

# 七星瓢虫的卵黄发生:植人雄虫的 卵巢中卵黄原蛋白的合成

翟启慧 张建成

(中国科学院动物研究所)

**摘要** 为了证实七星瓢虫的卵巢能合成卵黄原蛋白,并查明雄虫体内是否具有卵黄发生所必需的激素环境,我们将刚羽化雌虫的一侧卵巢或数个卵巢管植入雄虫体内。移植的卵巢或卵巢管在雄虫体内能够发育,其卵母细胞能沉积卵黄,一部分可达成熟。体外培养证明移植的卵巢可合成卵黄原蛋白,但受体雄虫的脂肪体不合成卵黄原蛋白,而且其血淋巴中也不存在这种蛋白。用保幼激素类似物 ZR-512 处理受体雄虫,可促进移植卵巢的发育,但不能诱导其脂肪体合成卵黄原蛋白。此结果表明,象大多数昆虫一样,七星瓢虫的卵黄发生的性二型现象表现在激素的靶组织——脂肪体,而不是激素本身。

**关键词** 七星瓢虫 卵黄发生 卵黄原蛋白合成 移植卵巢 受体雄虫脂肪体

昆虫卵黄原蛋白是卵内主要卵黄蛋白的前体,它由成熟雌虫的脂肪体合成,经血淋巴转运,为生长的卵母细胞摄取。长期以来的传统观点认为,昆虫卵黄原蛋白只在卵巢以外的组织中合成,脂肪体是其唯一来源。但是,近年来先后在果蝇 (Bownes, 1980, 1982) 和麻蝇 (Huybrechts 等, 1983) 中证明卵巢也和脂肪体一样能合成卵黄原蛋白;而且在果蝇中已确定滤泡细胞是卵巢中合成卵黄原蛋白的部位 (Brennan 等, 1982)。我们在七星瓢虫卵黄原蛋白合成的研究中发现,虽然脂肪体是卵黄原蛋白的主要来源,卵巢本身也能合成卵黄原蛋白 (Zhai 等, 1984; 翟启慧等, 1985)。我们观察到,彻底摘除了脂肪体的卵巢在离体条件下能合成卵黄原蛋白并释放到培养液中(同前)。为了进一步验证七星瓢虫卵巢中的卵黄原蛋白合成,我们将刚羽化雌虫的一侧卵巢或其中数个卵巢管移植到雄虫体内。正常情况下,七星瓢虫的雄虫脂肪体不合成卵黄原蛋白,保幼激素类似物也不能诱导其合成 (Zhai 等, 1984)。因此,卵巢移植实验不仅可以阐明卵母细胞在雄虫体内能否沉积卵黄,查明卵黄原蛋白的来源,而且还可以揭示雄虫体内是否具有进行卵黄发生所必需的激素环境。

## 材料与方 法

**昆虫** 七星瓢虫采自野外自然种群。作为卵巢供体的雌虫是从野外采集蛹,在室内羽化。雄虫(卵巢受体)用温室繁殖的蚜虫饲养在室温下。

**卵巢移植** 在高倍解剖镜下将刚羽化雌虫的卵巢在七星瓢虫生理盐水 (Zhai 等,

本文于 1985 年 6 月收到。

本工作的部分实验是翟启慧在美国进修期间进行的。得到明尼苏达大学生化系 J. W. Bodley 教授及俄勒冈大学生物系 J. H. Postlethwait 教授的热情支持和帮助,特致谢忱。承我所于延芬同志摄印部分照片,谨此致谢。

1984)中解剖出来,并特别仔细地将粘连在卵巢管周围的脂肪体彻底摘除干净。将一侧卵巢或其中数个卵巢管连同少量生理盐水吸入玻璃毛细管针,然后从腹部背面的节间膜注射至雄虫腹腔内。

**卵黄原蛋白合成的测定** 将移植的卵巢或受体雄虫脂肪体在含 $[^{35}\text{S}]$ 甲硫氨酸( $>800\text{Ci}/\text{mmol}$ , New England Nuclear Corp.)的 Grace 培养液[按 Grace (1962)配制,但减去甲硫氨酸]中培养,然后将组织和培养液的样品分别进行免疫沉淀和 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,最后进行荧光显影(Bonner 和 Laskey, 1974)。详细方法请参阅 Zhai 等(1984)及翟启慧、张建中(1984)。

## 实 验 结 果

我们将刚羽化雌虫的一侧卵巢或其中数个卵巢管仔细摘除粘连的脂肪体后,植入雄虫腹腔。经过 10—30 天后解剖观察,看到卵母细胞可以发育并沉积卵黄。正常雌虫在羽化后 15 天左右卵巢完全成熟并开始产卵。与正常卵巢相比,移植的卵巢发育较慢而且不很整齐,然而在移植后第 10 天,一部分卵母细胞中卵黄沉积已很明显,到第 30 天,几乎所有的卵母细胞都沉积了卵黄,其中一部分可发育成熟,但是比正常的成熟卵小些,所沉积的卵黄不够均匀充实(图版 I)。

为了查明卵母细胞中所沉积的卵黄蛋白的来源,我们将上述在雄虫体内发育的卵巢和受体雄虫的脂肪体解剖出来,分别在含有 $[^{35}\text{S}]$ 甲硫氨酸的培养液中进行体外培养。图版 II A 是标记样品的 SDS-电泳图谱的荧光显影照片。可以看到,在雄虫体内发育 30 天的卵巢的培养液中有新合成的卵黄原蛋白多肽,与正常雌虫的脂肪体和卵巢在体外条件下所合成和分泌的卵黄原蛋白具有相同的迁移率。然而,受体雄虫的脂肪体的培养液中不存在卵黄原蛋白多肽,表明受体雄虫的脂肪体并不合成和释放卵黄原蛋白。

我们又将在雄虫中发育的卵巢和受体雄虫的脂肪体在体外培养后,与卵黄蛋白抗体进行免疫沉淀,然后用 SDS-电泳分析和荧光显影。从图版 II B 可以看到,移植的卵巢及其培养液中均有标记的卵黄原蛋白多肽,但在受体雄虫的脂肪体及其培养液中则均不存在。这些结果说明,在雄虫体内发育的卵巢能合成并分泌卵黄原蛋白。与此相反,受体雄虫的脂肪体不能合成卵黄原蛋白。由此看来,植入雄虫的卵巢中所沉积的卵黄蛋白来自卵巢本身的合成,而不是来自雄虫的脂肪体。

既然雄虫体内发育的卵巢在体外条件下不仅合成而且分泌卵黄原蛋白,那么在受体雄虫血淋巴中是否存在这种蛋白呢?为了查明此问题,我们用 SDS-电泳分析了受体雄虫的血淋巴,并与成熟雌虫、正常雄虫和激素处理的雄虫的血淋巴进行了对比。由图版 II C 可以看到,受体雄虫的血淋巴的多肽谱与正常雄虫的和激素处理的雄虫的血淋巴多肽谱并无很大差异,但是与成熟雌虫的有明显不同。唯有在成熟雌虫的血淋巴中存在卵黄原蛋白的 4 个多肽,而正常雄虫、激素处理的雄虫以及受体雄虫的血淋巴中均无卵黄原蛋白。受体雄虫的血淋巴中不存在卵黄原蛋白的原因何在,将在以后进行讨论。

我们也将一部分受体雄虫在植入卵巢后 1—2 天用保幼激素类似物 ZR-512( $100\mu\text{g}/\text{头}$ )处理。虽然激素处理对植入卵巢的发育稍有促进作用,但是并不能诱导受体雄虫脂肪体合成卵黄原蛋白。激素处理后的结果与图版 I、II 所示不处理的结果基本相同,故从略。

总之,雄虫体内植入卵巢后不能改变雄虫脂肪体对保幼激素的不应性。

## 讨 论

卵巢移植实验的一个关键问题是必须将植入雄虫体内的卵巢彻底去净粘附的脂肪体。我们曾将在高倍解剖镜下去净脂肪体的卵巢,用电泳分析或同位素标记等方法进行检查,均未发现脂肪体特有成分的存在,表明脂肪体已被去净。我们除移植一侧卵巢外,也用数个卵巢管进行移植,因为这样更能保证避免脂肪体的污染。

对移植的卵巢在雄虫体内卵黄发生的研究,在各种昆虫中得到的结果很不相同。在大多数昆虫中,植入雄虫体内的卵巢不能发育[参看 Engelmann (1979) 的综述]。在家蚕和鳞翅目其他昆虫中,植入雄虫体内的卵巢能产生成熟的卵,但其中并不存在卵黄蛋白(Yamashita 和 Irie, 1980; Lamy, 1984)。在果蝇中,移植的卵巢在雄虫中能发育成熟,卵内沉积卵黄蛋白,并已证明卵黄蛋白是移植的卵巢本身所合成(Srdic 和 Jacobs-Lorena, 1978; Srdic 等, 1979; Postlethwait 等, 1980)。

我们在七星瓢虫的卵巢移植实验中得到结果与果蝇的基本相同,卵巢植入雄虫体内能沉积卵黄,一部分卵可发育成熟。这一结果不仅证实卵巢本身确有合成卵黄原蛋白的能力,而且也表明雄虫能为卵巢提供适合卵黄发生的环境,说明雄虫体内具有进行卵黄发生所需的激素。然而,七星瓢虫雄虫的脂肪体不合成卵黄原蛋白,即使以高剂量的保幼激素类似物处理也不能诱导其合成。由此可见,在七星瓢虫卵黄发生中,真正的雌雄差异或性二型性表现在激素的靶组织——脂肪体,而不是激素本身。可能在大多数昆虫中皆如此。此外,受体雄虫脂肪体不合成卵黄原蛋白这一事实,表明七星瓢虫与 Kambysellis (1977) 在果蝇中曾推测的情况不同,其卵巢中不存在诱导脂肪体合成卵黄原蛋白的任何因子。

我们曾报道,七星瓢虫的卵巢在体外培养时,所合成的卵黄原蛋白一部分被释放到培养液中(Zhai 等, 1984; 翟启慧等, 1985)。当移植的卵巢从雄虫体内取出在体外培养时,结果也如此。然而,在受体雄虫血淋巴中不存在卵黄原蛋白,是否移植的卵巢在雄虫体内合成卵黄原蛋白后不释放出去呢? Bownes (1980) 在果蝇中得到相同的结果。她认为卵巢在体内合成卵黄原蛋白后确实并不分泌,体外培养的卵巢分泌卵黄原蛋白到培养液完全可能是培养条件所致。Srdic 等(1979)报道他们将两种不同果蝇的不成熟卵巢同时植入第三种果蝇的雄虫中,成熟卵中只有各自独特的供体卵黄蛋白,这意味着在体内卵黄原蛋白并不被释放到受体血淋巴中。但 Postlethwait 等(1980)认为,卵巢在体内合成卵黄原蛋白后,先分泌到血淋巴中,然后再由发育的卵母细胞摄取,正如一些幼虫的脂肪体合成了蛋白质先分泌出去,然后再吸收回来贮存起来。我们认为,假如卵黄原蛋白在卵巢细胞(在七星瓢虫中尚待确定是哪一类细胞)中的合成部位和合成机理与在脂肪体细胞中完全相同的话,那么在正常条件下(在雌虫体内)它应该是被分泌的。考虑到卵黄原蛋白的合成、分泌和摄取均受激素调节,在受体雄虫血淋巴中未能检测到卵黄原蛋白,固然有可能是卵黄原蛋白被分泌后又被全部吸收了,然而也可能是雄性环境中保幼激素的水平只能保证卵巢进行卵黄原蛋白的合成,但不足以使它被分泌出去。同样,在体外培养时,可能是由于培养液中没有保幼激素存在,虽然卵黄原蛋白的合成与分泌暂能继续进

行,但却不能被吸收,因而积累于培养液中。这些分析都还需要证实。

### 参 考 文 献

- 翟启慧、张建中 1984 七星瓢虫的卵黄发生: 体外培养的脂肪体中卵黄原蛋白的合成。昆虫学报 27(4): 361—7。
- 翟启慧等 1985 七星瓢虫的卵黄发生: 脂肪体与卵巢中卵黄原蛋白的合成与分泌。昆虫学报 28(4): 362—8。
- Bonner, W. M. and Laskey, R. A. 1974 A film detection method for tritium-labelled proteins and nucleic acids in polyacrylamide gels. *Eur. J. Biochem.* 46: 83—8.
- Bownes, M. 1980 Ovarian synthesis of yolk proteins in *Drosophila melanogaster*. *Genetika* 12(1): 13—20.
- Bownes, M. 1982 Ovarian yolk protein synthesis in *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.* 28(11): 953—60.
- Brennan, M. D. et al. 1982 The follicle cells are major site of vitellogenin synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.* 89(1): 225—36.
- Engelmann, F. 1979 Insect vitellogenin: Identification, biosynthesis and role in vitellogenesis. *Adv. Insect Physiol.* 14: 49—108.
- Grace, T. D. C. 1962 Establishment of four strains of cells from insect tissue grown *in vitro*. *Nature* 195: 788—9.
- Huybrechts, R. et al. 1983 *In vitro* secretion of yolk polypeptides by fat body and ovaries of *Sarcophaga bullata*. *Annls Soc. r. zool. Belg.* 113 (Suppl. 1) 309—17.
- Kambysellis, M. P. 1977 Genetic and hormonal regulation of vitellogenesis in *Drosophila*. *Amer. Zool.* 17: 535—49.
- Lamy, M. 1984 Vitellogenesis, vitellogenin and vitellin in the male insects: a review. *Int. J. Invert. Reprod. Devel.* 7: 311—21.
- Postlethwait, J. H. et al. 1980 Sexual phenotype and vitellogenin synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.* 79: 379—87.
- Srdic, Z. and Jacobs Lerena, M. 1978 *Drosophila* egg chambers develop to mature eggs when cultured *in vivo*. *Science* 202: 641—43.
- Srdic, Z. et al. 1979 Autonomous yolk protein synthesis in ovaries of *Drosophila* cultured *in vivo*. *Wilhelm Roux's Arch.* 197(3): 255—66.
- Yamashita, O. and Irie, K. 1980 Larval hatching from vitellogenin deficient eggs developed in male hosts of the silkworm. *Nature* 283: 385—6.
- Zhai, Qi-Hui, et al. 1984 Vitellogenin synthesis in the lady beetle *Coccinella septempunctata*. *Insect Biochem.* 14 (3): 299—305.

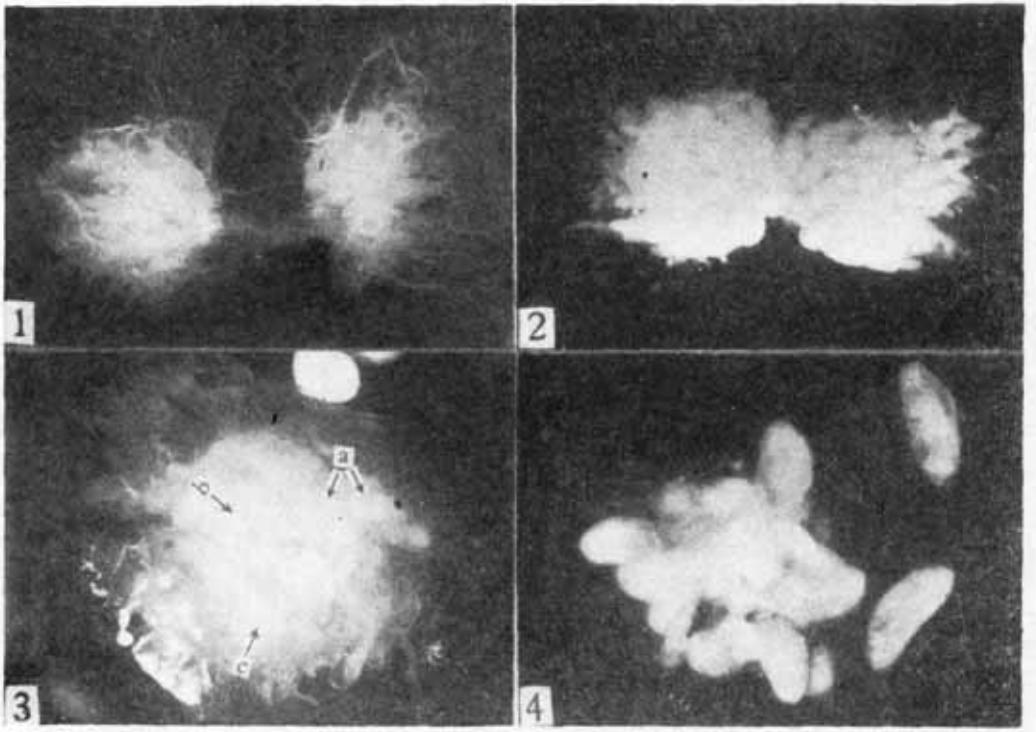
## ON THE VITELLOGENESIS OF *COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA*: SYNTHESIS OF VITELLOGENIN BY OVARIES IMPLANTED IN MALES

ZHAI QI-HUI    ZHANG JIAN-ZHONG  
(Institute of Zoology, Academia Sinica)

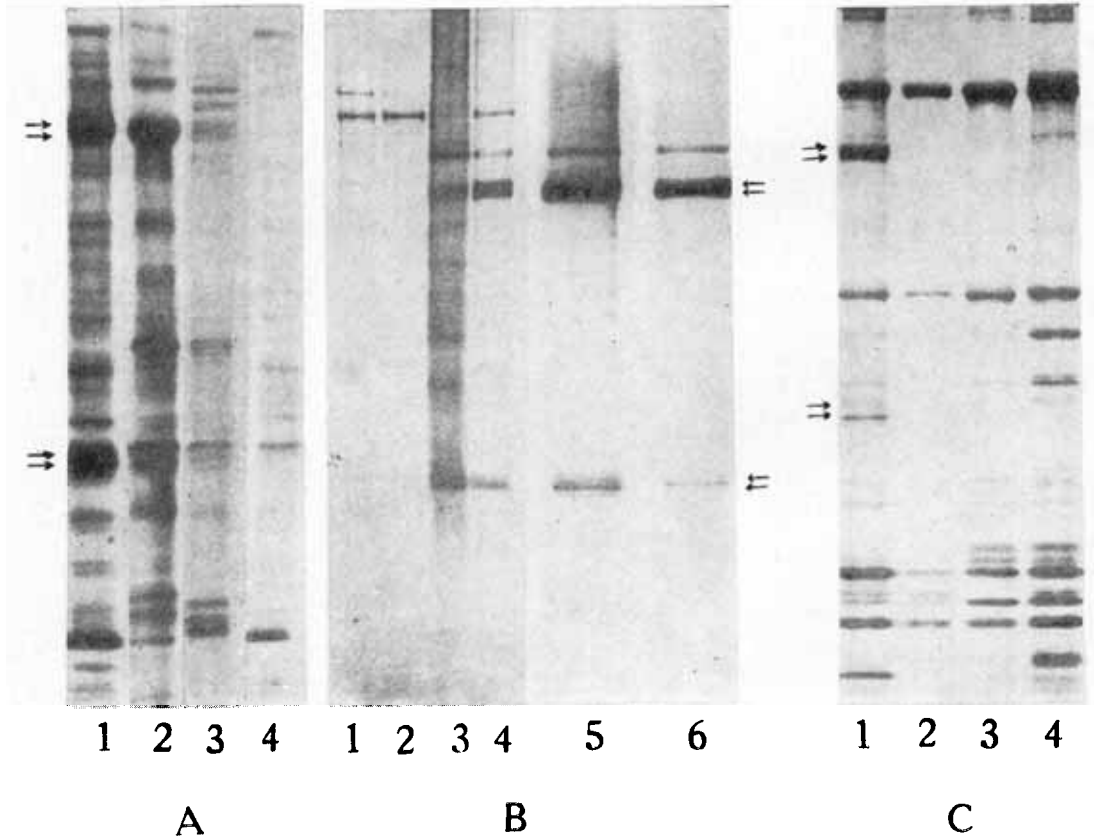
To test whether the yolk protein precursor (vitellogenin) can be synthesized by ovaries of the lady beetle *Coccinella septempunctata* and whether males differ from females in hormones responsible for vitellogenesis, we transplanted ovaries or ovarioles from newly emerged females into males, which normally do not produce this protein. During 30 days of *in vivo* incubation, the oocytes developed and accumulated yolk. A small number of oocytes developed to mature eggs. *In vitro* organ culture experiments demonstrated vitellogenin synthesis in the implanted ovaries, but not in the male host fat bodies, and no vitellogenin was detected in the hemolymph of the male hosts. Treating male hosts with juvenile hormone analogue ZR-512

stimulated the development of the implanted ovaries, but did not induce vitellogenin synthesis in the fat bodies of the male hosts. Therefore the yolk protein deposited in the transplanted ovaries came from the ovary tissue itself rather than from the fat body of the male hosts. The results showed that in the vitellogenesis of the lady beetle, as in most other insects, a sexual dimorphism does exist in the adult fat body—the target tissue of juvenile hormone.

**Key words** *Coccinella septempunctata*——vitellogenesis —— vitellogenin synthesis——  
transplanted ovary——male host fat body



1. 移植时的刚羽化雌虫的卵巢, 一侧卵巢长度约 1.5mm。
2. 在雌虫中成熟的正常卵巢, 一侧卵巢长度约 4mm。
3. 在雄虫腹部内的移植卵巢: a. 发育的卵, b. 雄虫附腺, c. 雄虫脂肪体。
4. 在雄虫体内发育 30 天的卵, 约 0.5mm 长, 为正常成熟卵的 1/2。



A. 体外培养液的 SDS-电泳谱的荧光显影图。

1. 成熟雌虫脂肪体, 2. 成熟雌虫卵巢, 3. 在雄虫中发育的移植卵巢, 4. 受体雄虫脂肪体。

B. 免疫沉淀的 SDS-电泳谱的荧光显影图。

1--2. 受体雄虫脂肪体及其培养液, 3--4. 移植卵巢及其培养液, 5. 成熟雌虫脂肪体的培养液, 6. 成熟雌虫卵巢的培养液。

C. 血淋巴的 SDS-电泳谱

1. 成熟雌虫, 2. 雄虫, 3. 保幼激素类似物处理的雄虫, 4. 受体雄虫。

(箭头表示卵黄原蛋白的 4 个亚单位)