



赵磊, 夏昊, 钱强, 等. 菜粉蝶 *osiris* 基因家族鉴定与发育动态 [J]. 环境昆虫学报, 2017, 39 (6): 1319–1325.

菜粉蝶 *osiris* 基因家族鉴定与发育动态

赵磊, 夏昊, 钱强, 徐圆, 李凯*

(东华大学化学化工与生物工程学院, 上海 201620)

摘要: *osiris* 基因家族是昆虫特异性基因, 迄今尚未在昆虫纲以外的物种中发现同源基因。本研究利用菜粉蝶转录组数据, 鉴定了菜粉蝶 16 个 *osiris* 基因家族成员, 分属 11 个亚家族。通过与菜粉蝶基因组比对, 发现菜粉蝶 *osiris* 基因均为断裂基因, 外显子数量为 3–15 个; 通过结构域分析, 发现菜粉蝶 *Osiris* 完整编码蛋白含有信号肽和一个未知功能结构域 DUF1676, 且多数 *Osiris* 蛋白含跨膜结构域。系统发育分析表明, *osiris* 基因家族成员与其他昆虫种类相应成员更似直系同源, 而非种内基因扩张, 再次验证了 *osiris* 基因是在昆虫物种分化之前就已形成的多基因家族。发育转录组基因表达分析表明, *osiris* 家族不同成员表达量在不同发育阶段趋势几乎完全一致, 多在菜粉蝶 1 龄幼虫和 5 龄幼虫高表达, 卵期、蛹期与成虫期低表达, 预示着 *osiris* 基因家族不同成员转录调控机制的相似性与发育的相关性。

关键词: *osiris* 基因家族; 菜粉蝶; 蛋白结构域; 系统进化; 发育

中图分类号: Q963; S433.4

文献标识码: A

文章编号: 1674–0858 (2017) 06–1319–07

Identification and developmental pattern of *osiris* gene family in the cabbage butterfly *Pieris rapae*

ZHAO Lei, XIA Hao, QIAN Qiang, XU Yuan, LI Kai* (College of Chemistry, Chemical Engineering & Biotechnology, Donghua University, Shanghai 201620, China)

Abstract: *osiris* gene family are insect-specific genes, whose homologous genes are unavailable in any other species. In current study, 16 *osiris* genes were identified belong to 11 sub-families based on the developmental transcriptome of *Pieris rapae*. All these genes were found to be split genes with 3 to 15 exons by compared with the *P. rapae* genome. Structural domain analysis revealed that each *Osiris* protein contained one signal peptide and one structure domain (DUF1676), while most of them have a trans-membrane domain. Phylogenetic analysis indicated that *osiris* gene had been formed before insect speciation. Analysis of different developmental stage of *P. rapae* transcriptomes showed that *osiris* gene members had similar expression pattern throughout the entire life-stage (high expression in the first and fifth larval stages and low expression in other growth stages). These results indicated that different members of *osiris* gene family may be involved in similar mechanism of transcription regulation and related with development.

Key words: *osiris* gene family; protein structure domain; phylogenetic; development

1972 年, Sandler 等 (1972) 在对黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 染色体片段非整倍体的研究

中发现, 三号染色体存在导致单倍体或三倍体致死的区段, 并将其命名为三倍体致死基因座

基金项目: 国家自然科学基金 (31171199); 东华大学 “ 励志计划 ” (B201308)

第一作者: 赵磊, 男, 1991 年生, 山东人, 硕士, 研究方向为昆虫发育与免疫, E-mail: zhaolei19911010@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: likai@dhu.edu.cn

收稿日期 Received: 2016–09–06; 接受日期 Accepted: 2016–11–05

(Tpl)。2003 年, Dorer 等 (2003) 在 Tpl 区域发现了一个含有 20 个成员的基因家族, 并对其命名为 *osiris* 家族。随着昆虫基因组测序的进展, 陆续在柑橘凤蝶 *Papilio xuthus* (Futahashi *et al.*, 2012), 玉带凤蝶 *Papilio polytes* (Futahashi *et al.*, 2012), 大白斑蝶 *Danaus plexippus* (Zhan *et al.*, 2011)、家蚕 *Bombyx mori* (Zhao *et al.*, 2010)、黑腹果蝇 (Dorer *et al.*, 2003)、冬尺蛾 *Operophtera brumata* (Derks *et al.*, 2015), 蝇蛹金小蜂 *Nasonia vitripennis* (Werren *et al.*, 2010) 等多个昆虫中发现 *osiris* 基因。在功能上, 目前已知 *osiris* 基因家族与果蝇对辛酸的抗性 (López, 2015), 意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 的细菌免疫 (Cornman *et al.*, 2013)、白蚁 *Termite* 的发育 (Terrapon *et al.*, 2014)、家蚕性别与组织发育 (Gan *et al.*, 2012) 等密切相关。

作为昆虫特异性基因, *osiris* 基因家族成员表现出两个明显的特征: 保守性与共线性。半变态与全变态昆虫中 *osiris* 基因都非常保守, 均含信号肽与 DUF1676 结构域。如比较果蝇属中 *D. melanogaster* 与 *D. sechellia* 的 *Osiris* 蛋白, 发现 *Osiris* 6/7 的编码区完全一致, *Osiris* 8 中只有 2 个氨基酸的变化 (López, 2015)。从 *osiris* 基因家族在染色体上的共线性来看, 该家族所在位置是果蝇中最大的共线性区段。Shah 等 (2012) 认为, 在昆虫和其他节肢动物在进化上分离以后、昆虫种类分化之前, *osiris* 基因家族在短时间内迅速的复制与功能化, *osiris* 基因家族的序列和共线性应该在进化中受到强烈选择、并保留到现在。

本文利用菜粉蝶发育转录组数据, 比对并鉴定 16 个菜粉蝶 *Osiris* 蛋白, 描述了菜粉蝶 *Osiris* 蛋白家族的基本特征, 重建昆虫 *Osiris* 蛋白的系统发育树, 并对 *osiris* 基因在菜粉蝶不同生长发育阶段的表达模式作初步分析, 为今后研究菜粉蝶 *osiris* 基因的生物学功能提供参考。

1 材料与方法

1.1 菜粉蝶转录组与基因组数据

菜粉蝶卵、1 龄幼虫、3 龄幼虫、5 龄幼虫、蛹与成虫 6 个不同生长时期的转录组数据 (Qi *et al.*, 2016) 与成虫基因组数据为本实验室前期拼接而成。

1.2 菜粉蝶 *Osiris* 家族成员发现

在 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 上下载目前已确定的昆虫的 *Osiris* 蛋白序列, 使用 BLAST (Mount, 2007) 程序将菜粉蝶的转录组序列与上述已知 *Osiris* 蛋白序列进行比对, 取期望值 $E\text{-value} < 1e-5$, 取最佳匹配结果并根据其序列为菜粉蝶的 *Osiris* 蛋白命名。

1.3 菜粉蝶 *Osiris* 家族结构域分析

用 Transcode (Haas *et al.*, 2013) 软件预测编码 *osiris* 基因的 ORF 并翻译成氨基酸序列。用 SMART 在线软件 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 进行信号肽与结构域预测。将 *osiris* 基因 cDNA 序列使用本地化 BLAST 的方法, 将编码 *Osiris* 的 mRNA 比对到菜粉蝶基因组上, 分析其外显子、内含子特征。

1.4 昆虫 *Osiris* 家族进化分析

Osiris 蛋白使用 clustalX 软件 (Larkin *et al.*, 2007) 进行多序列比对分析, 用 MEGA 6.0 (Tamura *et al.*, 2013) 采用 Neighbor-joining (NJ) 法进行系统进化树重构, Bootstrap 重复设置为 500。

1.5 菜粉蝶 *osiris* 家族 RNA-seq 表达量分析

osiris 家族基因在菜粉蝶卵、1 龄幼虫、3 龄幼虫、5 龄幼虫、蛹、成虫 6 个不同生长时期的表达量, 利用 Trinity (Haas *et al.*, 2013) 软件调用 RSEM (Li *et al.*, 2011) 计算出对应的 reads 数目, 然后再调用 edgeR (Dai *et al.*, 2014) 软件对其进行标准化, 最后得到 *osiris* 基因在不同样本中的表达量。

2 结果与分析

2.1 菜粉蝶的 *Osiris* 蛋白家族

将菜粉蝶 cDNA 和已知 *Osiris* 蛋白序列比对, 得到了 16 个菜粉蝶 *osiris* 基因家族成员。其中 12 个菜粉蝶 *osiris* 基因家族成员比对到鳞翅目的同源基因, 另外 4 个菜粉蝶 *osiris* 家族基因比对到黑腹果蝇同源基因 (表 1)。在 16 条 *osiris* 基因序列中, ORF 最短的编码 160 个氨基酸, ORF 最长的编码 613 个氨基酸。通过对 BLAST 比对到菜粉蝶基因组上的位置, 得到菜粉蝶 *osiris* 基因家族成员的外显子分布结构特征, 发现菜粉蝶 *osiris* 基因的外显子数目至少为 3 个, 其中外显子数目最多的是 *osiris*17, 含有 15 个外显子。分析内含子剪切位点, 发现全部符合 gt-ag 规则。

表 1 菜粉蝶 *osiris* 基因基本属性

Table 1 Basic characters of *Pieris rapae osiris* gene family

预测基因 Predictd gene	大小 (aa) Size	外显子 Exon	内含子 (bp) Intron	相似度 (%) Identity	最佳匹配 Best_match
<i>osiris 2</i>	198	9	> 2049	83. 71	玉带凤蝶 <i>Papilio polytes</i>
<i>osiris 7</i>	262	4	> 41	76. 26	柑橘凤蝶 <i>Papilio xuthus</i>
<i>osiris 9A</i>	239	4	3901	81. 33	柑橘凤蝶 <i>Papilio xuthus</i>
<i>osiris 9B</i>	236	4	1426	75. 11	柑橘凤蝶 <i>Papilio xuthus</i>
<i>osiris 9C</i>	243	4	> 614	68. 72	大红斑蝶 <i>Danaus plexippus</i>
<i>osiris 9D</i>	235	6	> 2916	84. 09	玉带凤蝶 <i>Papilio polytes</i>
<i>osiris 9E</i>	249	3	553	75. 11	大红斑蝶 <i>Danaus plexippus</i>
<i>osiris 9F</i>	248	4	1800	77. 63	大红斑蝶 <i>Danaus plexippus</i>
<i>osiris 10</i>	314	5	> 869	52. 63	柑橘凤蝶 <i>Papilio xuthus</i>
<i>osiris 17</i>	613	14	> 3275	42. 98	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>
<i>osiris 18</i>	267	4	356	84. 01	大红斑蝶 <i>Danaus plexippus</i>
<i>osiris 19</i>	251	4	191	84. 77	家蚕 <i>Bombyx mori</i>
<i>osiris 20</i>	291	8	> 254	77. 38	大红斑蝶 <i>Danaus plexippus</i>
<i>osiris 22</i>	160	3	> 2429	44. 44	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>
<i>osiris 23</i>	329	6	5476	32. 38	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>
<i>osiris 24</i>	452	10	> 6111	42. 09	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>

2.2 菜粉蝶 *Osiris* 蛋白结构域分析

信号肽、DUF1676 结构域与跨膜结构域是昆虫 *Osiris* 蛋白的三大重要特征。菜粉蝶 *Osiris* 家族蛋白中有 15 个含有信号肽，仅 *Osiris 17* 不含信号

肽，该特征与黑腹果蝇中的同源蛋白 *Osiris 17* 一致（图 1）。15 个 *Osiris* 蛋白含有 DUF1676 结构域，且该结构域在不同成员之间较保守（图 2）。*Osiris 22* 没有 DUF1676 结构域但它与黑腹果蝇同

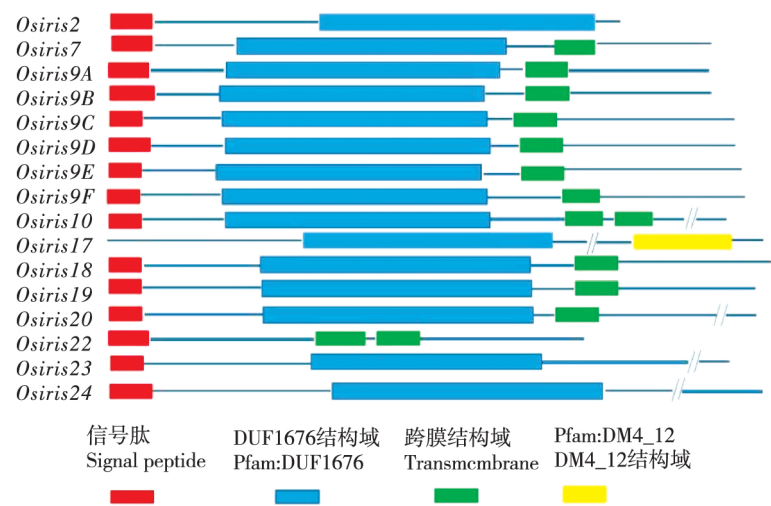


图 1 蛋白结构域预测分析

Fig. 1 Analysis of protein structure domain

源,黑腹果蝇 *Osiris* 22 蛋白亦不含有 DUF1676 结构域,但含有信号肽和两个跨膜结构域 (Douglas *et al.*, 2003)。13 个 *Osiris* 蛋白含有跨膜结构域,仅 *Osiris* 2、*Osiris* 23 与 *Osiris* 24 蛋白不含跨膜结构域。*Osiris* 序列中含有的信号肽和跨膜结构域表明其为分泌蛋白或跨膜蛋白。在菜粉蝶 *Osiris* 17 中还含有一个 DM4_12 结构域,该结构域是在黑腹果蝇中首次发现 (Lachaise *et al.*, 1988), 大约含有 115 个氨基酸并且含有 4 个高度保守的半胱氨酸残基,其具体生物学功能尚未解析。

2.3 昆虫 *Osiris* 家族进化分析

通过 NCBI 数据库搜索,得到 127 条已确定的昆虫 *Osiris* 家族序列,其中鳞翅目昆虫包含 59 条,并利用蛋白质序列构建系统发生树 (图 2)。结果可看出, *Osiris* 各个亚族在进化树分支上存在明显分歧,同一亚族的成员多成簇存在且以单系群为主,显示 *Osiris* 家族是在昆虫物种分化前形成的多基因家族。对 *Osiris* 家族种内和种间的序列进行多序列比对,计算 *Osiris* 家族在种内和种间的差异度,结果显示同一个 *Osiris* 家族序列在种间的保守性比不同的 *Osiris* 家族序列在种内的保守性强。

为进一步证实单个 *Osiris* 蛋白在昆虫种类间的分化,随机选取菜粉蝶和其他昆虫中的 *Osiris* 7 和 *Osiris* 19 序列构建系统进化树,结果证实了在不同的物种之间 *Osiris* 家族序列是高度保守的,且菜粉蝶和大红斑蝶及冬尺蛾的 *Osiris* 家族亲缘关系相对较近 (图 3)。

2.4 菜粉蝶 *osiris* 基因家族在其发育过程中的表达模式

菜粉蝶 *osiris* 家族成员基因在不同生长时期的表达量如图 4 所示。可以看出 *osiris* 基因不同发育阶段的表达模式趋向一致。如在卵期,3 龄幼虫期和成虫期表达量都很低甚至不表达,峰值一般出现在 1 龄或 5 龄幼虫期。其中 *osiris* 9B、*osiris* 20、*osiris* 2、*osiris* 19、*osiris* 18 和 *osiris* 9D 在 1 龄和 5 龄幼虫期表达量都很高, *osiris* 9F、*osiris* 9A、*osiris* 9E、*osiris* 9C、*osiris* 7、*osiris* 17、*osiris* 22 和 *osiris* 24 在 5 龄幼虫期表达量最高。*osiris* 基因在菜粉蝶不同生长时期表达量变化的相似趋势,提示 *osiris* 基因家族不同成员转录调控机制的相似性且可能与发育相关的,值得进一步深入挖掘其机制。

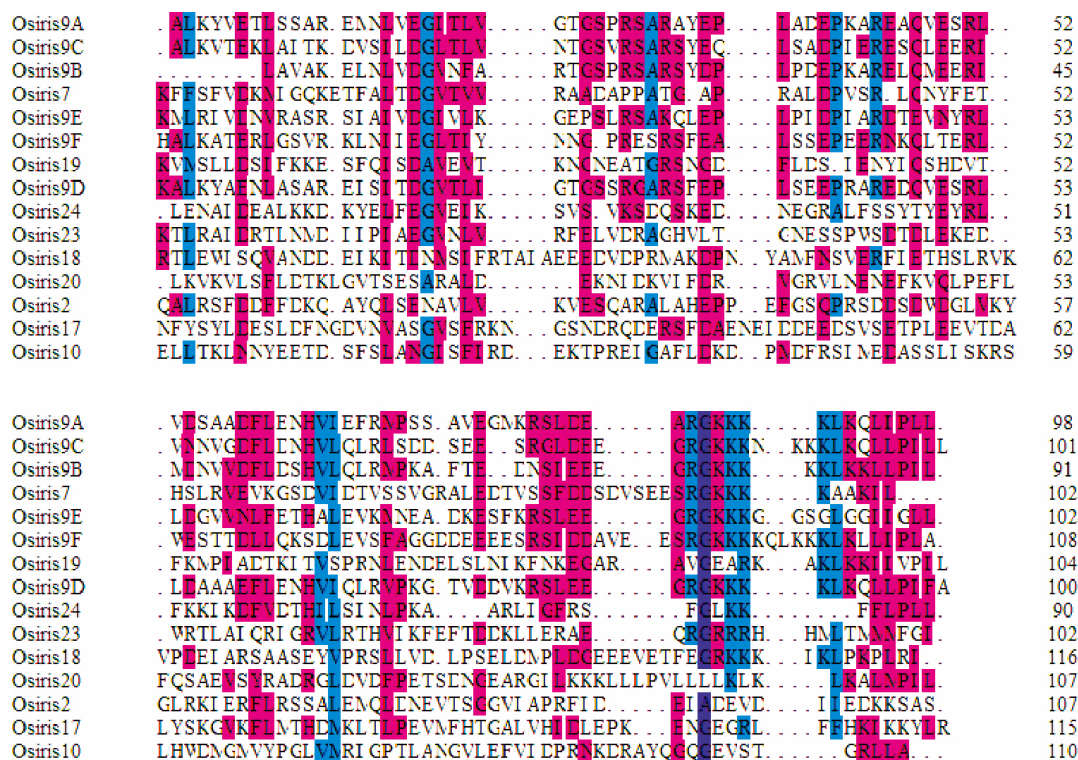


图 2 *Osiris* 家族 DUF1676 结构域多序列比对分析

Fig. 2 Multiple sequence alignment analysis of DUF1676

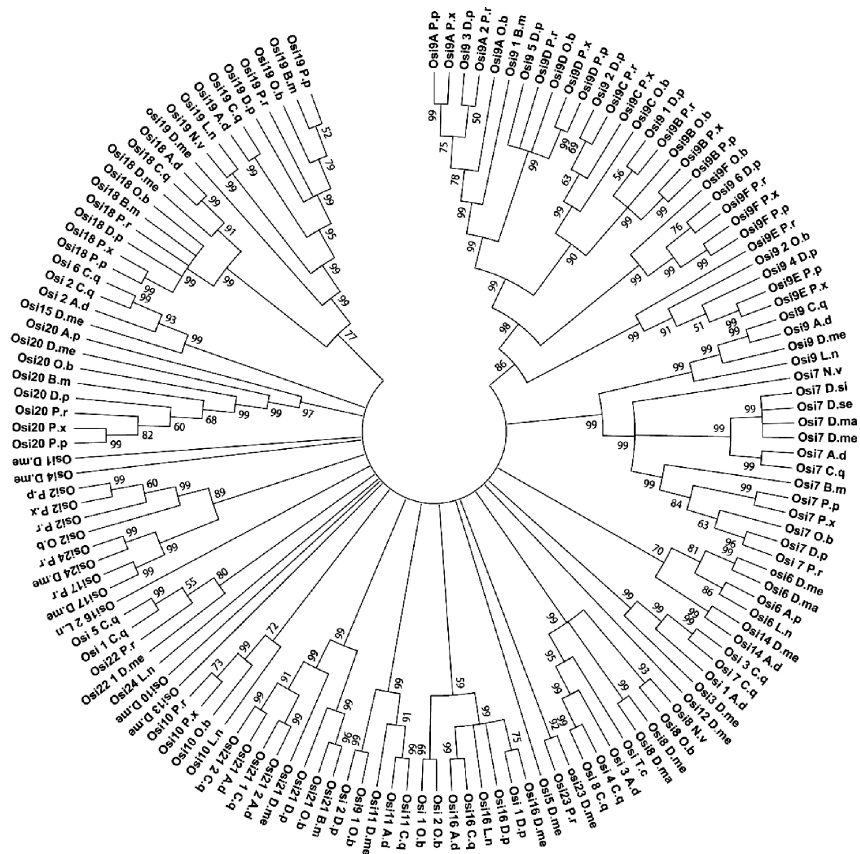


图3 各个物种的 Osiris 家族的系统进化分析

Fig. 3 Phylogenetic analysis of Osiris gene family

注: P. x, 柑橘凤蝶; P. p, 玉带凤蝶; P. r, 菜粉蝶; D. p, 大白斑蝶; B. m, 家蚕; O. b, 冬尺蛾; C. q, 致倦库蚊; A. d, 达氏按蚊; D. me, 黑腹果蝇; D. si, 拟果蝇; N. v, 蝇蛹金小蜂; L. n, 黑褐毛山蚁; A. p, 豌豆蚜。Note: P. x, *Papilio xuthus*; P. p, *Papilio polytes*; P. r, *Pieris rapae* Linne; *Danaus plexippus* (D. p), B. m, *Bombyx mori*; O. b, *Operophtera brumata*; C. q, *Culex quinquefasciatus*; A. d, *Anopheles darlingi*; D. me, *Drosophila melanogaster*; D. si, *Drosophila simulans*; N. v, *Nasonia vitripennis*; L. n, *Lasius niger*; A. p, *Acyrtosiphon pisum*.

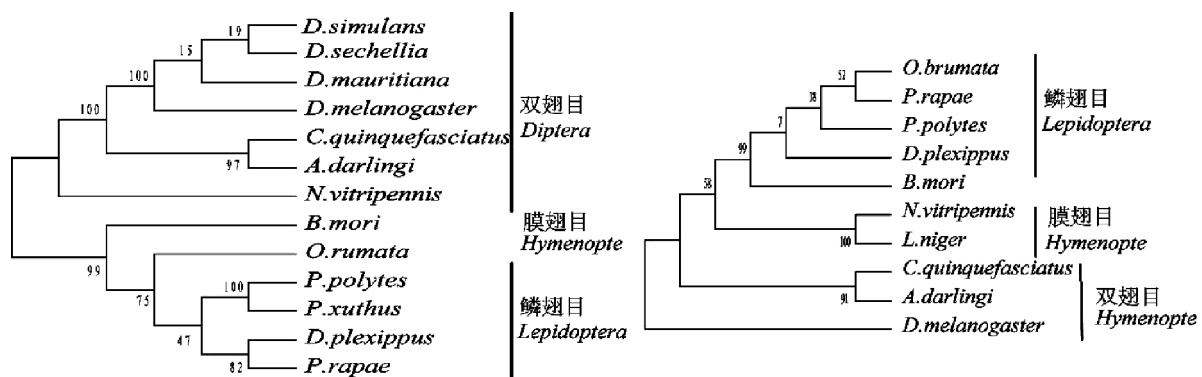


图4 各昆虫之间 Osiris 7 和 Osiris 19 的系统进化分析

Fig. 4 Phylogenetic analysis of Osiris 7 and Osiris 19

注: P. xuthus, 柑橘凤蝶 *Papilio Xuthus*; P. polytes, 玉带凤蝶 *Papilio polytes*; P. rapae, 菜粉蝶 *Pieris rapae* Linne; D. plexippus, 大白斑蝶 *Danaus plexippus*; B. mori, 家蚕 *Bombyx mori*; O. brumata, 冬尺蛾 *Operophtera brumata*; C. quinquefasciatus, 致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus*; A. darling, 达氏按蚊 *Anopheles darlingi*; D. melanogaster, 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*; D. simulans, 拟果蝇 *Drosophila simulans*; N. vitripennis, 蝇蛹金小蜂 *Nasonia vitripennis*; L. niger, 黑褐毛山蚁 *Lasius niger*; A. pisum, 豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum*.

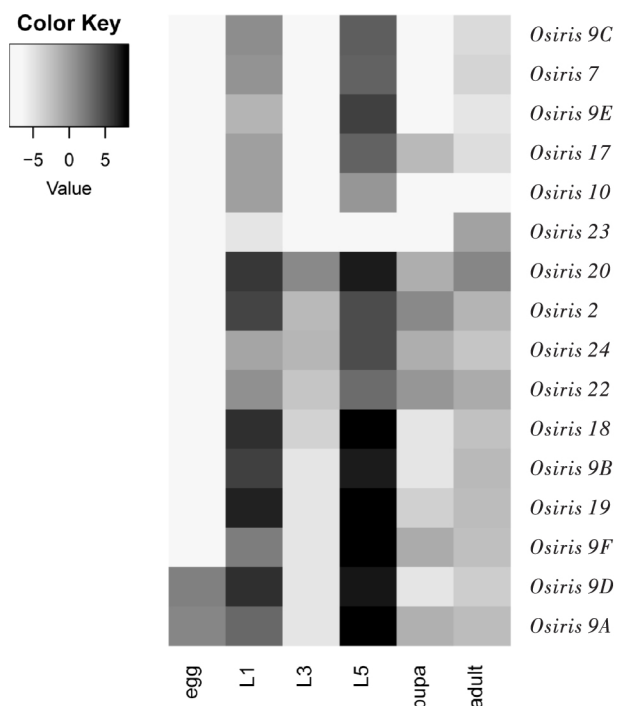


图5 菜粉蝶 *osiris* 基因表达模式图

Fig. 5 Gene expression profiles of the *osiris* gene family in *Pieris rapae*

注: egg, 卵期; L1, 1 龄幼虫期 first larval stages; L3, 3 龄幼虫期 third larval stages; L5, 5 龄幼虫期 fifth larval stages; pupa, 蛹期; adult, 成虫期。

3 结论与讨论

osiris 基因簇是昆虫最大的保守性基因家族。通过对菜粉蝶转录组和基因组的研究发现菜粉蝶中含有 *osiris* 家族基因 16 个。通过对其结构域的研究发现菜粉蝶 *Osiris* 蛋白家族中除 *Osiris* 22 之外都含有 DUF1676 结构域, 有趣的是在最早发现该基因家族成簇存在的黑腹果蝇中, *Osiris* 22 同样也不含有 DUF1676 结构域而其余 *Osiris* 蛋白均含有该结构域。DUF1676 结构域在 *Osiris* 家族中的普遍存在可以预测其可能在 *Osiris* 家族中起着重要的作用, 但其具体功能目前仍然未知 (Dorer *et al.*, 2003)。在对黑腹果蝇的研究当中显示, 黑腹果蝇的 20 条 *osiris* 基因均位于 3 号染色体上 (Dorer *et al.*, 2003), 对于其在菜粉蝶染色体中是否也具有类似的分布特征仍需进一步研究。

系统进化树重构显示, 菜粉蝶 *Osiris* 蛋白在进化上与鳞翅目昆虫同源蛋白亲缘关系接近, 且昆虫 *Osiris* 蛋白各亚家族成员在进化分支上的成簇存

在也表明 *Osiris* 蛋白进化上的保守性。*osiris* 家族基因如此保守, 其中序列的同义突变率显著高于无义突变率 (Dorer *et al.*, 2003), 显示出强烈的功能选择与重要性。从昆虫的 *Osiris* 家族的系统进化分析可以看出, *Osiris* 家族在不同物种的直系同源关系比较明显, 因此可以推测出其是在昆虫物种分化之前就已经形成的多基因家族。在比较黑腹果蝇与冈比亚按蚊的 *Osiris* 蛋白同源性时, 也未发现存在横向同源基因 (Dorer *et al.*, 2003)。此外, 果蝇 *Osiris* 家族在序列上和染色体分布上都存在明显的保守性 (Dorer *et al.*, 2003), 但由于目前菜粉蝶基因组研究还处于初级阶段, 基因组拼接出的序列还不够长, 因此不能得到 *Osiris* 家族在菜粉蝶染色体分布上的保守性, 其在染色体上的位置信息还需进一步研究与发现。

除了早期的剂量敏感效应外, 目前已发现与抗性 (López, 2015), 免疫 (Cornman *et al.*, 2013)、白蚁发育 (Terrapon *et al.*, 2014) 或性别 (Gan *et al.*, 2012) 等相关。如果蝇中的 *osiris* 基因第 6/7/8 外显子被敲除后, 果蝇对辛酸的敏感度增加。对脂肪体和唾液腺进行组织特异性基因敲除后, 反而会增加对辛酸的抗性 (López, 2015)。而蜜蜂幼虫被腐臭病感染后, 17 个 *osiris* 基因均上调, 其中 11 个基因差异显著 (Cornman *et al.*, 2013)。在菜粉蝶中, 通过对其不同生长时期的 RNA-seq 数据分析发现, 菜粉蝶 *osiris* 基因在不同的生长时期的表达量发生了明显的变化, 其中 *osiris* 基因上调主要发生在 1 龄和 5 龄幼虫时期, 在卵期, 3 龄幼虫期, 蛹期和成虫期表达量较低, 预示着 *osiris* 基因家族可能在菜粉蝶不同生长发育时期发挥着不同的作用。类似的上调表达聚集在某些发育阶段的现象, 也存在与白蚁发育中 (Terrapon *et al.*, 2014), 但具体功能均需进一步实验验证。此外, 不同的 *osiris* 基因表达量随发育变化趋势相对一致, 预测菜粉蝶 *osiris* 基因受相似的调控机制调节。随着基因组信息的进一步完善, 调控元件的分析有助于证实这一猜测。

通过对菜粉蝶 *osiris* 基因家族的研究, 可以充实对昆虫 *osiris* 家族的认识, 为今后人们研究和发现 *osiris* 家族的功能提供了参考。*osiris* 家族可能作为新型生物杀虫剂的良好靶位点, 通过对菜粉蝶 *osiris* 家族的研究, 对未来菜青虫以及其他害虫的生物防治、农药开发与综合防治提供了新的思路, 其实践意义重大。

参考文献 (References)

- Cornman RS , Lopez D , Evans JD. Transcriptional response of honey bee larvae infected with the bacterial pathogen *Paenibacillus* larvae [J]. *PLoS ONE* , 2013 , 8 (6) : e65424.
- Dai ZY , Sheridan JM , Gearing LJ , et al. edgeR: A versatile tool for the analysis of shRNA-seq and CRISPR-Cas9 genetic screens [J]. *F1000 Research* , 2014 , 3 : 95.
- Derks MF , Smit S , Salis L , et al. The genome of winter moth (*Operophtera brumata*) provides a genomic perspective on sexual dimorphism and phenology [J]. *Genome Biology and Evolution* , 2015 , 7 (8) : 2321 – 2332.
- Dorer DR , Rudnick JA , Moriyama EN , et al. A Family of genes clustered at the Triplo – lethal Locus of *Drosophila melanogaster* has an unusual evolutionary history and significant synteny with *Anopheles gambiae* [J]. *Genetics* , 2003 , 165 (2) : 613 – 621.
- Futahashi R , Shirataki H , Narita T , et al. Comprehensive microarray – based analysis for stage – specific larval camouflage pattern – associated genes in the swallowtail butterfly , *Papilio xuthus* [J]. *BMC Biology* , 2012 , 10 : 46.
- Gan LP , Wang Y , Xi J , et al. Long SAGE analysis of genes differentially expressed in the midgut and silk gland between the sexes of the silkworm *Bombyx mori* [J]. *African Journal of Biotechnology* , 2012 , 11 (49) .
- Haas BJ , Papanicolaou A , Yassour M , et al. De novo transcript sequence reconstruction from RNA – seq using the Trinity platform for reference generation and analysis [J]. *Nature Protocols* , 2013 , 8 (8) : 1494 – 1512.
- Lachaise D , Cariou ML , David JR , et al. Historical biogeography of the *Drosophila melanogaster* species subgroup [J]. *Evolutionary Biology* , 1988 , 22 : 159 – 225.
- Larkin MA , Blackshields G , Brown NP , et al. Clustal W and Clustal X version 2.0 [J]. *Bioinformatics* , 2007 , 23 (21) : 2947 – 2948.
- Li B , Dewey CN. RSEM: Accurate transcript quantification from RNA – Seq data with or without a reference genome [J]. *BMC Bioinformatics* , 2011 , 12 : 323.
- López JMA , Lanno SM , Auerbach JM , et al. Genetic basis of octanoic acid resistance in *Drosophila sechellia*: Functional analysis of a fine-mapped region [J]. *Molecular Ecology* , 2017 , 26 (4) : 1148 – 1160.
- Mount DW. Using the basic local alignment search tool (BLAST) [J]. *Cold Spring Harbor Protocols* , 2007 , 14.
- Qi LX , Fang Q , Zhao L , et al. De novo assembly and developmental transcriptome analysis of the small white butterfly *Pieris rapae* [J]. *PLoS ONE* , 2016 , 11 (7) .
- Sandler D. Segmental aneuploidy and the genetic gross structure of the *Drosophila* genome [J]. *Genetics* , 1972 , 71 (1) : 157 – 184.
- Shah N , Dorer DR , Moriyama EN , et al. Evolution of a large , conserved , and syntenic gene family in insects [J]. *G3 (Bethesda)* , 2012 , 2 (2) : 313 – 319.
- Tamura K , Stecher G , Peterson D , et al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution* , 2013 , 30 (12) : 2725 – 2729.
- Terrapon N , Li C , Robertson HM , et al. Molecular traces of alternative social organization in a termite genome [J]. *Nat. Communications* , 2014 , 5 : 3636.
- Werren JH , Richards S , Desjardins CA , et al. Functional and evolutionary insights from the genomes of three parasitoid *Nasonia* species [J]. *Science* , 2010 , 327 (5963) : 343 – 348.
- Zhan S , Merlin C , Boore JL , et al. The monarch butterfly genome yields insights into long – distance migration [J]. *Cell* , 2011 , 147 (5) : 1171 – 1185.
- Zhao P , Wang GH , Dong ZM , et al. Genome – wide identification and expression analysis of serine proteases and homologs in the silkworm *Bombyx mori* [J]. *BMC Genomics* , 2010 , 11 : 405.