   P Y A Q R V H L M L D A K K I P Y H T V Y I N L S E K P E W
181  TACTTTGAGAAAAATCCCTCGGCAAGGTGCCCGCCCTGCAGGTACCGGGCAAGGA GGGCGTCAAGCTCTACGAATCGCTGGTCTGGCC
61   Y F E K N P L G K V P A L Q V P G K E G V T L Y E S L V L A
271  GACTACATCGAGGAGCGTACTCGGCCAACA GCGCAAGCTGTACCCGACTGATCC GTTCGGGAAGCGCAGGATCGTATTTTGATCGAG
91   D Y I E E A Y S A Q Q R K L Y P T D P F R K A Q D R I L I E
361  CGCTTCAACCGCGTCATTACGGCTACTATCGTATCTGTTTCCACCGACCGCAT CCGCCCGGGCGGATCACCGAGTTTGGCAITGGC
121  R F N G V I T A Y Y R I L F S T D G I P P G A I T E F G I A
451  CTGGACGTTTTCGAGAAGCAGCTCAAATCCCGCGGCAAGGCTACTTCCGGCGGA TAAGCCCGCATGATCGACTACATGATTGGCCG
151  L D V F E K E L K S R G T A Y F G G D K P G M I D Y M I W P
541  TGGTCCGAGCGGTCGATCTGCTGAAGTTTCCGCTCGGCGATAAGTACGAGCTTGA TAAGGAACGTTTGGCAAATTGCTGCAATCGAGA
181  W C E R V D L L K F A L G D R Y E L D K E R F G K L L Q W R
631  GATTTGATGAAAAGGATGAGCCCGTGAAGCACTCTTTCATCTCGACCGAAAATCA CACCAAGTTTTTGCAAAAGCCGCAAGATGGCGAA
211  D L M E K D E A V K Q S F I S T E N H T K F L Q S R K N G E
721  AATAACTACGATATTTGGCGTAAACCATATTCAGTGCCATAATCCATCCAAGTT CCATTTACATGATATGACGCATAACACGAGCGTTG
241  N N Y D I L A * A Y S V P I I P S K F H L H V * R I T R A L
811  CGCGGATAACATTCATAATGCACCAACCATGCGCTGTATCATCATTCTCTAACC GGCAAAACAGTGATTTATAACCCCTATGTGTATA
271  R G * H S I M H H H A L Y H H I S * P A N S V L L T P M C I
901  TTAATGCCATCAAATGCAAATATCAAAGCTTTTAGGATTTCATGA
301  L N G I K C K Y Q S F * D L M
    
```

注: 图中加框的为序列起始密码子、终止密码子, 左边为核苷酸和氨基酸编号。

Note: The start and stop codon are boxed, the numbers on the left are for the positions of nucleotides and amino acids on the sequences.

图 2.1 As*GSTO1* cDNA 及其预测的氨基酸序列

Fig.2.1 cDNA and deduced amino acid sequence of As*GSTO1*

2.2.2 As*GSTO1* cDNA 序列的碱基组成分析结果为, AT 含量:44.62%, GC 含量:55.38%, GC 偏斜: 0.06, AT 偏斜: 0.05, 结果显示该序列碱基组成偏好 G 和 A 碱基, 但并不明显。

2.2.3 RSCU 值是反映不同密码子在其所编码的氨基酸序列的同义密码子中出现的频率。还序列分析结果显示 CUG、AAG、UAC 等密码子, 出现频率相对较高; 而 CUU、GCA、UCU 等密码子的出现次数较少(表 2.1)。

表 2.1 中华按蚊 *GSTO1* 核酸序列相对同义密码子统计表

Tab. 2.1 Relative synonymous codon usage (RSCU) of *AsGSTO1*

Codon	RSCU	Codon	RSCU	Codon	RSCU	Codon	RSCU
AAG	6.85	UCG	2.02	CGG	1.21	GCA	0.40
CUG	6.05	CAG	2.02	AGC	1.21	GGA	0.40
UAC	5.65	ACC	2.02	GUU	1.21	UGU	0.00
GGC	5.24	AAA	2.02	UCC	0.81	UUA	0.00
GAG	5.24	GAA	2.02	UGC	0.81	UCA	0.00
CCG	4.03	UGG	1.61	CAU	0.81	UGA	0.00
GAU	4.03	CGU	1.61	CAC	0.81	UAG	0.00
AUC	3.23	CUC	1.61	GGG	0.81	CCU	0.00
GCC	3.23	CCC	1.61	UCU	0.40	CUA	0.00
GCG	2.82	CGC	1.61	UAU	0.40	CCA	0.00
UUU	2.42	AAU	1.61	UAA	0.40	CGA	0.00
UUC	2.42	AAC	1.61	CUU	0.40	AGU	0.00
UUG	2.42	ACG	1.61	ACU	0.40	AUA	0.00
AUU	2.42	GUC	1.61	AGA	0.40	ACA	0.00
AUG	2.42	GUG	1.61	GGU	0.40	AGG	0.00
GAC	2.42	CAA	1.21	GUA	0.40	GCU	0.00

2.2.4 通过 ExPaSy 软件的 ProtParam 功能预测得到中华按蚊 *GSTO1* 蛋白的氨基酸组成 (表 2.2), 预测分子式为 $C_{1302}H_{2005}N_{333}O_{368}S_8$, 分子量和等电点分别为 28.5 kDa 和 6.92。采用 TMHMM 软件预测蛋白的跨膜区域, 发现在氨基酸之间不具有跨膜片段(图 2.2), 预测该蛋白为非膜结合蛋白。根据 SingalP 软件分析 *GSTO1* 蛋白的信号肽的位置和切割位点结果显示 *GSTO1* 蛋白 C 值是 0.119, Y 值 0.108, S 值 0.148, 不存在信号肽切割位点, 未发现信号肽存在(图 2.3)。蛋白质亚细胞定位软件 WolfPSORT 预测显示该蛋白质位于细胞质中。

表 2.2 中华按蚊 *GSTO1* 蛋白的氨基酸组成
Tab. 2.2 Composition of amino acids of *AsGSTO1*

氨基酸	数目	比例	氨基酸	数目	比例	氨基酸	数目	比例	氨基酸	数目	比例
Leu	26	10.5 %	Ala	16	6.5 %	Phe	12	4.9 %	Gln	8	3.2 %
Lys	22	8.9 %	Tyr	15	6.1 %	Val	12	4.9 %	Met	6	2.4 %
Glu	18	7.3 %	Ile	14	5.7 %	Ser	11	4.5 %	His	4	1.6 %
Gly	17	6.9 %	Pro	14	5.7 %	Thr	10	4.0 %	Trp	4	1.6 %
Asp	16	6.5 %	Arg	12	4.9 %	Asn	8	3.2 %	Cys	2	0.8 %

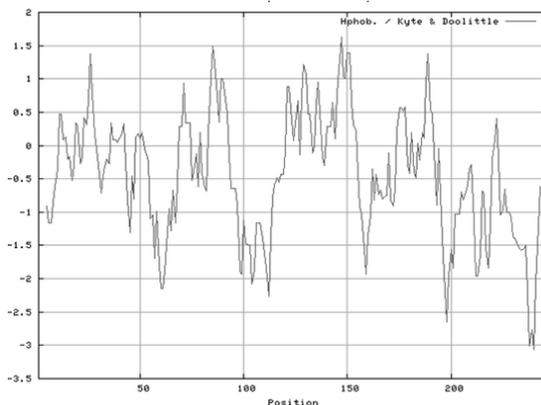


图 2.2 中华按蚊 *GSTO1* 蛋白序列的疏水曲线
Fig.2.2 Hydrophobicity profile of *AsGSTO1*

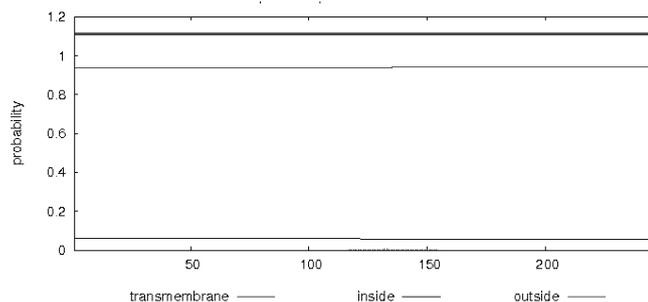


图 2.3 中华按蚊 *GSTO1* 蛋白跨膜区预测

Fig.2.3 The deduced transmembrane domain of AsGSTO1

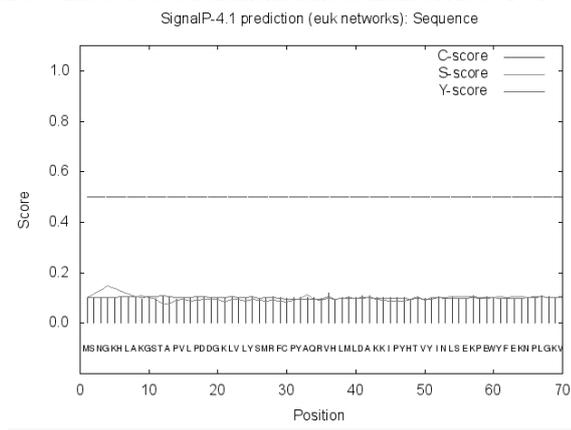


图 2.4 中华按蚊 *GSTO1* 蛋白信号肽分析

Fig.2.4 Signal peptide prediction of AsGSTO1

2.2.5 应用 PHD 方法预测得到 AsGSTO1 蛋白的二级结构。其二级结构组分中, coil(无规卷曲)占 44.13%, helix(α -螺旋)占 45.34%, extended(β -折叠)占 10.53%。可以看出, 在该蛋白中, α -螺旋是二级结构中最多的结构元件, 分散于整个蛋白质中。

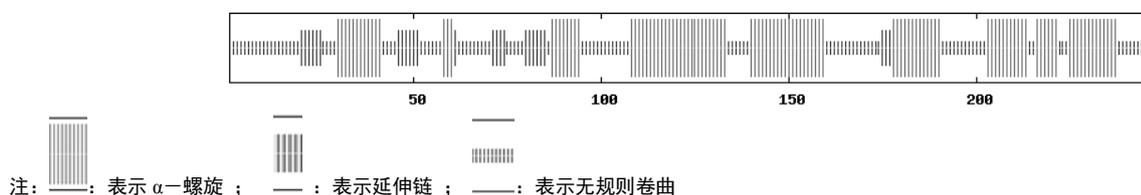


图 2.5 中华按蚊 *GSTO1* 蛋白信号肽分析

Fig.2.5 Signal peptide prediction of AsGSTO1

2.2.6 软件 SMART 分析 AsGSTO1 蛋白含有两个结构域(图 2.6): GST_N 结构域和 GST_C 结构域, 分别位于第 20~95 位氨基酸和第 142~217 位氨基酸, E-value 分别为 $5.10e^{-09}$ 和 $2.60e^{-06}$, 与其在 NCBI 在线比对结果一致。

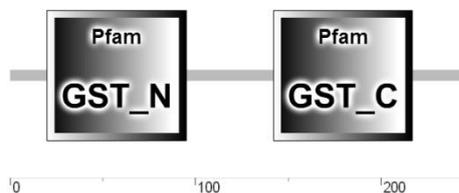


图 2.6 中华按蚊 *GSTO1* 结构域分析

Fig.2.6 Domain architecture analysis of AsGSTO1

2.2.7 经 SWISS-MODEL 搜索, 家蚕 *GSTO2* 家族蛋白与中华按蚊 *GSTO1* 的氨基酸序列相似性较高, 达 43.64%, 将该序列作为同源建模模板, 得到中华按蚊 *GSTO1* 蛋白序列的三级结构(图 2.7)。用 Anolea 和 Gromos 模建质量评价程序检测结果表明建模的中华按蚊 *GSTO1* 结构具有很好的立体化学结构。

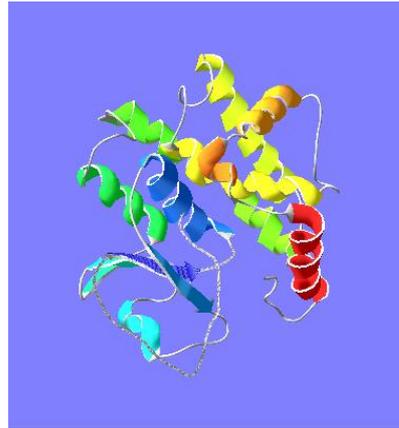


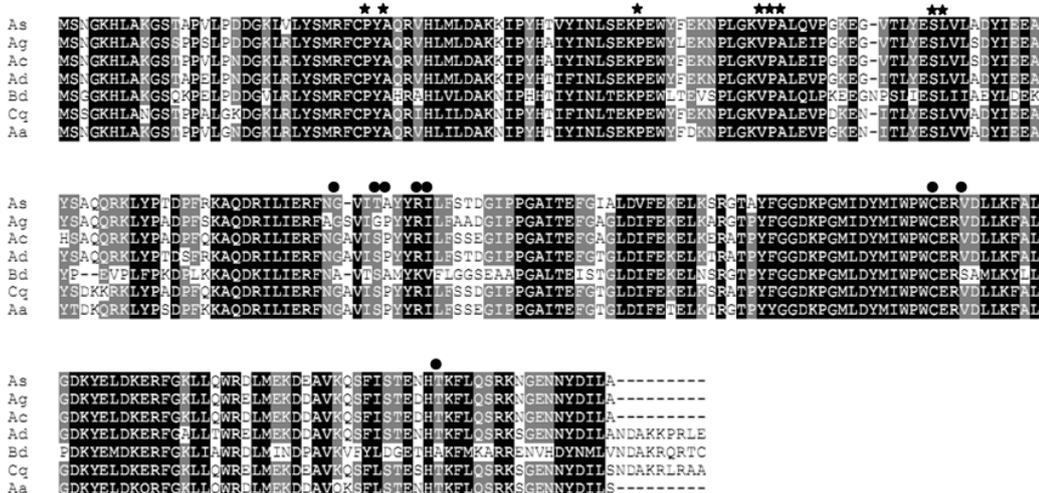
图 2.7 中华按蚊 *GSTO1* 蛋白的三维结构
Fig.2.7 The 3D structure of AsGSTO1

2.2.7 将中华按蚊 *GSTO1* 序列作为询问序列,进行 BLASTP 同源搜索,表明此 cDNA 就是 GST。经过相似性比较,结果表明中华按蚊 *GSTO1* 序列与达氏按蚊 *GSTO1* 氨基酸序列相似性最高(一致率为 91%,相似率为 92%)(表 2.3)。

表 2.3 中华按蚊 *GSTO1* 与 6 种其它昆虫同源氨基酸的一致率和相似率
Tab. 2.3 The identity and similarity of AsGSTO1 to the homologs of 6 other insect species.

物种 Species	基因库登录号 GenBank Accession number	一致率 (%) Identity (%)	相似率 (%) Similarity (%)
达氏按蚊 <i>An. darling</i> GST	ETN60650.1	91	92
卡拉森按蚊 <i>An. cracens</i> GSTO1	ACY95464.1	90	95
冈比亚按蚊 <i>An. gambiae</i> GSTO1	AAP13482.1	90	94
埃及伊蚊 <i>Aedes aegypti</i> GST	ABF18476.1	85	95
致倦库蚊 <i>Culex quinquefasciatus</i> GST	XP_001841701.1	85	90
桔小实蝇 <i>Bactrocera dorsalis</i> GSTO2	AFJ05098.1	61	74

2.2.8 选出 6 条具有代表性双翅目昆虫的 GST 序列,与中华按蚊 *GSTO1* 序列进行对齐分析,并与冈比亚按蚊已注释了的保守功能区和位点的对比分析,鉴定出中华按蚊有两个保守位点:还原型谷胱甘肽结合位点和底物结合位点(图 2.7)。



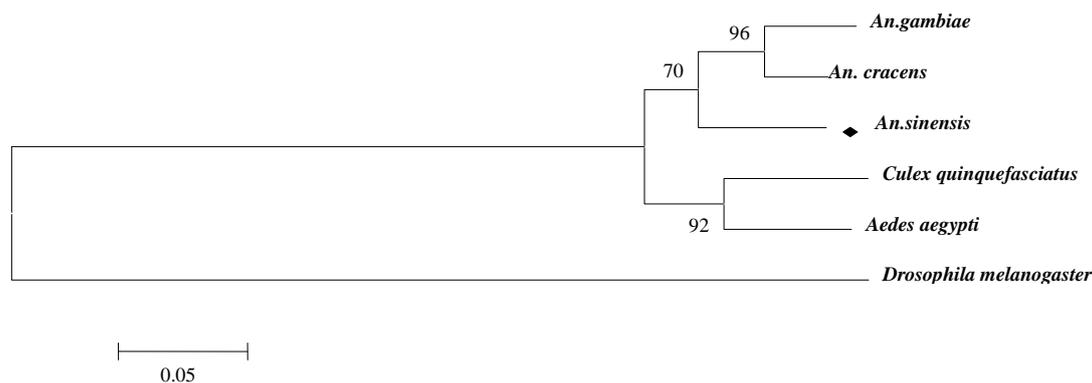
注: As: 中华按蚊; Ag: 冈比亚按蚊; Ac: 卡拉森按蚊; Ad: 达氏按蚊; Bd: 桔小实蝇; Cq: 致倦库蚊; Aa: 埃及伊蚊。黑色阴影: 序列一致性=100%, 灰色阴影: 序列一致性>80%。五角星表示还原型谷胱甘肽结合位点; 黑点表示底物结合位点。

note: As: *An. sinensis*; Ag: *An. gambiae*; Ac: *An. cracens*; Ad: *An. darling*; Bd: *Bactrocera dorsalis*; Cq: *Culex quinquefasciatus*; Aa: *Aedes aegypti*. Black Shadow: 100% sequence identity and shades of gray: sequence identity> 80% . ★: GSH binding sites; ● substrate binding sites.

图 2.8 中华按蚊 *GSTO1* 与 6 种其它双翅目同源氨基酸序列比较

Fig.2.8 Alignment of GSTO1 in *Anopheles sinensis* with 6 other homologous dipteran GSTO1s

2.2.9 选择了代表性的 6 个 *GSTO1*(包括 AsGSTO1)氨基酸序列构建系统发育树,其中黑腹果蝇 *GSTO1* 为外群(图 8)。最终结果表明中华按蚊 *GSTO1* 与中华按蚊和卡拉森按蚊的 *GSTO1* 最近, bootstrap 值达 70%, 聚成一支。



注: 外群为黑腹果蝇的同源 GSTO3 序列, 树的分支节点上为 Bootstrap 值 >50% 的。

note: The outgroup was homologous GSTO3 of *Dr. melanogaster*, the number on each branch representation percentage bootstrap values higher than 50 % .

图 2.9 6 种昆虫 GSTO1 的系统发育树

Fig.2.8 The phylogenetic tree of 6 insect GSTO

3 讨论

由于 GST 多样性及其功能的重要性, 人们对该蛋白开展了大量研究, 目前该基因序列已在多个物种中发现^[14,15]。根据核苷酸和蛋白质序列相似性、染色体定位以及免疫交叉反应等特征, 昆虫谷胱甘肽转移酶分为 Omega, Sigma, Theta, Zeta, Delta, Epsilon 等多个的家族^[4]。在昆虫的 GST 研究中, 主要集中于在抗药性中的作用。昆虫特异的 Delta 和 Epsilon 家族为主要的抗药性家族, 研究比较深入^[16]。而 GSTOs 广泛存在于有机体中, 且与人类的疾病相关, 对其的研究主要集中在哺乳动物中, 而昆虫 GSTOs 的研究相对较少^[6]。本研究得到的中华按蚊 *GSTO1* 基因, 编码区为 744 bp, 编码了 248 个氨基酸, 分析得到该蛋白分子质量约为 28.5kD, 等电点为 6.92。通过 BLAST 比对分析显示该基因序列与其它物种的 Omega 家族具有较高的一致性, 故推测该基因为 Omega 家族, 命名为 *AsGSTO1*。

二级结构预测显示, *AsGSTO1* 的 N-末端结构域与其它 GSTs 蛋白家族 N 端具保守的 $\beta\alpha\beta\alpha$ 结构特征相比, 少一个 α 螺旋结构呈 $\beta\alpha\beta\beta\alpha$ 特征。位于 N-末端的与谷胱甘肽相互作用所必需的活性位点: 酪氨酸(Tyr)、半胱氨酸(Cys)或丝氨酸(Ser)等(这些位点的突变往往引起 GSTs 蛋白功能的丧失, 进而引起的生物机体病变), 在 Omega 家族中, 这些活性位点则由保守的半胱氨酸所替代^[7]。在本研究中, 同源比对发现, *AsGSTO1* 与谷胱甘肽结合的半胱氨酸位点位于第 30 位, 且与达氏按蚊, 冈比亚按蚊, 埃及伊蚊, 致倦库蚊, 桔小实蝇, 卡拉森按蚊等昆虫的 Omega 家族蛋白高度保守, 进一步证明该蛋白属于 Omega 家族。N-J 法构建系统发育树结果显示, 中华按蚊 *GSTO1* 与冈比亚按蚊和卡拉森按蚊 *GSTO1* 形成一个分支, 表明这三个物种亲缘关系较近。

GSTs 蛋白通过催化谷胱甘肽与底物结合, 使底物的水溶性增强, 更加容易排出体外来达到解毒的作用。目前, 对 GSTs 蛋白功能研究发现, Delta 和 Epsilon 两大家族主要与昆虫的抗药性相关, 而 Omega 家族较为不同, 该家族蛋白的功能主要为保护生物大分子免受氧化损伤^[5]。而 Yamamoto 等在近期的研究中发现家蚕的 *GSTO2* 蛋白对提高昆虫抗药性也有一定的作用^[17], 但是, 对于昆虫抗性机制的研究尚未清楚, 谷胱甘肽转移酶在抗性机制中所起到的作用还需要不断地研究和完善。本研究报道的中华按蚊 *GSTO1* cDNA 序列及其序列分析进一步丰富了 GST 基因的基础数据, 也为进一步探索昆虫中谷胱甘肽转移酶基因的功能以及其在抗性机制中所起到的作用研究奠定了基础。

参考文献:

- [1] Huimin Deng, Yufen Huang, Qili Feng, et al. Two epsilon glutathione S-transferase cDNAs from the common cutworm, *Spodoptera litura*: Characterization and developmental and induced expression by insecticides[J]. *Journal of Insect Physiology*, 2009, 55: 1174-1183.
- [2] Aman I Samra, Shizuo G Kamita, et al. Cloning and characterization of two glutathione S-transferases from pyrethroid-resistant *Culex pipiens*[J]. *Society of Chemical Industry*, 2012, 68: 764-772.
- [3] 房守敏. 昆虫谷胱甘肽-S-转移酶的基因组学研究及其介导的抗药性[J]. *蚕学通讯*, 2010, 30(4): 28-35.
- [4] Fang S M. Genomic Studies of Glutathione S-Transferase in Insects and Insecticide Resistance Mediated by It[J]. *Newsletter of Sericultural Science*, 2010, 30(4): 28-35.
- [5] Yunchuan Ding, Federica Orтели, Louise C Rossiter, et al. The *Anopheles gambiae* glutathione transferase supergene

- family: annotation, phylogeny and expression profiles[J]. *BMC Genomics*, 2003, 4: 35.
- [6] Philip G. Board, Marjorie Coggan, Gareth Chelvanayagam, et al. Identification, Characterization, and Crystal Structure of the Omega Class Glutathione Transferases[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275: 24798-24806.
- [7] Yuanying Zhang, Huiru Yan, Wenjing Lu, et al. A novel Omega-class glutathione S-transferase gene in *Apis cerana cerana*: molecular characterisation of *GSTO2* and its protective effects in oxidative stress[J]. *Cell Stress and Chaperones*, 2013, 18: 503-516.
- [8] David Sheehan, Gerardene Meade, Vivienne M. Foley, et al. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily[J]. *Biochemical Society*, 2001, 360: 1-16.

- [8] Hilary Ranson,Louise Rossiter,Federica Orтели,et al. Identification of a novel class of insect glutathione S-transferases involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles gambiae*[J].Biochemical Society,2001, 359:295-304.
- [9] Uttam K. Chowdhury,Robert A. Zakharyan,Alba Hernandez,et al.Glutathione-S-transferase-omega [MMA(V) reductase] knockout mice:Enzyme and arsenic species concentrations in tissues after arsenate administration[J].Toxicology and Applied Pharmacology,2006,216:446-457.
- [10] Cora Burmeister,Kai Lüersen,Alexander Heinick,et al.Oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*:protective effects of the Omega class glutathione transferase(*GSTO-1*)[J].The FASEB Journal,2008,22:343-354.
- [11] 胡黎明,曾玲,申建梅,等.桔小实蝇 *BdorGSTO1* 基因的克隆及发育表达分析[A].中国农学通报,2012,28(24):188-193.
- Hu L M,Zeng L,Shen J M,et al.Cloning and Developmental Expression Pattern Analysis of *GSTO1* from *Bactrocera dorsalis* Hendel[A].Chinese Agricultural Science Bulletin,2012,28(24):188-193.
- [12] 唐尧,乔梁,张玉娟,等.中华按蚊 *CYP6Y* 亚家族基因的鉴定和生物信息学分析[A].昆虫学报,2014,57(6):663-672.
- TANG Yao,QIAO Liang,ZHANG Yu-Juan,et al.The Identification,Structure and Bioinformatics Analysis of the *CYP6Y* Subfamily of genes in *Anopheles sinensis*(Diptera: Culicidae)[A].Acta Entomologica Sinica, 2014,57(6):663-672.
- [13] 车燕飞,张玉娟,唐尧,等.中华按蚊 *CYP6P5* 基因的生物信息学鉴定及特征分析.中国媒介生物学及控制杂志[A]. June 2014, Vol.25, No.3:205-210.
- CHE Yan-fei, ZHANG Yu-juan, TANG Yao,et al.Bioinformatic identification and characterization of *CYP6P5* gene in *Anopheles sinensis*[A]. June 2014, Vol.25, No.3:205-210.
- [14] Houxia Shi,Lianghong Pei,Shasha Gu,et al.Glutathione S-transferase (*GST*) genes in the red flour beetle,*Tribolium castaneum*,and comparative analysis with five additional insects[J].Genomics,2012,100:327-335.
- [15] 郭玉莲,陶波,郑铁军,等.植物谷胱甘肽 S-转移酶(*GSTs*)及除草剂解毒剂的诱导作用[A].东北农业大学学报,2008,39(7):136-139.
- Guo Y L,Tao B,Zheng T J,et al.Inducement action of plant *GSTs* and herbicides antidotes[A].Journal of Northeast Agricultural University,2008,39(7):136-139.
- [16] H. Ranson,M. G. Paton,B. Jensen,et al.Genetic mapping of genes conferring permethrin resistance in the malaria vector,*Anopheles gambiae*[J].Insect Molecular Biology,2004,13(4):379-386.
- [17] Kohji Yamamoto,Sumiharu Nagaoka,Yutaka Banno,et al.Biochemical properties of an omega-class glutathione S-transferase of the silkworm,*Bombyx mori*[J].Comparative Biochemistry and Physiology,Part C,2009,149:461-467.

Animal Sciences

Identifiication and Bioinformatic Analysis of the *GSTO1* Gene in *Anopheles sinensis*

HONG Rui, LI Ke-Ren, WU Chuan-Jian, YAN Zhen-Tian, CHEN Bin

(Institute of Entomology and Molecular Biology, Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: Glutathione S-transferases (*GSTs*) are superfamily of multifunctional enzymes, some of which have been reported to be relative to insecticide resistance. In insects, *GSTs* have been classified into seven families, including Delta, Epsilon, Omega, Sigma, Theta, Zeta and Unclassified. The study identified a genes in the family Omega, named as *AsGSTO1*, from transcriptome in *Anopheles sinensis*. The full-length cDNA of the gene was 1059 bp with an opening reading frame (ORF) of 744 bp encoding 247 amino acids. The calculated molecular weight of *AsGSTO1* is 28.5 kDa and the estimated pI is 6.92. The characteristics, homology and phylogenetic relationships of the *AsGSTO1* were carried out through bioinformatic analyses. The *AsGSTO1* shares the highest sequence similarity (92%) with the homolog of *Anopheles darlingi*. This work provides a base information frame for further research of the *AsGSTO1* gene.

Keywords: glutathione S-transferase; *Anopheles sinensis*; *GSTO1*; identification; bioinformatic analysis