



胡杰, 车午男, 周金成, 张欢欢, 董辉. 胞内共生菌 *Wolbachia* 效应因子研究进展 [J]. 环境昆虫学报, 2026, 48 (2): 453-461. HU Jie, CHE Wu-Nan, ZHOU Jin-Cheng, ZHANG Huan-Huan, DONG Hui. Research progress of intracellular symbiont *Wolbachia* effectors [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2026, 48 (2): 453-461.

胞内共生菌 *Wolbachia* 效应因子研究进展

胡杰¹, 车午男¹, 周金成^{1,2}, 张欢欢^{3*}, 董辉^{1*}

(1. 沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866; 2. 临沂大学农林科学学院, 山东临沂 276000;

3. 西藏自治区农牧科学院蔬菜科学研究所, 拉萨 850032)

摘要: 沃尔巴克氏体 (*Wolbachia*) 是节肢动物及线虫中广泛存在的一类胞内共生菌, 通过分泌效应因子影响宿主生殖和其他生理过程。为了研究 *Wolbachia*-宿主互作方式及机制, 并提出有效的卫生 (农林) 害虫防治策略, 本文综述了已报道的 *Wolbachia* 效应因子研究进展及相关研究方法。目前对 *Wolbachia* 效应因子及其调控机制的研究方法主要包括质谱法、生物信息学筛选、真核系统表达和转基因体系构建等。且 *Wolbachia* 效应因子 Cifs、Wmk、Oscar、TomO、PIFF、WalE1 等功能、结构及潜在机制已被报道。鉴于 *Wolbachia* 效应因子研究现状, 未来研究应集中在以下方面: (1) 通过多组学分析筛选新的效应因子, 阐明 *Wolbachia*-宿主互作机制; (2) 开发农林害虫防治策略; (3) 结合甲基化、miRNA 进一步探明共生菌-宿主互作关系。

关键词: 沃尔巴克氏体; 生殖调控; 效应因子; 胞内共生菌

中图分类号: Q963

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2026) 02-0453-09

Research progress of intracellular symbiont *Wolbachia* effectors

HU Jie¹, CHE Wu-Nan¹, ZHOU Jin-Cheng^{1,2}, ZHANG Huan-Huan^{3*}, DONG Hui^{1*} (1. College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 2. College of Agriculture and Forestry, Linyi University, Linyi 276000, Shandong Province, China; 3. Institute of Vegetable, Tibet Academy of Agriculture and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850032, China)

Abstract: *Wolbachia* is a group of intracellular symbionts widely prevalent in arthropods and nematodes, which influence host reproduction and other physiological processes via the secretion of effector proteins. This review aims to facilitate further study of *Wolbachia*-host interactions mechanisms and the development of effective strategies for the management of public health (agricultural and forestry) and pest control, this article systematically reviews the reported research on *Wolbachia* effectors and associated research methodologies. Current methodologies for investigating *Wolbachia* effectors and their regulatory mechanisms predominantly encompass mass spectrometry, bioinformatic-based screening, heterologous eukaryotic expression systems, and transgenic system construction. The functions, molecular structures, and potential mechanistic bases of characterized *Wolbachia* effectors, including Cifs, Wmk, Oscar, TomO, PIFF, and WalE1, have been systematically elucidated in recent studies. In view of the current research advances in *Wolbachia* effectors, future investigations are suggested to focus on the following aspects: (1) Systematic identification of novel effectors through integrated multi-omics approaches to elucidate the mechanisms of *Wolbachia*-host interactions; (2) Developing innovative pest control strategies targeting

基金项目: 西藏自治区中央引导地方项目 (XZ202301YD0042C)

作者简介: 胡杰, 男, 硕士研究生, 研究方向为植物保护, E-mail: 545182320@qq.com

*共同通讯作者 Author for correspondence: 董辉, 男, 教授, 研究方向为天敌昆虫与害虫防治, E-mail: biocontrol@163.com; 张欢欢, 男, 助理研究员, 研究方向为病虫害生物防治, E-mail: 1349282933@qq.com

收稿日期 Received: 2024-12-05; 修回日期 Revision received: 2025-07-02; 接受日期 Accepted: 2025-07-05

agricultural and forestry pests; (3) Investigating *Wolbachia*-host symbiotic interactions through integrative analyses of DNA methylation and miRNA regulation.

Key words: *Wolbachia*; reproduction regulation; effector; intracellular symbiont

细胞内共生菌 *Wolbachia* 广泛存在于节肢动物及线虫中 (Scott *et al.*, 2012; Weinert *et al.*, 2015), 可影响宿主生殖、免疫、营养等多个方面 (Foster *et al.*, 2005; Nikoh *et al.*, 2014; Schultz *et al.*, 2018; Bhattacharya *et al.*, 2020; Kaur *et al.*, 2021)。*Wolbachia* 是严格的细胞内共生菌, 无法对其分离培养, 这使得 *Wolbachia* 效应因子的研究方法较为局限。目前常用的研究方法主要有质谱法、真核表达、模式生物的转基因体系构建及生物信息学筛选等。

在与宿主互作过程中, *Wolbachia* 通过分泌效应蛋白 (效应因子) 来行使其功能, 而这些效应因子可与宿主细胞骨架、生殖相关蛋白等靶蛋白结合, 对宿主细胞生理过程产生影响。目前已报道的 *Wolbachia* 效应因子包括胞质不亲和效应因子 (Cytoplasmic incompatibility effector factor, Cifs), WO 介导的死亡基因 (WO-mediated killing, *Wmk*), 含 CifB C 末端样结构域及多锚蛋白重复序列的 Osugoroshi 蛋白 (Osugoroshi protein containing CifB C-terminus-like domain and many ankyrin repeats, Oscar), 卵子发生毒性操纵蛋白 (Toxic manipulator of Oogenesis, TomO), 诱导孤雌生殖雌性化效应基因 (Parthenogenesis-induction feminization factor gene, *PIFF*), *Wolbachia* 细胞骨架效应因子 (*Wolbachia* actin-localizing Effector 1, *WalE1*)。本文总结了近年来对 *Wolbachia* 效应因子的研究方法及目前已有报道的相关效应因子, 将为深入阐明 *Wolbachia* 与宿主互作机制提供参考。

1 *Wolbachia* 效应因子研究方法

目前对 *Wolbachia* 调控宿主的机制研究, 大部分还停留在细胞学水平上, 对调控作用的分子机制研究尚不完善。尽管如此, 研究人员还是通过各种手段鉴定到了相关效应因子及效应因子候选物, 并希望通过对这些因子的特异性实验, 来挖掘更深层次的互作关系或者直接影响的效应物。已鉴定的 *Wolbachia* 效应因子主要来源于果蝇属 *Drosophila* spp., 尖音库蚊 *Culex pipiens*, 家蚕

Bombyx mori, 马来丝虫 *Brugia malayi* 和一种小环腹瘿蜂 *Leptopilina clavipes* 等宿主昆虫的 *Wolbachia* 菌株。下面列举了几种常见的 *Wolbachia* 效应因子研究方法。

1.1 质谱法

根据不同的质核比带电离子在电磁场中的偏转角度不同, 获得各物质分子量、结构等信息, 进而判断候选效应因子所具有的独特片段。Beckmann and Fallon (2013) 对其收集到的尖音库蚊卵巢和受精囊蛋白进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 及质谱分析, 发现在 *Wolbachia* 感染个体的卵巢和受精囊中均检测到 *wPip_0282* 独特肽段。之后的研究发现 *wPip_0282* 和 *wPip_0283* 可参与调控宿主生殖系统, 其中表达 *wPip_0283* 的黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 杂交个体表现出染色体分离延迟, 染色质桥接等胚胎缺陷 (Beckmann *et al.*, 2017)。

1.2 生物信息学筛选

通过已有的 *Wolbachia* 基因组, 在 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), PfamA (<http://www.example.com>) 等数据库中对蛋白结构域进行筛选比对, 可筛选出符合特定要求的候选效应因子。Rice 等 (2017) 基于三个标准对 *wMel* 基因组蛋白进行筛选, 即 (1) 是否为 *Wolbachia* 特有; (2) 比非立克氏体 (Rickettsia) 具有更高的真核匹配度; (3) 与真核生物靶向结构域有较高匹配度。通过上述三个特征, 在黑腹果蝇 *wMel* 株系中鉴定到了 163 个候选效应因子。这些候选效应因子主要包含锚蛋白重复结构域, 细胞骨架互作真核结构域及突出核蛋白结构域等功能区域。

利用比较基因组学方法, 可以分析 *Wolbachia* 效应因子基因/基因簇的进化历程, 分析其共有或特有基因、特定类型的基因类群、和系统发育关系等, 从而在相关物种的 *Wolbachia* 基因组中鉴别潜在效应因子。Greve 等 (2024) 对在鼠妇 *Armadillidium vulgare* 中分离到的三个 *Wolbachia* 雌性化株系 (*wVulC*, *wVulM*, *wVulP*), 通过比较基因组学分析发现两个高度保守的 IV 型分泌系统 (Type IV secretion systems, T4SS) 操纵子及大量潜在效应因子; 同样的方法也可以用在分析 Cifs 中,

用多种系统分类方法, Cifs 可被划分为 10 类, 且 Cifs 基因座相关元件在基因水平转移、重组等影响下表现出显著多样性 (Tan *et al.*, 2024)。

1.3 构建真核表达系统

通过将初步筛选的候选效应因子克隆到酵母表达载体中, 在诱导条件下培养酵母菌株, 监测酵母生长情况和效应蛋白表达特征, 可初步判断影响真核细胞生理活动的潜在候选效应因子。通过载体中所带的荧光标记, 结合荧光原位杂交 (Fluorescence in situ hybridization, FISH), 可对候选效应因子进行定位和分析。Rice 等 (2017) 依据带有绿色荧光蛋白 (Green fluorescent protein, GFP) 标签的 *Wolbachia* 效应因子在酵母细胞中的分布模式, 判断效应因子参与的途径; Carpinone 等 (2018) 在酵母生长缺陷实验的基础上, 通过荧光蛋白标记推测效应因子 *wBm0152* 和 *wBm0076* 分别与酵母运输系统和细胞骨架密切相关。

1.4 构建转基因体系

一些研究还通过将效应因子重组载体转入黑腹果蝇等模式生物胚胎中, 构建转基因果蝇体系, 通过异源表达效应因子, 通过调查靶基因对模式昆虫个体生物学指标、行为和生理活动的影响, 并结合下游相关基因的表达特征, 判断效应因子对宿主的调控机理。例如, 在雄性黑腹果蝇中, 同时转基因表达 *CidA^{wMel}* 和 *CidB^{wMel}* 可以诱导胞质不

亲和 (Cytoplasmic incompatibility, CI) 发生 (LePage *et al.*, 2017), 而在未感染雌性果蝇个体中单独表达 *CifA* 则能够拯救 CI 并消除后代胚胎的死亡 (Shropshire *et al.*, 2018)。Adams 等 (2021) 将 *wPip* 中的 *CifA* 和 *CifB* 单独或共同转入冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 中, 通过设置不同启动子来调控其表达水平, 从而判断外源 *CifA*、*CifB* 在冈比亚按蚊中对其 CI 产生的影响。而在杀雄、雌性化调控相关研究中, 也通过转基因体系探究相关因子及其调控机制。Perlmutter 等 (2021) 在黑腹果蝇中表达等研究发现, *wmk* 同源物在黑腹果蝇中表达时, 能介导多种后代表型, 且其同义核苷酸变异及起始密码子与杀雄表型密切相关; 而在茶长卷蛾 *Homona magnanima* 中, 其 *wmk* 同源物在黑腹果蝇中单独或共表达则能引起后代全致死表型或杀雄表型的出现 (Arai *et al.*, 2023)。

2 *Wolbachia* 效应因子

Wolbachia 在节肢动物及线虫中的广泛分布, 主要得益于其对宿主的生殖调控策略: 胞质不亲和, 杀雄 (Male killing, MK), 雌性化 (Feminization), 孤雌生殖 (Parthenogenesis)。本研究将目前已报道的效应因子 (表 1) 及相关研究方法进行汇总。

表 1 *Wolbachia* 效应因子相关研究
Table 1 Research progress on *Wolbachia* effectors

| 效应因子 Effectors | 株系 Strains | 宿主 Hosts | 调控方式 Regulatory mechanisms | 参考文献 References |
|----------------------------|--|--|--|------------------------------------|
| 胞质不亲和效应因子 Cifs | 黑腹果蝇 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wMel</i> | 黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i> | 胞质不亲和 Cytoplasmic incompatibility | LePage <i>et al.</i> , 2017 |
| 胞质不亲和效应因子 Cifs | 尖音库蚊 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wPip</i> | 尖音库蚊 <i>Culex pipiens</i> | 胞质不亲和 Cytoplasmic incompatibility | Bonneau <i>et al.</i> , 2018 |
| 胞质不亲和效应因子 Cifs | 拟果蝇 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wRi</i> | 拟果蝇 <i>Drosophila simulans</i> | 胞质不亲和 Cytoplasmic incompatibility | Mercot and Charlat, 2004 |
| WO 介导的死亡效应因子 <i>wmk</i> | 黑腹果蝇 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wMel</i> | 黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i> | 杀雄 Male killing | Perlmutter <i>et al.</i> , 2019 |
| WO 介导的死亡效应因子 <i>wmk</i> | 斑翅果蝇 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wSuzi</i> | 斑翅果蝇 <i>Drosophila suzukii</i> | 性比失衡 Sex ratio distortion | Perlmutter <i>et al.</i> , 2021 |
| WO 介导的死亡效应因子 <i>wmk</i> | <i>wRec</i> | <i>Drosophila recens</i> | 主要诱导胞质不亲和, 部分诱导 杀雄 Mainly inducing cytoplasmic incompatibility, partially inducing male killing | Perlmutter <i>et al.</i> , 2021 |

续表 1 Continued table 1

| 效应因子 Effectors | 株系 Strains | 宿主 Hosts | 调控方式 Regulatory mechanisms | 参考文献 References |
|---|---|--|---|-----------------------------------|
| 含 CifB C 末端样结构域 及多锚蛋白重复序列的 Osugoroshi 蛋白 Oscar | 家蚕 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wFur</i> | 家蚕 <i>Bombyx mori</i> | 杀雄 Male killing | Kiuchi <i>et al.</i> , 2014 |
| 马来丝虫 <i>Wolbachia</i> 效应 蛋白 0076 <i>wBm</i> 0076 | 马来丝虫 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wBm</i> | 马来丝虫 <i>Brugia malayi</i> | 与肌动蛋白结合, 影响酵母内 吞作用 Binding with actin, affecting endocytosis in yeast | Mills <i>et al.</i> , 2023 |
| 马来丝虫 <i>Wolbachia</i> 效应 蛋白 0114 <i>wBm</i> 0114 | 马来丝虫 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wBm</i> | 马来丝虫 <i>Brugia malayi</i> | 尚不明确 Unknown | Carpinone <i>et al.</i> , 2018 |
| 马来丝虫 <i>Wolbachia</i> 效应 蛋白 0152 <i>wBm</i> 0152 | 马来丝虫 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wBm</i> | 马来丝虫 <i>Brugia malayi</i> | 影响酵母液泡物质运输 Affecting vacuole transport in yeast | Carpinone <i>et al.</i> , 2018 |
| 马来丝虫 <i>Wolbachia</i> 效应 蛋白 0447 <i>wBm</i> 0447 | 马来丝虫 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wBm</i> | 马来丝虫 <i>Brugia malayi</i> | 尚不明确 Unknown | Carpinone <i>et al.</i> , 2018 |
| 诱导孤雌生殖雌性化效 应子 PIFF | 丽蚜小蜂 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wFor</i> | 丽蚜小蜂 <i>Encarsia formosa</i> | 参与宿主性别决定过程 Participating in host sex determination | Li <i>et al.</i> , 2024 |
| 孤雌生殖效应因子 A PifA | 短管赤眼蜂 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wTpre</i> | 短管赤眼蜂 <i>Trichogramma pretiosum</i> | 调控宿主孤雌生殖 (预测) Regulating host parthenogenesis (prediction) | Fricke and Lindsey, 2024 |
| 孤雌生殖效应因子 A PifA | 小环腹瘦蜂 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wLcla</i> | 小环腹瘦蜂 <i>Leptopilina clavipes</i> | 调控宿主孤雌生殖 (预测) Regulating host parthenogenesis (prediction) | Fricke and Lindsey, 2024 |
| 孤雌生殖效应因子 B PifB | 小环腹瘦蜂 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wLcla</i> | 小环腹瘦蜂 <i>Leptopilina clavipes</i> | 调控宿主孤雌生殖 (预测) Regulating host parthenogenesis (prediction) | Fricke and Lindsey, 2024 |
| 细胞骨架效应因子 WalE1 | 黑腹果蝇 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wMel</i> | 黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i> | 细胞骨架相关 Related to cytoskeleton | Sheehan <i>et al.</i> , 2016 |
| 卵子发生毒性操纵蛋白 TomO (WD1278) | 黑腹果蝇 <i>Wolbachia</i> 株系 <i>wMel</i> | 黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i> | 与生殖系干细胞相关 Related to germline stem cells | Ote <i>et al.</i> , 2016 |

2.1 胞质不亲和效应因子 Cifs

感染 *Wolbachia* 的一些昆虫种类常表现胞质不亲和现象, 即携带 *Wolbachia* 的精子与未感染的卵子受精结合后, 导致父系染色体和母系染色体分离不同步, 最终致使胚胎死亡, 而携带 *Wolbachia* 的精子与同样感染相同 *Wolbachia* 菌株的卵子结合时, 胚胎却能正常发育。人们猜测 *Wolbachia* 所诱导的胞质不亲和现象过程受某种效应因子调控。

Beckmann 和 Fallon (2013) 在雌性尖音库蚊

受精囊中首次发现了 *wPip_0282* 和 *wPip_0283* 的同源物, 可能是 CI 候选效应因子, 之后又证明了这对双基因操纵子具有结合活性并分别命名为 *cidA* 和 *cidB* (Beckmann *et al.*, 2017); 同年, Lepage 等 (2017) 通过研究 *wMel*、*wRi*、*wPip* 和 *wRec* 这 4 个诱导 CI 的 *Wolbachia* 的基因组, 发现只有来自 *wMel* 菌株的 WD0631 和 WD0632 是 4 个基因亚群所共有的, 并进一步分析这两个基因的蛋白结构域, 确定其为 CI 效应因子 CifA 和 CifB。

通过酵母双杂交和转基因果蝇方法，逐步确定了相应的 CifA 和 CifB 蛋白家族可诱导宿主昆虫产生胞质不亲和现象 (LePage *et al.*, 2017; Beckmann *et al.*, 2017)。在 CI 过程中, *CifB* 效应因子通过对精子父系染色体组进行修饰, 在精子与未感染卵子结合后, 这种修饰引发父系染色体组上的鱼精蛋白和组蛋白的互换发生异常, 进而导致父系染色体包装异常, 致使其在胚胎有丝分裂过程中染色体分离发生障碍, 引发 CI 现象。如果卵子同样感染相同的 *Wolbachia* 菌株, 卵子中表达的同源蛋白 CifA 则可以与 CifB 竞争结合, 从而恢复父系染色体的正常复制和包装, 上述过程被称为“修饰-拯救”过程。而在近期的研究中, CifA 效应因子被证实通过损耗长链非编码 RNA (Long noncoding RNA, lncRNA) 参与精子形成过程中的一系列修饰, 最终导致受精胚胎致死 (Kaur *et al.*, 2024)。这表明“修饰-拯救”过程还受到小分子物质的调控, 且 CifA 的角色定位似乎也有所变化。

目前, CI 效应因子 (Cifs) 一共被分为 5 种类型 (I-V) (Lindsey *et al.*, 2018; Martinez *et al.*, 2021)。其中, I 类效应因子具有去泛素化酶 (Deubiquitinase, DUB) 结构域, 该类型被统称为 Cid, 该系统中的效应因子被命名为 CidA 和 CidB; II、III、IV 类效应因子具有核酸酶结构域, 因而被命名为 CinA 和 CinB; 最后, V 类效应因子同时编码 DUB 和核酸酶结构域, 被命名为 CndA/B。部分 Cnd 不具有 DUB 结构域, 具备多种其他结构域, 可能参与行使其他功能。而最近对 CifA 和 CifB 蛋白的系统发育分析, 依据各物种 Cifs 特异性结构域将其划分为 10 个分支 Type I-Type X (Tan *et al.*, 2024)。

2.1.1 CifA 结构与功能

根据预测, CifA 的中心功能区可划分为 3 个区域, 第 1 个区域最靠近 N 端, 编码过氧化氢酶 (Catalase-related, Catalase-rel) 结构域, 与活性氧降解相关; 第 2 个区域一般包含一个功能未知的结构域 (Domains of unknown function, DUF, UF3243, 在 I、II、IV 类 CifA 中存在), 一个类球蛋白结构域 (在 II 和 IV 类 CifA 中存在), 一个 Puf 家族 RNA 结合域 (在 III 和 IV 类 CifA 中存在), 影响 RNA 结合稳定性。第 3 个区域位于 C 末端, 且所有类型 CifA 都存在, 是一个编码类 STE 转录因子结

构域 (Lindsey *et al.*, 2018)。

Shropshire 等 (2019) 对 I 类 CifA N 端未注释区域, 过氧化氢酶, DUF 和类 STE 转录因子结构域分别进行丙氨酸突变。结果表明, CifA 的 N 端未注释区域和过氧化氢酶区与 CI 修饰和拯救过程密切相关, DUF 中的位点突变会使 CifA 丧失修饰能力, 拯救能力则不受影响。基于以上发现, Shropshire and Bordenstein (2019) 提出了“Two-by-One”模型, 预测 CidA^{wMel} 同时存在修饰和拯救能力 (在雄性果蝇个体中起修饰作用, 在雌性果蝇个体中起拯救作用), 而 CidB^{wMel} 只存在修饰能力。

2.1.2 CifB 结构与功能

CifB 包含去泛素化酶结构域 (在 I, V 类 CifB 中存在) 和 PD- (D/E) XK 核酸酶结构域, 其中去泛素化酶结构域参与切割多聚泛素, 可能对毒性蛋白起到保护作用; 而核酸酶结构域则可能与 CifB 蛋白毒性相关 Beckmann 等 (2017) 发现 CidB 中 DUB 结构域含有去泛素化酶活性, 且倾向于切割 K63 连接的泛素。K63 链与转录因子 κ B (Nuclear transcription factor kappa B, NF- κ B) 信号通路相关, 这是拥有先天免疫、DNA 转录等功能的信号通路 (李文领等, 2023)。而后, Beckmann 等 (2019) 又鉴定出 karyopherin- α (Kap- α) NLS 结合位点是抑制 CidB 毒性所必需的, 同时 *CidB* 通过结合果蝇组蛋白伴侣 P32 和 Nap1 参与鱼精蛋白-组蛋白交换过程, 从而损伤精子 DNA, 进而推测 Kap- α 和 P32 可能是宿主抗 *Wolbachia* 诱导 CI 的重要影响因素。而最近有关 CI 的基因组学研究表明, 所有 CifB 蛋白中均存在 4 个串联的限制性核酸内切酶结构域 (REase), 且第 2、4 结构域存在活性位点, 能够切割 DNA 双链, 而第 2、3 结构域则可能起到辅助结合 DNA 作用 (Tan *et al.*, 2024)。

2.2 杀雄相关效应因子

2.2.1 Wmk

Perlmutter 等 (2019) 在 *Wolbachia wMel* 菌株前噬菌体的真核联合区域 (Eukaryotic association module, EAM) 鉴定到了一个杀雄候选基因 *wmk*。*wmk* 是在原噬菌体 WOMelB 中的一种假定转录调节因子, 预测其编码两个螺旋-转角-螺旋 (Helix-Turn-Helix, HTH) 和 XRE 家族 DNA 结合结构域。*wmk* 的表达会导致雄性胚胎在发育早期特异性死亡, 出现染色质桥接、细胞核固缩以及分裂失败

等典型杀雄效应特征，且胚胎死亡于剂量补偿相关的DNA损伤有关 (Kaur *et al.*, 2021)。除此之外，*wRec* 菌株在 *Drosophila recens* 中诱导宿主的胞质不亲和，而在其姐妹种 *Drosophila subquinaria* 中转基因表达时，则会出现杀雄现象。在他们的进一步研究中，发现 *wmk* 及其同源物的单个同义核苷酸变化能操纵不同的杀雄表型，且起始密码子的类型与位置与杀雄效应密切相关 (Perlmutter *et al.*, 2021)。

上述研究聚焦于天然或者转基因表达 *wmk* 的果蝇，而在鳞翅目和鞘翅目昆虫中，同样也存在 *wmk* 基因，但其功能存在较大差异。Kiefer 等 (2022) 对锯谷盗 *Oryzaephilus surinamensis* *wSur* 基因组分析得出 *wmk* 同源物 *wmk1* 和 *wmk12* 是最有可能的杀雄候选效应子，但感染雌性个体与未感染雄性个体交配后代却出现 CI 效应，推断锯谷盗中 *wmk12* 的结构缺失导致其杀雄效应的消除，而含有完整 *wmk12* 的野外种群则仍具备杀雄效应。

2.2.2 Oscar

Katsuma 等 (2022) 在鳞翅目昆虫亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* *wFur* 中鉴定到了一种名为 Oscar (Osugoroshi protein containing CifB C-terminus-like domain and many ankyrin repeats) 的效应蛋白，其最主要结构特征就是类 CifB C 末端去泛素化酶结构域以及多个锚蛋白重复结构域，且抑制亚洲玉米螟雄性化蛋白 (Masculinization, Masc) 发挥作用。结构预测表明，Oscar 中的锚蛋白重复序列会形成一个超螺旋结构，将 Masc 蛋白包含在其中，从而使其失去作用。而等在亚洲玉米螟和家蚕的胚胎中注射亚洲玉米螟 Masc cRNA 则可以挽救由感染 *Wolbachia* 引起的杀雄效应，进而推测杀雄效应可能是由 Masc mRNA 水平的下降而引起的 (Fukui *et al.*, 2023)。

尽管 *Wmk* 及其同源物被认为是 *Wolbachia* 杀雄作用的候选基因，但其在不同物种中发挥的作用也不尽相同，同时新发现的效应因子 Oscar 包含了类 CifB C 末端去泛素化酶结构域，这或许意味着胞质不亲和和杀雄作用的调控途径或者调控蛋白存在一定联系；除此之外，*Wmk* 的单核苷酸突变所引起的表型变化，及其同源基因的丰富性，说明 *Wmk* 可能具备多种功能或者参与调控网络的形成 (Zhang *et al.*, 2015)。

2.3 卵子发生毒性操纵蛋白 TomO

Ote 等 (2016) 在 *wMel* 株系中确定了一个保守基因 *TomO* (*WD1278*)。TomO 最显著的结构特征是在 C 末端含有两个疏水延伸区，而在 *wPip* 株系的同源物 CIA_352 中，除了两个疏水延伸 (Hydrophobic stretch, HS) 之外，还存在 2 个锚蛋白重复序列。研究表明，TomO 能降低个体繁殖力和卵孵化率，且不同程度的结构缺失会影响 TomO 的毒性效应；而根据相关突变体的表型，可推断 TomO 可能通过干扰翻译抑制因子 Cup 与 nos mRNA 之间的相互作用，使 nos 蛋白表达量升高，避免生殖干细胞 (Germ stem cell, GSC) 过早分化 (Sullivan, 2016)。在后续研究中，TomO 与 orb mRNA 和 nos mRNA 的直接相互作用被进一步确定，且主要参与由 Cup 引起的 mRNA 翻译抑制过程 (Ote and Yamamoto, 2018)。

2.4 孤雌生殖候选效应因子

Fricke 和 Lindsey (2024) 通过比较基因组学来鉴定孤雌生殖效应因子 (Parthenogenesis-inducing factors, Pifs)。Pifs 结构预测结果表明，Pif 蛋白有四个区域与真核结构域存在显著结构同源性。PifA 一共存在 3 个真核同源区域，第一个是 N 端核孔蛋白结构域，剩下两个结构域相互重叠，但后一个结构域与性别决定相关基因 *transformer* (*tra*) 存在显著结构相似性；PifB 则主要由一个富含亮氨酸重复序列的结构域组成，且与膜结合 Toll 类受体显著相似。后续荧光标记试验则确定了 PifA 在细胞核或细胞核周围的定位，且诱导酵母有丝分裂异常，这也与其结构预测结果相符；而 PifA 和 PifB 在染色体上位置和方向在不同 *wolbachia* 株系中也存在差异。在 *wTpre* 中，二者同向连续排列，且只相差 329 bp；而在 *wLcla* 中，二者转录方向相反，1.6 kb 相距区域内则包含假转座酶，假设蛋白等。

Li 等 (2024) 在丽蚜小蜂 *Encarsia formosa* 鉴定到一个诱导孤雌生殖雌性化效应基因 *PIFF*，具有 SR 蛋白结构域和一个富含脯氨酸区域，且代替丽蚜小蜂中 *tra* 行使其功能，且与 *tra2* 存在互作。

现有的研究表明，孤雌生殖与昆虫性别决定基因密切相关，这一关系或许来源于基因的水平转移。共生菌参与昆虫性别决定过程并代替其中关键基因行使功能，减少冗余基因，推动了昆虫性别决定系统和调控网络发展。未来，在

Wolbachia 基因组或转录组中筛选生殖相关基因特异性结构域可能成为发掘 *Wolbachia* 效应因子的新途径。

2.5 细胞骨架效应因子 WalE1

Sheehan 等 (2016) 通过酵母生长缺陷实验确定了一个带有 α -突触核蛋白结构域的 *Wolbachia* 效应因子 WD0830, 并命名为 WalE1, 能在体外与肌动蛋白直接结合。异源表达发现其存在于发育中的卵母细胞中, 且过表达 *WalE1* 能使 *Wolbachia* 滴度增加。综合上述结果, 推测 WalE1 能够帮助 *Wolbachia* 在宿主中的移动, 并促进 *Wolbachia* 的复制和传播。Martin 等 (2024) 的研究结果也支持上述的观点, 且更进一步确定了 WalE1 的靶标 Past1 (在果蝇中发挥内吞运输作用), 在 Past1 突变体中, *Wolbachia* 滴度更高。从而推测 WalE1 通过与 Past1 互作干扰内吞作用, 有利于 *Wolbachia* 在宿主体内的传播。

2.6 细胞骨架候选效应因子

Carpinone 等 (2018) 在马来线虫 *Wolbachia* *wBm* 株系中鉴定到了 4 个候选效应因子 (*wBm0076*, *wBm00114*, *wBm0447* 和 *wBm0152*)。其中, *wBm0076* 是一个含有 392 个氨基酸的蛋白质, 与真核神经 Wiskott-Aldrich 综合征蛋白家族 (N-WASP/WAS) 同源, 与细胞通讯、凋亡、分化等过程相关; *wBm0152* 则能破坏酵母内溶酶体, 影响酵母转运系统。Mills 等 (2023) 则进一步研究了 *wBm0076* 发挥的作用。遗传分析表明, *wBm0076* 属于 Wiskott-Aldrich 综合征蛋白家族, 该真核蛋白家族与肌动蛋白骨架结构组织相关且高度保守, 并且 *wBm0076* 能够调控宿主肌动蛋白运动, 帮助 *Wolbachia* 运动到性腺或者在相邻的细胞中转移, 从而促进 *Wolbachia* 的母系遗传。

3 总结与展望

Wolbachia 广泛存在于多种农林害虫及疾病媒介昆虫中, 也由于其多种生殖调控方式, *Wolbachia* 一直被认为是害虫生物防治和人类疾病预防的潜在靶标, 其效应因子与宿主互作机制也一直备受研究人员关注, 但与此同时, 也有一系列问题制约该领域研究的发展: (1) *Wolbachia* 作为一类胞内共生菌, 目前难以离体培养, 提高了 *Wolbachia* 分泌蛋白和宿主互作机制的研究难度;

(2) *Wolbachia* 完整基因组获得难度高, 菌株类型丰富且存在一定联系 (3) 除胞质不亲和因子外, 其余三种生殖调控因子研究尚不完备, 仍停留在互作层面或者仍未找到明确的效应因子。但随着目前分子生物学、基因组测序及多组学研究的不断进步和发展, 相信在共生菌-宿主互作机制研究上能取得更多突破, 同时也将进一步揭示 *Wolbachia* 生殖调控机理。

虽然 *Wolbachia* 研究存在一定困难, 但研究较为完备的 CI 已经在蚊虫传播疾病防控应用方面取得了显著成功 (Gong *et al.*, 2022), 这也为 *Wolbachia*-宿主互作关系的实际应用提供了范本, 指明了 *Wolbachia* 效应因子的研究方向: (1) 通过组学分析, 找到并明确各效应因子, 阐明 *Wolbachia*-宿主互作机制; (2) 开发更加安全、有效的卫生害虫防控策略, 尝试利用 CI 防治褐飞虱等农业害虫 (Flores and O'Neill, 2018; Ryan *et al.*, 2019; Gong *et al.*, 2020; Crawford *et al.*, 2020); (3) 关注表观遗传学机制如 DNA 甲基化, 非编码 RNA (微小 RNA 和 lncRNA) (Lai and Wang, 2025) 等研究新热点, 进一步揭示 *Wolbachia* 与宿主之间的互作关系及途径。

参考文献 (References)

- Adams KL, Abernathy DG, Willett BC, *et al.* *Wolbachia* cifB induces cytoplasmic incompatibility in the malaria mosquito vector [J]. *Nature Microbiology*, 2021, 6 (12): 1575-1582.
- Arai H, Anbutsu H, Nishikawa Y, *et al.* Combined actions of bacteriophage-encoded genes in *Wolbachia*-induced male lethality [J]. *iScience*, 2023, 26 (6): 106842.
- Beckmann JF, Fallon AM. Detection of the *Wolbachia* protein WPIPO282 in mosquito spermathecae: implications for cytoplasmic incompatibility [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2013, 43 (9): 867-878.
- Beckmann JF, Ronau JA, Hochstrasser MA. *Wolbachia* deubiquitylating enzyme induces cytoplasmic incompatibility [J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17007.
- Beckmann JF, Sharma GD, Mendez L, *et al.* The *Wolbachia* cytoplasmic incompatibility enzyme CidB targets nuclear import and protamine-histone exchange factors [J]. *Elife*, 2019, 8: e50026.
- Bhattacharya T, Newton I, Hardy RW. Viral RNA is a target for *Wolbachia*-mediated pathogen blocking [J]. *Public Library of Science Pathogens*, 2020, 16 (6): e1008513.
- Bonneau M, Atyame C, Beji M, *et al.* *Culex pipiens* crossing type diversity is governed by an amplified and polymorphic operon of *Wolbachia* [J]. *Nature Communication*, 2018, 9 (1): 319.

- Carpinone EM, Li Z, Mills MK, *et al.* Identification of putative effectors of the Type IV secretion system from the *Wolbachia* endosymbiont of *Brugia malayi* [J]. *Public Library of Science ONE*, 2018, 13 (9): e204736.
- Crawford JE, Clarke DW, Criswell V, *et al.* Efficient production of male *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* mosquitoes enables large-scale suppression of wild populations [J]. *Nature Biotechnology*, 2020, 38 (4): 482-492.
- Flores HA, O'Neill SL. Controlling vector-borne diseases by releasing modified mosquitoes [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16 (8): 508-518.
- Foster J, Ganatra M, Kamal I, *et al.* The *Wolbachia* genome of *Brugia malayi*: endosymbiont evolution within a human pathogenic nematode [J]. *Public Library of Science Biology*, 2015, 3 (4): e121.
- Fricke LC, Lindsey A. Identification of parthenogenesis-inducing effector proteins in *Wolbachia* [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2024, 16 (4): euae036.
- Fukui T, Kiuchi T, Tomihara K, *et al.* Expression of the *Wolbachia* male-killing factor Oscar impairs dosage compensation in lepidopteran embryos [J]. *FEBS Lett*, 2024, 598: 331-337.
- Gong JT, Li Y, Li TP, *et al.* Stable introduction of plant-virus-inhibiting *Wolbachia* into planthoppers for rice protection [J]. *Current Biology*, 2024, 30 (24): 4837-4845.
- Gong JT, Liu QY, Wang YY, *et al.* Application and prospect of *Wolbachia* for *Aedes* for mosquito vector control [J]. *Pesticide Science and Administration*, 2022, 43 (10): 20-29. [龚君涛, 刘起勇, 王以燕, 等. 沃尔巴克氏体控制媒介伊蚊的应用及前景 [J]. *农药科学与管理*, 2022, 43 (10): 20-29]
- Greve P, Moumen B, Bouchon D. Three feminizing *Wolbachia* strains in a single host species: comparative genomics paves the way for identifying sex reversal factors [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1416057.
- Katsuma S, Hirota K, Matsuda-Imai N, *et al.* A *Wolbachia* factor for male killing in lepidopteran insects [J]. *Nature Communication*, 2022, 13 (1): 6764.
- Kaur R, McGarry A, Shropshire JD, *et al.* Prophage proteins alter long noncoding RNA and DNA of developing sperm to induce a paternal-effect lethality [J]. *Science*, 2024, 383 (6687): 1111-1117.
- Kaur R, Shropshire JD, Cross KL, *et al.* Living in the endosymbiotic world of *Wolbachia*: a centennial review [J]. *Cell Host & Microbe*, 2021, 29 (6): 879-893.
- Kiefer J, Schmidt G, Krusemer R, *et al.* *Wolbachia* causes cytoplasmic incompatibility but not male-killing in a grain pest beetle [J]. *Molecular Ecology*, 2022, 31 (24): 6570-6587.
- Kiuchi T, Koga H, Kawamoto M, *et al.* A single female-specific piRNA is the primary determiner of sex in the silkworm [J]. *Nature*, 2014, 509 (7502): 633-636.
- Lai YL, Wang SB. Epigenetic regulation in insect-microbe interactions [J]. *Annual Review of Entomology*, 2025, 70 (1): 293-311.
- LePage DP, Metcalf JA, Bordenstein SR, *et al.* Prophage WO genes recapitulate and enhance *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility [J]. *Nature*, 2017, 543 (7644): 243-247.
- Li C, Li CQ, Chen ZB, *et al.* *Wolbachia* symbionts control sex in a parasitoid wasp using a horizontally acquired gene [J]. *Current Biology*, 2024, 34 (11): 2359-2372.
- Li WL, Xiao YJ, Yang HT, *et al.* *Wolbachia* in inducing expression of cytoplasmic in compatibility factors: a review [J]. *Microbiology China*, 2023, 50 (1): 324-339. [李文领, 肖云杰, 杨海涛, 等. 共生菌 *Wolbachia* 在宿主中诱导表达胞质不相容因子的研究进展 [J]. *微生物学通报*, 2023, 50 (1): 324-339]
- Lindsey A, Rice DW, Bordenstein SR, *et al.* Evolutionary genetics of cytoplasmic incompatibility genes *cifA* and *cifB* in prophage WO of *Wolbachia* [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2018, 10 (2): 434-451.
- Martin M, Lopez-Madrigal S, Newton I. The *Wolbachia* WalE1 effector alters *Drosophila* endocytosis [J]. *Public Library of Science Pathogens*, 2024, 20 (3): e1011245.
- Martinez J, Klasson L, Welch JJ, *et al.* Life and death of selfish genes: comparative genomics reveals the dynamic evolution of cytoplasmic incompatibility [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38 (1): 2-15.
- Mercot H, Charlat S. *Wolbachia* infections in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*: polymorphism and levels of cytoplasmic incompatibility [J]. *Genetica*, 2004, 120 (1-3): 51-59.
- Mills MK, McCabe LG, Rodrigue EM, *et al.* Wbm0076, a candidate effector protein of the *Wolbachia* endosymbiont of *Brugia malayi*, disrupts eukaryotic actin dynamics [J]. *Public Library of Science Pathogens*, 2023, 19 (2): e1010777.
- Nikoh N, Hosokawa T, Moriyama M, *et al.* Evolutionary origin of insect-*Wolbachia* nutritional mutualism [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2014, 111 (28): 10257-10262.
- Ote M, Ueyama M, Yamamoto D. *Wolbachia* protein TomO targets nanos mRNA and restores germ stem cells in *Drosophila sex-lethal* mutants [J]. *Current Biology*, 2016, 26 (17): 2223-2232.
- Ote M, Yamamoto D. The *Wolbachia* protein TomO interacts with a host RNA to induce polarization defects in *Drosophila* oocytes [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2018, 99 (1): e21475.
- Perlmutter JI, Bordenstein SR, Unckless RL, *et al.* The phage gene *wmk* is a candidate for male killing by a bacterial endosymbiont [J]. *Public Library of Science Pathogens*, 2019, 15 (9): e1007936.
- Perlmutter JI, Meyers JE, Bordenstein SR. A single synonymous nucleotide change impacts the male-killing phenotype of prophage WO gene *wmk* [J]. *Elife*, 2021, 10: e67686.
- Rice DW, Sheehan KB, Newton I, *et al.* Large-Scale identification of *Wolbachia pipientis* effectors [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2017, 9 (7): 1925-1937.
- Ryan PA, Turley AP, Wilson G, *et al.* Establishment of *wMel Wolbachia* in *Aedes aegypti* mosquitoes and reduction of local dengue transmission in Cairns and surrounding locations in northern Queensland, Australia [J]. *Parasite Immunology*, 2019, 3: 1547.
- Schultz MJ, Tan AL, Gray CN, *et al.* *Wolbachia wStri* blocks Zika virus

- growth at two independent stages of viral replication [J]. *mBio*, 2018, 9 (3): e00738-18.
- Scott AL, Ghedin E, Nutman TB, *et al.* Filarial and *Wolbachia* genomics [J]. *Parasite Immunology*, 2012, 34 (2-3): e121-129.
- Sheehan KB, Martin M, Lesser CF, *et al.* Identification and characterization of a candidate *Wolbachia pipientis* Type IV effector that interacts with the actin cytoskeleton [J]. *mBio*, 2016, 7 (4): e00622-16.
- Shropshire JD, Bordenstein SR. Two-By-One model of cytoplasmic incompatibility: synthetic recapitulation by transgenic expression of cifA and cifB in *Drosophila* [J]. *Public Library of Science Genetics*, 2019, 15 (6): e1008221.
- Shropshire JD, On J, Layton EM, *et al.* One prophage WO gene rescues cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2018, 115 (19): 4987-4991.
- Sullivan W. Endosymbiosis: the remarkable healing powers of *Wolbachia* [J]. *Current Biology*, 2016, 26 (17): R797-R799.
- Tan Y, Aravind L, Zhang D. Genomic underpinnings of cytoplasmic incompatibility: CIF gene-neighborhood diversification through extensive lateral transfers and recombination in *Wolbachia* [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2024, 16 (8): evae171.
- Weinert LA, Araujo-Jnr EV, Ahmed MZ, *et al.* The incidence of bacterial endosymbionts in terrestrial arthropods [J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2015, 282 (1807): 20150249.
- Zhang YK, Zhang KJ, Xie RR, *et al.* Research progress in cytoplasmic incompatibility induced by endosymbiont *Wolbachia* [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2015, 58 (12): 1344-1355. [张艳凯, 张开军, 谢蓉蓉, 等. 共生菌 *Wolbachia* 引起宿主细胞质不亲和的研究进展 [J]. 昆虫学报, 2015, 58 (12): 1344-1355]