

昆虫生物

1、*PLoS ONE*: AedaeGAP2/GPB5 调节雌蚊回肠的 Na^+/K^+ 平衡

通讯作者: 约克大学 学者

所用 NMT 设备: NMT 活体生理检测仪[®] (Physiolyzer[®])

NISC 文献库文献编号: F2014-001 (扫码回复编号下载全文)

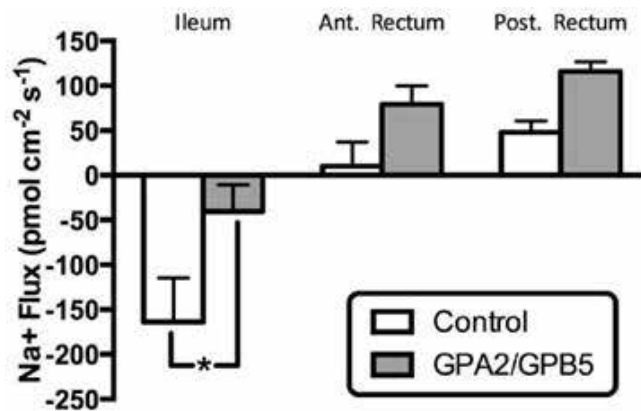
2014 年, 加拿大约克大学 Jean-Paul Paluzzi 等人的最新研究成果 “The Heterodimeric Glycoprotein Hormone, GPA2/GPB5, Regulates Ion Transport across the Hindgut of the Adult Mosquito, *Aedes aegypti*” 在 *PLoS ONE* 上发表。随着这一领域成果的丰富, 非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 已逐渐成为昆虫活体器官研究的重要手段之一。

哺乳动物的促甲状腺激素、促黄体激素、促卵泡素均属于糖蛋白激素, 而糖蛋白激素特异性受体最重要的组成部分是 α 亚基 (GPA) 与 β 亚基 (GPB)。本文中, 研究者从脊椎动物上鉴定出一个新的糖蛋白激素 (Thyrostimulin)。研究显示, 它由 GPA2 与 GPB5 两个新型的亚基组成, 且与节肢动物、线虫、棘细胞上的这一亚基同源。

Paluzzi 等使用基因手段研究 GPA2/GPB5 在登革热病毒的宿主——埃及伊蚊上的表达情况, 并利用基于非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 的 NMT 活体生理检测仪观察了 GPA2/GPB5 对伊蚊消化系统 Na^+/K^+ 平衡的调节作用。

前期研究显示, Thyrostimulin 的受体 AedaeLGR1 在伊蚊消化道的中肠、马氏管以及后肠有表达, 尤其在后肠部位表达较高。此外还发现, GPA2/GPB5 具有调节上皮组织阳离子转运的能力——抑制 Na^+ 外排、促进 K^+ 外排。实验以后肠部分的回肠、结肠作为研究位点, 利用 NMT 活体生理检测仪检测了对照组以及 200 nM GPA2/GPB5 处理后 Na^+ 、 K^+ 的流速变化。结果显示, GPA2/GPB5 处理后, 较对照组, 回肠 Na^+ 外排明显减弱, 结肠无明显变化。回肠及前结肠 K^+ 吸收较对照组分别减弱 68%、79%, 后结肠也呈现下降趋势。

上述研究结果表明, Aedae GPA2/GPB5 可用于调节如雌蚊消化、吸收红细胞过程中低 Na^+ 高 K^+ 这一生理现象, 并取得了生理功能上的直接证据。



图注. 200 nM GPA2/GPB5 处理后, 回肠、结肠表面的 Na^+ 流速。

正值表示吸收, 负值表示外排



2、*J Insect Physiol*: NMT 探究血脑屏障 K⁺ 流的影响因素

通讯作者: 麦克马斯特大学 学者

所用 NMT 设备: 非损伤微测系统 (平台版)

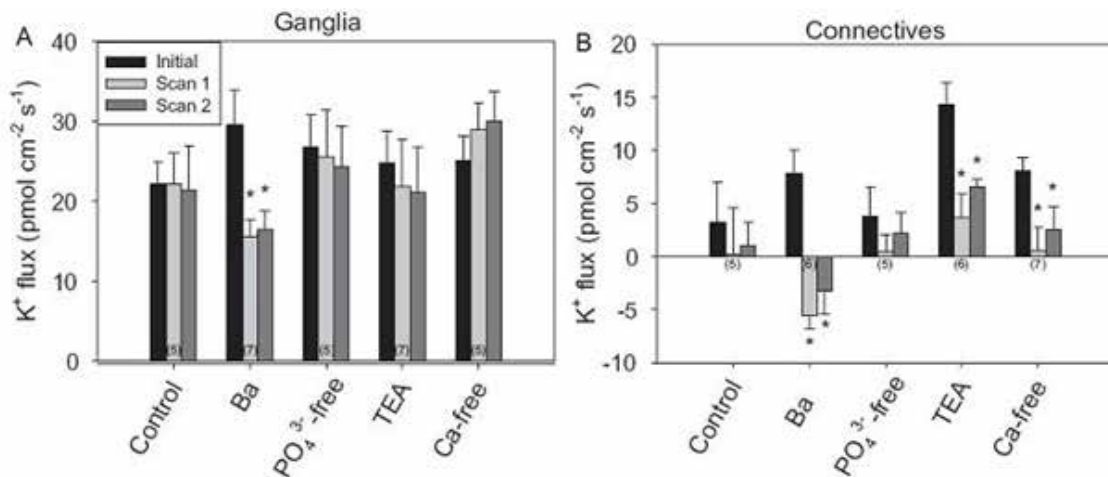
关键词: Blood-brain barrier; K⁺ transport; Ventral nerve cord; Cockroach; Ouabain; Urea; Amphotericin B

NISC 文献库文献编号: F2011-016 (扫码回复编号下载全文)

昆虫和甲壳动物有很好的血脑屏障来保护神经免受毒物的伤害。以前研究血脑屏障离子流速使用同位素示踪法, 但是无法提供空间方面的信息。

在这项研究中, 加拿大的科学家使用非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 直接测定了不同部位、不同时间和不同处理下的 K⁺ 流速, 从空间和时间两方面获得了离子流的信息。使用基于非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 的非损伤微测系统 (平台版) 测定了通过蜚蠊血脑屏障的 K⁺ 流速, 在含有 15mM 或者 25mM K⁺ 的盐溶液中, 神经节 K⁺ 外排, 这和通过神经节连接处的 K⁺ 吸收所平衡。CN⁻ 代谢抑制引起神经节和连接处的 K⁺ 外排增加, 在无 K⁺ 的盐溶液中冷却神经节可以降低 K⁺ 流速。暴露在抗生素两性霉素 B 中神经节和连接处的 K⁺ 剧烈外排。3M 的尿素引起了通过腹神经索细胞旁的 K⁺ 的渗漏。K⁺ 通道抑制剂 Ba²⁺ 抑制了 K⁺ 外排, 四乙胺或者暴露在无 Ca²⁺ 的溶液中引起 K⁺ 外排减小, 乌本苷引起 K⁺ 外排增加。

这项工作通过对昆虫蜚蠊的研究, 发现药物以及 K⁺ 通道抑制剂对 K⁺ 的影响有差异, 结构差异例如更高的线粒体密度, 这种差异可能决定了 K⁺ 外排或者吸收的模式。因此, 我们通过 NMT 活体生理检测仪进行离子流在空间中的变化模式研究, 从而说明某些结构的重要功能。



图注. K⁺ 通道抑制剂等药物对神经节和其连接处 K⁺ 流速的影响。正值表示外排, 负值表示吸收



3、*Comp Biochem Phys A*: NMT 探究蚊子幼虫适应环境的离子调控机制

通讯作者：佛罗里达大学 学者

所用 NMT 设备：荧光非损伤微测系统

关键词：DAR； Ion regulation； ISMs； Mosquito； Self-referencing

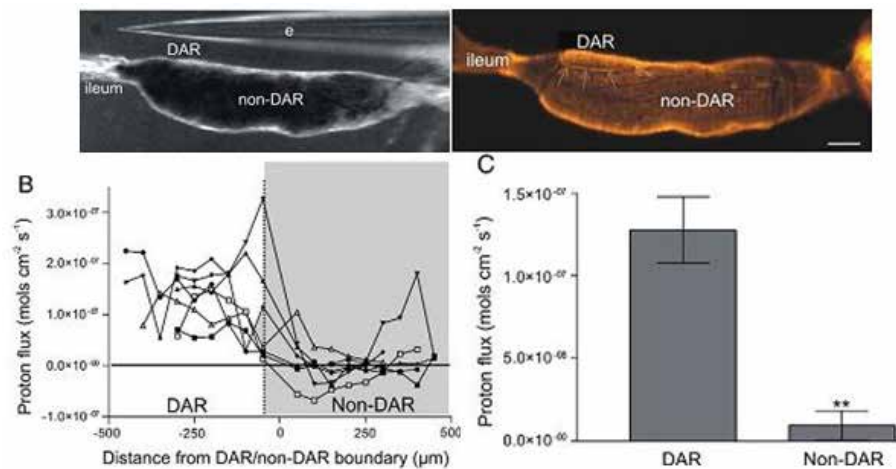
NISC 文献库文献编号：F2010-016（扫码回复编号下载全文）

蚊子是许多哺乳动物病原的宿主，包括寄生虫、细菌、病毒和真菌。疟疾主要是通过按蚊传播的疾病。为了控制疾病，了解传播的过程非常重要，因此需要研究蚊子幼虫的环境适应性。蚊子幼虫能够适应多变环境是因为蚊子的直肠有一个高度发育的离子调控系统。直肠负责吸收离子和营养，排出过量的盐和废弃物。但是这种调节的过程一直不清楚。

2010 年，美国佛罗里达大学和 MBL 的科学家 Smith 等人使用非损伤微测技术（Non-invasive Micro-test Technology, NMT）等方法研究了按蚊的离子调控机制，发现直肠中的两类细胞对离子转运和蛋白表达有显著的差异。

离子调控是蚊子幼虫生存的重要生物学过程，由直肠负责调控。这篇文章研究了按蚊直肠的两类细胞 DAR（背部前突直肠）和 Non-DAR（非背部前突直肠）细胞。在 2% 和 50% 的人工海水中利用基于非损伤微测技术（Non-invasive Micro-test Technology, NMT）的荧光非损伤微测系统测定了质子流速，发现两种类型的细胞基础质子流速不同，且药物抑制剂处理后质子流速也不同，说明蛋白功能在两种环境中存在差异。组织学分析表明 Non-DAR 细胞的结构适合调节离子转运。

根据这个研究结果建立了直肠离子调控的模型，即 Non-DAR 细胞在淡水中再吸收离子，在海水中分泌离子的功能。这样，按蚊幼虫可以适应各种盐环境。这项工作测定了不同环境中蚊子的离子流速，对认识生物的环境适应性提供了思路。



图注. DAR 和 Non-DAR 两类细胞质子流速的差异。

正值表示外排，负值表示吸收

4、*Aquat Toxicol*: NMT 首次研究动物中重金属镉 (Cd^{2+}) 的转运机理

通讯作者: 麦克马斯特大学 学者

所用 NMT 设备: NMT 重金属阻控机制分析仪

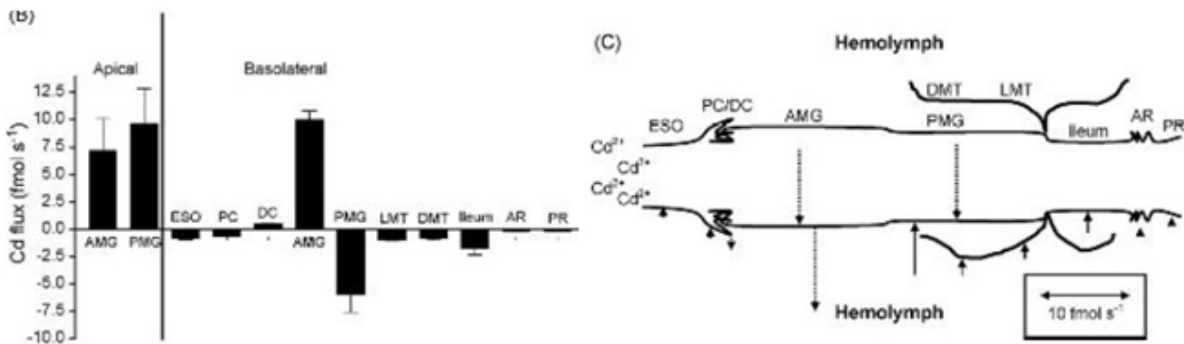
关键词: Cadmium; *Chironomus riparius*; Cd^{2+} -selective microelectrodes; Malpighian tubules; Cd secretion; Cd sequestration

NISC 文献库文献编号: F2009-003 (扫码回复编号下载全文)

大部分水栖型昆虫在短时间内对镉 (Cd^{2+}) 不敏感, 而摇蚊幼虫的 LC_{50} 数值超过了美国环境保护局物种敏感分布法公布的最大浓度标准的 25000 倍。鉴于此现象, 加拿大的研究人员以摇蚊幼虫的肠和马式管为材料, 对 Cd^{2+} 进出组织的流动速率、镉分泌物以及镉螯合物进行了研究, 分析其中的机理。

在该研究中, 将摇蚊幼虫浸泡在 $10\mu\text{M}$ 的 Cd^{2+} 溶液中, 发现马式管可以在 15h 之内分泌完全血淋巴负担的 Cd^{2+} 。利用基于非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 的 NMT 重金属阻控机制分析仪沿摇蚊幼虫的肠腔进行检测, 发现肠并不完全是 Cd^{2+} 进入血淋巴的屏障。 Cd^{2+} 进入血淋巴的关键位点在中肠前端, 而中肠后端 Cd^{2+} 的来源是肠腔, 血淋巴吸收和组织中的镉螯合相并存。该研究的结果强调了肠和马式管在摇蚊幼虫转运和吸收毒性重金属镉的过程中发挥了重要的作用。

这个研究首次将 NMT 应用于动物镉的检测, 也是首次在生理学意义上直接检测重金属镉在动物细胞和组织层面的转运机理。NMT 为我们精确描述了 Cd^{2+} 转运的平衡机制, 准确识别了 Cd^{2+} 的转运位点, 实时获得了 Cd^{2+} 流进、流出生物样品的速率, 为组织转运 Cd^{2+} 的机制提供了最直接的证据, 同时也为这类问题的研究提供了新的思路与模式。



图注. 肠腔 Cd^{2+} 流检测结果及位点示意图。正值表示吸收, 负值表示外排

5、*J Exp Biol*: 伊蚊幼虫适应环境的离子转运动力学

通讯作者: 麦克马斯特大学 学者

所用 NMT 设备: NMT 活体生理检测仪[®] (Physiolyzer[®])

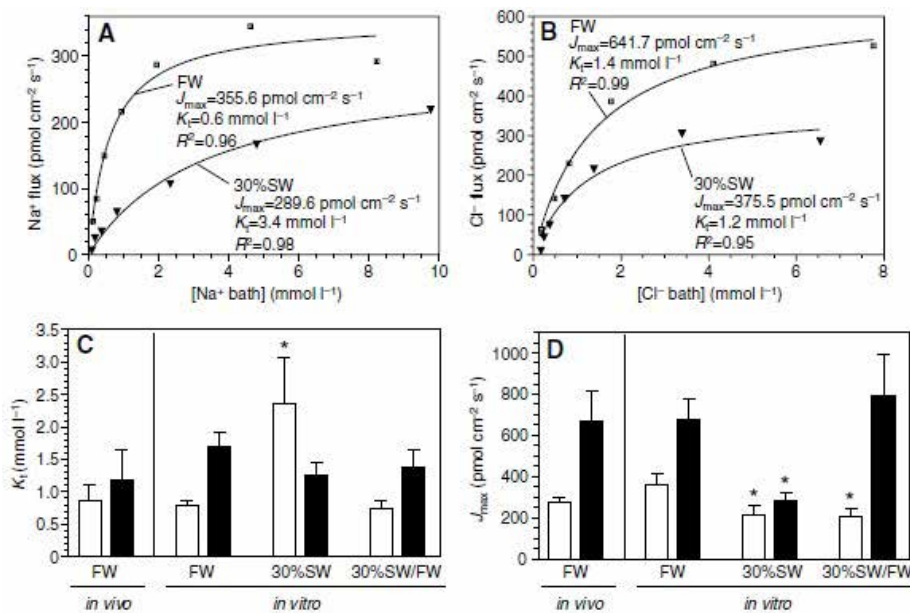
关键词: anal papillae; mosquito; salinity; ion transport; ionoregulation

NISC 文献库文献编号: F2007-004 (扫码回复编号下载全文)

蚊子幼虫生活在多样且多变的环境中, 从淡水到海水中都有广泛分布。为了适应这种差别极大的环境, 蚊子幼虫必须要快速改变自身的系统来适应环境。蚊子幼虫的生存依赖于它们在多变的环境下调节离子吸收和外排的能力。

加拿大的科学家把蚊子幼虫从淡水转移到 30% 的海水中, 或者从 30% 的海水转移到淡水中, 利用基于非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 的 NMT 活体生理检测仪[®] (Physiolyzer[®]) 测定了血淋巴离子浓度随时间的变化过程, 首次获得了 Na⁺ 和 Cl⁻ 转运的动力学, 发现 Na⁺ 和 Cl⁻ 的吸收相互独立, 在高盐环境下 Na⁺ 和 Cl⁻ 吸收减少, Na⁺ 和 Cl⁻ 吸收的转变可能是血淋巴离子水平改变的结果, 离子转运的快速改变影响了乳突形态和超微结构的长期改变。

本文揭示了乳突中离子转运动力学的快速变化和淋巴中离子浓度的变化完全一致。



图注. Na⁺、Cl⁻ 流速测定。正值表示吸收



6、*J Exp Biol*: NMT 证明 H^+ 动力学调控卵子发生

通讯作者: 曼尼托巴大学 学者

所用 NMT 设备: NMT 活体生理检测仪[®] (Physiolyzer[®])

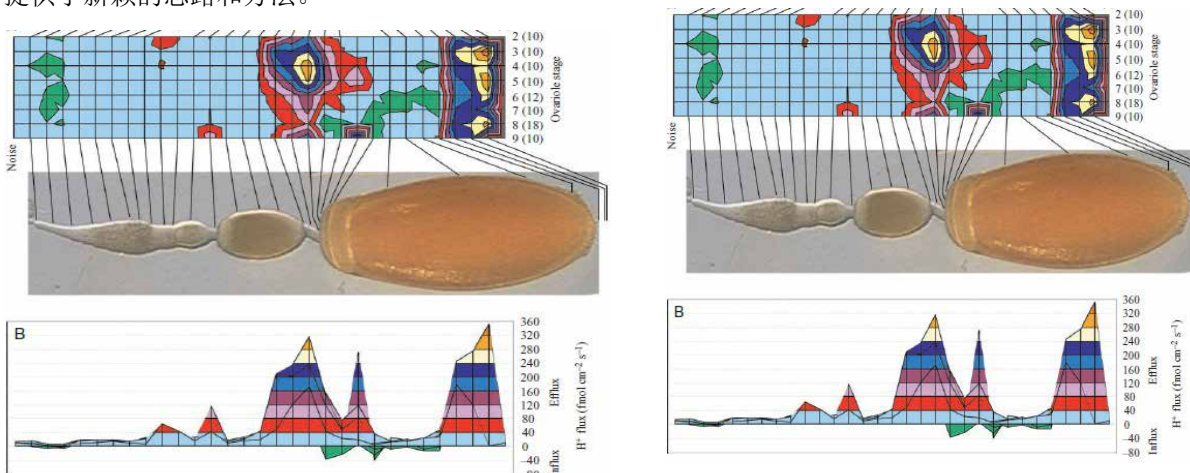
关键词: hydrogen; H^+ ; ion-selective probe; oogenesis; insect; *Rhodnius prolixus*

NISC 文献库文献编号: F2004-004 (扫码回复编号下载全文)

卵子发生在生物体形成过程中非常重要, 影响到胚胎发育以及个体形成。在这个过程中, H^+ 动力学起到一个关键的调节作用, 细胞通过 H^+ 转运维持膜电势和产生跨膜的化学梯度来驱动次级代谢, 但是在昆虫滋养型卵母细胞成卵过程中发生的 H^+ 流变化和 H^+ 流引起的 pH 值变化所起到的调节作用却了解很少。利用基于非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 的 NMT 活体生理检测仪[®] (Physiolyzer[®]) 可实现对 H^+ 流在不同时间和空间的实时监测, 从而揭示 H^+ 流在昆虫滋养型卵母细胞生成过程中所起到的调节作用。

美国 Wadsworth 中心神经系统失调研究实验室科学家 Bjornsson C. S. 等采用 NMT 活体生理检测仪[®] (Physiolyzer[®]) 对红锥蝽 (*Rhodnius prolixus*) 在相同生长部位的不同生长阶段进行胞外 H^+ 流实时监测发现, 卵黄生成中期卵巢管中分离相邻卵泡囊的主茎表现出显著的 H^+ 外排, 而在卵黄生成后期 H^+ 外排减弱。 H^+ 外排的现象不仅在主茎生成之前已经产生, 而且先于邻近卵泡囊的卵黄生成起始阶段。另外, 在生成绒毛膜的末端卵泡囊和卵泡囊排卵后也分别检测到了 H^+ 的外排现象, 这揭示了躯体的卵泡上皮细胞控制着 H^+ 的外排。

该研究通过 NMT 检测昆虫成卵过程中 H^+ 流的变化, 揭示了 H^+ 流在卵黄生成的起始阶段、内吞、卵泡细胞骨架动力学及滤泡反馈机制调节中的重要作用, 跨膜 H^+ 流可促使胞内 pH 值的改变。这为昆虫成卵过程的机理研究提供了新颖的思路和方法。



图注. 卵母细胞 H^+ 流检测图

图注. 卵巢管不同部位不同生长时期的 H^+ 流的测定。

正值表示外排, 负值表示吸收

7、*Am J Physiol-Cell Ph*: 摇蚊幼虫应对低盐环境的离子调控机制

通讯作者: 约克大学 学者

所用 NMT 设备: NMT 活体生理检测仪[®] (Physiolyzer[®])

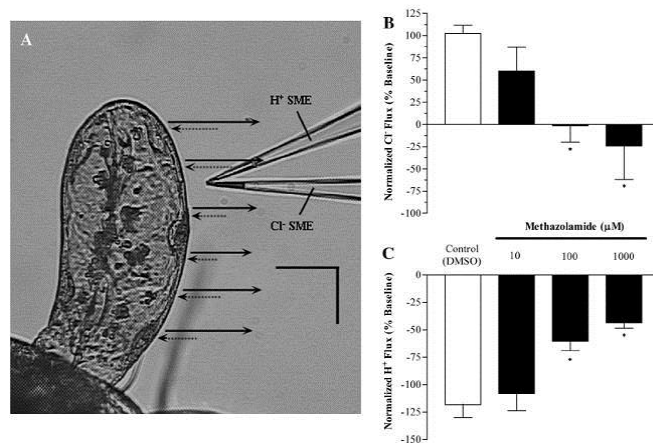
关键词: chironomid; anal papilla; transepithelial ion transport; inorganic ions; homeostasis

NISC 文献库文献编号: F2010-010 (扫码回复编号下载全文)

一些昆虫以表皮突起作为主动吸收离子的部位。例如蚊幼虫、蜉蝣稚虫的肛乳突 (anal papillae), 其大小和离子吸收与环境中的盐分的含量相关, 在含盐量越少的环境中, 其肛乳突越发达。生活在咸水或半咸水中的昆虫其调节盐度的范围较宽。

为了揭开低盐环境中摇蚊幼虫对离子的吸收机制, 加拿大的科学家 Donini 教授等人研究了摇蚊幼虫肛乳突在低盐条件下的离子调控作用。使用基于非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 的 NMT 活体生理检测仪[®] (Physiolyzer[®]) 测定了摇蚊暴露在低盐的水中 (IPW) 通过肛乳突的离子种类、方向和流速。在淡水 (FW) 和 IPW 条件下肛乳突不同位置 NaCl 的吸收和 H⁺ 的分泌可能主要归功于 K⁺ 的交换。在 IPW 中严重和长期的暴露增加了通过肛乳突的 Na⁺、Cl⁻ 和 H⁺ 的转运, 但是在这两个条件下的增加机制不同。严重的 IPW 暴露增加了肛乳突不同位置的离子流速。长期的 IPW 暴露导致增加了肛乳突的大小, 但是没有引起离子流速的改变。Na⁺/H⁺ 交换体的抑制剂 EIPA 和碳酸酐酶的抑制剂醋甲唑胺 (methazolamide) 提供了肛乳突 Na⁺/H⁺ 和 Cl⁻/HCO₃⁻ 交换机制的证据。

这个研究证明了摇蚊幼虫应用两个不同的机制增加离子的转运, 调节血淋巴中离子的活性。这两种机制是摇蚊适应低盐环境的重要特征。这个研究为动物适应不同的低盐环境提供了基础和借鉴, 也为我们认识摇蚊幼虫为何能够在多种环境下生存提供了证据。



图注. 摇蚊幼虫肛乳突的 H⁺、Cl⁻ 的流速测定。

正值表示外排, 负值表示吸收

