

昆虫学研究集刊

第二集

1981



中国科学院上海昆虫研究所编
上海科学技术出版社

昆虫学研究集刊

第 二 集

1981

中国科学院上海昆虫研究所编
上海科学技术出版社

13540

昆虫学研究集刊

第二集

1981

中国科学院上海昆虫研究所编

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所发行 上海市印刷三厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 18.125 插页 4 字数 438,000

1982年12月第1版 1982年12月第1次印刷

印数: 1—5,100

统一书号: 13119.1084 定价: (科五) 2.35元

目 录

蓖麻蚕脂肪体丙氨酸——乙醛酸转氨酶(AGT)的提纯、性质

- 研究及昆虫激素在体内对该酶活性的影响..... 崔 征、许廷森 (1)
- 粘虫蛾复眼的电生理研究: I. 复眼的光谱敏感特性..... 陈德茂、马 午 (11)
- 杨树透翅蛾性引诱剂的研究..... 杜家纬、许少甫、戴小杰、张 喜 (15)
- 田间测定红铃虫雌蛾交配率的方法..... 李文谷、鄢一平、葛世华 (21)
- 螟卵啮小蜂接受寄主行为的研究: 对寄主卵龄和已寄生寄主的识别..... 邱鸿贵、丁德诚、何丽芬 (27)
- 中国淡色库蚊种团对敌百虫抗性与羧酸酯酶活力比较的研究..... 陈文美、刘维德、吴 能 (35)
- 抗拟除虫菊酯和敏感家蝇头部微粒体磷脂比较..... 姜家良 (41)
- 杀虫剂对棉蚜和七星瓢虫的选择毒效..... 黎云根、唐振华、刘维德 (47)
- ^{14}C -马拉硫磷在菜粉蝶幼虫体表渗透及体内动态的研究..... 侯能俊、张丽妹、张勤争、张永熙 (55)
- 二氯苯醚菊酯顺、反异构体的色谱分离..... 戴小杰、杜家纬 (61)
- 关于淡色库蚊幼虫产生“过挤因子”现象的探讨..... 刘维德、刘金发、周振惠 (67)
- 淡色库蚊黑体突变型幼虫的蜕皮激素测定及其脑和胸腺形态比较..... 郑建中、蒋容静、缪建吾 (75)
- 中国六种蚊虫的核型分析..... 朱兹侃、郑建中、缪建吾 (81)
- 淡色库蚊性连锁黑体突变(bb)的遗传..... 黄品毓、宋伟君 (89)
- 淡色库蚊中发现的三倍体和四倍体..... 黄品毓、蒋文斌、宋伟君 (99)
- 中华按蚊和雷氏按蚊嗜人血亚种的杂交..... 蒋文斌、潘家复、缪建吾 (103)
- 银纹夜蛾核型多角体病毒病: I. 病毒在脂肪体细胞内增殖时引起的细胞病理变化..... 朱国凯、姚燕儿、周夏娣 (111)
- 应用扫描电镜观察茶尺蠖感染核型多角体病毒后的细胞病理效应..... 朱国凯、张慧娟、方兆基 (115)
- 茶尺蠖幼虫感染核型多角体病毒的病理学研究..... 张慧娟、方兆基 (119)
- 茶尺蠖蛹卵巢细胞株的建立..... 刘栖干、胡有健、沈立美 (123)
- 茶尺蠖蛹卵巢细胞株的生长特性..... 胡有健、刘栖干 (129)
- 茶尺蠖蛹卵巢细胞株的冷冻保存试验..... 胡有健、刘栖干 (135)
- 茶尺蠖蛹卵巢细胞株细胞染色体的初步研究..... 刘栖干、胡有健 (141)
- 茶尺蠖蛹卵巢细胞株的血清学研究..... 黄解于、周夏娣、林秀青 (145)
- 茶尺蠖蛹卵巢建株细胞的组织化学分析..... 沈立美、巫蓓丽 (151)
- 茶尺蠖蛹卵巢细胞株特性——同功酶分析..... 姚燕儿、林秀清、沈立美 (155)
- 华虹的生物学特性及其在系统分类上的地位..... 尹文英 (161)

中国原尾虫的研究：广西古蛭科六新种的记述·····	张之沅、尹文英 (171)
发音器在蝗虫分类中应用的初步研究·····	金杏宝、夏凯龄 (183)
菊蝗属一新种记述(直翅目：蝗科)·····	毕道英、陈芝卿 (187)
中国网蟹属新种记述·····	夏凯龄、范树德 (191)
中国蟹科近似印蟹属的一新属(等翅目：蟹科)·····	何秀松、夏凯龄 (197)
闽西杆蟹属一新种(等翅目：鼻蟹科)·····	范树德、夏凯龄 (205)
牡蛎蚧族一新属三新种(蚧总科：盾蚧科)·····	杨平澜、胡金林 (209)
安盾蚧属三新种(蚧总科：盾蚧科)·····	杨平澜、胡金林 (215)
中国花蝇科新种志(双翅目)·····	范滋德、陈之梓、马忠余、葛凤翔 (221)
海南岛麻蝇族一新属和一新种(双翅目：麻蝇科)·····	范滋德、陈之梓 (241)
西藏地区有瓣蝇类记述(一)·····	钟应洪、吴福林、范滋德 (245)
山西省有瓣蝇类四新种·····	王昌敬、路应连、陈之梓、范滋德 (253)
三色依蝇幼虫形态及其习性小记(双翅目：丽蝇科)·····	陈之梓 (259)
青海瘤虻新种记(双翅目：虻科)·····	刘维德、姚运妹 (263)
食蚜蝇幼虫研究, I. ·····	施达三 (269)
中国食甜螨一新属(蜱螨目：食甜螨科)·····	王孝祖 (275)
巴拉巴按蚊实验室饲养·····	潘家复、俞天荣、朱基侃 (279)
蚊蛹和幼虫激光计数仪·····	葛旦华、杨炳华、潘家复 (240)

[研究简报]

淡色库蚊对敌百虫抗性生化鉴定法·····	陈巧云、姜家良 (88)
----------------------	--------------

[国内外学术交流动态]

中国昆虫学小组访问意大利·····	陈元光 (20)
对外科技交流、形式增多、交流深入——记上海昆虫研究所与国外的学术交流·····	尹永兴 (26)

CONTENTS

Purification and Characterization of L-Alanine-glyoxylate Transaminase from Fat Body of <i>Philosamia cynthia ricini</i> Donovan and Hormonal Impact on its Activity in Vivo	Cui Zheng & Xu Ting-sen (1)
Electrophysiological Study of Retina of Armyworm Moth: II. Spectral Sensitivity of the Compound Eye	Chen De-mao & Ma Wu (11)
Studies on Sex Attractant of Clearwing Moth <i>Paranthrene tabaniformis</i> Root	Du Jia-wei, Xu Shao-fu, Dai Xiao-jie & Zhang Xi (15)
A Device for Surveying the Copulation Rate of Pink Bollworm <i>Pectinophora gossypiella</i> (Saunders) in the Fields Based on the Mating Behaviour	Li Wen-gu, Li Yi-ping & Ge Shi-hua (21)
Studies on Host-Acceptance Behavior of <i>Tetrastichus schoenobii</i> Ferriere: The Detection of Host Ages and Parasitized Host	Qiu Hong-gui, Ding De-cheng & He Li-fen (27)
Relationship Between Carboxylesterase Activity and Resistant Level to Dipterex of <i>Culex pipiens pallens</i> Coq. and <i>Culex fatigans</i> Wied. in China	Chen Wen-mei, Liu Wei-de & Wu Nen (35)
Comparison of the Lipids Content in the Head Microsome Between Pyrethroid-resistant and Susceptible Houseflies (<i>Musca domestica</i> Linnaeus)	Jiang Jia-liang (41)
Selective Toxicity of Insecticides to Cotton Aphid (<i>Aphis gossypii</i> Glover) and Seven Spot Ladybird (<i>Coccinella septempunctata</i> Linnaeus).....	Li Yun-gen, Tang Zhen-hua & Liu Wei-de (47)
Surface Penetration and Dynamic Aspects in Vivo of ¹⁴ C-Malathion in Cabbage worm <i>Pieris rapae</i> (L.) Larvae	Hou Neng-jun, Zhang Li-mei, Zhang Qin-zhen & Zhang Yong-xi (55)
Chromatographic Separation of cis-and trans-Isomers of Permethrin.....	Dai Xiao-jie & Du Jia-wei (61)
On the Phenomenon of "Overcrowding Factors" Produced by the Larvae of <i>Culex pipiens pallens</i> Coq.	Liu Wei-de, Liu Jin-fa & Zhou Zhen -hui (67)
Studies on Determination of Ecdysterone Titer in Black Body Lethal Mutant (bl) Larvae of <i>Culex pipiens pallens</i> Coq., and its Morphological Comparison in Brains and Thoracic Glands	Zheng Jian-zhong, Jiang Rong-jing & Miao Jian-wu (75)
Analysis on Karyotypes of Six Species of Mosquitoes in China	Zhu Hong-kan, Zheng Jian-zhong & Miao Jian-wu (81)
The Inheritance of Sex-Linked Mutant Black Body (bb) in <i>Culex pipiens pallens</i> Coq.	Huang Pin-jian & Song Wei-jun (89)
The Triploid and Tetraploid in <i>Culex pipiens pallens</i> Coq.	Huang Pin-jian, Jiang Wen-bin & Song Wei-jun (99)
Hybridization Between <i>Anopheles sinensis</i> and <i>Anopheles lesteri anthropophagus</i>	

.....	Jiang Wen-bin, Pan Jia-fu & Miao Jian-wu	(103)
A Nuclear Polyhedrosis of <i>Plusia agnata</i> Staudinger. I. Cytopathological Changes in Fat Body Cells During Viral Replication		
.....	Zhu Guo-kai, Yao Yan-er & Zhou Xia-di	(111)
A Scanning Electron Microscope Study of Tracheal Epidermal Cells in <i>Ectropis obliqua</i> Warren Infected by Nuclear Polyhedrosis Virus		
.....	Zhu Guo-kai, Zhang Hui-juan & Fang Zhao-ji	(115)
Pathological Studies on Larvae of <i>Ectropis obliqua</i> Warren Infected by NPV		
.....	Zhang Hui-juan & Fang Zhao-ji	(119)
Establishment of Two Cell Lines from Pupal Ovary of <i>Ectropis obliqua</i> Warren		
.....	Liu Qi-gan, Hu You-jian & Shen Li-mei	(123)
The Growth Characterization of Two Cell Lines from Pupal Ovary of <i>Ectropis obliqua</i> Warren (Lepidoptera: Geometridae)		
.....	Hu You-jian & Liu Qi-gan	(129)
The Cooling Preserved Test of Two Cell Lines of Pupal Ovary of <i>Ectropis obliqua</i> Warren (Lepidoptera: Geometridae)		
.....	Hu You-jian & Liu Qi-gan	(135)
Brief Survey on Chromosomes of Cell Lines Established from Pupal Ovaries of <i>Ectropis obliqua</i> Warren		
.....	Liu Qi-gan & Hu You-jian	(141)
Serological Studies of Cell Lines from Pupal Ovaries of <i>Ectropis obliqua</i> Warren		
.....	Huang Jie-yu, Zhou Xia-di & Lin Xiu-qing	(145)
Histochemical Analysis of Cell Lines from Pupal Ovaries of <i>Ectropis obliqua</i> Warren		
.....	Shen Li-mei & Wu Pei-li	(151)
Characterization of Cell Lines from Pupal Ovaries of <i>Ectropis obliqua</i> Warren — Isozyme Analyses		
.....	Yao Yan-er, Lin Xiu-qing & Shen Li-mei	(155)
On Bionomics of <i>Sinentomon</i> (Protura) and its Systematic Position		
.....	Yin Wen-ying	(161)
Studies on Chinese Protura: Description of Six New Species of Eosentomidae from Guangxi		
.....	Zhang Zhi-yuan & Yin Wen-ying	(171)
A Preliminary Study on the Stridulatory Apparatus in Taxonomy of Grasshoppers		
.....	Jin Xing-bao & Xia Kai-ling	(183)
Description of a New Species of the Genus <i>Phlaeobida</i> Bolivar I. (Orthoptera: Acrididae)		
.....	Bi Dao-ying & Chen Zhi-qing	(187)
Note on New Species of the Genus <i>Reticulitermes</i> from China (Isoptera: Rhinotermitidae)		
.....	Xia Kai-ling & Fan Shu-de	(191)
New Genus of Termites Related to <i>Indotermes</i> from China (Isoptera, Termitidae)		
.....	He Xiu-song & Xia Kai-ling	(197)
A New <i>Stylotermes</i> (Isoptera: Rhinotermitidae) from Western Fujian, China		
.....	Fan Shu-de & Xia Kai-ling	(205)
A New Genus and Three New Species of Lepidosaphedini from China (Coccoidea: Diaspididae)		
.....	Young Bain-ley & Hu Jin-lin	(209)
Three New Species of <i>Andaspis</i> (Coccoidea: Diaspididae)		
.....	Young Bain-ley & Hu Jin-lin	(215)

On Some New Species of Anthomyiidae from China (Diptera)	
.....	<i>Fan Zi-de, Chen Zhi-zi, Ma Zhong-yu & Ge Feng-xiang</i> (221)
A New Genus and a New Species Belonging to Sarcophagini from Hainan Island, China (Diptera: Sarcophagidae)	
.....	<i>Fan Zi-de & Chen Zhi-zi</i> (241)
Notes on Calypterate Flies from Xizang District, China. I.	
.....	<i>Zhong Yin-hong, Wu Fu-lin & Fan Zi-de</i> (245)
Four New Calypterate Flies from Shanxi, China (Diptera: Muscidae, Calliphoridae, Sarcophagidae)	
.....	<i>Wang Chang-jian, Lu Yin-lian, Chen Zhi-zi & Fan Zi-de</i> (253)
Morphological and Biological Notes on the Larval Stages of <i>Idiella Tripartita</i> (Bigot) from China (Diptera: Calliphoridae)	<i>Chen Zhi-zi</i> (259)
New Species of <i>Hybomitra</i> from Qinghai, China (Diptera: Tabanidae)	
.....	<i>Liu Wei-de & Yao Yun-mei</i> (263)
Studies on Aphidophagous Syrphid Larvae	<i>Shi Da-san</i> (269)
A New Genus of Glycyphagids Mite from China (Acarina: Glycyphagidae)	<i>Wang Xiao-zu</i> (275)
Studies on Laboratory Rearing of <i>Anopheles balabacensis balabacensis</i> Baisas	<i>Pan Jia-fu, Yu Tian-rong & Zhu Hong-kan</i> (279)
Laser Counter for Mosquito Pupae and Larvae	
.....	<i>Ge Dan-hua, Yang Bing-hua & Pan Jia-fu</i> (240)
BRIEF REPORTS ON RESEARCH	
Biochemical Diagnoses of the Resistance of <i>Culex pipiens pallens</i> Coq. to Dipterex	<i>Chen Qiao-yun & Jiang Jia-liang</i> (88)
DEVELOPMENTS IN ACADEMIC EXCHANGES AT HOME AND ABROAD	
Chinese Entomological Group's Visit to Italy.....	<i>Cheu Yuan-guang</i> (20)
Scientific Exchanges Deepened in Various Forms — The Scholarly Communication between Shanghai Institute of Entomology, Academia Sinica and Abroad.....	<i>Yin Yong-xing</i> (26)

蓖麻蚕脂肪体丙氨酸-乙醛酸转氨酶 (AGT)的提纯、性质研究及昆虫 激素在体内对该酶活性的影响

崔 征

许廷森

(中国科学院上海昆虫研究所)

(中国科学院生物化学研究所)

AGT不仅在哺乳动物、细菌、植物的丙氨酸、甘氨酸、丙酮酸和乙醛酸代谢中有着重要的作用。在昆虫体内,特别是在蚕体内的作用更为重要。在蚕体内各种游离氨基酸的浓度很高,而且丙酮酸和乙醛酸的来源是非常丰富的,特别是在五龄期中,与丙氨酸和甘氨酸生成有关的反应其意义就更为特殊。因为蓖麻蚕丝蛋白中丙氨酸和甘氨酸的含量非常高,分别为50.5%和27.8%,蚕体为了合成丝蛋白必须要合成大量的丙氨酸和甘氨酸。AGT是丙氨酸和甘氨酸代谢中一种重要的酶。AGT的活力在蚕体中不仅随着昆虫的生长发育阶段有所变化,而且受着多种因素的影响。所以对AGT的提纯不仅可以了解它在氨基酸代谢中的地位,以及在哺乳动物、植物和昆虫之间的差别,还可以深入了解此酶的动力学特点、催化机制、并为深入探讨激素如何在体内对AGT产生影响打下了基础。

材 料 与 方 法

1. 蓖麻蚕 印度白黄,由广东省石牌蚕种场供应。

2. 主要试剂 各种氨基酸及酮酸、乳酸脱氢酶,还原型辅酶I均由中国科学院上海生物化学研究所东风试剂工厂生产;EDTA和巯基乙醇由上海试剂总厂生产;二硫苏糖醇和羟基磷灰石由Serva试剂公司生产;DEAE—纤维素由上海试剂四厂生产;磷酸吡哆醛由E. Merck公司生产;保幼激素类似物ZR515由美国Zoecon试剂公司生产,浓度为96.5%;蜕皮激素是由中国科学院上海有机化学研究所自露水草中提取的纯品;盐酸羟胺由上海试剂厂生产。

3. 蓖麻蚕的激素处理 将蜕皮激素及保幼激素类似物ZR515分别以2.5mg/ml及25mg/ml的浓度溶于80%的酒精中。然后对蓖麻蚕进行腹部皮下注射。蜕皮激素的剂量为每头蚕 $6\mu\text{g}/2\mu\text{l}$,保幼激素类似物ZR515的剂量为每头蚕 $50\mu\text{g}/2\mu\text{l}$,对照组分别注射等量的水和80%的酒精。

4. 蛋白质含量的测定 本文所有实验均采用Folin—酚试剂法(Lowry, O. H. et al., 1951)测定蛋白质含量,用牛血清白蛋白做标准样品。

5. 蛋白质电泳 本文实验中蛋白质电泳均采用聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳 (Davis & Ornstein, 1964)。电泳条件为分离胶浓度 6.5 %, pH8.9, 7% 冰醋酸固定, 考马氏亮兰染色。

6. AGT 的活力测定 本实验根据 Thompson 和 Richardson (1969) 的方法测定 AGT 的活力。

7. 蛋白质分子量的测定 本实验采用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Weber & Osborn, 1969) 和 Sephadex G-200 柱层析 (Andrews, 1964) 两种方法测定 AGT 的分子量。

结 果

一、蓖麻蛋脂肪体 AGT 的提纯

1. 匀浆液的制备 解剖取出五龄六天蓖麻蚕的脂肪体。每克脂肪体加入 硼酸-氯化钾缓冲液 (0.2M, pH8.4) 5ml。用 MSE 电动组织绞切机以最大转速在冰浴中绞切 3 分钟。然后以 $30,000 \times g$, 4°C 离心 30 分钟。收集上清液, 加入保护剂 巯基乙醇和二硫苏糖醇, 最终浓度分别为 10mM 及 0.1mM。

2. 热处理及超速离心 将第一步的酶液分装在小试管中, 每管 10ml, 置于 55°C 热水浴中保温 10 分钟, 然后迅速置于冰浴中冷却。将热处理后的酶液以 $110,000 \times g$, 4°C 离心 60 分钟, 收集上清液。

3. 硫酸铵分步沉淀 将第二步酶液进行硫酸铵沉淀, AGT 在 50~80 % 硫酸铵饱和度的一段内沉淀出。用 硼酸-氯化钾缓冲液将沉淀溶解。将酶液装入透析袋中对 磷酸钾缓冲液 (25mM, pH7.5, 含有 10mM 巯基乙醇) 进行透析。用 Nessler 试剂检测溶液中的铵离子。

4. DEAE-纤维素柱层析 根据 Peterson 和 Sober 的方法 (1962) 预处理 DEAE-纤维素, 用 25mM, pH7.5 的磷酸钾缓冲液 (含有 10mM 浓度的巯基乙醇) 进行平衡, 然后装柱 ($2.8 \times 13\text{cm}$), 柱的流速为每小时 20 毫升, 上样后用上述平衡液洗脱。AGT 不被柱所吸附, 酶活力出现在第一个流出的蛋白峰里。

5. 羟基磷灰石柱层析 用 50mM, pH7.5 的磷酸钾缓冲液 (含有 10mM 浓度的巯基乙醇) 平衡羟基磷灰石, 然后装柱 ($1.5 \times 8\text{cm}$)。柱的流速为每小时 20 毫升。洗脱梯度为 50~500mM 的磷酸根离子, 体积为 200ml, 收集有活力的部分在 4°C 下保存。现将蓖麻蚕脂肪体中 AGT 提纯的全过程总结于表 1。

二、温度对 AGT 活力的影响

1. AGT 的耐热性 将第三步硫酸铵沉淀后的酶液在不同温度下分别进行预保温 10 分钟, 然后再将其加到反应体系中, 在 37°C 测定酶活力, 结果见图 1。

2. 反应温度对 AGT 活力的影响 将酶液在不同的温度下 (pH8.4 的硼酸缓冲体系) 与底物反应 20 分钟, 结果见图 1。

三、pH 对 AGT 活力的影响

1. AGT 的 pH 稳定性 将上述硫酸铵沉淀后的酶液置于不同 pH 的硼酸-氯化钾缓冲液中, 25°C 预保温 20 分钟, 然后在 pH8.4 的条件下与底物反应 20 分钟 (37°C), 结

表 1 蓖麻蚕脂肪体 AGT 的纯化过程

提 纯 步 骤	体 积	蛋 白 质		AGT 酶 活 力		比 活 力	回 收 率	纯 化
	ml	mg/ml	总 量	U./ml	总活力	U./mg	%	倍 数
匀浆上清液	140	18.42	2578.4	3.33	465.85	0.18	100.0	1
热 处 理	135	11.05	1491.9	3.315	447.85	0.3	96.1	1.67
硫酸铵沉淀	11	15.25	167.8	36.3	399.3	2.38	85.7	13.11
DEAE-纤维素	38	0.66	24.9	10.4	395.4	15.88	84.9	87.53
羟基磷灰石	4	0.11	0.44	7.26	29.04	66.0	6.2	363.7

果见图 2。

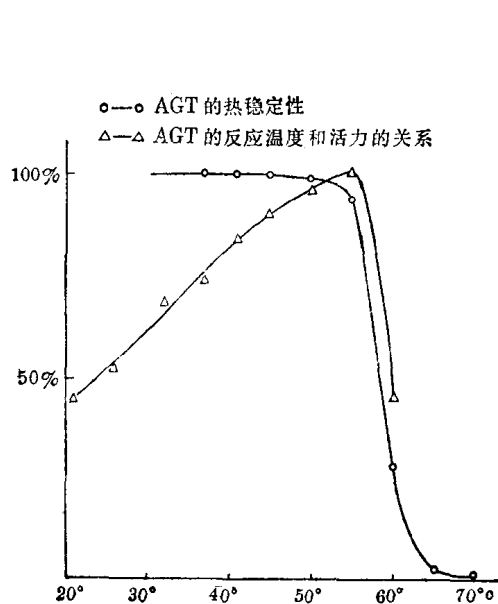


图 1 温度对 AGT 活力的影响

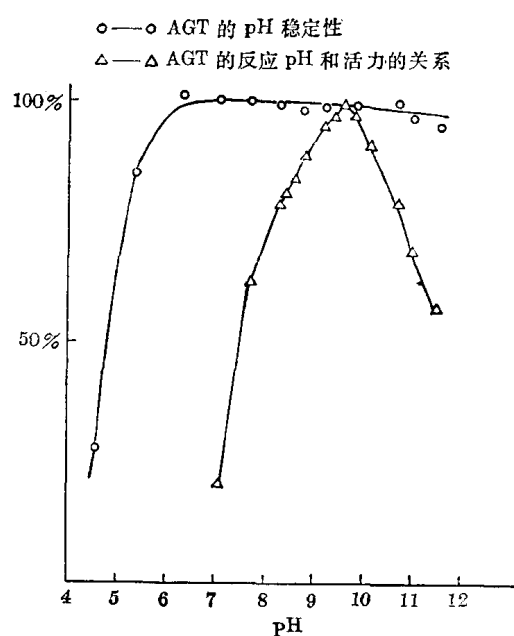


图 2 pH 对 AGT 活力的影响

2. AGT 的最适反应 pH 将酶液在不同 pH 的硼酸-氯化钾缓冲液的反应体系中进行反应, 反应温度为 37 °C, 反应 20 分钟, 结果见图 2。

四、AGT Km 值的测定

AGT 对丙氨酸和乙醛酸的 km 值分别为 $4.35 \times 10^{-3} M$ 和 $9.1 \times 10^{-4} M$, 见图 3、图 4。

五、金属离子对 AGT 活力的影响

实验结果表明多种无机离子对 AGT 的活力都有激活作用, 特别是两价阳离子, 如 Zn^{++} 、 Mn^{++} 等。结果见表 2。

六、AGT 的酮酸底物特异性

在 pH 8.4, 37 °C, 10 mM 丙氨酸的条件下, 用羟基磷灰石柱层析后纯化 300 倍以上的

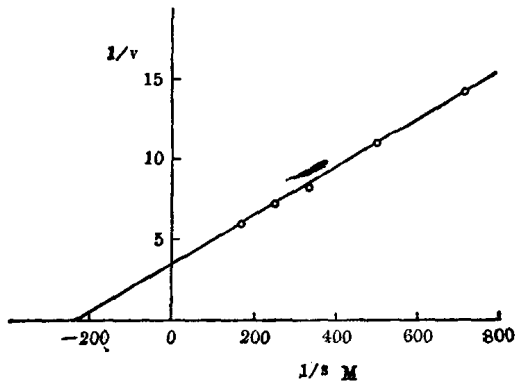
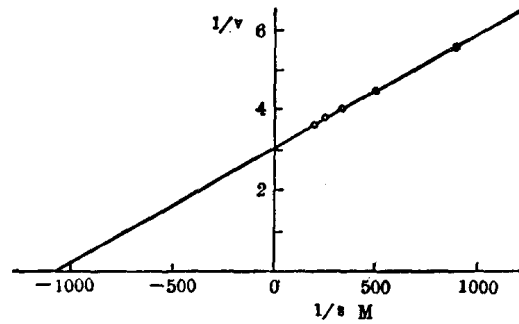
图 3 AGT 对丙氨酸 K_m 值的测定图 4 AGT 对乙醛酸 K_m 值的测定

表 2 金属离子对 AGT 活力的影响

所 加 电 解 质	AGT Activity (μM pyruvate/min)	
	离 子 浓 度	
	0.5mM 时	2.0mM 时
不外加电解质	0.12	0.12
NaCl	0.12	0.12
Na ₂ SO ₄	0.12	0.12
NaAc	0.12	0.12
CaCl ₂	0.12	0.12
CuSO ₄	0.17	0.23
MgSO ₄	0.145	0.165
ZnAc ₂	0.50	0.61
MnSO ₄	0.22	0.39
MnCl ₂	0.22	0.40

酶, 测定 AGT 对各种酮酸底物的特异性, 结果见表 3。

七、其他加入物对 AGT 活力的影响

本实验分别测定了盐酸羟胺、EDTA 和磷酸吡哆醛对脂肪体 AGT 活力的影响, 结果见表 4。

八、AGT 的分子量测定

本实验用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳和 Sephadex G-200 柱层析两种方法测得 AGT 的分子量为 85,000 道尔顿左右。

九、在五龄期中蓖麻蚕脂肪体中 AGT 活力的生理水平

本实验测定了蓖麻蚕脂肪体在整个五龄期中每天的 AGT 活力变化, 五龄蓖麻蚕脂肪体中此酶的活力水平是同龄家蚕脂肪体 AGT 活力水平的 8 倍左右 (林浩等, 1980); 是家蚕和蓖麻蚕丝腺体中 AGT 活力水平的 5 倍左右 (邹柏祥等, 1979)。蓖麻蚕脂肪体

表 3 AGT 的某些 α -酮酸底物的特异性

所 加 的 α -酮 酸	各种酮酸的最终浓度 (mM)	生成的丙酮酸 (μ M/min)	AGT 的相对活性
乙 醛 酸	10mM	0.30	100%
α -酮 丁 酸	10mM	0.00	0.00
苯基丙酮酸	10mM	0.00	0.00
α -酮戊二酸	10mM	0.00	0.00
羟基丙酮酸	10mM	0.00	0.00
α -酮异戊酸	10mM	0.00	0.00
α -酮天冬酰胺	10mM	0.00	0.00
酮 丙 二 酸	10mM	0.00	0.00
3-甲基, α -酮戊酸	10mM	0.00	0.00

表 4 其他加入物对 AGT 活力的影响

加 入 物 名 称	加入物在反应体系 中的最终浓度	AGT 酶活力 (μ M 丙酮酸/分)	抑制程度(%)
羟 胺	0mM	0.36	0
	1mM	0.12	67
	4mM	0.00	100
EDTA	0mM	0.22	0
	10mM	0.11	50
	20mM	0.08	64
磷酸吡哆醛	0mM	0.25	0
	0.1mM	0.25	0
	1mM	0.25	0

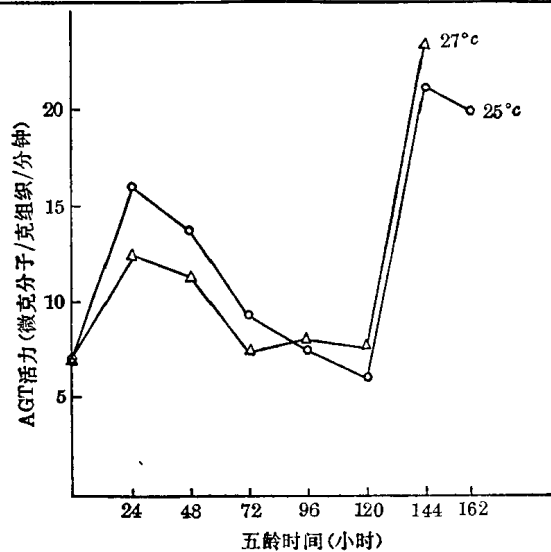


图 5 蓖麻蚕脂肪体 AGT 活力在五龄期的生理水平

中的 AGT 活力在五龄六天到熟蚕这一段时间内出现高峰。结果见图 5。

十、昆虫激素及其类似物对蓖麻蚕脂肪体中 AGT 活力的影响

本实验测定了从四龄初眠到蛹期等不同发育阶段中用蜕皮激素和保幼激素类似物 ZR515 的处理对蓖麻蚕脂肪体 AGT 活力的影响。另外还观察了使用每头蚕 1 微克的蜕皮激素的剂量处理五龄三天的蚕, 在 10 小时以内对脂肪体中 AGT 活力的影响。结果见表 5、图 6。

表 5 昆虫激素对不同发育时间的蓖麻蚕脂肪体 AGT 活力的影响

处 理 时 间	AGT 活力 (mM/20 min/g.organ)		
	对 照 组	蜕皮激素组	保幼激素组
四 龄 初 眠	0.19	0.39	0.34
四龄眠24小时	1.26	1.14	0.90
五 龄 58 小时	1.64	2.60	1.16
五 龄 熟 蚕	1.95	2.90	3.25
蛹 期	1.20	1.20	0.96

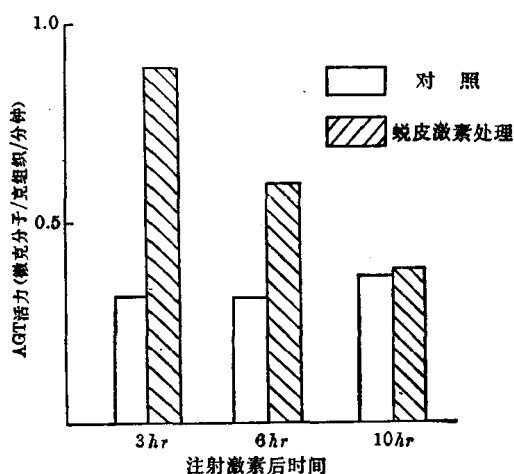


图 6 蜕皮激素对蓖麻蚕脂肪体 AGT 活力的影响

讨 论

AGT 是丙氨酸和甘氨酸代谢的重要因素。它既参与甘氨酸的合成, 同时又参与丙氨酸与乙醛酸的利用, 也可以通过反向反应生成丙氨酸。另一方面, 在昆虫体内丙氨酸和乙醛酸的来源是十分丰富的。它们可以从食物中直接而来, 也可以从糖的分解氧化而来, 还可以从酮丙二酸的分解氧化而来。所以昆虫体可以为 AGT 提供大量的底物。换言之, AGT 可以为这些物质的代谢提供必要的途径。蓖麻蚕脂肪体是虫体中间代谢的重要器官, AGT 在这个组织中的活力较高, 所以 AGT 不仅对脂肪体的代谢有着重要意义, 而且对整个蚕体的代谢也同样具有重要意义。特别是在五龄期, 蚕的代谢是围绕着

吐丝营茧这一中心任务进行的。各种组织要根据这一中心做一些代谢水平的调整。因此, AGT 在这一段时间内其意义就更为重要。

磷酸吡哆醛是昆虫的一种维生素。一般认为它是在转氨反应中起传递氨基的作用。但本实验的结果表明脂肪体中 AGT 对外源性磷酸吡哆醛的需要与人肝中的 AGT 是完全不同的, 在人肝中的 AGT 其活力表现是依靠外源性磷酸吡哆醛的, 而蓖麻蚕脂肪体中的 AGT 其活力与外源性磷酸吡哆醛无关。这可能是由于在脂肪体中的 AGT 与磷酸吡哆醛结合得比较牢固, 原有的磷酸吡哆醛已经足够, 而且在处理过程中也不会损失, 所以任何外源性的磷酸吡哆醛都是多余的。从羟胺对 AGT 的抑制也可以证实这一点。羟胺是一种巯基试剂, 它可以同磷酸吡哆醛上的巯基起反应, 使其失去转移氨基的作用, 从而抑制酶的活性。

在底物特异性方面, 作者测定了脂肪体 AGT 对九种 α -酮酸的底物特异性, 结果发现脂肪体 AGT 只能将丙氨酸的氨基转给乙醛酸, 而不能转给其他的酮酸, 所以对于 α -酮酸来说 AGT 是有一定的特异性的。许廷森等人曾经在蓖麻蚕中发现脂肪体均浆液既可催化丙氨酸与乙醛酸转氨生成甘氨酸, 又可催化丙氨酸与酮丙二酸转氨生成甘氨酸, 但未能确定这两个反应是否由同一个酶所催化。根据本文结果来看这两个反应是分别由两个不同的酶所催化的。

本文测定了五龄期蓖麻蚕脂肪体 AGT 每天的活力。比较起来, 在五龄蓖麻蚕脂肪体中, 此酶活力的平均水平要比同龄蚕丝腺体中的平均水平高。这可能是因为丝腺体合成丝蛋白所需要的甘氨酸与丙氨酸一小部分是由丝腺体本身合成的, 但大部分是脂肪体合成并经由血液运送到丝腺体中去的。另一方面, 脂肪体是多种物质的代谢中心, 其功能要比丝腺体复杂得多。脂肪体不仅要为合成丝蛋白提供原料, 而且还要为其他物质, 如血液中的多种蛋白质的合成提供丙氨酸和甘氨酸。在五龄后期脂肪体 AGT 的活力出现了高峰, 这可能与丝蛋白合成有关。五龄后期蚕的体重, 特别是丝腺体的重量以很快的速度增长。此时丝蛋白的生物合成也特别旺盛。

昆虫体内存在着许多代谢途径, 需要有一整套调节控制体系。我们已经知道这种调节控制是多方面、多水平的。其中激素的调节控制是一个很重要的因素。本文用外源性的昆虫蜕皮激素和保幼激素类似物 ZR515 对正常的蓖麻蚕进行体内注射。注射后的蓖麻蚕脂肪体 AGT 的活力有明显的变化。同时还发现蚕的龄期不同, AGT 对激素的反应也不同。蚕刚刚入眠时激素对 AGT 的作用非常明显, 而当蚕入眠很深时激素对 AGT 则无明显作用。到了蛹期时激素对 AGT 的作用也不明显。这些结果提示了不同龄期的脂肪体细胞对昆虫激素的反应不同, 这可能是由于这些细胞在某些水平上有着关键性的差异。如果能发现这些差异所在, 对于揭示昆虫激素的作用方式是有帮助的。

参考文献

- [1] 邹柏祥、张汉云、林浩、许廷森。1979。蚕氨基酸代谢的研究：家蚕与蓖麻蚕的氨基酸和形成甘氨酸、丙氨酸的酶系比较及酮丙二酸的脱羧作用。昆虫学报, 22(4): 378—389。
- [2] 林浩、戴祝英、邹柏祥、许廷森。1980。昆虫激素调节控制的研究—保幼激素类似物对合成甘氨酸和丙氨酸有关酶系的调节控制。生物化学与生物物理学报, 12(14): 321—328。
- [3] 崔征、许廷森。1980。昆虫激素调节控制的研究— β -蜕皮激素对家蚕谷丙转氨酶和谷天转氨酶的作用。昆虫学研究集刊, 第一集, 13—18页。上海科学技术出版社。
- [4] 山东省蚕业研究所。1975。应用昆虫保幼激素类似物“734—I”乳油增加桑蚕产丝量的试验。昆虫学报, 18(3): 266—271。
- [5] 广东农林学院蚕桑系。1975。昆虫保幼激素类似物对家蚕后部丝腺谷丙转氨酶活力的影响。昆虫学报, 18(4): 363—366。
- [6] 江苏省蚕业研究所生理病理研究室等。1974。应用昆虫激素类似物增加桑蚕产丝量的研究。昆虫学报, 17(3): 290—302。
- [7] 许廷森、王二力。1964a。蚕氨基酸代谢之研究Ⅱ：丝腺体L-天门冬氨酸及 α -酮戊二酸形成丙氨酸之机制。生物化学与生物物理学报, 4: 329—341。
- [8] 许廷森、王征泰。1964b。蚕氨基酸代谢之研究Ⅳ：幼虫体液及丝腺体中的 α -酮酸。生物化学与生物物理学报, 4: 481—484。
- [9] Andrews, P., 1965. The gel-filtration behaviour of proteins related to their molecular weights over a wide ranges. *Biochem. J.* 96: 595—606.
- [10] Ashburner, M., 1971. Introduction of puffs in polytene chromosomes of in vitro cultured salivary glands of *Drosophila melanogaster* by ecdysone and ecdysone analogues. *Nature, new biol.* 230: 222—223.
- [11] Brock, B. L. W., Wilkinson, D. A. & King, J., 1970. Glyoxylate aminotransferase from oat leaves. *Can. J. Biochem.* 48 (4): 486—492.
- [12] Calvez, B., Hirn, M. & Reggi, M., 1976. Ecdysone changes in the haemolymph of two silkworms (*Bombyx mori*, *Philosamia cynthia*) during larval and pupal development. *FEBS Letter* 71: 57—61.
- [13] Chen, P. S., 1960. Changes in amino acids and proteins metabolism in insect development. *Adv. Insect Physiol.* 3: 53—132.
- [14] Clever, U. et al., 1966. RNA and protein synthesis in the cellular response to a hormone, ecdysone. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 56: 1470—1476.
- [15] Congote, L. F. et al., 1969. On the mechanism of hormone action. XIII. Stimulating effects of ecdysone, juvenile hormone and ions on RNA synthesis in fat body cell nuclei from *Calliphora erythrocephala* isolated by a filtration technique. *Exp. Cell. Res.* 56: 338—346.
- [16] Florkin, M., 1959. The free amino acids of insect haemolymph. *Proc. VI Int. Congr Biochem.* 12: 63—73.
- [17] Karlson, P., 1974. Mode of action of ecdysone. In “Invertebrate Endocrinology and Hormone Heterophyly” (ed. W. J. Burdette): 43—54.
- [18] Karlson, P. et al., 1975. Intercellular mechanism of hormone action. In “Comprehensive Biochemistry” (ed. M. Florkin et al.). 25: 1—63.
- [19] Keeley, L. L., 1978. Endocrine regulation of fat body development and function. *Ann Rev. Entom.* 23: 329—352.
- [20] King, J. & Waygood, E. R., 1968. Glyoxylate aminotransferase from wheat leaves. *Can. J. Biochem.* 46 (8): 771—779.
- [21] Nuefeld, G. J. et al., 1968. Short-term effect of crustecdysone (20-hydroxyecdysone) on protein and RNA synthesis in third instar larvae of *Calliphora*. *J. Insect Physiol.* 14: 789—804.
- [22] Orr, C. W. M., 1964. The influence of nutritional and hormonal factors on the chemistry of the fat body, blood and ovaries of the blowfly *Phormia regina* Meig. *J. Insect Physiol.* 10: 103—119.
- [23] Price, G. M., 1973. Protein and nucleic acid metabolism in insect fat body. *Biol. Rev.* 48: 333—375.
- [24] Richardson, K. E. & Thompson, J. S., 1970. L-alanine-glyoxylate aminotransferase, *Methods in Enzymology*, 17: 163—166.
- [25] Rowsell, E. V. et al., 1969. Assay for L-alanine-glyoxylate aminotransferase. *Biochem. J.* 112 (1): 7.

-
- [26] Sekeris, C. E., 1974. Molecular action of insect hormones. In "Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophyly" (ed. W. J. Burdette): 55—78.
- [27] Shigematsu, H., 1960. Protein metabolism in the fat body of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Bull. seric. Exp. Stn Jap.* 16: 141—170.
- [28] Steele, J. E., 1976. Hormonal control of metabolism in insects. *Adv. Insect Physiol.* 12: 239—323.
- [29] Thompson, J. S. & Richardson, K. E., 1967. Isolation and characterization of an L-alanine-glyoxylate aminotransferase from human liver. *J. Biol. Chem.* 242 (16): 3614—3619.
- [30] Weber, K. & Osborn, M., 1969. The reliability of molecular weight determinations by Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 244 (16): 4406—4412.
- [31] Wigglesworth, V. B., 1963. The action of moulting hormone and juvenile hormone at the cellular level in *Rhodnius prolixus*. *J. exp. Biol.* 40: 231—245.
- [32] Wigglesworth, V. B., 1970. Insect hormones. San Francisco: Freeman, 159 pp.