刘惠芬,衣葵花,刘文光,等. 斜纹夜蛾核型多角体病毒Ⅱ型分离株同源重复区 *hr1* 的结构功能分析[J]. 江苏农业科学,2019,47(21):100 - 103.
doi:10.15889/j.issn.1002 - 1302.2019.21.022

斜纹夜蛾核型多角体病毒Ⅱ型分离株同源重复区 *hr1* 的结构功能分析

刘惠芬[1], 衣葵花[1], 刘文光[1], 董亚茹[1], 张志芳[2], 李云芝[1], 王安皆[1]
(1. 山东省蚕业研究所,山东烟台 264002; 2. 中国农业科学院生物技术研究所,北京 100081)

摘要:斜纹夜蛾核型多角体病毒Ⅱ型(*Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus Ⅱ,SpltNPV Ⅱ)基因组 DNA 同源重复区 *hr1* 大小为 1 746 bp,含有 6 个 64 bp 不完全回文序列、4 个正向重复序列以及 7 个与病毒基因组 DNA 复制相关的基序。瞬时表达分析结果表明,SpltNPV Ⅱ *hr1* 在感染野生型家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus, BmNPV)和苜蓿丫纹夜蛾多粒包埋型核多角体病毒(*Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus, AcMNPV)的 BmN 和 Sf21 细胞中均具有增强早期基因 *ie1* 启动子活性的功能,增强效率分别为 30、350 倍;实时荧光定量 PCR 结果显示,*hr1* 在 BmN 和 Sf21 细胞中具有基因组 DNA 复制起始原点的功能,拷贝数分别为($8.46 \times 10^4 \pm 6.13 \times 10^3$)、($5.92 \times 10^6 \pm 2.95 \times 10^5$) copies/μg DNA。研究证明,SpltNPV Ⅱ *hr1* 在异源细胞 BmN 和 Sf21 中具有复制起始原点和增强子的双功能作用。

关键词:斜纹夜蛾;核型多角体病毒;同源重复区;*hr1*
中图分类号: S433.4;Q78 **文献标志码:** A **文章编号:**1002 - 1302(2019)21 - 0100 - 03

杆状病毒是一类环状双链 DNA 病毒,其基因组大小为 80 ~ 180 kb。在杆状病毒的发育循环中,DNA 复制是其生命周期中最重要的一环,也是病毒增殖周期最重要的事件[1]。DNA 复制原点是最为重要的顺式作用元件,对 DNA 的复制极为重要。研究发现,杆状病毒 DNA 复制原点有 2 种类型,分别为同源重复区(homologous repeat regions, hr)和非同源重复区起始位点(non - hr)[2-4]。其中,*hr* 存在于大多数杆状病毒基因组中,是目前研究较多的类型。

hr 作为核型多角体病毒(nucleopolyhedrovirus, NPV)DNA 复制原点已在众多杆状病毒中得到证实[5-9]。苜蓿丫纹夜蛾多粒包埋型核多角体病毒(*Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus, AcMNPV)基因组含有 8 个复制原点,包括 7 个 hr 和 1 个 *Hin*dⅢ - K 片段,研究发现 7 个 AcMNPV*hr* 均具有复制原点功能[5]。家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus, BmNPV)基因组含有 8 个复制原点,其中 *hr3* 和 *hr5* 不仅在宿主细胞中具有复制原点功能,在 AcMNPV 感染的非宿主 Sf21 细胞中亦可得到复制,而且 *hr5* 在 AcMNPV 感染的 Sf21 细胞中的复制功能比在 BmNPV 感染的 BmN 细胞中高一些[6,10-11],表明与 AcMNPV 复制有关的因子亦能作用于 BmNPV 的 *hrs*。*hr* 除具有复制原点的功能外,还具有早期基因表达增强子的功能。BmNPV ZJ - 8 株 *hr3* 具有增强 *ie1* 和 *hel* 基因启动子活性的功能,其增强转录活性分别高达 2 400、7 000 倍左右,即使仅含有 *hr3* 中 1 个典型完整的回文序列,其增强能力也高达 79 倍[12-13]。在 Sf9 细胞中,AcMNPV*hr1* 序列除具有复制原点的功能外,还能够增强多角体启动子和果蝇 *hsp70* 基因启动子的转录活性[14]。

斜纹夜蛾核型多角体病毒Ⅱ型(*Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus Ⅱ, SpltNPV Ⅱ)基因组 DNA 含有 7 个 *hrs*,前期研究证实 7 个 *hrs* 在宿主细胞 Spli221 中具有复制原点和增强子的功能[7],本研究拟对 *Splt*NPV Ⅱ *hr1* 进行结构分析,并采用脂质体介导的质粒转染法与实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)相结合的方法,探讨 *hr1* 在非敏感宿主 BmNPV - BmN 和 AcMNPV - Sf21 细胞系统中是否具有复制原点和增强子的功能。

1 材料与方法

1.1 试验材料和主要试剂

BmN 和 Sf21 细胞均由中国农业科学院生物技术研究所提供。质粒 pBm - *ie1*P - *hr1* 和 pAc - *ie1*P - *hr1* 分别含有 BmNPV*ie1* 和 AcMNPV*ie1* 启动子序列以及 SpltNPV Ⅱ *hr1* 序列,质粒 pUC19 - *hr1* 含有 SpltNPV Ⅱ *hr1* 序列,均为笔者所在研究室保存。寡核苷酸引物的合成由北京三博远志生物技术有限责任公司完成。昆虫细胞培养基 TC - 100、胎牛血清及脂质体(lipofectin)试剂均购自 GIBCO 公司。SYBR Green Ⅰ 试剂购自 Promega 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 细胞培养 BmN 和 Sf21 细胞用含 10% 胎牛血清

收稿日期:2019 - 08 - 09
基金项目:山东省自然科学基金(编号:ZR2017BC080);山东省现代农业产业技术体系蚕桑产业创新团队建设项目(编号:SDAIT - 18 - 03)。
作者简介:刘惠芬(1982—),女,山东滕州人,博士,助理研究员,主要从事昆虫病毒学研究。Tel:(0535)6527628;E - mail:liuhuifen77@163.com。
通信作者:李云芝,研究员,主要从事家蚕病理研究,Tel:(0535)6527628,E - mail:yzli888@163.com;王安皆,副研究员,主要从事家蚕病理研究,Tel:(0535)6527628,E - mail:wangaj77@126.com。

(FBS)的 TC－100 培养基在 27 ℃按 Summers 等的方法[15]进行培养。

1.2.2　SpltNPV Ⅱ *hr1* 序列分析　利用 ClustalW、DNAMAN、Lasergene 7.1 和 MEGA 4 等生物软件对 SpltNPV Ⅱ *hr1* 序列进行分析。

1.2.3　脂质体法转染昆虫细胞　接种约 5×10^5 个细胞于 12 cm^2 25 mL 培养瓶中,贴壁培养过夜。除去含 FBS 的培养基,用无血清培养基洗 2 次细胞,加入 1 mL 无血清培养基,接种野生型 NPV 病毒(感染复数＝1),感染 1 h。然后倾去培养基,加入 3 mL 含血清的完全培养基,27 ℃培养 2 h。移去上述完全培养基,用无血清培养基洗 2 次细胞,再加 1 mL 无血清培养基。事先在 50 μL 反应体系中加入 2 μg 质粒 DNA 和适量的 lipofectin 试剂,用 ddH_2O 补足体积,轻轻混匀,27 ℃温育 15 min 使 DNA 被脂质体包埋,制成转染液。将转染液逐滴加入培养瓶中,并轻轻转动混匀。转染 4～5 h 后倾去含转染液的无血清培养基,补加 3 mL 含 FBS 的培养基,27 ℃培养。

1.2.4　瞬时表达分析　将功能质粒 pBm－*ie1*P－*hr1* 和 pAc－*ie1*P－*hr1* DNA 分别转染野生型病毒 BmNPV 和 AcMNPV 感染的 BmN 和 Sf21 细胞或未感染细胞,培养 48 h,用细胞刮将贴壁细胞刮下,5 000 r/min 离心 5 min,收集细胞。加入适量磷酸缓冲液,重悬细胞后,5 000 r/min 离心 5 min,弃上清,如此反复清洗细胞 2～3 次。加入细胞裂解液将细胞重悬,裂解 5～10 min,使之充分裂解。在每个样品管中加入 100 μL 荧光素酶反应底物,加入一定体积的细胞裂解混合液,振荡混匀。将样品放入荧光仪,按照设定程序开始测量读数[16]。设置 3 组重复试验。以 pRL－CMV 质粒作为内参质粒,以只含 *ie1* 启动子的 pBm－*ie1*P 和 pAc－*ie1*P 质粒作对照。将牛血清白蛋白配制成标准浓度(0.5 mg/mL)蛋白质,用酶标仪进行蛋白质定量测定。

1.2.5　实时荧光定量 PCR　将功能质粒 pUC19－*hr1* DNA 转染野生型病毒 BmNPV 和 AcMNPV 感染的 BmN 和 Sf21 细胞。48 h 后收集细胞,提取细胞总 DNA,经 *Dpn* Ⅰ酶切后,进行实时荧光定量 PCR,并制作标准曲线[7]。用实时荧光定量 PCR 获得的 C_T 值及标准曲线来计算功能质粒在 BmN 和 Sf21 细胞中的拷贝数。

2　结果与分析

2.1　SpltNPV Ⅱ *hr1* 序列分析

SpltNPV Ⅱ *hr1* 大小为 1 746 bp,位于基因组 127 816～130 509 bp、开放阅读框(ORF)8～ORF9 之间。*hr1* 含 6 个 64 bp 不完全回文序列(图 1),其序列的核苷酸一致性高达 90%以上,回文序列的中心均含有 1 个 *Pvu* Ⅰ限制性酶切位点,含有 4 个正向重复序列,并且存在 7 个不规则重复序列和 7 个与病毒基因组 DNA 复制相关的 motif 基序(图 2)。

TACAATTTCAGTACATGATCTTTGCTTTCATCGAGACTTGTGGATGAAATCAAAGATCAAGTATGAAAAATATGACG
CAATAATTTAAAAGATGGTGCAATAAAAACAAGTCGGATGATGTCATGTTGGATGATGCAATAAAAACAAGTCATGT
AGTCATTTTATTAAATTTTAGTACATGATCTTTGCTTTCATCGAGACCTGTGGATGAAATCCAACATCAAGTATGAAA
ACACAAAGTTTCAAAGATGATGCAATAAAAACAACATGTGTCATCATAGTTTCGAATTTTAGTACATGATCTTTGCT
TTCATCTACAAGTCTCGATAAAAGCAAAGATGGACTATAAAAAATAATGGCGGCTGATGCAATAAAAACAACATGT
GTCGAATTTTAGTACTTGATCTTTGCTTTCATCGAGACTTGTGGATGAAAGCAAACATCAAGTATGAAAAAGATGAT
GTAACATTTATCAAAATTACAATTTAGTACATGATCTTTGATTTCATCCACAAGTCTGGATGAAAGCAAACATCAAG
TACTAAAATTTATTCGCTTGGTAACACGACATCACCTCATGACATCACCTCATGACATCATTTTATATCACGCCACAT
CGTCCGACCACATCCGGCTGACATCATTCTCGAAACTGCGCAATAAAATTTCAGTACATAATGTTTGCTTTCATCTA
CGATCGTGGATGAAATCAAAGATCATGTACTGAAATAATTTACATATTACAATCTTGAAATTCATCTAGCTTTCGACA
ACATACTACATCAATTCTCAATCTTGTAAGTAAGTATCTATTTTAATTCTCAATCTTGAAGTTGCTATCTATTTCGAGG
AAGATGCATCTGCTAAAACTTTTATAAAAATTTTTTACAAGCTCTCCATCTTGAAGTTAGTGTTTATTTCGAGGAAAT
GTGTCTGCTAAAACTTTACAAAAATTTTAATATCTATCGATCTTGAAGTTACTATCTATTTCAAGGAAGACGCATCTG
CTAAAACTTTTATAAAATTTTACAAGTTCTCGATCTTGAAGTTGCTGTCTATTTCGAGGAAGATGAATGTGTTAAAA
CTTTACAAAAAAATTTTACAAGTTCTTGATCTTGAAGTTGATATTTATTTCAAGGAAAATGTATTTGCCCAAACTTTT
ATAAAAATTTTAGGACATCACAATCTCGAACTTAACGTAGGTTTCAAGGAAAATGCGTTTGTAAAATCTTTTACAAA
AGATTTTTAAAATGTCACGATCTTGAAGTTAGTATCGATTTCAAGGAAGATGCATCTGCTAAAAATCTTTTCAAAAA
TTTTTTAAATGTTATCCATCTTGAAGTTAGTGTCTATTTCGAAGAAGATGTATCTTTAAACTTTTTCTAAACAATTTCA
AATCTCACAATCTTGAAGTATATAGTAGTTTCGACAAAAATACATTTGTAAATCTTTTAGCAAAAATTTTTGAATGGT
ATTGATCTTGAAGTTGATGTGTATTTCGAAGAAAACGCATTTACTAAAATGTTTTCACATTTGTAAATCTTTTAGCAA
AAATTTTTGAATGGTATTGATCTTGAAGTTGATGTGTATTTCGAAGAAAACGCATTTACTAAAATGTTTTCTCAAAAA
TTAGCATCGTCGCGATCTCGAAATATGCGTTAACTTTGACGAAGACGCATTTGCAAAATCTTTTTCAAAAAAAATTA
AATGTCACGATTTTGAACTCAATAGGTATTTCGACGAAGA

阴影为 64 bp 的回文序列；下划线为重复序列

图1　Splt NPV Ⅱ *hr1* 序列

2.2　SpltNPV Ⅱ *hr1* 对 BmNPV 和 AcMNPV*ie1* 启动子转录活性的增强作用

采用脂质体介导功能质粒在昆虫细胞中的转染与瞬时表达方法,将构建的含有 BmNPV 和 AcMNPV*ie1* 启动子以及 SpltNPV Ⅱ *hr1* 的功能质粒分别转染感染野生型 BmNPV 和 AcMNPV 的 BmN 和 Sf21 细胞,以只含 *ie1* 启动子的 pBm*ie1*－P 和 pAc－*ie1*P 质粒作对照。结果显示,SpltNPV Ⅱ *hr1* 在非敏感宿主细胞BmN中,增强BmNPV*ie1*启动子转录活性的效

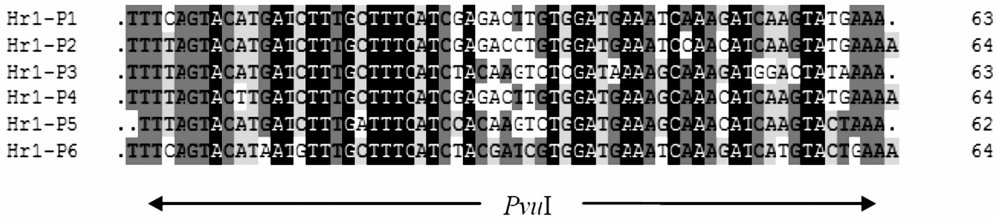

图2　SpltNPVⅡ*hr1* 序列中 6 个回文序列比对结果

率是对照的 30 倍,增强 AcMNPV*ie1* 启动子转录活性的功能较强,其增强效率为对照的 350 倍(表 1)。

表 1　SpltNPVⅡ *hr1* 在 BmN 和 Sf21 细胞中的增强效率

功能质粒	光量子数	增强效率(倍)
pBm－*ie1*P－*hr1*	$1.26\times10^7\pm4.99\times10^5$	30.00±1.40
pBm－*ie1*P	$4.27\times10^5\pm5.22\times10^3$	
pAc－*ie1*P－*hr1*	$6.55\times10^8\pm6.90\times10^6$	350.00±13.54
pAc－*ie1*P	$1.87\times10^6\pm6.18\times10^4$	

2.3　SpltNPVⅡ*hr1* 在 BmN 和 Sf21 细胞中的复制能力

将功能质粒 pUC19－*hr1* 按照 $10^8\sim10^4$ 个拷贝进行梯度稀释,作为模板进行实时荧光定量 PCR。以所得 C_T 值对相应拷贝数的对数作图,即得所需标准曲线及其线性方程 $y=ax+b$,结果显示,标准曲线线性关系良好,$r^2>0.99$(图 3)。

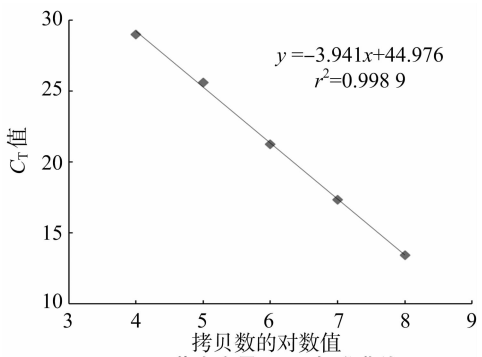

图3　荧光定量 PCR 标准曲线

用含有 SpltNPVⅡ*hr1* 的功能质粒分别转染 BmNPV 和 AcMNPV 感染的 BmN 和 Sf21 细胞,培养 48 h 后提取细胞总 DNA,经 *Dpn*Ⅰ酶切后进行实时荧光定量 PCR,将获得的 C_T 值代入图 3 中制作的标准曲线,计算出含有 SpltNPVⅡ*hr1* 的功能质粒在 BmN 和 Sf21 细胞中的拷贝数。结果显示,SpltNPVⅡ*hr1* 在 BmN 细胞中的拷贝数为($8.46\times10^4\pm6.13\times10^3$)copies/μg DNA,在 Sf21 细胞中的拷贝数为($5.92\times10^6\pm2.95\times10^5$)copies/μg DNA。

3　讨论与结论

大多数杆状病毒基因组都含有同源重复序列,分布于基因组的多个位置,具有基因组 DNA 复制起始原点和增强基因启动子转录活性的双重功能。本研究通过序列分析发现,SpltNPVⅡ*hr1* 具有作为病毒基因组 DNA 复制起始原点的特征结构,并探讨了 SpltNPVⅡ*hr1* 在非敏感宿主 BmN 和 Sf21 细胞中是否具有复制起始原点以及增强 BmNPV*ie1* 和 AcMNPV*ie1* 基因启动子转录活性的功能,发现 *hr1* 在 2 种非敏感宿主细胞中均具有复制起始原点和增强子功能,但复制和增强效率各不相同。在 Sf21 细胞中的复制和增强效率远高于在 BmN 细胞中,并且同样处理条件下,在异源细胞中的复制和增强效率高于在宿主细胞 Spli221 中[7]。

胡建新等通过 Southern 杂交检测发现,含 BmNPV*hr5* 的质粒在 AcMNPV－Sf 细胞系统中的复制起始原点功能要比在 BmNPV－BmN 细胞系统中高一些[11]。Chen 等曾报道,BmNPV*hr3* 具有增强 BmNPV*ie1* 和 AcMNPV*ie1* 基因启动子转录活性的功能,并且在异源 Sf21 细胞中的增强作用远高于宿主细胞 BmN[13]。这可能是由于细胞转化和感染方法等都是仿照细胞 Sf21/AcMNPV 系统所采用的方法,对于其他细胞株来说可能不是最适合的条件。张志芳等研究发现,BmNPV*hr3* 和 *hr5* 与 AcMNPV 同源性高达 90% 以上,并且在 AcMNPV 感染的 Sf21 细胞中均能得到显著复制,推测 *hr* 作为病毒复制起始原点与其结构以及所需病毒因子的同源性可能有关[6,11]。

参考文献:

[1]吕鸿声. 昆虫病毒分子生物学[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,1998:217－274.

[2]Pearson M N, Bjornson R M, Ahrens C, et al. Identification and characterization of a putative origin of DNA replication in the genome of a baculoviruspathogenic for *Orgyia pseudotsugata*[J]. Virology, 1993,197(2):715－725.

[3]Huang J H, Levin D B. Identification and functional analysis of a putative non－hr origin of DNA replication from the *Spodoptera littoralis* type B multinucleocapsid nucleopolyhedrovirus[J]. Journal of General Virology,1999,80(8):2263－2274.

[4]Jehle J A. The expansion of a hypervariable, non－*hr ori*－like region in the genome of *Cryptophlebia leucotreta* granulovirus provides *in vivo* evidence for the utilization of baculovirus non－*hr oris* during replication[J]. Journal of General Virology,2002,83(8):2025－2034.

[5]Kool M, Voeten J T, Goldbach R W, et al. Identification of seven putative origins of *Autographa californica* multiple nucleocapsid nuclear polyhedrosis virus DNA replication[J]. Journal of General Virology,1993,74(12):2661－2668.

[6]张志芳,张　颖,吕鸿声,等. 家蚕核多角体病毒 DNA 复制起始点 *hr3* 的结构功能[J]. 中国科学,1995,25(9):949－955.

[7]Liu H F, Gao H J, Guo G, et al. The homologous regions of *Spodoptera litura*(Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus Ⅱ have both the function as origin of DNA replication and enhancer[J]. Journal of Insect Science,2015,15(1):89－96.

[8]Kuzio J, Faulkner P. Regions of repeated DNA in the genome of *Choristoneura fumifefana* nuclear polyhedrosis virus[J]. Virology, 1984,139(1):185－188.

[9]Alves C A, Ikeda M, Kobayashi M. Identification and characterization

陈亨德,褚武英,李玉珑,等. 罗非鱼 *SIRT1* 基因的克隆及其表达规律分析[J]. 江苏农业科学,2019,47(21):103 – 106.
doi:10.15889/j.issn.1002 – 1302.2019.21.023

罗非鱼 *SIRT1* 基因的克隆及其表达规律分析

陈亨德[1], 褚武英[2], 李玉珑[2], 许友卿[1], 丁兆坤[1], 钟艺文[1], 王利香[1], 安晓玲[1]
(1.广西大学水产科学研究所,广西南宁 530004; 2.长沙学院,湖南长沙 410000)

摘要:为了解克隆罗非鱼 *SIRT1* 基因,并分析其在不同组织器官中的表达量和饥饿前后白肌和肝中的表达量,以期为研究罗非鱼基因功能和代谢调控机制提供参考。采用逆转录 PCR(RT – PCR)技术由罗非鱼肌肉组织克隆获得罗非鱼 *SIRT1* 基因,并用生物信息学方法构建系统进化树,利用实时荧光定量 PCR(QRT – PCR)技术对 SIRT1 在罗非鱼体内表达进行研究。结果显示,*SIRT1* 基因开放阅读框(ORF)为 2 109 bp,共编码 702 个氨基酸,具有保守的 DUF、SIR2 和 TPP 保守结构域。进化树分析发现,罗非鱼与伯氏朴丽鱼和红丽鱼的 *SIRT1* 首先成簇,说明 2 个物种的亲缘关系最接近。且 *SIRT1* 基因在所检测的组织、器官中均有表达,其中白肌、肠道中表达量最高,且差异显著($P < 0.05$)。与饥饿组 0 d 相比,饥饿组 7 d 的白肌 *SIRT1* 基因 mRNA 的表达无明显变化,而肝表达量却显著增加($P < 0.05$)。提示罗非鱼 *SIRT1* 基因可作为信号转导调控机体糖代谢、脂肪代谢的候选基因之一。

关键词:罗非鱼;*SIRT1* 基因;实时定量 PCR;饥饿;系统进化树
中图分类号: S917.4　　**文献标志码:** A　　**文章编号:**1002 – 1302(2019)21 – 0103 – 04

罗非鱼是联合国粮食及农业组织(FAO)向全世界推广的优质养殖鱼类品系,目前全球有近百个国家和地区进行罗非鱼的规模化人工养殖,罗非鱼同时也是我国农业农村部主要推广的重要淡水养殖品种,我国罗非鱼养殖产量在世界上高居榜首。尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)是罗非鱼类中的主要养殖品种,该鱼的养殖性能极其优越,具有生长快、食性广、抗病强、肉质鲜美、富含谷氨酸和甘氨酸等特点[1],深受许多美食爱好者的喜爱。

收稿日期:2018 – 07 – 25
基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31472256);湖南省长沙市科技计划重点项目(编号:ZD1601003);湖南省长沙市科技计划一般项目(编号:K1705044)。
作者简介:陈亨德(1993—),男,福建泉州人,硕士,研究方向为水生动物营养、生理生化和分子生物学。E – mail: 335776526 @ qq. com。
通信作者:丁兆坤,博士,教授,研究方向为环境生物学、水生动物营养、生理、生化和分子生物学。E – mail: zhaokun. ding @ hotmail. com。

沉默信息调节因子 2 同源蛋白 1(silent mating type information regulation 2 homolog1,简称 SIRT1)是一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核甘酸(NAD^+)的组蛋白去乙酰化酶[2],于 1999 年从人类中发现[3]。SIRT1 能够广泛表达于成熟组织,在胚胎早期和生殖细胞中含量也较高[4]。哺乳动物中 Sirtuins 家族共有 7 名成员(SIRT1 ~ SIRT7)[3],其中 SIRT1 与沉默信息调节因子 2 的同源性最高[5],是 Sirtuins 家族中目前研究得最为广泛的 1 名成员。SIRT1 在机体内可通过对几种控制代谢转录因子的去乙酰化作用来调节其活性,广泛参与机体的糖代谢和脂肪代谢通路,还参与基因转录、细胞衰老的调节过程[6]。SIRT1 还可抑制成脂肪分化因子 PPARγ 的转录因子活性,减少脂肪的合成与堆积[7]。同时能够使 FOXO1、STAT3 等去乙酰化促进糖异生而抑制糖酵解[8-9]。SIRT1 还可以通过环磷腺苷效应元件结合蛋白(cAMP – response element binding protein,简称 CREB),调节糖脂代谢[10]。目前对 *SIRT1* 基因的研究主要还是集中在人类、小鼠、家畜与家禽(猪、羊、鸡等)上,对鱼类 *SIRT1* 基因的相关研究还鲜有报道。本研究探讨罗非鱼 *SIRT1* mRNA 在不同组

of *Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus homologous repeated regions[J]. Virus Genes,2002,25(3):281 – 290.
[10] Cheng R L, Xu Y P, Zhang C X. Genome sequence of a *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus strain with cubic occlusion bodies[J]. Journal of Virology,2012,86(18):10245.
[11] 胡建新,吴祥甫,李载平,等. 家蚕核型多角体病毒同源重复区 *hr5* 的结构和功能[J]. 中国科学(C 辑:生命科学),1996,26(3):194 – 199.
[12] 肖庆利,张志芳,易咏竹,等. 家蚕核多角体病毒解旋酶基因启动子及增强子 *hr3* 功能分析[J]. 生物化学与生物物理学报,2001,33(5):525 – 530.
[13] Chen Y, Yao B, Zhu Z Z, et al. A constitutive super – enhancer: homologous region 3 of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications,2004,318(4):1039 – 1044.
[14] Viswanathan P, Venkaiah B, Kumar M S, et al. The homologous region sequence (hr1) of *Autographa californica* multinucleocapsid polyhedrosis virus can enhance transcription from non – baculoviral promoters in mammalian cells[J]. Journal of Biological Chemistry,2003,278(52):52564 – 52571.
[15] Summers M D, Smith G E. A manual of methods for baculovirus vectors and insect cell culture procedures[M]. Texas: Texas Agricultural Experiment Station Bulletin,1987:1555 – 1556.
[16] Idahl L A, Sandström P E, Sehlin J. Measurements of serum glucose using the luciferin/luciferase system and a liquid scintillation spectrometer[J]. Analytical Biochemistry,1986,155(1):177 – 181.