

生物科学参考资料

第二十一集

科学出版社

3

1

内 容 简 介

本集是以昆虫与动物体内激素调控为内容的专集，共收入了 12 篇文章。其中 11 篇较系统地介绍了昆虫环核苷酸研究、昆虫性外激素、昆虫蜕壳激素等和动物体内抗雌激素研究、生殖的神经内分泌调控、前列腺素对雌性生殖的某些调节等方面的最新研究成果。最后一篇译文介绍了国外“前-鸦片样皮质素衍生的神经肽”的研究现状。

本专集可供从事生物、医药、农林工作的科研人员及有关大专院校的师生参考。

生物科学参考资料

第二十一集

责任编辑 关 国 张国金

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1986 年 11 月第 一 版 开本：787×1092 1/16

1986 年 11 月第一次印刷 印张：9 5/8

印数：0001—2,050 字数：222,000

统一书号：13031·3351

本社书号：4944·13—7

定价：2.30 元

目 录

昆虫环核苷酸研究概说	罗 马(1)
昆虫免疫的研究进展	黄自然(15)
昆虫卵子发生的内分泌控制	朱湘雄(32)
昆虫卵壳的结构和卵壳形成的激素调节	夏邦颖(42)
昆虫性外激素及其作用	伍德明 崔君荣(53)
昆虫蜕壳激素	王宗舜(62)
植源性的抗昆虫保幼激素化合物——早熟素	傅贻玲(69)
激素调控的子宫蛋白及其生理功能的探讨	曹咏清(82)
抗雌激素作用原理研究新进展	邹继超(92)
生殖的神经内分泌调控	张崇理(102)
前列腺素 (PGs) 对雌性生殖的某些调节	柳建昌(118)
前-鸦片样皮质素 (Pro-Opiocortin) 衍生的神经肽: 行为、生理和神经化学效应...	
.....	David de Wied Jellemer Jolles(133)

昆虫环核苷酸研究概说*

罗 马

(中国科学院动物研究所)

昆虫环核苷酸的研究主要涉及神经传导、激素作用机制、发育和变态、基因表达以及杀虫剂作用等方面。很多研究表明,昆虫神经系统中的环核苷酸体系在传递各种环境信息中发挥了重要作用。由于环核苷酸作为肽激素的第二信使,而且与蜕皮激素和保幼激素之间存在着微妙关系,因此它在昆虫激素的调节作用中十分重要。此外,环核苷酸水平及其酶系活力的变化与昆虫的发育、变态密切相关,而且影响到昆虫的基因表达和行为。对昆虫环核苷酸参与各方面代谢调节、生理生化反应机制这一研究进行综述,将有助于深入了解昆虫的生长发育、繁殖、变态、滞育、行为等方面的生理生化基础,并促进昆虫生态和生理生化工作的发展。

自 Sutherland 1957 年发现 cAMP 以来,大量研究表明,在动物细胞中存在一个由腺苷(鸟苷)环化酶、蛋白激酶、磷酸二酯酶和磷酸蛋白磷酸酶所组成的环核苷酸体系。在激素或神经递质的作用下,这个体系迅速合成和分解 cAMP(cGMP),催化底物蛋白质的磷酸化和去磷酸化,从而扩大和行使激素和神经递质的生理作用(图 1)。同时,很多研究发现,环核苷酸与动物的遗传、药理、行为等有密切联系。目前,为深入了解生命现象,正进一步研究其作用的分子机制。

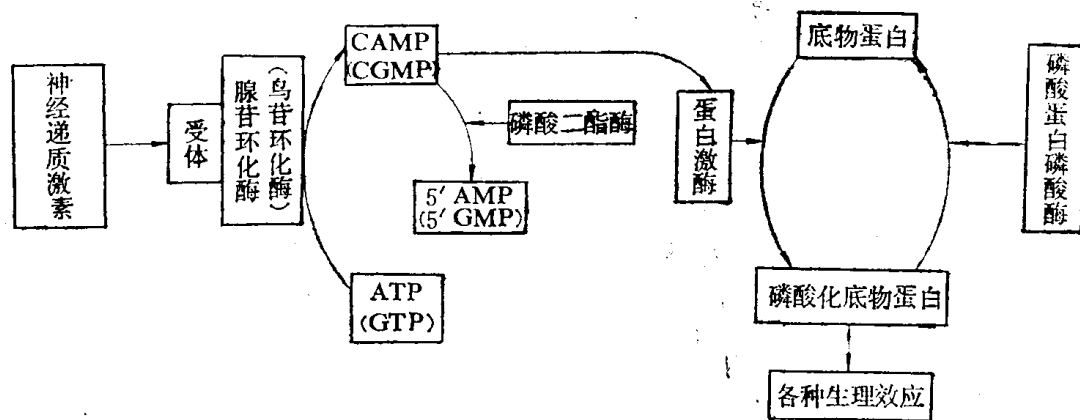


图 1 环核苷酸体系作用方式简图

迄今,对昆虫环核苷酸的研究涉及 20 多个昆虫种类,如:飞蝗 *Locusta migratoria*、烟草天蛾 *Manduca sexta*、黑尾果蝇 *Drosophila melanogaster*、家蚕 *Bombyx mori*、地中海实蝇 *Ceratitis capitata*、柞蚕 *Antheraea pernyi*、红头丽蝇 *Calliphora erythrocephala* 等。研

* 本文承马世骏先生指导,郭邦先生、许廷森先生审阅和修改文稿,钦俊德先生提出宝贵意见,龚佩瑜同志帮助画图。

文中缩写: cAMP: 环-磷酸腺苷; JH: 保幼激素; cGMP: 环-磷酸鸟苷; 5-HT: 5-羟色胺; MH: 蜕皮激素。

究涉及神经传导、基因表达、杀虫剂作用机制以及各种生态、生理条件的影响因素。由于研究涉及面很广,深入研究有助于解决很多昆虫生理生化、生化生态问题,因此有必要对昆虫环核苷酸的研究作一综述。到目前为止,对昆虫环核苷酸的研究主要集中在以下几个方面。

一、环核苷酸与神经系统

神经系统是动物联系外界环境、协调体内复杂代谢、决定行为的重要中枢。大量研究表明, cAMP 和 cGMP 作为神经递质的第二信使,在神经传导中发挥了重要作用。对昆虫神经系统中环核苷酸作用的研究,在以下几个方面展开。

1. 昆虫神经系统中的环核苷酸体系及神经递质对它的作用

为确定一个体系中, cAMP 是否作为神经递质的第二信使, Sutherland 提出过四条标准,并已得到了广泛承认。第一,在破碎的细胞中,神经递质应刺激腺苷环化酶。第二,生理浓度的神经递质应增加细胞中的 cAMP 水平。第三, cAMP 应加强神经递质的作用。第四, cAMP 应能模拟神经递质的作用。根据以上标准,确定在昆虫中环核苷酸是否作为神经递质的第二信使,在神经传导中发挥作用,首先要证实在神经系统中是否存在环核苷酸体系,这个体系是否对神经递质反应敏感。近十年的大量研究证实了这个问题。相继在美洲大蠊 *Periplaneta americana* 的胸神经节中 (Nathanson 等, 1973; 1974), 在烟草天蛾的神经系统中 (Taylor 等, 1978; 1979), 在披肩粘虫 *Mamestra configurata* 成虫的脑中 (Bodnaryk, 1979) 发现了对 5-HT、多巴胺和章鱼胺等神经递质敏感的腺苷环化酶。在很多昆虫的神经系统中也接连证实存在环核苷酸体系。如: 烟草天蛾 (Albin, 1975; Albin 等, 1975)、伏蝇 *Phormia regina* (Vandberg, 1975)、欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* (Gelman, 1978)、马德拉蜚蠊 *Leucophaea maderae* (Rojakovick 等, 1972; 1974)、柞蚕 (Rasenick, 1978)、棉铃虫 *Heliothis armigera* (罗马等, 1983)。研究结果表明, 昆虫神经系统中的腺苷环化酶对神经递质十分敏感。在神经递质刺激下, cAMP 水平迅速增加。例如: 在 5-HT 刺激下, 烟草天蛾中枢神经系统神经元中的 cAMP 水平增加 33,000 倍, 胶质中的 cAMP 水平也增加了 430 倍 (Taylor, 1976)。同时, 在这一昆虫的神经节中, 5-HT 促进 cAMP 合成, 而乙酰胆碱、门冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、 γ -氨基丁酸却导致 cGMP 水平增加。

环核苷酸体系如何参与神经传导呢? 研究表明, 它与昆虫的神经电活动有密切关系。

2. 环核苷酸与神经电活动

神经系统通过电活动传递内外环境信息, 调节各种代谢和生理反应。环核苷酸与神经电活动之间的关系是通过环核苷酸对神经电活动的影响而发现的。对 *Carausius morosus* 的试验发现, cAMP、双丁酰 cAMP、磷酸二酯酶的抑制剂茶碱、咖啡因都可大大增加该昆虫横走神经的神经体液的瞬时电活动 (Finlayson 等, 1972)。在 cAMP、茶碱和咖啡因作用下, 蜚蠊神经肌肉联结处的自发的微终端电位在 30 分钟内增加了 3 倍 (Wareram, 1977)。试验表明, 环核苷酸不但能影响神经电活动, 而且与昆虫器官机能活动时产生

的电活动有密切关系。例如: cAMP、双丁酰 cAMP、cGMP、茶碱可改变红头丽蝇唾液腺 (Prince, 1972)、虱子中肠 (Elkenbary 等, 1977) 的表皮转移电位, 以及果蝇唾液腺的膜电位。cAMP、双丁酰 cAMP、氨基啡啉可抑制丽蝇化学感受器的糖敏感受体的神经激发, cGMP 可刺激其神经激发 (Daly 等, 1976)。此外, 磷酸二酯酶的抑制剂茶碱和咖啡因可模拟动作电位的作用, 使萤科幼虫的光细胞发光 (Oertel, 1976)。对于环核苷酸为什么能影响神经电活动这一问题, 有人提出, 在神经末端释放神经递质时会产生电活动, 而 cAMP 通过催化糖原水解, 改变前突触膜的极化程度, 影响细胞内 Ca 的水平, 促进神经递质释放, 从而影响电活动。目前研究认为, 环核苷酸主要通过蛋白磷酸化作用来影响神经电活动。

3. 环核苷酸与昆虫中枢神经系统中的蛋白磷酸化作用

蛋白磷酸化作用是在蛋白激酶作用下, 以 ATP 为磷酸供体, 在蛋白底物的特异性丝氨酸和苏氨酸的羟基内, 形成一个磷酸酯键。蛋白质的磷酸化可激活或失活一种酶, 或改变膜蛋白、染色质蛋白、核糖体蛋白的构象, 从而激活或抑制与它们有关的细胞功能。已对烟草天蛾神经系统中的环核苷酸体系进行了较多的研究。这个体系中的蛋白激酶和磷酸蛋白磷酸酶, 通过直接催化底物蛋白的磷酸化和去磷酸化, 而发挥重要的生理作用。在果蝇头部突触粗提物中, 已鉴别有 4 种蛋白质的磷酸化受 cAMP 影响, 在 cAMP 存在下, 其中 3 种被磷酸化, 而一种则降低了磷酸化程度 (Kelly, 1981)。试验表明, cAMP 确实与神经突触中几种蛋白质的磷酸化有密切关系, 这就进一步揭示了环核苷酸体系在神经组织中的重要作用。

4. 环核苷酸与神经递质受体

一般认为, 神经递质通过与突触后细胞膜上的特异受体结合, 激活与受体相结合的腺苷(鸟苷)环化酶, 导致 cAMP(cGMP) 合成, 从而发挥其生理作用。这就是环核苷酸参与神经传导的“受体-第二信使”模型。对昆虫神经系统中神经递质受体的研究主要在这几个方面。如对蜚蠊的研究发现, 其胸神经节中存在分别对 5-HT、多巴胺和章鱼胺敏感的腺苷环化酶, 而且这三种生物胺对此酶的作用是加成的。因此, 这三种生物胺可能是通过不同的受体而激活腺苷环化酶的。进而用麦角酰二乙胺封闭 5-HT 的受体, 从而抑制了 5-HT 对蜚蠊胸神经节中腺苷环化酶的激活 (Nathanson 等, 1973; 1974)。因此说明 5-HT 的受体是与对 5-HT 敏感的腺苷环化酶相联系的。又如, 在烟草天蛾神经节中, 5-HT 可提高 cAMP 水平, 而乙酰胆碱、门冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、 γ -氨基丁酸却使 cGMP 水平增加, 这些神经递质可能分别与不同的受体结合, 激活腺苷(鸟苷)环化酶而发挥其作用。

综上所述, 大量研究表明, 昆虫环核苷酸参与神经系统作用与脊椎动物基本一致。其作用如图所示(图 2)。即: 当外界刺激引起的神经冲动到达突触终端时, 导致神经递质释放。神经递质与突触后细胞膜上的特异受体结合后, 激活了腺苷环化酶, 催化 ATP 合成 cAMP, 使细胞中 cAMP 浓度升高。cAMP 与细胞膜上的蛋白激酶的抑制亚基结合, 激活了蛋白激酶。蛋白激酶的催化亚基催化底物蛋白的磷酸化, 导致其形态或位置发生变化, 打开了膜上的离子通道, 使膜对特殊离子的通透性发生变化, 从而改变了其电兴奋

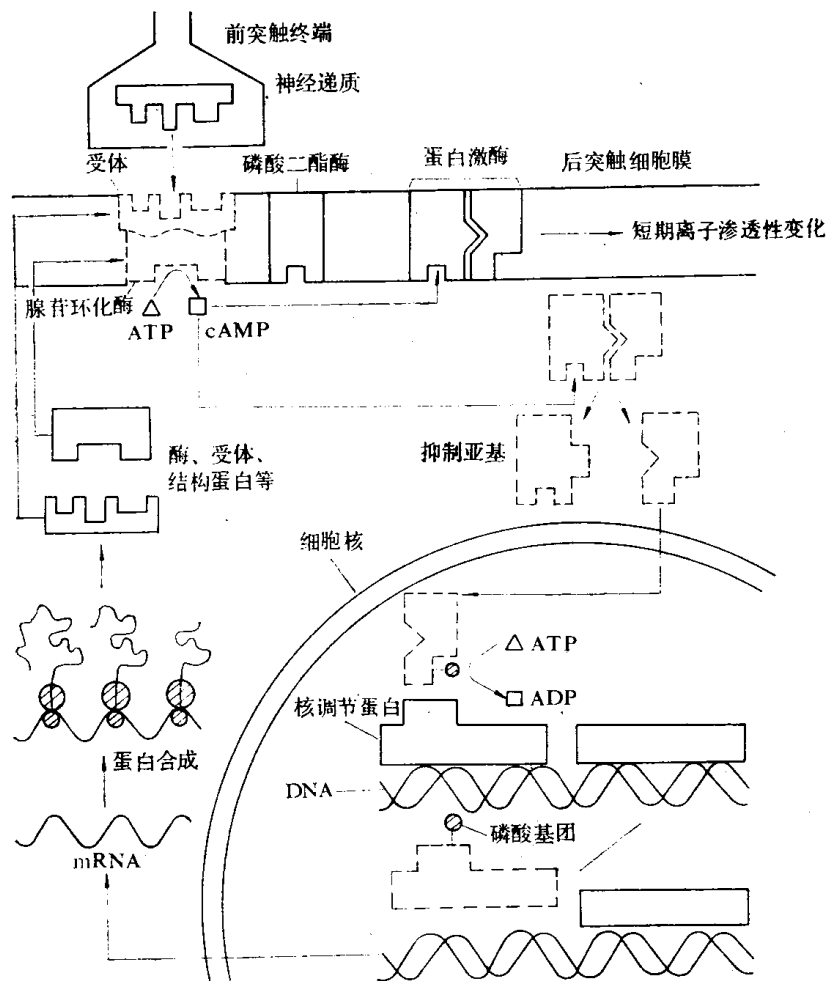


图2 cAMP 参与神经传递作用的方式及其对神经细胞功能的影响
(据 Nathanson 和 Greengard, 1977)。

性。这种变化可能成为短期记忆的基础。cAMP 可能与细胞质中的可溶性蛋白激酶结合,被激活的蛋白激酶进入细胞核,磷酸化组蛋白或其它核调节蛋白,打开关闭的基因,导致新的特殊蛋白质合成,从而可能构成神经系统中长期变化的基础,如学习、记忆等。

对昆虫神经系统中环核苷酸作用的研究揭示了环核苷酸在昆虫神经系统中的重要作用,指出了进一步了解昆虫适应环境、调节各种代谢的生化机制等生化生态、遗传等问题的研究方向。

二、环核苷酸与激素作用机理

对于环核苷酸介导昆虫激素作用的研究主要分为两个方面。一方面是昆虫多肽激素与环核苷酸之间的关系,另一方面是昆虫的两种主要激素,即蜕皮激素和保幼激素与环核苷酸之间的关系。

1. 环核苷酸与多肽激素

迄今,对环核苷酸作为昆虫肽激素的第二信使已进行了不少研究。

(1) 激脂激素 (AKH) Gade 等 (1979) 以飞蝗为材料对 AKH 的作用方式进行详细研究。他们先后用飞蝗心侧体的提取物 (含 AKH)、合成的 AKH 及其类似物进行了试验。发现脂肪体的 cAMP 水平在注射心侧体提取物或合成的 AKH 后迅速上升, 5—6 分钟后达到高峰, 10 分钟后下降到原来的水平。而且只有在蝗蛹羽化三天之后, AKH 所导致的 cAMP 水平升高才可导致脂肪动用。这说明激素的调节作用是在生物钟控制之下, 与整体相协调的。

(2) 促前胸腺激素 (PTTH) 促前胸腺激素是昆虫脑神经分泌细胞分泌的肽激素, 其作用于前胸腺, 使前胸腺分泌蜕皮激素。研究发现, 在 cAMP 和氨基菲琳存在的条件下培养烟草天蛾的前胸腺, 使 α -MH 的分泌量增加二倍, 而且在此之前有 cAMP 水平升高的现象 (Vedeckis 等, 1976)。因此, cAMP 可能作为 PTTH 的第二信使。

(3) 鞣化激素 (bursicon) 和黑化激素 (MRCH) 在两次蜕皮之间注射鞣化激素, 导致了美洲蜚蠊血细胞中 cAMP 增多 (Compton 等, 1982)。注射双丁酰 cAMP, 加强了其结扎胸节的暗化及 ^{14}C -酪氨酸进入表皮 (Vanderberg 等, 1974), 模拟了鞣化激素的作用。研究证实, 在这一昆虫血细胞中存在腺苷环化酶, 依赖 cAMP 的蛋白激酶, 而 bursicon 似乎通过血细胞膜上的受体激活腺苷环化酶, 产生 cAMP, 继之激活蛋白激酶, 磷酸化一定的膜蛋白而加强氨基酸的摄取。此外, bursicon 还诱导了大黄粉虫 *Tenebrio molitor* 表皮的 cAMP 水平, 其血淋巴中的 bursicon 水平与表皮的 cAMP 水平呈正相关 (Delachambre 等, 1979)。

对粘虫 *Leucania separata* (Matsumoto 等, 1979) 的五龄幼虫的离体腹部注射 cAMP、双丁酰 cAMP、cGMP、双丁酰 cGMP, 都导致了体色黑化。同时注射茶碱加强了 MRCH 的作用。有人认为, 主要是 cAMP 介导 MRCH 的作用, 而 cGMP 则可能是通过对 cAMP 体系的影响起作用的。

(4) 高血糖因子 (hyperglycemic factor) Hanaok 等 (1977) 和 Gade (1977) 都对美洲大蠊脂肪体中的 cAMP 和高血糖因子 (心侧体提取物) 之间的关系进行了研究。发现注射心侧体提取物后, 脂肪体的腺苷环化酶活力提高了约三倍、cAMP 水平增加了二倍。此后, 血淋巴中海藻糖浓度上升。注射茶碱, 也能使血淋巴海藻糖浓度增加。因此, 昆虫高血糖因子的作用机制与哺乳动物相似。即通过激活腺苷环化酶、蛋白激酶、磷酸化酶激酶、磷酸化酶等一连串生化反应, 提高糖原降解速度而导致血淋巴中海藻糖浓度上升。

(5) 蜕壳激素 (eclosion hormone) 蜕壳激素作用于神经系统, 控制昆虫的蜕壳行为, 使之表现成虫行为。Truman (1980) 对烟草天蛾一系列的试验表明, cGMP 中介这个肽激素的作用。最初, 对烟草天蛾的离体腹部注射磷酸二酯酶的抑制剂, 引起了前蜕壳 (pre-eclosion) 和蜕壳行为。接着又用多种环核苷酸进行试验, 发现 cAMP 和 cGMP 都能诱导蜕壳行为, 但 cGMP 的作用比 cAMP 高 10—100 倍, 而且 cGMP ($5 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$) 还能刺激分离的中枢神经系统表现出适当的运动行为。最后, 用提纯的激素注射入离体的腹部, 然后测定腹部中枢神经系统中的 cGMP 和 cAMP 水平, 证实了蜕壳激素可能通过增加中枢神经系统中的 cGMP 水平而发挥作用的。

(6) 利尿激素 (DH) 在 DH 对长红蜡蚧 *Rhodnius prolixus*、蜚蠊、飞蝗以及几种蝶的利尿作用研究 (Aston, 1975; Bernstein, 1978; Morgan 等, 1981) 中发现, 利尿激素迅速导致马氏管的 cAMP 水平升高, cAMP ($5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$) 可诱导利尿反应。在

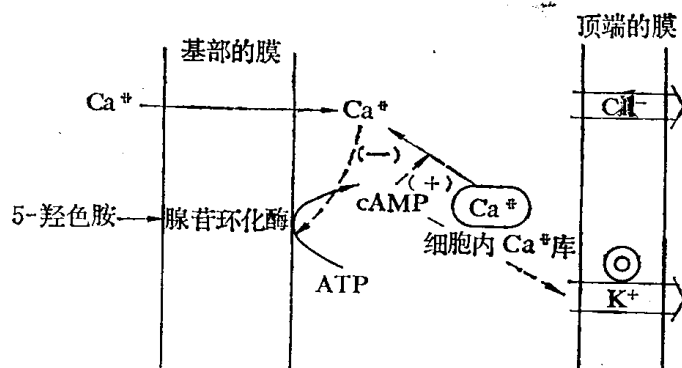


图3 Ca^{++} 和 cAMP 在 5-羟色胺对唾液腺分泌中的作用

注: 5-羟色胺刺激 Ca^{++} 进入质膜和刺激 cAMP 产生。细胞质的 Ca^{++} 来源于两处。一是细胞外介质;另一是内部的 Ca^{++} 库(可能是线粒体)。cAMP 可使 Ca^{++} 自内部 Ca^{++} 库释放。 Ca^{++} 可抑制腺苷环化酶,控制 cAMP 水平。增加的 cAMP 刺激 K^{+} 泵,使 K^{+} 通过顶端膜。 Ca^{++} 控制 Cl^{-} 的运动, K^{+} 和 Cl^{-} 的运动导致分泌。(据 Berridge 和 Prince, 1972)。

(+)——激活; (—)——抑制剂。

DH 或 cAMP 作用下,飞蝗马氏管腔中流入大量的 K^{+} ,而要保持昆虫马氏管的利尿作用,介质中必须有一定的 Na^{+} 。因此表明, cAMP 中介了 DH 的作用,而 Na^{+} 在利尿作用中也是必不可少的。

许多研究者以 5-HT 刺激昆虫唾液腺分泌为模型进行了大量研究,以深入了解激素作用机制。其中 Berridge 和 Prince (1972) 对丽蝇唾液腺的工作更为突出。他们根据大量试验结果,提出了 5-HT 调节唾液腺分泌的模型(图 3)。

虽然目前对昆虫肽激素作用的机制进行了一些研究,但深入了解其作用机制,则有待于激素的提纯,其结构的阐明和人工合成。

2. 环核苷酸与蜕皮素 (MH) 和保幼激素 (JH)

蜕皮素是甾醇类激素,保幼激素是萜烯类激素。目前认为,甾醇类激素可以通过细胞膜与细胞质中的受体结合,然后进入细胞核,直接作用于基因,而不通过第二信使。由于 MH 和 JH 是昆虫的两种主要激素,与发育、变态的关系十分密切,因此对这两种激素与环核苷酸之间的关系进行了不少研究。研究发现环核苷酸的变化与昆虫的发育、变态之间存在着十分微妙的关系。

(1) 环核苷酸对 MH 的增效作用 注射 β -MH 可提高未吸血的埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 雌蚊的多巴脱羧酶活力,若同时注射双丁酰 cAMP 可显著提高这种刺激作用,但光注射双丁酰 cAMP 无效 (Fuchs 等, 1973)。cAMP 和 MH 类似物一起加入昆虫的细胞系 CP-1268 的培养液中,使得尿嘧啶掺入 RNA 的量显著增加 (Gallagher 等, 1976)。对冷冻的天蚕蛾蛹注射 β -MH, 并采用 ^{14}C -腺苷标记法检测 cAMP 的合成,发现 β -MH 刺激了翅表皮中腺苷环化酶的活力 (Applebaum 等, 1972)。又如,同时注射 cGMP 和低剂量的 MH, 可以提高单注射 MH 打破麻蝇 *Sarcophaga crassipalpis* 蛹滞育的作用 (Denlinger 等, 1978)。

(2) 环核苷酸与 MH、JH 之间的相互抑制作用 试验发现 MH (10^{-4} mol/L) 抑制马得拉蜚蠊 *Gromphadorhina portentosa* 神经组织中腺苷环化酶的活力 (Rojakovick 等, 1972)。植物蜕皮素和 α -MH 可解除磷酸二酯酶抑制剂对天蚕蛾 *Hyalophora cecropia* 成虫发育的抑制作用 (McDaniel 等, 1974)。同时注射 cAMP 和低剂量 MH, 可中和低剂量 MH 打破麻蝇滞育的作用。 β -MH 可以增加表皮细胞的电子偶联, 而 cAMP 和 Ca 可以逆转 α -和 β -蜕皮素所诱导的变化 (Caveney, 1978)。此外, 大黄粉虫的整个变态期间, 其整体和表皮的 cAMP 水平与血淋巴中的 MH 水平呈负相关。用 JH 类似物处理五龄的大马利筋长蜡 *Oncopeltus fasciatus*, 可使 cAMP 水平和 cAMP 磷酸二酯酶活力的高峰推迟 (Everson 等, 1976)。

(3) 环核苷酸和 MH 对果蝇多线染色体膨突的作用 在对果蝇 *Drosophila hydei* 唾液腺多线染色体的研究中发现, cAMP 或茶碱使得由蜕皮素引起的膨突 78B 增大了 (Leenders 等, 1970)。而在果蝇中, 双丁酰 cAMP 使其多线染色体专对蜕皮素反应的膨突 2B 缩小了 (Rensing 等, 1972)。

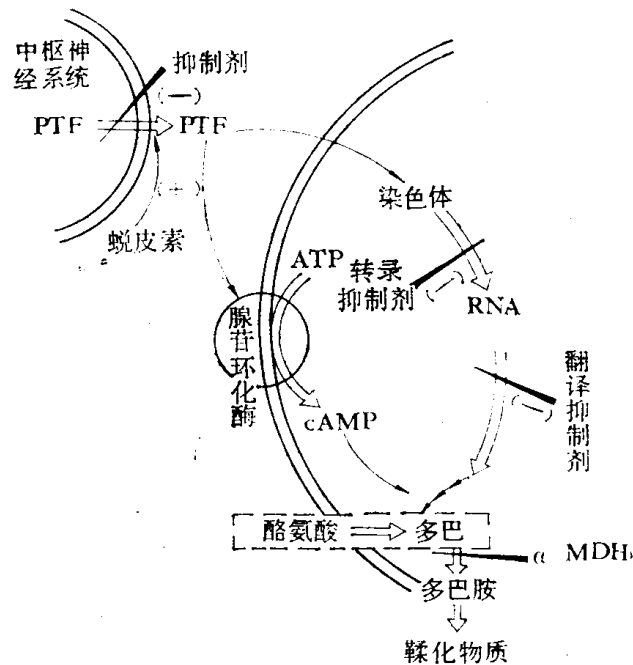


图4 蜕皮素、鞣化因子、cAMP 在调节化蛹鞣化过程中的相互关系

(+)——激活; (—)——抑制剂。

α -MDH—— α -monomethylol-dimethyl hydantoin。

为什么会出现这种 cAMP 与 MH、JH 之间互相增效和互相抑制的现象呢? Seligman 等(1977)用前缩因子 (ARF)、围蛹鞣化因子 (PTF)、蜕皮素、cAMP 和转录、翻译的抑制剂, 研究了麻蝇 *Sarcophaga bullata* 的化蛹和鞣化过程, 发现 cAMP 能逆转转录抑制剂对鞣化的抑制作用。根据试验结果, 提出了蜕皮素、鞣化因子、cAMP 在调节化蛹鞣化过程中相互关系的假说 (图4)。

在对脊椎动物的研究中, 同样发现甾醇类激素和 cAMP 介导的多肽激素或神经递质的作用之间相互增效或拮抗的情况。Greengard 等以蟾蜍膀胱为材料, 探索了这种相互作用在蛋白磷酸化水平上发生的可能性。发现这两类激素都调节依赖 cAMP 的蛋白激酶的

活性,找到了这两类激素之间,在代谢和生理学上相互作用的可能的分子基础。即:这两类激素通过不同的机制调节依赖 cAMP 的蛋白激酶的活力而表现出互相增效或拮抗的作用。同样的机制也可能存在于昆虫中,但目前尚无这方面的研究。

三、环核苷酸与昆虫的发育、变态和滞育

昆虫的生长发育与外界环境条件的关系十分密切。在长期的进化过程中,昆虫通过体内一系列的生理生化变化,分泌激素,调整代谢,适应外界环境,才能生存下来。因此,昆虫的发育变态与外界环境条件的影响和体内激素的调节是分不开的。由于环核苷酸做为神经递质和激素的第二信使,它在昆虫的发育变态中的作用就可想而知了。对昆虫中这方面的研究很多,而且区别于激素作用机制的研究,因此可以作一总结。

1. 环核苷酸与昆虫的滞育

滞育是昆虫适应不良环境而表现的一种发育停滞的生理生态特性。研究表明,滞育主要由光周期和温度诱导,并受激素调节。但目前对于昆虫如何感知外界环境,贮存环境信息,进而导致滞育或解除滞育的分子基础尚不明确。对环核苷酸的研究似乎提供了解决这个问题的可能性。首先,研究发现昆虫脑中的 cAMP 水平变化与光照的变化有关。例如,冷冻的柞蚕蛹从短光照转移到长光照下一天后,蛹脑中的 cAMP 水平增加了一倍。免疫荧光技术测定发现 cAMP 增加的部位是脑神经分泌细胞。而且在 cAMP 增加后,神经分泌细胞的超微结构发生了变化 (Rasenick 等, 1978)。Gelman 等(1978)测定了不同光照条件下的欧洲玉米螟幼虫头部的磷酸二酯酶活力,发现在 L:D 16:8 光照下的三龄幼虫头部的酶活力高于 L:D 10:14 条件下的幼虫。对棉铃虫滞育诱导过程中环核苷

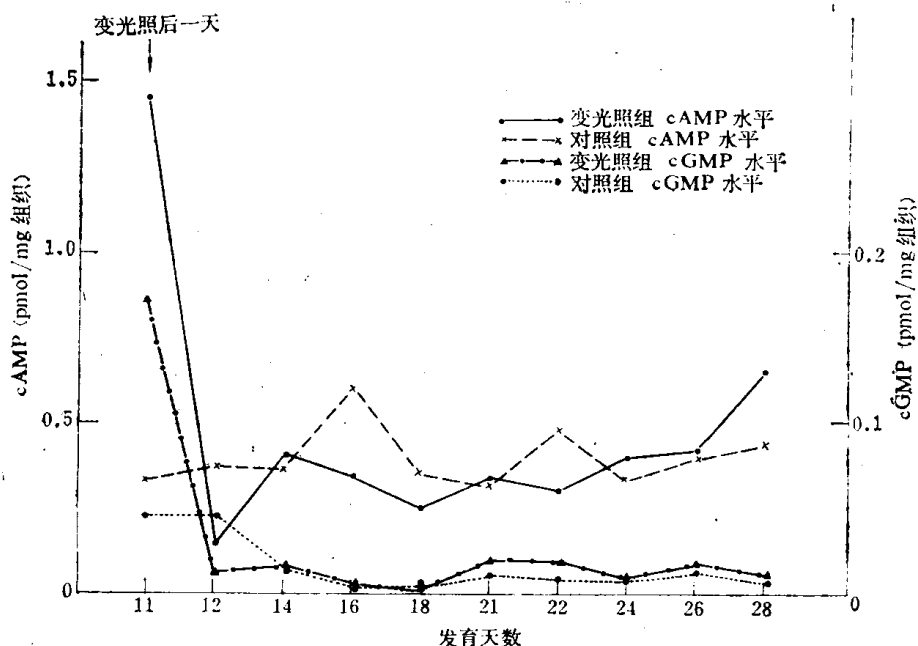


图5 光周期诱导棉铃虫滞育过程中棉铃虫幼虫整体环核苷酸水平的变化

酸水平的测定发现,其幼虫整体的环核苷酸水平对光照变化反应十分迅速,改变光照一天后, cAMP 水平比对照高 3.4 倍, cGMP 水平高 2.8 倍(罗马等, 图 5)。其次, 试验表明披肩粘虫脑中的环核苷酸体系与成虫脑的发育有关,在该虫成虫发育过程中,脑中 cAMP 水平增加了 6 倍, cGMP 水平增加了 1 倍。在蛹一成虫变态的后 10 天中,其脑中的章鱼胺量增加了约 10 倍,同时对章鱼胺敏感的腺苷环化酶活力也提高了。而在成虫脑的视叶中,这种情况更明显 (Bodnaryk, 1978; 1979; 1980)。以上研究表明,在昆虫神经系统中的对神经递质敏感的整体环核苷酸体系具有重要的神经化学作用。在昆虫的脑综合环境刺激、控制昆虫滞育的发生、保持和终止的过程中,以这个体系为基础的调节机构可能发挥重要作用。

2. 环核苷酸与昆虫的发育变态

昆虫必须经历多次蜕皮和变态才能完成整个发育。在发育变态过程中,体内代谢十分剧烈。目前对家蚕、地中海实蝇、果蝇、天蚕蛾、飞蝗、欧洲玉米螟、家蟋蟀 *Acheta domesticus*、柞蚕等昆虫发育变态过程中的环核苷酸体系进行了研究。尽管各个昆虫发育期间环核苷酸水平及其酶活力的变化型不尽相同,但有一个共同的特点,环核苷酸水平及其酶系活力随昆虫的发育而发生很大的变化,尤其在剧烈的变态期间。例如:在家蚕的胚胎发育中期和成虫羽化前期,磷酸二酯酶和蛋白激酶活力的变化十分剧烈。在地中海实蝇、果蝇、天蚕蛾、飞蝗和家蟋蟀的幼虫一蛹表皮分离阶段、幼虫一成虫蜕皮期间,环核苷酸水平及其酶系的活力也有很显著的变化。

众所周知,昆虫的发育变态受脑激素、MH 和 JH 的调节。在昆虫发育变态期间,环核苷酸体系的各种变化与激素的调节作用是密切相关的,但其间的微妙关系尚待进一步研究。

四、环核苷酸与昆虫的基因表达、遗传和行为

对果蝇唾液腺多线染色体的间接免疫荧光技术检验发现, cGMP 沿染色体分布,而且主要分布在染色体上基因活动的位点:间带、弥散带和膨突上。³H- 尿嘧啶放射自显影分析表明,在转录最活跃的位点 93D, cGMP 分布最多。而且醋酸固定的结果表明, cGMP 可能和染色体有联系的蛋白质相互作用,其中与 RNA 聚合酶的分布有关 (Spruill, 1978)。此外,在果蝇幼虫唾液腺细胞的培养液中加入双丁酰 cAMP (10^{-5} mol/L) 3—4 小时后,其细胞核明显增大。在染色体膨突正常出现时加入双丁酰 cAMP (10^{-3} mol/L),可使 3L-染色体上的膨突 62E 和 61E,以及 X-染色体上的膨突 3C 增大,而导致 X-染色体的膨突 2B 减小 (Rensing 等, 1972)。环核苷酸与基因表达有什么联系呢?放射自显影试验观察到, cAMP 和 cGMP 可以改变染色体蛋白多种组分的磷酸化状态,如:淋巴细胞核 RNA 聚合酶 I,乳腺细胞核的 RNA 聚合酶 II。同时发现,家蚕蛹中的依赖 cAMP 和依赖 cGMP 的蛋白激酶能够磷酸化组蛋白的不同位点 (Hashimoto, 1976; 1979)。与染色体结合的蛋白的乙酰化和磷酸化状态对于调节基因表达十分重要。因此,环核苷酸可能通过蛋白激酶对染色体蛋白的磷酸化作用,调节基因表达。此外,环核苷酸也可能通过影响细胞核的离子环境而间接调节基因活动。

对果蝇染色体进行细胞遗传学分析 (Kiger 等, 1977), 发现 X-染色体上的染色粒 3D4 包含有 cAMP 磷酸二酯酶的结构基因。这个区带加倍, 则此酶活力增加, 如缺乏这个区带则酶活力下降。而这个基因组区对雄性生殖力、正常的雌性生殖力和卵子发生是必需的。缺乏 3D4, 雄性不产生正常、活动的精子, 雌性则产生有外表缺陷的后代。因此认为, 缺乏染色粒 3D4 所产生的多种生理影响是由于 cAMP 代谢异常所引起的。此外, 对果蝇 *dunce* 突变体的分析发现, 这些突变体的 cAMP 磷酸二酯酶的系统都存在缺陷 (Davis 等, 1981)。以上结果暗示环核苷酸体系与遗传有关。

进一步用果蝇对温度敏感的、cAMP 代谢受影响的突变体进行试验 (Savvateeva, 1981), 发现突变体的运动活力与 cAMP 水平有关。cAMP 水平高和磷酸二酯酶活力低的突变体运动活力增加, 并表现比野生型有较好的学习能力。而磷酸二酯酶活力高的突变体活力降低, 而且不能学会逃避与电休克相联系的气味。这种现象可能由于脑中胆碱能和多巴胺能结构中环核苷酸的代谢变化所引起的。因此, cAMP 可能以此涉及昆虫的行为。

五、环核苷酸与杀虫剂作用

对麻蝇雄成虫点滴 DDT ($4\mu\text{g}/\text{ml}$, $47\text{mg}/\text{kg}$), 在一小时内, 头部的 cGMP 水平上升了 75%, 胸部的 cGMP 水平上升了 159.5%, 而腹部的上升了 23.4%。cAMP 水平没有什么变化。对披肩粘虫幼虫应用 DDT, 其整体的 cGMP 水平一小时后上升了 81.6%, 三小时后上升了 95.9%, cAMP 水平也没受影响。用马拉硫磷做试验的结果也是如此 (Bodnaryk, 1976; 1977)。cGMP 的急剧增加是由于 DDT 和马拉硫磷抑制了胆碱酯酶活力而导致乙酰胆碱积累。由此导致了 cGMP:cAMP 比率提高, 这可能是杀虫剂导致昆虫死亡的生化损伤的一个重要方面。

六、环核苷酸与阴阳学说

Goldberg 等 (1974) 认为, 在细胞中存在两种直接控制体系。A 体系由 cAMP 促进而被 cGMP 抑制; B 体系则由 cGMP 促进而被 cAMP 抑制。这就是“阴阳学说”。他以此来解释在细胞周期中 cAMP 和 cGMP 的不同作用。在昆虫环核苷酸的研究中也发现了类似的情况。例如, 同时注射 cGMP 可提高低剂量蜕皮素打破麻蝇滞育的作用, 而注射 cAMP 却抵消了蜕皮素的作用。cAMP 和双丁酰 cAMP 抑制丽蝇化学感受器的糖敏感受体的神经激发, 而双丁酰 cGMP 却刺激这种神经激发。滞育棉铃虫蛹脂肪体的 cAMP 水平高而 cGMP 水平低, 在发育蛹脂肪体中则正相反, cGMP 水平高而 cAMP 水平低 (图 6)。但是阴阳学说不能解释所有的现象, 例如, cAMP ($5 \times 10^{-5}\text{mol}/\text{L}$) 和 cGMP ($5 \times 10^{-3}\text{mol}/\text{L}$) 都能使吸血蝽马氏管产生利尿反应。在滞育棉铃虫蛹脑中, cAMP 和 cGMP 水平都高于发育蛹。光照改变后, 棉铃虫幼虫整体的 cAMP 和 cGMP 水平都比对照高 (图 5)。在粘虫成虫脑发育过程中两种环核苷酸水平都增加。因此, 虽然阴阳学说在一定范围内解释了 cAMP 和 cGMP 的不同生理作用, 但是由于生物体内代谢十分复杂, 其应用有一定局限性。

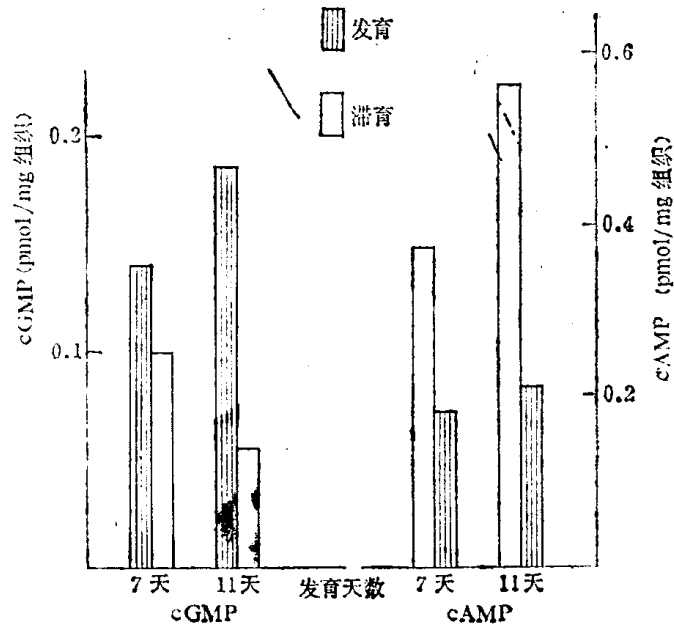


图6 棉铃虫雌蛹脂肪体环核苷酸水平

七、昆虫环核苷酸研究的前景与展望

对昆虫环核苷酸初步研究的结果表明,其作用涉及到神经传导、激素作用、生长发育、基因表达等多方面。在昆虫的发育、变态、代谢调节等方面发挥了重要作用。深入研究环核苷酸参与各方面代谢调节、生理生化反应的机理,有助于了解昆虫生长发育、繁殖、变态、滞育、行为等的生理生化基础和调节机理。

环核苷酸如何涉及昆虫滞育的作用呢?尤其是其介导激素作用的分子机理,仍是需要进一步研究的重要问题。弄清楚环核苷酸如何涉及蜕皮素、保幼激素的作用,在激素-激素相互作用中担任了何种角色,对深入了解昆虫体内代谢调节的复杂机理也是十分有益的。

外界环境如何影响昆虫体内的代谢?昆虫在长期进化的过程中,适应环境的生化机制如何?昆虫行为的生化基础是什么?这一系列生化生态、生理生化问题的解决与昆虫环核苷酸作用的研究也有十分密切的关系。

此外, cAMP 和 cGMP 的 3' 键水解放出的自由能很高, cAMP 为 $-14,100\text{cal/mol}$, cGMP 为 $-10,500\text{cal/mol}$, 都比 ATP 水解为 ADP 时高 ($-7,300\text{cal/mol}$)。Greengard 曾提出,水解环核苷酸 3' 键时放出如此高的自由能不仅为保证磷酸二酯酶反应的不可逆性,而且可能以某种方式与细胞内某些过程相联锁,从而被功能上利用。因此,环核苷酸在昆虫能量代谢方面的作用也不可忽视。

当然,环核苷酸在昆虫代谢中的调节作用只是整个代谢调节的一部分,但是深入研究环核苷酸作用的分子机制,一定会促进昆虫生化生态、生理生化研究的发展。

参 考 文 献

- [1] 罗马、郭鄂、马世骏, 1983, 光周期诱导棉铃虫滞育的生化基础, 生态学报 3(2): 131—140。

- [2] Albin, E. E., 1975, Properties of cyclic nucleotide phosphodiesterase in the central nervous system of *Manduca sexta*, *Biochim. Biophys. Acta* 377: 364—380.
- [3] Albin, E. E., Newburgh, R. E., 1975, Phosphoprotein phosphatase in the central nervous system of *Manduca sexta*, *Biochim. Biophys. Acta* 377: 381—388.
- [4] Albin, E. E., Newburgh, R. W., 1975, Cyclic nucleotide-stimulate protein kinases in the central nervous system of *Manduca sexta*, *Biochim. Biophys. Acta* 377: 389—401.
- [5] Applebaum, S. W., Gilbert, L. I., 1972, Stimulation of adenyl cyclase in pupal wing epidermis by β -ecdysine. *Devel. Biol.* 27: 165—175.
- [6] Aston, R. J., 1975, The role of cyclic AMP in relation to the diuretic hormone of *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.* 21: 1873—1877.
- [7] Bernstein, A. R., 1978, An investigation of diuretic responses to hormones and other physiologically active agents in *locusta*, *Gen. Comp. Endocrin.* 34: 110.
- [8] Berridge, M. J., Prince, W. T., 1972, The role of cyclic AMP and calcium in hormone action, *Adv. Insect Physiol.* 9: 1—49.
- [9] Blaustein, M. P., 1960, A brief survey of the effects of potential antimetabolites and enzymes on the development of giant silkworm, *J. Insect Physiol.* 5: 143—159.
- [10] Bodnaryk, R. P., 1976, The effect of DDT on levels of cGMP and cAMP in two species of insects, *Can. J. Biochem.* 54: 957—962.
- [11] Bodnaryk, R. P., 1977, Correlation between organophosphate poisoning, acetylcholinesterase inhibition, and increased cyclic GMP levels in malathion-treated insects, *Can. J. Biochem.* 55(5): 535—542.
- [12] Bodnaryk, R. P., 1978, Levels of brain cyclic AMP and cyclic GMP during the initiation of adult development in the bertha armyworm, *Mamestra configurata* WLK, *Insect Biochem* 8: 383—387.
- [13] Bodnaryk, R. P., 1979, Identification of specific dopamine and octopamine-sensitive adenylate cyclases on the brain of *Mamestra configurata* WLK, *Insect Biochem.* 9: 155—162.
- [14] Bodnaryk, R. P., 1980, Changes in brain octopamine levels during metamorphosis of the moth, *Mamestra configurata* WLK, *Insect Biochem.* 10: 169—173.
- [15] Caveney, S., 1978, Intercellular communication in insect development is hormonally controlled, *Science*, 199: 193—195.
- [16] Compton, D. A., Mills, R. R., 1982, Bursicon-induced adenylyl cyclase activity in the hemocytes of the american cockroach, *J. Insect Physiol.* 28(3): 221—227.
- [17] Daley, D. L. et al., 1976, Apparent opposing effect of cAMP and dibutyryl cGMP on the neuronal firing of the blowfly chemoreceptors, *Biochim. Biophys. Acta* 437: 211—220.
- [18] Davis, R. L., John A Kiger, Jr., 1981, Dunce mutants of *Drosophila melanogaster*. Mutants defective in the cAMP phosphodiesterase enzyme system, *J. Cell Biol.* 90: 101—107.
- [19] Delachambre, J. et al., 1979, Total and epidermal cyclic AMP levels related to the variations of ecdysteroids and bursicon during the metamorphosis of the mealworm, *Tenebrio molitor* L.
- [20] Denlinger, D. L. et al., 1978, Cyclic GMP breaks pupal diapause in the fleshfly, *Sarcophaga crassipalpis*, *J. Insect Physiol.* 24: 715—719.
- [21] Everson, R. D., Fehr, D., 1976, Juvenile hormone regulation of cAMP and cAMP phosphodiesterase activity in *Oncopeltus*, *J. Insect Physiol.* 22: 781—784.
- [22] Finlayson, L. H., Osborne, M. P., 1977, Effect of cyclic AMP and other compounds on electrical activity of neurohaemal tissue in *Carausius*. *J. Insect Physiol.* 23: 429—434.
- [23] Fuchs, M. S. et al., 1973, The stimulation of dopa decarboxylase activity by ecdysone and its enhancement by cAMP in adult mosquitoes. *Viochem. Biophys. Res. Commun.* 54: 784—789.
- [24] Gäde, G., 1977, Effect of corpus cardiacum extract on cyclic AMP concentration in the fat body of *Periplaneta americana*, *Zool. Jb. Physiol., Bd.* 81: 245—249.
- [25] Gäde, G. et al., 1979, Studies on the influence of synthetic adipokinetic hormone and some analogs on cAMP levels in different arthropod systems, *Gen. Comp. Endocrin.* 37: 122—130.
- [26] Gallagher, B. M. et al., 1976, Hormonal studies of uridine utilization in an insect cell line CP-1268 derived from the codling moth *Laspeyresia pomonella*, *In Vitro*, 12(7): 510—516.
- [27] Gelman, D. B., 1978, Cyclic 3,5'-AMP phosphodiesterase activity in head extracts of the five larval instars of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* (Hubner), and in extracts of brains of the fifth instar. *Comp. Biochem. Physiol.* 61C: 219—253.
- [28] Goldberg, N. D. et al., 1974, The Yin-Yang hypothesis of biological control: Opposing influences of cGMP and cAMP in the regulation of cell proliferation and other biological processes. pages 609—626 in "Control of Proliferation in Animal Cells." Clarkson and Baserga eds.
- [29] Guentherm, P. et al., 1977, The effect of drugs on the transepithelial potential across the isola-

- ted gut tissue of the Gulf Coast tick *Amblyomma maculatum* (Koch). *Comp. Biochem. Physiol.* 57: 25—30.
- [30] Hashimoto, E. *et al.*, 1976, Studies on the sites in histones phosphorylated by cAMP-dependent protein kinases and cGMP-dependent protein kinases. *J. Biol. Chem.* 251: 6287—6293.
 - [31] Hanaoka, K., Takahashi, S. Y., 1977, Adenylate cyclase system and the hyperglycemic factor in the cockroach, *Periplaneta americana*. *Insect Biochem.* 7: 95—99.
 - [32] Kelly, L. E., 1981, Regulation of protein phosphorylation in synaptosomal fractions from *Drosophila melanogaster* heads: The role of cAMP and Calcium-calmodulin, *Comp. Biochem. Physiol.* 69B: 61—68.
 - [33] Kiger, J. A. Jr., 1977, The consequences of nullsomy for a chromosomal region affecting cyclic AMP phosphodiesterase activity in *Drosophila*, *Genetics*, 85: 623—628.
 - [34] Leenders, H. J. *et al.*, 1970, Competitive interaction of cAMP on gene activation by ecdysterone, *Exp. Cell Res.* 63: 159—164.
 - [35] Matsumoto, S. *et al.*, 1979, Cyclic nucleotides and hormonal control of cuticular melanization in the armyworm larva, *Leucania separata*. (Lepidoptera: Noctuide), *Appl. Ent. Zool.* 14: 159—163.
 - [36] McDaniel, C. N. *et al.*, 1974, Effects of caffeine and aminophylline on adult development of the cecropia silkworm, *J. Insect Physiol.* 20: 245—252.
 - [37] Morgan, P. J., Morene, W., 1981, Stimulated fluid secretion is sodium dependent in the Malpighian tubules of locusta migratoria, *J. Insect Physiol.* 27: 271—280.
 - [38] Nathanson, J. A. *et al.*, 1973, Octopamine-sensitive adenylate cyclase: evidence for a biological role of octopamine in nervous tissue, *Science*, 180: 308—310.
 - [39] Nathanson, J. A. *et al.*, 1974, Serotonin-sensitive adenylate cyclase in neural tissue and its similarity to the serotonin receptor: A possible site of action of lysergic acid diethylamine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71: 797—801.
 - [40] Nathanson, J. A., Greengard, P., 1977, "Second Messengers" in the brain. 1979, in *Hormones and reproductive behavior*.
 - [41] Oertel, D. *et al.*, 1976, Neuronal excitation of the larval firefly photocyte: slow depolarization possibly mediated by a cyclic nucleotide, *J. Exp. Biol.* 65: 213—227.
 - [42] Prince, W. T. *et al.*, 1972, Role of calcium and cAMP in controlling fly salivary gland secretion, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 69: 553—557.
 - [43] Rasenick, M. M. 1978, Cyclic nucleotide activation of the silkworm brain-cellular localization and further observations on the patterns of activation, *J. Insect Physiol.* 24: 137—139.
 - [44] Rensing, L., Hardeland, R., 1972, Effects of cAMP on membrane potential, nuclear volume, and puff size in *Drosophila* salivary gland in vitro, *Exp. Cell Res.* 73: 311—318.
 - [45] Rojakovick, A. S., March, R. B., 1972, The activation and inhibition of adenylyl cyclase from the brain of the madagascar cockroach (*Gromphadorhina portentosa*), *Comp. Biochem. Physiol.* 43B: 209—215.
 - [46] Rojakovick, A. S., March, R. B. 1974, Characteristics of cyclic 3,5'-nucleotide phosphodiesterase from the brain of the madagascar cockroach (*Gromphadorhina portentosa*), *Comp. Biochem. Physiol.* 47B: 189—199.
 - [47] Savvateeva, E. V. *et al.*, Behavioral effects of temperature sensitive mutations affecting metabolism of cAMP on *Drosophila melanogaster*, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 14(5): 603—612.
 - [48] Seligman, M. *et al.*, 1977, Role of ecdysone, pupariation factors, and cAMP on formation and tanning of the fleshfly, *Sarcophaga bullata*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74: 4697—4701.
 - [49] Spruill, W. A. *et al.*, 1978, Association of cGMP with gene expression of polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75: 1480—1484.
 - [50] Taylor, D. P., 1976, Cyclic nucleotides on neuronal and glial-enriched fractions from the nerve cord of *Manduca sexta*, *J. Insect Physiol.* 22: 1303—1304.
 - [51] Taylor, D. P., 1978, Characteristics of the adenylyl cyclase of the central nervous system of *Manduca sexta*, *Comp. Biochem. Physiol.* 61C: 73—79.
 - [52] Taylor, D. P., 1979, The synthesis and content of neurotransmitters and their effect on cyclic nucleotide accumulation in the central nervous system of *Manduca sexta*, *Insect Biochem.* 9: 265—276.
 - [53] Truman, J. W., 1980, Cellular aspects of eclosion hormone action on the CNS of insects. in "Receptors for neurotransmitters, hormones and pheromones on insects" David B. Sattelle, Linda M. Hall and John G. Hildebrand Editors.
 - [54] Vandenberg, R. D., 1974, Hormonal control of tanning by the american cockroach: cAMP as possible intermediary, *J. Insect Physiol.* 20: 623—627.

- [55] Vandenberg, J. S., 1975, Cytochemical localization of phosphodiesterase: Axonal mitochondria and microtubules, *J. Insect Physiol.* 21: 455—461.
- [56] Vedeckis, W. V., 1976, Insect prothoracic glands: A role for cyclic AMP in the stimulation of β -ecdysone secretion. *Molecul. and Cellular Endocrin.* 5: 81—88.
- [57] Wareham, A. C., 1977, Effect of cyclic AMP on miniature end plate potential frequency at an invertebrate neuromuscular junction, *Life Science*, 22: 321—328.