

## 家蚕丝蛋白 *Fhx/P25* 基因启动子 区域的克隆及序列分析

刘炜彬, 贡成良, 薛仁宇, 周文林, 诸戌嫫, 曹广力\*

(苏州大学 生命科学学院, 江苏 苏州 215123)

**摘要:** 为研究家蚕 *Fhx/P25* 基因在时空上的调控机制, 通过 PCR 扩增获得家蚕丝素蛋白 *Fhx/P25* 基因的启动子序列并进行克隆和序列分析。进一步构建了由 *Fhx/P25* 启动子驱动报告基因 DsRed 的表达载体 pSK-P25-DsRed-PolyA, 并通过家蚕 BmN 细胞进行瞬时表达。结果显示: *Fhx/P25* 基因的启动子序列符合真核生物启动子特点, 具有丝腺特异性表达启动子的特征, TATA 框的保守序列为 TATAA, 位于 -28~-32 处, CAAT 基序有 3 个, 其中 -110~-117 和 -90~-87 处的 2 个 CAAT 基序可能具有活性; 二级结构分析显示: *Fhx/P25* 启动子区域具有复杂的茎环结构, 这可能与蛋白表达的组织特异性、时间性以及活性有关。基因启动子可以驱动红色荧光基因 DsRed 在家蚕 BmN 培养细胞中的瞬时表达。

**关键词:** 家蚕; *Fhx/P25* 基因; 启动子; 序列分析

中图分类号: S881.2; Q751 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853 (2007) 01-0017-07

## Cloning and Analysis of *Fhx/P25* Gene Promoter of *Bombyx mori* Fibroin Protein

LIU Wei-bin, GONG Cheng-liang, XUE Ren-yu,  
ZHOU Wen-lin, ZHU Xu-xian, CAO Guang-li\*

(School of Life Sciences of Suzhou University, Suzhou 215123, China)

**Abstract:** In order to better understand the model of the molecular mechanisms governing spatially and temporally programmed transcription, the *Fhx/P25* gene promoter of the fibroin protein from *Bombyx mori* was cloned and sequenced. An expression vector named pSK-P25-DsRed-PolyA was constructed, in which the reporter gene *DsRed* was driven by *Fhx/P25* promoter. The promoter's activity was then characterized by transient expression assays in BmN cells of *B. mori*. The results of a sequence analysis showed that the *Fhx/P25* promoter possesses the characteristics both of a eukaryotic promoter and a silk gland-specific expression promoter. A conserved TATA box sequence was located at position -28~-32 and had the sequence TATAA. There were three CAAT motifs, of which the two CAAT motifs located at positions -110~-117 and -90~-87 may be active. Secondary structure analysis indicated that the sequence of the promoter region forms a complicated stem-loop structure. This may relate to the tissue speciality or the timing and activity of the protein expression. The transient expression product of the red fluorescent gene, driven by the promoter *Fhx/P25*, can be observed in cultured BmN cells of *B. mori*.

**Key words:** *Bombyx mori*; *Fhx/P25* gene; Promoter; Sequence analysis

家蚕丝腺从形态上可明确区分为前部丝腺、中部丝腺和后部丝腺。已知中部和后部丝腺分别合成分泌丝胶蛋白和丝素蛋白, 前部丝腺没有合成丝蛋白的功能。而蚕丝内芯的丝素, 是一种由后部丝腺

\* 收稿日期: 2006-09-25; 接受日期: 2006-12-25

基金项目: 国家重大基础研究发展计划资助项目 (2005CB121000); 国家自然科学基金资助项目 (30571404); 江苏省研究生培养创新工程资助项目 (ZY320506)

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: guanglicao@hotmail.com, 男, 江苏人, 副教授, 硕士生导师。Tel: 0512-65880183。  
第一作者简介: 刘炜彬 (1981-) 男, 江苏人, 硕士研究生。

合成的复合蛋白质 (Huang, 2002)。其基本构成单位为  $6H + 6L + 1Fhx/P25$ , 分子量约 2 286 kD (Inoue et al, 2000)。主要由 H 链、L 链及糖蛋白  $Fhx/P25$  (fibrohexamerin) 组成。H 和 L 两条链由各自 C 末端的二硫键相互连接, 形成复合体 H-L。糖蛋白  $Fhx/P25$  以二硫键与丝蛋白 H 链连接, 以非共价键与 L 链结合, 对丝物质的结构稳定性起到关键作用 (Zurovec et al, 1998)。

丝素基因主要在后部丝腺表达, 并受到时间和空间上的精细调控, 家蚕丝腺是研究基因分化和基因表达调控的良好模型, 越来越受到人们的重视。Durand et al (1992) 发现, 位于  $Fhx/P25$  启动子 -59—71 区域的序列与丝腺特异蛋白 (SGFB) 结合 (与丝素重链基因启动子的 -166—154 的相似), 而位于 -133—124 区域序列与家蚕各组织广泛存在的 BMFA 蛋白结合。1995 年又发现了 -320、-265、-240、-171、-155 位点分别与 TRIOa、b、c, UB2a、UB2b 的蛋白结合 (Nony et al, 1995)。Liu et al (2005) 发现,  $Fhx/P25$  基因不仅在家蚕后部丝腺高效转录, 而且在家蚕幼虫五龄第 3 天的卵巢组织及其他组织中也有转录,  $Fhx/P25$  基因在丝腺和卵巢组织中有不同的转录起始位点, 且  $Fhx/P25$  mRNA 存在选择性拼接。启动子决定着基因时空表达的特异性, 组织特异性的强启动子可以通过精细调控目的基因表达使其更经济有效地发挥表达作用。而家蚕和野桑蚕中存在的遗传多态性为研究  $Fhx/P25$  基因的启动子提供了大量的原始材料 (Lu et al, 2002)。本实验的目的是基于  $Fhx/P25$  基因在表达上存在的时空特异性, 期望它能在克服非特异性启动子存在问题的同时, 发挥出家蚕生物反应器的强大优势和潜力。为此, 我们对家蚕丝蛋白  $Fhx/P25$  基因启动子进行了序列分析, 对其瞬时表达进行了研究, 为今后结合转基因技术在家蚕体内高效表达外源基因奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂、引物

各种工具酶购自上海生工公司, DNA 凝胶回收试剂盒为 Bio Basic 公司产品, 大肠杆菌 TG1、载体 pBluescript II SK (+)、带有红色荧光蛋白基因 (*DsRed*) 的 pSK-DsRed 质粒和带有家蚕丝素蛋白轻链基因的加尾信号序列的 pSK-PolyA 质粒为苏州

大学生命科学学院分子生物学研究室保存, 家蚕品种为夏秋用夏芳品种及“L1-中”品种 (该两品种系苏州大学蚕桑研究所虞晓华先生提供)。根据 GenBank X04226 序列设计引物, 并将 ATG 突变成 ATC。 $Fhx/P25$  引物由上海华诺生物科技有限公司合成, 序列为 (下划线分别示 *EcoR* I 和 *EcoR* V 酶切位点):

P25 - 01: 5'-CGAATTCAACAGAAATCCCGAG-3';

P25 - 2: 5'-CCGATATCCGCGCCAGGATGTTGCCG-3'。

### 1.2 家蚕基因组的提取

将夏芳品种家蚕解剖取出丝腺, 液氮研磨成粉状, 溶解于 TE 后分装入 1.5 mL 离心管 (约 400  $\mu$ L), 加入等体积饱和平衡酚轻微摇 20 min 后, 离心 (4 $^{\circ}$ C, 12 000 r/min  $\times$  10 min, 下同), 取上清液加入等体积饱和平衡酚, 离心后取上清液加入等体积酚/氯仿, 混匀, 离心后取上清液加入等体积氯仿, 离心, 取上清液加 1/10 体积 3 mol/L NaAc (pH5.2) 和 2 倍体积 95% 乙醇, 玻棒钩出絮状 DNA, 在 70% 乙醇中漂洗去盐, 室温略干燥后溶于 TE, 4 $^{\circ}$ C 保存备用。

### 1.3 PCR 扩增及回收

PCR 反应体系按常规法进行。在 50  $\mu$ L 的 PCR 反应体系中, 含丝腺总 DNA (20 ng/mL) 0.5  $\mu$ L, 10 $\times$  PCR 缓冲液 5  $\mu$ L, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L) 5  $\mu$ L, 引物 (2 pmol/L) 各 0.5  $\mu$ L, dNTPs (2.5 mmol/L) 2  $\mu$ L, Tag 酶 1  $\mu$ L (5 U/ $\mu$ L)。

扩增条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C, 50 s; 50 $^{\circ}$ C, 1 min; 72 $^{\circ}$ C, 1 min; 35 个循环后, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。通过 PCR 扩增出  $Fhx/P25$  启动子片段, 使用 DNA 凝胶回收试剂盒回收后, 溶于 Eluent 溶液, -20 $^{\circ}$ C 保存。

### 1.4 $Fhx/P25$ 启动子的克隆与测序

PCR 产物经 *EcoR* I 和 *EcoR* V 双酶切后与同样酶切的 pBluescript II SK (+) 载体连接, 连接产物转化大肠杆菌, 灭菌牙签挑取白斑, 快抽质粒后, 用 *EcoR* I/*EcoR* V 双酶切鉴定, 获重组质粒 pSK-P25。序列测定由上海博亚生物工程有限公司进行。

### 1.5 瞬时表达载体的构建

将红色荧光蛋白基因 (*DsRed*) 和家蚕丝素蛋白轻链基因的加尾信号序列, 定向克隆到  $Fhx/P$

*P25* 启动子序列的下游, 构建瞬时表达质粒 pSK-P25-DsRed-PolyA, 其质粒图如图 1。

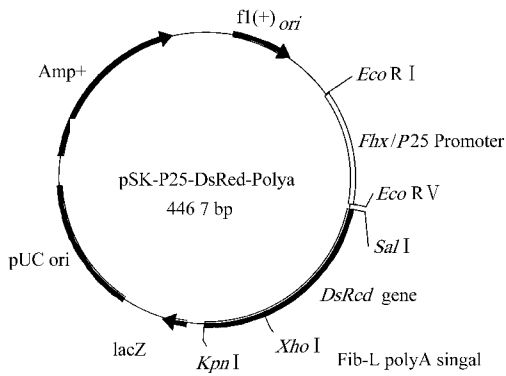


图 1 瞬时表达质粒图谱

Fig. 1 Structure map of the transient expression vector

## 1.6 家蚕 BmN 细胞的培养和转染

昆虫细胞常规培养参照 Summers & Smith (1987) 的方法进行, 细胞转染参照 Tang et al (2003) 的方法进行。将 BmN 细胞以  $5 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$  密度接种于  $12 \text{ cm}^2$  的瓶中,  $27^\circ\text{C}$  培养过夜 (在  $100 \mu\text{L}$  转染液体系统中, 含  $4 \mu\text{L}$  Lipofectin、 $2 \mu\text{g}$  瞬时表达质粒 pSK-P25-DsRed-PolyA)。倾去旧培养基, 以无血清 TC-100 培养基洗 2 次, 再加  $1 \text{ mL}$  无血清 TC-100 培养基, 逐滴加入转染液,  $4\text{--}5 \text{ h}$  后以  $10\%$  FBS 的 TC-100 培养基  $3 \text{ mL}$  替换旧培养基。 $24 \text{ h}$  后用荧光显微镜观察。经预实验鉴定表明: 家蚕 BmN 细胞未经处理不显示红色荧光。

## 1.7 报告基因在蚕丝腺中的瞬时表达

取  $2.5 \mu\text{g}$  构建好的表达载体, 用 ddH<sub>2</sub>O 液稀释至  $10 \mu\text{L}$ , 注射于五龄家蚕 (品种为“L1-中”) 的丝腺处。 $24 \text{ h}$  后解剖丝腺, 荧光显微镜观察。家蚕品种 L1-中经预实验鉴定表明: 其未经处理不显示红色荧光。

## 2 结果与分析

### 2.1 PCR 扩增及克隆

将 PCR 产物经回收, *EcoR I* 和 *EcoR V* 酶切后克隆到 pBluescript II SK (+) 载体, *EcoR I*/*EcoR V* 双酶切鉴定 (图 2), 获重组质粒 pSK-P25。

### 2.2 启动子序列分析

测序结果如图 3 所示, 经序列分析显示 (图 4), 该片段长  $468 \text{ bp}$ , 转录起始点为 A (+1), 与真核生物 RNA 聚合酶 II 的起始子序列 P<sub>Y2</sub>CAP<sub>Y5</sub> 基本一致。在其上游可检测到 TATA box (-32—-28)、

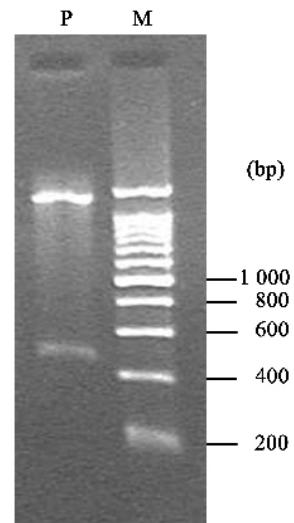


图 2 重组质粒 pSK-P25 的酶切鉴定

Fig. 2 Identification of recombinant plasmid digested with *EcoR I* & *EcoR V*

P: pSK-P25/*EcoR I* + *EcoR V*; M: 200 bp marker.

CAAT 基序 (-110—-107, -90—-87, -42—-39)、GC box (-121—-116, CCGCGG) 以及 SGFB (-73—-61, CTATTTATTTAAC)、BMFA (-133—-125, AAAATGGCG)、UB2a (-173—-168, CCCGCC) 识别序列、PSGF 因子的识别位点 (-37—-46, GGAACAATAC), 及类似 TRIO (-324—-317, -269—-264, -244—-239) 识别序列, 具有典型的丝腺特异性表达启动子的特征。检测到的 TRIOa (AAATGGAC)、TRIOb (AAAGGCC) 和 TRIOc (CAAGGCC) 识别因子类似序列与 TRIO 识别序列 AAGGGA/TC 不完全一致, 从而表明 *Fhx/P25* 启动子序列具有多态性, 也许此多态性差异与启动子的活性高低有关。由于 UB2b 的靶序列尚不清楚, 图中未显示该作用位点的序列。

### 2.3 启动子片段的同源性分析

对所克隆的序列与 GenBank X04226 序列用 NTISUITE 9 软件进行比对后发现, 两序列的同源性为 97.9%, 有 8 个位点的碱基置换突变和 2 个碱基的缺失, 即: +14 的 T 突变为 C; -15 的 A 突变为 G; -173 的 G 突变为 C; -196 的 T 突变为 C; -231 的 T 突变为 C; -305 的 A 突变为 G; -318 的 T 突变为 A; -321 的 G 突变为 T; -173 与 -174 间缺失 GC 碱基, 置换突变的颠换/转换率为 0.8。这些突变位点中, -318 和 -321 的突变处于 TRIOa 作用的靶序列中, 而 -173 的突变后形成了标准 UB2a 作用的靶序列, 这些突变可能会影响到

```

TCAACAGAAATCCCGAGAGAAACCGTTATCGAAATCGTAACCAAAAAACC -385
AGCAGCATTCTAATATCATTAAATGACATATTATATCATACTGTATTTGAT -335
TACCTATAATaaatggacATACTCAGTAAGAAAATGTTAATATAATTTCGC -285
TTTTTTTACTTTCCAAaagggccTCAAATCTTGTGTGTCCaagggccCC -235
ATCCTAGTTTAAGACGTCCCTGGCTGTAGCCAGTTACCGCCACACAAAC -185
ATGCTTAACTCCCGCGCTACGTTCGAGGAGAACATTTTGCGCCTTAGAAAA -135
TAAATGGCGTGCCGCGCGCGCAACAATAAGAACTTAATTCGTGCAATTG -85
TTTCCACGACGCTATTTATTTAAAGTTATTCGTTGTGAGGAACAATACTT -35
TGTATAATTAATGTTGATCGGTGCCTAACGACGCAGTTGTTTATTATCCG +16
CGCAACATCCTGGCGCGG +34

```

图 3 *Fhx/P25* 基因启动子的序列特征

Fig. 3 The characteristics of the *Fhx/P25* gene promoter sequence

黑体字: 转录起始点; 双下划线: TATA 盒; 方框: GC 盒; 虚下划线: BMFA 识别位点; 阴影: UB2a 识别位点; 斜体: SGFB 识别序列; 小写字母: 类似 TRIO 识别序列; 波纹线: 推测的 CAAT 基序; 下划线: 引物序列。

Transcription initiation site in bold; TATA box double underlined; GC box boxed; BMFA site underlined with dashed line; UB2a site shaded; SGFB site in italics; TRIO-like sites lowercase; CAAT boxes ripple lined; primer sequence underlined).

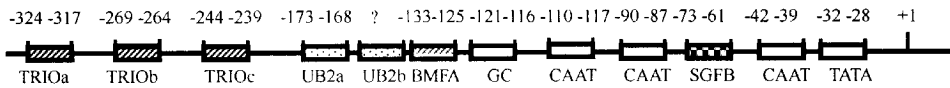


图 4 顺式作用元件位置

Fig. 4 Location of cis-acting element

启动子的活性。其他突变或缺失位点不存在于顺式作用元件的基序中, 但转录因子识别的序列不仅是基序这样的靶序列, 而缺失可能造成螺旋结构的变化, 因此这些突变也有可能影响到启动子的活性。

## 2.4 启动子区域的单链二级结构分析

Horard et al (1997) 研究表明, *Fhx/P25* 启动子的 -64- -137 区域可形成特殊的二级结构。本文对所测定的 *Fhx/P25* 启动子序列通过 RNA structure 软件进行二级结构分析显示, 该 *Fhx/P25* 启动子序列存在潜在的、复杂的多个茎环结构 (图 5: a-h)。其中, -64- -137 区域的二级结构 (图 4i) 与 Horard et al (1997) 研究结果一致, -275- -310 形成的茎环结构 (图 5b) 可使转录因子复合体 TRIOa、b、c 的作用位点拉近, -113- -127 形成的茎环结构 (图 5g) 处于 GC box 区域, 据 -23- +23 区域形成的茎环结构 (图 5h) 猜测, 转录产物可能具有反馈增强转录调控的功能。在这

些茎环结构中, 由于某些茎环结构包含特殊基序且存在另一些茎环结构, 可使两个蛋白因子作用的序列相靠近, 从而推测其中部分茎环结构可能和调控蛋白的识别与作用有关, 这些结构与 *Fhx/P25* 蛋白表达的组织特异性、时间性以及活性有关 (Takiya et al, 1997)。此外, 这段序列中存在有一些反向重复序列, 如 TGGACATAC (-32- -313) 与 GTCGAGGAG (-164- -156), CCAGCA (-386- -381) 与 TGCTGG (+24- +29), 这些序列的存在似乎对 *Fhx/P25* 基因的表达调控也有一定意义。

## 2.5 由 *Fhx/P25* 启动子驱动报告基因 *DsRed* 的瞬时表达载体的构建

构建的瞬时表达载体结构如图 1 所示。用 *Sal* I 和 *Xho* I 双酶切带有 *DsRed* 基因的 pSK-*DsRed* 质粒, kit 回收 *DsRed* 基因片段与同样酶切后的 pSK-P25 连接转化, 得到阳性克隆 pSK-P25-*DsRed*, 经酶切鉴定和测序验证克隆结果正确。再用 *Xho* I

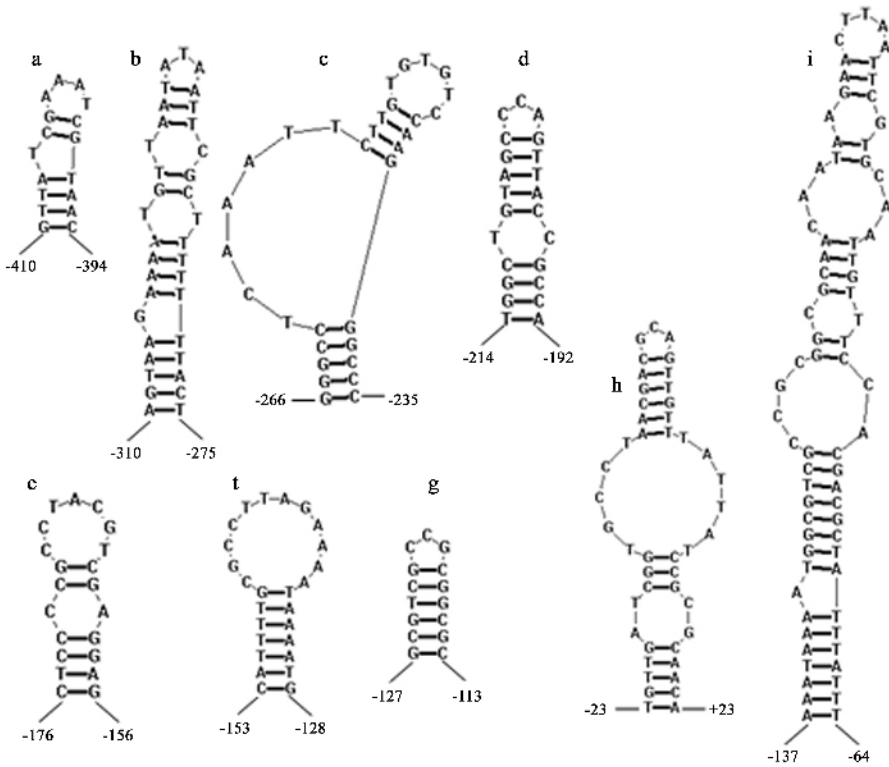


图 5 *Fhx/P25* 启动子序列推测的部分二级结构

Fig. 5 The secondary structure inferred from the *Fhx/P25* gene promoter sequence

和 *Kpn* I 双酶切带有家蚕丝素蛋白轻链基因的 poly (A)<sup>+</sup> 加尾信号序列的 pSK-PolyA 质粒, kit 回收 poly (A)<sup>+</sup> 加尾信号序列 DNA 片段, 和同样酶切后的 pSK-P25-DsRed 连接转化, 筛选阳性克隆得 pSK-P25-DsRed-PolyA, 同样通过了酶切鉴定 (图 6) 和测序的验证。

## 2.6 瞬时表达载体在家蚕 BmN 细胞和家蚕后部丝腺组织中的瞬时表达

瞬时表达载体在转染家蚕 BmN 细胞, 经培养 24 h 后, 可观察到红色荧光 (图 7A)。但只能检测到微弱且稀少的红色荧光, 这可能是由于 BmN 细胞系来源于家蚕卵巢细胞而建立起来的细胞系, 缺乏或缺少丝腺专一的转录活化因子。在培养 3 天 (72 h) 后, 仍可观察到红色荧光, 且发现红色荧光在处理细胞中的变化不明显。

将瞬时表达载体注射家蚕, 饲养 24 h 后, 经解剖观察, 显示在后部丝腺中有红色荧光 (图 7B), 其余组织均未观察到红色荧光表达。

## 3 讨论

家蚕 *Fhx/P25* 基因上游有多个特异性调控序

列, 如 PSGF 因子的结合位点和 SGFB 因子的结合位点。SGFB 因子是丝腺特有的调控因子, 存在于后部丝腺和中部丝腺, 而 PSGF 因子是后部丝腺特有的调控因子, 中部丝腺没有该因子。只有在 PSGF 因子作用下, SGFB 因子才能稳定有效地结合到调控序列, 因此 *Fhx/P25* 基因只在后部丝腺大量表达 (Horard et al, 1997)。经分析发现, *Fhx/P25* 基因启动子区域有 3 个 CAAT 基序 (-110-107, -90-87, -42-39), 其中 -42-39 的 CAAT 基序也为 PSGF 因子的结合位点, 而不大可能是 CAAT box 位点, -90-87 的 CAAT 基序通常认为是 *Fhx/P25* 基因的 CAAT box 位点, 因 *Fhx/P25* 基因不仅在家蚕后部丝腺高效转录, 而且在家蚕其他组织也有转录 (Liu et al, 2005), 由 -11-107 的 CAAT 基序及前后序列表明, 这一位点可能具有 CAAT box 位点的功能, 从而推测 -110-107 与 -90-87 区域的 CAAT 基序可能具有 CAAT box 的功能, 由此决定了 *Fhx/P25* 基因在不同组织中有不同的转录起始位点, 以及 *Fhx/P25* mRNA 存在选择性拼接等特点。

本实验克隆并构建了由 *Fhx/P25* 启动子驱动

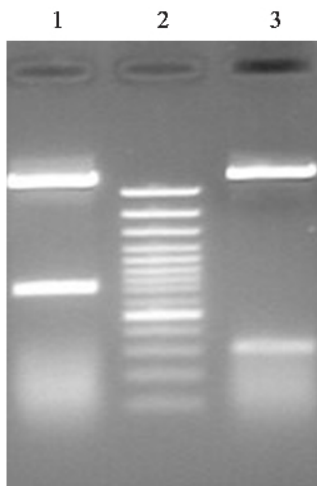


图 6 载体 pSK-P25-DsRed-PolyA 酶切分析

Fig. 6 Restriction mapping analysis of the recombination plasmid pSK-P25-DsRed-PolyA  
1: *Sal* I + *Xho* I, DsRed; 2: 100 bp marker; 3: *Xho* I + *Kpn* I, poly (A) + .

的 *DsRed* 报告基因的表达载体可通过转基因的方法方便地进行启动子活性的鉴定。该表达载体在家蚕细胞 BmN 瞬时表达后可观察到红色荧光, 但只能检测到微弱且稀少的红色荧光, 此结果一方面可能由于家蚕细胞 BmN 具有的全能性, 而瞬时表达质粒在 BmN 细胞中能实现瞬时表达, 另一方面由于真核细胞表达的时空性特点, 外源 DNA 的瞬时表达也可能会受到限制, 以及 BmN 细胞缺乏相应的转录活化因子, 因而表达量较弱。由家蚕后部丝腺组织中的瞬时表达实验结果显示: *Fhx/P25* 基因可能具有时期与组织特异性。将 *Fhx/P25* 启动子驱动的 *DsRed* 报告基因替换为具有药用价值的蛋白基因后可构建出具有应用价值的转基因表达载体, 再利用转基因技术将其成功整合到家蚕基因组中, 可获得安全、高效、经济和便于产物收集的转基因家蚕, 相关工作正在研究中。

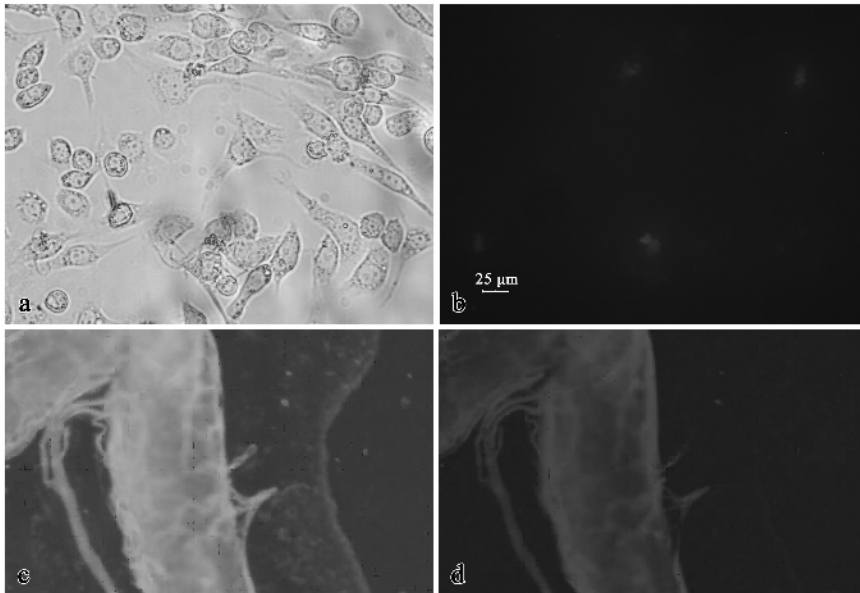


图 7 瞬时表达载体在家蚕 BmN 细胞 (A) 和后部丝腺 (B) 中的表达  
Fig. 7 Transient expression of vector pSK-P25-DsRed-PolyA in BmN cells (A) and in the posterior silk gland of the *Bombyx mori* (B)

A: 普通明亮视野; b: 红色荧光检测。

a: Bright-field photograph; b: Fluorescence image.

## 参考文献:

- Durand B, Drevet J, Couble P. 1992. P25 gene regulation in *Bombyx mori* silk gland: Two promoter-binding factors have distinct tissue and developmental specificities [J]. *Mol Cell Biol*, **12** (12): 5768 - 5777.
- Horard B, Julien E, Nony P, Garel A, Couble P. 1997. Differential

- binding of the *Bombyx* silk gland-specific factor SGFP to its target DNA sequence drives posterior-cell-restricted expression [J]. *Mol Cell Biol*, **17**: 1572 - 1579.
- Huang JT. 2002. Progress on the composition of silk fibre [J]. *Bull Sericul*, **32** (4) 1 - 5. [黄君霆. 2002. 蚕丝纤维组成的研究.

蚕桑通报, 32 (4): 1-5. ]

- Inoue S, Tanaka K, Arisaka F, Kimura S, Ohtomo K, Mizuno S. 2000. Silk fibroin of *Bombyx mori* is secreted assembling a high molecular mass elementary unit consisting of H-chain, L-chain and P25, with 6: 6: 1 molar ratios [ J ]. *J Biol Chem*, **275** ( 51 ): 40507 - 40528.
- Liu C, Zhao P, Cheng TC, Zha XF, Xia QY, Xiang ZH. 2005. Analysis of a novel transcription mode of *Fhx/P25* gene in *Bombyx mori* [ J ]. *Prog Biochem Biophys*, **32** ( 8 ): 740 - 746. [ 刘 春, 赵萍, 程廷才, 查幸福, 夏庆友, 向仲怀. 2005. 家蚕 *Fhx/P25* 基因的一种新的转录模式分析研究. 生物化学与生物物理进展, **32** ( 8 ): 740 - 746. ]
- Lu C, Zhao AC, Xiang ZH, Wan CL. 2002. AFLP analysis of genetic diversity of *Bombyx mandarina* in China [ J ]. *Zool Res*, **23** ( 2 ): 166 - 172. [ 鲁 成, 赵爱春, 向仲怀, 万春玲. 2002. 中国野桑蚕遗传多样性的 AFLP 分析. 动物学研究, **23** ( 2 ): 166 - 172. ]

- Nony P, Prudhomme JC, Couble P. 1995. Regulation of the *P25* gene transcription in the silk gland of *Bombyx* [ J ]. *Biol Cell*, **84** ( 1 - 2 ): 43 - 52.
- Summers MD, Smith GE. 1987. A manual of methods for baculovirus vectors and insect cell culture procedures [ J ]. *Tex Agricul Exp Stat Bull*, ( 1555 ): 1 - 57.
- Takiya S, Kokubo H, Suzuki Y. 1997. Transcription regulatory elements in the upstream and intron of the fibroin gene bind three specific factors POU-M1, Bm Fkh and FMBP-1 [ J ]. *Biochem J*, **321**: 645 - 653.
- Tang SM, Yi YZ, Shen XJ, Zhang ZF, Li YR, He JL. 2003. Functional analysis of the larval serum protein gene promoter from silkworm, *Bombyx mori* [ J ]. *Chn Sci Bull*, **48** ( 23 ): 2611 - 2615.
- Zurovec M, Kodrik D, Yang C, Sehnal F, Scheller K. 1998. The P25 component of *Galleria* silk [ J ]. *Mol Genet Gen*, **257** ( 3 ): 264 - 270.

## “2005 年度云南省科学技术奖颁奖大会” 召开 昆明动物研究所多项成果获奖



(图片转自“云南日报网”)

2006 年 12 月 24 日召开的“2005 年度云南省科学技术奖颁奖大会”上, 昆明动物研究所 12 项科技成果荣获 2005 年度云南省科学技术奖, 取得建所以来最大丰收。

所长张亚平院士荣获云南省科学技术最高奖——突出贡献奖, 成为云南省第四位捧走 300 万元突出贡献奖励的科学家。

同时, 昆明动物研究所还荣获一等奖 4 项, 二等奖 3 项和三等奖 4 项, 他们分别是:

● 由杨岚研究员主持研究的“云南鸟类的分类区系地理学和保护生物学研究”荣获自然科学类一等奖;

(下转第 27 页)