

评述与展望

Review and Progress

保幼激素和蜕皮激素调控昆虫变态发育机制的进展

柳鹏飞 王伟伟 凌晓霏 陆沁 张金稳 汪伟 陈航*

中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 国家林业和草原局资源昆虫培育与利用重点实验室, 昆明, 650224

* 通信作者, stuchen6481@gmail.com

摘要 变态发育是昆虫适应生态环境和气候变化的主要生存策略之一。保幼激素(juvenile hormone, JH)和蜕皮激素(20-hydroxyecdysone, 20E)的相互作用主要调控昆虫组织凋亡和重建、蜕皮等变态生理活动, 近年来保幼激素和蜕皮激素调控昆虫变态发育的分子机制取得了较大的进展。本研究总结了 JH 和 20E 的合成代谢、信号传递通路及基因调控的分子途径; 阐述了 JH-Met 和 20E-EcR-USP 偶联及其信号传递过程、JH/Met 上调抗变态因子 Kr-h1 的表达抑制昆虫变态发育的调控机制及其信号通路间的内在联系; 对未来潜在的研究方向进行了展望, 以期资源昆虫的利用和农林业害虫的防治提供参考。

关键词 变态发育; 保幼激素; 蜕皮激素; 交互作用

Advances in Molecular Mechanism of Juvenile Hormone and Molting Hormone-mediated Metamorphosis

Liu Pengfei Wang Weiwei Ling Xiaofei Lu Qin Zhang Jinwen Wang Wei Chen Hang*

Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration for Cultivation and Utilization of Resources Insects, the Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming, 650224

* Corresponding author, stuchen6481@gmail.com

DOI: 10.13417/j.gab.040.002054

Abstract Metamorphosis is one of the main survival strategies for insects to adapt to ecological environment and climate change. The interaction of juvenile hormone (JH) and molting hormone (20-hydroxyecdysone, 20E) mainly regulate metamorphosis physiological behaviors, including cell apoptosis, tissue reconstruction and ecdysis. Recently, the great advances have been made in the molecular mechanisms of JH and 20E regulating metamorphosis of insects. The paper summarized the process of JH and 20E synthesis metabolism, signal transduction pathway, regulating genes molecular pathway, meanwhile, expounded the combine process and signal pathway of JH-Met and 20E-EcR-USP complex, the mechanism that the JH/Met up-regulated Kr-h1 to inhibit insect metamorphosis, and the inner connection between JH and 20E. We predicted the future potential research directions of insect metamorphosis, in order to provide inferences for the utilization of resource insects and the precaution of agroforestry pest.

Keywords Metamorphosis; Juvenile hormone; 20-hydroxyecdysone; Interaction

昆虫属于节肢动物门(Arthropoda)昆虫纲(Insecta), 生物多样性丰富, 适应性强。现存昆虫大多起源于三叠纪, 兴盛于侏罗纪(Wiegmann et al., 2009)。经长期演变分化, 现存种类涉及 33 目 550 余万种(Stork,

2018)。昆虫的发育方式由增节、表、原、不完全及完全变态逐级进化(Ureña et al., 2016), 其中不完全变态昆虫包括卵、幼虫和成虫三大发育阶段, 完全变态昆虫包括卵、幼虫、蛹和成虫四大发育阶段。旧组织的

基金项目: 本研究由国家自然科学基金面上项目(31772542)和云南省昆虫分子生态与进化创新团队培育项目(202005AE160011)共同资助

引用格式: Liu P.F., Wang W.W., Ling X.F., Lu Q., Zhang J.W., Wang W., and Chen H., 2021, Advances in molecular mechanism of juvenile hormone and molting hormone-mediated metamorphosis, *Jiyinzuxue yu Yingyong Shengwuxue (Genomics and Applied Biology)*, 40(5-6 combined issue): 2054-2062. (柳鹏飞, 王伟伟, 凌晓霏, 陆沁, 张金稳, 汪伟, 陈航, 2021, 保幼激素和蜕皮激素调控昆虫变态发育机制的进展, 基因组学与应用生物学, 40(第 5-6 期合刊): 2054-2062.)

凋亡和新组织重建是变态发育过程中的主要生命活动,其中脂肪体、唾液腺、中肠的凋亡和重建、翅的发生等都属于新旧器官的凋亡和重建(Lee and Baehrecke, 2001; Ryoo and Baehrecke, 2010; Tian et al., 2013; Liu et al., 2014)。变态发育是昆虫和自然环境之间长期相互作用的结果,有助于其生存能力的提高和繁殖力的增强。多数昆虫的两性发育方式具相同性,但也有昆虫的发育方式为雌雄二型发育现象,如部分介壳虫雌虫为不完全变态发育,而雄虫为完全变态发育(Liu et al., 2019),雌雄二型发育方式提高了介壳虫适应环境的能力,更有助于其完成生殖和觅食活动(陈晓鸣, 2011, 科学出版社, pp.1-13)。

保幼激素(juvenile hormone, JH)由昆虫咽侧体(corpora allata, CA)细胞合成分泌,调控幼虫生长特性、促进卵巢成熟以及阻碍幼虫过早的进入下一龄期的作用(Qu et al., 2018),JH 还参与昆虫体型外观、蜕皮、滞育以及刺激雌性成虫体内卵黄形成等生理生化过程(Sugahara et al., 2017)。蜕皮激素(20E)由昆虫前胸腺(prothoracic gland, PG)细胞合成分泌,低浓度时主要控制生长(Nijhout and Callier, 2015),高浓度主要调控昆虫幼虫间的蜕皮和幼虫-蛹-成虫的变态发育过程,诱导细胞程序性死亡(PCD I)和自噬(PCD II)(Ryoo and Baehrecke, 2010),诱导幼虫旧组织消亡和成虫新组织的重建,同时保护中肠免受感染(Mai et al., 2017; Liu et al., 2018)。保幼激素和蜕皮激素协同调控昆虫变态发育(Röller et al., 2010),幼虫期高滴度JH确保高滴度 20E 只触发幼虫间的蜕皮,但是末龄幼虫,JH 滴度下降,高滴度 20E 触发幼虫-蛹或幼虫-成虫的变态发育(Smykal et al., 2014; Takaaki et al., 2015)。21 世纪以来,保幼激素和蜕皮激素的结构功能、合成过程、信号调控途径等已经有了较深入的研究。本研究总结了昆虫激素合成、代谢和调控过程,为昆虫变态发育的分子机制提供科学基础,为通过影响昆虫的变态发育来合理利用资源昆虫和防治害虫提供理论依据。

1 保幼激素的合成调控

1.1 JH 的合成

昆虫体内已经发现 7 种保幼激素,包括 JH0、JH I、JH II、JH III、4-methyl-JH I、JHB3 和 JHSB3(图1)(Toyomi et al., 2009)。JH III 为蜕皮激素主要成分,而半翅目昆虫不能合成 JH III,通过合成 JHSB3 来替代 JH III 的调控作用;JH0 主要调控鳞翅目昆虫胚胎的发育;JH I 和 JH II 主要调控鳞翅目昆虫幼虫的生长

发育;JHB3 和 JH III 共存于果蝇(*Drosophila melanogaster*)等较高等的双翅目昆虫体内(Bendena et al., 2011)。此外,甲基法尼酯(MF)在果蝇和蟑螂(cockroach)等昆虫和一部分甲壳虫体内与 JH 有相似的作用。

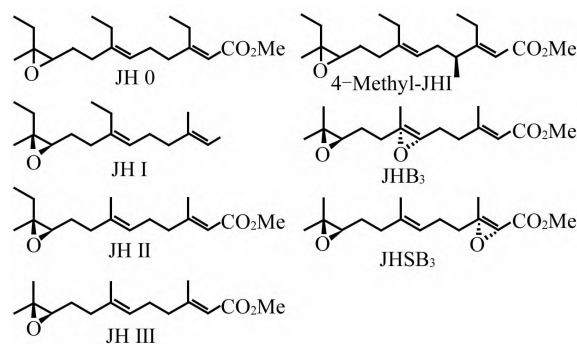


图 1 保幼激素的化学结构式

Figure 1 Juvenile hormone chemical structure

JH 合成通路包括三个过程,第一步是甲羟戊酸(MVA)途径:由乙酰辅酶 A(acetyl-CoA)开始,经过 AACT、HMGS、HMGR、Mvk、PMK、MVD、IPI 及 FPFS 催化形成法呢焦磷酸;第二步是法呢酸(Farnesoic)途径:FDPS、FO 及 FD 酶催化法呢焦磷酸生成法呢酸;第三步是 JH 途径:法呢酸分别被 FAMET、CYP15-A1 或 CYP15C1、JHAMT 催化形成 JH (Takaaki et al., 2012),细胞色素氧化酶 CYP 是一种广泛存在于动植物体内的催化酶,具有重要的催化作用(钱彬彬等, 2018; 张杰等, 2019)(表 1; 图 2)。

1.2 JH 合成的调控

JH 的合成受促咽侧神经肽(AT)、抑咽侧神经肽(AST)、短神经肽 F (sNPF)、蜕皮触发激素(ETH)、谷氨酸盐(Glutamate)、胰岛素(Insulin)等的调控(Zitnan and Adams, 2012; Qu et al., 2018)。sNPF 在 MVA 途径抑制 JH 合成,同时 AT 正向调控 sNPF、而 AST 负向调控 sNPF (Yu and Hiruma, 2014); glutamate 通过调控 JHAMT 来调控 JH 的合成;Insulin 调控胰岛素受体(InR)参与还原性辅酶 A (CoA)基因表达,而 CoA 调控 sNPF 和 HMGR 来调控 JH 合成;ETH 参与 20E 对 JH 调控的过程。保幼激素酯酶(JHE)、环氧化物水解酶(JHEH)、保幼激素二醇激酶(JHDK)、转录因子(FoxO)等基因参与了 JH 的水解过程(Zhang et al., 2017)(图 2);Kriippel-homolog1 (*Kr-h1*)是 JH 信号通路中下游关键应答基因,*Kr-h1* 编码含有 C₂H₂ 锌指结构的转录因子调控 JH 的合成,组蛋白乙酰转移酶结合蛋白(CBP)具有上调 *Kr-h1* 的表达(Kayukawa et al., 2015)。

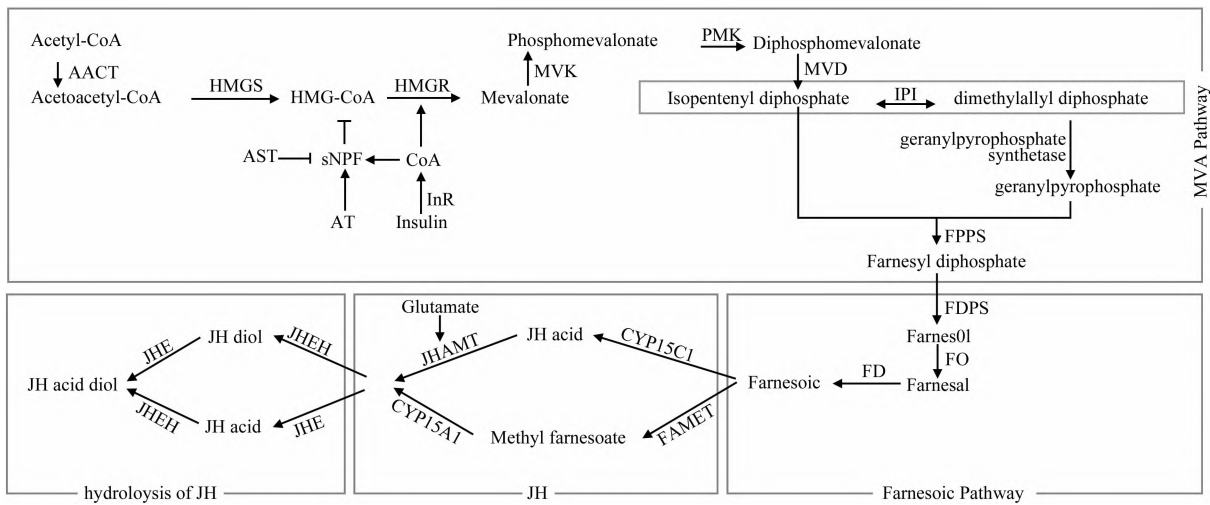


图 2 保幼激素合成的简要调控途径

Figure 2 Brief regulation of juvenile hormone synthesis

表 1 催化保幼激素合成的相关酶

Table1 The enzymes involved in the synthesis of juvenile hormones

酶 Enzyme	作用阶段 The stage of function
乙酰乙酰辅酶 A 硫解酶 Acetoacetyl-CoA thiolase (AACT)	MVA 途径 Mevalonate pathway
3-羟基-3-甲基-戊二酸单酰辅酶 A 合成酶 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase (HMGS)	
3-羟基-3-甲基-戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGR)	
甲羟戊酸激酶 Mevalonate kinase (MVk)	
磷酸甲羟戊酸激酶 Phosphomevalonate kinase (PMK)	
焦磷酸甲羟戊酸脱羧酶 Diphosphomevalonate Decarboxylase (MVD)	
异戊烯醇焦磷酸异构酶 Isopentenol pyro isomerase (IPI)	
法呢基二磷酸合成酶 Farnesyl diphosphate synthase (FDPS)	
法呢基焦磷酸焦磷酸酶 Farnesyl pyrophosphate Pyrophosphatase (FPPS)	Farnesic 途径 Farnesic pathway
法呢脂氧化酶 Farnesol oxidase (FO)	
法呢醛脱氢酶 Farnesol dehydrogenase (FD)	
保幼激素酸甲基转移酶 Juvenile hormone acid Methyltransferase (JHAMT)	JH 途径 Juvenile hormone pathway
法尼酸甲基转移酶 Farnesic acid methyltransferase (FAMEt)	
细胞色素氧化酶 Cytochrome oxidase (CYP15A1/CYP15C1)	

1.3 JH 受体

保幼激素结合蛋白(JHBP)、载脂蛋白(Lipoprotein)和六聚体蛋白(Hexameric protein)与 JH 特异性结合,使 JH 不被降解。bHLH-PAS 转录因子家族中 Met 是 JH 主要的受体蛋白,由 *Methoprene-tolerant (Met)* 基因编码,bHLH-PAS 中 bHLH 为 DNA 结合结构域,PAS 则为信号感受结构域,褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)中,Met 蛋白有 4 个结构域,分别是 bHLH、PAS-A、PAS-B 和 PAC。Met 同家族的转录因子 Taiman、类固醇激素受体共激活物(SRC)、转录因子(β Ftz-F1)结合的类固醇激素受体共激活物(FISC)或 Cyclin (CYC)与 Met 结合形成转录复合体,传导 JH 信号,维持幼虫状态(Jindra et al., 2015)。

2 蜕皮激素的合成调控

2.1 20E 的合成

前胸腺细胞(PG)内吞固醇类物质,经转运蛋白(NPC1)转运至内质网;在内质网上胆固醇被硫铁氧化酶(Neverland)氧化为 7-脱氢胆固醇;短链脱氢酶(Shroud)、细胞色素 P450 羟化酶(Spookier, Cyp6t3)催化 7-脱氢胆固醇生成 5 β -Ketodiol,但是此过程“Black Box”仍未清楚;细胞色素 P450 羟化酶 Phantom (Cyp306a1)、Disembodied (Cyp302a1)和 Shadow (Cyp315a1)催化 5 β -Ketodiol 生成无生物活性的 α -蜕皮甾酮。PG 释放 α -蜕皮甾酮到血淋巴,随着体液循环进入靶细胞,在细胞质内被细胞色素 P450 羟化酶 Shade (Cyp314a1)催化生成具有生物活性 β -蜕皮甾酮(20E) (Lozano and Belles, 2011; Niwa and Niwa, 2016; Sugahara et al., 2017) (图 3)。

2.2 20E 合成的调控

20E 合成分泌受神经因子、胰岛素信号、PTTH、TOR 信号、JH 的反馈作用、NO 信号以及 Activin 等多方面的综合调控(图 3) (Yamanaka et al., 2013)。

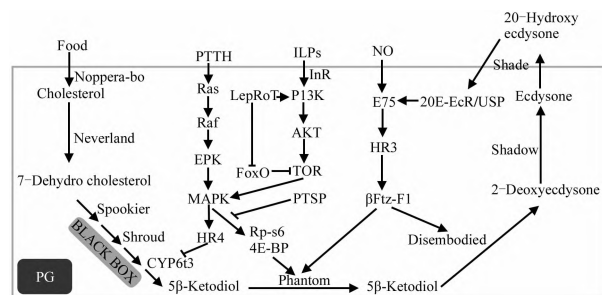


图 3 蜕皮激素合成及其调控途径

Figure 3 Regulation of 20-hydroxyecdysone synthesis

2.2.1 PTTH 和 PTSP 对 20E 合成的调控

促前胸腺激素(prothoracicotropic hormone, PTTH)是由昆虫脑神经细胞合成分泌的促激素,具有促进合成 20E 的作用。在鳞翅目昆虫中,前体 PTTH 被释放到血淋巴中经过加工形成 PTTH 并运送到 PG;但果蝇中,脑和环腺(ring gland, RG)相邻,脑中的神经分泌细胞会直接合成并分泌具有生物活性的 PTTH 作用于 RG (Loof et al., 2015)。PTTH 到 PG 后,PTTH 结合位于细胞膜上的酪氨酸激酶受体 Torso,PTTH-Torso 复合物激活 Ras、Raf、ERK 等信号分子来激活 MAPK 信号通路(Rewitz et al., 2009)。MAPK 信号通路控制磷酸化激素受体 4(HR4)来调控 CYP6t3 的转录,同时磷酸化核糖体蛋白 S6 (ribosomal protein S6, Rp-S6)和 eIF4E 结合蛋白(eIF4E-binding protein, 4E-BP)来调控 20E 的合成(Shi et al., 2013) (图 3)。抑前胸腺肽(prothoracicostatic peptide, PTSP)是一种对 20E 合成有抑制作用的神经肽。研究显示,PTSP 可损坏 PG 细胞膜的 Ca²⁺通道蛋白和抑制 PTTH 控制 MAPK 磷酸化 Rp-S6 来调控 20E 合成(Dedos and Birkenbeil, 2003)。

2.2.2 Insulin、TOR 和 NO 信号对 20E 合成的调控

昆虫胰岛素类似物 Insulin-like peptides (ILP)或 Insulin-related peptides (IRP)具有调控 20E 合成的功能。果蝇中的 ILPs 与 PG 中胰岛素受体 InR 结合可以激活 PI3K-Akt 信号传导通路,上调 20E 合成酶基因表达(Walkiewicz and Michael, 2009)。家蚕(*Bombyx mori*)中 PI3K-Akt 信号通路能够激活 TOR 信号,通过磷酸化 4E-BP 和 Rp-S6 来调控 20E 的合成(Gu et al., 2015)。此外,瘦素受体重叠转录物(LepRoT)可以上调 PI3K 的表达,同时下调 FoxO 的表达,FoxO 具有抑制 TOR 信号的作用(黄明霞等, 2014)。NO 可以调节激素受体 3 (HR3)和蜕皮激素诱导蛋白 5 (E75)激活 β Ftz-F1 表达, β Ftz-F1 调控 Phantom 与 Disembodied 的表达来调控 20E 的合成(Lucía et al., 2011) (图 3)。

2.3 20E 的受体蛋白

昆虫蜕皮激素受体(EcR)属于核受体(nuclear receptor, NR),NR 可以结合启动子、增强子以及 DNA 特异性激活因子从而激活或阻遏靶基因的转录。EcR 与超气门蛋白(USP)形成异源二聚体 EcR/USP, EcR/USP 含有配体结合结构域(LBD)和 DNA 结合结构域(DBD),LBD 与 20E 高度亲和,DBD 通过识别下游基因启动子中的顺式调控元件来调控下游基因的转录。EcR 基因能够编码三种不同蛋白 EcR-A、EcR-B1 和 EcR-B2,都能与 USP 特异结合形成异源二聚体受

体。在果蝇中, EcR-A 主要调控昆虫器官的原基(翅原基)的发育。EcR-B1 表达于幼虫的主要组织, 下调 EcR-B1 的表达将阻断昆虫变态发育(Mazina et al., 2017)。家蚕和斜纹夜蛾(*Prodenia litura*)中 EcR-B1/USP 在幼-蛹变态过程中高表达(黄明霞等, 2014), USP 存在亚型基因 USP1 和 USP2, 研究表明 EcR-B1/USP1 基因能调控 20E 初级应答, 具组织特异性, 与新组织的重建有关系。果蝇 *EcR* 基因的表达受到抑制将会导致成虫新组织无法形成, 且幼虫旧组织无法凋亡, 同时 USP 是果蝇视色素 X 受体(RXR)的同源体, 对果蝇的胚胎发育及变态发育有重要作用(Chavoshi et al., 2010)。梨小食心虫(*Grapholitha molesta*)的 USP 基因表达降低将会导致变态过程中化蛹时间增长, 蛹死亡率升高(Cao et al., 2015)。

3 JH 和 20E 交互作用对变态发育的调控

昆虫咽侧体(CA)合成并分泌 JH, 在血淋巴中形成 JH-JHBP 聚合物, 随着体液循环, JH-JHBP 识别结合靶细胞, JH 脱离 JHBP 进入细胞质, 与 Met 结合激活下游信号(Allam et al., 2016)。果蝇生殖细胞表达因子(germ-cell expression, GCE)具有和 Met 相似的作用, 当胞质内 JH 浓度较低时, Met 聚合为同源二聚体 Met-Met 或者异源二聚体 Met-Gce, 当胞质内 JH 浓度较高时, JH 与 Met 结合, 导致 Met-Met/Met-Gce 解离(Godlewski et al., 2006; Jean-Philippe et al., 2011; Jindra et al., 2015), 随后 Met 结合 SRC 或 FISC 等形成转录复合体 Met/SRC 或 Met/FISC 结合到下游基因 JH 反应元件 JHRE (位于 *Kr-h1* 启动子区域, 包含 3 个 E-box-like 序列)区域, 调控 *Kr-h1* 的表达(Kayukawa et al., 2012; 2015; Sang et al., 2012; Qianyu et al., 2014) (图 4)。

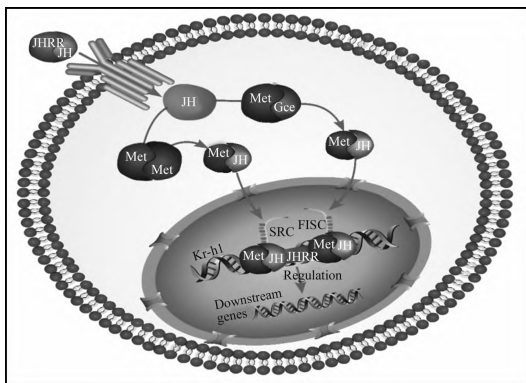


图 4 保幼激素级联调控

Figure 4 Juvenile hormone cascade regulation diagram

20E 调控 G 蛋白偶联受体(GPCR)能够迅速增加胞内环腺苷酸(cAMP)和 Ca^{2+} 水平, 激活蛋白激酶 A (PKA)和蛋白激酶 C (PKC)途径。20E 激活 PKA 途径使 20E 诱导 PKA 产生 PKA 催化亚基 1 (PKAC1), PKAC1 诱导 cAMP 应答元件结合蛋白(CREB)磷酸化产生 P-CREB, P-CREB 结合 DNA 上的应答元件 (CRE)以增强 20E 应答基因的转录; 20E 上调 Ca^{2+} 激活 PKC 途径使 USP 蛋白磷酸化结合 EcR 复合物 EcR/USP, 20E 与 EcR/USP 受体结合后通过 EcRE 激活下游信号通路(Yamanaka et al., 2013; Jing et al., 2016) (图 5)。初级应答过程中, 初级应答基因 *E74*、*E75*、*E93* 和 *Br-C* 受 20E 的调控而引起下游及其次级应答基因的转录(Zoglowek et al., 2012), *E74* 和 *E75* 为血红素传感器, *E74* 有 *E74A* 和 *E74B* 两个亚型, *E74A* 的表达量与 20E 滴度呈正相关, 而 *E74B* 的表达量则与 20E 滴度呈负相关(Xi et al., 2015)。*E75* 有 *E75A*、*E75B* 及 *E75C* 三个亚型, 具有调节蜕皮、变态及生殖的作用(Lucija et al., 2011)。*Br-C* 的 N 末端含有 BTB/POZ 结构域, C 末端则含锌指结构域, 这两种结构域分别赋予了 *Br-C* 与其它蛋白相互作用和 DNA 序列结合的功能, 磷酸化后可以穿过核膜进入细胞核, 并调控下游基因开始转录(Cheng et al., 2014), *E93* 基因的表达可以决定昆虫变态的起始, *E93* 的表达量可以预测昆虫变态发生的起始时间点(Enric et al., 2014)。次级应答过程中, *Ftz-F1*、*HR3*、*HR4* 是 20E 次级应答基因(Ruauud et al., 2015), *Ftz-F1* 能够编码 α *Ftz-F1* 和 β *Ftz-F1* 两种结构蛋白, 而 β *Ftz-F1* 主要在变态及预蛹期发挥调控作用, 在果蝇中, *E75* 与 *HR3/NO* 相互作用抑制 20E 对 β *Ftz-F1* 的诱导, 保证 β *Ftz-F1* 能够在适当的时间点调节 20E 滴度。末龄幼虫期 β *Ftz-F1* 重新诱导 *E74A* 和 *E75A*, 激活 *E93* 控制预蛹-蛹的变态(Xu et al., 2017) (图 5)。

JH 和 20E 影响着彼此的生物合成, 又协同调控昆虫的变态发育。在果蝇和赤拟谷盗(*Tribolium castaneum*) 中 20E 初级应答基因 *Br-C* 被鉴定为蛹期特异性因子“pupal specifier”, JH/Met 上调 PG 中 *Kr-h1* 的表达来抑制 *Br-C* 的表达和 20E 生物合成, 从而阻止幼虫变态使其维持幼虫状态(Abdou et al., 2011; Liu et al., 2018) (图 6)。在全变态昆虫或半变态昆虫中, 20E 初级应答基因 *E93* 被鉴定为成虫特异性分子“adult specifier”, 20E-EcR/USP 诱导 *E93* 的表达, 但是 *E93* 的转录活性因其与 USP 的物理结合而减弱(Xi et al., 2015), JH/Met 上调 *Kr-h1* 的表达来抑制 *E93* 的表达, 从而阻止半变态昆虫幼虫-成虫

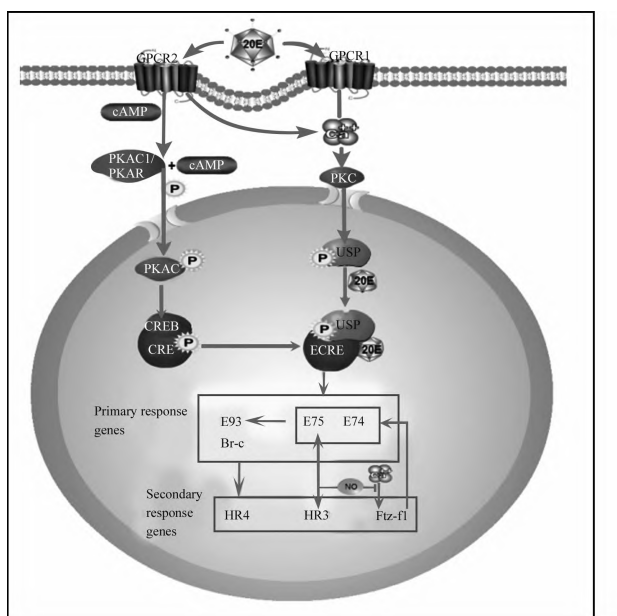


图 5 蜕皮激素级联调控
Figure 5 20-hydroxyecdysone cascade regulation

和全变态昆虫蛹 - 成虫的变态,使其维持幼虫或者蛹态(图 6),因此 JH 初级应答基因 *Krüppel-homolog 1 (Kr-h1)* 被鉴定为抗变态因子“antimetamorphic factor” (Jindra et al., 2015)。

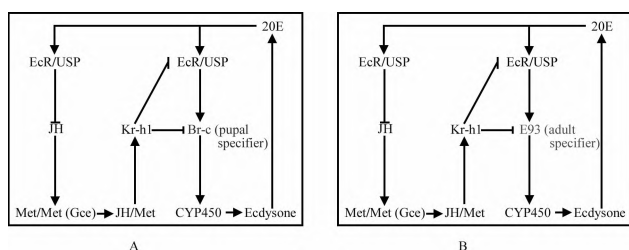


图 6 JH 和 20E 相互作用路径
Figure 6 Interaction path between JH and 20E

4 展望

中国生物多样性丰富,昆虫数量庞大、种类繁多、分布广泛,其丰富的昆虫资源被广泛应用于医药、化工、机械、食品、化妆品等行业(陈晓鸣, 2011, 科学出版社, pp.1-13)。同时种类繁多的害虫也使得农业减产、环境恶化、疾病爆发等问题凸现。随着昆虫激素调控昆虫变态发育的研究逐步深入,关于昆虫发育、繁殖的分子机制将会被进一步了解,未来人们利用激素和基因调控等分子水平调控的方法可以有效的调控昆虫生命活动,如通过滞育延长资源昆虫生产期,增加昆虫资源的生产量,提高昆虫资源的利用;通过基因编辑敲除害虫靶基因,使得昆虫变态失败致死或生殖力低下,大幅度降低昆虫产卵量,有效

地减少害虫数量,同时避免因过量使用化学杀虫剂带来的生物多样性锐减、生态平衡破坏等问题,从而减少农林业的经济损失。

目前,虽然许多研究逐步完善激素调控昆虫变态发育的机制,但是 JH 和 20E 互作过程,FKBP 和 Chd64 调节 JH 信号传导分子机制、E93 调控 20E 信号和昆虫变态的分子机制,USP 结合 E93 使其转录活性减弱的分子机制及其作用、*kr-h1* 介导 JH-20E 在激素合成水平上抗变态的确切分子机制等还不清楚。基于经典的模式昆虫,通过转录组学、代谢组学、遗传学以及分子生物学方法与实验体系,使用 CRISPR/Cas9、RNAi 及生物膜干涉等相关技术,对昆虫 JH-20E 及激素 - 基因互作过程、信号传导过程和非编码 RNA 调控过程的分子机制的研究是变态发育未来研究的重要方向。

作者贡献

柳鹏飞参与本研究的论文撰写和修改;王伟伟参与了论文图片制作和修改;凌晓霏及陆沁参与论文的修改和润色;张金稳及汪伟参与全文的校对和定稿;陈航是论文的构思者及负责人,参与论文的写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金面上项目(31772542)和云南省昆虫分子生态与进化创新团队培育项目(202005AE160011)共同资助。

参考文献

Abdou M.A., He Q.Y., Wen D., Zyaan O., Wang J.J., Xu J., Baumann A.A., Joseph J., Wilson T.G., Li S., and Wang J., 2011, *Drosophila Met and Gce are partially redundant in transducing juvenile hormone action*, *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, 41(12): 938-945.

Allam M., Spillings B.L., Abdalla H., Mapiye D., Koekemoer L. L., and Christoffels A., 2016, *Identification and characterization of microRNAs expressed in the African malaria vector Anopheles funestus life stages using high throughput sequencing*, *Malar. J.*, 15(1): 542.

Bendena W.G., Zhang J., Burtenshaw S.M., and Tobe S.S., 2011, *Evidence for differential biosynthesis of juvenile hormone (and related) sesquiterpenoids in Drosophila melanogaster*, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 172(1): 56-61.

Cao J.J., Liu Y.C., Yang Y.H., Zhang H.J., Li Z., Yang Q.P., Zhang S.D., Zhang Q.W., and Liu X.X., 2015, *Molecular*

- characterization and functional analysis of the ultraspiracle (USP) in the oriental fruit moth *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Olethreutidae), *Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.*, 190: 54-62.
- Chavoshi T.M., Moussian B., and Uv A., 2010, Tissue-autonomous EcR functions are required for concurrent organ morphogenesis in the *Drosophila embryo*, *Mech. Dev.*, 127 (5-6): 308-319.
- Cheng D.J., Qian W.L., Wang Y.H., Meng M., Wei L., Li Z.Q., Kang L.X., Peng J., and Xia Q.Y., 2014, Nuclear import of transcription factor BR-C is mediated by its interaction with RACK1, *PLoS ONE*, 9(10): e109111.
- Dedos S.G., and Birkenbeil H., 2003, Inhibition of cAMP signalling cascade-mediated Ca^{2+} influx by a prothoracicostatic peptide (Mas-MIP I) via dihydropyridine-sensitive Ca^{2+} channels in the prothoracic glands of the silkworm, *Bombyx mori*, *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, 33(2): 219-228.
- Enric U.A., Cristina M., Xavier F.M., and David M., 2014, Transcription factor E93 specifies adult metamorphosis in hemimetabolous and holometabolous insects, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111(19): 7024-7029.
- Godlewski J., Wang S., and Wilson T.G., 2006, Interaction of bHLH-PAS proteins involved in juvenile hormone reception in *Drosophila*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 342 (4): 1305-1311.
- Gu S.H., Chen C.H., Hsieh Y.C., Lin P.L., and Young S.C., 2015, Modulatory effects of bombyxin on ecdysteroidogenesis in *Bombyx mori* prothoracic glands, *J. Insect. Physiol.*, 72: 61-69.
- Huang M.X., Du J., Liu Y.L., Zhao G.D., Wei Z.G., and Shen W. D., 2014, ctivity Detection on promoter regulatory region of ecdysone receptor gene EcR-B1 in the silkworm, *Bombyx mori*, *Canye Kexue (Science of Sericulture)*, 40(3): 389-395. (黄明霞, 杜杰, 刘云垒, 赵国栋, 卫正国, 沈卫德, 2014, 家蚕蜕皮激素受体基因 EcR-B1 的启动子调控区域活性检测, *蚕业科学*, 40(3): 389-395.)
- Jean-Philippe C., Thomas I., V Chandana E., Keiko T., Jan R., and Marek J., 2011, Ligand-binding properties of a juvenile hormone receptor, Methoprene-tolerant, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108(52): 21128-21133
- Jindra M., Bellés X., and Shinoda T., 2015, Molecular basis of juvenile hormone signaling, *Curr. Opin. Insect Sci.*, 11: 39-46
- Jing Y.P., Wang D., Han X.L., Dong D.J., Wang J.X., and Zhao X.F., 2016, The steroid hormone 20-hydroxyecdysone enhances gene transcription through the cAMP response element-binding protein (CREB) signaling pathway, *J. Biol. Chem.*, 291(24): 12771.
- Jones G., Jones D., Li X.B., Tang L.F., Ye L., Teal P., Riddiford L., Sandifer C., Borovsky D., and Martin J.R., 2010, Activities of natural methyl farnesoids on pupariation and metamorphosis of *Drosophila melanogaster*, *J. Insect. Physiol.*, 56(10): 1456-1464.
- Kayukawa T., Minakuchi C., Namiki T., Togawa T., Yoshiyama M., Kamimura M., Mita K., Imanishi S., Kiuchi M., and Ishikawa Y., 2012, Transcriptional regulation of juvenile hormone-mediated induction of Kruppel homolog 1, a repressor of insect metamorphosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(29): 11729-11734.
- Kayukawa T., Nagamine K., Ito Y., Nishita Y., Ishikawa Y., and Shinoda T., 2015, Krüppel homolog 1 inhibits insect metamorphosis via direct transcriptional repression of Broad-complex, a pupal specifier gene, *J. Biol. Chem.*, 291(4): 1751-1762.
- Lee C.Y., and Baehrecke E.H., 2001, Steroid regulation of autophagic programmed cell death during development, *Development*, 128(8): 1443-1455.
- Liu H.H., Wang J., and Li S., 2014, E93 predominantly transduces 20-hydroxyecdysone signaling to induce autophagy and caspase activity in *Drosophila* fat body, *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, 45: 30-39.
- Liu P.F., Wang W.W., Ling X.F., Lu Q., Zhang J.W., He R., and Chen H., 2019, Regulation of hormone-related genes in *Erioceris pella* (Hemiptera: Coccidae) for dimorphic metamorphosis, *J. Insect Sci.*, 19(5): 16.
- Liu S.M., Li K., Gao Y., Liu X., Chen W., Ge W., Feng Q.L., Palli S.R., and Li S., 2018, Antagonistic actions of juvenile hormone and 20-hydroxyecdysone within the ring gland determine developmental transitions in *Drosophila*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 115(1): 139-144.
- Loof A.D., Vandersmissen T., Marchal E., and Schoofs L., 2015, Initiation of metamorphosis and control of ecdysteroid biosynthesis in insects: The interplay of absence of Juvenile hormone, PTTH, and Ca^{2+} -homeostasis, *Peptides*, 68: 120-129.
- Lozano J., and Belles X., 2011, Conserved repressive function of Krüppel homolog 1 on insect metamorphosis in hemimetabolous and holometabolous species, *Sci. Rep.*, 1: 163.
- Lucía C., Necakov A.S., Carol S., Sandra K., Roberts I.J.H., and Krause H.M., 2011, Nitric oxide coordinates metabolism, growth, and development via the nuclear receptor E75, *Genes Dev.*, 25(14): 1476-1485.
- Mai T., Chen S., Lin X., Zhang X., Zou X., Feng Q., and Zheng S., 2017, 20-hydroxyecdysone positively regulates the transcription of the antimicrobial peptide, lebocin, via BmEts and BmBR-C Z4 in the midgut of *Bombyx mori* during metamorphosis, *Dev. Comp. Immunol.*, 74: 10-18.
- Mazina M.Y., Kocheryzhkina E.V., Nikolenko J.V., Krasnov A.

- N., and Vorobyeva N.E., 2017, Nuclear receptors EcR, Usp, E75, DHR3, and ERR regulate transcription of ecdysone cascade genes, *Dokl. Biochem. Biophys.*, 473: 145-147.
- Nijhout H.F., and Callier V., 2015, Developmental mechanisms of body size and wing-body scaling in insects, *Annu. Rev. Entomol.*, 60: 141-156.
- Niwa Y.S., and Niwa R., 2016, Transcriptional regulation of insect steroid hormone biosynthesis and its role in controlling timing of molting and metamorphosis, *Dev. Growth Differ.*, 58(1): 94-105.
- Qian B. B., Li Y. K., Li J., Cheng L., Xia B., and Wang R., 2018. Molecular Cloning and Expression Analysis of CYP98A from *Lycoris aurea*, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 16(11): 3533-3541. (钱彬彬, 李宜奎, 李洁, 程丽, 夏冰, 汪仁, 2018, 忽地笑 CYP98A 的分子克隆与表达分析, *分子植物育种*, 16(11): 3533-3541.)
- Qianyu H., Di W., Qiangqiang J., Chunlai C., Jian W., Palli S.R., and Sheng L., 2014, Heat shock protein 83 (Hsp83) facilitates methoprene-tolerant (Met) nuclear import to modulate juvenile hormone signaling, *J. Biol. Chem.*, 289 (40): 27874-27885.
- Qu Z., Bendena W.G., Tobe S.S., and Hui J.H.L., 2018, Juvenile hormone and sesquiterpenoids in arthropods: Biosynthesis, signaling, and role of MicroRNA, *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 184: 69-76.
- Rewitz K.F., Naoki Y., Gilbert L.I., and O'Connor M.B., 2009, The insect neuropeptide PTTH activates receptor tyrosine kinase torso to initiate metamorphosis, *Science*, 326(5958): 1403-1405.
- Röller H., Dahm K.H., Sweely C.C., and Trost B.M., 2010, The structure of the juvenile hormone, *Angew. Chem. Int. Edit.*, 6: 179-180.
- Ruaud A.F., Lam G., and Thummel C.S., 2015, The *Drosophila* nuclear receptors DHR3 and betaFTZ-F1 control overlapping developmental responses in late embryos, *Development*, 137(1): 123-131.
- Ryoo H.D., and Baehrecke E.H., 2010, Distinct death mechanisms in *drosophila* development, *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 22(6): 889-895.
- Sang W.S., Zhen Z., Saha T.T., and Raikhel A.S., 2012, bHLH-PAS heterodimer of methoprene-tolerant and Cycle mediates circadian expression of juvenile hormone-induced mosquito genes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109 (41): 16576-16581.
- Shi H.G., Yun-Chin H., Shun-Chieh Y., and Pei-Ling L., 2013, Involvement of phosphorylation of adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase in PTTH-stimulated ecdysteroidogenesis in prothoracic glands of the silkworm, *Bombyx mori.*, *PLoS ONE*, 8(5): e63102.
- Smykal V., Daimon T., Kayukawa T., Takaki K., Shinoda T., and Jindra M., 2014, Importance of juvenile hormone signaling arises with competence of insect larvae to metamorphose, *Dev. Biol.*, 390(2): 221-230.
- Stork N.E., 2018, How many species of insects and other terrestrial arthropods are there on earth? *Annu. Rev. Entomol.*, 63: 31-45.
- Sugahara R., Tanaka S., and Shiotsuki T., 2017, RNAi-mediated knockdown of SPOOK reduces ecdysteroid titers and causes precocious metamorphosis in the desert locust *Schistocerca gregaria*, *Dev Biol*, 429(1): 71-80.
- Takaaki D., Miwa U., Hajime N., Hideki S., and Tetsuro S., 2015, Knockout silkworms reveal a dispensable role for juvenile hormones in holometabolous life cycle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112(31): 4226-4235.
- Takaaki D., Toshinori K., Ryusuke N., Isao K., Kenjiro F., Toshiaki N., Keiro U., Yutaka B., Susumu K., and Toshiki T., 2012, Precocious metamorphosis in the juvenile hormone-deficient mutant of the silkworm, *Bombyx mori*, *PLoS Genet.*, 8(3): e1002486.
- Tian L., Ma L., Guo E., Deng X., Ma S., Xia Q., Cao Y., and Li S., 2013, 20-Hydroxyecdysone upregulates Atg genes to induce autophagy in the *Bombyx* fat body, *Autophagy*, 9 (8): 1172-1187.
- Toyomi K., Tetsuro S., Kanako K., Yasufumi O., and Hideharu N., 2009, Structure determination of a new juvenile hormone from a heteropteran insect, *Organic Lett.*, 11 (22): 5234-5237.
- Ureña E., Chafino S., Manjón C., Franch-Marro X., and Martín D., 2016, The occurrence of the holometabolous pupal stage requires the interaction between E93, Krüppel-Homolog 1 and Broad-Complex, *PLoS Genet.*, 12(5): e1006020.
- Walkiewicz M.A., and Michael S., 2009, Increased insulin/insulin growth factor signaling advances the onset of metamorphosis in *drosophila*, *PLoS ONE*, 4(4): e5072.
- Wiegmann B.M., Trautwein M.D., Kim J.W., Cassel B.K., Bertone M.A., Winterton S.L., and Yeates D.K., 2009, Single-copy nuclear genes resolve the phylogeny of the holometabolous insects, *BMC Biol.*, 7: 34.
- Xi L., Fangyin D., Enen G., Kang L., Li M., Ling T., Yang C., Guozheng Z., Palli S.R., and Sheng L., 2015, 20-Hydroxyecdysone (20E) Primary Response Gene E93 Modulates 20E signaling to promote *bombyx* larval-pupal metamorphosis, *J. Biol. Chem.*, 290(45): 27370-27383.
- Xu Q.Y., Meng Q.W., Shi J.F., Deng P., Li G.Q.J.P.B., and Physiology, 2017, Novaluron ingestion causes larval lethality and inhibits chitin content in *Leptinotarsa decemlineata*

- fourth-instar larvae, *Pestic. Biochem. Phys.*, 143: 173-180.
- Yamanaka N., Rewitz K.F., and O'Connor M.B., 2013, Ecdysone control of developmental transitions: lessons from drosophila research, *Annu. Rev. Entomol.*, 58: 497-516.
- Yu K., and Hiruma K., 2014, Short neuropeptide F (sNPF) is a stage-specific suppressor for juvenile hormone biosynthesis by corpora allata, and a critical factor for the initiation of insect metamorphosis, *Dev. Biol.*, 393(2): 312-319.
- Zhang J., Deng M.S., Cai C.C., Ran S., Yu L.P., Yang C.Q., and Wang X.Y., 2019, Cloning, expression pattern and bioinformatics analysis of *StCYP734A1* gene in *Solanum tuberosum*, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 17(15): 4883-4893. (张杰, 邓孟胜, 蔡诚诚, 冉爽, 余丽萍, 杨翠芹, 王西瑶, 2019, 马铃薯 *StCYP734A1* 基因克隆, 表达模式及生物信息学分析, *分子植物育种*, 17(15): 4883-4893.)
- Zhang Z., Liu X., Shiotsuki T., Wang Z., Xu X., Huang Y., Li M., Li K., and Tan A., 2017, Depletion of juvenile hormone esterase extends larval growth in *Bombyx mori*, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 81: 72-79.
- Zitnan D., and Adams M.E., 2012, 7-Neuroendocrine regulation of ecdysis, In: Gilbert L. I. (ed.), *Insect Endocrinology*, pp. 253-309.
- Zogłówek A., Orłowski M., Pakuła S., Dutko-Gwózdź J., Pajdzik D., Gwózdź T., Rymarczyk G., Wiczorek E., Dobrucki J., and Dobryszycki P., 2012, The composite nature of the interaction between nuclear receptors EcR and DHR38, *Biol. Chem.*, 393(6): 457-471.