

鱼藤酮对果蝇运动行为及果蝇头部多巴胺合成相关酶基因表达的影响

刘永杰¹, 贺金¹, 肖鹏¹, Volker LOESCHCKE²

(1. 山东农业大学植物保护学院, 山东泰安 271018;

2. Institute of Genetics and Ecology, University of Aarhus, DK-8000 Aarhus C, Denmark)

摘要: 为了探讨鱼藤酮对黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 运动行为的影响与其头部多巴胺水平之间的关系, 我们测定了鱼藤酮对黑腹果蝇成虫运动行为、头部多巴胺水平及酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶基因表达的影响。结果表明: 与取食未加入药剂饲料的果蝇相比, 雌成虫用 0.2~0.8 mmol/L、雄成虫用 0.1~0.8 mmol/L 浓度药液配制的饲料连续饲养 6 d 后运动能力显著下降, 在 0.8 mmol/L 浓度下雌、雄成虫的运动能力分别仅为对照的 55.6% 和 49.1%。取食用 0.8 mmol/L 浓度药液配制饲料 6, 12 和 21 d 的果蝇雌、雄成虫头部多巴胺水平均显著下降, 雌成虫头部多巴胺水平分别为对照雌成虫的 83.2%, 72.3% 和 59.8%; 雄成虫头部多巴胺水平分别为对照雄成虫的 79.3%, 66.8% 和 53.2%。用 0.8 mmol/L 浓度鱼藤酮处理 6, 12 和 21 d, 雌成虫头部酪氨酸羟化酶基因(*pale*)的表达水平分别为对照的 76.3%, 51.4% 和 37.3%, 多巴脱羧酶基因(*Ddc*)的表达水平分别为对照的 87.1%, 78.2% 和 63.5%, 均显著下降。结果提示, 鱼藤酮可干扰果蝇成虫头部酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶基因的表达, 导致果蝇头部多巴胺水平下降, 进而影响了果蝇的运动行为。

关键词: 黑腹果蝇; 鱼藤酮; 运动行为; 多巴胺水平; 基因表达; 定量 PCR 扩增

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2009)07-0769-06

Effects of rotenone on locomotor activity and gene expression related to dopamine synthesis of fruit fly *Drosophila melanogaster*

LIU Yong-Jie¹, HE Jin¹, XIAO Peng¹, Volker LOESCHCKE² (1. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Institute of Genetics and Ecology, University of Aarhus, DK-8000 Aarhus C, Denmark)

Abstract: To investigate the relationship of locomotor activity and dopamine levels in the head in fruit fly *Drosophila melanogaster* affected by rotenone, the effects of rotenone on locomotor activity and gene expression related to dopamine biosynthesis and dopamine levels in heads of fruit flies were determined. The results showed that locomotor activity was significantly reduced in male and female adult flies fed on *Drosophila* instant food containing 0.2–0.8 mmol/L rotenone for 6 d. The dopamine levels were reduced to 79.3%, 66.8% and 53.2% of that of the male control in heads of male adult flies and 83.2%, 72.3% and 59.8% of that of the female control in heads of female adult flies after feeding on instant food containing 0.8 mmol/L rotenone for continuous 6, 12 and 21 d, respectively. Under the above same conditions the expression levels of *pale* gene were reduced to 76.3%, 51.4% and 37.3% of that of the control, and *Ddc* gene to 87.1%, 78.2% and 63.5% of that of the control, respectively. The results suggest that rotenone can significantly interfere with *pale* and *Ddc* gene expression and reduce dopamine levels in heads of adult flies, and correspondingly affect the adult fly locomotor activity.

Key words: *Drosophila melanogaster*; rotenone; locomotor activity; dopamine level; gene expression; quantitative RT-PCR amplification

多巴胺是昆虫生物胺的主要种类, 在神经系统和血淋巴中普遍存在。在昆虫中多巴胺是一种重要的多功能分子 (Neckameyer and Weinstein, 2005;

Andersen *et al.*, 2006), 不仅是昆虫表皮硬化和免疫反应的主要成分 (Tzou *et al.*, 2002; Nappi and Christensen, 2005), 而且作为神经传递物质参与调

基金项目: 教育部留学基金项目(08010332); 丹麦国家自然科学基金(21-01-0526)

作者简介: 刘永杰, 男, 1963 年 6 月生, 博士, 教授, 主要从事杀虫剂毒理及害虫抗药性研究, E-mail: lyj@sda.u.edu.cn

收稿日期 Received: 2009-02-12; 接受日期 Accepted: 2009-06-15

控果蝇的运动 (Vermeulen *et al.*, 2006)、求爱 (Liu *et al.*, 2008) 及寿命 (Neckameyer, *et al.*, 2000; De Luca, *et al.*, 2003; Vermeulen *et al.*, 2006) 等多种生命活动。多巴胺水平在果蝇不同性别和虫态都不相同, 在成虫阶段随着生长发育时间的前进, 多巴胺水平及其调控能力均呈下降趋势 (Neckameyer *et al.*, 2000)。头部是生物运动行为的调控中心, 头部多巴胺水平和运动能力之间的密切关系已经在大白鼠、黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 等生物中得到证实, 多巴胺水平提高, 运动能力增强; 多巴胺水平降低, 运动能力下降 (Jackson and Westlind-Danieleson, 1994; Yellman *et al.*, 1997; Vermeulen *et al.*, 2006)。通过药物或遗传学方法降低果蝇体内多巴胺水平会导致成虫运动能力下降 (Pendleton *et al.*, 2000, 2002)。

在果蝇多巴胺等生物胺合成过程中酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 和多巴脱羧酶 (dopa decarboxylase) 起着重要作用。酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶在果蝇幼虫和成虫中枢神经系统及幼虫表皮中均有表达 (Neckameyer and Quinn, 1989), 这两种酶共同催化多巴胺等生物胺的合成。酪氨酸羟化酶催化酪氨酸转化为 L-多巴, L-多巴又由多巴脱羧酶催化脱羧形成多巴胺 (Monastirioti, 1999)。酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶分别由 *pale* 基因和 *Ddc* 基因编码形成 (Jordan *et al.*, 2006)。对编码这两种酶的 *pale* 和 *Ddc* 基因进行突变都会显著地改变这两种酶的活性及多巴胺水平 (Monastirioti, 1999; Pendleton *et al.*, 2002; Vermeulen and Bijlsma, 2006)。

鱼藤酮是一种植物源杀虫剂, 主要作用于线粒体电子呼吸链的复合体 I, 抑制电子传递过程。研究证实, 低剂量的鱼藤酮除对大白鼠和果蝇大脑线粒体电子呼吸链复合体 I 产生抑制作用外, 还导致头部多巴胺能神经细胞退化, 产生类似于人类帕金森病的病理特征 (Sherer *et al.*, 2003; Coulom and Birman, 2004)。遗传和环境因素都可引发帕金森疾病, 发病的主要原因是脑部多巴胺水平过度下降, 但导致多巴胺能神经细胞退化和多巴胺水平下降的分子机理还不清楚。果蝇繁殖速度快, 遗传背景简单, 果蝇-鱼藤酮模型成为当前研究帕金森致病机理的重要模型之一 (Sherer *et al.*, 2003)。鱼藤酮对果蝇运动行为的影响是否和果蝇头部多巴胺水平下降相关, 多巴胺水平下降是否与其合成过程中酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶活性降低有关, 而酶活性下降是否是由于其基因表达水平下降造成的。

为明确这些问题, 我们研究了鱼藤酮对果蝇头部 *pale* 和 *Ddc* 基因表达水平的影响, 以及该影响与头部多巴胺水平和果蝇成虫运动行为之间的关系。

1 材料与方法

1.1 试虫

黑腹果蝇由丹麦奥胡斯遗传与生态学研究提供, 在室内未接触任何药剂和 25℃ 条件下用酵母-蔗糖-琼脂饲料连续饲养 10 年以上。

1.2 药剂和试剂

鱼藤酮、多巴胺和 Na₂-EDTA (Sigma 产品), β-巯基乙醇、乙酸钠 (Na₂S₂O₅) 及八烷基磺酸钠 (OSA) (Amresco 产品) RNA 提取试剂盒 (德国 Qiagen 产品), cDNA 反转录试剂盒 (Invitrogen 产品), 定量 PCR 反应试剂盒为 LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I Kit (Roche 产品)。

1.3 药剂处理和运动能力测定

药液配制参照 Coulom 和 Birman (2004) 的方法。将鱼藤酮加入 1% 的酵母水溶液中充分搅拌使鱼藤酮溶解, 然后再稀释成系列浓度, 倒入装有干的果蝇人工饲料 (*Drosophila* instant medium) 的塑料试管中, 制备成果蝇饲料。在 25℃ 饲养条件下羽化 8~12 h 的果蝇成虫区分雌雄后, 转入盛有鱼藤酮饲料的试管中, 每管 20 头成虫, 每个浓度各处理 100 头雌虫和雄虫。以不加鱼藤酮的饲料为对照。将果蝇放入 22℃、无光照的人工培养箱内饲养, 第 3 天换 1 次带鱼藤酮的新饲料, 第 6 天单头转入细玻璃管中, 一端装有少量饲料供其取食。用果蝇活动测定仪 (DAM2 *Drosophila* Activity Monitor, 美国 TriKinetics Inc. Waltham 生产) 测定其活动能力 (果蝇在玻璃试管内来回爬动的次数), 每隔 10 min 电脑自动记录一次数据, 连续记录 2 d。一个测定仪可装 32 个细玻璃管, 每次使用 3 个测定仪, 用同一个数据记录器连接到电脑。共 6 个处理, 每个处理一次测定 16 头成虫。4 次重复实验。活力测定期间仍将果蝇置于与鱼藤酮处理相同条件的人工培养箱内。

根据鱼藤酮对果蝇运动能力的影响情况, 选用 0.8 mmol/L 浓度药液配制饲料饲养羽化 8~12 h 的雌、雄成虫, 药剂处理方法同上。每隔 3 d 转入带药剂饲料的新试管中继续饲养, 以没有加鱼藤酮的饲料为对照, 饲养条件同测定运动能力。分别在第 6, 12 和 21 天收集雌、雄成虫, 用液氮迅速冷冻保

存, 供测定多巴胺含量和基因表达水平用。

1.4 多巴胺含量测定

参照 Vermeulen 等(2006)的方法。将药剂处理(0.8 mmol/L)后不同时间的成虫在液氮中速冻, 分别取头部。每个 1.5 mL 的 Ependorf 管中放入 10 个雌成虫或雄成虫头部为一个样品, 每个处理 4 个重复。在 0.2 mL 0.1 mol/L 高氯酸溶液(含 0.2 g/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 和 0.05 g/L $\text{Na}_2\text{-EDTA}$) 中超声波匀浆(4℃), 在 16 000 g 和 4℃ 下离心 20 min, 取上清液。用高压液相色谱进行检测, 流动相组成: 880 mL 超纯水, 150 mg $\text{Na}_2\text{-EDTA}$, 4.1 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, 150 mg 八烷基磺酸钠和 100 mL 甲醇。最大柱压为 2 500 psi, ECD 设定电压为 0.75 V, 流速为 1 mL/min。20 μL 上清液与 80 μL 流动液混合后取 20 μL 混合液上样, 每一样品检测保留时间 20 min。根据色谱峰面积从多巴胺标准曲线上求出相应含量。

1.5 RNA 提取和 cDNA 合成

每个 1.5 mL 离心管中放入 10 个雌成虫头部为一个样品, 供总 RNA 提取用。按照 Qiagen 公司生产的 RNeasy 小型试剂盒使用说明书进行 RNA 提取。为了排除基因组 DNA 的干扰, 用 DNA 酶降解 15 min。用无 RNA 酶水洗脱, 测定浓度后供反转录用。使用 Invitrogen 公司生产的 SuperScript II RT 反转录试剂盒合成 cDNA。1.5 mL 离心管中分别加入 1 μL Oligo(dT)₁₂₋₁₈ 引物、2 μg RNA、1 μL dNTP 混合物, 用无离子水补足至 13 μL 。65℃ 反应 5 min 后迅速用冰冷却。再依次加入 4 μL 5 × 缓冲液、2 μL DTT(0.1 mol/L) 及 1 μL 反转录酶, 42℃ 反应 50 min, 70℃ 15 min 灭活, -20℃ 保存备用。

1.6 定量 PCR 基因扩增

根据果蝇基因数据库 Flybase 提供的 *pale* 和 *Ddc* 基因及内参基因 *GAPDH*(甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因)的转录序列, 利用 Primer 3 软件设计引物。*pale* 基因引物 Forward primer (F): 5'-AGTTCTCGC AGGAGATTGGA-3', Reverse primer (R): 5'-TTCCT TGCAGAGACCGAACT-3'; *Ddc* 引物 F: 5'-ACACAA ATGGATGCTGCTGA, R: 5'-AAGAGGGTCCACATTG AACG; 内参基因 *GAPDH* 引物 F: CTTCTTCAGCGA CACCCATT-3', R: 5'-ACCGAACTCGTTGTCGTACC-3'。

使用罗氏公司生产的 Ligthcycler 3.5 荧光定量 PCR 仪和试剂盒(FastStart DNA Master SYBR Green I Kit)进行基因定量 PCR 扩增。首先将合成的 cDNA 依次按 10 倍稀释成 5 ~ 6 个系列浓度, 进行定量 PCR

扩增, 确定引物的扩增效率(E)。根据起始 cDNA 模板浓度和定量 PCR 扩增得到的 *Ct* 值得标准曲线, 按公式 $E = 10^{-1/a} - 1$ (Niesters, 2001) 计算扩增效率(a 为标准曲线的斜率), 选扩增效率接近 100% 的引物用于基因表达的定量扩增。*Ct* 值是通过 PCR 荧光信号的对数值和循环数确定的。

20 μL 反应体积中分别含有 11.6 μL 无离子水、2.4 μL MgCl_2 (0.1 mol/L)、正反引物各 1 和 2 μL SYBR Green I、2 μL 样品 cDNA, 于玻璃毛细管中进行扩增反应。定量 PCR 扩增条件为: 95℃ 10 min; 95℃ 15 s, 60℃ 10 s, 72℃ 10 s, 40 个循环。最后产物熔解 5 min, 确定反应产物的单一性。用罗氏相对定量软件 3.5 自动计算、记录基因扩增产物的 *Ct* 值。每一处理 4 个重复样品。

1.7 数据处理和统计方法

采用 SPSS13.0 for Windows 进行果蝇运动能力、多巴胺水平和基因相对表达水平的数据处理和分析。数据分析采用单一变量方差法。根据每隔 10 min 记录的数据计算每头果蝇成虫 48 h 的平均活动量, 求出每一处理所有测定成虫的平均活动量, 最后用同一浓度 4 次重复实验的平均值进行不同处理间的差异显著性比较($P = 0.05$)。多巴胺水平为 4 个重复样品的平均值, 差异显著性水平同上。

选用管家基因 *GAPDH* 作为本实验的内参基因。根据公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak and Schmittgen, 2001) 计算基因的相对表达量, 其中 $\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{Target}} - Ct_{\text{GAPDH}})_{\text{处理}} - (Ct_{\text{Target}} - Ct_{\text{GAPDH}})_{\text{对照}}$, Ct_{Target} 和 Ct_{GAPDH} 分别为研究目标基因和内参基因定量扩增的 *Ct* 值。每一处理的基因表达水平为 4 个重复样品的平均值, 同一基因不同处理时间的差异显著性水平同上。

2 结果与分析

2.1 鱼藤酮对果蝇成虫运动行为的影响

将刚孵化的果蝇雌、雄成虫分别转入含有不同浓度鱼藤酮人工饲料的试管中, 在 22℃ 和无光照条件下连续饲养 6 d 后, 测定鱼藤酮对其运动能力的影响。结果表明, 随着饲料中鱼藤酮浓度的增加, 雌、雄成虫运动能力均呈逐渐下降趋势。与未加入药剂的对照处理相比, 雌成虫用 0.2 ~ 0.8 mmol/L、雄成虫用 0.1 ~ 0.8 mmol/L 浓度药液配制的饲料饲养 6 d 后运动能力明显下降, 差异显著, 其中 0.8 mmol/L 浓度处理雌、雄果蝇成虫的运动能力分

别仅为对照雌、雄成虫的 55.6% 和 49.1% (图 1)。结果表明,鱼藤酮显著影响果蝇的运动行为。

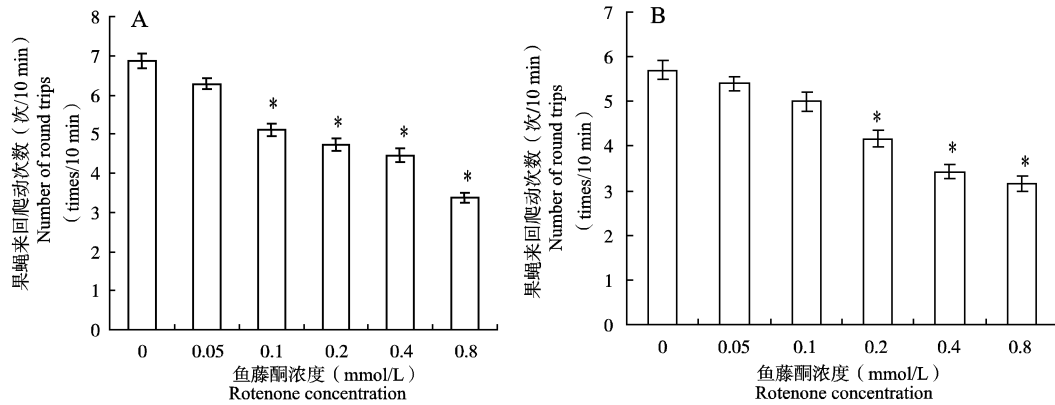


图 1 鱼藤酮对果蝇雄(A)、雌(B)成虫运动能力的影响

Fig. 1 Effects of rotenone on locomotor activity of adult male (A) and female flies (B)

*表示与对照(鱼藤酮浓度为0)差异显著(Tukey氏检验, $P \leq 0.05$),下同。Asterisks denote a significant difference between treatment and the control (the concentration of rotenone is zero) by Tukey's test ($P \leq 0.05$). The same below.

2.2 鱼藤酮对果蝇头部多巴胺水平的影响

在用含 0.8 mmol/L 鱼藤酮浓度的饲料和 22℃ 恒温及无光照条件下连续饲养至 21 d, 分别测定在 6, 12 和 21 d 时雌、雄成虫头部多巴胺的水平。从测定结果可以看出, 无论对照还是鱼藤酮处理的果蝇雄成虫其头部的多巴胺水平均显著高于雌成虫, 接近雌成虫的 2 倍。对照雌、雄成虫头部的多巴胺水平随着饲养时间的延长呈下降趋势。取食含有鱼藤酮饲料 6, 12 和 21 d 的果蝇雌成虫头部的多巴胺

水平, 与对照果蝇相比均明显下降, 分别为对照果蝇雌成虫的 83.2%, 72.3% 和 59.8%; 雄成虫经鱼藤酮处理 6, 12 和 21 d 后其头部的多巴胺水平分别为对照雄成虫的 79.3%, 66.8% 和 53.2%。鱼藤酮处理 6, 12 和 21 d 的果蝇雌、雄成虫头部的多巴胺水平均与相同时间的对照雌、雄成虫之间存在显著差异。上述结果表明, 鱼藤酮对果蝇头部多巴胺的合成具有明显的影响作用(表 1)。

表 1 0.8 mmol/L 鱼藤酮对果蝇成虫头部多巴胺水平的影响

Table 1 Effects of rotenone (0.8 mmol/L) on dopamine levels in heads of adult flies

处理后时间(d) Time after treatment	雌成虫 Females			雄成虫 Males		
	处理 Treatment	对照 Control	处理/对照(%) Treatment/Control	处理 Treatment	对照 Control	处理/对照(%) Treatment/Control
6	11.52 ± 0.73 b	13.84 ± 0.66 a	83.2	19.42 ± 1.07 b	24.48 ± 1.16 a	79.3
12	8.21 ± 0.64 b	11.36 ± 0.78 a	72.3	13.49 ± 0.83 b	20.21 ± 1.29 a	66.8
21	5.66 ± 0.81 b	9.47 ± 0.54 a	59.8	8.64 ± 0.92 b	16.23 ± 1.14 a	53.2

数据后不同字母分别表示雌、雄成虫栏内同一行间差异显著(Tukey氏检验, $P \leq 0.05$), 下同。The data in the same row followed by different letters in males' or females' column are significantly different by Tukey's test ($P \leq 0.05$).

2.3 鱼藤酮对果蝇雌成虫头部酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶基因表达水平的影响

分别测定用鱼藤酮(0.8 mmol/L)处理饲料饲养 6, 12 和 21 d 时果蝇雌成虫头部酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶基因的表达水平。若设定对照果蝇雌成虫的基因表达水平为 100%, 则用鱼藤酮处理至 6, 12 和 21 d 时酪氨酸羟化酶基因的表达水平分别为 76.3%, 51.4% 和 37.3%, 多巴脱羧酶基因的表达

水平分别为 87.1%, 78.2% 和 63.5%, 呈显著下降趋势, 与对照比较均存在显著差异。用鱼藤酮处理后相同时间, 酪氨酸羟化酶基因的表达水平比多巴脱羧酶基因的表达水平下降更为明显, 二者之间也存在显著差异(图 2)。结果表明, 鱼藤酮显著损害了果蝇雌成虫头部酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶基因的表达。

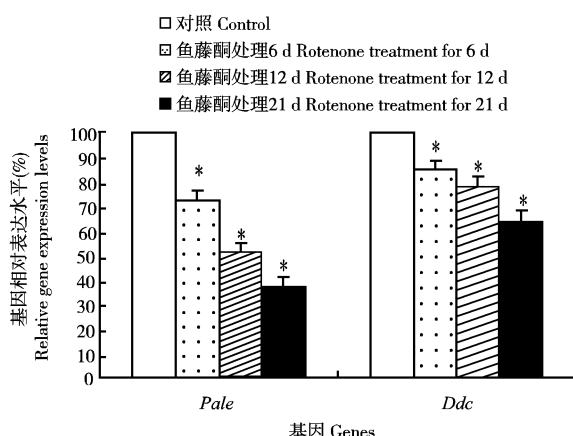


图2 鱼藤酮对果蝇雌成虫头部酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶基因表达水平的影响

Fig. 2 Effects of rotenone on expression levels of *pale* and *Ddc* genes in heads of adult female flies

3 讨论

鱼藤酮很不稳定, 见光极易分解, 新购买的鱼藤酮粉要暗处存放。鱼藤酮难溶于水, 先用少量酵母水溶液溶解鱼藤酮后, 再加到所需的量, 并不断搅拌使鱼藤酮充分溶解。在药液配制过程中尽可能避免光操作, 药液现配现用。含药饲料在果蝇饲养过程中始终处于黑暗状态, 以保持鱼藤酮药效相对稳定。本实验采用的 0.8 mmol/L 鱼藤酮药液最高浓度是经过实验确定的亚致死浓度, 在此浓度下持续饲养不会造成果蝇成虫死亡。该浓度与 Coulom 和 Birman (2004) 测定的 0.75 mmol/L 亚致死浓度非常接近。我们测定发现, 雌成虫用 0.2 ~ 0.8 mmol/L、雄成虫用 0.1 ~ 0.8 mmol/L 浓度药液配制的饲料饲养 6 d 后运动能力明显下降。Coulom 和 Birman 等 (2004) 报道用 0.125 ~ 0.5 mmol/L 鱼藤酮药液配制的饲料饲养黑腹果蝇成虫 7 d 运动能力显著下降。虽然这两个实验的测定方法不同, 但结果是一致的, 都证实鱼藤酮在一定剂量下会影响果蝇成虫的运动行为。

连续用亚致死剂量的鱼藤酮饲喂大白鼠会导致多巴胺能神经细胞退化, 产生类似于人类帕金森疾病的行为 (Betarbet *et al.*, 2000)。用亚致死剂量的鱼藤酮饲养黑腹果蝇成虫, 会造成果蝇成虫头部多巴胺能神经细胞发生选择性的退化, 严重损害其运动行为 (Coulom and Birman, 2004)。多巴胺能神经元是产生多巴胺等生物胺的重要部位, 该部位神经细胞受到选择性损害, 必然会影响到多巴胺的生物合成。本实验测定的果蝇头部 *Pale* 和 *Ddc* 基因表

达及多巴胺水平下降很可能与多巴胺能神经元受到损害有关。通过药物抑制酪氨酸羟化酶活 (Pendleton *et al.*, 2000), 或对果蝇 *Pale* 基因进行有效突变, 降低其表达酪氨酸羟化酶的能力, 均可显著降低多巴胺水平, 影响果蝇运动行为 (Pendleton *et al.*, 2002)。但是鱼藤酮是如何导致多巴胺能神经细胞死亡, 是否抑制酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶的活性, 以及鱼藤酮干扰 *Pale* 和 *Ddc* 基因表达的方式还不清楚, 有待深入研究。

Pale 基因位于果蝇第 3 条染色体的左臂上, 编码酪氨酸羟化酶 (Neckameyer and White, 1993)。酪氨酸羟化酶是多巴胺生物合成的限速酶。L-多巴由酪氨酸羟化酶催化形成, 是多巴脱羧酶催化形成多巴胺的前体物质。在饲料中加入 L-多巴继续饲养, 可一定程度地恢复果蝇成虫的运动能力, 但不能阻止多巴胺能神经细胞的死亡 (Coulom and Birman, 2004)。从本实验测定的 *Pale* 和 *Ddc* 基因相对表达水平可以看出, 用鱼藤酮处理果蝇雌成虫相同时间后, 果蝇头部 *Ddc* 基因的表达水平明显高于 *Pale* 基因的表达水平。相应地, 果蝇头部多巴脱羧酶的活性要明显高于酪氨酸羟化酶。因此, 加入 L-多巴会促进多巴胺的合成, 提高多巴胺水平, 改善果蝇的运动行为。通过多巴脱羧酶活性变化影响果蝇运动, 还可间接影响果蝇的寿命 (De Luca *et al.*, 2003)。

Sherer 等 (2003) 报道鱼藤酮对大白鼠大脑多巴胺能神经细胞的损害与氧化胁迫 (oxidative stress) 有关。在果蝇饲料中同时加入鱼藤酮和褪黑激素 (melatonin, 化学名 N-乙酰-5-甲氧基色胺) 饲养果蝇, 发现褪黑激素能显著地降低鱼藤酮对果蝇头部多巴胺能神经细胞和成虫运动能力的损害 (Coulom and Birman, 2004)。褪黑激素是抗氧化剂, 鱼藤酮对果蝇多巴胺能神经细胞的损害很可能也与氧化胁迫有关, 褪黑激素可用于阻止氧化应激反应。

参考文献 (References)

- Andersen JP, Schwartz A, Gramsbergen JB, Loeschke V, 2006. Dopamine levels in the mosquito *Aedes aegypti* during adult development, following blood feeding and in response to heat stress. *J. Insect Physiol.*, 52 (11-12): 1 163-1 170.
- Betarbet R, Sherer TB, Mackenzie G, Garcia-Osuna M, Panov AV, Greenamyre JT, 2000. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat. Neurosci.*, 3: 1 301-1 306.
- Coulom H, Birman S, 2004. Chronic exposure to rotenone models

- sporadic Parkinson's disease in *Drosophila melanogaster*. *J. Neurosci.*, 24 (48): 10 993 – 10 998.
- De Luca M, Roshina NV, Geiger-Thomsberry GL, Lyman RF, Pasyukva EG, Mackay TFC, 2003. Dopa decarboxylase (*Ddc*) affects variation in *Drosophila* longevity. *Nat. Genet.*, 34 (4): 429 – 433.
- Jackson DM, Westlind-Danielson A, 1994. Dopamine receptors: Molecular biology, biochemistry and behavioural aspects. *Pharmacology and Therapeutics*, 64 (2): 291 – 370.
- Jordan KW, Morgan JT, Mackay TFC, 2006. Quantitative trait loci for locomotor behavior in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 174: 271 – 284.
- Liu T, Dartevelle L, Yuan CY, Wei HP, Wang Y, Ferveur JF, Guo A, 2008. Increased dopamine level enhances male-male courtship in *Drosophila*. *J. Neurosci.*, 28(21): 5 539 – 5 546.
- Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method. *Methods*, 25(4): 402 – 408.
- Monastirioti M, 1999. Biogenic amine systems in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Microsc. Res. Tech.*, 45 (2): 106 – 121.
- Nappi AJ, Christensen BM, 2005. Melanogenesis and associated cytotoxic reactions: Applications to insect innate immunity. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 35 (5): 443 – 459.
- Neckameyer WS, Quinn WG, 1989. Isolation and characterization of the gene for *Drosophila* tyrosine hydroxylase. *Neuron*, 2 (2): 1 167 – 1 175.
- Neckameyer WS, Weinstein JS, 2005. Stress affects dopaminergic signaling pathways in *Drosophila melanogaster*. *Stress*, 8: 117 – 131.
- Neckameyer WS, White K, 1993. *Drosophila* tyrosine hydroxylase is encoded by the *pale* locus. *J. Neurogenetics*, 8 (4): 189 – 199.
- Neckameyer WS, Woodrome S, Holt B, Mayer A, 2000. Dopamine and senescence in *Drosophila melanogaster*. *Neurobiol. Aging*, 21 (1): 145 – 152.
- Niesters HGM, 2001. Quantitation of viral load using real-time amplification techniques. *Methods*, 25(4): 419 – 429.
- Pendleton RG, Rasheed A, Hillman R, 2000. Effects of adrenergic agents on locomotor behavior and reproductive development in *Drosophila*. *Drug Dev. Res.*, 50 (2): 142 – 146.
- Pendleton RG, Rasheed A, Sardina T, Tully T, Hillman R, 2002. Effects of tyrosine hydroxylase mutants on locomotor activity in *Drosophila*: a study in functional genomics. *Behavior Genetics*, 32 (2): 89 – 94.
- Sherer TB, Betarbet R, Testa CM, Seo BB, Richardson JR, Kim JH, Miller GW, Yagi T, Matsuno-Yagi A, Greenamyre JT, 2003. Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease. *J. Neurosci.*, 23(34): 10 756 – 10 764.
- Tzou P, De Gregorio E, Lemaitre B, 2002. How *Drosophila* combats microbial infection: a model to study innate immunity and host-pathogen interactions. *Curr. Opin. Microbiol.*, 5 (1): 102 – 110.
- Vermeulen CJ, Bijlsma R, 2006. Changes in genetic architecture during relaxation in *Drosophila melanogaster* selected on divergent virgin life span. *J. Evol. Biol.*, 19 (1): 216 – 227.
- Vermeulen CJ, Cremers TIFH, Westerink BHC, Van De Zande L, Bijlsma R, 2006. Changes in dopamine levels and locomotor activity in response to selection on virgin lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127 (7): 610 – 617.
- Yellman C, Tao H, He B, Hirsh J, 1997. Conserved and sexually dimorphic behavioral responses to biogenic amines in decapitated *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94 (8): 4 131 – 4 136.

(责任编辑: 赵利辉)