doi：10.3969/j.issn.1674－0858.2016.02.20

王浆主蛋白 MRJP7 基因在意大利蜜蜂体内的表达

李晓燕，梁庆环，杨文静，梁　勤，李江红*

（福建农林大学蜂学学院，福州 350002）

摘要： 王浆蛋白是蜂王浆生物功能的物质基础，是由王浆蛋白基因家族（*mrjps*）编码合成的。但部分家族成员如 MRJP7 在王浆中的含量极少甚至检测不到。基因功能与其在生物体内的时空表达特性相关，为探究 *mrjp*7 的生物学功能，本研究利用荧光定量 PCR 技术对 *mrjp*7 在不同发育时期的工蜂和成年工蜂、雄蜂和蜂王的不同组织部位的表达进行定量检测。结果显示 *mrjp*7 在成年雄蜂体内的表达水平最低，成年蜂王次之，且在它们的各不同组织部位之间的表达量差异较小。该基因在工蜂幼虫和蛹期的表达同样较低，但在羽化后 9 日龄前后的哺育蜂王浆腺和头部特异性高表达，这与哺育蜂分泌蜂王浆哺育幼虫和蜂王的功能是相适应的，该结果在转录水平上证实了 *mrjp*7 的营养功能，为进一步的研究和应用打下了理论基础。

关键词： 蜜蜂；*mrjp*7；转录表达；荧光定量 PCR；功能

中图分类号： Q963；S89　　**文献标志码：** A　　**文章编号：** 1674－0858（2016）02－0371－07

Expression of the major royal jelly protein 7 gene in honeybee (*Apis mellifera ligustica* Spinola)

LI Xiao-Yan，LIANG Qing-Huan，YANG Wen-Jing，LIANG Qin，LI Jiang-Hong*（College of Bee Science，Fujian Agriculture and Forestry University，Fuzhou 350002，China）

Abstract: Major royal jelly proteins，encodeded and synthesized by the gene family of major royal jelly proteins（*mrjps*），was the basis of biological functions of royal jelly. However，part family members are less expressed even undetectable in royal jelly such as *mrjp*7. Gene function was related with their spatial and temporal expression profile，to determine the possible function of major royal jelly protein 7 gene（*mrjp*7）in honeybee（*Apis mellifera* L.），Real-time PCR technique was employed to quantity the expression of *mrjp*7 in different developing stage of worker，and different tissues of adult worker，queen and drone. The results showed that the expression of *mrjp*7 were least in adult drone and slightly more in adult queen，and with no difference among tissues. While in worker，*mrjp*7 was low expressed in larvae and pupae stage，but specifically high expressed in hypopharyngeal gland and head of breeding worker around 9 days old. Such expression profile in honeybee was according with the task rearing larvae and queen of breeding bee，fertilizing the nutritious function of *mrjp*7 at transcriptional level，which provide a theoretic basis for future research and utilization.

Key words: Honeybee；*mrjp*7；transcription；real-time PCR；function

蜂王浆是由工蜂头部的王浆腺与上颚腺分泌的浆状物质，用于哺育 3 日龄以内工蜂幼虫和蜂王（Knecht and Kaatz，1990），是蜜蜂正常生长发育不可或缺的食物，也是蜜蜂级型分化的物质基

基金项目： 现代农业产业技术体系建设专项资金（CARS-45-KXJ7）；福建省教育厅科研项目（JA13128）

作者简介： 李晓燕，女，硕士研究生，研究方向为蜜蜂生物学，E－mail：1148338631@qq.com

* **通讯作者** Author for correspondence，E－mail：leejh6972@126.com

收稿日期 Received：2015－07－16；**接受日期** Accepted：2015－08－28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

础，在蜜蜂体内有多种的生物学功能（Townsend and Lucas，1940；Evans and Wheeler，1999，2001；Moritz *et al.*，2005；陶挺等，2008；赵亚周等，2012；梁庆环等，2013）。蜂王浆对人类也具有重要的营养保健功能（Kamakura *et al.*，2001a，2001b；Matsui *et al.*，2002；Tokunaga *et al.*，2004；Drapeau *et al.*，2006）。

蜂王浆多样化的功能与其组分特别是蛋白组分密切有关（Takenaka，1982；Takenaka and Echigo，1983；Howe *et al.*，1985；Chen and Chen，1995）。编码王浆蛋白的相关基因构成一个基因家族，称为王浆主蛋白基因家族（major royal jelly proteins，*mrjps*）（Schmitzova *et al.*，1998）。目前 *mrjps* 已鉴定出 9 个成员，依次命名为 *mrjp*1-9（Klaudiny *et al.*，1994；Albert *et al.*，1999；Albert and Klaudiny，2004，2007）。其中 MRJP1-5 是蜂王浆中的主要蛋白组分，是蜂王浆生物功能的物质基础。而 MRJP6-9 在蜂王浆内则含量很少或者检测不到，主要是通过蜜蜂的基因组测序及其他相关的分析研究等工作发现的，并陆续在蜜蜂的毒腺以及脑部组织等非王浆腺组织内检测到了它们的表达（Peire *et al.*，2008；Garcia *et al.*，2009；Blank *et al.*，2012）。因此，这几种基因似乎与蜂王浆的功能没有直接关系，在蜜蜂体内很可能扮演着其他方面的功能（Albert and Klaudiny，2007；李江红等，2012）。因此，探究 *mrjp*6-9 在蜜蜂体内的生物学功能就是一个十分有意义的课题，这也是研究 *mrjps* 家族进化和功能分化的基础。

笔者曾经对 *mrjp*8 和 *mrjp*9 在蜜蜂体内的表达专门进行过研究，结果说明了它们与王浆蛋白的营养作用无关，而是与蜜蜂的行为发育以及受精囊腺和毒腺的功能有关（李江红等，2011，2012，2014）。*mrjp*7 是由 Albert 等在筛选意蜂头部 EST 文库时发现（Albert and Klaudiny，2004）。已有的研究发现，MRJP7 在蜂王浆中的含量较低，一般认为其在蜜蜂体内的营养作用有限（Schmitzova *et al.*，1998；李江红等，2012）。但它在产卵工蜂和正常不育工蜂体内的差异表达暗示其可能与蜜蜂的卵巢激活和不育现象有关（Thompson *et al.*，2006）。因此，*mrjp*7 可能具有与王浆中含量较多王浆蛋白的营养功能不尽一致的作用。

作为 MRJPs 基因家族的一员，MRJP7 理应在蜂王浆中的含量较高，但其在蜂王浆中通过 SDS-PAGE 电泳检测不出（Schmitzova *et al.*，1998），这与蜂王浆及王浆蛋白的营养功能不符。那么 *mrjp*7 在蜜蜂体内到底具备什么样的生物学功能呢？基因在生物体内的功能与其表达模式密切相关，基因的时间和空间表达情况对于阐述基因的功能至关重要。为进一步全面探究 *mrjp*7 在蜜蜂体内的生物学功能，本研究利用荧光定量 PCR 技术，检测和分析其在蜜蜂体内的时空表达模式，以便为阐明 *mrjp*7 在蜜蜂体内的生物学功能提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

意大利蜜蜂采自福建农林大学蜂学学院教学蜂场；RNA 提取试剂盒 Trizol Reagent 购自 Invitrogen 公司；RNase-free DNAase I，购自 Fermentas 公司；反转录试剂盒 Reverse Transcription System 和荧光定量 PCR 试剂盒 GoTaq® 2-Step RT-qPCR System 均购自 Promega 公司；引物由上海生工生物工程公司合成；Taq 酶，2000 bp Marker 购自 Takara 公司；氯仿，异丙醇，乙醇均为分析纯，购自国药集团化学试剂有限公司；荧光定量 PCR 仪为 Applied Biosystems StepOnePlus™ Real-Time PCR System.

1.2 实验方法

1.2.1 样本制备

所需工蜂幼虫和蛹直接从试验群内采取，按照试剂盒说明提取 RNA 备用。各不同日龄的成年工蜂在巢脾上用油漆笔在胸部背板标记新出房蜜蜂，返回原蜂群正常饲养至所需日龄时进行采集并提取 RNA 备用。同时解剖获取其头部（去除王浆腺）、胸部、腹部（去除中肠和毒腺）、毒腺、中肠、王浆腺等部位分别提取 RNA。对于蜂王和雄蜂样本，整个虫体以及解剖获取的头部、胸部、腹部、中肠、触角等部位分别提取 RNA 备用。为避免个体间的差异对结果所产生的影响，每一个制备的样本均至少来自 6 头蜜蜂，其中毒腺、王浆腺、触角采集蜜蜂样本的数量为 50 头。

1.2.2 RNA 提取与 cDNA 合成

采集的样本直接置入 Trizol（Invitrogen Inc）试剂中，按照试剂盒的说明提取总 RNA，简要流程如下：将 50 - 100 mg 的样本置于 1.0 mL 的 Trizol 试剂中进行匀浆，然后加入氯仿对 RNA 进行萃取，取上清加入异丙醇使 RNA 沉淀，加入 75% 乙醇洗涤 RNA，最后加入适量体积（20 -

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

200 μL）的无核酸酶的去离子水溶解 RNA。

为避免残留基因组对试验的影响污染，提取的总 RNA 用不含 RNA 酶的 DNA 酶（RNase-free DNase I，Fermentas Inc）进行处理。方法如下：总 RNA 1.0 μg，10 × Buffer 1.0 μL，DNase I 1.0 μL，加无核酸酶的去离子水补足至 10.0 μL，混匀后置于 37℃温育 30 min 消化残留基因组；然后加入 1.0 μL 50 mM EDTA，置于 65℃温育 10 min 灭活 DNase I。最后以此处理后的 RNA 样本为模板，利用内参基因 *β-actin* 引物（表 1）进行 PCR 扩增，产物进行琼脂糖凝胶电泳分析。若没有 *β-actin* 的特异性条带出现就说明基因组去除完全，可进行后续试验。

按照 Reverse Transcription System（Promega Inc）试剂盒操作说明，将已处理的 RNA 进行反转录合成 cDNA。步骤如下：取 2.0 μL 的 RNA 模板置于 70℃温育 10 min 使模板 RNA 变性；然后建立 20.0 μL 如下反应体系：RNA 2.0 μL，$MgCl_2$ 4.0 μL，反转录 10 × 缓冲液 2.0 μL，dNTP 混合液 2.0 μL，Rnase 抑制剂 0.5 μL，AMV 反转录酶 15 U，$(dT)_{15}$ 引物 0.5 μg，加 Nuclease-Free Water 补足至 20.0 μL。将上述反应液混匀后置于 42℃温育 15 min 反转录过程合成 cDNA；最后将上述反应体系 95℃加热处理 5 min，使反转录酶失活，所得的 cDNA 置于 -70℃保存备用。

1.2.3　标准曲线的绘制

选取 *β-actin* 和 *mrjp7* 表达丰度均较高的样本，将其反转录得到的 cDNA 进行系列梯度稀释，经过 5 次梯度稀释，得到 6 个 cDNA 浓度依次递减的样本，将它们作为标样，通过荧光定量的方法对各样本进行检测分析，绘制 Ct 值与模板浓度之间的标准曲线，同时通过检测扩增产物的溶解曲线确定其特异性。

1.2.4　荧光 PCR 定量

以上述制备的各样本 cDNA 为模板，利用设计的特异性引物（表 1）和荧光定量 PCR 试剂盒（Promega Inc），应用 ABI StepOnePlus™ Real-Time PCR System 对样本中目的基因的表达水平进行定量测定和分析。参照 GoTaq ® 2-Step RT-qPCR System 试剂盒说明，PCR 反应体系和反应条件如下：反应体系（20 μL）：cDNA 模板 2.0 μL，2 × GoTaq ® qPCR Master Mix 10.0 μL，Forward and Reverse primer 各 0.4 μL，参比染料 CXR 0.2 μL，Nuclease-Free Water 7.0 μL，将上述反应液混匀后置于 Real - Time PCR 仪中进行扩增。PCR 反应条件如下：95℃预变性 2.0 min，然后 95℃ 15 s，60℃ 1 min，共 40 个循环。每个样本设 3 个重复，每板反应同时设有 3 个阴性对照。

表 1　荧光定量 PCR 中各基因的扩增引物

Talbe 1　Oligonucleotide primers used in Real - Time PCR analysis of all genes mentioned in this study

基因名称 Gene	正反向引物 Primers	Tm 值（℃）	片段大小（bp） Fragement size
β-actin	F：5′ - TGCCAACACTGTCCTTTCTG - 3′ R：5′ - AGAATTGACCCACCAATCCA - 3′	60	135
mrjp7	F：5′ - TGCTCCCACATATCGTCATTA - 3′ R：5′ - ACAAGTCGCTCACACCTCCAA - 3′	60	153

1.2.5　数据分析

本研究选取 *β-actin* 作为内参基因，经检测分析发现 *mrjp7* 和 *β-actin* 的扩增效率基本一致，故采用的定量方法为比较 C_T 法。数据的处理，扩增曲线、标准曲线的绘制，以及目的基因的表达柱形图的绘制利用 ABI StepOne™ Software Version2.2 和 Excel 完成。各数据的差异比较采用 PASW Statistics 18 进行单因素方差分析（ANOVA），显著性差异进行 Duncan 氏法进行检验（$P < 0.05$）。

2　结果与分析

2.1　基因扩增效率和特异性

为验证内参基因和目的基因扩增引物的特异性，通过对内参和目标基因进行定量和溶解曲线分析，结果表明内参基因和目的基因的扩增曲线均呈现出了较明显的指数增长期（图 1A），同时溶解曲线也呈现出了特异性单峰且熔解温度均一（图 1B）。表明了内参基因和目的基因的扩增引物均具有较强的特异性，适合定量研究。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

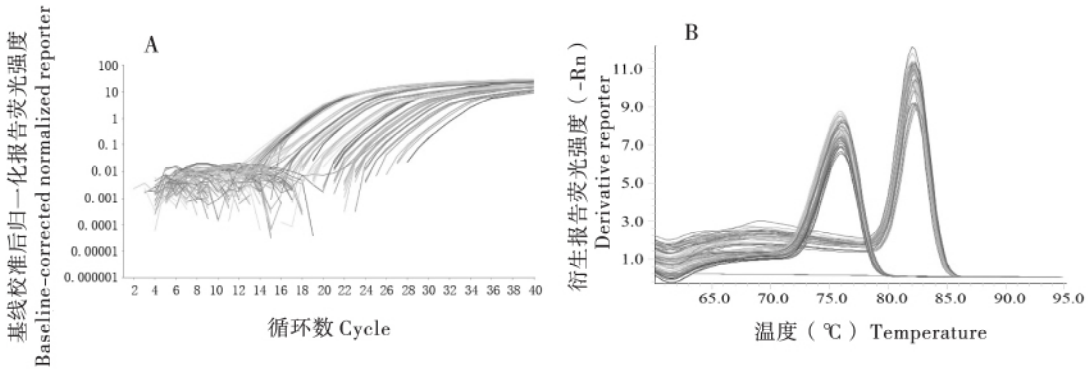

图 1　利用 *β-actin* 和 *mrjp7* 的特异性引物进行定量 PCR 得到的扩增曲线和溶解曲线

Fig. 1　Amplification curves and melt curves of *β-actin*, and *mrjp7* for real-time PCR

A, *β-actin* 和 *mrjp7* 的扩增曲线; B, *β-actin* 和 *mrjp7* 的熔解曲线。A, Amplification curves of *β-actin* and *mrjp7*; B, Melt curves of *β-actin* and *mrjp7*.

通过对不同浓度的 *mrjp7* 和 *β-actin* 模板进行荧光 PCR 试验，绘制不同浓度的内参和目标基因与 PCR 扩增到达阈值循环数之间的标准曲线。结果发现两基因的标准曲线几乎完全重合，目的基因 *mrjp7* 和内参基因 *β-actin* 标准曲线的斜率分别为 −3.376 和 −3.368，线性相关系数均为 0.999，扩增效率分别为 97.8% 和 98.1%（图 2）。在该体系下 *mrjp7* 和 *β − actin* 的扩增效率基本一致，符合比较 C_T 法的应用条件，因此后续的定量研究均采用比较 C_T 法进行。

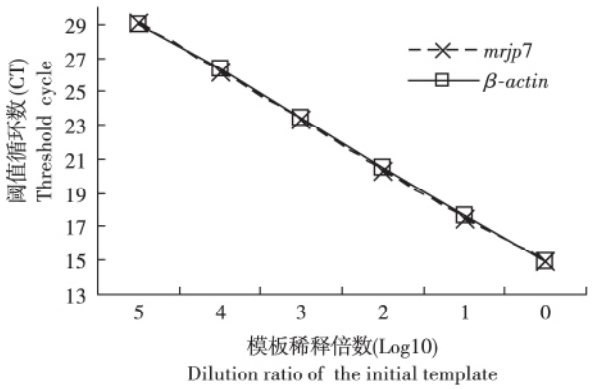

图 2　*β-actin* 和 *mrjp7* 的定量扩增的标准曲线

Fig. 2　The standard curve of real time PCR amplification of *β − actin* and *mrjp7*

2.2　蜜蜂体内 *mrjp7* 的表达

为探究 *mrjp7* 在蜜蜂体内的表达模式，以 *β-actin* 为内参，对各样本的表达量进行校正。研究发现 *mrjp7* 在 15 日龄工蜂中肠中表达量最低，故选取该组织作为对照样本，其它组织中目的基因的表达量以相对于该组织表达量的倍数取对数的结果形式表示，*mrjp7* 在各样本中的具体表达如下。

2.2.1　工蜂不同发育时期的表达

通过对不同发育时期工蜂体内 *mrjp7* 基因的定量分析，发现 *mrjp7* 在蜜蜂的幼虫期和蛹期表达量相对较低，约为对照的 10 倍（图 3），在羽化出房后其表达量显著性升高至 10^3 − 10^4 倍，当蜜蜂发育至 9 日龄时其表达量达到峰值，此时约为对照的 10^5 倍。随着日龄的进一步增加，其表达水平开始呈现下降的趋势，至发育至 30 日龄时该基因的表达量已降至了接近出房前的水平。因此，*mrjp7* 在工蜂体内的表达与蜜蜂的发育时期密切相关。

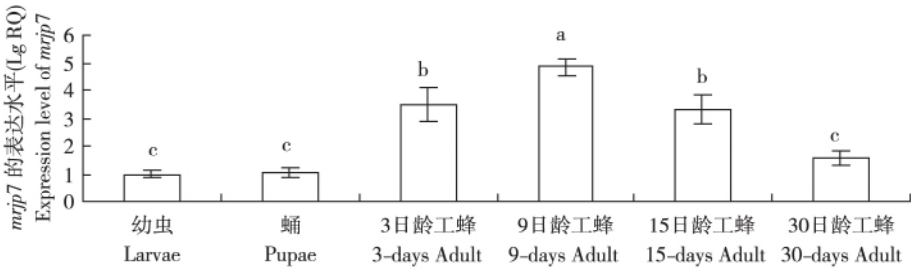

图 3　不同发育时期工蜂体内 *mrjp* 7 的表达

Fig. 3　The expression level of *mrjp7* in different development stage of worker

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.2.2　工蜂不同组织内的表达

在前面获知的 *mrjp*7 在 9 日龄工蜂体内表达量最高的基础上，为进一步探究该基因在蜜蜂体内表达的组织特异性，取 9 日龄的工蜂，将其分成头、胸、腹、王浆腺、中肠、毒腺和触角等组织，分别检测 *mrjp*7 在这些组织内的表达水平。结果发现，*mrjp*7 在王浆腺中的表达量最高，约为对照的 10^6倍，在去除王浆腺的头部表达量次之，约为对照的 10^5倍，在毒腺和触角内的表达量为对照的 10^3倍，在其它胸、腹和中肠内的表达量为对照的 10^2倍之内。由此可见，*mrjp*7 在工蜂的王浆腺和头部组织内表达量远远高于其它各组织部位，其表达具有典型的组织特异性。

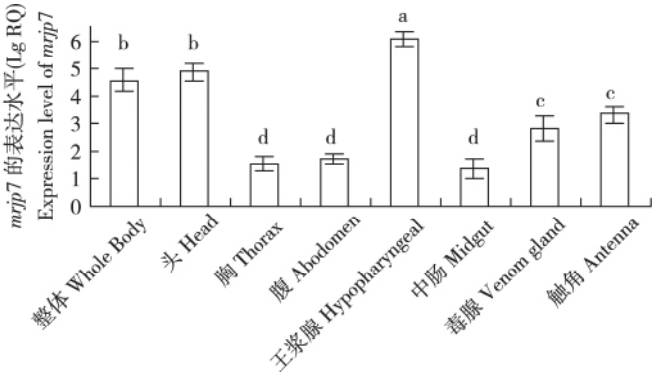

图 4　成年工蜂不同组织部位 *mrjp*7 的表达

Fig. 4　The expression level of *mrjp*7 in different tissues of adult worker

2.2.3　蜂王体内的表达

通过对成年蜂王及其各不同组织内 *mrjp*7 的表达水平进行检测，发现该基因在蜂王体内的表达水平整体较低，仅为对照的 10^2倍，且其在蜂王各不同组织内的表达水平也比较一致（图 5）。因此，*mrjp*7 在蜂王的体内表达量较低，且没有组织特异性。

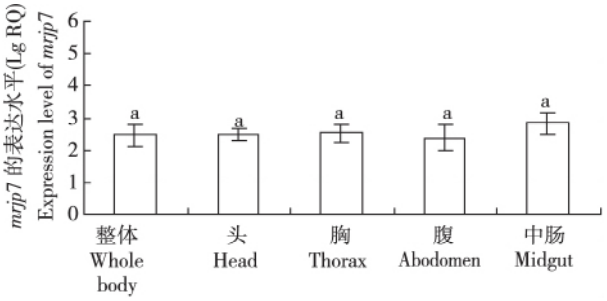

图 5　蜂王不同组织 *mrjp*7 的表达

Fig. 5　The expression level of *mrjp*7 in different tissues of queen

2.2.4　雄蜂体内的表达

通过对成年雄蜂体内 *mrjp*7 基因的表达水平进行定量，发现该基因在雄蜂体内的整体表达水平更低，仅为对照的 5 倍。对雄蜂不同组织部位的表达量进一步的比较，发现该基因在各组织部位之间的表达总体都很低，在胸和腹部的表达量约为对照的 50 倍，其他部位的表达量也只是在对照的 10 倍以内（图 6）。由此可知，该基因在雄蜂体内表达很低，差异性不大。

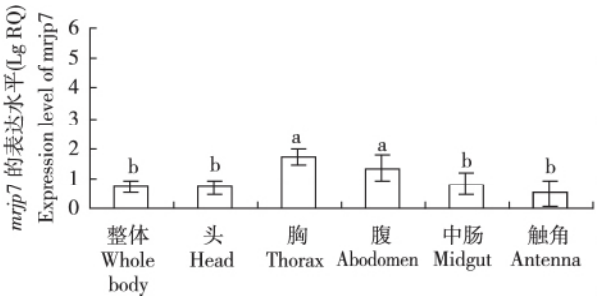

图 6　雄蜂不同组织 *mrjp*7 的表达

Fig. 6　The expression level of *mrjp*7 in different tissues of drone

2.2.5　三型蜂之间的差异

通过分析 *mrjp*7 在成年工蜂、蜂王和雄蜂体内的总体表达水平，发现该基因在在工蜂体内的表达量最高，可达对照的 10^3以上，蜂王体内次之，达对照的 10^2以上，而雄蜂体内的表达则与对照相差不大，在 10 倍以内（图 7）。*mrjp*7 在成年工蜂、蜂王和雄蜂体内的表达差别明显。

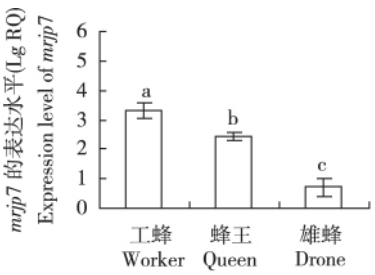

图 7　三型蜂中 *mrjp*7 基因的表达

Fig. 7　The expression level of *mrjp*7 in worker, queen and drone

3　讨论与讨论

基因的功能与其时空表达特性密切相关，为探究王浆中含量很少的 *mrjps* 成员 *mrjp*7 的生物学

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

功能，对其在蜜蜂体内的时空表达特性进行了检测。结果发现，*mrjp*7 在工蜂体内的表达具有典型的时间和组织特异性，其在处于哺育状态的 9 日龄工蜂的王浆腺内表达水平最高。该结果在转录水平上证实了 *mrjp*7 在工蜂体内扮演了与其他含量较高王浆蛋白类似的提供营养物质的功能。作为 *mrjps* 家族中的一员，*mrjp*7 在核酸和蛋白质序列上都与该家族中其它成员具有较高的同源性，且与王浆中含量较多的 MRJP4 系统进化关系最近（Albert and Klaudiny，2004），虽然一般的 SDS-PAGE 技术因其他 MRJPs 的大量存在而难以检测到 MRJP7（Schmitzova *et al.*，1998），但多项研究利用其他技术在蜜蜂的王浆腺及其分泌物（王浆）中均检测到了 MRJP7 的存在（Santos *et al.*，2005；Qu *et al.*，2008；Fang *et al.*，2010）。据此可以推测该基因在蜜蜂体内的功能类似于王浆蛋白家族中其它在蜂王浆中含量较高的成员，起着提供营养的作用（Kubo *et al.*，1996；Albertov *et al.*，2005）。

通过对不同级型之间的样本进行比较，发现 *mrjp*7 的表达具有级型特异性，即在工蜂中的表达量最高，蜂王次之，雄蜂体内最低（图 7）。蜂群内雄蜂仅承担着与处女王交配的任务，其生殖细胞在羽化成年后的发育基本完成，*mrjp*7 等与营养相关的基因的合成与表达没有生物学意义。所以雄蜂体内的表达水平最低是可以理解的；*mrjp*7 在同为雌性蜜蜂的蜂王和工蜂之间表达差异明显，这是与工蜂和蜂王的生物学功能相适应的。蜂王作为蜂群唯一的产卵蜜蜂，每天产卵量可达 1500 粒以上且能存活数年，如此高的产卵数量和长寿命是以大量消耗蜂王浆为基础的，包括 *mrjp*7 在内的各王浆蛋白基因在蜂王体内的低表达有利于蜂王体内的物质和能量储存，利于蜂王的产卵活动和维持长寿命。而哺育工蜂体内 *mrjp*7 的高表达，与其分泌饲喂其他蜜蜂幼虫和蜂王的蜂王浆的活动密切相关，与其在蜂群内的分工和担负的角色相适应。类似的差异也在正常工蜂和产卵工蜂之间被发现，Thompson 等（2006）通过比较产卵工蜂和正常工蜂之间的基因表达谱，筛选出了三个具有显著性差异表达的基因，*mrjp*7 就是其中的一个，其在产卵工蜂体内的表达水平显著低于正常的工蜂。这与本研究发现的 *mrjp*7 在蜂王中的表达水平显著低于工蜂的结论相似。因此，除了营养功能之外，*mrjp*7 还与蜜蜂的生殖状态的调控有关。

头部是蜜蜂中枢神经系统所在部位，除王浆腺之外的主要组织就是脑组织。本研究还发现 *mrjp*7 除了在工蜂王浆腺内高表达之外，其在去除王浆腺的工蜂头部的表达水平也比较高（图 4）。这与他人发现的 *mrjp*7 在蜜蜂头部的蕈形体中是表达水平较高的一个基因的结果一致（Hojo *et al.*，2010）。*mrjp*7 在脑部组织的高表达暗示其与神经系统的结构或功能有关。除 *mrjp*7 之外，*mrjp*s 家族中 *mrjp*1、*mrjp*2、*mrjp*6 和 *mrjp*8 也在蜜蜂脑部 EST 文库或者蛋白质组内筛选出来（Albert and Klaudiny，2004；Garcia *et al.*，2009）。由此可见，多种 *mrjp*s 在蜜蜂的脑部组织内都有表达。显然，探究包括 *mrjp*7 在内的相关 *mrjp*s 在脑及其他神经系统内的功能是未来 *mrjp*s 家族基因功能深入研究的一个方向。

参考文献（References）

Albert S，Bhattacharya D，Klaudiny J，*et al.* The family of major royal jelly proteins and its evolution [J]. *J. Mol. Evol.*，1999，49：290－297.

Albert S，Klaudiny J. MRJP9，an ancient protein of the honeybee MRJP family with non-nutritional function [J]. *J. Apicul. Res.*，2007，46（2）：99－104.

Albert S，Klaudiny J. The MRJP/YELLOW protein family of *Apis mellifera*：Identification of new members in the EST library [J]. *J. Insect Physiol.*，2004，50（1）：51－59.

Albertov V，Su SK，Brockmann A，*et al.* Organization and potential function of the mrjp3 locus in four honeybee species [J]. *J. Agr. Food Chem.*，2005，53（20）：8075－8081.

Blank S，Bantleon FI，McIntyre M，*et al.* The major royal jelly proteins 8 and 9（Apim 11）are glycosylated components of *Apis mellifera* venom with allergenic potential beyond carbohydrate－based reactivity [J]. *Clin. Exp. Allergy*，2012，42（6）：976－985.

Chen C，Chen SY. Changes in protein components and storage stability of royal jelly under various conditions [J]. *Food Chem.*，1995，54（1）：195－200.

Drapeau MD，Albert S，Kucharski R，*et al.* Evolution of the yellow/major royal jelly protein family and the emergence of social behavior in honey bees [J]. *Genome Res.*，2006，16（11）：1385－1394.

Evans JD，Wheeler DE. Differential gene expression between developing queens and workers in the honey bee，*Apis mellifera* [J]. *PNAS*，1999，96（10）：5575－5580.

Evans JD，Wheeler DE. Expression profiles during honeybee caste determination [J]. *Genome Biol.*，2001，2（1），RESEARCH0001.

Fang Y，Feng M，Li JK. Royal jelly proteome comparison between *A. mellifera ligustica* and *A. cerana cerana* [J]. *J. Proteome Res.*，2010，9：2207－2215.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Garcia L, Saraiva GCH, Calábria LK, *et al.* Proteomic analysis of honey bee brain upon ontogenetic and behavioral development [J]. *J. Proteome Res.*, 2009, 8 (3): 1464 – 1473.

Hojo M, Kagami T, Sasaki T, *et al.* Reduced expression of major royal jelly protein 1 gene in the mushroom bodies of worker honeybees with reduced learning ability [J]. *Apidologie*, 2010, 41: 194 – 202.

Howe SR, Dimick PS, Benton AW. Composition of freshly harvested and commercial royal jelly [J]. *J. Apicul. Res.*, 1985, 24 (1): 52 – 61.

Kamakura M, Suenobu N, Fukushima M. Fifty – seven – kDa protein in royal jelly enhances proliferation of primary cultured rat hepatocytes and increases albumin production in the absence of serum [J]. *Biochem. Biophy. Res. Co.*, 2001, 282 (4): 865 – 874.

Kamkura M, Nobu M, Toshiyuki F, *et al.* Antifafigue effect of fresh royal jelly in mice [J]. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 2001, 47 (6): 394 – 401.

Klaudiny J, Hanes J, Kulifajova J, *et al.* Molecular cloning of two cDNAs from the head of the nurse honey bee (*Apis mellifera* L.) coding for related proteins of royal jelly [J]. *J. Apicul. Res.*, 1994, 33: 105 – 111.

Knecht D, Kaatz H. Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honey bees [J]. *Apidologie*, 1990, 21 (5): 457 – 468.

Kubo T, Sasaki M, Nakamura J, *et al.* Change in the expression of hypopharyngeal – gland proteins of the worker honeybees (*Apis mellifera* L.) with age and/or role [J]. *J. Biochem* (Tokyo)., 1996, 119: 291 – 295.

Li JH, Liang QH, Chen DF, *et al.* Differences in the expression of the major royal jelly protein 8 gene in different castes of *Apis mellifera* [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2014, 57 (1): 1 – 7. [李江红，梁庆环，陈大福，等. 西方蜜蜂不同级型王浆主蛋白 MRJP8 基因的表达差异 [J]. 昆虫学报，2014，57 (1)：1 – 7]

Li JH, Liu Z, Chen DF, *et al.* Transcription analysis of *mrjp*9 in the honeybee *Apis mellifera ligustica* [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2012, 49 (5): 1147 – 1154. [李江红，刘振，陈大福，等. 蜜蜂体内王浆主蛋白基因 *mrjp*9 的转录表达研究 [J]. 应用昆虫学报，2012，49 (5)：1147 – 1154]

Li JH, Liu Z, Ouyang H, *et al.* Construction and analysis of a cDNA library from queen honeybee spermatheca gland [J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University* (Natural Science Edition), 2011, 44 (4): 384 – 391. [李江红，刘振，欧阳昊，等. 蜂王受精囊腺 cDNA 文库的构建与分析 [J]. 福建农林大学学报（自然科学版），2011，44 (4)：384 – 391]

Liang QH, Li JH, Liang Q, *et al.* Structure and function of the major royal jelly protein family of honeybee (*Apis mellifera* L.) [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2013, 35 (4): 494 – 501. [梁庆环，李江红，梁勤，等. 蜜蜂王浆主蛋白（MRJPs）基因家族结构与功能概述 [J]. 环境昆虫学报，2013，35 (4)：494 – 501]

Matsui T, Yukiyoshi A, Doi S, *et al.* Gastrointestinal enzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive ability in SHR [J]. *J. Nutr. Biochem.*, 2002, 13 (2): 80 – 86.

Moritz RF, Lattorff HM, Neumann P, *et al.* Rare royal families in honeybees, *Apis mellifera* [J]. *Naturwissenschaften*, 2005, 92 (10): 488 – 491.

Peiren N, de Graaf DC, Vanrobaeys F, *et al.* Proteomic analysis of the honey bee worker venom gland focusing on the mechanisms of protection against tissue damage [J]. *Toxicon*, 2008, 52 (1): 72 – 83.

Qu N, Jiang J, Sun L, *et al.* Proteomic characterization of royal jelly proteins in Chinese (*Apis cerana cerana*) and European (*Apis mellifera*) honeybees [J]. *Biochemistry* (Mosc), 2008, 73: 676 – 680.

Santos KS, Santos LD, Mendes MA, *et al.* Profiling the proteome complement of the secretion from hypopharyngeal gland of Africanized nurse – honeybees (*Apis mellifera* L.) [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2005, 35: 85 – 91.

Schmitzova J, Klaudiny J, Alberta S, *et al.* A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. [J]. *Cell Mol. Life Sci.*, 1998, 54 (9): 1020 – 1030.

Takenaka T, Echigo T. Proteins and peptides in royal jelly [J]. *Nippon Nogeik Kaishi*, 1983, 57: 1203 – 1209.

Takenaka T. Chemical composition of royal jelly [J]. *Honeybee Sci.*, 1982, 3 (1): 69 – 74.

Tao T, Su SK, Chen SL, *et al.* Biological functions of the royal jelly proteins [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2008, 45 (1): 33 – 37. [陶挺，苏松坤，陈盛禄，等. 蜂王浆蛋白生物学功能的研究 [J]. 昆虫知识，2008，45 (1)：33 – 37]

Thompson GJ, Kucharski R, Maleszka R, *et al.* Towards a molecular definition of worker sterility: Differential gene expression and reproductive plasticity in honey bees [J]. *Insect Mol. Biol.*, 2006, 15 (5): 637 – 644.

Tokunaga K, Yoshida C, Suzuki K, *et al.* Antihypertensive effect of peptides from royal jelly in spontaneously hypertensive rats [J]. *Biol. Pharm. Bull.*, 2004, 27 (2): 189 – 192.

Townsend GF, Lucas CC. Thechemical nature of royal jelly [J]. *Biochem. J.*, 1940, 34 (8 – 9): 1155 – 1162.

Zhao YZ, Tian WL, Hu YF, *et al.* Research advances in major royal jelly proteins of honeybee [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2012, 49 (5): 1345 – 1353. [赵亚周，田文礼，胡熠凡，等. 蜜蜂蜂王浆主蛋白（MRJPs）的研究进展 [J]. 应用昆虫学报，2012，49 (5)：1345 – 1353]

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net