

- 407 (3): 694~ 696
- 8 Arreola J, Park K, Melvin J E *et al.* Three distinct chloride channels control anion movements in rat parotid acinar cells. *J Physiol*, 1996, **490** (2): 351~ 362
- 9 Miller C, White M M. Dimeric structure of single chloride channels from *Torped* electroplax. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, **81** (9): 2772~ 2775
- 10 Blatz A L. Properties of single fast chloride channels from rat cerebral cortex neuron. *J Physiol*, 1991, **441**: 1~ 21
- 11 Lloyd S E, Pearce S H S, Fisher S E *et al.* A common molecular basis for three inherited kidney stone diseases. *Nature*, 1996, **379**: 445~ 449
- 12 Blatz A L, Magleby K L. Single voltage-dependent chloride selective channels of large conductance in cultured rat muscle. *Biophys J*, 1983, **43** (1): 237~ 241
- 13 Gunderson K L, Kopito R R. Conformational states of CFTR associated with channel gating: the role of ATP binding and hydrolysis. *Cell*, 1995, **82** (2): 231~ 239
- 14 Woll K H, Leibowitz M D, Neumcke B *et al.* A high-conductance anion channel in adult amphibian skeletal muscle. *Pflügers Arch*, 1987, **410** (3): 632~ 640
- 15 Pusch M, Jentsch T J. Molecular physiology of voltage-gated chloride channels. *Physiol Rev*, 1994, **74** (4): 813~ 827
- 16 Riordan J R. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Annu Rev Physiol*, 1993, **55**: 609~ 630
- 17 Moorman J R, Palmer C J, John III J E *et al.* Phospholemman expression induces a hyperpolarization-activated chloride current in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem*, 1992, **267** (21): 14551~ 14554
- 18 Paulais M, Li Y, Wickman K *et al.* New mammalian chloride channel identified by expression cloning. *Nature*, 1992, **356**: 238~ 241
- 19 Leveille-Webster C R, Arise I M. The Biology of The G-Glycoprotein. *J Membrane Biol*, 1995, **143** (1): 89~ 102
- 20 Stutts M J, Canessa C M, Olsen J C. CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels. *Science*, 1995, **269**: 847~ 850

Progress in the Study of Background Chloride Channels. ZHANG Guang-ping, SHI Yu-liang (*Shanghai Institute of Physiology, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*).

Abstract Cl^- channels are found in all of cellular and subcellular membranes which have been determined. As housekeeper, they play vital roles in many different processes, such as regulation of cell volume, pH, resting membrane potential and excitability. Because the classical electrophysiological investigation has not been able to clearly characterize a macroscopic Cl^- current, as was done for Na^+ , K^+ and Ca^{2+} current, Cl^- channel are ignored for many years. The recent explosion in knowledge of Cl^- channel is owing the technical using of single channel recording and molecular biology. The ionic permeation, selectivity, gating and pharmacological properties as well as the molecular clone and structure of background Cl^- channels, the most widely existed Cl^- channel in biomembranes, are reviewed.

Key words background Cl^- channel, selectivity, gating, pharmacology, molecular structure

植物蛋白酶抑制剂在植物抗虫与抗病中的作用

卢晓风 夏玉先 裴 炎

(西南农业大学生物技术中心, 重庆 400716)

摘要 综述了植物蛋白酶抑制剂抗虫与抗病作用的研究进展。蛋白酶抑制剂广泛存在于植物体内, 与植物抗虫抗病密切相关。植物蛋白酶抑制剂能抑制昆虫肠道蛋白酶, 使昆虫生长发育缓慢, 甚至死亡。但取食蛋白酶抑制剂后, 昆虫能迅速分泌对抑制剂不敏感的蛋白酶, 而使蛋白酶抑制剂无效。食物蛋白的含量和质量也影响植物蛋白酶抑制剂的抗虫效果。病原菌的感染能诱导植物产生蛋白酶抑制

剂, 诱导产生的蛋白酶抑制剂能抑制病原菌的生长.

关键词 蛋白酶抑制剂, 抗虫, 抗病

学科分类号 Q946.1, S432.23, S433.1

蛋白酶抑制剂是一类能够抑制蛋白水解酶活性的物质. 根据抑制的蛋白酶类型, 可将其分为丝氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸及金属蛋白酶抑制剂. 蛋白酶抑制剂广泛存在于植物体内. 在植物贮藏器官中, 其含量通常高达总蛋白的 10%. 植物叶片受到机械损伤或经化学物质处理, 也会积累大量蛋白酶抑制剂. 目前, 豆科、茄科、禾本科及十字花科等植物的多种蛋白酶抑制剂已被分离纯化. 根据同源性, 已测定了氨基酸序列或 DNA 结构的植物蛋白酶抑制剂可以分为 10 个族^[1]. 植物蛋白酶抑制剂能抑制蛋白酶活性, 在调控蛋白酶参与的生理生化活动中起着重要作用. 而蛋白酶参与了昆虫的食物消化、病原菌的侵染与扩展等过程. 因此, 植物蛋白酶抑制剂的抗虫抗病作用很早就引起了人们的注意. 迄今为止, 已对多种植物蛋白酶抑制剂的抗虫作用, 抗虫机制, 转基因植株的获得, 以及昆虫对植物蛋白酶抑制剂的抗性等进行大量研究. 植物蛋白酶抑制剂的抗病作用也逐步被认识. 本文对近年来植物蛋白酶抑制剂抗虫与抗病方面的研究进展进行综述.

1 植物蛋白酶抑制剂的抗虫作用

1.1 蛋白酶抑制剂的抗虫作用及机制

50 年代初, Likpe 等首先观察到大豆浸提物能够使杂拟谷盗 (*Tribolium confusum*) 生长缓慢, 发育不良. 同时还检测到大豆浸提物对杂拟谷盗幼虫肠道蛋白酶有抑制作用. 后来, Birk 等也发现大豆浸提物能抑制赤拟谷盗 (*Tribolium castaneum*) 幼虫的生长. 分离纯化的结果表明, 该抑制物是一种胰蛋白酶抑制剂. 这一结果提示人们, 植物蛋白酶抑制剂可能是新的抗虫物质^[1]. 因此, 科研工作者开展了对植物蛋白酶抑制剂抗虫的研究.

植物蛋白酶抑制剂对许多植食性昆虫的生

长发育都具有明显的抑制作用. Broadway 和 Duffey 的研究表明^[2], 大豆胰蛋白酶抑制剂 STI (soybean trypsin inhibitor), 以及马铃薯蛋白酶抑制剂 PF-2 (potato inhibitor II), 分别在 0.18 g/L 和 0.08 g/L 的浓度下, 就能抑制美洲棉铃虫 (*Helicoverpa zea*) 和甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 幼虫肠道的绝大部分胰蛋白酶活性. 人工饲料 (含 1.2% 酪蛋白) 中的 STI 和 PF-2 的含量达到食物总蛋白含量的 10% 时, 美洲棉铃虫和甜菜夜蛾幼虫的取食量明显下降, 营养不良, 虫体重变轻, 幼虫生长期增长. McManus 等^[3]观察到, 50 mg/L 的 STI 能抑制 *Spodoptera litura* 幼虫肠道 88% 的胰蛋白酶活性. 当食物中的 STI 浓度为 0.2% 或 0.5% 时, 3 d 后, 与对照相比, 取食蛋白酶抑制剂的 *S. litura* 幼虫体重就变轻. 随着时间的推移, 这种差别越来越明显. 鞘翅目昆虫南部瓜十一星叶甲 (*Diabrotica undecimpunctata howardi*) 和玉米幼芽根叶甲 (*Diabrotica virgifera virgifera*) 幼虫肠道蛋白酶主要是半胱氨酸蛋白酶, 受半胱氨酸蛋白酶抑制剂 E64 (trans-epoxy succinyl-L-leucylamidate (4-guanidino)-butane) 和 PMC (potato multicystatin) 的抑制. 两种叶甲的初孵幼虫对 E64 和 PMC 很敏感, 取食后, 其生长发育严重受到影响^[4]. 此外, 澳洲日野黑蟋蟀 (*Teleogryllus commodus*)^[5] 和迁徙蚱蜢 (*Melanoplus sanguinipes*)^[6] 的肠道蛋白酶也受多种胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶抑制的抑制, 取食抑制剂后, 其生长发育也明显受到影响.

除植食性的昆虫外, 吸血昆虫的生长发育也受植物蛋白酶抑制剂的影响. 在血液中加入胰蛋白酶抑制剂 Leupeptin 和 STI, 角蝇 (*Haematobia irritans* L.) 的生殖力明显下降. 而厩蝇 (*Stomoxys calcitrans*) 在摄入 STI 后, 所有的成虫均不产卵, 而且有 50% 以上的虫

死亡^[1].

植物蛋白酶抑制剂具有抗虫效果的直接证据首先来自于 Hilder 等的研究. Hilder 等^[1]将豇豆胰蛋白酶抑制剂基因转入烟草并表达成功, 产生的蛋白酶抑制剂达到烟草叶片总蛋白含量的 1%, 转基因植株对烟芽夜蛾 (*Heliothis virescens*) 幼虫具有明显的抗性. 后来, Johnson 等^[10]将马铃薯蛋白酶抑制剂 PI-1 和 PI-2, 以及番茄蛋白酶抑制剂基因转入烟草, 表达的蛋白酶抑制剂的含量达到 100 $\mu\text{g/g}$ 组织. 用蛋白酶抑制剂含量为 50 $\mu\text{g/g}$ 组织的烟草叶片作为烟草天蛾 (*Manduca sexta*) 的唯一食物时, 烟草天蛾幼虫的生长就受到明显的抑制. 用蛋白酶抑制剂含量高一倍的烟草叶片饲喂, 部分烟草天蛾的幼虫就死亡.

已有的研究表明, 植物蛋白酶抑制剂通过抑制昆虫肠道蛋白酶活性, 使昆虫营养不良, 生长发育受阻, 从而表现出抗虫性. 对昆虫肠道蛋白酶的研究表明, 重要的农业害虫——鳞翅目昆虫幼虫肠道蛋白酶以胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶为主; 鞘翅目昆虫幼虫肠道蛋白酶以半胱氨酸蛋白酶为主^[7]. 因此, 通常认为, 胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶抑制剂对鳞翅目昆虫幼虫, 半胱氨酸蛋白酶抑制剂对鞘翅目幼虫的生长发育有抑制作用. 但最近的一些研究表明, 只有诱导型的植物蛋白酶抑制剂才可能具有抗虫作用. 比如 Zhao 等^[8]的研究表明, 大豆 (*Glycin max* L. Merr.) 中有三种半胱氨酸蛋白酶抑制剂. 其中一种是组成型的, 即不经诱导在植物中就存在. 另两种是诱导型的, 需经诱导才能产生. 诱导型的两种蛋白酶抑制剂能抑制马铃薯甲虫 (*Leptinotarsa decemlineata*) 和玉米幼芽根叶甲三龄幼虫的肠道半胱氨酸蛋白酶活性, 而组成型的半胱氨酸蛋白酶抑制剂却无抑制作用.

1.2 蛋白酶抑制剂抗虫效果的影响因素

植物蛋白酶抑制剂能抑制昆虫肠道蛋白酶, 使昆虫生长发育不良甚至死亡. 但其抗虫效果受诸多因素的影响. 首先, 许多昆虫肠道存在多种类型的蛋白酶, 一些蛋白酶抑制剂单

独使用往往无效. 而将多种类型的蛋白酶抑制剂混合使用, 抑制剂之间就表现出协同作用. Orr 等^[5]的研究发现, T-PMC (trypsin treated potato multicystatin) 和 PCI (potato carboxypeptidase inhibitor) 单独使用时, 对南部瓜十一星叶甲和玉米幼芽根叶甲幼虫的生长发育无抑制作用. 但是, 将 T-PMC 和 PCI 同时加入食物中, 两种叶甲幼虫的生长均受到明显影响. 研究者认为, 昆虫肠道存在多种蛋白酶, 当一种蛋白酶被抑制后, 昆虫还可以依赖其他种类的蛋白酶来维持正常的生长发育. 但当多种类型的蛋白酶抑制剂同时存在于食物中时, 由于肠道内主要的蛋白酶都受到抑制, 昆虫就会表现出生长发育不良, 甚至死亡.

其次, 当现有的肠道蛋白酶被抑制后, 昆虫还能通过迅速分泌新的、对蛋白酶抑制剂不敏感的蛋白酶类, 使蛋白酶抑制剂的作用无效. 白菜蛋白酶抑制剂能抑制舞毒蛾 (*Lymantria dispar*) 和美洲棉铃虫的肠道蛋白酶活性. 但饲喂后, 两种昆虫的生长发育并未受到明显影响. 研究者认为, 当现有的肠道蛋白酶被抑制后, 昆虫可能分泌其他对所使用的蛋白酶抑制剂不敏感的蛋白酶, 从而消除蛋白酶抑制剂的作用^[4]. 这种观点很快得到证实. Bolter 等^[11]用气体茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, MJ) 处理马铃薯后, 植株叶片内积累了大约占总蛋白含量 4% 的半胱氨酸蛋白酶抑制剂. 该抑制剂能够抑制马铃薯甲虫肠道蛋白酶活性. 但用诱导的和未经诱导的叶片作为唯一食物时, 两种食物饲喂的马铃薯甲虫的生长发育几乎无差别. 也即是说, 诱导产生的马铃薯蛋白酶抑制剂并不能抑制马铃薯甲虫的生长发育. 进一步对肠道蛋白酶的活性鉴定发现, 马铃薯甲虫取食蛋白酶抑制剂后, 肠道中对蛋白酶抑制剂不敏感的蛋白酶活性大大提高了. Broadway^[12]的研究也表明, 菜粉蝶和美洲棉铃虫在取食了丝氨酸蛋白酶抑制剂后, 产生了抗蛋白酶抑制剂的胰蛋白酶 (inhibitor-resistant trypsin). 而且, 菜粉蝶取食白菜蛋白酶抑制剂后, 对于非寄主来源, 但同属一族

的大豆胰蛋白酶抑制剂也产生了抗性。这些结果提示我们,在使用蛋白酶抑制剂时,需考虑将多种蛋白酶抑制剂同时使用;在培育转基因植物时,也需将多种蛋白酶抑制剂的基因同时转入同一植物中,才能达到提高植物抗虫性的目的。

此外,植物蛋白酶抑制剂的抗虫效果与昆虫取食的蛋白质含量及质量密切相关。当澳洲日野黑蟋蟀的食物中酪蛋白含量为1%时,STI和POT-2 (potato inhibitor II) 在浓度为0.1%时就能杀死绝大部分蟋蟀。但当酪蛋白的含量提高到3%时,即使提高STI和POT-2的浓度,也不能使蟋蟀死亡。这可能是由于食物中蛋白质含量增高,昆虫就越容易获得营养,蛋白酶抑制剂的作用就越小^[6]。食物蛋白中是否含有含硫氨基酸(如甲硫氨酸,半胱氨酸),也与蛋白酶抑制剂的作用强弱有关。Broadway和Duffey观察到^[2],在含有蛋白酶抑制剂的人工饲料中添加甲硫氨酸,蛋白酶抑制剂对昆虫生长发育的抑制就消失。研究者发现,摄入蛋白酶抑制剂一段时间后,昆虫将增强肠道蛋白酶的分泌,大幅度提高肠道蛋白酶的活性,以克服蛋白酶抑制剂的作用。但是,酶的合成需要含硫氨基酸,而昆虫原来的肠道蛋白酶与蛋白酶抑制剂不可逆结合后,其中的含硫氨基酸不能被重新利用。因此,昆虫往往因含硫氨基酸不足,不能合成足够新的蛋白酶而消化不良,生长发育受到抑制。如果食物蛋白中含硫氨基酸较多,昆虫的生长发育就不会受到影响。

植物自身的一些次生代谢产物也影响蛋白酶抑制剂的活性。比如在植物酚氧化酶的一系列氧化过程中产生的绿原醌(chlorogeno-quinones),其能与植物自身的蛋白酶抑制剂共价结合,使其失活^[13]。而棉花次生代谢产物棉酚和丹宁,与大豆胰蛋白酶抑制剂之间则表现为协同作用^[14]。

2 植物蛋白酶抑制剂的抗病作用

相对于植物蛋白酶抑制剂抗虫方面的研究

而言,对植物蛋白酶抑制剂抗病作用的研究还很少。但随着植物蛋白酶抑制剂及其抗虫作用研究的不断深入,这方面的研究正在逐步加强。

Peng等^[15]发现,致病疫霉(*Phytophthora infestans*)感染番茄后,番茄叶片内的胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶抑制剂的含量迅速增高,而且抗病品种蛋白酶抑制剂的增加量是感病品种的几倍。Roby等^[16]观察到,西瓜感染菜豆炭疽菌(*Colletotrichum lindemuthianw*)后,叶片内的蛋白酶抑制剂含量也会上升。烟草疫霉(*Phytophthora parasitica*)的培养物能诱导烟草细胞分泌胰蛋白酶和类胰凝乳蛋白酶抑制剂^[17]。马铃薯蛋白酶抑制剂能够抑制从病斑中分离出的病原微生物的生长^[18]。这些研究表明,植物蛋白酶抑制剂与植物的抗病有一定的关系。另外的一些研究发现,蛋白酶是病原微生物侵染与扩展过程中所依赖的重要酶类^[19]。在植物中,也存在能专一抑制微生物来源蛋白酶的蛋白酶抑制剂^[20]。因此,研究者认为,病原微生物在侵染与扩展过程中,要依赖胞外蛋白酶降解寄主组织,才能获得病原菌生长和增殖所需的氨基酸。而植物则可能通过分泌蛋白酶抑制剂阻止病原菌蛋白酶对寄主组织的降解,使病原菌营养不足,生长和增殖受限,侵染与扩展受阻,从而达到抗病的目的。

3 结束语

植物蛋白酶抑制剂能抑制昆虫肠道蛋白酶,使昆虫生长发育不良甚至死亡,在植物抗虫中已显示出应用潜力。但目前研究的植物蛋白酶抑制剂,只有大豆、马铃薯、番茄及豇豆蛋白酶抑制剂具有较强的抗虫作用。因此,还需要对植物蛋白酶抑制剂进行更广泛的研究,以发现更多抗虫性较强的蛋白酶抑制剂。对于昆虫肠道现存的蛋白酶,以及摄入不同的蛋白酶抑制剂后,昆虫可能分泌的肠道蛋白酶种类应进一步研究,以便选择与此相应的蛋白酶抑制剂,制定有效的害虫防治策略。植物蛋白酶

抑制剂转基因成功的例子还很少, 而且用于转基因的植物也仅限于烟草, 蛋白酶抑制剂基因在转基因植株上的表达也还不够理想. 因此, 如何将蛋白酶抑制剂基因转入到其他植物, 以及如何提高蛋白酶抑制剂基因的表达都还有待于进一步深入研究.

相对于抗虫而言, 对植物蛋白酶抑制剂抗病方面的研究才刚刚开始. 对病原菌致病过程中分泌的蛋白酶, 以及植物蛋白酶抑制剂与病原菌蛋白酶的相互作用的研究还很少. 对植物蛋白酶抑制剂对病原菌生长、增殖及侵染的影响也缺乏系统研究. 目前尚无法对植物蛋白酶抑制剂在植物抗病中的潜力作出有效的评价. 在植物蛋白酶抑制剂的研究中, 还没有关于同一种蛋白酶抑制剂是否同时具有抗虫抗病作用的报道. 因此, 植物蛋白酶抑制剂抗虫抗病的研究中, 还有很多问题值得研究. 探讨这些问题, 对于进一步了解植物的防御机制, 推动抗病虫育种向深层次发展具有重要意义.

参 考 文 献

- Ryan C A. Protease inhibitors in plant: genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annu Rev Phytopathol*, 1990, **28**: 425~ 449
- Broadway R M and Duffey S S. Plant proteinase inhibitors: mechanism of action and effect on the growth and digestive physiology of larval *Heliothis zea* and *Spodoptera exigua*. *J Insect Physiol*, 1986, **32** (10): 827~ 833
- McManus M T, Burgess E P J. Effects of the soybean (Kunitz) trypsin inhibitor on growth and digestive proteases of larvae of *Spodoptera litura*. *J Insect Physiol*, 1995, **41** (9): 721~ 738
- Orr G L, Strickland J A *et al.* Inhibition of *Diabrotica* larval growth by a multicystatin from potato tubers. *J Insect Physiol*, 1994, **40** (10): 893~ 900
- Burgess E P J, Main C A, Stevens P S *et al.* Effects of proteinase inhibitor concentration and combinations on the survival, growth and gut enzyme activities of the black field cricket, *Teleogryllus commodus*. *J Insect Physiol*, 1994, **40** (9): 803~ 811
- Hinks C F, Hupka D. The effects of feeding leaf sap from oats and wheat, with and without soybean trypsin inhibitor, on feeding behavior and digestive physiology of adult males of *Melanoplus sanguinipes*. *J Insect Physiol*, 1995, **41** (11): 1007~ 1015
- Terra W R and Ferreira C. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. *Comp Biochem Physiol*, 1994, **109B** (1): 1~ 62
- Zhao Y, Botella M A, Subramanian L *et al.* Two wound inducible soybean cysteine proteinases inhibitors have great insect digestive proteinase inhibitory activities than a constitutive homolog. *Plant Physiology* (Rockville), 1996, **111** (4): 1299~ 1306
- Hilder V A, Gatehouse A M R, Sheerman S E *et al.* A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. *Nature*, 1987, **330** (6126): 160~ 163
- Johnson R, Narraez J, An G *et al.* Expression of proteinase inhibitors I and II in transgenic tobacco plants. effects on natural defense against *Manduca sexta* larvae. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86** (24): 9871~ 9875
- Bolter C J, Jongsma M A. Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) adapt to proteinase inhibitors induced in potato leaves by methyl jasmonate. *J Insect Physiol*, 1995, **41** (12): 1071~ 1078
- Broadway R M. Dietary proteinase inhibitors alter complement of midgut proteases. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 1996, **32** (1): 35~ 53
- Felton G W, Broadway R M, Duffey S S *et al.* Inactivation of protease inhibitor activity by plant-derived quinones: complication for host-plant resistance against noctuid herbivores. *J Insect Physiol*, 1989, **35** (12): 981~ 990
- 王琛柱, 钦俊德 (Wang C Z, Qin J D). 大豆蛋白酶抑制剂与棉酚或丹宁混用对棉铃虫中肠蛋白酶和生长率的影响. *昆虫学报* (*Acta Entomologica Sinica*), 1996, **39** (4): 337~ 341
- Peng J H, Black L L. Increased proteinase inhibitor activity in response to infection of resistant tomato plants by *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*, 1976, **66** (8): 958~ 963
- Roby D, Toppan A, Esquerre-Tugaye M-T. Cell surfaces in plant microorganism interaction VIII increases proteinase inhibitors activity in melon plants in response to infection by *Colletotrichum lagenarium* or to treatment with an elicitor fraction from this fungus. *Physiol Mol Plant Physiol*, 1987, **30** (3): 453~ 460
- Rickauer M, Fournier J, Esquerre-Tugaye M-T. Induction of proteinase inhibitors in tobacco cell suspension culture by elicitors of *Phytophthora parasitica* Var. *nicotianae*. *Plant Physiol*, 1989, **90** (10): 1065~ 1070
- Senser F, Belitz H D, Kaiser K P *et al.* Suggestion of a protective function of proteinase inhibitors in potatoes: inhibition of proteolytic activity of microorganism isolated from spoiled potato tubers. *Z Lebensm Unters Forsch*, 1974, **155** (1): 100~ 101
- Baral A, Fox P F, O'Connor T P. Isolation and characterization of an extracellular proteinase from *Pseudomonas tolaasii*. *Phytochemistry*, 1995, **39** (4): 757~ 762
- Geoffroy P, Strydom D. cDNA cloning and gene expression analysis of the microbial proteinase inhibitor of tobacco. *Mol Plant Microbe Inter*, 1990, **3** (2): 327~ 333

Roles of Plant Proteinase Inhibitors in the Resistance of Plant Against Insects and Pathogens. LU Xiao-feng, XIA Yu-xian, PEI Yan (Center Biotechnology, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716,

China).

Abstract Proteinase inhibitors are widely distributed in the plant kingdom and associated with the resistance of plant against insects and pathogens. Ingestion of some plant proteinase inhibitors in the artificial diet can retard the growth and development of insects, even cause the insects dead. Transgenic plants of proteinase inhibitors derived from plants definitely show effects of insect-resistance. Insects can reduce the growth and development inhibition by secreting gut proteinases that insensitive to plant proteinase inhibitors existed in the diet. The

quantity and quality of food proteins are very important in dictating the anti-nutritional effects of plant proteinase inhibitors on insects. Plant proteinase inhibitors can be induced by the infection of many plant pathogens, and the growth of microorganism isolated from the spoiled tissues can be inhibited by the induced plant proteinase inhibitors. Progress in the roles of plant proteinase inhibitors in the resistant mechanism of plant against insects and pathogens was reviewed.

Key words proteinase inhibitors, resistance against insects, resistance against pathogens

多彩色荧光原位杂交技术原理及其应用

杨明杰 曹 佳

(第三军医大学预防医学系分子毒理学实验室, 重庆 400038)

摘要 多彩色荧光原位杂交是一门新兴的分子细胞遗传学技术, 它用几种不同颜色的荧光素单独或混合标记的探针, 进行原位杂交, 同时检测间期细胞或中期细胞中的几个特异核酸序列, 为分析癌症遗传不稳定性提供了一种简便、快速、可靠的方法, 并广泛应用于物理图谱绘制、致突变研究、肿瘤病理学和产前诊断。

关键词 多彩色荧光原位杂交, 染色体描绘, 多彩色原位启动标记, 比较基因组杂交

学科分类号 Q75

多彩色荧光原位杂交 (multicolor fluorescence *in situ* hybridization) 是在荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 基础上发展起来的新技术, 它不仅具有 FISH 的优点, 而且克服了 FISH 的许多局限, 能同时检测多个基因, 分辨复杂的染色体易位和微小缺失, 区分间期细胞多倍体和超二倍体等, 是一门十分有发展前途的分子细胞遗传学技术。如果说 80 年代出现的 FISH 及相关技术开创了分子细胞遗传学新天地的话, 那么, 90 年代初期创建的多彩色 FISH 使分子细胞遗传学发展成为了可以研究全细胞周期遗传物质多个

靶位的真正意义的分子细胞遗传学。本文拟简要介绍多彩色 FISH 的技术原理及其在实验研究和临床实践中的一些应用。

1 技术原理

多彩色 FISH 与 FISH 都是依据碱基互补原理, 用荧光素直接或间接标记的核酸探针, 在组织切片、间期细胞核及中期细胞染色体等标本上对待测核酸靶进行定性、定位和相对定量分析。不同的是, 多彩色 FISH 一次杂交即能检测多个靶位, 各靶位在荧光显微镜下和照