



保幼激素的分子作用机制研究*

周树堂** 郭 伟 宋佳晟

(中国科学院动物研究所 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100101)

摘 要 保幼激素(juvenile hormone, JH)和蜕皮激素(20-hydroxyecdysone, 20E)是协同调控昆虫发育、变态与生殖的两个重要激素。由于20E的主要分子作用机制已经比较明了,揭示JH的分子作用机制成为过去20多年来昆虫学领域研究的一个重点和难点。国内外多个研究团队利用赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*、果蝇 *Drosophila melanogaster*、烟草天蛾 *Manduca sexta* 等为模式,在JH受体的鉴定、JH在昆虫发育变态和生殖中的分子调控机制以及JH与20E在分子水平上的交互作用等方面开展了大量的研究工作,本文就近几年在这些方面取得的主要研究进展作一个综述。

关键词 保幼激素, 受体, 分子机制, 发育变态与生殖, 交互作用

Molecular mechanisms of juvenile hormone action

ZHOU Shu-Tang** GUO Wei SONG Jia-Sheng

(State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology,
Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract Insect development, metamorphosis and reproduction are coordinated and regulated by juvenile hormone (JH) and ecdysone (20-hydroxyecdysone, 20E). However, the molecular mechanisms of JH are poorly understood compared with those of 20E. There has been much research undertaken to identify the bona fide JH nuclear receptor, to elucidate the molecular mechanisms of JH in insect metamorphosis and reproduction, and to elucidate the crosstalk between JH and 20E, using the red flour beetle *Tribolium castaneum*, fruit fly *Drosophila melanogaster*, tobacco hornworm *Manduca sexta* and other insects as model systems. This review highlights the most recent progress in these areas.

Key words juvenile hormone, JH receptor, molecular mechanisms, metamorphosis and reproduction, JH and 20E crosstalk

保幼激素(juvenile hormone, JH)是调控昆虫发育、变态与生殖最为重要的激素之一。在昆虫幼虫至蛹期,保幼激素阻止由蜕皮激素引起的变态,从而使幼虫蜕皮后仍然维持幼虫形态。在幼虫最后一次蜕皮前,保幼激素滴度降低或缺失,导致全变态昆虫化蛹和不全变态昆虫羽化为成虫(Riddiford, 1994)。成虫羽化后,保幼激素又能直接作用于昆虫的生殖过程(Wyatt and Davey, 1996)。因此,保幼激素作用机制的研究一直受到广泛关注。

保幼激素是 Vincent B. Wigglesworth 于 20 世

纪 30 年代在对吸血蝽 *Rhodnius prolixus* 羽化和卵成熟的生理学研究中首次报道(Wigglesworth, 1934, 1936),之后在天蚕蛾 *Hyalophora cecropia* 体内得到分离(Williams, 1956),并由 Röller 等于 1967 年确定了它的倍半萜结构(Röller *et al.*, 1967)。截止目前,至少报道了 6 种天然保幼激素,包括 JH0、JH1、JHII、JHIII、JHB3 (JHIII bisepoxide) 和甲基法尼酯(methyl farnosate, de-epoxide JHIII)。多数种类的昆虫只有 JHIII,鳞翅目昆虫还合成 JH0、JH1 和 JHII,一些双翅目昆虫(例如果蝇)有 JHB3,而蟑螂和一些甲壳类动物中

* 资助项目:国家自然科学基金项目(31172149)、中国科学院“百人计划”择优支持项目。

**通讯作者, E-mail: szhou@ioz.ac.cn

收稿日期:2012-06-25, 接受日期:2012-07-20

甲基法尼酯也发挥作用 (Berger and Dubrovsky, 2005; Minakuchi and Riddiford, 2006; Harshman *et al.*, 2010)。与蜕皮激素 (20-hydroxyecdysone, 20E) 相比, 虽然对保幼激素的分子作用机制的了解仍比较少 (Truman and Riddiford, 2007; Riddiford, 2008), 但在近几年也取得了一些重要进展。本文就保幼激素的受体, 保幼激素在昆虫变态与生殖过程中的分子调控机制, 以及保幼激素与蜕皮激素在分子水平上的交互作用等方面的研究进展作一个综述。

1 保幼激素受体

虽然有文献报道在雄性果蝇 *Drosophila melanogaster* 的附属腺 (Yamamoto *et al.*, 1988) 和吸血蟀的卵泡中 (Sevala and Davey, 1989), 保幼激素可能通过膜受体与蛋白激酶 C (PKC) 发挥作用, 但保幼激素作为一种亲脂性的倍半萜类激素, 它应主要在细胞核中作用于基因的表达和功能。因此, 保幼激素核受体的克隆和鉴定成为过去 20 多年保幼激素分子作用机制研究的重要内容之一。反过来讲, 对保幼激素分子作用机制的了解在很长时间内也受制于保幼激素核受体的鉴定。

近年的研究结果表明, Met (methoprene tolerant) 最有可能是保幼激素的一个核受体, 而 Met 与 Ncoa (NCoA/SRC/p160, FISC 或 Taiman) 的二聚体则可能是保幼激素的功能受体。Met 和 Ncoa 都属于 bHLH-PAS (basic helix-loop-helix Per-Arnt-Sim) 转录因子家族 (Ashok *et al.*, 1998; Moore *et al.*, 2000)。Met 首先报道于果蝇对保幼激素类似物 methoprene 的抗性研究, Met 突变体比正常个体对 methoprene 和 JHIII 具有高达 100 倍的耐受力, 并抑制 methoprene 诱导的假瘤在幼虫中生成, 制约雌成虫卵黄卵母细胞发育 (Wilson and Fabian, 1986)。离体转录翻译的 *Drosophila* Met 与 JHIII 有生理水平上的结合活性 ($K_d = 5.3 \pm 1.5 \text{ nmol/L}$), JH 也能诱导 Met 与 GAL4-DNA 结合域的融合蛋白对 UAS 连接报告基因的转录 (Miura *et al.*, 2005)。但是, Met 缺失的果蝇突变体除了成虫产卵延后、生殖力下降外, 胚后发育却基本正常 (Wilson and Fabian, 1986; Pursley *et al.*, 2000), 这与 Met 作为 JH 受体应有的表型相互矛盾。进一步的研究发现, 果蝇有一个 Met 的旁系同源基因 *gce* (*germ-cell expressed*) (Moore *et al.*,

2000), 它们编码的蛋白在 bHLH 和 PAS 结构域内一致的氨基酸有 60% 以上, 而且 Met 与 Met 或 Met 与 Gce 在 JH 缺失的情况下都能形成二聚体 (Godlewski *et al.*, 2006)。此外, Met 和 Gce 具有部分的功能重叠性, Gce 能显著提高 Met 突变体对 methoprene 的敏感性 (Baumann *et al.*, 2010), 只有 Met 和 Gce 的果蝇双突变体在化蛹时才有致死性 (Abdou *et al.*, 2011)。离体转录翻译的 Gce 与 JHIII 也有生理水平上的亲和力 (Charles *et al.*, 2011)。

在埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 中, Met 在 JH 缺失的情况下形成 Met-Met 同源二聚体, JH 与 Met 结合后引起 Met-Met 同源二聚体分离, 与 Ncoa 通过 PAS 结构域组成异源二聚体, 从而形成 JH 的功能受体, 然后与早胰蛋白酶基因 (*ET*) 启动子区域的 JH 反应元件 (AaJHRE: CCACACGCGAAG) 结合, 诱导 *ET* 的转录 (Li *et al.*, 2011)。此外, 在 L57 细胞中共表达埃及伊蚊的 Met 和 Ncoa, 或者果蝇的 Met、Gce 和 Ncoa, 在 JHIII 诱导后都能激活 AaJHRE 报告基因的表达, 但 Met 或 Gce 单独则不能发挥这样的作用 (Li *et al.*, 2011)。

在赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 中, Ncoa 对 15 个鉴定的 JH 应答基因的表达是必需的, 而且在 Aag-2 细胞中, 激活因子 Ncoa 也与 Met 结合, 参与调控 *Kr-h1* 基因的转录 (Zhang *et al.*, 2011)。对赤拟谷盗 Met 进行 RNA 干扰能造成早熟蛹的出现, 与 JH 缺失的表型一致 (Konopova and Jindra, 2007; Minakuchi *et al.*, 2008)。最近的研究发现, 赤拟谷盗 Met 与 JHIII 也有生理水平上的亲和力 ($K_d = 2.94 \pm 0.68 \text{ nmol/L}$), Met 的 PAS-B 结构域是 JH 和 Ncoa 的结合位点, 对 Met 的 PAS-B 结构域中氨基酸进行突变分析表明, 在 JH 缺失的情况下, Met 与 Met 形成同源二聚体, JH 结合 Met 后, 引起 Met 构象的变化, 促使 Met 同源二聚体分离, 而与 Ncoa 结合 (Charles *et al.*, 2011)。

2 保幼激素调控昆虫变态的分子机制

由 JH 和 20E 协同调控昆虫变态的分子机制一直是昆虫学领域的一个研究重点。大量的研究结果表明, 20E 是通过其受体 EcR/USP (或 RXR) 和早期反应基因如 *E75*、*E74*、*E78*、*HR3*、*HR4*、*HR78*、*Ftz-F1*、*br* (*broad*) 等发挥调控作用而启动昆

虫变态的 (Dubrovsky, 2005; Nakagawa and Henrich, 2009; Spinder *et al.*, 2009; Hiruma and Riddiford, 2009, 2010; Fahrback *et al.*, 2012)。近年来的研究表明, JH 可能通过其受体 Met (或 GCE) /NcoA 及其早期反应基因 *Kr-h1* 发挥其阻止变态或“维持原状 (status quo)”的作用 (Konopova and Jindra, 2007; Charles *et al.*, 2011; Konopova *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011)。其中, *kr-h1* 和 *br* 分别是 JH 和 20E 信号通路中调控全变态昆虫变态的 2 个关键基因。Br 是 N 端具有 BTB (Broad-Tramtrack-Bric-a-brac) 结构域, C 端含有 C2H2 锌指结构的转录因子 (Bayer *et al.*, 1996)。果蝇、赤拟谷盗、烟草天蛾 *Manduca sexta*、家蚕 *Bombyx mori* 等都有多个 Br 同型异构体, 这些同型异构体有各自的时空表达模式, 共同调控昆虫的变态过程 (Bayer *et al.*, 1996; Zhou and Riddiford, 2002)。Br 上调细胞凋亡因子基因 *rpr*、*hid*、*dronc*、*drice* 等, 是启动变态的一个关键转录因子 (Riddiford *et al.*, 2003)。果蝇 *br* 突变体的幼虫不能正常化蛹, 成虫器官包括腿、翅、神经系统、复眼等的发育都受到干扰, 幼虫唾液腺和中肠的程序性细胞死亡也受到抑制 (Bayer *et al.*, 1996, 2003)。在果蝇幼虫和成虫表皮中过表达 Br 的同型异构体 Z1 (Br-Z1), 会导致蛹特征的出现 (Zhou and Riddiford, 2002)。同样, 对家蚕的 *br* 进行 RNA 干扰, 也导致幼虫不能正常化蛹, 出现成虫复眼、翅、腿等的发育缺陷和幼虫丝腺程序性细胞死亡的抑制 (Uhlirva *et al.*, 2003)。在烟草天蛾幼虫蜕皮时, JH 的存在抑制 *br* 的表达, 在 5 龄幼虫末期化蛹前, 20E 在 JH 缺失的情况下诱导 *br* 表达, 从而激活蛹特异表达基因, 此时利用外源 JH 处理可抑制 20E 诱导的 *br* 表达, 从而阻止幼虫化蛹。但是, 在蛹期进行外源 JH 处理反而能够激活 *br* 的表达, 导致蛹表皮的再生和羽化的停滞 (Zhou and Riddiford, 2001, 2002)。*br* 在赤拟谷盗倒数第 2 龄幼虫中的表达量很低, 在末龄幼虫化蛹前达到峰值, 用 JH 类似物 hydroprene 处理赤拟谷盗的倒数第 2 龄幼虫, 可以抑制 *br* 表达, 造成超龄幼虫。对 *br* 进行 RNA 干扰也阻止赤拟谷盗正常化蛹, 形成同时具有幼虫和成虫特征的个体, 但表型会因为 RNA 干扰不同的 Br 同型异构体基因而有差异 (Konopova and Jindra, 2008; Parthasarathy *et al.*, 2008; Suzuki *et al.*, 2008)。

Kr-h1 属于 C2H2 锌指结构的转录因子, 在果蝇腹部表皮中异位表达 *Kr-h1* 与使用 JH 类似物 pyriproxyfen 处理后的表型相似, 说明 *Kr-h1* 参与 JH 的信号通路 (Pecasse *et al.*, 2000; Minakuchi *et al.*, 2008)。进一步研究发现, 在果蝇变态过程中, JH 通过 Met 和 Gce 上调 *Kr-h1* 的表达, 而 *Kr-h1* 则抑制 *br* 的表达 (Abdou *et al.*, 2011)。在赤拟谷盗中, 与 *br* 仅在末龄幼虫的后期高表达不同, *Met* 和 *Kr-h1* 在幼虫期持续转录。虽然 *Met* 的 mRNA 水平在各发育阶段没有显著的变化, 但 *Kr-h1* 的转录水平在末龄幼虫的中期出现部分变态 (翅显现) 时有一个低峰, 然后迅速升高, 并在蛹期缺失 (Minakuchi *et al.*, 2009)。在赤拟谷盗倒数第 2 龄幼虫期, 利用 RNAi 干扰 *Met* 或 *Kr-h1* 转录能导致早熟蛹的出现, 与此时 RNA 干扰一个 JH 合成途径中甲基转移酶基因 (*JHAMT*) 而人为切断 JH 合成途径造成 JH 缺失的表型一致。并且, JH 也通过 Met 调节 *Kr-h1* 的转录, 进而影响 *br* 的表达 (Konopova and Jindra, 2007, 2008; Parthasarathy *et al.*, 2008; Minakuchi *et al.*, 2009)。

与全变态昆虫中 *br* 仅表达于变态期不同, 不全变态的乳草蝽 *Oncopeltus fasciatus* 从胚胎至倒数第 2 龄若虫期 *br* 都会持续转录, 在孵化和若虫蜕皮时会出现峰值, 但在末龄若虫羽化时缺失。对 *br* 进行 RNA 干扰不阻止若虫的蜕皮, 但会影响若虫翅芽的发育 (Erezyilmaz *et al.*, 2006, 2009)。在始红蝽 *Pyrrhocoris apterus* 中, *Met*、*Kr-h1*、*br* 在胚胎和若虫期都一直表达, 其中 *br* 和 *Met* 的 mRNA 水平在若虫的龄期间没有明显的变化, 而 *Kr-h1* 在末龄若虫期的转录水平则非常低 (Konopova *et al.*, 2011)。在倒数第 2 龄若虫期, 对 *Met* 或 *Kr-h1* 进行 RNA 干扰能导致成虫色斑、翅膀和性器官的提前出现, 但对 *br* 进行 RNA 干扰并不导致成虫特征的早现。在末龄若虫期, 外源 methoprene 处理能诱导依赖于 Met 的 *Kr-h1* 表达并形成超龄若虫, 而在 methoprene 处理前对 *Met* 或 *Kr-h1* 进行 RNA 干扰可以恢复比较正常的成虫发育 (Konopova *et al.*, 2011)。与乳草蝽不同, 但与始红蝽相似, 德国小蠊 *Blattella germanica* 末龄若虫中的 *Kr-h1* 的 mRNA 水平也非常低, 但不缺失, 在倒数第 2 龄或倒数第 3 龄若虫中进行 *Kr-h1* 的 RNA 干扰都能造成早熟成虫 (Belles, 2011; Lozano and Belles, 2011)。

Minakuchi 等 (2011) 报道, 西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 和捕食性蓟马 *Haplothrips brevitubus* 胚胎期 *br* 的转录水平偏高, 这与乳草蓟、始红蓟和德国小蠊胚胎期的 *br* 表达模式相似。但是, 蓟马胚后发育的 *br* 表达模式则像全变态昆虫, 即 *br* 在末龄幼虫前转录水平超低, 在化蛹 (伪蛹) 时出现最高峰。*Kr-h1* 的转录水平在胚胎期非常高, 幼虫和前蛹期低, 蛹期超低, 这种表达模式也与全变态昆虫相似。用 pyriproxyfen 处理幼虫、前蛹和早期蛹都能导致蛹期死亡, 而且处理前蛹提高 *Kr-h1* 和 *br* 的蛹期转录水平, 但仍能发育为蛹。虽然蓟马的末龄幼虫中 *Kr-h1* mRNA 水平降低伴随着 *br* mRNA 水平升高, 但因为目前在蓟马中缺乏有效的 RNAi 技术, 目前尚不能明确 *Kr-h1* 和 *br* 在蓟马变态发育中的功能。

3 保幼激素调控昆虫生殖的分子机制

JH 不但在昆虫胚后发育的蜕皮、变态过程中起阻止变态或“维持原状”的作用, 而且还在昆虫生殖过程中起着非常重要的作用。JH 调控昆虫卵黄原蛋白 (Vg) 和生殖过程有几种类型: 一些昆虫如飞蝗 *Locusta migratoria*、德国小蠊等的 Vg 由 JH 诱导, 主要在脂肪体中合成; 双翅目的果蝇、实蝇等的 Vg 转录是 JH 和 20E 共同参与, 并且在脂肪体和卵巢的卵泡细胞中都表达; 在蚊子如埃及伊蚊中, JH 仅调控吸血前的脂肪体活性, 是 20E 诱导吸血后 Vg 在脂肪体内的合成; 一些鳞翅目、鞘翅目昆虫的 Vg 表达和生殖过程可能需要 JH 或者 JH、20E 及其它激素或因子的共同参与 (Wyatt and Davey, 1996; Tufail and Takeda, 2008; Chen *et al.*, 2012)。

虽然早期的研究积累已证明, JH 能够调控 Vg 的合成、卵母细胞对卵黄原蛋白的吸收以及卵母细胞的成熟 (Wyatt and Davey, 1996), 但对其中的分子机制仍很不清楚, 在分子水平上开展的研究也不多。如上所述, JH 调控埃及伊蚊羽化后至吸血前即卵黄生成前期的生殖过程, 可以激活包括 *Kr-h1*、*ET* 在内的多个基因的转录 (Zhu *et al.*, 2010)。而且, 进一步的研究发现 JH 可以通过其受体 Met/Ncoa 与 *ET* 基因上游的 JH 反应元件结合, 启动 *ET* 的转录 (Li *et al.*, 2011)。在赤拟谷盗的生殖过程中, JH 调控 Vg 生成, 20E 调控卵巢发

育和卵母细胞成熟, 而营养因子通过胰岛素样肽 (insulin-like peptides, ILPs) 和 TOR 信号通路在 Vg 生成和卵母细胞发育中都发挥重要作用 (Parthasarathy *et al.*, 2010a, 2010b; Sheng *et al.*, 2011)。JH 上调 *ILP* 的表达, 并通过 ILP 信号通路磷酸化 FOXO, FOXO 能够与 Vg 上游的反应元件结合而诱导 Vg 的转录 (Sheng *et al.*, 2011)。我们的研究发现, 飞蝗的 Vg 合成和卵巢发育都是由 JH 调控的, JH 上调 *Ncoa*、*Kr-h1*、*E75*、*FTZ-F1* 的表达, 对 *Met* 或 *Kr-h1* 进行 RNA 干扰能够抑制 Vg 的转录和卵巢发育, 与利用早熟素 (precocene) 剥夺内源 JH 合成所造成的表型一致 (未发表数据), 表明 JH 在飞蝗中可能通过 Met、*Kr-h1* 直接或间接地调控 Vg 在脂肪体内的合成。

4 保幼激素和蜕皮激素的交互作用

越来越多的研究结果显示, JH 和 20E 通过多个转录因子或激活因子, 如 *Ncoa*、*USP*、*FTZ-F1*、*E75* 等交互作用 (crosstalk)。如前所述, 共激活因子 *Ncoa* 与 *Met* 或 *Gce* 结合形成的异源二聚体是 JH 的功能受体, 同时 *Ncoa* 也与 20E 的受体 *EcR*/*USP* 结合构成 20E 功能受体的复合体。在赤拟谷盗末龄幼虫或 *Aag-2* 细胞中, *Ncoa* 基因沉默既干扰 JH 诱导的 *Kr-h1* 转录, 也干扰 20E 诱导的 *HR3*、*E75* 和 *br* 基因的表达 (Zhang *et al.*, 2011)。在埃及伊蚊中进行 *Ncoa* RNAi, 在显著降低 JH 调控基因 *Kr-h1*、*ET* 和 *AAEL001619* 表达水平的同时, 也显著降低 20E 诱导的 *E75*、*E74* 和 *Vg* 的转录水平 (Zhu *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2011)。因此, *Ncoa* 如同 JH 受体和 20E 受体间的一个桥梁, 在 JH 和 20E 信号通路中起双重作用。

USP 是报道的 JH 另外一个候选受体, 在 JH 信号通路中也发挥作用。JHIII 与 *USP* 的同源二聚体结合后, *USP* 的构像能发生明显的变化 (Jones and Sharp, 1997), 但它们的结合活性较低 ($K_d \approx 500$ nmol/L)。虽然 *USP* 与甲基法尼酯有比较高的结合活性 ($K_d \approx 40$ nmol/L) (Jones *et al.*, 2006), 但仍然远高于公认的配体和受体结合活性的生理水平。酵母双杂交和 GST pull-down 显示, *USP* 可以与 *Met* 结合并作用于报告基因的转录, 但在这种情况下 JH 不起诱导转录的作用 (Bitra and Palli, 2009)。另外, *EcR*/*USP* 也能通过 *FKBP39* 和 *Chd64* 与 *Met* 结合 (Li *et al.*, 2007)。

在蜜蜂 *Apis mellifera* 脂肪体中, JH 上调 *usp* 的转录水平 (Barchuk *et al.*, 2004), 在 85 个与行为相关的 *usp* 反应基因中有 42 个受 methoprene 调控, 其中 33 个基因的表达受 *usp* RNAi 的下调和 methoprene 的上调, 有 3 个基因的表达在 *usp* RNAi 后不受 methoprene 的诱导, 并且顺式调控序列分析预测的 USP 结合位点 (GGGGTCACS) 和 Met 等 bHLH-PAS 转录因子的结合位点 (GRCACGCKVS) 相互重叠 (Ament *et al.*, 2012)。结合 Li 等 (2007) 的研究结果, Ament 等 (2012) 作者推测 USP 可能与 Met、EcR、FKBP39、CHD64 构成复合体, 参与 JH 调控的 *E75*、*Hr46* 等 JH 反应基因的转录。但是, JH 刺激表达的蜜蜂卵黄蛋白原基因并不受 USP 的影响, 说明在这种情况下 JH 不通过 USP 发挥作用 (Barchuk *et al.*, 2008)。

在果蝇唾液腺中, 20E 通过 EcR/USP 诱导的一些基因表达需要 PKC 介导的 USP 磷酸化 (Sun and Song, 2006)。HaCal, 棉铃虫中一个具有 Calponin 保守结构域 (Chd; 或肌动蛋白结合域) 并与果蝇 Chd64 有高度保守性的蛋白, 通过磷酸化和非磷酸化的状态与 USP 互动, 分别参与 20E 或 JH 的信号通路中 (Liu *et al.*, 2011)。在棉铃虫表皮细胞株 HaEpi 中, 由 20E 诱导、PKC 磷酸化的 HaCal 不与磷酸化的 USP 结合, 而 methoprene 维持 HaCal 的非磷酸化, 并与非磷酸化的 USP 结合而参与到 JH 的信号通路中。在棉铃虫幼虫中对 HaCal 进行 RNA 干扰, 影响 *usp*、*HR3* 以及 methoprene 诱导基因 *JHi* 的转录水平, 导致幼虫发育滞后、体型变小 (Liu *et al.*, 2011)。

在烟草天蛾表皮中, JH 可以提高 20E 诱导的 *E75A* 表达水平, 但 JH 单独并不直接诱导 *E75A* 基因的转录 (Riddiford *et al.*, 2003)。在果蝇 S2 细胞中, FTZ-F1 可结合 *E75A* 基因上游的增强子区域, 同时 FTZ-F1 能与 Met 或 Gce 结合, 起活性因子的作用协助 JH 的受体结合在 *E75A* 的启动子区域, 调控 *E75A* 的转录水平 (Dubrovsky *et al.*, 2004, 2011; Bernardo and Dubrovsky, 2012)。FTZ-F1 在蚊子吸血后的生殖过程中也起活性因子的作用, 对 *FTZ-F1* 进行 RNA 干扰降低 20E 调控的 *EcR*、*E74*、*E75*、*Vg* 的表达水平, 而且 FTZ-F1 与 NcoA 结合可以帮助 NcoA 被募集到 EcR/USP 形成受体复合体, 与 *Vg* 基因上游的 20E 反应元件结合, 诱导 *Vg* 的转录 (Zhu *et al.*, 2003, 2006)。

5 小结与展望

综上所述, JH 在昆虫发育、变态和生殖过程中发挥着关键的作用, 20E 诱导昆虫的蜕皮、变态, 而 JH 决定昆虫蜕皮的性质。近年对保幼激素分子作用机制的研究, 特别是在 JH 受体、JH 调控昆虫胚后发育与变态、以及 JH 与 20E 的交互作用等方面都取得了重要的进展。Met (果蝇中包括 Gce) 已被鉴定为 JH 最有可能的受体, Met/NcoA 二聚体可能为 JH 的功能受体。Kr-h1 和 Br 是昆虫发育、变态过程中分别传递 JH 和 20E 信号的 2 个重要转录因子。在全变态昆虫的变态过程中, JH 通过 Met 和 Kr-h1 负向调控 20E 诱导的 *br* 表达, 末龄幼虫中 *Kr-h1* 的表达缺失和 *br* 的高表达是全变态昆虫化蛹的必要条件。全变态昆虫的蛹期和不全变态昆虫的末龄若虫期, 因 JH 滴度降低或缺失而引起的 *Kr-h1* 表达缺失是成虫羽化的必要条件。另外, JH 和 20E 通过 NcoA、USP、FTZ-F1、E75 等多个转录因子或激活因子交互作用。尽管以上的研究对 JH 分子作用机制的了解仍有很多的空白, 例如, 除 Met 或 Gce 以外, JH 是否还有其它的受体? Met 是如何调控 *Kr-h1* 的表达, Kr-h1 又是如何抑制 *br* 表达的? JH-Met-Kr-h1 的调控模式在 JH 调节胚胎发育、胚后发育和变态以及生殖过程中是否保守? 还有哪些重要的基因参与 JH 的信号通路? 相关的基因如何形成紧密联系的级联反应或调控网络? Daimon 等 (2012) 最近报道, 家蚕中缺少一个 P450 环氧化物 (CYP15C1) 而不能合成 JH 的 *dimolting* (*mod*) 突变体在 2 龄幼虫后仍能发育为早熟蛹, 暗指家蚕的低龄幼虫可能对 JH 的缺失不敏感。这与传统认为的 JH 阻止变态或“维持现状”的作用有矛盾, 是否意味着 JH 还有其它的功能和作用机制? 对 JH 分子作用机制更深入的研究, 将更有助于我们进一步了解昆虫生长发育快、繁殖量大、蜕皮变态等特点的内在因素, 为更好地利用有益昆虫以及寻找害虫防治的新靶点、新方法奠定更好的理论基础。

参考文献 (References)

- Abdou MA, He Q, Wen D, Zyaan O, Wang J, Xu J, Baumann AA, Joseph J, Wilson TG, Li S, Wang J, 2011. *Drosophila* Met and Gce are partially redundant in transducing juvenile hormone action. *Insect Biochem. Mol.*

- Biol.*, 41 (12) :938—945.
- Ament SA, Wang Y, Chen CC, Blatti CA, Hong F, Liang ZS, Negre N, White KP, Rodriguez-Zas SL, Mizzen CA, Sinha S, Zhong S, Robinson GE, 2012. The transcription factor ultraspiracle influences honey bee social behavior and behavior-related gene expression. *PLoS Genet.*, 8 (3) : e1002596.
- Ashok M, Turner C, Wilson TG, 1998. Insect juvenile hormone resistance gene homology with the bHLH-PAS family of transcriptional regulators. *PNAS*, 95 (6) :2761—2766.
- Barchuk AR, Figueiredo VL, Simoes ZL, 2008. Down regulation of ultraspiracle gene expression delays pupal development in honeybees. *J. Insect Physiol.*, 54 (6) : 1035—1040.
- Barchuk AR, Maleszka R, Simoes ZL, 2004. *Apis mellifera* ultraspiracle: cDNA sequence and rapid up-regulation by juvenile hormone. *Insect Mol. Biol.*, 13 (5) :459—467.
- Baumann A, Barry J, Wang S, Fujiwara Y, Wilson TG, 2010. Paralogous genes involved in juvenile hormone action in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 185 (4) :1327—1336.
- Bayer C, Zhou X, Zhou B, Riddiford LM, Kalm L, 2003. Evolution of the *Drosophila* broad locus: the *Manduca sexta* broad Z4 isoform has biological activity in *Drosophila*. *Dev. Genes Evol.*, 213 (10) :471—476.
- Bayer CA, Holley B, Fristrom JW, 1996. A switch in Broad-Complex zinc-finger isoform expression is regulated posttranscriptionally during the metamorphosis of *Drosophila* imaginal discs. *Dev. Biol.*, 177 (1) :1—14.
- Belles X, 2011. Origin and evolution of insect metamorphosis. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd. doi: 10.1002/9780470015902.a0022854.
- Berger EM, Dubrovsky EB, 2005. Juvenile hormone molecular actions and interactions during development of *Drosophila melanogaster*. *Vitam. Horm.*, 73:175—215.
- Bernardo T, Dubrovsky EB, 2012. The *Drosophila* juvenile hormone receptor candidates Methoprene-tolerant, MET, and Germ cell-expressed, GCE, utilize a conserved LxxL motif to bind the FTZ-F1 nuclear receptor. *J. Biol. Chem.*, 287 (10) :7821—7833.
- Bitra K, Palli SR, 2009. Interaction of proteins involved in ecdysone and juvenile hormone signal transduction. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 70 (2) :90—105.
- Charles JP, Iwema T, Epa VC, Takaki K, Rynes J, Jindra M, 2011. Ligand-binding properties of a juvenile hormone receptor, Methoprene-tolerant. *PNAS*, 108 (52) :21128—21133.
- Chen SL, Lin CP, Lu KH, 2012. cDNA isolation, expression, and hormonal regulation of yolk protein genes in the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). *J. Insect Physiol.*, 58 (6) :763—770.
- Daimon T, Kozaki T, Niwa R, Kobayashi I, Furuta K, Namiki T, Uchino K, Banno Y, Katsuma S, Tamura T, Mita K, Sezutsu H, Nakayama M, Itoyama K, Shimada T, Shinoda T, 2012. Precocious metamorphosis in the juvenile hormone-deficient mutant of the silkworm, *Bombyx mori*. *PLoS Genet.*, 8 (3) :e1002486.
- Dubrovsky EB, 2005. Hormonal cross-talk in insect development. *Trends Endocrinol. Metab.*, 16 (1) :6—11.
- Dubrovsky EB, Dubrovskaya VA, Berger EM, 2004. Hormonal regulation and functional role of *Drosophila* E75A orphan nuclear receptor in the juvenile hormone signaling pathway. *Dev. Biol.*, 268 (2) :258—270.
- Dubrovsky EB, Dubrovskaya VA, Bernardo T, Otte V, DiFilippo R, Bryan H, 2011. The *Drosophila* FTZ-F1 nuclear receptor mediates juvenile hormone activation of E75A gene expression through an intracellular pathway. *J. Biol. Chem.*, 286 (38) :33689—33700.
- Erezylmaz DF, Riddiford LM, Truman JW, 2006. The pupal specifier broad directs progressive morphogenesis in a direct-developing insect. *PNAS*, 103 (18) :6925—6930.
- Erezylmaz DF, Rynerson MR, Truman JW, Riddiford LM, 2009. The role of the pupal determinant broad during embryonic development of a direct-developing insect. *Dev. Genes Evol.*, 219 (11/12) :535—544.
- Fahrbach SE, Smagghe G, Velarde RA, 2012. Insect nuclear receptors. *Annu. Rev. Entomol.*, 57 (1) :83—106.
- Godlewski J, Wang S, Wilson TG, 2006. Interaction of bHLH-PAS proteins involved in juvenile hormone reception in *Drosophila*. *Biochem. Biophys Res. Comm.*, 342 (4) : 1305—1311.
- Harshman LG, Song K, Casas J, Schuurmans A, Kuwano E, Kachman SD, Riddiford LM, Hammock BD, 2010. Bioassays of compounds with potential juvenoid activity on *Drosophila melanogaster*: juvenile hormone III, bisepoxide juvenile hormone III and methyl farnesoates. *J. Insect Physiol.*, 56 (10) :1465—1470.
- Hiruma K, Riddiford LM, 2010. Developmental expression of mRNAs for epidermal and fat body proteins and hormonally regulated transcription factors in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *J. Insect Physiol.*, 56 (10) :1390—1395.
- Hiruma K, Riddiford LM, 2009. The molecular mechanisms of cuticular melanization: The ecdysone cascade leading to

- dopa decarboxylase expression in *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 39 (4) :245—253.
- Jones G, Jones D, Teal P, Sapa A, Wozniak M, 2006. The retinoid-X receptor ortholog, ultraspiracle, binds with nanomolar affinity to an endogenous morphogenetic ligand. *FEBS J.*, 273 (21) :1—14.
- Jones G, Sharp PA, 1997. Ultraspiracle: an invertebrate nuclear receptor for juvenile hormones. *PNAS*, 94:13499—13503.
- Konopova B, Jindra M, 2007. Juvenile hormone resistance gene Methoprene-tolerant controls entry into metamorphosis in the beetle *Tribolium castaneum*. *PNAS*, 104 (25) :10488—10493.
- Konopova B, Jindra M, 2008. Broad-Complex acts downstream of Met in juvenile hormone signaling to coordinate primitive holometabolous metamorphosis. *Development*, 135 (3) :559—568.
- Konopova B, Smykal V, Jindra M, 2011. Common and distinct roles of juvenile hormone signaling genes in metamorphosis of holometabolous and hemimetabolous Insects. *PLoS ONE*, 6:e28728.
- Li M, Mead EA, Zhu J, 2011. Heterodimer of two bHLH-PAS proteins mediates juvenile hormone-induced gene expression. *PNAS*, 108 (2) :638—643.
- Li Y, Zhang Z, Robinson GE, Palli SR, 2007. Identification and characterization of a juvenile hormone response element and its binding proteins. *J. Biol. Chem.*, 282 (52) :37605—37617.
- Liu PC, Wang JX, Song QS, Zhao XF, 2011. The participation of calponin in the cross talk between 20-hydroxyecdysone and juvenile hormone signaling pathways by phosphorylation variation. *PLoS ONE*, 6 (5) :e19776.
- Lozano J, Belles X, 2011. Conserved repressive function of Krüppel homolog 1 on insect metamorphosis in hemimetabolous and holometabolous species. *Sci. Rep.*, 1:163.
- Minakuchi C, Namiki T, Shinoda T, 2009. Krüppel homolog 1, an early juvenile hormone-response gene downstream of Methoprene-tolerant, mediates its anti-metamorphic action in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Dev. Biol.*, 325 (2) :341—350.
- Minakuchi C, Namiki T, Yoshiyama M, Shinoda T, 2008. RNAi-mediated knockdown of juvenile hormone acid O-methyltransferase gene causes precocious metamorphosis in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *FEBS J.*, 275 (11) :2919—2931.
- Minakuchi C, Riddiford M, 2006. Insect juvenile hormone action as a potential target of pest management. *J. Pestic. Sci.*, 31 (2) :77—84.
- Minakuchi C, Tanaka M, Miura K, Tanaka T, 2011. Developmental profile and hormonal regulation of the transcription factors broad and Krüppel homolog 1 in hemimetabolous thrips. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 41 (2) :125—134.
- Minakuchi C, Zhou X, Riddiford LM, 2008. Krüppel homolog 1, Kr-h1, mediates juvenile hormone action during metamorphosis of *Drosophila melanogaster*. *Mech. Dev.*, 125 (1/2) :91—105.
- Miura K, Oda M, Makita S, Chinzei Y, 2005. Characterization of the *Drosophila* Methoprene - tolerant gene product: juvenile hormone binding and ligand-dependent gene regulation. *FEBS J.*, 272 (5) :1169—1178.
- Moore AW, Barbel S, Jan LY, Jan YN, 2000. A genomewide survey of basic helix-loop-helix factors in *Drosophila*. *PNAS*, 97 (19) :10436—10441.
- Nakagawa Y, Henrich VC, 2009. Arthropod nuclear receptors and their role in molting. *FEBS J.*, 276 (21) :6128—6157.
- Parthasarathy R, Sheng Z, Sun Z, Palli SR, 2010a. Ecdysteroid regulation of ovarian growth and oocyte maturation in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 40 (6) :429—439.
- Parthasarathy R, Sun Z, Bai H, Palli SR, 2010b. Juvenile hormone regulation of vitellogenin synthesis in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 40 (5) :405—414.
- Parthasarathy R, Tan A, Bai H, Palli SR, 2008. Transcription factor broad suppresses precocious development of adult structures during larval-pupal metamorphosis in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Mech. Dev.*, 125 (3/4) :299—313.
- Pecasse F, Beck Y, Ruiz C, Richards G, 2000. Krüppel-homolog, a stage-specific modulator of the prepupal ecdysone response, is essential for *Drosophila* metamorphosis. *Dev. Biol.*, 221 (1) :53e67.
- Pursley S, Ashok M, Wilson TG, 2000. Intracellular localization and tissue specificity of the Methoprene-tolerant, *Met*, gene product in *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 30 (8/9) :839—845.
- Riddiford LM, 1994. Cellular and molecular actions of juvenile hormone. I. General considerations and premetamorphic actions. *Adv. Insect Physiol.*, 24:213—274.

- Riddiford LM, 2008. Juvenile hormone action: A 2007 perspective. *J. Insect Physiol.*, 54 (6) :895—901.
- Riddiford LM, Hiruma K, Zhou X, Nelson CA, 2003. Insights into the molecular basis of the hormonal control of molting and metamorphosis from *Manduca sexta* and *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33 (12) :1327—1338.
- Röller H, Daham KH, Sweely CC, Trost BM, 1967. The structure of the juvenile hormone. *Angew. Chem. Int. Edit.*, 6 (2) :179—180.
- Sevala VL, Davey K, 1989. Action of juvenile hormone on the follicle cells of *Rhodnius prolixus*: evidence for a novel regulatory mechanism involving protein kinase C. *Experientia*, 45 (4) :355—356.
- Sheng Z, Xu J, Bai H, Zhu F, Palli SR, 2011. Juvenile hormone regulates vitellogenin gene expression through insulin-like peptide signaling pathway in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *J. Biol. Chem.*, 286 (49) :41924—41936.
- Spindler K, Hönl C, Tremmel C, Braun S, Ruff H, Spindler-Barth M, 2009. Ecdysteroid hormone action. *Cell Mol. Life Sci.*, 66 (24) :3837—3850.
- Sun X, Song Q, 2006. PKC-mediated USP phosphorylation is required for 20E-induced gene expression in the salivary glands of *Drosophila melanogaster*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 62 (3) :116—127.
- Suzuki Y, Truman JW, Riddiford LM, 2008. The role of Broad in the development of *Tribolium castaneum*: implications for the evolution of the holometabolous insect pupa. *Development*, 135 (3) :569—577.
- Truman JW, Riddiford LM, 2007. The morphostatic actions of juvenile hormone. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 37 (8) :761—770.
- Tufail M, Takeda M, 2008. Molecular characteristics of insect vitellogenins. *J. Insect Physiol.*, 54 (12) :1447—1458.
- Uhlirova M, Foy BD, Beaty BJ, Olson KE, Riddiford LM, Jindra M, 2003. Use of Sindbis virus-mediated RNA interference to demonstrate a conserved role of Broad-Complex in insect metamorphosis. *PNAS*, 100 (26) :15607—15612.
- Wigglesworth VB, 1934. The physiology of ecdysis in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). II. Factors controlling moulting and metamorphosis. *Quart. J. Micr. Sci.*, 77: 191—222.
- Wigglesworth VB, 1936. The function of the corpus allatum in the growth and reproduction of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). *Quart. J. Micr. Sci.*, 79:91—121.
- Williams CM, 1956. The juvenile hormone of insects. *Nature*, 178 (4526) :212—213.
- Wilson TG, Fabian J, 1986. A *Drosophila melanogaster* mutant resistant to a chemical analog of juvenile hormone. *Dev. Biol.*, 118 (1) :190—201.
- Wyatt GR, Davey KG, 1996. Cellular and molecular actions of juvenile hormone. II. Roles of juvenile hormone in adult insects. *Adv. Insect Physiol.*, 26:1—155.
- Yamamoto K, Chadarevian A, Pellegrini M, 1988. Juvenile hormone action mediated in male accessory glands of *Drosophila* by calcium and kinase C. *Science*, 239 (4842) :916—919.
- Zhang Z, Xu J, Sheng Z, Sui Y, Palli SR, 2011. Steroid receptor co-activator is required for juvenile hormone signal transduction through a bHLH-PAS transcription factor, *Methoprene tolerant*. *J. Biol. Chem.*, 286 (10) :8437—8447.
- Zhou B, Riddiford LM, 2001. Hormonal regulation and patterning of the Broad-Complex in the epidermis and wing discs of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Dev. Biol.*, 231 (1) :125—137.
- Zhou X, Riddiford LM, 2002. Broad specifies pupal development and mediates the ‘status quo’ action of juvenile hormone on the pupal-adult transformation in *Drosophila* and *Manduca*. *Development*, 129 (9) :2259—2269.
- Zhu J, Busche JM, Zhang X, 2010. Identification of juvenile hormone target genes in the adult female mosquitoes. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 40 (1) :23—29.
- Zhu J, Chen L, Raikhel AS, 2003. Posttranscriptional control of the competence factor betaFTZ-F1 by juvenile hormone in the mosquito *Aedes aegypti*. *PNAS*, 100 (23) :13338—13343.
- Zhu J, Chen L, Sun G, Raikhel AS, 2006. The competence factor β Ftz-F1 potentiates ecdysone receptor activity via recruiting a p160/SRC coactivator. *Mol. Cell Biol.*, 26 (24) :9402—9412.