

# 昆虫分子生物学的一些进展：胚胎发育、丝蛋白与可诱导的抗菌蛋白

翟启慧

(中国科学院动物研究所, 北京 100080)

## 胚胎发育中的基因调控

从一个受精卵发育成一个多细胞的个体, 涉及许多基因, 其表达有时间上的程序和空间上的限制。调控果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 胚胎发育的基因已研究得很详细, 包括三大类调控基因——母体基因、分节基因和同源异形基因。在早期发育中, 这三类基因相继起作用, 前一类基因的产物依次调节下类基因的表达, 组成一个调控等级网 (或称调控阶梯), 是研究发育中基因调控的良好模型。

体节结构的产生是使胚胎成形的中心一环。果蝇胚胎发育中体节形成的两大要点是: 1. 梯度的建立。受精卵的核分裂数次后所产生的核能按梯度的高低找出其在细胞质中的位置。2. 间隔条带的形成。公共细胞质 (合胞) 中的核向外周转移, 形成合胞囊胚, 再分裂数次, 长出细胞膜将核分开, 形成细胞囊胚。此时, 每一细胞的前途已确定。沿胚胎的前后轴形成了间隔的条带, 相当于基因表达的范围, 最后发育成为体节。

果蝇胚胎体节形成过程中的调控基因网如图 1 所示。各类基因的主要功能和相互之间的关系详见表 1。

### 1. 母体基因 (maternal genes)

母体基因是调控阶梯最上级的基因, 在卵形成时由母体表达。通常是在卵母细胞四周的滋养细胞中表达, 然后其 mRNA 或蛋白被输送到卵母细胞中。这些来自母体的基因 (已鉴定其约 30

个) 决定早期发育的极性和胚胎前后、背腹两个主轴。建立前后轴所需的基因包括前部 (头、胸部)、后部 (腹部) 和端部 (前后不分节的终端) 基因, 共约 20 个 (Ingham, 1988;

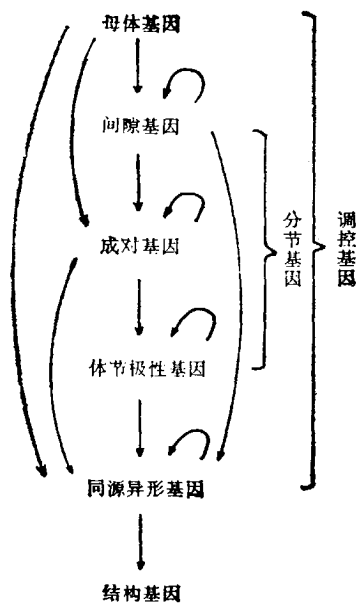


图 1 调控果蝇胚胎发育的基因等级网

表 1 果蝇胚胎发育中各类调控基因的主要功能

| 调控基因   |        | 表达时间    | 主要功能           |                              | 变态效应                |
|--------|--------|---------|----------------|------------------------------|---------------------|
| 母体基因   |        | 卵子发生期   | 形成梯度,建立前后轴及背腹轴 |                              | 头、胸或腹部缺失,背腹异常       |
| 分节基因   | 间隙基因   | 合胞囊胚期   | 规定体节数目及位置      | 作用于宽的重叠区,将胚胎分为 3 大区段         | 相邻数体节缺失,造成前后间断      |
|        | 成对基因   | 细胞囊胚期   |                | 作用于成对体节,形成均匀间隔的 7 条带,建立似体节原基 | 每隔一体节(双数或单数)的相应部分缺失 |
|        | 体节极性基因 | 原肠期     |                | 作用于个别体节,形成 14 条窄带,建立似体节的界线   | 每一体节部分缺失或变异的        |
| 同源异形基因 |        | 细胞囊胚期以后 | 影响体节的分化决定体节的特征 |                              | 体节发育成其他体节的相应结构      |

Nüsslein-Volhard, 1991; St. Johnston 和 Nüsslein-Volhard, 1992)。

建立胚胎的前后轴决定于来自前后的两种相反的梯度。产生前部梯度的是 *bicoid* (*bcd*) 基因。它在卵子形成时转录,其 RNA 位于卵的前端。卵受精后 RNA 转译,其蛋白从前端扩散到卵长的 2/3,形成一种由前向后的浓度梯度,一直保持到囊胚期,细胞的发育前途决定于其所处位置的 *bcd* 蛋白的浓度 (Frohnhofer 和 Nüsslein-Volhard 1986; Berleth 等,1988; Driever 和 Nüsslein-Volhard, 1988a,b; Driever 等,1990)。

*bcd* 蛋白是一种 DNA 结合蛋白,它激活合子分节基因的转录而决定胚胎前部的发育。它的靶基因之一是间隙基因 *hunchback* (*hb*)。 *hb* 是胸部和部分头部发育所必需的,它在胚胎的前半部 *bcd* 蛋白浓度较高的区域表达。在 *hb* 基因上游有几个 *bcd* 结合位点,表明 *bcd* 是 *hb* 的转录激活者 (Driever 和 Nüsslein-Volhard, 1989; Struhl 等,1989)。

后部发育涉及一大组母体基因,其中的决定因素是 *nanos* 基因 (Lehmann 和 Nüsslein-Volhard, 1991; Wang 和 Lehmann, 1991)。*nanos* 在胚胎后部形成梯度。与 *bcd* 基因决定前部发育的作用机理不同,*nanos* 虽然提供腹部发育所必需的信号,但它并不直接调节有关的间隙基因,而是起阻遏一个阻遏物的作用。它的主要功能是阻止 *hb* 在后部表达。*hb* 是间隙基因中的一个例外,它在母体和合子中两度转录。母体的 *hb* mRNA 均匀地分布于整个卵内,它所编码的母体 *hb* 蛋白对腹部发育所必需的 *knirps* 和 *giant* 基因的表达有阻抑作用。只有当 *nanos* 抑制了母体 *hb* 在后部的表达,*knirps* 和 *giant* 才能转录而使腹部正常发育 (Howard, 1989; Irish 等 1989; Struhl, 1989; St. Johnston 和 Nüsslein-Volhard, 1992)。

## 2. 分节基因 (segmentation genes)

分节基因共约 20 个,其功能是建立体节形成的“规则”。按它们影响范围的大小,可以分为三组: 间隙基因 (*gap genes*)、成对基因 (*pair-rule genes*) 和体节极性基因 (*segment polarity genes*)。三组基因将胚胎沿前后轴分成越来越小的单位。这三组基因也是等级式关系,间隙基因控制成对基因,成对基因控制体节极性基因。每组中的个别

基因又受同组基因的控制(图 1)。

### (1) 间隙基因

间隙基因是受精后最早转录的基因之一部分。其突变使相邻数体节连续缺失, 在身体的前后结构中造成一个间隙, 因而得名。它们在沿前后轴的大的重叠区中表达(Akam, 1989; Gaul 和 Jackle, 1989; Pankratz 等, 1989)将胚胎分成 3 个宽区。间隙基因的表达依赖于母体基因。母体基因产物形成的梯度可以活化或抑制间隙基因。

间隙基因的 3 个主要成员是 *hunchback(hb)*、*Krüppel(Kr)* 和 *knirps(kni)*。它们均编码与 DNA 结合的锌指蛋白(zinc finger protein)(Rosenberg 等, 1986; Tautz 等, 1987; Nauber 等, 1988; Stanojevic 等, 1989)。它们在合胞囊胚期开始表达。*hb* 在胚胎的前部 1/2 和后部 1/4 两区表达; *Kr* 在中部表达; *kni* 在 *Kr* 的前后两侧表达。这些转录区是由来自母体基因的信息所决定的。前部 *bcd* 基因和后部 *osk* 基因组的成员分别活化 *hb* 和 *kni* 的转录, 但它们又分别从前、后阻遏 *Kr* 的转录, 因而将其限制在中部(Ingham, 1988)。间隙基因之间也有相互调节作用(Jockle 等, 1986; Hülkamp 等, 1990)。*hb* 和 *Kr* 相互阻遏, *kni* 也对 *Kr* 起抑制作用, 从而使邻区之间的分界明显而稳定。间隙基因产物在它们各自的表达区内形成浓度梯度, 这些梯度提供的位置信息指导下级基因——成对基因的表达(Akam, 1989; Pankratz 等, 1990)。

### (2) 成对基因

所有成对基因表达的基本模式是在环绕胚胎的 7 条均匀间隔的细胞中表达, 使囊胚细胞化时沿前后轴产生精确的重复条带。通过对 mRNA 或蛋白的染色, 可以看到基因表达形成的一系列条带, 每一基因又各有独特的表达和控制方式。

在成对基因的成员之间也存在调节等级(Ingham, 1988; Akam 1989; Pankratz 和 Jackle, 1990)。初级成对基因如 *hairy* 和 *even-skipped(eve)* 主要由间隙基因直接调节(Howard 等, 1988; Goto 等, 1989; Harding 等, 1989)。这些基因的 5' 侧翼 DNA 中均有间隙基因结合部位。母体基因也对某些初级成对基因有直接影响(Hooper 等, 1989)。次级成对基因如 *fushi tarazu(ftz)* 主要由初级成对基因调节(Hiromi 和 Gehring, 1987)。其上游的调节单元是成对基因蛋白的靶部位(Hiromi 等, 1985; Carroll, 1990)。有些成对基因的远上游序列中还有自我调节单元, 如 *ftz* 和 *eve* 的蛋白对基因表达有正反馈作用(Hiromi 和 Gehring, 1987; Harding 等, 1989)。*hairy* 基因没有自我调节功能(Hooper 等, 1989)。

初级成对基因表达的 7 条带是根据不同的间隙基因的信息分别形成的(Howard 等, 1988; Goto 等, 1989; Harding 等, 1989), 因为每一条带处于胚胎的不同位置, 各有间隙基因的不同组合和浓度。*eve* 和 *hairy* 的启动子均有“条带特异性”调节单元, 每一单元由不同间隙基因产物的多个结合部位组成(Stanojevic 等, 1989; Pankratz 等, 1990; Howard 和 Struhl, 1990; Riddihough 和 Ish-Horowicz, 1991)。次级成对基因如 *flz* 则是从已形成条带的初级成对基因产物接受统一信号, 7 条带作为一个整体形成的(Hiromi 等, 1985; Pankratz 和 Jackle, 1990)。

成对基因的两个关键成员是 *ftz* 和 *eve*。它们的表达产物沿前后轴形成 2 套交替的 7 条带, 相当于 14 条亚体节(parasegment)的原基(Lawrence 等, 1987; Lawrence 和

Johnston, 1989)。这是胚胎分节的前奏。似体节是胚胎最早出现的一种分节单位,反映基因表达的区带,与形态上的体节不一致,每一似体节的后半部相当于体节的前半部。

### (3) 体节极性基因

在原肠期开始时,体节极性基因的重要成员 *engrailed* (*en*) 和 *wingless* (*wg*) 被成对基因 *ftz*、*eve* 等激活,分别在每一亚体节的前、后部的细胞中表达 (Howard 和 Ingham, 1986; Baker, 1987; DiNardo 和 O'Farrell, 1987; Ingham 等, 1988)。它们的转录物积累在沿前后轴的 2 套相邻的 14 条带中,标志每一似体节的前后界线。这是体节组织的最早迹象。*en* 是体节极性基因中最重要的,它的表达对体节结构的形成与维持是不可缺少的。

虽然 *en* 和 *wg* 开始表达决定于成对基因的活动,但维持表达则依赖于它们本身之间的相互作用 (DiNardo 等, 1988; Martinez-Arias 等, 1988; Ingham 和 Nakano, 1990; Bejsovec 和 Martinez-Arias, 1991; Heemskerk 等, 1991)。*wg* 基因产物本身作为信号传递到相邻细胞维持 *en* 的表达 (van den Heuvel 等, 1989; Gonzalez 等, 1991)。维持 *wg* 表达则依赖于 *en*, 但 *en* 蛋白不能直接调节,必须通过其它体节极性基因产物作为信号分子 (Ingham 和 Nakano, 1990; Ingham 和 Martinez-Arias, 1992)。*en* 和 *wg* 的相互作用使亚体节的界线变得整齐而稳定。

在原肠期末,原来表达 *en* 和 *wg* 的两组细胞进行重新分布,此后,亚体节向体节过渡。在细胞分化之前,亚体节的界线变浅,在其后出现深沟,是初始的体节分界。

虽然仅仅在原肠期短暂地可以看到亚体节的分界,但是亚体节在发育中具有特殊意义,尤其是因为它们与许多同源异形基因(见下文)的表达与功能范围相符,并与成虫芽原基的形成有关。

### 3. 同源异形基因(以下简称 HOM)

上述分节基因的活动使胚胎分成一系列重复的亚体节,每一亚体节的性质与形态特征则决定于 HOM (Akam 等, 1988),由于 HOM 的作用在于“选择”体节的发育途径,故也称为“选择者基因”(selector genes)。

HOM 最早在囊胚期即开始转录,大约与成对基因同时,依赖于母体与间隙基因的活动 (White 和 Lehmann, 1986; Harding 和 Levine, 1988; Irish 等, 1989)。起初它们在宽的重叠区内表达,以后成对基因 *ftz* 的调节使其表达区与亚体节的界线一致,因为亚体节的界线也决定于 *ftz* 所提供的位置信息 (Duncan, 1986; Ingham 和 Martinez-Arias, 1986, 1992)。

HOM 一般在染色体上成为基因簇,称为复合位点 (Scott, 1987)。果蝇有两个复合位点: 控制头/胸部体节的 *Antennapedia* 复合位点 (ANT-C) 及控制胸/腹部体节的 *Bithorax* 复合位点 (BX-C),合称为同源异形复合位点 (HOM-C) (Gehring 和 Hiromi, 1986; McGinnis 和 Krumlauf, 1992)。这些复合位点很大,在其中任何位点可发生突变;导致体节发育畸形。最极端的例子是 BX-C 的突变可使第三胸节(生长平衡棒的)变成第二胸节(生长翅的),因而成虫有两对翅。ANT-C 的突变可使触角长成足。

HOM 在复合位点中的定位与它们的功能区(所影响的体节)在身体前后轴上的排列次序是一致的 (Abbott 和 Kaufman, 1986; Ingham 和 Martinez-Arias, 1992; McGin-

nis 和 Krumlauf, 1992)。复合位点中最靠 3' 端的基因影响最前部的体节, 位于最靠 5' 端的基因则是后腹部体节正常发育所必需的 (Duncan, 1987; Kaufman 等, 1990; McGinnis 和 Krumlauf, 1992)。

HOM 的表达具有体节特异性, 并依赖于 HOM 之间的相互作用。一般说来, 在较后部表达的基因抑制在较前部表达的基因 (Gehring 和 Hiromi, 1986; Ingham, 1988), 即在较前体节表达的基因被它后一个基因阻遏而不能在较后体节表达。HOM 的表达依次被后一个基因阻遏, 从而保证体节特征的前后顺序。

同源异形盒 (homeobox) 和同源异形盒基因 对 BX-C 和 ANT-C 分子特性的研究鉴定了一个结构要素——同源异形盒。它存在于复合位点的所有基因中, 是一个约 180 bp 高度保守的 DNA 序列, 它所编码的蛋白称为同源异形蛋白 (homeodomain), 具有明显相似的 60 个氨基酸, 是一种序列特异性 DNA 结合蛋白, 能识别靶基因 5' 末端的特异 DNA 序列, 是具有转录调节功能的转录因子 (Regulski 等, 1985; Gehring 和 Hiromi, 1986; Levin 和 Hoey, 1988; Biggin 和 Tjian, 1989; Scott 等, 1989; Gehring 等, 1990; McGinnis 和 Krumlauf, 1992)。

除了 HOM 以外, 母体基因和分节基因的许多成员, 如 *bcd*、*eve*、*ftz*、*en*, 也都有同源异形盒 (Ingham, 1988; Biggin 和 Tjian, 1989; Gehring 等, 1990)。普遍存在于调控果蝇早期发育的三类基因中, 可以解释这些调控基因之间的等级关系: 这些调控基因均编码序列特异性 DNA 结合蛋白, 能调控下一级基因的表达, 因而形成一个调控阶梯。位于最下级的 HOM 的靶基因是体节特异性形态发生所需的结构基因 (Gould 等, 1990; Graba 等, 1992)。

除了果蝇之外, 在不少其它昆虫中也对分节基因和 HOM 基因进行了不同程度的研究。已从沙蝗 (Patel 等, 1989; Tear 等, 1990a、b)、长蜡象 (Campbell 和 Caveney, 1989)、赤拟谷盗 (Beeman, 1987; Beeman 等, 1989、1990; Stuart 等, 1991)、家蚕 (Suzuki 等, 1987、1990)、烟草天蛾 (Nagy 等, 1990)、蜜蜂 (Fleig 等, 1988; Walldorf 等, 1989; Fleig, 1990)、伊蚊 (Eggleston, 1990) 等昆虫中分离和鉴定了分节基因 *en*、ANT-C 中的 *Dfd*、*Scr*、*Antp*、BX-C 中的 *abd-A* 等同源异形盒基因, 在结构和功能上均与果蝇的对应基因相似。这表明不同目的昆虫, 虽然胚胎发生有差异 (例如体节形成在果蝇中是同时发生的, 而在很多其它昆虫中则是循序产生的), 并在进化上相距较远, 但在早期发育中涉及相似的基因, 控制发育的机理却是相似的。

## 丝蛋白基因的调节

家蚕 *Bombyx mori* 的丝蛋白包括丝心蛋白 (fibroin) 和丝胶蛋白 (sericin)。丝心蛋白是两个多肽 (350kDa 的重链和 25kDa 的轻链) 由双硫键连接而成。重链和轻链的基因位于不同染色体上, 但在后丝腺中协同表达。丝心蛋白基因在胚胎期丝腺器官形成刚完成时即开始表达。在此早期活化后, 该基因在幼虫期反复地开启和关闭, 即在取食期表达而在蜕皮时不表达, 其 mRNA 水平表现周期性变化。在 5 龄开始时, 丝心蛋白基因从后丝腺的前部开始转录, 然后逐渐扩展到后部。丝心蛋白基因的转录, 在空间和时间上非常精确, 可为研究选择性基因调控机理的良好模式系统 (Suzuki 等, 1987、1990a)。

由中丝腺合成的丝胶蛋白包括 4—6 个主要多肽,分子量从 65—400kDa。其基因表达也具有空间与时间的特异性。丝胶蛋白基因之一, Ser1 编码 4 种不同的成熟 mRNA, 其 5' 和 3' 末端均相同,是从同一个前体分子通过差异剪接(differential splicing,也称选择性剪接 alternatine splicing)而产生的。另一个丝胶蛋白基因 Ser2, 也是通过差异剪接产生 2 种 mRNA。不同种类的 mRNA 在特定的发育期在中丝腺的不同部位表达(Conble 等 1987; Michaille 等,1986、1989、1990)。因此,丝胶蛋白是研究基因产物多样化,以及基因表达的空间和时间调节机理的合适模型。

丝心蛋白基因和丝胶蛋白基因 Ser1 的组织特异性和发育期特异性表达的调节主要是在转录水平上,而且调节的机理可能是不同的(Obara 和 Suzuki, 1988)。为了研究转录调节的分子机理和所涉及的调节因子的特性, Suzuki 等先后建立并不断改进了 14 种无细胞转录系统,使丝蛋白基因的组织特异性转录可在体外系统中如实地再现(Tsuda 和 Suzuki, 1983; Suzuki 等,1986、1990a,b)。现已成功地在丝腺不同部分的细胞核抽提液中显示了丝心蛋白基因和 Ser1 基因的差异转录。在后丝腺抽提液中,丝心蛋白基因的转录比 Ser1 基因显著,在中丝腺抽提液中, Ser1 基因的转录比丝心蛋白更有效(Suzuki 等,1990a,b)。

利用无细胞转录系统和一系列 5' 缺失突变体,鉴定了丝心蛋白和 Ser1 基因上游 5' 侧翼序列中的调控单元(这些调控单元与靶基因在同一 DNA 分子上,故称为 cis-acting elements)。丝心蛋白基因的基本启动子(核心启动子)是包括 TATA 盒区和转录起始区在内的约 40bp 的序列(见图 2)(Tsujimoto 等,1981; Takiya 等, 1990)。在核心启动子上游的序列中,对转录起增强作用的单元可分为二部分,近上游单元(-73—-32)和远上游单元(-238—-73)。前者有一般性增强转录的作用,后者则是组织特异性增强子(Suzuki 等 1986,1990),相当于增强子 I(EnI),是最高水平的转录所必需的(Tsuda 和 Suzuki,1983)。此外,第一内含子也有增强转录的功能,称为增强子 II(EnII)(Takiya 等,1990)。

基因上游的调控单元需被细胞核中特异的蛋白因子识别和结合,才能对转录起调节作用。(这类蛋白因子来自其它 DNA 分子,故称为 transacting factors)。为了研究负责组织特异性转录的蛋白因子,从后丝腺的细胞核抽提液中鉴定了与丝心蛋白基因上游 EnI 结合的蛋白(Suzuki 和 Suzuki, 1988)。它是一个复合因子,由 2 个蛋白组成,称为 FF1 和 FF2。FF1 在 FF2 的配合下能识别与结合 EnI 中约 20bp 的序列。因此, FF1 是丝心蛋白基因的转录因子之一(Suzuki 等,1991a,b)。

对丝心蛋白基因 5' 侧翼序列的进一步研究发现, DNA-蛋白的相互关系是复杂的。在 TATA 盒上游的启动子区包括 5 个(A-E)蛋白结合区,能与后丝腺抽提物中的 2 个丝腺特异因子(SGF-1、SGF-2)及 3 个普遍存在的因子(SGF-3、SGF-4 和 FBF-A1)结合(Hui 等,1990b)。图 2 示意它们的相互关系。在远区的三个部位(C、D、E)与 SGF-2、3、4 结合,是最高水平的转录所必需的。它们包含 10bp 富于 AT 的重复序列,以 TTAATT 或其互补 AATTAA 为中心序列。这些重复序列与果蝇中的一些同源异形蛋白的结合部位的共有序列(TCAATTAAAT)相似。果蝇的两个同源异形蛋白 ZEN 和 EVE 以高亲和性与 C、D、E 部位结合(Hui 等,1990b; Hui 和 Suzuki, 1990)。在

## 马尾松毛虫性外激素的新成分：化学 结构鉴定和田间试验

赵成华 李 群 郭星宇 王序英

(中国科学院动物研究所, 北京 100080)

马尾松毛虫 *Dendrolimus punctatus* 性外激素由顺 5, 反 7-十二碳二烯醇(Z5, E7-12:OH)、顺 5, 反 7-十二碳二烯乙酸酯 Z5, E7-12:Ac 和顺 5, 反 7-十二碳二烯丙酸酯(Z5, E7-12:Pr)构成。为了确定马尾松毛虫性外激素系统是否含有其它成分, 我们对外激素腺体提取物进行分析, 以此为基础通过田间诱蛾试验发现了某些增加诱蛾活性的新成分。

### 材料与 方法

马尾松毛虫茧分别采自江西省余江县和弋阳县。雌蛹被置于 25℃、光周期 16L: 8D 的温箱中, 待其羽化。黑暗后 5—7 小时取出羽化后 24 小时内的未交配雌蛾, 摘除其外激素腺体并浸泡于已烷或二氯甲烷中 1 小时。提取物可直接进行气相色谱分析或贮存备用。

甲醇解和乙酰化反应按 Bløstad 等(1984)方法进行。

气相色谱分析在附有火焰离子化检测器的 Pye Unicam 204 气相色谱仪上进行。采用无分流进样。三种不同性质的毛细柱被用于分析: 极性柱为 30m×0.25mm i.d. CBWX(J&W Scientific Inc.), 非极性柱为 50m×0.25mm i. d. BP-1 (Scientific Glass Engineering Pty. Ltd.), 强极性柱为 51m×0.22mm i.d. CPSIL88 (Chrompack)。气相色谱-质谱分析在附有 HP5990A 气相色谱仪的离子阱检测器(ITD-800, Finnigan MAT)上完成。分析腺体提取物使用 50m×0.25mm i.d. BP-1 柱, 分析甲醇解、乙酰化产物用 25m×0.22mm i.d. BP-20 柱(Pye Unicam)。

用于田间诱蛾试验的各种化合物(见表 2)均经 2m×4mm 10% PEG20M 气相色谱填充柱纯化。纯化后产物经 CBWX 毛细柱(此柱有能力分开田间试验每种化合物中的所有几何异构体)检查, 其几何异构纯度大于 98%(在顺 5, 反 7-十二碳二烯化合物中, 反 5, 顺 7 异构体小于 0.5%)。

诱蛾试验分别在江西、安徽、河南和广东进行。将粘胶(BIO-TAC-3)涂于塑料薄膜硬纸板上(60×25cm), 做成诱捕器。中央悬挂以天然橡胶塞为载体的诱芯。不同处理诱芯的诱捕器悬挂于距地面 1—1.5m 高的马尾松树上(树龄一般为 5—10 年), 间距为 10—15m。逐日检查捕获的雄蛾数量。羽化后 1—3 天的雌蛾被用来与各种处理的诱芯比较诱蛾活性。

### 结 果 与 讨 论

马尾松毛虫外激素腺体的已烷提取物经 CB-WX 毛细柱气相色谱分析可得几种分离良好的色谱峰。在同一色谱条件下, 经与参考化合物比较保留时间可知: 提取物中除含有已知外激素成分 Z5, E7-12:OH、Z5, E7-12:Ac 及 Z5, E7-12:Pr 外, 尚有 Z5-12:Ac 及 Z5-12:OH。每次分析中各成分的

本文于 1990 年 7 月收到。

中国科学院动物研究所荆慧荣、加拿大国立研究院植物生物技术研究 D. Reed 博士提供部分田间试验样品; 中国林业科学院张旭、广东省茂名市林科所章宁、江西省鹰潭市林业局部分同志协助田间试验, 特此致谢。

表 2 四个全变态昆虫目的主要抗菌蛋白/肽

| 来 源 |                                      | 抗菌蛋白/肽 |                                      | 主要性质                    | 抗菌范围      |
|-----|--------------------------------------|--------|--------------------------------------|-------------------------|-----------|
|     |                                      | 类 别    | 名 称                                  |                         |           |
| 鳞翅目 | 惜古比天蚕<br><i>Hyalophora cecropia</i>  | 1      | 天蚕素<br>( <i>cecropins</i> A,B,D)     | 4kDa 碱性肽                | 革兰氏阳性及阴性菌 |
|     |                                      | 2      | 柞蚕素<br>( <i>attacins</i> )           | 20—23kDa 碱性或酸性蛋白        | 革兰氏阴性菌    |
|     |                                      | 3      | 溶菌酶<br>( <i>lysozyme</i> )           | 13kDa 热稳定酶              | 革兰氏阳性菌    |
|     |                                      | 4      | hemolin                              | 48kDa 蛋白属于 Ig 总族        |           |
|     | 家蚕 <i>Bombyx mori</i>                | 1      | 鳞翅肽<br>( <i>lepidopterans</i> A,B)   | 结构与天蚕素 A,B 相似           |           |
|     | 烟草天蛾<br><i>Manduca sexta</i>         | 1      | 杀菌肽<br>( <i>bactericidins</i> )      | 与天蚕素 D 相似               |           |
| 双翅目 | 肉蝇<br><i>Sarcophaga peregrina</i>    | 1      | 肉蝇毒素 I<br>( <i>Sarcotoxin</i> I)     | 39 个氨基酸的碱性肽相当于天蚕素       |           |
|     |                                      | 2      | 肉蝇毒素 II<br>( <i>sarcotoxin</i> II)   | 27kDa 与柞蚕素相近            |           |
|     |                                      | 5      | 肉蝇毒素 III<br>( <i>sarcotoxin</i> III) | 7kDa, 富于甘氨酸与双翅肽相近       |           |
|     |                                      | 6      | 肉蝇肽<br>( <i>sapecin</i> )            | 40 个氨基酸, 富于半胱氨酸相当于昆虫防御素 |           |
|     | 绿蝇<br><i>Phormia serranovae</i>      | 5      | 双翅肽<br>( <i>dipteracins</i> )        | 9kDa 碱性肽富于甘氨酸           | 革兰氏阴性菌    |
|     |                                      | 6      | 昆虫防御素<br>( <i>insect defensins</i> ) | 4kDa 富于半胱氨酸             | 革兰氏阳性菌    |
|     | 果蝇<br><i>Drosophila melanogaster</i> | 1      | 天蚕素 A1、A2、B                          | 相当于肉蝇毒素 I               |           |
|     |                                      | 5      | 双翅肽                                  | 与绿蝇双翅肽相同                |           |
| 膜翅目 | 蜜蜂<br><i>Apis mellifera</i>          | 7      | 蜜蜂肽<br>( <i>apidaecins</i> )         | 2kDa 碱性肽富于脯氨酸           | 革兰氏阴性菌    |
|     |                                      | 8      | abaecin                              | 4kDa 碱性肽富于脯氨酸           | 革兰氏阳性及阴性菌 |
| 鞘翅目 | 粉蚜<br><i>Zephobas atratus</i>        | 9      | 鞘翅肽<br>( <i>coleopteracin</i> )      | 74 个氨基酸碱性肽富于甘氨酸         | 革兰氏阴性菌    |
|     |                                      | 6      | B 肽、C 肽                              | 43个氨基酸富于半胱氨酸属于昆虫防御素     | 革兰氏阳性菌    |

文),这一序列被来自诱导的蛹的一个核蛋白特异地识别。

天蚕的柞蚕素基因位点包括一个酸性和一个碱性柞蚕素的基因和 2 个假基因 (pseudogene)。两个有功能的柞蚕素基因反向转录,有 2 个内含子插在相似的位置。两个基因上游有相同的 GGGGATTCCT 序列。这 10 个核苷酸的序列与哺乳动物的转录因子 NF- $\kappa$ B 结合部位的共有序列相似 (Sun 等,1991b)。

哺乳动物的 NF- $\kappa$ B 最初被发现对免疫球蛋白  $\kappa$  轻链基因在成熟 B 淋巴细胞中的表达起增强作用。后来发现它存在于许多不同类型的细胞中,对免疫、发炎和急性期反应中涉及的许多基因有调节作用。在天蚕中,除天蚕素 D 基因外,所有已测定序列的免疫基因都有一个与 NF- $\kappa$ B 结合部位相似的上游共有序列。在免疫基因被诱导时激活一个 DNA-结合蛋白复合物,定名为惜古比免疫应答因子(CIF)。CIF 特异性地识别与结合免疫基因启动子区与 NF- $\kappa$ B 结合部位相似的序列。CIF 的 DNA 结合特异性、诱导曲线、电泳迁移率等特性均与哺乳动物的 NF- $\kappa$ B 相似(Sun 等,1992)。

昆虫的免疫反应并不依赖于免疫球蛋白(Ig),这是人们公认的。Sun 等(1990)发现天蚕中过去称为 P4 的免疫蛋白 hemolin 属于 Ig 总族。Hemolin 是 48kDa 蛋白,少量存在于正常蛹血淋巴中,注射细菌后浓度增高 18 倍。从其 cDNA 推导的氨基酸序列,与 Ig 总族的某些成员有一定的相似性,表明它属于 Ig 总族。它并无直接杀菌效应,其功能是与细菌表面结合,参与形成一种蛋白复合物。这可能是最初的免疫反应的重要部分。

Gunne 等(1990)用杆状病毒表达系统研究碱性柞蚕素的合成与加工。碱性柞蚕素也象天蚕素一样,是先合成为一个前原蛋白。将碱性柞蚕素的 cDNA 片段与杆状病毒 AcNPV 的多角体启动子重组。这种重组杆状病毒可在草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)细胞中表达前原蛋白。经细胞中的蛋白酶裂解加工成为有生物活性的碱性柞蚕素。重组病毒注射玉粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)末龄幼虫中所产生的柞蚕素的浓度比细胞培养液中高 300—500 倍。

**2. 双翅目** 在肉蝇 *Sarcophaga peregrina* 中,已纯化的抗菌蛋白称为肉蝇毒素(sarcotoxin) I、II、III。肉蝇毒素 I 由三个分子量相同、结构非常相似的蛋白 IA、IB、IC 组成。从序列比较判定,肉蝇毒素 I 与鳞翅目的天蚕素属同一类抗菌蛋白。肉蝇毒素 II 也包括三个分子量相同、结构非常相近的蛋白 IIA、IIB、IIC。肉蝇毒素 II 与鳞翅目的柞蚕素相似。肉蝇毒素 III 则是一个蛋白。

对肉蝇毒素 IIA 的 cDNA 序列分析表明,肉蝇毒素 IIA 与柞蚕素有 20% 的氨基酸序列是相同的。相同的序列主要位于 C 末端,说明这部分序列对抗菌活性是重要的,因此在进化过程中比较保守(Ando 和 Natori, 1988)。

分别用肉蝇毒素 IA 和 IIA 的 cDNA 为探针研究这两个基因的表达,发现 IIA 基因仅在体壁受伤时表达,IA 基因不仅在急性感染情况下表达,也在胚胎早期和蛹期表达。说明肉蝇的抗菌蛋白中有些蛋白(如 IA)在免疫和发育中具有双重功能(Nanbu 等, 1988)。

与上述发现相符合的是又从肉蝇的胚胎细胞株的培养液中纯化出三种抗菌蛋白,说明它们是胚胎发育所需要的。其中两种属于肉蝇毒素 I 类,另一种是新的,命名为肉蝇肽(Sapecin)(Matsuyama 和 Natori, 1988a)。利用肉蝇肽的 cDNA 研究其基因的表达,发现除了胚胎期,肉蝇肽基因也在蛹期表达,但主要是当幼虫体壁受伤时在血细胞中表达。因此,肉蝇肽也是一种具有双重功能的免疫蛋白(Matsuyama 和 Natori, 1988b)。

在肉蝇中,外源凝集素(lectin)也是一种可诱导的免疫蛋白,并具有双重功能。已对其基因及转录调节进行了研究(Kobayashi 等,1989)。

在绿蝇 *Phormia terranova* 中鉴定了一类新的抗菌蛋白,命名为双翅肽(dipterins)(Dimarcq 等,1988)。双翅肽可能与肉蝇毒素 III 相近。用双翅肽 cDNA 研究了双翅肽的合成与加工,以及在免疫过程中双翅肽基因的转录曲线。在双翅肽 mRNA 的 3' 不转译区发现一个共有序列 TTATTTAT。该序列也存在于肉蝇毒素 IIA 的 mRNA 和哺乳动物抗炎蛋白的 mRNA 中(Reichhart 等,1989)。

从绿蝇分离的另一类抗菌蛋白是昆虫防御素(insect defensins)。它们在功能与结构上均与已知的昆虫抗菌蛋白无关,但与哺乳动物中由粒性白细胞产生的碱性杀菌肽防御素很相似,因而得名(Lambert 等,1989)。昆虫防御素与肉蝇肽应属同一类。利用克隆的 cDNA 研究了双翅肽和昆虫防御素基因的表达。这两种基因是在同类细胞——类血小板(thromocytoids)和脂肪细胞中相伴表达,不因诱导刺激的不同而受影响。这些免疫基因的转录物寿命较短,第二次诱导反应与第一次相似,说明昆虫对第一次诱导不保持“记忆”(Dimarcq 等,1990)。

绿蝇的防御素 A 基因与酵母基因启动子组合,在酵母中能正常表达,加工、并分泌大量有生物活性的昆虫防御素。用此法生产防御素 A,可避免从天然来源纯化微量防御素的繁复过程(Reichhart 等,1992b)。

在分子水平研究昆虫免疫反应的诱导机理果蝇是特别合适的对象。为此 Kylston 等(1990)分离了果蝇的天蚕素基因位点。该位点异常紧凑,在不到 4kb 长度的 DNA 之内有 3 个表达的基因(A1、A2 和 B)及 2 个不表达的假基因,在不到 4kb 的距离以外还有另一个相似的区。这些基因非常小,转录物仅 350 核苷酸,每个基因有一个长度仅 58—61 核苷酸的内含子。这样密集的结构与上述天蚕的天蚕素 B 基因恰恰相反。基因 A1 和 A2 编码的产物与肉蝇中相当于天蚕素的肉蝇毒素 I 的序列相同。基因 B 有 5 处不同。三个基因的诱导是一致的,但基因 B 表达的水平较低。虽然是协同诱导的,但三个基因的侧翼区并无可能作为调节单元的保守序列。因此,这三个基因可能各自有独立的调节单元,或者是有一个共同的单元统一调节整个位点。后一种调节方式可能对很密集基因更为方便。

为了研究双翅目中可诱导的免疫基因表达的调控,Wicker 等(1990)首先从果蝇中克隆了双翅肽的 cDNA。Reichhart 等(1992a)从果蝇基因组分离了包括双翅肽基因的片段。他们将该基因上游启动子中 2.2kb 的序列与  $\beta$ -半乳糖苷酶基因(作为指示基因)组合,利用  $\rho$ -单元为载体,导入果蝇胚胎。这种组合基因可在果蝇中被诱导进行组织特异性表达。在不同的发育阶段,该基因的表达调控也不同。在早期幼虫和成虫中,除 2.2 kb 中的调控序列以外,还需要其它远端的调控序列。在 2.2kb 上游的序列中发现了多个可能的应答单元,与过去在哺乳动物免疫反应中编码急性期反应蛋白(如 NF- $\kappa$ B 等)的基因中所鉴定的调控序列相同。这些结果表明昆虫免疫反应的调节是复杂的,可能并不比脊椎动物中简单。

**3. 膜翅目和鞘翅目** 从蜜蜂血淋巴中先后分离了两类新的抗菌肽,定名为蜜蜂肽 apidaecins 和 abaecin(Casteels 等,1989、1990)。从一种粉蚱 *Zophobas atratus* 的幼虫血淋巴中分离了三种抗菌肽(A、B、C)。A 是一类新的抗菌肽,定名为鞘翅肽 coleopteracin。B 和 C 为同一抗菌肽的两种异构体,与双翅目中的昆虫防御素的序列相似,为昆

虫防御素族中的新成员 (Bulet 等, 1991)。这些新近分离鉴定的抗菌肽尚未见有分子水平的研究报道。

## 小 结

果蝇胚胎发育的许多基本原理对其它发育系统具有普遍意义, 尤其是近年来发现果蝇早期发育中的许多调控基因在各种动物中存在序列相似的对应基因, 表明调控发育的机理的普遍性。果蝇胚胎发育中的基因调控了解得最多, 将会有助于彻底弄清发育生物学的根本问题——贮存在 DNA 中的一维序列信息如何转变成胚胎的三维结构。此外, 改变害虫的发育调控基因, 可能会产生害虫防治新对策。

真核生物分子生物学的一个中心问题是了解特异基因以时间或组织特异性的方式表达, 或是被细胞外诱导物活化的机理。在昆虫中, 组织特异性的丝蛋白基因和可诱导的抗菌蛋白基因的研究, 目前已经或正在鉴定基因上游的 DNA 调节单元, 以及序列特异性的 DNA-结合蛋白, 以便进一步了解 DNA-蛋白的相互作用如何调节基因表达。这些研究不仅将能阐明昆虫中一些独特问题(如昆虫免疫)的分子机理, 并将对揭示真核生物中基因调控的机理作出贡献。

## 参 考 文 献

- Abbott, M. K. & T. C. Kaufman 1986 The relationship between the functional complexity and the molecular organization of the *Antennapedia* locus of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 114: 919—42.
- Akam, M. 1989a Making stripes inelegantly. *Nature* 341: 282—3.
- Akam, M. 1989b Hox and HOM: homologous gene clusters in insects and vertebrates. *Cell* 57: 347—9.
- Akam, M. et al. 1988 Homeotic genes and the control of segment identity. *Development* 104: (Suppl.) 123—33.
- Ando, K. & S. Natori 1988 Molecular cloning, sequencing, and characterization of cDNA for sarcotoxin IIa, an inducible antibacterial protein of *Sarcophaga peregrina*. *Biochemistry* 27: 1715—21.
- Baker, N. E. 1987 Molecular cloning of sequences from *wingless* a segment polarity gene in *Drosophila*: the spatial distribution of a transcript in embryo. *EMBO J.* 6: 1765—74.
- Beeman, R. W. 1987 A homeotic gene cluster in the red flour beetle. *Nature* 327: 247—9.
- Beeman, R. W. et al. 1989 Genetic analysis of the homeotic gene complex (HOM-C) in the beetle *Tribolium castaneum*. *Dev. Biol.* 133: 196—209.
- Beeman, R. W. et al. 1990 Homeotic genes of the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. pp. 21—29. in Molecular Insect Science, Hagedorn, H. H. et al. (eds.) Plenum Press, New York.
- Bejsovec, A. & A. Martinez-Arias 1991 Roles of *wingless* in patterning the larval epidermis of *Drosophila*. *Development* 113: 471—85.
- Berleth, T. et al. 1988 The role of localization of *bicoid* RNA in organizing the anterior pattern of the *Drosophila* embryo. *EMBO J.* 7: 1749—56.
- Biggin, M. D. & R. Tjian 1989 Transcriptional factors and the control of *Drosophila* development. *TIG* 5: 377—83.
- Bulet, P. et al. 1991 Insect immunity. Isolation from a coleopteran insect of a novel inducible antibacterial peptide and of new members of the insect defensin family. *J. Biol. Chem.* 266: 24520—5.
- Campbell, G. L. & S. Caveney 1989 *engrailed* gene expression in the abdominal segment of *Oncopeltus*: gradients and cell states in the insect segment. *Development* 106: 727—37.
- Carroll, S. B. 1990 Zebra patterns in fly embryos: Activation of stripes or repression of interstripes? *Cell* 60: 9—16.
- Casteels, P. et al. 1989 Apidaecins: antibacterial peptides from honeybees. *EMBO J.* 8: 2387—91.
- Casteels, P. et al. 1990 Isolation and characterization of abaecin, a major antibacterial response peptide in the honeybee (*Apis mellifera*). *Eur. J. Biochem.* 187: 381—6.
- Couble, P. et al. 1987 Developmental switches of sericin mRNA splicing in individual cells of *Bombyx mori*

- silk gland. *Dev. Biol.* 124: 431—40.
- Dimarcq, J.-L. et al. 1988 Insect immunity. Purification and characterization of a family of novel inducible antibacterial protein from immunized larvae of the dipteran *Phormia terranova* and complete amino acid sequence of the predominant member, dipterecin A. *Eur. J. Biochem.* 171: 17—22.
- Dimarcq, J. -L. et al. 1990 Insect immunity: expression of the two major inducible antibacterial peptides, defensin and dipterecin, in *Phormia terranova*. *EMBO J.* 9: 2507—15.
- Gunne, H. et al. 1990 Structure of preproattacm and its processing in insect cells infected with a recombinant baculovirus. *Eur. J. Biochem.* 187: 699—703.
- DiNardo, S. & P. H. O'Farrell 1987 Establishment and refinement of segmental pattern in the *Drosophila* embryo: spatial control of *engrailed* expression by pair-rule genes. *Genes Dev.* 1: 1212—25.
- DiNardo, S. et al. 1988 Two tiered regulation of spatially patterned *engrailed* gene expression during *Drosophila* embryogenesis. *Nature* 332: 604—9.
- Driever, W. et al. 1990 Autonomous determination of anterior structures in the early *Drosophila* embryo by the *bicoid* morphogen. *Development* 109: 811—20.
- Driever, W. & C. Nüsslein-Volhard 1988a A gradient of *bicoid* protein in *Drosophila* embryos. *Cell* 54: 83—93.
- Driever, W. & C. Nüsslein-Volhard 1988b The *bicoid* protein determines position in the *Drosophila* embryo in a concentration-dependent manner. *Cell* 54: 95—104.
- Driever, W. & C. Nüsslein-Volhard 1989 The *bicoid* protein is a positive regulator of *hunchback* transcription in the early *Drosophila* embryo. *Nature* 337: 138—43.
- Duboule, D. & P. Dolle 1989 The structural and functional organization of the murine *Hox* gene family resembles that of *Drosophila* homeotic genes. *EMBO J.* 8: 1497—505.
- Duncan, I. 1986 Control of *Bithorax* complex functions by the segmentation gene *jushi tarazu* of *D. melanogaster*. *Cell* 47: 297—309.
- Duncan, I. 1987 The *Bithorax* complex. *Ann. Rev. Genetics* 21: 285—319.
- Eggleston, P. 1990 Homeotic genes in the mosquito, *Aedes aegypti*. p. 300 in Molecular Insect Science, Hagedorn, H. H. et al. (eds) Plenum Press, New York.
- Fleig, R. 1990 *Engrailed* expression and body segmentation in the honeybee *Apis mellifera*. *Roux's Arch. Dev. Biol.* 198: 467—73.
- Fleig, R. et al. 1988 In-situ localization of the transcripts of a homeobox gene in the honeybee, *Apis mellifera*. *Ibid.* 197: 269—74.
- Frohnhofer, H. G. & C. Nüsslein-Volhard 1986 Organization of anterior pattern in the *Drosophila* embryo by the maternal gene *bicoid*. *Nature* 324: 120—5.
- Gaul, U. & H. Jackle 1989 Analysis of maternal effect mutant combinations elucidates regulation and function of the overlap of *hunchback* and *Krüppel* gene expression in the *Drosophila* blastoderm embryo. *Development* 107: 651—63.
- Gehring, W. J. & Y. Hiromi 1986 Homeotic genes and the homeobox. *Ann. Rev. Genet.* 20: 147—73.
- Gehring, W. J. et al. 1990 The structure of the homeodomain and its functional implications. *TIG* 6: 323—9.
- Gonzalez, F. et al. 1991 Secretion and movement of the *wingless* protein in the *Drosophila* embryo. *Mech. Dev.* 35: 43—54.
- Goto, T. et al. 1989 Early and late periodic patterns of *even-skipped* expression are controlled by distinct regulatory elements that respond to different spatial cues. *Cell* 57: 413—22.
- Gould, A. et al. 1990 Targets of homeotic gene control in *Drosophila*. *Nature* 348: 308—12.
- Graba, Y. et al. 1992 Homeotic control in *Drosophila*: the *scrabrous* gene is an *in vivo* target of *Ultrabithorax* proteins. *EMBO J.* 11: 3375—84.
- Harding, K. & M. Levine 1988 Gap gene define the limits of *Antennapedia* and *Bithorax* gene expression during early development in *Drosophila*. *EMBO J.* 7: 205—14.
- Harding, K. et al. 1989 Autoregulatory and gap gene response elements of the *even-skipped* promoter of *Drosophila*. *EMBO J.* 8: 1205—12.
- Heemskerk, J. et al. 1991 Multiple modes of *engrailed* regulation in the progression towards cell fate determination. *Nature* 352: 404—10.
- Hiromi, Y. et al. 1985 Control elements of the *Drosophila* segmentation gene *jushi tarazu*. *Cell* 43: 603—13.
- Hiromi, Y. & W. J. Gehring 1989 Regulation and function of the *Drosophila* segmentation gene *jushi tarazu*. *Cell* 50: 963—74.
- Hooper, K. L. et al. 1989 Spatial control of *hairy* protein expression during embryogenesis. *Development* 107: 489—504.

- Howard, K. 1989 *Drosophila* back to front. *Nature* 338: 618—9.
- Howard, K. & P. W. Ingham 1986 Regulatory interactions between the segmentation genes *fushi tarazu*, *hairy* and *engrailed* in the *Drosophila* blastoderm. *Cell* 44: 949—57.
- Howard, K. & G. Struhl 1990 Decoding positional information: regulation of the pair-rule gene *hairy*. *Development* 110: 1223—32.
- Howard, K. et al. 1988 Region-specific alleles of the *Drosophila* segmentation gene *hairy*. *Genes Dev.* 2: 1037—46.
- Hui, C.-c. & Y. Suzuki 1990 Homeodomain binding sites in the promoter region of silk protein genes. *Develop. Growth & Differ.* 32: 263—73.
- Hui, C.-c. et al. 1990a Homeodomain binding sites in the 5'-flanking region of the *Bombyx mori* silk fibroin light-chain gene. *J. Mol. Biol.* 213: 395—8.
- Hui, C.-c. et al. 1990b Fibroin gene promoter contains a cluster of homeodomain binding sites that interact with three silk gland factors. *Ibid.* 213: 651—70.
- Hülskamp, M. et al. 1990 A morphogenetic gradient of *hunchback* protein organizes the expression of the gap genes *Krüppel* and *knirps* in the early *Drosophila* embryo. *Nature* 346: 577—80.
- Ingham, P. W. 1988 The molecular genetics of embryonic pattern formation in *Drosophila*. *Nature* 335: 25—34.
- Ingham, P. W. & A. Martinez-Arias 1986 The correct activation of *Antennapedia* and *Bithorax* complex genes requires the *fushi tarazu* gene. *Nature* 324: 592—7.
- Ingham, P. W. & A. Martinez-Arias 1992 Boundaries and fields in early embryos. *Cell* 68: 221—35.
- Ingham, P. W. & Y. Nakano 1990 Cell patterning and segment polarity genes in *Drosophila*. *Develop. Growth & Differ.* 32: 563—74.
- Ingham, P. W. et al. 1988 Regulation of segment polarity genes in *Drosophila* blastoderm by *fushi tarazu* and *even-skipped*. *Nature* 331: 73—5.
- Irish, V. et al. 1989 The *Drosophila* posterior-group gene *nanos* functions by repressing *hunchback* activity. *Nature* 338: 646—8.
- Irish, V. F. et al. 1989 Spatial regulation of the *Antennapedia* and *Ultrabithorax* homeotic genes during *Drosophila* early development. *EMBO J.* 8: 1527—37.
- Jackle, H. et al. 1986 Cross-regulatory interactions among the gap genes of *Drosophila*. *Nature* 324: 668—70.
- Kaufman, T. C. et al. 1990 Molecular and genetic organization of the *Antennapedia* gene complex of *Drosophila melanogaster*. *Adv. Genet.* 27: 309—62.
- Kobayashi, A. et al. 1989 Cloning and in vitro transcription of the *Sarcophaga* lectin gene. *Biochim. Biophys. Acta* 1009: 244—50.
- Kylsten, P. et al. 1990 The cecropin locus in *Drosophila*: a compact gene cluster involved in the response to infection. *EMBO J.* 9: 217—24.
- Lambert, J. et al. 1989 Insect immunity: Isolation from immune blood of dipteran *Phormia terranova* of two insect antibacterial peptides with sequence homology to rabbit lung macrophage bacterial peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 262—6.
- Lawrence, P. & P. Johnston 1989 Pattern formation in the *Drosophila* embryo: allocation of cells to parasegments by *even-skipped* and *fushi tarazu*. *Development* 105: 761—7.
- Lawrence, P. et al. 1987 Borders of parasegments in *Drosophila* embryos are delimited by the *fushi tarazu* and *even-skipped* genes. *Nature* 328: 440—2.
- Lehmann, R. & C. Nüsslein-Volhard 1991 The maternal gene *nanos* has central role in posterior pattern formation in the *Drosophila* embryo. *Development* 112: 679—91.
- Levin, M. & T. Hoey 1988 Homeobox proteins as sequence-specific transcription factors. *Cell* 55: 537—40.
- Martinez-Arias, A. et al. 1988 Role of segment polarity gene in the definition and maintenance of cell states in the *Drosophila* embryo. *Development* 103: 157—70.
- Matsuno, K. et al. 1989 Transcription signals and protein binding sites for sericin gene transcription *in vitro*. *J. Biol. Chem.* 264: 18707—13.
- Matsuno, K. et al. 1990 Transcriptional stimulation via SC site of *Bombyx* sericin-1 gene through an interaction with a DNA binding protein SCF-3. *Nucleic Acids Res.* 18: 1853—5.
- Matsuyama, K. & S. Natori 1988a Purification of three antibacterial proteins from the culture medium of NIH-Sape-4, an embryonic cell line of *Sarcophaga peregrina*. *J. Biol. Chem.* 263: 17112—6.
- Matsuyama, K. & S. Natori 1988b Molecular cloning of cDNA for sapecin and unique expression of the sapecin gene during the development of *Sarcophaga peregrina*. *Ibid.* 263: 17117—21.
- McGinnis, W. & R. Krumlauf 1992 Homeobox genes and axial patterning. *Cell* 68: 283—302.

- Michaille, J. -J. et al. 1986 A single gene produces multiple sericin messenger RNAs in the silk gland of *Bombyx mori*. *Biochimie* 68: 1165—73.
- Michaille, J.-J. et al. 1989 The expression of five middle silk gland specific genes is territorially regulated during the larval development of *Bombyx mori*. *Insect Biochem.* 19: 19—27.
- Michaille, J.-J. et al. 1990 Cloning and characterization of the highly polymorphic Ser-2 gene of *Bombyx mori*. *Gene* 86: 177—84.
- Nagy, L. M. et al. 1990 Analysis of segmentation in the lepidopteran, *Manduca sexta*. p. 340 in Molecular Insect Science, Hagedorn, H. H. et al. (eds) Plenum Press, New York.
- Nambu, R. et al. 1988 Novel feature of expression of the sarcotoxin IA gene in development of *Sarcophaga peregrina*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 150: 540—4.
- Nauber, U. et al. 1988 Abdominal segmentation of the *Drosophila* embryo requires a hormone receptor-like protein encoded by the gap gene *knirps*. *Nature* 336: 489—92.
- Nüsslein-Volhard, C. 1991 Determination of the embryonic axes of *Drosophila*. *Development* (1991 Suppl.) 1: 1—10.
- Obara, T. & Y. Suzuki 1988 Temporal and spatial control of silk gene transcription analyzed by nuclear run-on assays. *Dev. Biol.* 127: 384—91.
- Pankratz, M. J. & H. Jäckle 1990 Making stripes in the *Drosophila* embryo. *TIG* 6: 287—92.
- Pankratz, M. J. et al. 1989 *Krüppel* requirement for *knirps* enhancement reflects overlapping gap genes activities in the *Drosophila* embryo. *Nature* 341: 337—40.
- Pankratz, M. J. et al. 1990 Gradients of *Krüppel* and *knirps* gene products direct pair-rule gene stripe patterning in the posterior region of the *Drosophila* embryo. *Cell* 61: 309—17.
- Patel, N. H. et al. 1989 Expression of *engrailed* during segmentation in grasshopper and crayfish. *Development* 107: 201—12.
- Regulski, M. et al. 1985 Homeo box genes of the *Antennapedia* and *Bithorax* complexes of *Drosophila*. *Cell* 43: 71—80.
- Reichhart, J.-M. et al. 1989 Insect immunity. Isolation of cDNA clones corresponding to dipericin, an inducible antibacterial peptide from *Phormia terranova*. Transcriptional profiles during immunization. *Eur. J. Biochem.* 182: 423—7.
- Reichhart, J. -M. et al. 1992a Insect immunity: Developmental and inducible activity of the *Drosophila* dipericin promoter. *EMBO J.* 11: 1469—77.
- Reichhart, J.-M. et al. 1992b Expression and secretion in the yeast of active insect defensin, an inducible antibacterial peptide from *Phormia terranova*. *Invert. Reprod. Dev.* 21: 15—24.
- Riddihough, G. & D. Ish-Horowicz 1991 Individual stripe regulatory elements in the *Drosophila hairy* promoter respond to material, gap and pair-rule genes. *Genes Dev.* 5: 840—54.
- Rosenberg, U. B. et al. 1986 Structural homology of the product of the *Drosophila Krüppel* gene with *Xenopus* transcription factor IIA, *Nature* 319: 336—9.
- St. Johnston, D. & C. Nüsslein-Volhard 1992 The origin of pattern and polarity in the *Drosophila* embryo. *Cell* 68: 201—19.
- Scott, M. P. 1987 Complex loci of *Drosophila*. *Ann. Rev. Biochem.* 56: 195—227.
- Scott, M. P. et al. 1989 The structure and function of the homeodomain. *Biochem. Biophys. Acta* 989: 25—48.
- Stanojevic, D. et al. 1989 Sequence specific DNA binding activities of the gap proteins encoded by *hunchback* and *Krüppel* in *Drosophila*. *Nature* 341: 331—5.
- Struhl, G. et al. 1989 The gradient morphogen *bicoid* is a concentration-dependent transcriptional activator. *Cell* 57: 1259—73.
- Struhl, G. 1989 Differing strategies for organizing anterior and posterior body pattern in *Drosophila* embryos. *Nature* 338: 741—4.
- Sun, S.-C. et al. 1990 Hemolin: An insect immune protein belong to the immunoglobulin superfamily. *Science* 250: 1729—32.
- Sun, S.-C. et al. 1991a Organization and expression of the immunoresponsive lysozyme gene in giant silk moth, *Hyalophora cecropia*. *J. Biol. Chem.* 266: 6644—9.
- Sun, S.-C. et al. 1991b Structure and expression of the attacin genes in *Hyalophora cecropia*. *Eur. J. Biochem.* 196: 247—54.
- Sun, S.-C. & I. Faye 1992 Cecropia immunoresponsive factor, an insect immunoresponsive factor with DNA-binding properties similar to nuclear-factor  $\kappa$ B. *Eur. J. Biochem.* 204: 885—92.
- Suzuki, T. & Y. Suzuki 1988 Interaction of composite protein complex with the fibroin enhancer sequence. *J.*

- Biol. Chem.* **263**: 5979—86.
- Suzuki, T. et al. 1991a Purification and characterization of an enhancer-binding protein of the fibroin gene. I. Complete purification of fibroin factor 1. *J. Biol. Chem.* **266**: 16935—41.
- Suzuki, T. et al. 1991b Purification and characterization of an enhancer-binding protein of the fibroin gene. II. Functional analysis of fibroin factor 1. *Ibid.* **266**: 16942—7.
- Suzuki, Y. et al. 1986 Tissue-specific transcription enhancement of the fibroin gene characterized by cell-free systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**: 9522—6.
- Suzuki, Y. et al. 1987 Developmental regulation of the tissuespecific genes and the homeotic genes in *Bombyx mori*. pp. 13—26 in Gunma Symp. Endocrinol. Vol. 24. Inst. Endocrinol., Gunma Univ. (ed) Center Acad. Publ. Japan, Tokyo.
- Suzuki, Y. et al. 1990a Developmental regulation of silk gene expression in *Bombyx mori*. pp. 83—89 in Molecular Insect Science, Hagedorn, H. H. et al. (eds), Plenum Press, New York.
- Suzuki, Y. et al. 1990b Differential transcription of the fibroin and sericin-1 genes in cell-free extracts. *Develop. Growth & Differ.* **32**: 179—87.
- Takiya, S. et al. 1990 A contribution of the core-promoter and its surrounding regions to the preferential transcription of the fibroin gene in posterior silk gland extracts. *EMBO J.* **9**: 489—96.
- Tautz, D. et al. 1987 Finger protein of novel structure encoded by *hunchback*, a second member of the gap class of *Drosophila* segmentation genes. *Nature* **327**: 383—9.
- Tear, G. et al. 1990a Molecular analysis of embryonic development in a short germ insect, *Schistocerca gregaria*. pp. 370—371. in Molecular Insect Science, Hagedorn, H. H. et al. (eds), Plenum Press, New York.
- Tear, G. et al. 1990b Isolation of an *abdominal-A* gene from the locust *Schistocerca gregaria* and its expression during early embryogenesis. *Development* **110**: 915—25.
- Tsuda, M. & Y. Suzuki 1983 Transcription modulation *in vitro* of the fibroin gene exerted by a 200-base-pair region upstream from the TATA box. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80**: 7442—6.
- Tsujimoto, Y. et al. 1981 Promoter sequence of fibroin gene assigned by *in vitro* transcription system. *Ibid.* **78**: 4838—42.
- van den Heuvel, M. R. et al. 1989 Distribution of the *wingless* gene product: a protein involved in cell-cell communication. *Cell* **59**: 739—49.
- Walldorf, U. et al. 1989 Comparison of homeobox-containing genes of the honeybee and *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**: 9971—5.
- Wang, C. & R. Lehmann 1991 *Nanos* is the localized posterior determinant in *Drosophila*. *Cell* **66**: 637—47.
- White, R. A. H. & R. Lehmann 1986 A gap gene, *hunchback*, regulates the spatial expression of *Ultrahishorax*. *Cell* **47**: 311—21.
- Wicker, C. et al. 1990 Insect immunity. Characterization of a *Drosophila* cDNA encoding a novel member of the dipterecin family of immune peptides. *J. Biol. Chem.* **265**: 22493—8.
- Xanthopoulos, K. G. et al. 1988 The structure of the gene for cecropia B, an antibacterial immune protein from *Hyalophora cecropia*. *Eur. J. Biochem.* **172**: 371—6.

## SOME ASPECTS OF PROGRESS IN INSECT MOLECULAR BIOLOGY: EMBRYONIC DEVELOPMENT, SILK AND INDUCIBLE ANTIBACTERIAL PROTEINS

ZHAI QI-HUI

(*Institute of Zoology, Academia Sinica, Beijing 100080*)

This paper is the second part of a review on recent progress in insect molecular biology. It covers three areas of research: 1. Gene regulation in *Drosophila* embryonic development—the major functions and hierarchical interactions of maternal, segmentation and homeotic genes that control the pattern formation events which lead to the segmented body plan typical of insects. Studies in other insects are briefly mentioned. 2. Regulation of silk protein genes—control of fibroin and sericin gene transcription in *Bombyx mori*. 3. Regulation of inducible immune genes—molecular studies of genes encoding antibacterial proteins/peptides in Lepidopteran and dipteran insects; and isolation and characterization of new antibacterial peptides from hymenopteran and coleopteran insects.