

家蚕生长调控因子的初步筛选和 RNA 表达分析^①

张 毅, 孙玖晨, 戎 妍, 任 秀,
秦小旋, 卢忠燕, 夏庆友

西南大学 生物技术学院/家蚕基因组生物学国家重点实验室, 重庆 400715

摘要: 昆虫生长调控机制是一个基础的生物学问题. 不同器官和组织间的信号转导对协调昆虫身体生长速率和确定不同器官大小十分重要. 在家蚕中, 胰岛素类似多肽家蚕素的分泌受营养信号调控, 并对成虫盘的生长和细胞增殖有促进作用, 然而更多的生长调控因子尚待研究. 为了鉴定家蚕中的生长调控因子, 基于 GO 注释方法的预测, 筛选和克隆了具有调控功能的 13 个选择信号基因组区域基因, 并通过 ClustalW2 分析了其与果蝇同源基因蛋白水平上的一致性. 对其中 6 个基因通过 Real Time PCR 做了 RNA 水平上的时期表达分析, 实验结果显示其中部分基因在蛹期和成虫期的 RNA 表达水平较高, 而 BmBtk29A 在 5 龄第 1 d 有较高表达, 提示了该基因可能在 5 龄生长初期有重要作用.

关 键 词: 家蚕; 生长调控; 选择信号基因组区域; RNA 表达分析

中图分类号: Q965

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2015)06-0020-07

生物体中组织器官大小和个体生长的调控机制是生物学研究的一个基本问题. 多细胞生物的个体生长受远程信号分子的调控, 各个器官分别生长却又互相影响. 以双翅目昆虫果蝇为例, 幼虫体质量的营养依赖性增长多是由于多倍体细胞大小的增加, 这些多倍体细胞构成了脂肪体和唾液腺等多种组织, 而脑和成虫盘被包围在这些多倍体细胞组织中. 不同组织器官间的信号转导对整个幼虫的生长速率和身体大小的调控十分重要, 其中有两类已知的关键因子——胰岛素和胰岛素样生长因子(insulin and insulin-like growth factors, IIS)以及甾类激素蜕皮激素(molting hormone, 20E).

无脊椎动物中的胰岛素样多肽兼具胰岛素和胰岛素样生长因子的生理功能, 例如果蝇, 存在 8 种不同的果蝇胰岛素样多肽(DILP)^[1-3], 分别在果蝇从幼虫到蛹的不同发育时期和位置表达^[1, 4], 是个体系统性生长的重要调节分子. 家蚕中的胰岛素相关多肽被称为家蚕素, 其释放与投喂密切相关^[5], 实验结果显示家蚕素对鳞翅目昆虫蝴蝶翅成虫盘^[6-7]的生长和家蚕造血器官的细胞增殖^[8]有促进作用. 蜕皮激素是调节昆虫纲、甲壳纲等动物蜕皮的主要激素. 幼虫期甾类激素蜕皮激素(E)主要由前胸腺分泌, 释放到血淋巴后被催化为活性形式 20-羟基蜕皮激素(20E)^[9], 进而结合核受体和启动多种基因表达引发蜕皮和变态. 果蝇蜕皮激素在脂肪体中拮抗 IIS^[10], 一方面会抑制 DILP6 的自分泌效果, 另一方面将促进脂肪体的自我吞噬, 通过供给能量和营养间接支持了成虫盘的增殖; 蜕皮激素还通过诱导 Crol 转录因子更为直接地促进成虫盘增殖和分化^[11]. 这样, 通过脂肪体和成虫盘对蜕皮激素信号的不同响应形成了这些组织间动态的协调生长. 尽管已知 IIS 和 20E 对昆虫系统性生长调控十分重要, 但仍有更多未知的因子需要鉴定, 我们希望在

① 收稿日期: 2014-04-15

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(XDJK2014C047); 重庆市教委雏鹰计划(CY130201); 西南大学博士基金项目(SWU113001).

作者简介: 张 毅(1982-), 男, 河南临颖人, 博士, 主要从事家蚕生长发育调控机制的研究.

通信作者: 夏庆友, “长江学者”特聘教授.

家蚕中对生长调控机制做出一些探索。

家蚕由野外祖先野桑蚕驯化而来,形成了诸多不同的品系.人工选择提高了家蚕的经济性状,如蚕茧大小、生长的速率等,提示了家蚕基因组中的某些基因由于人工选择作用发生了变化^[12-13].2009年西南大学家蚕基因组研究团队选取不同家蚕品系和中国野桑蚕品系进行了全基因组重测序与序列比较,绘制完成了基因组水平上的单碱基遗传变异图谱,鉴定了1 041个驯化相关的选择信号基因组区域(genomic regions of selective signals, GROSS)^[13].在GROSS中共包含了300多个蛋白质编码基因作为驯化的候选基因,这些基因的大多数是保守的,而且其同源基因具有重要的调控作用。

我们推测 GROSS 中找到的调控性因子可能包含导致家蚕与野蚕以及家蚕不同品系之间个体生长显著性差异的调控因子.首先通过 AgriGO 进行的单项富集分析选出了其中具有生物过程调控、生物学调控和转录调控活性 GO 分类的 25 个驯化基因,通过 PCR 克隆了其中 13 个基因,进而通过 ClustalW2 分析其与果蝇同源基因在蛋白水平上的一致性. Real Time PCR 实验结果揭示了 6 个基因在 RNA 水平上的不同时期表达特点,显示了 Bmbigmax 和 BmBtk29A 在 5 龄幼虫生长期有较高量的表达。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 时期特异的样品

家蚕大造品种(P50)的 5 龄第 1 d,5 龄第 3 d 的蚕,预蛹期、蛹期第 3 d 的蛹,成虫第 1 d 的蚕蛾。

1.1.2 试剂

Total RNA Kit II 试剂盒购自 OMEGA 公司, M-MLV Reverse Transcriptase 试剂盒购自 Promega 公司, SYBR® Premix Ex Taq™ II 购自 TAKARA 公司。

1.2 方法

1.2.1 家蚕选择信号基因组区域中的调控性基因的选择

将选择信号基因组区域中的 303 个家蚕基因通过 AgriGO(<http://bioinfo.cau.edu.cn/AgriGO/analysis.php>)对其中 122 个具有 GO 标签的基因进行 GO 富集分析得到图 1,并筛选出具有生物过程调控、生物学调控和转录调控活性的基因。

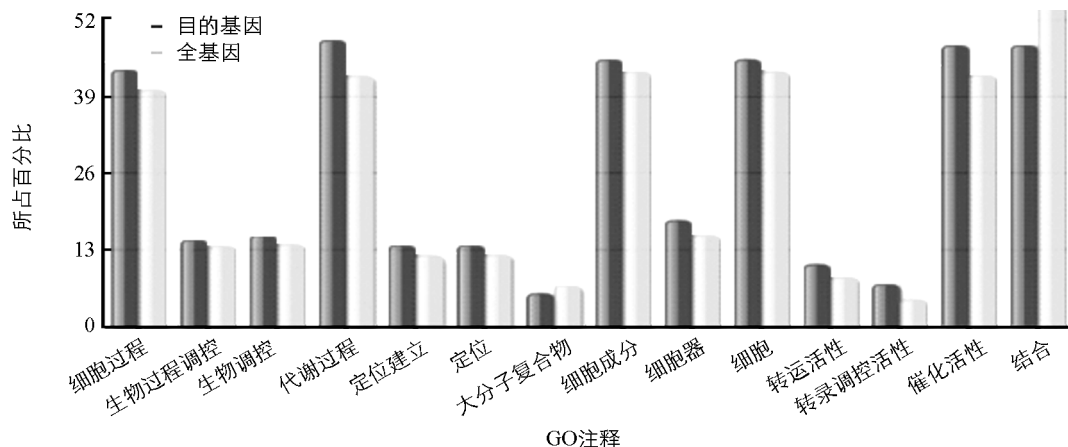


图 1 选择信号基因组区域基因的单项富集分析

1.2.2 家蚕基因与果蝇同源基因氨基酸的一致性分析

首先通过 Silkworm Genome Database(<http://silkworm.genomics.org.cn/>)查找家蚕基因的蛋白编码序列,然后在 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)上进行 blast,得到该基因编码的氨基酸序列.再通过 Flybase(<http://flybase.org/>)搜索该基因,得到其翻译后的氨基酸序列.将两段氨基酸序列在 ClustalW2(<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>)中进行一致性分析,得到最终一致性分数(表 1)。

1.2.3 模板 DNA 的制备

取得各个时期的样品在液氮中研磨取材. 然后使用 Total RNA Kit II 试剂盒提取各样品的总 RNA. 得到的 RNA 用 M-MLV Reverse Transcriptase 反转录为 cDNA^[14].

1.2.4 引物的设计

根据 NCBI 提供的 mRNA 序列, 对表 1 中的 6 个家蚕基因进行上下游引物的设计. 这 6 个基因和内参基因的引物序列见表 2.

1.2.5 实时荧光定量 PCR

实时荧光定量 PCR 的反应体系为 20 μ L, 各组分为 SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) 10 μ L, 上下游引物(5 μ mol/L)各 1.6 μ L, 去离子水 4.8 μ L, 模板 DNA 2 μ L. 反应结束后, 对获得的信号、数据进行处理分析, 选取 Bm β -actin 为内参基因.

表 1 13 个选择信号基因组区域基因功能预测

基因号	预测分子功能	果蝇或人类同源基因	果蝇和家蚕同源基因蛋白水平上的一致性
BGIBMGA000235	腺甙硫酸激酶	无	—
BGIBMGA000762	转录因子	D. melanogaster: CG17594 (scarecrow) H. sapiens: ENSP00000345147	57.53
BGIBMGA000972	络氨酸激酶	D. melanogaster: CG8049 (Btk29A, Btk family kinase at 29A)	52.57
BGIBMGA001943	亚砷酸盐跨膜转运的 ATP 酶	D. melanogaster: CG1598	75.82
BGIBMGA004491	转录因子	D. melanogaster: CG7807 (TfAP-2, Transcription factor AP-2) H. sapiens: ENSP00000263046 (Transcription factor AP-2)	37.09
BGIBMGA005127	转录因子	D. melanogaster: CG12952 (sage) H. sapiens: ENSP00000342868	23.08
BGIBMGA006126	无	无	—
BGIBMGA006506	转录延伸复合体	D. melanogaster: CG6755 (Elongin A) H. sapiens: ENSP00000363662	37.79
BGIBMGA007021	GTP 酶	D. melanogaster Ortholog (s): CG1900(Rab40) H. sapiens: ENSP00000361817	70.98
BGIBMGA008336	激酶	D. melanogaster: CG2621 (shaggy) H. sapiens: ENSG00000268643	78.25
BGIBMGA008482	转录因子	D. melanogaster: CG11607 (H2.0, Homeodomain protein 2.0) H. sapiens: ENSP00000355870 (Homeodomain protein 2.0)	43.28
BGIBMGA011963	E2 泛素连接酶	D. melanogaster: CG7220 H. sapiens: ENSP00000355382	77.27
Bmbigmax	转录因子	D. melanogaster: CG3350 (bigmax) H. sapiens: MLX(Max-like protein X)	55.98

表 2 实时荧光定量 PCR 检测中所用的 7 个基因的引物序列

基因号	前引物 (5'-3')	后引物 (5'-3')
BGIBMGA000972	GCTAAGCCCAAGGAGAAAC	AGAAATCGCCATACCCGT
BGIBMGA005127	GACTCGAATGCGTGACATG	GTTGACGCCTTCGCATATC
BGIBMGA001943	GCTATGAGATTGGACAAGGGTG	GTTCTACAACCTGCGGGAATG
BGIBMGA006126	ACTGCCTAGGGTACCATCTAAC	CATTTTCTCCTTCGACGCTAC
BGIBMGA011963	AGTACACATGGAAGGCGTAC	GTGAGGATCGAAAGGCAGATG
Bmbigmax	GTAAAGCTCAACATTCCGTACCT	GTGTGTAGTTCTGATCTCTCAGC
Bmβ-actin	CTCCCTCGAGAAGTCCTACGAACT	GGATGCCGCACGATTCCATAC

2 结果与分析

家蚕个体体形的变化，包括蚕蛹和蚕茧体积的变大，是驯化过程中最为明显的性状变化之一。实验表明，家蚕中不同品系蛹的大小在驯化过程中得到了人工筛选，在蛹中期时，雄性野蚕蛹质量约为 0.26 g，而雄性家蚕大造蛹质量约为 0.72 g，雄性家蚕品系 872 蛹质量约为 0.88 g，这显示了驯化过程中形成的不同家蚕品系的蛹质量有显著变化，也提示我们家蚕选择信号基因组区域的部分基因可能与蛹质量的变化相关。

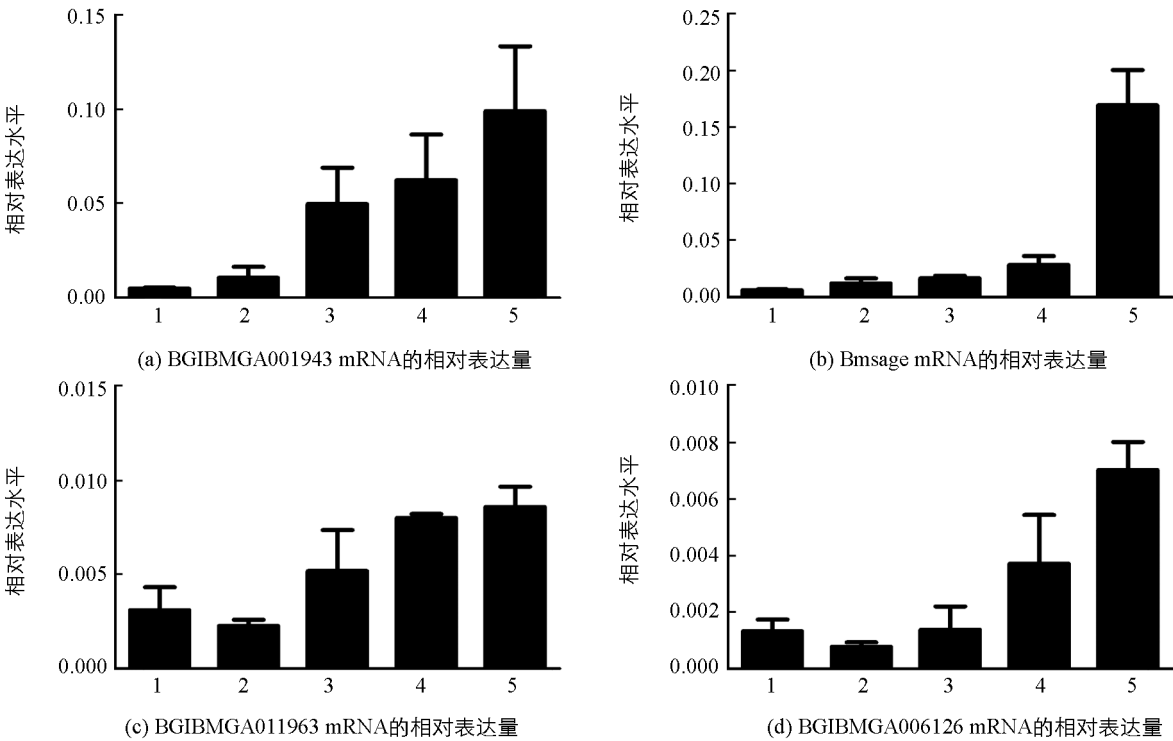
通过生物信息学软件 AgriGO 对选择信号基因组区域基因中 122 个具有 GO item 的基因进行单项富集分析，我们发现这些基因的富集水平与家蚕全基因差异没有统计学意义，显示了这些驯化基因广泛分布在各种 GO 分类上，暗示了驯化过程包含丰富和较为广泛的生物学变化(图 1)。我们选取其中被归类到生物过程调控、生物学调控和转录调控活性的基因，加上 4 个激酶和 1 个预测的转录因子组成 25 个调控候选基因，通过分子克隆成功克隆出其中 13 个基因(表 1)。

这 13 个基因中有 11 个基因具有果蝇同源基因(表 1)，我们通过它们的果蝇同源基因来预测其功能，其中有 6 个因子具有转录调控或预测的 DNA 结合功能。scarecrow(CG17594)，其分子可以与特异 DNA 序列结合发挥转录因子的功能，scarecrow 在胚胎期特定神经元表达，其突变体有轴突成型缺陷^[15]。TfAP-2 (Transcription factor AP-2, CG7807)，其分子可与特异的 DNA 序列结合且具有转录因子的活性，其在果蝇幼虫期的成虫盘、视神经叶和腹部神经节等处表达，突变体显示昆虫喙和短腿的缺陷^[16]。H2.0 (Homeodomain protein 2.0)，预测其分子在与特异 DNA 序列结合过程中具有转录因子的活性，H2.0 在胚胎发育中的中胚层形成和幼虫阶段的脂肪体中发挥作用，其人类同源基因对胎盘滋养层细胞的迁移和增殖具有重要作用^[17-18]。Bigmax(CG3350)，预测其分子具有结合特异 DNA 序列的转录因子活性，其与成虫的摄食、细胞的自噬死亡、树突形成和肌肉器官发育^[19]等多个过程有关，而 BGIBMGA005127 的果蝇同源基因 sage(CG12952) 是在唾液腺具有重要作用的转录因子。BGIBMGA006506 的同源基因 Elongin A (CG6755)，预测其分子具有与 DNA 结合的功能并作为转录延伸复合体的成员，在幼虫期多个组织有表达，突变体分析显示其参与成虫盘翅脉特化过程^[20]。

13 个基因的另外 7 个基因中，BGIBMGA000972 的同源基因 Btk29A (Btk family kinase at 29A, CG8049)，其分子具有结合 ATP 的络氨酸激酶活性，Btk29A 在幼虫期的脂肪体、中枢神经系统等处表达，参与了生殖和呼吸系统发育、寿命控制等过程^[21]。BGIBMGA007021 的同源基因 Rab40(CG1900)，预测其分子具有 GTP 酶的活性，可能参与信号转导和囊泡介导的运输过程。BGIBMGA008336 的同源基因 shaggy (CG2621)其分子具有蛋白质的丝氨酸/苏氨酸激酶活性，是 GSK-3 亚家族成员；突变体分析显示其参与翅膀和表皮形成、生理节律调节和蛋白酶体介导的蛋白分解等生物过程。BGIBMGA001943 和 BGIBMGA011963 两个基因的果蝇同源基因 CG1598 和 CG7220 尚未被深入研究，其中 CG1598 被预测具有促进亚砷酸盐跨膜转运的 ATP 酶的活性，而 CG7220 被预测具有泛素蛋白连接酶的活性，涉及蛋白的水解过程。另有两个家蚕基因 BGIBMGA000235 和 BGIBMGA006126 未找到果蝇同源基因，其中 BGIBMGA000235 蛋白预测具有腺苷酰基转移酶激酶和 ATP 硫酸化酶结构域。

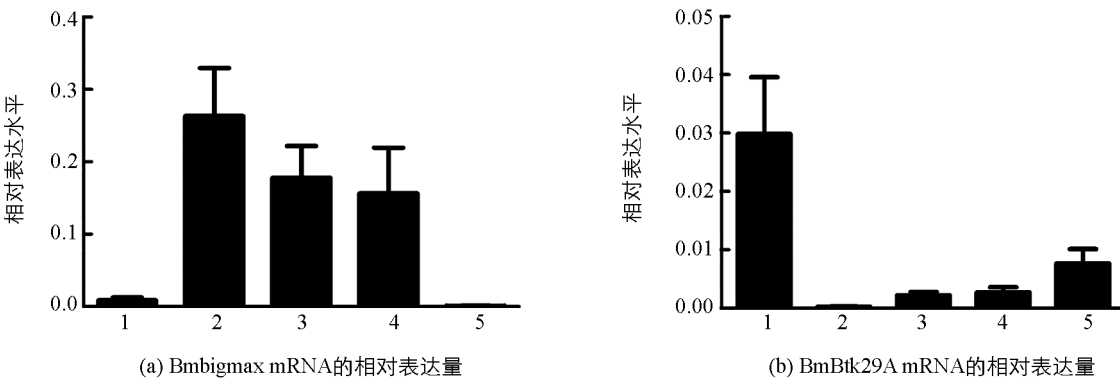
从 RNA 表达水平上讲，BGIBMGA001943、Bmsage 和 BGIBMGA006126 在家蚕 5 龄期表达量均较少，

但在蛹第 3 d 和蛾第 1 d 时表达量显著增加(图 2a,b,d). BGIBMGA011963 在家蚕 5 龄期、蛹期和蛾第 1 d 中均有较高表达, 其中 5 龄第 3 d 时表达量有所降低, 而进入预蛹期后表达量持续增加(图 2c). Bmbigmax 在 5 龄有较高量的表达(图 3a). 而 BmBtk29A 仅在 5 龄第 1 d 中有较高表达, 5 龄第 3 d 时表达量急剧下降, 后期虽有所增加, 但表达量仍较低(图 3b). 当然 5 龄阶段之所以体质量急剧增加, 原因还包括丝腺和丝蛋白快速合成, 检测该基因是否参与生长调控尚需更多功能研究上的实验.



1. 5 龄第 1 d; 2. 5 龄第 3 d; 3. 预蛹期; 4. 蛹第 3 d; 5. 蛾第 1 d.

图 2 目标基因的 RNA 时期表达分析



1. 5 龄第 1 d; 2. 5 龄第 3 d; 3. 预蛹期; 4. 蛹第 3 d; 5. 蛾第 1 d.

图 3 Bmbigmax 和 BmBtk29A 的 RNA 时期表达分析

3 讨 论

家蚕在个体大小等性状上经历了人工选择, 部分选择基因组区段的基因或许参与个体生长的控制过程. 将上述 13 个选择信号基因组区域的家蚕基因和果蝇同源基因的氨基酸序列进行一致性分析, 发现有 4 个果蝇同源基因在蛋白水平上和家蚕基因有较高的一致性(70%以上), 如 CG1598, Rab40(CG1900), shaggy(CG2621)和 CG7220, 这些基因从功能上归为 ATPase, 膜泡运输相关的 GTPase, 激酶和泛素连接酶, 参与基本的细胞生物学过程, 进化变异较小. 另有 4 个果蝇同源基因在蛋白水平上和家蚕基因的一致性较低

(低于 50%), 如 TfAP-2(CG7807), sage(CG12952), Elongin A(CG6755) 和 H2.0(CG11607). 这些因子均为转录因子或者 DNA 结合因子, 在果蝇和家蚕间蛋白水平差异较大, 暗示这类基因在昆虫和家蚕进化过程中有较大变化.

BGIBMGA005127(Bmsage) 其果蝇同源基因在唾液腺中高表达, 果蝇的唾液腺类似于家蚕的丝腺, BGIBMGA005127 可能是丝腺发育过程中起重要作用并经历选择的一个转录因子, 其家蚕同源基因和果蝇同源基因之间的蛋白水平一致性仅为 23.08%, 显示了进化过程中此基因可能发生了较为明显的差异.

BGIBMGA000972(BmBtk29A) 的果蝇同源基因在幼虫期的脂肪体、中枢神经系统等处表达, 其分子具有与 ATP 结合的络氨酸激酶活性, 据报道参与了生殖和呼吸系统发育、寿命控制等过程^[21]. 实验结果表明, BmBtk29A 在 5 龄 1 d 有较高表达, 则该基因可能在幼虫末龄快速生长初期有重要作用. 其家蚕同源基因和果蝇同源基因蛋白水平的一致性为 52.57%, 处于中度一致性水平.

参考文献:

- [1] BROGIOLO W, STOCKER H, IKEYA T, et al. An Evolutionarily Conserved Function of the *Drosophila* Insulin Receptor and Insulin-Like Peptides in Growth Control [J]. *Current Biology*, 2001, 11(4): 213—221.
- [2] COLOMBANI J, ANDERSEN D S, LEOPOLD P. Secreted Peptide Dilp8 Coordinates *Drosophila* Tissue Growth with Developmental Timing [J]. *Science*, 2012, 336(6081): 582—585.
- [3] GARELLI A, GONTIJO A M, MIGUELA V, et al. Imaginal Discs Secrete Insulin-Like Peptide 8 to Mediate Plasticity of Growth and Maturation [J]. *Science*, 2012, 336(6081): 579—582.
- [4] IKEYA T, GALIC M, BELAWAT P, et al. Nutrient-Dependent Expression of Insulin-Like Peptides from Neuroendocrine Cells in the CNS Contributes to Growth Regulation in *Drosophila* [J]. *Current Biology*, 2002, 12(15): 1293—1300.
- [5] MASUMURA M, SATAKE S, SAEGUSA H, et al. Glucose Stimulates the Release of Bombyxin, an Insulin-Related Peptide of the Silkworm *Bombyx mori* [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2000, 118(3): 393—399.
- [6] NIJHOUT H F, GRUNERT L W. Bombyxin is a Growth Factor for Wing Imaginal Disks in Lepidoptera [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2002, 99(24): 15446—15450.
- [7] NIJHOUT H F, SMITH W A, SCHACHAR I, et al. The Control of Growth and Differentiation of the Wing Imaginal Disks of *Manduca sexta* [J]. *Dev Biol*, 2007, 302(2): 569—576.
- [8] NAKAHARA Y, MATSUMOTO H, KANAMORI Y, et al. Insulin Signaling is Involved in Hematopoietic Regulation in an Insect Hematopoietic Organ [J]. *J Insect Physiol*, 2006, 52(1): 105—111.
- [9] PETRYK A, WARREN J T, MARQUES G, et al. Shade is the *Drosophila* P450 Enzyme That Mediates the Hydroxylation of Ecdysone to the Steroid Insect Molting Hormone 20-Hydroxyecdysone [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, 100(24): 13773—13778.
- [10] COLOMBANI J, BIANCHINI L, LAYALLE S, et al. Antagonistic Actions of Ecdysone and Insulins Determine Final Size in *Drosophila* [J]. *Science*, 2005, 310(5748): 667—670.
- [11] MITCHELL N, CRANNA N, RICHARDSON H, et al. The Ecdysone-Inducible Zinc-Finger Transcription Factor Crol Regulates Wg Transcription and Cell Cycle Progression in *Drosophila* [J]. *Development*, 2008, 135(16): 2707—2716.
- [12] GOLDSMITH M R, SHIMADA T, ABE H. The Genetics and Genomics of the Silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Annu Rev Entomol*, 2005, 50: 71—100.
- [13] XIA Q Y, LI S, FENG Q L. Advances in Silkworm Studies Accelerated by the Genome Sequencing of *Bombyx mori* [J]. *Annu Rev Entomol*, 2014, 59: 513—536.
- [14] 黄 科, 李春峰, 范晓东, 等. 家蚕 gapdh 基因的克隆及分析 [J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2008, 30(11): 68—73.
- [15] IYER E P, IYER S C, SULLIVAN L, et al. Functional Genomic Analyses of Two Morphologically Distinct Classes of *Drosophila* Sensory Neurons: Post-Mitotic Roles of Transcription Factors in Dendritic Patterning [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72434.
- [16] MONGE I, KRISHNAMURTHY R, SIMS D, et al. *Drosophila* Transcription Factor AP-2 in Proboscis, Leg and Brain Central Complex Development [J]. *Development*, 2001, 128(8): 1239—1252.
- [17] RAJARAMAN G, MURTHI P, BRENNECKE S P, et al. Homeobox Gene HLX is a Regulator of HGF/c-Met-Mediated Migration of Human Trophoblast-Derived Cell Lines [J]. *Biol Reprod*, 2010, 83(4): 676—683.

- [18] RAJARAMAN G, MURTHI P, LEO B, et al. Homeobox Gene HLX1 is a Regulator of Colony Stimulating Factor-1 Dependent Trophoblast Cell Proliferation [J]. Placenta, 2007, 28(10): 991–998.
- [19] SASSU E D, MCDERMOTT J E, KEYS B J, et al. Mio/dChREBP Coordinately Increases Fat Mass by Regulating Lipid Synthesis and Feeding Behavior in *Drosophila* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 426(1): 43–48.
- [20] ROUGEOT J, RENARD M, RANDSHOLT N B, et al. The Elongin Complex Antagonizes the Chromatin Factor Corto for Vein Versus Intervein Cell Identity in *Drosophila* Wings [J]. PLoS One, 2013, 8(10): e77592.
- [21] MATUSEK T, DJIANE A, JANKOVICS F, et al. The *Drosophila* Formin DAAM Regulates the Tracheal Cuticle Pattern Through Organizing the Actin Cytoskeleton [J]. Development, 2006, 133(5): 957–966.

Screening and RNA Expression Analysis of Potential Regulators Modulating Silkworm Growth

ZHANG Yi, SUN Jiu-chen, RONG Yan, REN Xiu,
QIN Xiao-xuan, LU Zhong-xiu, XIA Qing-you

School of Biotechnology, State Key Laboratory of Silkworm Genome Biology;
Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: The mechanism of insect growth is a fundamental biological question. The signaling molecule communication between different organs and tissues is vital for coordinating body growth rate and determining organ size in insects. The secretion of the insulin-like peptide bombyxin is modulated by nutritional signals in *Bombyx mori* and it can promote imaginal disc growth and cell proliferation. However, more growth regulators need to be identified. To identify growth regulators in *B. mori* and elucidate their regulation mechanisms, thirteen regulatory genes were selected out and cloned in the genomic regions of selective signals based on their predicted GO terms. Then, the protein identity between these silkworm genes and their fly (*Drosophila melanogaster*) homologs was analyzed. Finally, the RNA expression level of 6 genes at different developmental stages was tested by real-time PCR. The results indicated that most of them exhibited considerably high relative expression levels at the pupal and the adult stages and that BmBtk29A displayed a higher expression on the first day of the fifth instar larval stage, implying its potential important function during the early fifth larval growth stage.

Key words: *Bombyx mori*; body growth control; genomic region of selective signals; RNA expression analysis

责任编辑 周仁惠

