

昆虫中肠围食膜蛋白研究进展

张小霞*, 乔冠华, 梁振普, 许 锋, 曹素梅, 陈晓慧

(河南农业大学生命科学学院, 郑州 450002)

摘要: 围食膜是大多数昆虫中肠内壁附着的一层起润滑和保护作用的半透性粘膜, 按其形成方式不同分为 I 型围食膜和 II 型围食膜。围食膜主要由几丁质和蛋白质构成, 其中蛋白质对于维持围食膜的致密结构至关重要, 对围食膜蛋白的破坏可能会对昆虫的正常生长发育造成干扰, 甚至会导致低龄幼虫的死亡。本文介绍了围食膜的组成与结构, 阐述了昆虫围食膜蛋白研究的新发现, 并依据结构特征对它们进行了分类, 总结了以围食膜蛋白为新靶标的害虫防治的可能途径, 讨论了当前围食膜蛋白研究的不足, 最后展望了今后围食膜蛋白研究的发展方向。

关键词: 昆虫; 围食膜; 围食膜蛋白质; 害虫; 生物防治

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2009)12-1366-07

Research progress in insect peritrophic membrane proteins

ZHANG Xiao-Xia*, QIAO Guan-Hua, LIANG Zhen-Pu, XU Feng, CAO Su-Mei, CHEN Xiao-Hui
(College of Life Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Peritrophic membrane (PM), a semi-permeable mucous layer, serves as a lubricative and protective barrier in the midgut of the major types of insects. PM can be divided into peritrophic membrane type I and II according to its different ways of formation. PM is mainly composed of chitin and protein, and the latter is very important in maintaining PM dense structure. Damages to PM proteins may cause serious interference to insect growth, and even lead to the death of low-instar larva. This article introduced the composition and structure of PM, reviewed the new discovery of the insect peritrophic membrane proteins, the classification according to their structural characteristics and possible methods of peritrophic membrane proteins as the targets for pest control, and discussed the limitations of current research and the future prospects of PM proteins.

Key words: Insects; peritrophic membrane; peritrophic membrane proteins; pest insects; biological control

动物的消化道是一个开放的环境, 面临着不断变化的各种理化和生物因素的影响。在长期的进化过程中, 脊椎动物的消化系统形成了粘液层保护屏障。相应地, 大多数无脊椎动物(例如昆虫)也进化出了类似粘液层的防御系统——围食膜(peritrophic membrane, PM)。昆虫围食膜是一种长管状的薄膜层, 从中肠的前端一直延伸到后肠(相静波等, 2004), 包裹着食物颗粒以避免摄入物跟中肠上皮细胞的直接接触。按形成方式的不同, 围食膜可分为 I 型围食膜和 II 型围食膜。前者为多层管状膜, 由中肠细胞分泌形成; 后者呈连续的套筒管状, 由中肠前端器官贲门中高度特化的细胞连续分泌产生(李斌等, 2007)。围食膜在昆虫中广泛存在, 除虱

目、啮虫目、缨翅目、双舌目、缺翅目、捻翅目、广翅目和蛇蛉目外的大多数昆虫中都有围食膜(Peters, 1992)。关于昆虫围食膜的研究已足有两百多年的历史。Lyonet(1762)在鳞翅目的幼虫体内发现了围食膜, 这可能是最早的关于围食膜的报道。Balbiani(1890)最先将其命名为围食膜, 但是围食膜基质(peritrophic matrix)成为后来最常见的提法。Peters(1992)提出了新的名称“peritrophic envelope”, 这名字或许更形象地表现了围食膜的状态。Waterhouse(1957)推测围食膜在昆虫消化中的作用, Richards 和 Richards(1977)给出了不同的昆虫合成围食膜的不同方式。近些年来, 围食膜的研究进入了分子水平, 不断有围食膜组分被分离、鉴

基金项目: 国家自然科学基金项目(30700540); 河南省教育厅自然科学基金(2007180022)

作者简介: 张小霞, 女, 1973 年生, 副教授, 研究方向为病毒功能基因组学及基因工程

* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 0371-63555790; E-mail: lzpzxx@126.com

收稿日期 Received: 2009-06-22; 接受日期 Accepted: 2009-10-26

定,关于围食膜的功能以及结构和功能之间关系的报道也越来越多。

昆虫种类繁多,其中绝大多数是农林业生产中的害虫,而害虫的综合控制也一直是一个科学研究的热点。由于围食膜所处位置的特殊性,使其成为昆虫体内的第一道防御屏障(吉洪湖等,2005),在昆虫正常的生长发育过程中发挥着重要作用。多种增效因子如昆虫颗粒体病毒的增效蛋白、刚果红、凝集素、荧光增白剂等通过与围食膜上的蛋白质特异位点进行结合或与围食膜蛋白竞争几丁质,从而破坏围食膜结构,促进病原体(如病毒和细菌)的感染,甚至导致低龄幼虫的死亡(郭慧芳等,2003;朱蓉等,2003;陈浩涛等,2003),因此围食膜蛋白作为害虫防治的靶标蛋白受到了越来越多的重视。近年来,以围食膜为作用新靶标的研究有了许多新的发现和进展。本文针对围食膜蛋白质的分类、围食膜蛋白的结构与功能,以及围食膜在害虫防治中的应用等方面的研究进展进行综述。

1 昆虫围食膜组成与结构

1.1 昆虫围食膜的组成

无脊椎动物的围食膜处于与哺乳动物的粘液层相似的位置,发挥着增加润滑、促进消化、抵御有害微生物入侵等功能。但是,与哺乳动物的粘液层相比,昆虫的围食膜的结构更复杂,组分也更多样。除了大量的蛋白质以外,围食膜还含有几丁质和糖类。

蛋白质是围食膜的主要组分,约占围食膜的35%~55%,在烟草天蛾 *Manduca sexta* 的围食膜内蛋白质约占60%(Kramer *et al.*, 1995)。SDS-PAGE分析显示,不同昆虫的围食膜蛋白质种类差别很大。在I型围食膜中,不同昆虫的蛋白质种类从2~30种不等(Wang and Granados, 2001);而II型围食膜中的蛋白质约有5~15种(李斌等,2007)。围食膜中的大部分蛋白质被不同程度地糖基化,多糖在某些蛋白中的含量甚至高达50%(Shi *et al.*, 2004)。目前已知的糖类包括酸性粘多糖、中性多糖、透明质酸、己糖胺、葡萄糖和葡萄糖酸等(相静波等,2004)。

几丁质是N-乙酰氨基葡萄糖在几丁质合成酶的作用下,通过 β -1,4糖苷键联结形成的聚合物。根据几丁质链间结合的方式不同,几丁质纤维分为3种:反平行的 α 型、平行的 β 型和两种兼有的 γ

型(Jang *et al.*, 2004),其中 α 型的热力学稳定性最强、最常见。经过浓缩合成的几丁质纤维直径大约2~6 nm,含有200~400条几丁质链。多条几丁质纤维可以进一步组合成直径大约为20 nm的几丁质束(Peters *et al.*, 1979; Peters, 1992)。这些几丁质束交叉形成的几丁质网状结构,构成围食膜的骨架,网孔的边长大约是 $(125 \pm 14 \text{ nm})$ (Peters *et al.*, 1979; Harper and Hopkins, 1997)。对围食膜中的糖含量研究较少。用酸、碱分别水解并调节pH值至7后用硫酸-苯酚法和硫酸-蒽酮分别测定糖含量,发现棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 幼虫围食膜中糖含量为7.6%(张严峻等,2000),华北大黑鳃金龟 *Holotrichia oblita* 中糖含量为8.9%(李帅等,2008)。因为糖的含量对于围食膜形成致密的结构非常重要,因此对不同虫龄中围食膜蛋白的糖含量研究,可为害虫的有效防治提供一定的理论基础。

1.2 结构模型

在前人大量围食膜组分和分子生物学特性的研究结果基础上,Wang和Granados(2001)提出了围食膜的结构模型,在该模型中,大量种类不同的围食膜结构蛋白通过自身数目不等的几丁质结合结构域(chitin-binding domain, CBD)非共价结合在由几丁质束交错构成的网状支持物上,构成了类似凝胶的粘性结构。因此蛋白质在维持围食膜致密防御结构中起着至关重要的作用。

2 围食膜蛋白及围食膜因子的分类

2.1 围食膜蛋白的分类

虽然Campbell等(2008)报道利用无水三氟甲烷磺酸(TMFS)可以溶解包括几丁质在内的全部围食膜组分,获得了几乎所有的围食膜蛋白。但是,在传统上仍然将围食膜上的蛋白质根据其抽提的难易程度分为4类:溶于生理盐水的蛋白、溶于弱表面活性剂的蛋白、溶解于强的变性剂的蛋白和不溶于强变性剂的蛋白。其中将可溶于强变性剂的蛋白称为围食膜因子(peritrophin)(Tellam, 1996; Tellam *et al.*, 1999)。目前,已有若干种昆虫的围食膜蛋白得到了分析,采用双向或单向SDS-PAGE分析发现东非螫螯蝇 *Glossina moritans morsitans* 的围食膜大约有40种蛋白质,在角蝇 *Haematobia irritans* 围食膜中有25~30种,在冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 和埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 的I型围食膜中有20~40种,华北大黑鳃金龟约有28种此类蛋白

质(Moskalyk *et al.*, 1996; 相静波等, 2004; 李帅等, 2008)。由于处理方式和检测手段的不同, 张严峻等(2000)和 Campbell 等(2008)分别在棉铃虫围食膜中发现了 16 和 41 种蛋白。

2.2 围食膜因子的分类

目前已经鉴定的蛋白质均属于围食膜因子, 按照其氨基酸序列的结构特征大致可以分为如下 3 类: 具有类粘蛋白结构域(mucin-like domain)的肠粘蛋白, 不含类粘蛋白结构域的几丁质结合蛋白, 类几丁质去乙酰酶蛋白(chitin deacetylase-like protein, CDA-like)以及其他酶类。

2.2.1 肠粘蛋白: 粘蛋白(mucin)最先在哺乳动物中发现并被命名(Perez-Vilar and Hill, 1999)。它的一般特征包括: 糖含量高, 5 种氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、脯氨酸、苏氨酸和丝氨酸)占绝对多数, 含有重复序列和半胱氨酸富集区, 几乎不含芳香族氨基酸等。尽管绝大多数粘蛋白都有串联重复序列的存在, 但在这些重复序列之间却没有什同源性(Verma and Davidson, 1994)。

在多数肠粘蛋白中, 丝氨酸和苏氨酸是粘蛋白的基本组成部分, 同时也含有少量的脯氨酸和组氨酸。由于富含丝氨酸和苏氨酸, 这些氨基酸侧链上的羟基提供了潜在的 O-糖基化位点(Verma and Davidson, 1994)。Wang 和 Granados (1997a)在粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* 围食膜中发现了高度 O-糖基化的粘蛋白。在氨基酸序列与组成上与人类肠粘蛋白 MUC2 相似, 命名为无脊椎动物肠粘蛋白(invertibrate intestinal mucin, IIM)。

目前已经从 6 种昆虫中克隆了 16 种 IIM。包括: 粉纹夜蛾 2 种(TnIIM14, AF000605.1 和 TnIIM22, AF000606.1)(蛋白质后为 GenBank 登录号, 下同), 棉铃虫 7 种(HaIIM1, EU325544.1; HaIIM2, EU325543.1; HaIIM3, EU325564.1; HaIIM4, EU325565.1; HaIIM15, EU144129.1; HaIIM46, EU144130.1 和 HaIIM86, EU136045.1), 蓓带夜蛾 *Mamestra configurata* 4 种(McIIM, AY057052.1; McIIM2, FJ670567.1; McIIM3, FJ670568.1 和 McIIM4, FJ670569.1), 甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 1 种(SeIIM-8, EU047712.1), 小菜蛾 *Plutella xylostella* 1 种(PxIIM, AF545582.1), 埃及伊蚊 1 种(AaIIM, AF125984.1)(Wang and Granados, 1997a; Sarauer *et al.*, 2003; Shi *et al.*, 2004; Devenport *et al.*, 2006; Campbel *et al.*, 2008; 张霞等, 2008)。这些蛋白质的分子结构如图 1 所示。

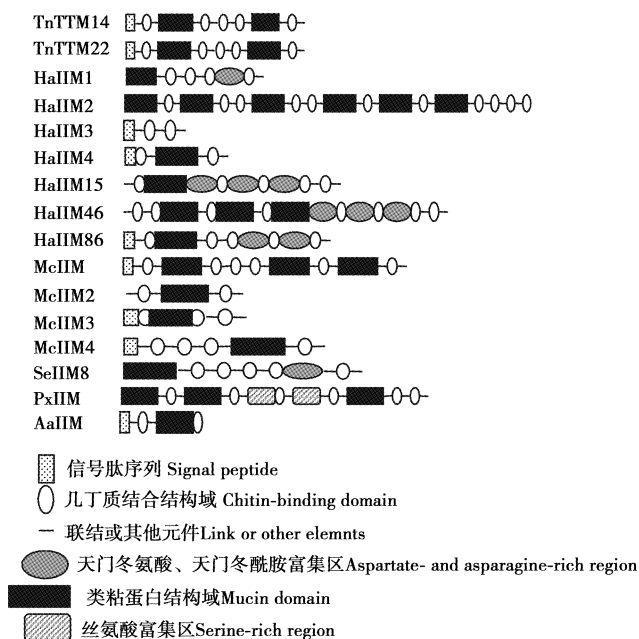


图 1 部分昆虫 IIM 的结构特征

Fig. 1 Structure of IIMs from different insects

整体来说, IIM 之间同源性很低(包括种间和种内), 但在粉纹夜蛾中发现的 TnIIM14 和 TnIIM22 在序列上却高度同源, 二者只在第 2 个粘蛋白结构域相差 19 个氨基酸残基。类似的现象也在棉铃虫的 HaIIM1 和 HaIIM86 之间存在, 这显示它们可能来自同一个基因, 只是在后期的修饰过程中被不同地剪接以适应不同的分布和功能, 这会不会是在 IIM 中普遍存在的表达方式还有待进一步研究。尽管这些 IIM 在序列上差异很大, 在组成上也多种多样, 但它们的基本结构元件却是相同的: (1) N 端完整的序列都含有信号肽, 显示它们可能是分泌蛋白; (2) 都含有一个或多个 CBD, 这可能跟它们在几丁质层构成的网状结构上的位置有关, 含有多个 CBD 的 IIM 可能分布在几丁质网孔边线的中间部位; (3) 都含有一个或多个粘蛋白结构域, 这些区域被高度糖基化, 使围食膜获得了很强的润滑性(促进消化)以及对水解酶的稳定性(Rayms-Keller *et al.*, 2000)。

粘蛋白结构域中存在的脯氨酸残基在空间结构上形成了一个 β -转角, 使蛋白质上大量的多糖侧链伸出。多糖侧链的存在, 一方面可能通过堵塞几丁质网孔, 起到降低围食膜通透性的作用; 另一方面, 可能通过多糖间(分子内和分子间)以及它们同多肽骨架之间的相互作用, 起到维持围食膜的韧性和对蛋白酶的稳定性的作用, 但这是不是 IIM 中粘蛋白结构域普遍存在的空间构象也有待继续研究。

2.2.2 几丁质结合蛋白: 根据前人的研究结果, 本文提到的几丁质结合蛋白是指那些用不同的方法从围食膜上解离下来、含有 CBD 具有潜在的几丁质结合能力、在功能上尚不能进行明确归类的蛋白质。在围食膜蛋白的研究早期, 研究人员根据分子量的大小, 对围食膜因子进行了命名(称为 peritrophin-X), 如铜绿蝇 *Lucilia cuprina* 幼虫的围食膜蛋白 peritrophin-44 及 peritrophin-48 等(Elvin *et al.*, 1996; Schorderet *et al.*, 1998)。在这些蛋白质中尚未发现其他典型的结构域, 但都含有数目不等的 CBD。关于此类蛋白质的功能, 一方面可能通过对新合成几丁质束的固定, 参与早期几丁质网状结构的形成; 另一方面, 通过对几丁质的结合参与对几丁质网状骨架的保护, 使其不易被外源或内源的几丁质酶降解。

2.2.3 类几丁质去乙酰酶蛋白: 近年来, 随着双向电泳和高效液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)等技术的广泛使用, 围食膜上越来越多的酶类相继被发现。Toprak 等(2008)在蓓带夜蛾围食膜中发现了3种推定的脂肪酶。Campbell 等(2008)利用质谱的自动识别发现棉铃虫的围食膜中可能含有胰岛素、胰凝乳蛋白酶、羧肽酶、氨基肽酶、脂肪酶、淀粉酶等。对这些酶类的表达和功能进行深入研究, 将有助于阐明昆虫围食膜在食物消化和营养吸收过程中所起的作用。目前有关围食膜酶类的研究资料还比较少, 其中研究比较多的是类几丁质去乙酰酶。

几丁质去乙酰酶是催化几丁质脱去乙酰基形成壳聚糖的一种分泌蛋白。它是一种细胞外的几丁质修饰酶, 隶属于糖酯酶家族(carbohydrate active enzymes family CE4), 在致病的真菌和细菌中已经有较多的研究(刘建军等, 2007)。Guo 等(2005)最先从粉纹夜蛾中肠 cDNA 表达文库里分离得到一段编码几丁质去乙酰酶(insect CDA-like protein)的核酸序列。其研究结果显示, 该蛋白具有很强的几丁质结合能力, 但没有检测到编码蛋白的去乙酰基活性。Luschnig 等(2006)和 Wang 等(2006)鉴定了3个编码 CDA-like 蛋白的黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 基因(CG8756, CG32209 和 CG17905)。其中, 基因 *serpentine* (CG32209) 和 *vermiform* (CG8756) 具有调节表皮角质层结构性质的功能, 在气管导管形成过程中起着重要作用(Luschnig *et al.*, 2006)。Toprak 等(2008)基于序列表达标签用 5'-RACE 的方法得到了一个同蓓带夜蛾围食膜相关的 CDA 基因, 并利用 Northern blot 和

Western blot 在中肠中检测到了该基因的表达, 同时重组子表达产物体外孵育实验证明了它具有去乙酰酶活性。

Dixit 等(2008)鉴定了9个编码 CDA 的基因, 并与其他3种昆虫(黑腹果蝇、冈比亚按蚊、西方蜜蜂 *Apis mellifera*)的研究结果进行了比对和分析。在此基础上, Dixit 把昆虫的类去乙酰酶蛋白分成了5类(group I-V)。group I 和 group II 在结构域组成上相同, 都包含1个 CBD、1个低密度脂蛋白受体 A 类结构域(LDLA)和1个 CDA 结构域, 但是, 其结构域内部的组成却又互不相同: group II 所含的 CDA3 与 I 类所含的 CDA1 和 CDA2 在序列组成上是不同的; group III 和 group IV 含有1个 CBD 和1个 CDA 结构域, 均不含 LDLA, 且二者含有的 CDA 结构域类型也不同; group V 结构是最简单的, 只含有1个 CDA 结构域(不含 CBD 和 LDLA)。这类蛋白质可能是一种结构蛋白, 也可能只是一种参与调节几丁质和围食膜结构以适应消化道环境变化的修饰蛋白。已有研究结果显示, 不同的壳聚糖和几丁质的含量比例可能对维持昆虫围食膜的结构甚至是昆虫的生长发育都是至关重要的(Arakane *et al.*, 2009)。

3 基于围食膜蛋白的害虫防治

围食膜因其位置的特殊性, 成为昆虫防御消化道致病微生物的第一道物理屏障。围食膜蛋白作为其主要成分, 在维持围食膜的的正常生理功能方面发挥着不可替代的作用。对围食膜蛋白的大量破坏会影响围食膜的正常生理功能, 除了会抑制昆虫的正常生长发育外, 也会加快致病微生物的感染进程、缩短昆虫死亡时间。因此, 围食膜蛋白质将是未来进行害虫防治重要的切入点之一。综合看来, 以围食膜蛋白为靶标控制害虫可以有如下几种途径:

(1) 破坏蛋白质与几丁质的结合能力, 使其更容易从几丁质网上解离。Wang 等(1997a)的研究显示, 在二硫苏糖醇(DTT)存在的情况下, TnIIM 能很快地被相关的内源消化酶降解, 认为 DTT 对 IIM 二硫键的破坏降低了 IIM 与几丁质结合的稳定性。另有研究证明, 用1%的荧光增白剂和刚果红同样可使围食膜蛋白质分离, 且解离下来的蛋白质具有很强的几丁质亲和性。因此, 荧光增白剂和刚果红一样都属于几丁质亲和剂, 能竞争性地结合新合成的几丁质, 使围食膜蛋白不能与几丁质结合,

从而破坏围食膜的结构或抑制其形成 (Wang and Granados, 2000; 张小霞等, 2006)。所以, 在生产上可以通过在杀虫剂里复配破坏蛋白质与几丁质结合的物质, 从而达到增效或者控制害虫的目的。

(2) 抑制或除去蛋白质的 O-糖基化 (O-glycosylation), 降低蛋白质对消化酶类的稳定性。围食膜的重要组分——IIM 均含有一个或多个 O-糖基化结构域。该结构域对保持 IIM 对蛋白酶类的稳定性十分重要。研究结果显示, TnIIM 同内源的蛋白消化酶体外孵育长达 16 h 观察不到降解现象。但是, 在有氧联糖苷酶 (O-glycosidase) 参与的情况下, TnIIM 很快被降解 (Wang and Granados, 1997b)。因此, 可以通过利用氧联糖苷酶除去多糖, 使 IIM 被多糖覆盖的关键区域裸露, 易于降解, 最终达到破坏围食膜的完整性、增加通透性的目的。通过分子间的特异性结合, 改变围食膜的通透性。围食膜上的大部分蛋白质由于被糖基化都带有多糖侧链, 作为围食膜骨架的几丁质本身也是一种糖类。植物凝集素是一种与多糖具有高度亲和性的植物糖蛋白, 被昆虫摄入的植物凝集素可以和糖蛋白上的多糖侧链或者是几丁质网本身结合降低围食膜的通透性, 从而影响昆虫正常的食物消化和营养吸收。

Eisemann 等 (1994) 发现, 在喂食了小麦胚芽凝集素、小扁豆凝集素和伴刀豆球蛋白后, 铜绿蝇幼虫的围食膜通透性都有所下降。Hopkins 和 Harper (2001) 进一步证明, 小麦胚芽凝集素能降低鳞翅目幼虫围食膜的合成速率。Amorim 等 (2008) 发现刺桐白蜡豌豆球蛋白也有类似的作用。它的作用机制类似于苏云金芽孢杆菌的毒素蛋白, 该蛋白在昆虫中肠水解酶的作用下释放一个小分子量的片段, 此小片段同围食膜结合进而发挥作用。这些结果说明植物凝集素对围食膜的影响可能是多方面的。

能和围食膜蛋白特异性结合的抗体也有类似的功能。已经发现, 蚊子成虫在吸食了接受过肠组织免疫的宿主的血液 (含有抗体) 之后, 减少了围食膜的形成 (Ramasamy *et al.*, 1996), 降低了产卵率 (Sutherland and Ewen, 1974), 死亡率也提高 (Alger and Cabrera, 1972)。虽然具体的作用机制还不清楚, 但可以推测植物凝集素和特异性抗体可能都是以围食膜上的特定蛋白为靶标的。随着研究的深入, 通过对农作物进行植物凝集素转基因改造或者在杀虫剂中添加抗围食膜蛋白抗体将是有效的害虫防治方法之一。

(3) 通过生物大分子间的相互作用, 直接降解围食膜中的蛋白组分。

一些昆虫杆状病毒可以利用自身编码的酶类 (如增效蛋白) 降解围食膜蛋白, 从而破坏围食膜的屏障作用, 为毒素和病原物的入侵打开通道。Wang 等 (1997b) 的研究证明, 颗粒体病毒的增效蛋白具有很高的杀虫增效活性, 而且该增效蛋白的靶标就是围食膜上的 IIM。Peng 等 (1999) 进一步证明, 利用颗粒体病毒的增效因子处理围食膜以后, 其通透性大大增加。近年来的研究还发现: 昆虫痘病毒的纺锤状包涵体可以破坏昆虫的围食膜, 进而加快昆虫痘病毒的侵染 (Mitsuhashi *et al.*, 2007)。所以, 利用昆虫微生物天敌特有的蛋白酶类作为杀虫增效剂亦应是今后的研究重点之一。

4 结语与展望

围食膜上的各种蛋白质在维持围食膜的完整性、相对稳定性, 以及保证围食膜正常执行生理功能等方面具有重要的作用。有关围食膜蛋白质的研究已有大量积累, 但截至目前还很不深入, 在其发育、结构和功能方面 (如相关基因如何进行表达调控, 蛋白质组分如何合成和分泌等) 更为欠缺。关于围食膜蛋白质的功能, 大多数都是根据实验现象作出的推理。此外, 这些蛋白质执行功能的细节也还不清楚, 如: 在围食膜包裹食入的重金属离子, 将其以围食膜碎片和重金属离子的复合物形式排出体外的过程中, 围食膜蛋白发挥了什么样的功能? 有无相关的信号传导途径? 这些问题的解答都需要进一步的实验证据来支持。

围食膜蛋白种类很多, 目前研究相对比较清楚的是 IIM。昆虫 IIM 本身是一个较大的蛋白质家族, 其今后的重点研究方向可归结为如下几点: IIM 成员之间在围食膜形成过程中的相互作用机制, 可能成为害虫防治的新靶标的 IIM (例如 Enhancin 酶解的靶标蛋白), 在一级序列上差异较大的 IIM 接受 Enhancin 特异性降解的共性分子基础是什么, 各种结构域的功能如何等。值得注意的是, 围食膜蛋白除了 IIM 外, 还有很多功能不清楚的蛋白质和酶类。对这些未知蛋白和酶类的定性以及功能的深入研究, 除了有助于建立更完整的围食膜结构和功能模型外, 还将会给我们的害虫生防提供更广阔的视角和更丰富的思路。

总之, 对昆虫中肠围食膜的深入研究不但可以

提供更多的害虫防治思路, 而且有助于探索微生物同宿主的相互作用模式。因此, 以围食膜蛋白为对象的研究必将得到更加广泛的重视。

参 考 文 献 (References)

- Alger NE, Cabrera EJ, 1972. An increase in death rate of *Anopheles stephensi* fed on rabbits immunized with mosquito antigen. *J. Econ. Entomol.*, 65(1): 165–168.
- Amorim TML, Macedo LLP, Uchoa AF, Oliveira AS, Pitanga JCM, Macedo FP, Santos EA, Sales MP, 2008. Proteolytic digestive enzymes and peritrophic membranes during the development of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Piralidae): Targets for the action of soybean trypsin inhibitor (SBTI) and chitin-binding vicilin (EvV). *J. Agric. Food Chem.*, 56(17): 7 738–7 745.
- Arakane Y, Dixit R, Begum K, Park Y, Specht CA, Merzendorfer H, Kramer KJ, Muthukrishnan S, Beeman RW, 2009. Analysis of functions of the chitin deacetylase gene family in *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 39(5–6): 355–365.
- Balbani EG, 1890. Études anatomiques et histologiques sur le tube digestif des *Cryptops*. *Arch. Zool. Exp. Gen.*, 8: 1–82.
- Campbell PM, Cao AT, Hines ER, East PD, Gordon KHJ, 2008. Proteomic analysis of the peritrophic matrix from the gut of the caterpillar, *Helicoverpa armigera*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38(10): 950–958.
- Chen HT, Pan XY, Yuan ZM, Tan JC, 2003. The debilitation of recombinant enhancin on cotton bollworm. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 29(4): 308–310. [陈浩涛, 潘雪义, 袁哲明, 谭济才, 2003. 重组增效蛋白对棉铃虫的弱化作用. 湖南农业大学学报(自然科学版), 29(4): 308–310]
- Devenport M, Alvarenga PH, Shao L, Fujicoka H, Bianconi ML, Oliveira PL, Jacobs-Lorena M, 2006. Identification of the *Aedes aegypti* peritrophic matrix protein AeIMUCI as a heme-binding protein. *Biochemistry*, 45(31): 9 540–9 549.
- Dixit R, Arakane Y, Specht CA, Richard C, Kramer KJ, Beeman RW, Muthukrishnan S, 2008. Domain organization and phylogenetic analysis of proteins from the chitin deacetylase gene family of *Tribolium castaneum* and three other species of insects. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38(4): 440–451.
- Eisemann CH, Donaldson RA, Pearson RD, Cadogan LC, Vuocolo T, Tellam RL, 1994. Larvicidal activity of lectins on *Lucilia cuprina*: Mechanism of action. *Entomol. Exp. Appl.*, 72(1): 1–10.
- Elvin CM, Vuocolo T, Pearson RD, East IJ, Riding GA, Eisemann CH, Tellam RL, 1996. Characterization of a major peritrophic membrane protein, peritrophin-44, from the larvae of *Lucilia cuprina*. *J. Biol. Chem.*, 271(15): 8 925–8 935.
- Guo HF, Fang JC, Han ZJ, 2003. Advances in insect virus synergists. *Acta Entomol. Sin.*, 46(6): 766–772. [郭慧芳, 方继朝, 韩召军, 2003. 昆虫病毒增效剂研究进展. 昆虫学报, 46(6): 766–772]
- Guo W, Li G, Pang Y, Wang P, 2005. A novel chitin-binding protein identified from the peritrophic membrane of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 35(11): 1 224–1 234.
- Harper MS, Hopkins TL, 1997. Peritrophic membrane structure and secretion in European corn borer larvae (*Ostrinia nubilalis*). *Tissue and Cell*, 29(4): 463–475.
- Hopkins TL, Harper MS, 2001. Lepidopteran peritrophic membranes and effects of dietary wheat germ agglutinin on their formation and structure. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 47(2): 100–109.
- Jang MK, Kong BG, Jeong YI, Lee CH, Nah JW, 2004. Physicochemical characterization of α -chitin, β -chitin, and γ -chitin separated from natural resources. *J. Polymer Sci. A*, 42(14): 3 423–3 432.
- Ji HH, Yuan ZM, 2005. Peritrophic membrane: a potential target for biocontrol of pest insects. *Acta Entomol. Sin.*, 48(6): 968–974. [吉洪湖, 袁哲明, 2005. 围食膜: 害虫生物防治的潜在靶标. 昆虫学报, 48(6): 968–974]
- Kramer KJ, Hopkins TL, Schaefer J, 1995. Applications of solids NMR to the analysis of insect sclerotized structures. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 25(10): 1 067–1 080.
- Li B, Li SW, Li CY, Li GX, 2007. Progress in the peritrophic membrane as a novel target for insect control. *Journal of Northeast Agricultural University*, 38(1): 130–135. [李斌, 李淑文, 李长友, 李国勋, 2007. 害虫生防新靶标——昆虫中肠围食膜的研究进展. 东北农业大学学报, 38(1): 130–135]
- Li S, Li SW, Li CY, Zhou HX, Li GX, 2008. Preliminary study on structure of peritrophic membrane (PM) from *Holotrichia obliata* (Coleoptera: Melolonthidae). *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 23(4): 55–59. [李帅, 李淑文, 李长友, 周洪旭, 李国勋, 2008. 鞘翅目害虫-华北大黑鳃金龟围食膜结构的初步研究. 华北农学报, 23(4): 55–59]
- Liu JJ, Zhao XY, Liu LP, 2007. Advance in research of chitin deacetylase protein. *Shandong Food Ferment*, 4: 40–46. [刘建军, 赵祥颖, 刘丽萍, 2007. 几丁质脱乙酰酶(CDA)的研究进展. 山东食品发酵, 4: 40–46]
- Luschnig S, Bätz T, Armbruster K, Krasnow MA, 2006. Serpentine and vermiform encode matrix proteins with chitin binding and deacetylation domains that limit tracheal tube length in *Drosophila*. *Curr. Biol.*, 16(2): 186–194.
- Lyonet P, 1762. *Trait'e Anatomique de la Chenille qui ronge le bois de Saule*. Gosse and Pinet, La Haye, Holland.
- Mitsuhashi W, Kawakita H, Murakami R, Takemoto Y, Saiki T, Miyamoto K, Wada S, 2007. Spindles of an entomopoxvirus facilitate its infection of the host insect by disrupting the peritrophic membrane. *Journal of Virology*, 81(8): 4 235–4 243.
- Moskalyk LA, Oo MM, Jacobs-Lorena M, 1996. Peritrophic matrix proteins of *Anopheles gambiae* and *Aedes aegypti*. *Insect Mol. Biol.*, 5(4): 261–268.
- Peng J, Zhong J, Granados RR, 1999. A baculovirus enhancin alters the permeability of a mucosal midgut peritrophic matrix, from lepidopteran larvae. *J. Insect Physiol.*, 45(2): 159–166.
- Perez-Vilar J, Hill RL, 1999. The structure and assembly of secreted

- mucins. *J. Biol. Chem.*, 274(45): 31 751 – 31 754.
- Peters W, Heitmann S, D'Haese J, 1979. Formation and fine structure of peritrophic membranes in the earwig, *Forficula auricularia* (Dermaptera: Forficulidae). *Entomol. Gen.*, 5: 241 – 254.
- Peters W, 1992. Peritrophic Membranes. Springer, Lsted, Berlin.
- Ramasamy MS, Raschid L, Srikrishnaraj KA, Ramasamy R, 1996. Antimidgut antibodies inhibit peritrophic membrane formation in the posterior midgut of *Anopheles tessellatus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 33(1): 162 – 164.
- Rayms-Keller A, McGaw M, Oray C, Carlson JO, Beaty BJ, 2000. Molecular cloning and characterization of a metal responsive *Aedes aegypti* intestinal mucin cDNA. *Insect Mol. Biol.*, 9 (4): 419 – 426.
- Richards AG, Richards PA, 1977. The peritrophic membrane of insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 22: 219 – 240.
- Sarauer BL, Gillott C, Hegedus D, 2003. Characterization of an intestinal mucin from the peritrophic matrix of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Insect Mol. Biol.*, 12(4): 333 – 343.
- Schorderet S, Pearson RD, Vuocolo T, Eisemann C, Riding GA, Tellam RL, 1998. cDNA and deduced amino acid sequences of a peritrophic membrane glycoprotein, 'peritrophin-48', from the larvae of *Lucilia cuprina*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 28 (2): 99 – 111.
- Shi X, Chamankhah M, Visal-Shah S, Hemmingsen SM, Erlandson M, Braun L, Alting-Mees M, Khachatourians GG, O'Grady M, Hegedus DD, 2004. Modeling the structure of the type I peritrophic matrix: Characterization of a *Mamestra configurata* intestinal mucin and a novel peritrophin containing 19 chitin binding domains. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 34(10): 1 101 – 1 115.
- Sutherland GB, Ewen AB, 1974. Fecundity decrease in mosquitoes ingesting blood from specifically sensitized mammals. *J. Insect Physiol.*, 20(4): 655 – 660.
- Tellam RL, 1996. The peritrophic matrix. In: Bilingsley PF, Lehane MJ eds. *Biology of The Insect Midgut*. Chapman and Hall, London. 86 – 114.
- Tellam RL, Wijffels G, Willadsen P, 1999. Peritrophic matrix proteins. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 29(2): 87 – 101.
- Toprak U, Baldwin D, Erlandson M, Gillott C, Hou X, Coutu C, Hegedus DD, 2008. A chitin deacetylase and putative insect intestinal lipases are components of the *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae) peritrophic matrix. *Insect Mol. Biol.*, 17 (5): 573 – 585.
- Verma M, Davidson EA, 1994. Mucin genes: Structure, expression and regulation. *Glycoconjugate Journal*, 11: 172 – 179.
- Wang P, Granados RR, 1997a. Molecular cloning and sequencing of a novel invertebrate intestinal mucin cDNA. *J. Biol. Chem.*, 272 (26): 16 663 – 16 669.
- Wang P, Granados RR, 1997b. An intestinal mucin is the target for a baculovirus enhancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94 (14): 6 977 – 6 982.
- Wang P, Granados RR, 2000. Calcofluor disrupts the mid-gut defense system in insects. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 30(2): 135 – 143.
- Wang P, Granados RR, 2001. Molecular structure of the peritrophic membrane (PM): Identification of potential PM target sites for insect control. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 47 (2): 110 – 118.
- Wang S, Jayaram SA, Hemphala J, Senti KA, Tsarouhas V, Jin H, Samakovlis C, 2006. Septate-junction-dependent luminal deposition of chitin deacetylases restricts tube elongation in the *Drosophila trachea*. *Curr. Biol.*, 16(2): 180 – 185.
- Waterhouse DF, 1957. Digestion in insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 2: 1 – 18.
- Xiang JB, Liu HX, Wu WJ, 2004. Progress in research on peritrophic membrane of insect. *Entomological Knowledge*, 41(2): 116 – 122. [相静波, 刘惠霞, 吴文君, 2004. 昆虫围食膜的研究进展. 昆虫知识, 41(2): 116 – 122]
- Zhang X, Li GX, Guo W, 2008. Molecular cloning and sequencing of an insect intestinal mucin cDNA from *Spodoptera exigua*. *Scientia Agricultura Sinica*, 42(11): 3 898 – 3 904. [张霞, 李国勋, 郭巍, 2008. 甜菜夜蛾肠粘蛋白 cDNA 基因的分子克隆与序列分析. 中国农业科学, 42(11): 3 898 – 3 904]
- Zhang XX, Liang ZP, Peng HY, Zhang ZX, Tang XC, Li G, Zhao SL, Xiao YZ, Zhang WJ, 2006. Effect of Congo red on peritrophic membrane of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and its viral-enhancing activity. *Acta Entomol. Sin.*, 49(1): 45 – 49. [张小霞, 梁振普, 彭辉银, 张忠信, 汤显春, 李罡, 赵淑玲, 肖宇宙, 张万菊, 2006. 刚果红对棉铃虫中肠围食膜的影响及其病毒增效作用. 昆虫学报, 49(1): 45 – 49]
- Zhang YJ, Tan J, Lin YQ, 2000. The structure and constitution of peritrophic membrane of *Helicoverpa armigera*. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 12(3): 140 – 143. [张严峻, 谭军, 林玉清, 2000. 棉铃虫围食膜的结构和组成. 浙江农业学报, 12(3): 140 – 143]
- Zhu R, Peng JX, Hong HZ, 2003. Effects of fluorescent brightener on the peritrophic membrane structure of *Spodoptera exigua*. *Acta Entomol. Sin.*, 46(4): 424 – 428. [朱蓉, 彭建新, 洪华珠, 2003. 光增白剂对甜菜夜蛾围食膜结构的作用与影响. 昆虫学报, 46(4): 424 – 428]

(责任编辑:赵利辉)