

# 昆虫变态的激素与基因调控\*

周树堂 郭伟 宋佳晟

(中国科学院动物研究所 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100101)



周树堂博士,研究员,博士生导师。中国科学院动物研究所农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室研究员,昆虫发育与生殖基因调控领域学术带头人。先后在河南农业大学和加拿大皇后大学获得学士和博士学位,2003-2004年在加拿大皇后大学从事博士后研究,2005年后在美国杜克大学先后任助理研究员和助理教授,2009年入选中国科学院“百人计划”。

目前主持和参加国家自然科学基金、“973”课题等项目。主要从事发育生物学方面的研究,包括昆虫发育、变态和生殖过程中激素与基因的调控机制和信号传导,基因进化等。首次发现了昆虫 *trachealess* 的同源功能基因,初步揭示了保幼激素在飞蝗生殖发育中分子调控机制。在 *PNAS*、*Insect Biochemistry and Molecular Biology* 等期刊上发表论文 20 余篇,授权国际专利 1 项。

**摘要** 昆虫变态是一个有趣而复杂的生物学现象,有不完全变态和完全变态。昆虫通过变态获得飞翔与生殖能力,扩大了生活范围,增强了适应能力。昆虫变态主要由咽侧体分泌的保幼激素和前胸腺分泌的蜕皮激素协同调控,众多基因参与。本文综合近几年的研究进展,重点介绍昆虫变态过程中保幼激素与蜕皮激素通过级联反应基因和 *microRNA* 调控的机制,以及保幼激素和蜕皮激素的合成调节机制。

**关键词** 昆虫变态 保幼激素 蜕皮激素 基因 *microRNA* 调控机制

中国图书分类号:Q963 文献标识码:A

昆虫有 100 多万种,约占动物种类的 3/4,具有种类多、数量大、分布广、生长发育快、繁殖量大、蜕皮变态等特点。昆虫变态(metamorphosis)是指昆虫胚后发育过程中从幼虫到成虫所经过的形态和生理上的激烈变化,包括幼虫特有组织或器官的分解和成虫器官的快速形成。昆虫通过变态获得飞翔和生殖能力,从而使昆虫扩大了生活范围,增强了适应能力。昆虫变态可概括为不完全变态和完全变态(或全变态),不完全变态主要有 4 种类型,即增节变态、表变态、原变态、不全变态和全变态。增节变态是昆虫中最原始的变态类型,仅见于低等无翅的原尾目昆虫中,主要特点是幼虫(或幼体)发育至成虫时只是腹部节数的逐渐增加。表变态见于无翅的石蛎目和衣鱼目昆虫,主要特点是初孵幼虫(或幼体)已基本具备成虫的特征,仅是成虫个体增大,性器官成熟等,而且成虫

仍能继续蜕皮。原变态是有翅昆虫中最原始的变态类型,仅见于蜉蝣目昆虫中,其主要特点是从幼虫(称为稚虫)发育为真正的成虫,经过一个短暂的与成虫相似但体色浅、足较短、多呈静止状态的亚成虫期。

不全变态昆虫的胚后发育经历幼虫和成虫 2 个阶段,成虫与若虫的形态和生活习性相似,幼虫蜕皮发育至具有成熟翅和性器官的成虫不经过蛹期。不全变态又进一步分为渐变态、半变态和过渐变态。渐变态昆虫的主要特点是幼虫(称为若虫)与成虫在体形和习性等方面非常相似,如蝗虫、蜻象、螳螂、蟑螂、蚜虫、蝉等。半变态昆虫主要有蜻蜓和石蝇,其幼虫(常称为稚虫)水生,而成虫陆生,二者在体形、取食器官、呼吸器官和运动器官等方面有明显的分化。过渐变态昆虫则包括蓟马、粉虱和雄性介壳虫等,其主要特点是在若虫与成

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(31172149)和中国科学院“百人计划”择优支持项目

虫间存在一个不食不动的伪蛹阶段,被认为是昆虫从不全变态进化为全变态的一个过渡。全变态昆虫的胚后发育经历幼虫、蛹和成虫3个形态与生活习性明显不同的虫态。蛹是全变态昆虫从幼虫发育为具有飞翔与交配能力的成虫的过渡虫态,幼虫组织器官的分解和成虫组织器官的重建均在蛹期内完成。昆虫中85%以上是全变态,包括蛾、蝶、甲虫、蜂、蚊、蝇、草蛉等。全变态昆虫中的茛蒿,其幼虫不同龄期间因生活方式的变化和体形方面的明显差异,比其他全变态昆虫的发育过程更为复杂,被称为复变态。

昆虫变态是一个复杂的生物学过程。早期的研究证明,昆虫变态主要是由保幼激素(juvenile hormone)和蜕皮激素(ecdysone或20-hydroxyecdysone)协同调控的<sup>[1,2]</sup>,蜕皮激素诱导昆虫的蜕皮和变态,而保幼激素阻止由蜕皮激素引起的变态,使幼虫蜕皮后仍然维持幼虫形态。如图1所示,在幼虫最后一次蜕皮前,保幼激素滴度显著降低或缺失,导致全变态昆虫化蛹或者不全变态昆虫羽化为成虫<sup>[3]</sup>。随着现代生物学的发展,关于昆虫变态的分子机制一直受到国内外昆虫学者的广泛关注,是昆虫学领域的一个研究重点和前沿。研究表明,昆虫变态是激素、基因等共同调控的结果。本文就保幼激素与蜕皮激素在基因水平上调控昆虫变态的分子机制,2种激素的合成,microRNA在昆虫变态中的作用等进行综述。

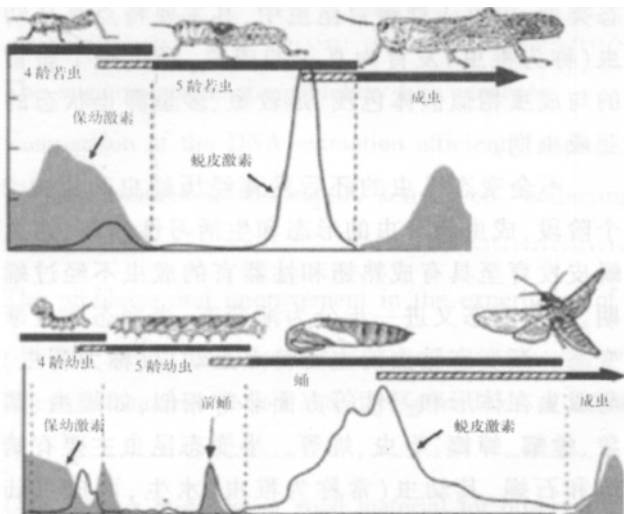


图1 保幼激素与蜕皮激素在昆虫变态前后的滴度

(引自参考文献<sup>[1]</sup>,并稍作改动。)上图为蝗虫,代表不全变态昆虫;下图为烟草天蛾,代表全变态昆虫。在幼虫(或若虫)最后一次蜕皮前,蜕皮激素的梯度显著升高,而保幼激素滴度显著降低或缺失,导致全变态昆虫化蛹或者不全变态昆虫羽化为成虫。

## 1 保幼激素与蜕皮激素调控昆虫变态的分子机制

### 1.1 保幼激素与蜕皮激素的细胞核受体

保幼激素是倍半萜类化合物,蜕皮激素则属于类固醇(甾体)。如同脊椎动物中的类固醇激素和甲状腺激素通过它们的核受体在细胞核内直接作用于基因的表达,保幼激素和蜕皮激素也被认为是通过其细胞核的受体与应答基因上游的激素反应元件结合,进而调控靶标基因的表达。因此,鉴定保幼激素和蜕皮激素的细胞核受体及其功能是研究昆虫变态的分子机制的重点之一。蜕皮激素的受体,即EcR或EcR-USP的二聚体于上世纪90年代首先在果蝇中得到鉴定,后来在其他昆虫中也陆续得到描述<sup>[4,5]</sup>。相对而言,保幼激素受体的研究进展则相对缓慢,直到最近的几年才有突破。根据目前的研究结果,Met最有可能是保幼激素的一个受体,Met与NcoA(又称为SRC/p160,FISC或者Taiman)的二聚体可能是保幼激素的功能受体<sup>[6-8]</sup>。在保幼激素缺失的情况下,Met与Met形成同源二聚体,在保幼激素达到一定滴度后,保幼激素与Met结合,引起Met构象的变化,促使Met同源二聚体分离,而与NcoA结合形成Met-NcoA异源二聚体,然后与其靶标基因启动子区域的保幼激素反应元件结合,诱导靶标基因的表达<sup>[7,8]</sup>。与其他昆虫不同,高等的果蝇有1个Met的旁系同源基因gce,Met和gce 2个基因编码的蛋白在碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix)和PAS结构域内一致的氨基酸有60%以上。Met与Gce在保幼激素缺失的情况下也能形成二聚体,只有Met和Gce 2个基因的双突变体果蝇在化蛹时才有致死性,表明Met和Gce具有部分的功能重叠性,在果蝇中都能起保幼激素受体的功能,可能是高等昆虫进化过程中的一种自我保护<sup>[8,9]</sup>。

### 1.2 保幼激素与蜕皮激素的级联反应基因

利用果蝇、赤拟谷盗、烟草天蛾、家蚕等全变态昆虫作为研究对象,研究结果表明,蜕皮激素是通过它的核受体(EcR-USP二聚体)及早期反应基因如E75、E74、E78、HR3、HR4、HR78、Ftz-F1、broad等发挥调控作用而启动昆虫的变态<sup>[10,11]</sup>,保幼激素则通过其受体(Met-NcoA二聚体;果蝇中还包括Gce-NcoA二聚体)及其早期反应基因Kr-h1发挥阻止变态或“维持原状”的作用<sup>[12-14]</sup>。其中,broad

和 *Kr-h1* 分别是蜕皮激素和保幼激素信号通路中调控全变态昆虫变态的 2 个关键基因。*broad* 基因编码的蛋白有多个同型异构体, 这些同型异构体有各自的时空表达模式, 上调 *rpr*、*hid*、*dronc*、*drice* 等细胞凋亡因子, 被认为是启动昆虫变态的一个关键转录因子<sup>[15]</sup>。例如, 在果蝇蜕皮和变态过程中, 蜕皮激素诱导 *broad* 基因的表达, 当保幼激素处于较高滴度时, 保幼激素通过它的受体 Met 或 Gce 上调 *Kr-h1* 基因的表达而抑制 *broad* 基因的转录, 从而使果蝇蜕皮后仍然维持幼虫状态。但在果蝇的末龄幼虫后期, 保幼激素的滴度显著降低, *broad* 基因的表达不受抑制, 从而引起果蝇化蛹<sup>[9,15]</sup>。果蝇幼虫的 *broad* 基因突变体(即 *broad* 基因不表达的个体)不能正常化蛹, 其成虫器官包括腿、翅、复眼等的发育都受到严重干扰, 幼虫特有的唾液腺和中肠的程序性细胞死亡受到阻碍<sup>[16,17]</sup>。同样, 对家蚕的 *broad* 进行基因沉默(即 RNA 干扰), 也导致幼虫不能正常化蛹, 出现成虫复眼、翅的发育缺陷和幼虫丝腺非正常的程序性细胞死亡<sup>[18]</sup>。在烟草天蛾幼虫蜕皮时, 保幼激素也通过 Met 和 *Kr-h1* 抑制 *broad* 基因的表达, 使幼虫蜕皮后仍维持幼虫状态。在烟草天蛾的末龄幼虫化蛹前, 保幼激素缺失, *broad* 则因蜕皮激素诱导而高表达, 从而激活蛹的特异表达基因, 导致幼虫变态; 此时利用外源的保幼激素处理能够抑制 *broad* 基因的表达, 从而阻止幼虫化蛹<sup>[16,17]</sup>。在赤拟谷盗中, 保幼激素也通过 Met 调节 *Kr-h1* 的转录, 进而影响 *broad* 基因的表达。*broad* 基因也是在赤拟谷盗倒数第 2 龄幼虫期很低量的表达, 在未龄幼虫化蛹前达到峰值。在赤拟谷盗的倒数第 2 龄幼虫期, 用外源保幼激素处理能够上调 *Kr-h1* 基因的表达, 同时下调 *broad* 基因的表达, 造成超龄幼虫; 而此时阻断保幼激素的合成, 或者对 *Kr-h1* 进行基因沉默则导致早熟蛹的出现。在赤拟谷盗的末龄幼虫中, 对 *broad* 进行基因沉默则阻止赤拟谷盗的正常化蛹, 形成同时具有幼虫和成虫特征的个体<sup>[12,19]</sup>。概括来讲, 蜕皮激素通过其受体 EcR/USP 诱导 *broad* 等前期反应基因的表达, 而保幼激素则通过它的受体 Met/Ncoa 及早期反应基因 *Kr-h1* 抑制 *broad* 的表达。全变态昆虫变态时, 保幼激素滴度显著降低或缺失, 导致蜕皮激素诱导的 *broad* 基因大量表达, 从而引起昆虫变态(图 2)。



图 2 全变态昆虫变态的分子机制

蜕皮激素通过其受体 EcR/USP 诱导 *broad* 等前期反应基因的表达, 而保幼激素则通过它的受体 Met/Ncoa 及早期反应基因 *Kr-h1* 抑制 *broad* 的表达。当全变态昆虫变态时, 保幼激素滴度显著降低或缺失, 蜕皮激素诱导的 *broad* 基因高表达, 从而引起昆虫变态

与在全变态昆虫中仅表达于变态期不同, *broad* 基因在全变态的始红蜡各若虫期都一直表达, 而且没有显著的变化, 而 *Kr-h1* 基因在始红蜡末龄若虫期的转录水平则非常低<sup>[20]</sup>。在始红蜡倒数第 2 龄若虫期, 对 *Kr-h1* 或者 *Met* 基因进行 RNA 干扰能导致成虫翅和性器官的提前出现, 造成早熟成虫。但是, 在始红蜡倒数第 2 龄若虫期对 *broad* 进行 RNA 干扰并不能导致早熟成虫。在始红蜡的末龄若虫期, 使用外源保幼激素处理能够诱导 *Kr-h1* 的表达而形成超龄若虫。如果在外源保幼激素处理之前先对 *Kr-h1* 基因进行 RNA 干扰, 末龄若虫则可以比较正常地羽化为成虫<sup>[20]</sup>。与始红蜡相似, 德国小蠊(蟑螂)的末龄若虫中的 *Kr-h1* 的表达水平也非常低, 倒数第 2 龄或倒数第 3 龄若虫中进行 *Kr-h1* 的 RNA 干扰都能造成早熟成虫<sup>[21,22]</sup>。

如前所述, 始红蜡和德国小蠊在全变态昆虫中属于渐变态, 而蓟马因为有伪蛹而称为过渐变态。在西花蓟马中, *broad* 基因在胚胎中高表达, 这与始红蜡和德国小蠊胚胎期的表达模式相似。但是, 蓟马胚后发育中 *broad* 的表达模式则像全变态昆虫, 即 *broad* 的表达在化蛹(伪蛹)时出现高峰。西花蓟马中 *Kr-h1* 基因的表达水平在胚胎期非常高, 幼虫和前伪蛹期低, 伪蛹期超低, 也与全变态昆虫中 *Kr-h1* 的表达模式近似。遗憾的是, 因为在蓟马中缺乏有效的 RNA 干扰技术, 目前尚不能确定 *Kr-h1* 和 *broad* 基因在蓟马变态中的功能和表型<sup>[23]</sup>。



1.3 保幼激素与蜕皮激素的互作 保幼激素和蜕皮激素可以通过各自的受体和信号通路发挥作用,它们也能通过转录因子或激活因子 Ncoa、USP、FTZ-F1、E75 等互作。例如,共激活因子 Ncoa 与 Met 或 Gce 结合形成的异源二聚体是保幼激素的功能受体,同时 Ncoa 也与蜕皮激素的受体 EcR/USP 结合构成蜕皮激素功能受体的复合体。在赤拟谷盗和蚊子中,Ncoa 基因沉默既干扰保幼激素诱导的 *Kr-h1* 等基因的转录,也干扰蜕皮激素诱导的 *HR3*、*E75* 和 *broad* 基因的表达<sup>[7,24]</sup>。因此,Ncoa 如同保幼激素和蜕皮激素的一个桥梁。同样,USP 既与 EcR 形成蜕皮激素的功能受体,也在保幼激素信号通路中也发挥作用。例如,在蜜蜂脂肪体中,保幼激素上调 USP 基因的转录水平,并调控 85 个与蜜蜂行为关联的 USP 反应基因中的 42 个。保幼激素处理可以恢复 USP 基因沉默所抑制的 33 个基因,显示 USP 可能与 Met、EcR 及其他因子一起构成一个复杂的调控复合体<sup>[25]</sup>。

综上所述,在昆虫变态发育过程中,蜕皮激素诱导昆虫的蜕皮和变态,而保幼激素决定昆虫蜕皮的性质。在全变态昆虫的变态过程中,保幼激素通过 *Kr-h1* 基因负向调控蜕皮激素诱导的 *broad* 基因的表达,全变态昆虫的末龄幼虫中 *Kr-h1* 的表达缺失和 *broad* 的高表达是全变态昆虫化蛹的必要条件。全变态昆虫的蛹期和不全变态昆虫的末龄若虫期,因保幼激素滴度降低或缺失而引起的 *Kr-h1* 表达缺失是成虫羽化的必要条件。

## 2 保幼激素与蜕皮激素的合成及调节机制

既然保幼激素和蜕皮激素在昆虫发育、变态与生殖过程中发挥着重要作用,而且它们的滴度在不同发育阶段和组织中都有特异性,那么它们的合成也必然受到精确的调节。保幼激素是在昆虫脑后的咽侧体中合成,释放到血淋巴,然后通过它的结合蛋白运输到靶组织中。保幼激素是昆虫通过甲羟戊酸途径合成的一种倍半萜烯激素,由变构的直链类环氧甲基酯组成,神经肽促咽侧体素 (allatotropins) 和抑咽侧体素 (allatostatins) 分别促进和抑制咽侧体中保幼激素的合成<sup>[26,27]</sup>。保幼激素的合成途径及一些重要的合成酶已经大致了解,但其中的分子调节机制则仍然不很清楚。目前已报道了 6 种天然的保幼激素,包括保幼激素 0、

、 、 B3 和甲基法尼酯。保幼激素 0 有 3 个乙基,保幼激素 是 2 个乙基 1 个甲基,保幼激素 是 1 个甲基 2 个乙基,保幼激素 是 3 个甲基,保幼激素 B3 是双环氧的保幼激素,而甲基法尼酯则是去环氧的保幼激素。多数种类的昆虫只有保幼激素,鳞翅目昆虫还合成保幼激素 0、 和,一些双翅目昆虫如果蝇有保幼激素 B3,蟑螂等个别昆虫中甲基法尼酯也可能发挥作用<sup>[28]</sup>。保幼激素合成途径的前期步骤是从乙酰辅酶 A 到法尼焦磷酸,然后从具有保幼激素碳骨架的法尼焦磷酸开始,经过一系列步骤合成法尼酸 (FA),进而进行甲基化和环氧化,成为保幼激素。在一些昆虫中,法尼酸甲基转移酶 (FAMEt) 转移甲基到法尼酸,生成甲基法尼酯,然后由甲基法尼酯环氧酶如 CYP15A1,进行环氧化形成保幼激素。在鳞翅目昆虫中,法尼酸也可以先由法尼酸环氧酶如 CYP15C1,进行环氧化生成保幼激素酸,然后经过保幼激素酸甲基转移酶 (JHAMT) 转移甲基到保幼激素酸而形成保幼激素。事实上,保幼激素酸甲基转移酶既可以甲基化法尼酸,也可以甲基化法尼酯酸,分别转化为甲基法尼酯和保幼激素。目前,对保幼激素合成途径中的酶基因研究还局限于最后步骤中的 JHAMT 与环氧酶基因 CYP15A1 和 CYP15C1,它们的时空表达模式和基因沉默结果表明,这些基因在昆虫变态中都起关键的作用<sup>[29-32]</sup>。例如,在果蝇和家蚕的幼虫中对 JHAMT 进行 RNA 干扰能造成早熟蛹,CYP15C1 表达缺失的家蚕突变体也严重影响家蚕的变态。

目前对蜕皮激素的合成途径及合成酶也有了大致的了解,但对蜕皮激素合成的分子调节机制的了解也仍然有限。在昆虫蜕皮和变态过程中,蜕皮激素的前期合成途径是在前胸腺中由神经肽促前胸腺激素通过受体酪氨酸激酶 Torso 和 ERK 信号通路来调节的,Torso 和 ERK 能直接影响昆虫的变态<sup>[33]</sup>。蜕皮激素的后期合成包括从 7-脱氢胆固醇 (7-dehydrocholesterol) 转化为 3-去氢蜕皮松 (3-dehydroecdysone),然后通过还原酶和细胞色素 P450 氧化酶转化为蜕皮激素 (ecdysone) 或更具活性的 20-羟基蜕皮激素 (20-hydroxyecdysone)<sup>[34]</sup>。研究发现,Halloween 基因家族的 4 个细胞色素 P450 氧化酶基因,包括 Phantom (*phm*), *disem-*

*bodied (dib)*、*shadow (sad)*、和 *shade (shd)*，调节从类固醇的前体到蜕皮激素或 20-羟基蜕皮激素的羟基化。*Phm*、*dib* 和 *sad* 基因调节蜕皮激素合成途径中的羟基化，它们在前胸腺中的表达水平与血淋巴中蜕皮激素的滴度密切正相关。*Shd* 基因编码 1 个 20-羟基化酶，把蜕皮激素 ecdysone 转化为更具活性的 20-羟基蜕皮激素，它在前胸腺的外围组织的表达水平与 20-羟基蜕皮激素在中肠、脂肪体等靶组织中的滴度呈密切的正相关<sup>[35]</sup>。

### 3 microRNA 在昆虫变态中的作用

microRNA (miRNA) 是约有 22 个核苷酸的非编码 RNA，在动物发育与生殖过程中起重要的作用，但目前对 miRNA 调节昆虫变态的报道还不多。Sempere 等报道了 7 个参与果蝇变态的 miRNA，发现 miR-100、miR-125 和 let-7 受蜕皮激素和 *broad* 基因的上调，而 miR-34 受蜕皮激素和 *broad* 基因的负调控<sup>[36]</sup>。因为 miR-100、miR-125 和 let-7 集群于果蝇染色体 2 L 上 800 bp 的区域内，它们有可能是共享顺式调控区，被协同调控。Let-7、miR-100 和 miR-125 缺失表达的果蝇突变体在变态时翅发育有缺陷，而且成虫的神经肌肉也具有典型的幼虫特征及发育缺陷。Let-7 通过其靶标基因 *abrupt* 发挥作用，是果蝇变态过程中神经肌肉重塑所必需的<sup>[37,38]</sup>。有文献报道，miR-14 可以作用于 EcR 而影响果蝇的变态<sup>[39]</sup>。在 miRNA 的合成途径中，核糖核酸酶 Dicer-1 把 miRNA 前体切割为功能性的 miRNA。在德国小蠨中对编码 Dicer-1 的基因进行 RNA 干扰，能抑制德国小蠨从未龄幼虫羽化为成虫，说明 miRNA 在全变态昆虫的变态中也发挥重要作用，但目前尚不清楚是哪些 miRNA 参与调节德国小蠨的变态<sup>[40]</sup>。

### 4 小结与展望

围绕昆虫变态的研究已经有了许多年的积累，形成了保幼激素和蜕皮激素调控昆虫变态的基本框架，鉴定了影响昆虫变态的一些重要基因，在一定程度上初步揭示了昆虫变态的内分泌调节机制，但是对昆虫变态的分子机制并不是十分清楚。例如在昆虫变态发育过程中，保幼激素和蜕皮激素的滴度是如何受到精确调节的？还有哪些重要基因或 miRNA 参与调控昆虫的变态程序？激素的受体、应答激素信号的转录因子和 miRNA 是如

何直接调控靶标基因的表达的？早期反应基因如何与后期反应基因形成紧密的级联反应？激素、miRNA 和相关的基因是如何形成一个调控网络的？昆虫变态进化的遗传基础和分子机制是什么？随着分子生物学、功能基因组学、蛋白质组学等学科的发展，将会在遗传、分子或基因水平上更加系统、全面地回答昆虫为什么变态和如何变态。

### 主要参考文献

- 1 Truman J.W., Riddiford L.M.. The origins of insect metamorphosis. *Nature*.1999, 401:447—452.
- 2 Dubrovsky E. B.. Hormonal cross-talk in insect development. *Trends Endocrinol Metab*.2005, 16:6—11.
- 3 Riddiford L. M.. Cellular and molecular actions of juvenile hormone. I. General considerations and premetamorphic actions. *Adv Insect Physiol*.1994, 24:213—274.
- 4 Koelle M.R., Talbot W.S., Segraves W.A. *et al*. The *Drosophila* EcR gene encodes an ecdysone receptor, a new member of the steroid receptor superfamily *Cell*.1991, 67:59—77
- 5 Yao T.P., Forman B.M., Jiang Z. *et al*. Functional ecdysone receptor is the product of EcR and ultraspiracle genes *Nature*. 1993, 366:476—479.
- 6 Miura K., Oda M., Makita S. *et al*. Characterization of the *Drosophila* Methoprene-tolerant gene product: juvenile hormone binding and ligand-dependent gene regulation. *FEBS J*. 2005, 272:1169—1178.
- 7 Li M., Mead E. A., Zhu J.. Heterodimer of two bHLH-PAS proteins mediates juvenile hormone-induced gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*.2011, 108:638—643.
- 8 Charles J. P., Iwema T., Epa V. C. *et al*. Ligand-binding properties of a juvenile hormone receptor, Methoprene-tolerant. *Proc Natl Acad Sci USA*.2011, 108:21128—33.
- 9 Abdou M. A., He Q., Wen D. *et al*. *Drosophila* Met and Gce are partially redundant in transducing juvenile hormone action. *Insect Biochem Mol Biol*.2011, 41:938—945.
- 10 Riddiford L. M., Hiruma K., Zhou X. *et al*. Insights into the molecular basis of the hormonal control of molting and metamorphosis from *Manduca sexta* and *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochem Mol Bi*.2003, 33:1327—1338.
- 11 Spindler K., Hönl C., Tremmel C. *et al*. Ecdysteroid hormone action. *Cell Mol Life Sc*.2009, 66:3837—3850.
- 12 Konopova B., Jindra M.. Broad-Complex acts downstream of Met in juvenile hormone signaling to coordinate primitive holometabolism metamorphosis *Development*.2008, 135:559—568.
- 13 Minakuchi C., Namiki T., Shinoda T.. Krüppel homolog 1, an early juvenile hormone-response gene downstream of Methoprene-tolerant, mediates its anti-metamorphic action in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Dev Biol*. 2009,

- 325:341—350.
- 14 Konopova B., Smykal V., Jindra M.. Common and distinct roles of juvenile hormone signaling genes in metamorphosis of holometabolous and hemimetabolous insects. *PLoS ONE*. 2011, 6:e28728.
  - 15 Zhou X., Riddiford L. M.. Broad specifies pupal development and mediates the 'status quo' action of juvenile hormone on the pupal-adult transformation in *Drosophila* and *Manduca* Development. 2002, 129:2259—2269.
  - 16 Riddiford L. M., Hiruma K., Zhou X. *et al.* Insights into the molecular basis of the hormonal control of molting and metamorphosis from *Manduca sexta* and *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochem Mol Bi.* 2003, 33:1327—1338.
  - 17 Bayer C., Zhou X., Zhou B. *et al.* Evolution of the *Drosophila* broad locus: the *Manduca sexta* broad Z4 isoform has biological activity in *Drosophila*. *Dev Genes Evol.* 2003, 213: 471—476.
  - 18 Uhlirva M., Foy B. D., Beaty B. J. *et al.* Use of Sindbis virus-mediated RNA interference to demonstrate a conserved role of Broad-Complex in insect metamorphosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003, 100:15607—15612.
  - 19 Minakuchi C., Zhou X., Riddiford L.M.. Krüppel homolog 1 (Kr-h1) mediates juvenile hormone action during metamorphosis of *Drosophila melanogaster*. *Mech Dev.* 2008, 125:91—105.
  - 20 Konopova B., Smykal V., Jindra M.. Common and distinct roles of juvenile hormone signaling genes in metamorphosis of holometabolous and hemimetabolous Insects. *PLoS ONE.* 2011, 6:e28728.
  - 21 Belles X.. Origin and evolution of insect metamorphosis. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd. doi: 2011, 10. 1002/9780470015902.a0022854.
  - 22 Lozano J., Belles X.. Conserved repressive function of Krüppel homolog 1 on insect metamorphosis in hemimetabolous and holometabolous species. *Sci Rep.* 2011, 1:163
  - 23 Minakuchi C., Tanaka M., Miura K. *et al.* Developmental profile and hormonal regulation of the transcription factors broad and Krüppel homolog 1 in hemimetabolous thrips. *Insect Biochem Mol Biol.* 2011, 41:125—134.
  - 24 Zhang Z., Xu J., Sheng Z. *et al.* Steroid receptor co-activator is required for juvenile hormone signal transduction through a bHLH-PAS transcription factor, Methoprene tolerant. *J Biol Chem.* 2011, 286:8437—8447.
  - 25 Ament S.A., Wang Y., Chen C.C. *et al.* The transcription factor ultraspiracle influences honey bee social behavior and behavior-related gene expression. *PLoS Genet.* 2012, 8(3):e1002596
  - 26 Bellés X., Martín D., Piulachs M. D.. The mevalonate pathway and the synthesis of juvenile hormone in insects. *Annu Rev Entomol.* 2005, 50:181—99.
  - 27 Hui J. H., Hayward A., Bendena W. G. *et al.* Evolution and functional divergence of enzymes involved in sesquiterpenoid hormone biosynthesis in crustaceans and insects. *Peptides.* 2010, 31:451—455.
  - 28 Harshman L.G., Song K., Casas J. *et al.* Bioassays of compounds with potential juvenoid activity on *Drosophila melanogaster*: Juvenile hormone III, bisepoxide juvenile hormone III and methyl farnesoates. *J Insect Physiol.* 2010, 56:1465—1470.
  - 29 Shinoda T., Itoyama. Juvenile hormone acid methyltransferase: a key regulatory enzyme for insect metamorphosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003, 100: 11986—11991.
  - 30 Minakuchi C., Namiki T., Yoshiyama M. *et al.* RNAi-mediated knockdown of juvenile hormone acid O-methyltransferase gene causes precocious metamorphosis in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *FEBS J.* 2008, 275:2919—2931.
  - 31 Niwa R., Niimi T., Honda N. *et al.* Juvenile hormone acid O-methyltransferase in *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochem Mol Biol.* 2008, 38:714—720.
  - 32 Marchal E., Zhang J., Badisco L. *et al.* Final steps in juvenile hormone biosynthesis in the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Insect Biochem Mol Biol.* 2011, 41:219—227.
  - 33 Rewitz K. F., Yamanaka N., Gilbert L. I. *et al.* The insect neuropeptide PTTH activates receptor tyrosine kinase torso to initiate metamorphosis. *Science.* 2009, 326:1403—1405.
  - 34 Gilbert L.I., Rybczynski R., Warren J.T.. Control and biochemical nature of the ecdysteroidogenic pathway. *Annu Rev Entomol.* 2002, 47:883—916.
  - 35 Marchal E., Vandersmissen H. P., Badisco L. *et al.* Control of ecdysteroidogenesis in prothoracic glands of insects: a review. *Peptides.* 2010, 31:506—519.
  - 36 Sempere L. F., Sokol N.S., Dubrovsky E. B. *et al.* Temporal regulation of microRNA expression in *Drosophila melanogaster* mediated by hormonal signals and broad-Complex gene activity. *Dev Biol.* 2003, 259:9—18.
  - 37 Sokol N. S., Xu P., Jan Y.N. *et al.* *Drosophila* let-7 microRNA is required for remodeling of the neuromusculature during metamorphosis. *Genes Dev.* 2008, 22:1591—1596.
  - 38 Caygill E.E., Johnston L.A.. Temporal regulation of metamorphic processes in *Drosophila* by the let-7 and miR-125 heterochronic microRNAs. *Curr Biol.* 2008, 18:943—950.
  - 39 Varghese J., Cohen S.M.. microRNA miR-14 acts to modulate a positive autoregulatory loop controlling steroid hormone signaling in *Drosophila*. *Genes Dev.* 2007, 21:2277—2282.
  - 40 Gomez-Orte E., Belles X.. MicroRNA-dependent metamorphosis in hemimetabolous insects. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009, 106:21678—21682.

(E-mail: szhou@ioz.ac.cn)