

昆虫神经肽 SIFamide 及其受体的研究进展*

令狐俊洪^{1**} 龚 伟¹ 罗丽林^{1,2} 乙天慈¹ 桂顺华^{1***} 刘同先¹

(1. 贵州大学昆虫研究所, 贵州省山地农业病虫害重点实验室, 贵阳 550025; 2. 贵州省生物研究所, 贵阳 550025)

摘 要 昆虫神经肽是昆虫细胞通讯中重要的化学信号, 在昆虫的生长发育、代谢、行为等生命过程中起着至关重要的作用。昆虫神经肽 SIFamide (SIFa) 是由 10-15 个氨基酸残基组成的短肽, 其羧基端为保守的-SIFamide (-amide 表示酰胺化) 结构。SIFa 主要由昆虫脑间部的 4 个神经元分泌, 并通过激活特异性 G 蛋白偶联受体 SIFa receptor (SIFaR) 参与调节昆虫求偶、睡眠、摄食等行为。本文概述了 SIFa 及 SIFaR 的发现与分布、结构特征及生理功能等方面研究进展, 并对以 SIFa/SIFaR 信号通路为靶标的新型农药制剂进行了展望。

关键词 昆虫神经肽; SIFamide; SIFamide 受体; 功能研究; 研究进展

Progress in research on the insect neuropeptide SIFamide and its receptor

LINGHU Jun-Hong^{1**} GONG Wei¹ LUO Li-Lin^{1,2} YI Tian-Ci¹
GUI Shun-Hua^{1***} LIU Tong-Xian¹

(1. Guizhou Provincial Key Laboratory for Agricultural Pest Management of the Mountainous Region, Institute of Entomology, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Institute of Biology, Guiyang 550025, China)

Abstract Insect neuropeptides play a vital role in chemical communication between cells, and consequently in growth, metabolism and behavior. The insect neuropeptide SIFamide (SIFa) is a short peptide comprised of 10-15 amino acid residues with a conserved ‘-SIFamide’ motif at the carboxyl terminus. SIFa is mainly secreted from the four pars intercerebralis neurons of brain, and is involved in the regulation of courtship, sleep and feeding behaviors via activation of the specific G protein-coupled receptor (SIFa receptor, SIFaR). Here, we summarize progress in research on the structural characteristics and physiological functions of SIFa and its receptor, and review the prospects of developing specific pesticides targeting the SIFa/SIFaR pathway to control important insect pests.

Key words insect neuropeptides; SIFamide; SIFamide receptor; functional studies; research progress

昆虫神经肽是由神经系统或外周内分泌系统分泌的一类微量小分子生物活性肽, 其广泛存在于中枢神经系统 (Central nervous system, CNS)、外周神经系统 (Peripheral nervous system, PNS) 以及唾液腺 (Salivary gland, SG)、肠道等组织, 并具有含量低、活性高、作用广泛而复杂等特点 (Nässel and Zandawala, 2019)。昆虫

神经肽功能研究多集中于模式生物黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*。大量功能研究表明, 昆虫神经肽以神经递质、神经激素、神经调质或细胞因子等形式激活其特异性受体, 参与调节昆虫的生长发育、蜕皮和变态以及交配和繁殖等生命过程 (Nässel and Zandawala, 2019, 2022; Nässel *et al.*, 2019; Okamoto and Watanabe, 2022)。

*资助项目 Supported projects: 贵州省教育厅高等学校科学研究项目 (青年项目) (黔教技〔2022〕114号); 贵州省基础 Research 计划 (科学技术基金) 项目 (黔科合基础-ZK[2022]一般 051)

**第一作者 First author, E-mail: jh_linghu@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: shgui3@gzu.edu.cn

收稿日期 Received: 2022-11-16; 接受日期 Accepted: 2023-04-28

昆虫神经肽受体大多属于 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptors, GPCRs) (Larhammar *et al.*, 1993)。GPCRs 结构十分保守, 均由胞外氨基 (N) 端、7 个跨膜结构域和胞内羧基 (C) 端组成 (Pierce *et al.*, 2002)。GPCRs 检测到神经肽等胞外信号后, 激活 G 蛋白, 进而启动环磷酸腺苷、三磷酸肌醇 (Inositol triphosphate, IP_3)、二酰甘油、钙离子信号 (Calcium, Ca^{2+}) 等级联反应, 引起细胞功能状态的变化 (Pierce *et al.*, 2002; Rosenbaum *et al.*, 2009)。若通路中 Ca^{2+} 充当第二信使时, GPCRs 激活 G 蛋白后, 进而激活磷脂酶 C (Phospholipase C, PLC), PLC 启动 IP_3/Ca^{2+} 级联反应, 使得 Ca^{2+} 进入细胞, 激发一系列的细胞反应, 引起生物体相应的生理行为反应 (Stables *et al.*, 1997; Pierce *et al.*, 2002)。

神经肽 SIFamide (SIFa) 是一个具有 10-15 个氨基酸残基的短肽, 其 C 端具有 -SIFamide (-amide 表示酰胺化) 保守结构。该肽最初于多美麻蝇 *Sarcophaga* (*Neobellieria*) *bullata* 中发现, 但随后的研究主要集中于黑腹果蝇。本文综述昆虫 SIFa 及其受体 (SIFa receptor, SIFaR) 的发现与分布、结构特征、生理功能等方面研究进展, 以期对神经肽/受体, 特别是 SIFa 及其受体的相关研究与功能应用提供参考。

1 SIFa 及其受体的发现与分布

1.1 SIFa 的发现

1992 年, Fónagy 等运用高效液相色谱方法从 4.2 万只多美麻蝇脑中鉴定出若干亲肌活性肽 (Myotropic peptides, 也称肌向兴奋肽, 这些肽大多具有调节肌肉收缩的功能) (Fónagy *et al.*, 1992a, 1992b)。随后, Janssen 等 (1996) 通过电喷雾质谱法测定得到其中一个亲肌活性肽的分子量为 1 395.82 Da, 并通过串联四极杆质谱、毛细管电泳联用方法获得该多肽的一级结构为 AYRKPPFNGSLFamide。由于该多肽 C 端具有“亮氨酸 (Leucine, Leu/L) - 苯丙氨酸 (Phenylalanine, Phe/F)” 结构及酰胺化修饰, 故被命名为 Neb-LFamide (Neb-LFa)。Verleyen 等 (2004) 在黑腹果蝇中发现 Neb-LFamide 的同系物, 其一

级结构为 AYRKPPFNGSIFamide, 并命名为 Drm-SIFamide (Drm-SIFa)。Drm-SIFa 与 Neb-LFa 相比, C 端亮氨酸 (L) 残基被异亮氨酸 (Isoleucine, Ile/I) 残基取代。随后, 在意大利蜜蜂 *Apis mellifera* (Audsley and Weaver, 2006)、家蚕 *Bombyx mori* (Roller *et al.*, 2008)、赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* (Li *et al.*, 2008; Binzer *et al.*, 2014) 等昆虫中相继发现了 Drm-SIFa 同系物, 并延续了 SIFamide 的命名方式。

1.2 SIFa 的分泌与分布

SIFa 发现之初, 研究人员利用免疫组织化学 (Immunohistochemistry, IHC) 或原位杂交技术对黑腹果蝇、冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*、杨毛臀萤叶甲 *Agelastica alni*、多美麻蝇等昆虫 CNS 中表达 SIFa 的细胞进行定位, 结果显示, 脑间部 (Pars intercerebralis, PI) 中有 2 对分泌 SIFa 的神经元, 其轴突可将神经冲动传导至 CNS 大部分区域 (Janssen *et al.*, 1996; Verleyen *et al.*, 2004; Terhzaz *et al.*, 2007)。

在上述研究基础上, 不同昆虫 CNS 中 SIFa 较为细致的分布情况逐渐明晰。Heuer 等 (2012) 等在烟草天蛾 *Manduca sexta* 前脑和中央体复合体等区域观察到 SIFa 免疫信号。随后, Binzer 等 (2014) 在赤拟谷盗触角叶 (Antennal lobes, ALs) 和视叶 (Optic lobes, OLs) 检测到 SIFa 免疫信号。Gellerer 等 (2015) 在沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 上位内侧前脑 (Superior medial protocerebrum)、下位内侧前脑 (Inferior medial protocerebrum)、咽下神经节 (Suboesophageal ganglion, SOG)、前胸神经节 (Prothoracic ganglion)、中胸神经节 (Mesothoracic ganglion) 等区域检测到广泛的免疫信号。此外, 也有研究将 SIFa 的分布从神经系统拓展到了组织, 如 Martelli 等 (2017) 在食道周围区域检测到 SIFa 免疫信号, Veenstra (2021) 在 SG 检测到 SIFa 免疫信号。

1.3 SIFaR 的发现与分布

2006 年, Jørgensen 等利用 cDNA 末端快速扩增技术获得黑腹果蝇中 GPCR 基因 (CG10823)

的 cDNA。随后,利用哺乳动物异源表达系统成功表达该 GPCR,并通过 Ca^{2+} 流动测定方法确定 SIFa 活性肽可呈浓度依赖性地刺激表达上述 GPCR 的细胞释放 Ca^{2+} 。利用同样的方法,测试了其它 32 个神经肽,但均不能激活该 GPCR。以此证实了 CG10823 基因为果蝇 SIFa 的内源受体,并命名为 Drm-SIFa 受体(Drm-SIFa receptor, Drm-SIFaR)。随后, Jørgensen 等(2006)通过同源比对的方法,利用 *Drm-SIFaR* 序列,在冈比亚按蚊、家蚕、赤拟谷盗以及意大利蜜蜂的基因组中均鉴定出 Drm-SIFaR 同源受体,并发现这些 SIFaRs 之间的跨膜结构域区域序列具有高度保守性。

值得一提的是,昆虫中的 SIFa/SIFaR 与脊椎动物中的促性腺激素抑制激素(Gonadotropin-inhibitory hormone, GnIH)及其受体(GnIH receptor, GnIHR)同源,脊椎动物中的 GnIH/GnIHR 和昆虫中的 SIFa/SIFaR 可能分别由后口动物和原口动物中的多肽-Famide 及其受体的进化过程中分

离并独立进化而来(Jékely, 2013; Ubuka and Tsutsui, 2014)。

昆虫体中 SIFaR 的分布研究相对较少,目前仅 2 篇文献报道,如 Sellami 和 Veenstra (2015)在果蝇卵巢中定位到 2 个由 CNS 投射而来的表达 SIFaR 的神经元。Dreyer 等(2019)在果蝇蕈形体、ALs、OLs 和咽下神经髓区等区域观察到 SIFaR 的表达,这与 SIFa 的分布区域有一定重叠。

2 SIFa 及其受体的结构特征

2.1 SIFa 结构特征

SIFa 在昆虫中广泛存在,其成熟肽结构具有高度保守性。结合已发表文献及 GenBank 和 i5K (<https://i5k.nal.usda.gov/webapp/blast/>) 信息,总结了昆虫纲 16 个目中 28 个物种 SIFa 的结构特征(表 1)。结果发现, SIFa 前体氨基酸序列长度为 69-85 aa,信号肽长度为 21-28 aa,成熟肽长度为 10-15 aa。

表 1 昆虫纲不同物种 SIFa
Table 1 SIFa of different insect species

目 Orders	物种 Species	名称 Names	成熟肽序列 Amino acid sequences	GenBank 登录号 GenBank no.	来源文献 References
1 原尾目 Protura	<i>Acerentomon</i> sp. AD-2013	At_SIFa	EGAYRKPPFNGSIFamide	—	Christie and Chi, 2015
2 弹尾目 Collembola	白符跳虫 <i>Folsomia candida</i>	Fc_SIFa	SGGYGRKPPFNGSIFamide	XP_021946455.1	—
3 双尾目 Diplura	韦氏鳞叭 <i>Lepidocampa weberi</i>	Lw_SIFa	NNVRKLPPFNGSIYamide	—	Derst <i>et al.</i> , 2016
4 石蛎目 Archaeognatha	<i>Machilis hrabei</i>	Mh_SIFa	ATYRKPPFNGSIFamide	—	Derst <i>et al.</i> , 2016
5 衣鱼目 Zygentoma	<i>Tricholepidion gertschi</i>	Tg_SIFa	AYRKPPFNGSIFamide	—	Derst <i>et al.</i> , 2016
6 直翅目 Orthoptera	沙漠蝗 <i>Schistocerca gregaria</i>	Sg_SIFa	AAATFRRPPFNGSIFamide	XP_049845125.1	Gellerer <i>et al.</i> , 2015
7 蛸目 Phasmatodea	<i>Carausius morosus</i>	Cm_SIFa	TGKKPPFNGSIFamide	UES72894.1	Liessem <i>et al.</i> , 2018
8 蜚蠊目 Blattaria	德国小蠊 <i>Blattella germanica</i>	Bg_SIFa	TYRKPPFNGSIFamide	—	Veenstra, 2021
9 蜉蝣目 Ephemeroptera	双翼二翅蜉 <i>Cloeon dipterum</i>	Cd_SIFa	YRKPPFNGSIFamide	CAB3372219.1	—
10 蜻蜓目 Odonata	长叶异痣螳 <i>Ischnura elegans</i>	Ie_SIFa	SSYRKAPMNGSIFamide	XP_046391713.1	—

续表 1 (Table 1 continued)

目 Orders	物种 Species	名称 Names	成熟肽序列 Amino acid sequences	GenBank 登录号 GenBank no.	来源文献 References
11 缨翅目 Thysanoptera	西花蓟马 <i>Frankliniella occidentalis</i>	Fo_SIFa	TFRKPPFNGSIFamide	KAE8747507.1	—
12 半翅目 Hemiptera	褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i>	Nl_SIFa	AYKKPPFNGSIFamide	XP_022204757.1	—
	柑橘木虱 <i>Diaphorina citri</i>	Dc_SIFa	TYRKPPFNGSIFamide	AWT50622.1	—
	烟粉虱 <i>Bemisia tabaci</i>	Bt_SIFa	RKPPLNGSIFamide	XP_018904538.1	—
	长红猎蝽 <i>Rhodnius prolixus</i>	Rp_SIFa	TYKKPPFNGSIFamide	ACT35307.1	—
	豌豆蚜 <i>Acyrtosiphon pisum</i>	Ap_SIFa	FRKPPFNGSIFamide	XP_003245357.1	—
13 鞘翅目 Coleoptera	赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i>	Tc_SIFa	TYRKPPFNGSIFamide	XP_001814498.1	—
	光肩星天牛 <i>Anoplophora glabripennis</i>	Ag_SIFa	TYRKPPFNGSIFamide	XP_018576889.1	—
	七星瓢虫 <i>Coccinella septempunctata</i>	Cs_SIFa	TYRKPPFNGSIFamide	XP_044744559.1	—
14 双翅目 Diptera	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	Dm_SIFa	AYRKPPFNGSIFamide	NP_001246496.1	—
	多美麻蝇 <i>Sarcophaga bullata</i>	Sb_SIFa	AYRKPPFNGSIFamide	TMW40502.1	—
	家蝇 <i>Musca domestica</i>	Md_SIFa	AYRKPPFNGSIFamide	XP_011290790.1	—
	埃及伊蚊 <i>Aedes aegypti</i>	Aa_SIFa	GYRKPPFNGSIFamide	XP_001654051.1	—
15 鳞翅目 Lepidoptera	家蚕 <i>Bombyx mori</i>	Bm_SIFa	TYRKPPFNGSIFamide	NP_001124358.1	—
	棉铃虫 <i>Helicoverpa armigera</i>	Ha_SIFa	TYRKPPFNGSIFamide	AGH25569.1	—
	烟草天蛾 <i>Manduca sexta</i>	Ms_SIFa	NYRKPPFNGSIFamide	XP_037296122.1	—
16 膜翅目 Hymenoptera	中华蜜蜂 <i>Apis cerana</i>	Ac_SIFa	AYRKPPFNGSIFamide	XP_016909675.1	—
	意大利蜜蜂 <i>Apis mellifera</i>	Am_SIFa	AYRKPPFNGSIFamide	XP_003249680.1	—

随后,利用软件 JalView 2.11.2.0(Waterhouse *et al.*, 2009) 对 SIFa 成熟肽序列进行了比对分析 (图 1), 并用在线程序 WebLogo 3 (<https://weblogo.threeplusone.com/create.cgi>) (Crooks *et al.*, 2004) 制作成熟肽基序,发现大多数 SIFa 成熟肽序列均具有-RKPPFNGSIFamide 的保守结构 (图 1)。有所不同的是, Rp_SIFa、Nl_SIFa 与 Cm_SIFa 成熟肽第 6 位氨基酸残基精氨酸 (Arginine, Arg/R) 替换为赖氨酸 (Lysine, Lys/K); Sg_SIFa 第 7 位氨基酸残基赖氨酸 (K) 替换为精氨酸 (R); Ie_SIFa 和 Lw_SIFa 第 8 位氨基酸残基脯氨酸 (Proline, Pro/P) 分别替换为丙氨酸 (Alanine, Ala/A) 和亮氨酸 (L); Ie_SIFa

和 Bt_SIFa 第 10 位氨基酸残基苯丙氨酸 (F) 分别替换为甲硫氨酸 (Methionine, Met/M) 和亮氨酸 (L); Lw_SIFa 最后 1 位氨基酸残基苯丙氨酸 (F) 替换为酪氨酸 (Tyrosine, Tyr/Y)。最初 Janssen 等 (1996) 研究发现 Sb_SIFa 成熟肽 C 端为-SLFamide 结构,有趣的是,从多美麻蝇现有基因组中预测出的 SIFa,其成熟肽倒数第 2 位氨基酸残基为异亮氨酸 (I) 而非亮氨酸 (L)。

2.2 SIFaR 结构特征

利用黑腹果蝇 SIFaR (Dm_SIFaR) 序列作为疑问序列,在 GenBank 数据库中进行同源查找,并通通过在线程序 DeepTMHMM (<https://dtu>

biolib.com/DeepTMHMM) 预测其跨膜结构域 (Hallgren *et al.*, 2022), 在昆虫纲 10 个目 24 个物种鉴定出与 Dm_SIFaR 具有较高同源性的 SIFaRs (表 2)。

Fc_SIFa	S	G	G	Y	G	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Sg_SIFa	A	A	A	T	F	R	R	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
At_SIFa	-	E	G	A	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Ie_SIFa	-	-	S	S	Y	R	K	A	P	M	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Mh_SIFa	-	-	A	T	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Lw_SIFa	-	-	N	N	V	R	K	L	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Fo_SIFa	-	-	-	T	F	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Bg_SIFa	-	-	-	T	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Dc_SIFa	-	-	-	T	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Tc_SIFa	-	-	-	T	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Ag_SIFa	-	-	-	T	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Cs_SIFa	-	-	-	T	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Ms_SIFa	-	-	-	N	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Ha_SIFa	-	-	-	T	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Bm_SIFa	-	-	-	T	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Am_SIFa	-	-	-	A	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Aa_SIFa	-	-	-	G	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Ac_SIFa	-	-	-	A	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Rp_SIFa	-	-	-	T	Y	K	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Md_SIFa	-	-	-	A	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Tg_SIFa	-	-	-	A	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Dm_SIFa	-	-	-	A	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Nl_SIFa	-	-	-	A	Y	K	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Sb_SIFa	-	-	-	A	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Cm_SIFa	-	-	-	T	G	K	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e
Cd_SIFa	-	-	-	Y	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e	
Ap_SIFa	-	-	-	F	R	K	P	P	F	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e	
Bt_SIFa	-	-	-	-	R	K	P	P	L	N	G	S	I	F	a	m	i	d	e	



图 1 昆虫 SIFa 成熟肽氨基酸序列比对

Fig. 1 The amino acid sequence alignment of insect SIFa putative mature peptides

物种简称详见表 1。

Species abbreviations are detailed in table 1.

与 Dm_SIFaR 氨基酸序列相比发现, Cc_SIFaR、Tc_SIFaR、Co_SIFaR、Dm_SIFaR、Md_SIFaR、和 An_SIFaR 与 Dm_SIFaR 序列一致性最高 (大于 70%), Bg_SIFaR、Cs_SIFaR、Cd_SIFaR、Ie_SIFaR、Tp_SIFaR、Nl_SIFaR、Hh_SIFaR、Ps_SIFaR、Bm_SIFaR、Ha_SIFaR、Ch_SIFaR、Pr_SIFaR、Ac_SIFaR、Am_SIFaR、Nv_SIFaR 与 Dm_SIFaR 序列一致性在 60%-70% 范围, 而 Fc_SIFaR、Sg_SIFaR 和 Ap_SIFaR 与 Dm_SIFaR 序列一致性相对较低 (小于 50%)。

选取 Dm_SIFaR、Bm_SIFaR、Tc_SIFaR、Ac_SIFaR 和 Nl_SIFaR 序列, 进行 SIFaR 氨基酸序列比对分析, 结果显示跨膜区域氨基酸序列较为保守 (图 2)。

3 SIFa 及其受体的生理功能

目前, SIFa 及其受体的功能研究主要集中于黑腹果蝇, 其主要参与调节黑腹果蝇求偶、睡眠、摄食等行为 (图 3)。此外, 在马德拉蜚蠊 *Rhyarobia maderae*、长红猎蝽 *Rhodnius prolixus* 等卫生害虫中的功能研究也取得一定进展。研究表明 SIFa 参与调节马德拉蜚蠊的昼夜节律和长红猎蝽的摄食行为。

3.1 黑腹果蝇 SIFa 及其受体的生理功能

3.1.1 求偶行为 昆虫 SIFa 及其受体功能研究最先涉及的是黑腹果蝇的求偶行为 (Terhzaz *et al.*, 2007)。用靶向细胞消融 (Targeted cell ablation, TCA) 的方法消融了雄蝇的 SIFa 神经元, 雄蝇会表现出“双性行为”, 即消融了 SIFa 神经元的雄蝇对野生型雌蝇或野生型雄蝇均表现出强烈的求偶行为; 而消融了 SIFa 神经元的雌蝇则对野生型雄蝇的求偶行为表现出高度的接受性, 交配间隔期 (求偶到交配的时间) 显著导致这些果蝇也表现出“双性行为”。

果蝇无效基因 (*Fruitless gene*) 负责调控产生雄性特异的求偶行为神经元回路, 该基因的突变可能导致雄蝇的双性行为 (Dickson, 2008)。这种雄蝇的双性求偶现象与 Terhzaz 等 (2007) 消融 SIFa 神经元后或沉默 *SIFa* 表达后果蝇的行为类似。于是, 有研究人员便对无效基因与 SIFa 及其受体 SIFaR 在雄蝇求偶行为神经回路中的作用进行了探究 (Sellami and Veenstra, 2015)。首先通过 IHC 手段确定 SIFa 神经元不会表达无效基因。后续结果显示, 利用 *SIFaR-gal4/UAS-rpr* 消融 SIFaR 神经元或者沉默了这些神经元 SIFaR 的表达时, 雄蝇均表现出双性求偶行为; 表达了无效基因的神经元中沉默了 *SIFaR* 表达时, 雄蝇也表现出双性求偶行为。上述结果表明, SIFa 作用于该无效基因神经元以调节雄蝇的求偶行为。

表 2 昆虫纲不同物种 SIFaR
Table 2 SIFaR of different insect species

目 Orders	物种 Species	名称 Names	GenBank 登录号 GenBank no.	与黑腹果蝇 SIFaR	7 个跨膜结构域 7 transmembrane domains	来源文献 References
				同源比较 Alignment with <i>Drosophila melanogaster</i> (%)		
1 弹尾目 Collembola	白符跳虫 <i>Folsomia candida</i>	Fc_SIFaR	XP_035714726.1	50.4%	完整 Complete	—
2 直翅目 Orthoptera	沙漠蝗 <i>Schistocerca gregaria</i>	Sg_SIFaR	XP_049856166.1	54.7%	部分 Partial	—
3 蜚蠊目 Blattaria	德国小蠊 <i>Blattella germanica</i>	Bg_SIFaR	PSN57408.1	61.1%	部分 Partial	—
	<i>Cryptotermes secundus</i>	Cs_SIFaR	XP_023712423.2	66.9%	完整 Complete	—
4 蜉蝣目 Ephemeroptera	双翼二翅蜉 <i>Cloeon dipterum</i>	Cd_SIFaR	CAB3364244.1	60.6%	完整 Complete	—
5 蜻蜓目 Odonata	长叶异痣螳 <i>Ischnura elegans</i>	Ie_SIFaR	XP_046405980.1	67.4%	完整 Complete	—
4 缨翅目 Thysanoptera	棕榈蓟马 <i>Thrips palmi</i>	Tp_SIFaR	XP_034249477.1	65.7%	完整 Complete	—
5 半翅目 Hemiptera	褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i>	Nl_SIFaR	XP_039285115.1	64.2%	完整 Complete	Tanaka <i>et al.</i> , 2014
	豌豆蚜 <i>Acyrtosiphon pisum</i>	Ap_SIFaR	XP_001947491.1	59.5%	完整 Complete	—
	茶翅蟥 <i>Halyomorpha halys</i>	Hh_SIFaR	XP_014277948.1	65.8%	完整 Complete	—
6 脉翅目 Neuroptera	普通草蛉 <i>Chrysoperla carnea</i>	Cc_SIFaR	XP_044729447.1	71.9%	完整 Complete	—
7 鞘翅目 Coleoptera	赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i>	Tc_SIFaR	XP_970225.1	70.1%	完整 Complete	Hauser <i>et al.</i> , 2008
	七星瓢虫 <i>Coccinella septempunctata</i>	Co_SIFaR	XP_044757383.1	71.2%	完整 Complete	—
	黄曲条跳甲 <i>Phyllotreta striolata</i>	Ps_SIFaR	CAG9863926.1	66.5%	完整 Complete	—
8 双翅目 Diptera	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	Dm_SIFaR	NP_001163674.1	100.0%	完整 Complete	Jørgensen <i>et al.</i> , 2006
	家蝇 <i>Musca domestica</i>	Md_SIFaR	XP_005181564.1	75.4%	完整 Complete	—
	冈比亚按蚊 <i>Anopheles gambiae</i>	An_SIFaR	DAA35193.1	70.2%	完整 Complete	Jørgensen <i>et al.</i> , 2006
9 鳞翅目 Lepidoptera	家蚕 <i>Bombyx mori</i>	Bm_SIFaR	DAA35192.1	65.4%	完整 Complete	Jørgensen <i>et al.</i> , 2006
	棉铃虫 <i>Helicoverpa armigera</i>	Ha_SIFaR	XP_021193313.1	62.2%	完整 Complete	—

续表 2 (Table 2 continued)

目 Orders	物种 Species	名称 Names	GenBank 登录号 GenBank no.	与黑腹果蝇 SIFaR 同源比较 Alignment with <i>Drosophila</i> <i>melanogaster</i> (%)	7 个跨膜结构域 7 transmembrane domains	来源文献 References
10 膜翅目 Hymenoptera	二化螟 <i>Chilo suppressalis</i>	Ch_SIFaR	ALM88339.1	66.6%	完整 Complete	Xu <i>et al.</i> , 2016
	菜粉蝶 <i>Pieris rapae</i>	Pr_SIFaR	XP_045487912.1	65.7%	完整 Complete	—
	中华蜜蜂 <i>Apis cerana</i>	Ac_SIFaR	XP_016904166.1	64.3%	完整 Complete	—
	意大利蜜蜂 <i>Apis mellifera</i>	Am_SIFaR	NP_001106756.1	64.4%	完整 Complete	—
	丽蝇蛹集金小蜂 <i>Nasonia vitripennis</i>	Nv_SIFaR	XP_001600098.3	66.6%	完整 Complete	—

图 2 不同昆虫 SIFaR 氨基酸序列比对

Fig. 2 The amino acid sequence alignment of different insects SIFaR

加粗黑色横线区域为跨膜结构域。物种简称详见表 2。

Bold black horizontal bars indicate transmembrane domains. Species abbreviations are detailed in table 2.

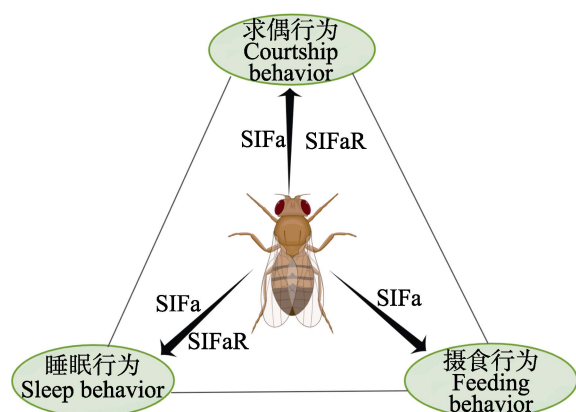


图 3 昆虫 SIFa 及其受体的生理功能
(本图由 Figdraw 绘制)

Fig. 3 Physiological functions of insect SIFa and its receptor (Drawn by Figdraw)

3.1.2 睡眠行为 有研究报道 SIFa 还参与果蝇睡眠行为的调节 (Park *et al.*, 2014)。研究显示, 消融 PI 中的 SIFa 神经元或沉默 SIFa 表达, 均会缩短果蝇基础睡眠时间, 并通过缩短睡眠时长导致睡眠碎片化; 沉默 SIFaR 表达, 果蝇也出现了短时睡眠表型。虽然用于沉默 SIFaR 表达的两个 *gal4* 系统在果蝇大脑中显示出不同的表达模式, 但它们均在 PI 中与 SIFa 神经元相邻的区域表达, 以此将 SIFaR 的睡眠调节效应映射到 PI 神经元区域。

随后几项研究也利用 *SIFa-gal4/UAS-rpr* 消融 SIFa 神经元后, 果蝇睡眠节律改变, 表明 SIFa 具有睡眠调节作用 (Cavanaugh *et al.*, 2014; Cavey *et al.*, 2016; Bai *et al.*, 2018)。Huang 等 (2021) 在这几项研究基础上, 进一步理清了 SIFa 在睡眠调节神经回路中的作用, 首先发现光遗传 (Optogenetics) 激活 SIFa 神经元以性二态方式促进了果蝇的睡眠, 其中雌蝇的睡眠效应幅度大于雄蝇 (Huang *et al.*, 2021)。由于肽能神经元通常也释放其他递质 (Nusbaum *et al.*, 2017; Nässel, 2018; Svensson *et al.*, 2019), 沉默 SIFa 表达的同时光遗传激活 SIFa 神经元, SIFa 的沉默仅部分降低了睡眠效应的幅度, 这表明此时激活 SIFa 神经元, 其他递质的释放可能参与诱导睡眠。

3.1.3 摄食行为 目前, SIFa 参与果蝇摄食行为的调节已得到较为系统研究 (Martelli *et al.*,

2017)。首先发现 SIFa 调节食欲性的嗅觉行为及提高食物摄入量, 并确定饥饿会增加 SIFa 神经元的活性。也确定了 SIFa 神经元与 ALs 的三个主要嗅觉神经元群体[嗅觉感觉神经元, 嗅觉投射神经元 (Olfactory projection neurons, OPNs) 和 1 型局部抑制性中间神经元 (Type 1 local inhibitory interneurons, LN1s)]之间解剖学上的接近特性; 并进一步确定 SIFa 神经元仅与 LN1s 具有功能连接, 据此推测 SIFa 可能与 OPNs 中的下游气味处理有关。此外, 激活 SIFa 神经元后, 仅在 ALs 神经纤维球 DM3 处观察到对食欲相关气味剂乙酸乙酯的响应, 而对厌恶性气味剂苯甲醛无响应。由此推测 SIFa 使 OPNs 中有吸引力的气味剂的感觉信号“敏感”, 从而可能影响下游嗅觉驱动的行为。还筛选出一些可能与 SIFa 神经元相互作用的候选神经元[短神经肽 F、胰岛素样肽 2、神经肽 corazonin、神经肽 hugin-pyrokinnin (hugin-PK)、肌球蛋白抑制肽 (Myosin inhibitory peptide, MIP) 等的肽能神经元], 其中除了 MIP 神经元, 其他神经元均与 SIFa 神经元有解剖学接触, 推测 SIFa 神经元可能与释放食欲和厌食神经肽的神经元相关。此外, 利用 Gal4 系统激活表达 *hugin* 的细胞时 SIFa 神经元 Ca^{2+} 信号增强, 激活表达 MIP 的细胞时 SIFa 神经元 Ca^{2+} 信号减弱; 而应用合成的 *hugin-PK* 生物活性肽进行补偿实验可使 Ca^{2+} 信号增强, 抑制 *hugin-PK2* 受体表达, Ca^{2+} 则缺失。据此推测 *hugin-PK* 为 SIFa 神经元提供兴奋性信号输入, MIP 为 SIFa 神经元提供抑制性信号输入。Martelli 等 (2017) 结果显示, SIFa 神经元作为内在代谢信号与感觉神经元之间的集成要素, 整合进食刺激 (食欲) 和进食抑制 (厌食) 信号, 以适当地敏感感觉回路、促进食欲行为并增加食物摄入。

Dreyer 等 (2019) 则关注 SIFa 神经元对摄食-禁食节律的调节作用。其研究显示, 热遗传 (Thermogenetics) 激活 SIFa 神经元、敲除 SIFa、沉默 SIFa 表达以及遗传切除 (即基因切除/遗传消融, Genetic ablation) SIFa 神经元均会导致果蝇摄食-禁食节律的紊乱。通过 IHC 结果发现,

SIFa 神经元与 CNS 中参与气味检测和摄食等行
为调控的区域之间的存在信号联系。结合其摄食-
禁食节律紊乱与 IHC 结果,推测 SIFa 神经元整
合昼夜节律信息并通过突触作用来调节进食。

3.2 其它昆虫 SIFa 及其受体的生理功能

SIFa 及其受体在其它昆虫中的功能研究相
对较少,仅有的 2 个研究分别涉及昆虫昼夜节律
和摄食功能。Arendt 等 (2016) 首先通过 IHC
技术在马德拉蜚蠊副髓 (Accessory medulla,
AME) 中观察到 SIFa 免疫信号,AME 是 OLs
的一个部位,与马德拉蜚蠊等昆虫的昼夜节律有
关 (Homberg *et al.*, 2003; Stengl and Arendt,
2016)。因此,进行 SIFa 生物活性肽注射实验,
观察到注射后 13.5 h 左右时马德拉蜚蠊昼夜节
律性的运动活性与对照有一定差别,注射后 16.5 h
时差别最大,于是推测 SIFa 在马德拉蜚蠊昼夜
节律系统中起一定作用 (Arendt *et al.*, 2016)。
Ayub 等 (2020) 对长红猎蝽 SIFa 的摄食调节功
能进行了研究,IHC 结果显示,SIFa 免疫信号在
摄食 2 h 后减弱,24 h 后免疫信号恢复到摄食前
的状态,这暗示 SIFa 可能在摄食时被释放。qPCR
结果显示摄食 2 h 后长红猎蝽脑部 SIFa 表达量
增加,这与 IHC 结果一致。进一步研究显示,
注射了 SIFa 生物活性肽的长红猎蝽摄食量增加,
而沉默了 SIFa 表达的长红猎蝽摄食量明显减
少。IHC、qPCR 及生物活性肽注射结果共同证
实了长红猎蝽 SIFa 的摄食调节功能。

4 展望

目前,化学防治仍然是害虫防治的主要手
段,传统化学农药的施用衍生出“3R”问题,
该问题的解决亟待新农药靶标的研究与应用(高
希武,2010;萧玉涛等,2019;王争艳等,2021)。
合成多肽是新型农药靶标领域中一个极具前景
的发展方向 (Gressel, 2022; 叶德兴等, 2022)。
昆虫神经肽具有多种生理功能,且其结构简单,
所以易于进行合成、改造相应类似物。类似物作
用于特异性受体,通过阻断神经肽及其受体的结
合过程,导致昆虫生理机能障碍以至无法完成正

常的生命活动,进而达到控制害虫的目的。因此,
神经肽信号通路被认为是一种理想的新型害虫
控制剂靶标 (Audsley and Down, 2015)。

目前,已有多项研究表明神经肽信号通路作
为新型农药靶标领域具有良好的应用前景。滞育
激素 (Diapause hormone, DH) 可打破铃夜蛾属
Helicoverpa 及棉铃虫属 *Heliothis* 昆虫蛹的滞育
(Zhang *et al.*, 2004)。Zhang 等 (2011) 根据
DH 的结构设计了几种激动剂,它们在打破滞育
方面比 DH 更有效,未来可使用这种制剂或下一
代衍生物来破坏害虫种群越冬,从而达到防治害
虫的目的。Natalisins (NTLs) 是一种可调节昆
虫生殖行为的神经肽,Gui 等 (2018) 利用钙离
子流动测定的方法检测了 13 种 NTLs 类似物,
并发现具有一定激动或拮抗活性的类似物。神经
肽 kinin 和 CAPA 与长红猎蝽的摄食和利尿相关
行为有关,Sangha 等 (2019) 测试了多种 kinin
类似物和 CAPA 类似物的激动剂和拮抗剂活性,
分别发现了具有激动剂活性的 kinin 类似物和拮
抗剂活性的 CAPA 类似物。这些神经肽模拟类似
物的体外实验或活体实验数据可为开发相关神
经肽激动剂和拮抗剂奠定基础。

目前研究表明 SIFa/SIFaR 信号通路参与调
节昆虫求偶、睡眠、摄食等行为。昆虫通过求偶
吸引异性前来交配,进而产卵,这对维持其种群
的生存和繁衍具有十分重要的意义(陈文涛和王
丽娜,2017;许冬等,2020);昆虫通过摄取食
物,保证其正常生长发育(裴元慧等,2007)。
控制害虫的求偶行为,可以从根本上减少害虫的
繁殖量;降低害虫摄取食物的能力,便能直接降
低害虫的危害。昆虫中 SIFa/SIFaR 信号通路所
具有的重要生理功能,已展现出作为害虫控制剂
靶标的潜力。然而,由于 SIFa 成熟肽结构在昆
虫中高度保守,有必要探讨一下将 SIFa 类似物
应用于害虫防治时对于非靶标生物的安全性问
题。昆虫 SIFa/SIFaR 与脊椎动物 GnIH/GnIHR
同源,SIFaRs 与 GnIHRs 序列相似度为 34%
(Ubuka and Tsutsui, 2014),而 SIFas 与 GnIHs
成熟肽序列(日本鹌鹑 *Coturnix Japonica* GnIH:
SIKPSAYLPLRFamide)(Satake *et al.*, 2001)具

有较大差异, 因此, 未来有机会开发出非靶向脊椎动物的 SIFa 类似物进行害虫防控。然而, 由于不同昆虫间 SIFa 成熟肽结构的高度保守性, 将 SIFa 类似物应用于害虫防控时, 对传粉、天敌昆虫等有益昆虫存在潜在风险, 因此, 进一步合成 SIFa 类似物, 还需探明对非靶标昆虫特别是有益昆虫是否存在影响。

参考文献 (References)

- Arendt A, Neupert S, Schendzielorz J, Predel R, Stengl M, 2016. The neuropeptide SIFamide in the brain of three cockroach species. *Journal of Comparative Neurology*, 524(7): 1337–1360.
- Audsley N, Down RE, 2015. G protein coupled receptors as targets for next generation pesticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 67: 27–37.
- Audsley N, Weaver RJ, 2006. Analysis of peptides in the brain and corpora cardiaca-corpora allata of the honey bee, *Apis mellifera* using MALDI-TOF mass spectrometry. *Peptides*, 27(3): 512–520.
- Ayub M, Hermiz M, Lange AB, Orchard I, 2020. SIFamide influences feeding in the Chagas disease vector, *Rhodnius prolixus*. *Frontiers in Neuroscience*, 14: 134.
- Bai L, Lee Y, Hsu CT, Williams JA, Cavanaugh D, Zheng XZ, Stein C, Haynes P, Wang H, Gutmann DH, Sehgal A, 2018. A conserved circadian function for the *neurofibromatosis 1* gene. *Cell Reports*, 22(13): 3416–3426.
- Binzer M, Heuer CM, Kollmann M, Kahnt J, Hauser F, Grimmelikhuijzen CJ, Schachtner J, 2014. Neuropeptidome of *Tribolium castaneum* antennal lobes and mushroom bodies. *Journal of Comparative Neurology*, 522(2): 337–357.
- Cavanaugh DJ, Geratowski JD, Wooltorton JRA, Spaethling JM, Hector CE, Zheng XZ, Johnson EC, Eberwine JH, Sehgal A, 2014. Identification of a circadian output circuit for rest: Activity rhythms in *Drosophila*. *Cell*, 157(3): 689–701.
- Cavey M, Collins B, Bertet C, Blau J, 2016. Circadian rhythms in neuronal activity propagate through output circuits. *Nature Neuroscience*, 19(4): 587–595.
- Chen WT, Wang LN, 2017. Characteristics and applications of courtship behavior of insects. *Bulletin of Biology*, 52(8): 1–3.[陈文涛, 王丽娜, 2017. 昆虫的求偶行为特征及应用. 生物学通报, 52(8): 1–3.]
- Christie AE, Chi MG, 2015. Identification of the first neuropeptides from the enigmatic hexapod order Protura. *General and Comparative Endocrinology*, 224: 18–37.
- Crooks GE, Hon G, Chandonia JM, Brenner SE, 2004. WebLogo: A sequence logo generator. *Genome Research*, 14(6): 1188–1190.
- Derst C, Dirksen H, Meusemann K, Zhou X, Liu SL, Predel R, 2016. Evolution of neuropeptides in non-ptyerygote hexapods. *BMC Evolutionary Biology*, 16(1): 1–10.
- Dickson BJ, 2008. Wired for sex: The neurobiology of *Drosophila* mating decisions. *Science*, 322(5903): 904–909.
- Dreyer AP, Martin MM, Fulgham CV, Jabr DA, Bai L, Beshel J, Cavanaugh DJ, 2019. A circadian output center controlling feeding: Fasting rhythms in *Drosophila*. *PLoS Genetics*, 15(11): e1008478.
- Fónagy A, Schoofs L, Proost P, Van Damme J, Bueds H, De Loof A, 1992a. Isolation, primary structure and synthesis of neomyosuppressin, a myoinhibiting neuropeptide from the grey fleshfly, *Neobellieria bullata*. *Comparative Biochemistry and Physiology C, Comparative Pharmacology and Toxicology*, 102(2): 239–245.
- Fónagy A, Schoofs L, Proost P, Van Damme J, De Loof A, 1992b. Isolation and primary structure of two sulfakinin-like peptides from the fleshfly, *Neobellieria bullata*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 103(1): 135–142.
- Gao XW, 2011. Current status and development strategy for chemical control in China. *Plant Protection*, 36(4): 19–22.[高希武, 2010. 我国害虫化学防治现状与发展策略. 植物保护, 36(4): 19–22.]
- Gellerer A, Franke A, Neupert S, Predel R, Zhou X, Liu SL, Reiher W, Wegener C, Homberg U, 2015. Identification and distribution of SIFamide in the nervous system of the desert locust *Schistocerca gregaria*. *Journal of Comparative Neurology*, 523(1): 108–125.
- Gressel J, 2022. Perspective: It is time to consider new ways to attack unpesticidable (undruggable) target sites by designing peptide pesticides. *Pest Management Science*, 78(6): 2108–2112.
- Gui SH, Pei YX, Xu L, Jiang HB, Nachman RJ, Kaczmarek K, Zabrocki J, Wang JJ, 2018. Function of the natalisin receptor in mating of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) and testing of peptidomimetics. *PLoS ONE*, 13(2): e0193058.
- Hallgren J, Tsirigos KD, Pedersen MD, Armenteros JJA, Marcotilli P, Nielsen H, Krogh A, Winther O, 2022. DeepTMHMM predicts alpha and beta transmembrane proteins using deep neural networks. *BioRxiv*, Doi: 10.1101/2022.04.08.487609
- Hauser F, Cazzamali G, Williamson M, Park Y, Li B, Tanaka Y, Predel R, Neupert S, Schachtner J, Verleyen P, Grimmelikhuijzen CJP, 2008. A genome-wide inventory of neurohormone GPCRs

- in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29(1): 142–165.
- Heuer CM, Binzer M, Schachtner J, 2012. SIFamide in the brain of the sphinx moth, *Manduca sexta*. *Acta Biologica Hungarica*, 63(2): 48–57.
- Homborg U, Reischig T, Stengl M, 2003. Neural organization of the circadian system of the cockroach *Leucophaea maderae*. *Chronobiology International*, 20(4): 577–591.
- Huang H, Possidente DR, Vecsey CG, 2021. Optogenetic activation of SIFamide (SIFa) neurons induces a complex sleep-promoting effect in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Physiology & Behavior*, 239: 113507.
- Janssen I, Schoofs L, Spittaels K, Neven H, Vanden Broeck J, Devreese B, Van Beeumen J, Shabanowitz J, Hunt DF, De Loof A, 1996. Isolation of NEB-LFamide, a novel myotropic neuropeptide from the grey fleshfly. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 117(2): 157–165.
- Jékely G, 2013. Global view of the evolution and diversity of metazoan neuropeptide signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(21): 8702–8707.
- Jørgensen LM, Hauser F, Cazzamali G, Williamson M, Grimmelikhuijzen CJP, 2006. Molecular identification of the first SIFamide receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 340(2): 696–701.
- Larhammar D, Blomqvist AG, Wahlestedt C, 1993. The receptor revolution—multiplicity of G-protein-coupled receptors. *Drug Design and Discovery*, 9(3/4): 179–188.
- Li B, Predel R, Neupert S, Hauser F, Tanaka Y, Cazzamali G, Williamson M, Arakane Y, Verleyen P, Schoofs L, Schachtner J, Grimmelikhuijzen CJP, Park Y, 2008. Genomics, transcriptomics, and peptidomics of neuropeptides and protein hormones in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Genome Research*, 18(1): 113–122.
- Liessem S, Ragionieri L, Neupert S, Buschges A, Predel R, 2018. Transcriptomic and neuropeptidomic analysis of the stick insect, *Carausius morosus*. *Journal of Proteome Research*, 17(6): 2192–2204.
- Martelli C, Pech U, Kobbenbring S, Pauls D, Bahl B, Sommer MV, Pooryasin A, Barth J, Arias CWP, Vassiliou C, Luna AJF, Poppinga H, Richter FG, Wegener C, Fiala A, Riemensperger T, 2017. SIFamide translates hunger signals into appetitive and feeding behavior in *Drosophila*. *Cell Reports*, 20(2): 464–478.
- Nässel DR, Zandawala M, 2019. Recent advances in neuropeptide signaling in *Drosophila*, from genes to physiology and behavior. *Progress in Neurobiology*, 179: 101607.
- Nässel DR, Zandawala M, 2022. Endocrine cybernetics: Neuropeptides as molecular switches in behavioural decisions. *Open Biology*, 12(7): 220174.
- Nässel DR, 2018. Substrates for neuronal cotransmission with neuropeptides and small molecule neurotransmitters in *Drosophila*. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12: 83.
- Nässel DR, Pauls D, Huetteroth W, 2019. Neuropeptides in modulation of *Drosophila* behavior: How to get a grip on their pleiotropic actions. *Current Opinion in Insect Science*, 36: 1–8.
- Nusbaum MP, Blitz DM, Marder E, 2017. Functional consequences of neuropeptide and small-molecule co-transmission. *Nature Reviews Neuroscience*, 18(7): 389–403.
- Okamoto N, Watanabe A, 2022. Interorgan communication through peripherally derived peptide hormones in *Drosophila*. *Fly*, 16(1): 152–176.
- Park S, Sonn JY, Oh Y, Lim C, Choe J, 2014. SIFamide and SIFamide receptor define a novel neuropeptide signaling to promote sleep in *Drosophila*. *Molecules and Cells*, 37(4): 295–301.
- Pei YH, Kong F, Han GH, Sun LG, Sun XG, 2007. The research development on the feeding behavior of insects. *Journal of Shandong Forestry Science and Technology*, 2007(6): 97–101.[裴元慧, 孔锋, 韩国华, 孙垒光, 孙绪良, 2007. 昆虫取食行为研究进展. 山东林业科技, 2007(6): 97–101.]
- Pierce KL, Premont RT, Lefkowitz RJ, 2002. Seven-transmembrane receptors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 3(9): 639–650.
- Roller L, Yamanaka N, Watanabe K, Daubnerova I, Zitnan D, Kataoka H, Tanaka Y, 2008. The unique evolution of neuropeptide genes in the silkworm *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38(12): 1147–1157.
- Rosenbaum DM, Rasmussen SGF, Kobilka BK, 2009. The structure and function of G-protein-coupled receptors. *Nature*, 459(7245): 356–363.
- Sangha V, Nachman RJ, Lange A, Orchard I, 2019. Physiological effects of biostable kinin and CAPA analogs in the Chagas disease vector, *Rhodnius prolixus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 114: 103223.
- Satake H, Hisada M, Kawada T, Minakata H, Ukena K, Tsutsui K, 2001. Characterization of a cDNA encoding a novel avian hypothalamic neuropeptide exerting an inhibitory effect on gonadotropin release. *Biochemical Journal*, 354(2): 379–385.
- Sellami A, Veenstra JA, 2015. SIFamide acts on fruitless neurons to modulate sexual behavior in *Drosophila melanogaster*. *Peptides*, 74: 50–56.

- Stables J, Green A, Marshall F, Fraser N, Knight E, Sautel M, Milligan G, Lee M, Rees S, 1997. A bioluminescent assay for agonist activity at potentially any G-protein-coupled receptor. *Analytical Biochemistry*, 252(1): 115–126.
- Stengl M, Arendt A, 2016. Peptidergic circadian clock circuits in the Madeira cockroach. *Current Opinion in Neurobiology*, 41: 44–52.
- Svensson E, Apergis-Schoute J, Burnstock G, Nusbaum MP, Parker D, Schiöth HB, 2019. General principles of neuronal co-transmission: Insights from multiple model systems. *Frontiers in Neural Circuits*, 12: 117.
- Tanaka Y, Suetsugu Y, Yamamoto K, Noda H, Shinoda T, 2014. Transcriptome analysis of neuropeptides and G-protein coupled receptors (GPCRs) for neuropeptides in the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Peptides*, 53: 125–133.
- Terhaz S, Rosay P, Goodwin SF, Veenstra JA, 2007. The neuropeptide SIFamide modulates sexual behavior in *Drosophila*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 352(2): 305–310.
- Ubuka T, Tsutsui K, 2014. Evolution of gonadotropin-inhibitory hormone receptor and its ligand. *General and Comparative Endocrinology*, 209: 148–161.
- Veenstra JA, 2021. The neuropeptide SMYamide, a SIFamide paralog, is expressed by salivary gland innervating neurons in the American cockroach and likely functions as a hormone. *Peptides*, 136: 170466.
- Verleyen P, Huybrechts J, Baggerman G, Van Lommel A, De Loof A, Schoofs L, 2004. SIFamide is a highly conserved neuropeptide: A comparative study in different insect species. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 320(2): 334–341.
- Wang ZY, Wang WF, Miao SY, Lu YJ, 2021. Progress in research on the relative fitness of insecticide-resistant insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 58(3): 487–496.[王争艳, 王文芳, 苗世远, 鲁玉杰, 2021. 抗药性昆虫相对适合度的研究进展. 应用昆虫学报, 58(3): 487–496.]
- Waterhouse AM, Procter JB, Martin DMA, Clamp M, Barton GJ, 2009. Jalview version 2-a multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinformatics*, 25(9): 1189–1191.
- Xiao YT, Wu C, Wu KM, 2019. Agricultural pest control in China over the past 70 years: Achievements and future prospects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(6): 1115–1124.[萧玉涛, 吴超, 吴孔明, 2019. 中国农业害虫防治科技 70 年的成就与展望. 应用昆虫学报, 56(6): 1115–1124.]
- Xu G, Gu GX, Teng ZW, Wu SF, Huang J, Song QS, Ye GY, Fang Q, 2016. Identification and expression profiles of neuropeptides and their G protein-coupled receptors in the rice stem borer *Chilo suppressalis*. *Scientific Reports*, 6: 28976.
- Xu D, Cong SB, Li WJ, Wang L, Yang NN, Xiao LB, Wan P, 2020. Effects of age and mating time on the courtship behavior and longevity of adult female *Pectinophora gossypiella*(Lepidoptera: Gelechiidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(6): 1394–1401.[许冬, 丛胜波, 李文静, 王玲, 杨妮娜, 肖留斌, 万鹏, 2020. 红铃虫日龄及交配经历对雌蛾求偶行为与寿命的影响. 应用昆虫学报, 57(6): 1394–1401.]
- Ye DX, Zhou YL, Zhang YM, Chen DN, Yang XL, 2022. Research progress of insecticidal peptides: A review. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 24(5): 962–981.[叶德兴, 周源琳, 张怡萌, 陈黛妮, 杨新玲, 2022. 杀虫活性多肽研究进展. 农药学报, 24(5): 962–981.]
- Zhang QR, Nachman RJ, Kaczmarek K, Zabrocki J, Denlinger DL, 2011. Disruption of insect diapause using agonists and an antagonist of diapause hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(41): 16922–16926.
- Zhang TY, Sun JS, Zhang QR, Xu J, Jiang RJ, Xu WH, 2004. The diapause hormone-pheromone biosynthesis activating neuropeptide gene of *Helicoverpa armigera* encodes multiple peptides that break, rather than induce, diapause. *Journal of Insect Physiology*, 50(6): 547–554.