2010, 36(3): 0413 - 0420 ISSN 0257 - 4799; CN 32 - 1115/S E-mail: CYKE@ chinajournal. net. cn

### 二化性家蚕卵低温和常温催青的胚胎期蛋白质表达差异分析

章 扬<sup>1</sup> 裘智勇<sup>12</sup> 赵巧玲<sup>12</sup> 唐顺明<sup>12</sup> 汪生鹏<sup>12</sup> 宋海韬<sup>1</sup> 沈兴家<sup>12</sup>

(1江苏科技大学 江苏镇江 212003; 2中国农业科学院蚕业研究所 农业部蚕桑遗传改良重点开放实验室 江苏镇江 212018)

摘 要 家蚕二化性品种的滞育性受上代胚胎期环境条件调控 查找家蚕胚胎期滞育关联蛋白,可为最终阐明家蚕滞育的分子机制提供实验依据。以家蚕二化性品种秋丰的蚕卵为材料,分别在  $25\,^{\circ}$ C 常温和  $18\,^{\circ}$ C 低温条件下催青,提取胚胎不同发育时期蚕卵的易溶性和难溶性蛋白,采用蛋白质双向电泳(2-DE)和图像分析技术,研究蚕卵在胚胎不同发育时期的蛋白质差异表达谱。在易溶性和难溶性蛋白图谱中分别检测到  $5\,^{\circ}$ 个和  $7\,^{\circ}$ 个差异显著的蛋白点。对这些差异蛋白点进行质谱鉴定,有  $8\,^{\circ}$ 个蛋白点得到可信的最佳匹配蛋白报告,共鉴定出卵特异蛋白、卵黄原蛋白、表皮蛋白和丙酮酸脱氢酶激酶  $4\,^{\circ}$ 种蛋白。这些差异表达蛋白可能导致蚕卵胚胎中物质代谢和能量代谢的不同,据此推测低温和常温催青可能在蚕卵胚胎中诱导了不同的生理生化反应。

关键词 家蚕;滞育;蛋白质;双向电泳;质谱鉴定

中图分类号 S882.3<sup>+</sup>4; Q51 文献标识码 A 文章编号 0257-4799(2010)03-0413-08

# An Analysis on Differential Protein Expression in Embryonic Stage of Bivoltine *Bombyx mori* Eggs Incubated Under Low and Normal Temperatures

ZHANG Yang<sup>1</sup> QIU Zhi-Yong<sup>1</sup><sup>2</sup> ZHAO Qiao-Ling<sup>1</sup><sup>2</sup> TANG Shun-Ming<sup>1</sup><sup>2</sup> WANG Sheng-Peng<sup>1</sup><sup>2</sup> SONG Hai-Tao<sup>1</sup> SHEN Xing-Jia<sup>1</sup><sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup> Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang Jiangsu 212003, China; <sup>2</sup> The Key Laboratory of Silkworm and Mulberry Genetic Improvement, Ministry of Argiculture, The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Science, Zhenjiang Jiangsu 212018, China)

**Abstract** The diapause of bivoltine silkworm (*Bombyx mori*) eggs is controlled by environmental conditions at the embryonic stage of their parental generation. Studies on diapause associated proteins at the embryonic stage would provide experimental evidence for ultimate elucidation of the molecular mechanism of silkworm diapause. In present study , silkworm eggs of a bivoltine variety Qiufeng were incubated under 25 °C and 18 °C respectively , and both soluble and insoluble proteins were prepared from the eggs at different embryonic stages. Two-dimensional electrophoresis (2-DE) and image analysis system were employed to investigate differential protein expression profiles of eggs at different embryonic stages. From the soluble and insoluble protein profiles ,5 and 7 differential protein spots were detected respectively , in which 8 spots were identified by mass spectrometry as the credible best-matched proteins including egg specific protein , vitellogenin ,

收稿日期:2010-01-08 接受日期:2010-02-23

资助项目:国家重点基础研究发展计划 "973"项目(No. 2005 CB12 – 1000) 国家高技术研究与发展计划 "863"重点项目(No. 2007 AA100504)。

作者简介:章扬(1983 – ) 男 ,江苏 ,硕士研究生。 E-mail:bio\_zhangyang@ 163.com

通信作者:沈兴家 研究员 博士生导师。 E-mail:shenxj63@yahoo.com.cn putative cuticle protein, and pyruvate dehydrogenase kinase. These differential proteins are likely to cause variation of substance and energy metabolism in silkworm embryos. It is therefore presumed that low and normal temperature incubations might induce different physiological and biochemical responses in silkworm eggs.

**Key words** *Bombyx mori*; Diapause; Protein; Two-dimensional electrophoresis; Mass spectrometry

家蚕(Bombyx mori)是重要的经济昆虫和鳞翅 目模式昆虫 家蚕卵滞育发生和滞育解除与蚕业生 产密切相关 因而家蚕滞育发生的机制受到蚕业科 技工作者广泛的关注。已有的研究表明,家蚕的滞 育性由遗传和环境条件共同支配 引起家蚕滞育发 生与解除的条件主要有温度、光线、湿度等外界环境 因子和营养因子 其中尤以胚胎期感受温度对滞育 性影响最大[1]。二化性家蚕品种在胚胎期常温 25 ℃催青,其子代为滞育卵;低温(15 ℃)催青,子 代为非滞育卵;中间温度(20 ℃)催青,长光照下子 代为滞育卵,短光照下子代为非滞育卵[1-2]。为进 一步探明环境条件诱导家蚕滞育发生的作用机制, 我们利用蛋白质双向电泳(2-DE)和质谱鉴定技术, 比较了25 ℃常温和18 ℃低温催青条件下二化性家 蚕卵胚胎不同发育时期的蛋白质差异表达谱,查找 与胚胎期滞育关联的蛋白。

### 1 材料与方法

### 1.1 供试家蚕品种及蚕卵的处理

实验用家蚕品种为二化性品种秋丰。先将已解除滞育的越年蚕卵在  $15 \, ^{\circ} \mathrm{C} \, \mathrm{T}$  保护至丙 $_2$  期,然后将每个卵圈  $(1 \, \mathrm{C} \, \mathrm{C}$ 

在收集保存的上清液中加入 100% TCA 溶液,

使最终体积分数达 10% ,冰浴静置  $20 \text{ min } A ^{\circ} \mathbb{C}$ 下  $12\ 000\ g$  离心  $10\ \text{min}$  ,弃上清液 ,沉 淀 在  $4^{\circ} \mathbb{C}$  、  $12\ 000\ g$  离心  $1\ \text{min}$  ,弃上清液后 加入  $1\ \text{mL}$  蛋白溶解缓冲液 超声波处理  $2\sim3\ \text{min}$  使蛋白完全溶解 ,作为易溶性总蛋白样品 , $-20\ \mathbb{C}$  冰箱冷藏备用。

制备的蛋白样品用 Bradford 法 <sup>[4]</sup>测定蛋白浓度。

### 1.3 蛋白质双向电泳分析

对常温催青和低温催青处于同一胚胎发育时期的蚕卵蛋白样品进行双向电泳分析,每个胚胎发育时期样品至少重复实验 1 次。第 1 向等电聚焦电泳(IEF),使用 Ettan IPGphor II 等电聚焦仪和 pH 3 ~ 10、18 cm 的 IPG 线性干胶条,采用胶内加样方法进行,蛋白上样量为 150 μg。第 2 向 SDS-PAGE 使用 Ettan DALTsix 垂直电泳装置,采用 12.5%分离胶。电泳后凝胶采用银染法显色。蛋白质电泳图谱经图像扫描后,用 Amersham Biosciences 公司的 ImageMaster 2D Platinum 图像分析软件对双向电泳图谱进行分析。

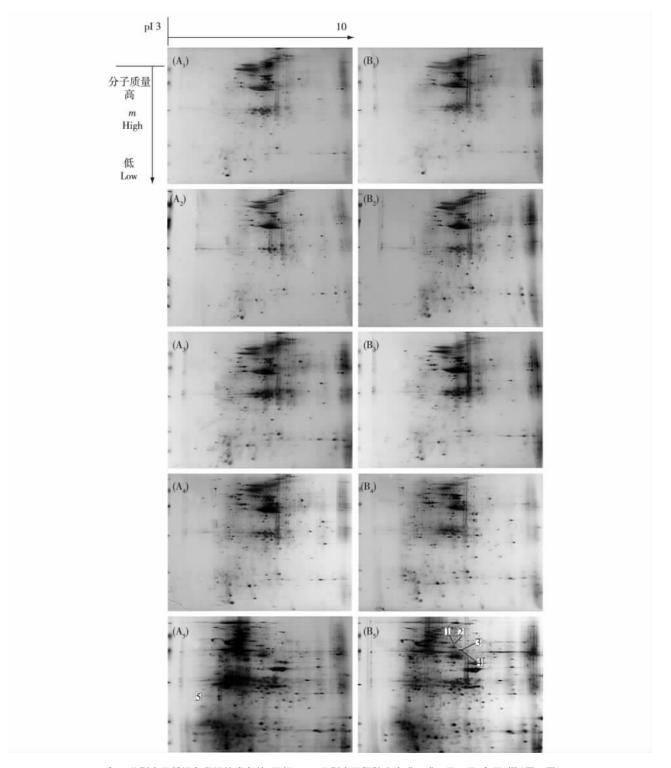
#### 1.4 质谱鉴定

将双向电泳凝胶上有显著差异的蛋白斑点切下 委托中国科学院上海生命科学研究院蛋白质组研究分析中心进行质谱鉴定 易溶性差异蛋白点和难溶性差异蛋白点的鉴定方式分别为基质辅助激光解析电离 串联飞行时间质谱 (MALDI-TOF/TOF-MS)和基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 (MAL-DI-TOF-MS) 质谱检测数据在 NCBInr 数据库进行检索 得到最佳匹配蛋白报告。

#### 2 结果与分析

# 2.1 低温和常温催青条件下胚胎不同发育时期蚕卵易溶性蛋白的双向电泳分析

对常温催青和低温催青条件下戊1、戊3、己2、己3和己4期5个胚胎发育时期的蚕卵易溶性蛋白分别进行双向电泳,结果如图1所示。从图1中可以看到,蚕卵易溶性蛋白斑点大部分集中在 pI 4~7范围内,蛋白富集区域的组成主要是卵黄蛋白,包括卵黄磷蛋白(Vn)、卵特异蛋白(egg specific protein, ESP)和30K蛋白<sup>[5]</sup>。前4个发育时期的蛋白双向电泳图谱变化不显著,而己4期的蛋白双向电泳图谱与之前各时期的蛋白双向电泳图谱比较变化较大,主要是一些与酸性蛋白有关的结构基因被激活表达,与颜新培等<sup>[6]</sup>的研究结果一致。



A 和 B 分别表示低温和常温催青条件,下标 1-5 分别表示胚胎发育戊 $_1$ 、戊 $_3$ 、己 $_2$ 、己 $_3$ 和己 $_4$ 期(图 3 同)

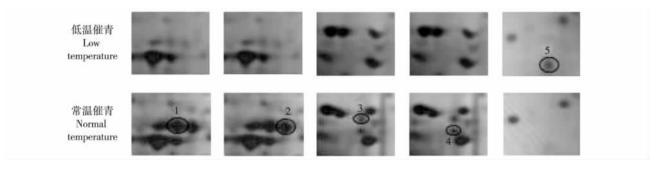
A and B represent incubation under low and normal temperatures respectively, The subscripts 1,2,3,4 and 5 represent embryonic development labrum stage, shortening stage, end reversal stage, trachea colouring stage and head pigmentation stage, respectively (the same in Fig. 3)

### 图 1 低温 $(18 \ ^{\circ})$ 和常温 $(25 \ ^{\circ})$ 催青条件下的蚕卵易溶性蛋白双向电泳图谱

Fig. 1 2D-PAGE patterns of soluble proteins from silkworm eggs incubated under low (18  $^{\circ}\text{C}$  ) and normal (25  $^{\circ}\text{C}$  ) temperatures

用 ImageMaster 2D Platinum 图像分析软件,对图 1 显示的常温和低温催青条件下胚胎不同发育时期蚕卵易溶性蛋白表达谱差异进行比对分析,标注有显著差异的蛋白点,结果获得编号 1-5 的差异蛋白点(图 2),且这 5 个差异蛋白点都出现在己4期。其中,第 1-4 号差异蛋白点在常温催青条件下的表达量较高,而在低温催青条件下的蚕卵

蛋白双向电泳图谱中几乎观察不到;与此相反,第 5 号差异蛋白点则在低温催青条件下的表达量较高。第 1 号和第 2 号差异蛋白点的分子质量极为接近;第 3 号和第 4 号差异蛋白点的等电点相似。对这 5 个差异蛋白点进行表观预测,结果分子质量在  $28 \sim 55~\mathrm{kD}$  之间, $\mathrm{pI}$  在  $4.11 \sim 6.82$  之间(表 1)。



圆圈标示处为差异蛋白点,数字为蛋白点编号(图4同)

The differential protein spots are indicated by circles. The digit is the serial number of protein spot (the same in Fig. 4)

#### 图 2 低温(18 ℃)和常温(25 ℃)催青条件下的蚕卵易溶性蛋白差异显著蛋白点比较

Fig. 2 A comparison of differential soluble protein spots with significant difference from silkworm eggs incubated under low (18 °C) and normal (25 °C) temperatures

## 表 1 低温 $(18\ \mathbb{C})$ 和常温 $(25\ \mathbb{C})$ 催青条件下的蚕卵易溶性蛋白差异蛋白点特征

Table 1 Characteristics of differential protein spots from soluble proteins of silkworm embryos incubated under low (18  $^{\circ}$ C) and normal (25  $^{\circ}$ C) temperatures

蛋白点编号 Protein spot No.	等电点 pI	分子质量 / kD <i>m</i>
1	6.47	55
2	6.53	54
3	6.82	50
4	6.81	49
5	4.11	28

上述 5 个差异蛋白点经过质谱分析和 NCBInr 数据库比对 ,第 3 - 5 号差异蛋白点没有找到相匹配 的蛋白 ,第 1 号和第 2 号差异蛋白点有可信结果 ,与 之相匹配的蛋白均为卵特异蛋白 ,第 1 号和第 2 号差异蛋白点的氨基酸序列与卵特异蛋白序列分别有 1 个和 2 个肽段相匹配 ,Mascot 得分分别为 34 和 56 (表 2)。

### 表 2 质谱鉴定低温(18 $\mathbb{C}$ )和常温(25 $\mathbb{C}$ )催青条件下蚕卵 易溶性蛋白差异蛋白点的最佳匹配蛋白

Table 2 The best-matched proteins identified by mass spectrometry from differential soluble protein spots in silkworm eggs incubated under low (18  $^{\circ}\!\text{C}$ ) and normal (25  $^{\circ}\!\text{C}$ ) temperatures

蛋白点编号 Protein spot No.	最佳匹配蛋白 The best-matched protein	GenBank gi 号 GenBank gi No.	Mascot 得分 Mascot score
1	卵特异蛋白 Egg specific protein	gi  226802	34
2	卵特异蛋白 Egg specific protein	gi  226802	56

### 2.2 低温和常温催青条件下胚胎发育不同时期蚕 卵难溶性蛋白的双向电泳分析

对常温催青和低温催青条件下的戊<sub>1、戊3</sub>、己<sub>2、己3</sub>和己<sub>4</sub>期 5 个胚胎发育时期的蚕卵难溶性蛋白进行双向电泳,得到蛋白双向电泳图谱如图 3 所示。在相同上样量条件下,与易溶性蛋白双向电泳图谱相比,难溶性蛋白双向电泳图谱中的蛋

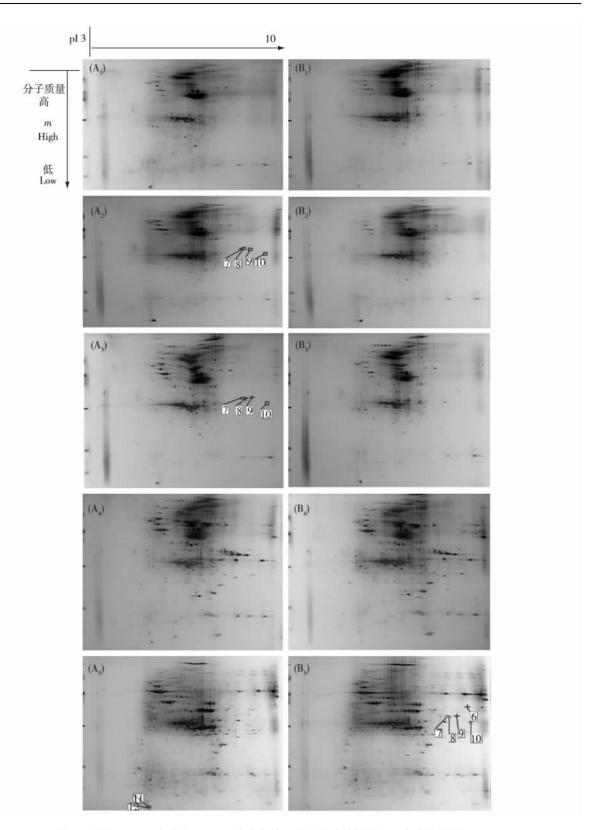


图 3 低温(18 ℃)和常温(25 ℃)催青条件下的蚕卵难溶性蛋白双向电泳图谱 Fig. 3 2D-PAGE patterns of insoluble proteins from silkworm eggs incubated under low (18 ℃) and normal (25 ℃) temperatures

白点数量较少,且显色较浅。常温催青和低温催青条件下蛋白点的分布情况大致相同,戊1、戊3、己2和己3期4个胚胎发育时期的蛋白双向电泳图谱差别很小,总蛋白中有大量卵黄蛋白富集,胚胎蛋白点较少,且分布零散。己4期的蛋白双向电泳图谱与之前4个发育时期的蛋白双向电泳图谱相比变化较大。

用 ImageMaster 2D Platinum 图像分析软件对常温和低温催青条件下的蚕卵难溶性蛋白图谱(图3)进行分析,标注有显著差异的蛋白点,获得编号第

6-12 的蛋白差异点(图 4)。其中第 6号差异蛋白点在常温催青条件下的表达量较高;第 11 号和第 12 号差异蛋白点则是低温催青条件下的蚕卵蛋白双向电泳图谱中的特异性蛋白点;第 7-10 号差异蛋白点在低温催青条件下戊3和己2期的表达量,较同期常温催青条件下的表达量要高许多,至己3期这 4 个差异蛋白点在 2 种催青条件下的表达量均显著升高,且趋于一致,而在己4期 A 个差异蛋白点在常温催青条件下的表达量比低温催青条件下的表达量高许多。

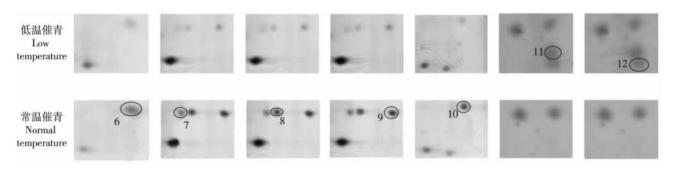


图 4 低温(18 ℃)和常温(25 ℃)催青条件下的蚕卵难溶性蛋白差异显著蛋白点比较

Fig. 4 A comparison of differential insoluble protein spots with significant difference from silkworm eggs incubated under low (18 °C) and normal (25 °C) temperatures

利用低分子质量蛋白质 Marker 对 7 个差异蛋白点进行表观预测 ,结果分子质量在 10~40 kD 之间 ,pI 在 4.77~9.17 之间(表 3)。 从图 3 显示的蛋白双向电泳图谱中可以看到第 7、8 和 9 号差异蛋白点的分子质量较为接近 ,尤其是第 7 和 8 号蛋白点;第 11 和 12 号蛋白点的等电点相似。

上述 7 个差异蛋白点经过质谱分析和 NCBInr 数据库比对,除了第 10 号差异蛋白点没有可信结果,其余都有可信结果。第 6 号差异蛋白点的氨基酸序列与卵黄原蛋白(vitellogenin,Vg)序列有 7 个肽段相吻合,Mascot得分为 50;第 7、8 和 9 号差异蛋白点的氨基酸序列均与数据库中推测的表皮蛋白(putative cuticle protein)序列有部分肽段相吻合,Mascot得分分别为 60、71 和 64;第 11 和 12 号差异蛋白点的氨基酸序列与丙酮酸脱氢酶激酶(pyruvate dehydrogenase kinase,PDK)序列均有 5 个肽段相吻

合 ,Mascot 得分分别为 59 和 52(表 4)。

### 表 3 低温(18 $\mathbb{C}$ ) 和常温(25 $\mathbb{C}$ ) 催青条件下蚕卵难溶性蛋白差异蛋白点特征

Table 3 Characteristics of differential protein spots from insoluble proteins of silkworm embryos incubated under low (18  $^{\circ}$ C) and normal (25  $^{\circ}$ C) temperatures

蛋白点编号 Protein spot No.	等电点 pI	分子质量 / kD m
6	9.01	40
7	8.25	36
8	8.34	36
9	8.61	35
10	9.17	33
11	4.77	10
12	4.77	10

# 表 4 质谱鉴定低温(18 $^{\circ}$ C)和常温(25 $^{\circ}$ C)催青条件下蚕卵 难溶性蛋白差异蛋白点的最佳匹配蛋白

Table 4 The best-matched proteins identified by mass spectrometry from differential insoluble protein spots in silkworm eggs incubated under low (18  $^{\circ}$ C) and normal (25  $^{\circ}$ C) temperatures

蛋白点编 <sup>5</sup> Protein spot No.	号 最佳匹配蛋白 The best-matched protein	GenBank gi 号 GenBank gi No.	Mascot 得分 Mascot score
6	卵黄原蛋白 Vitellogenin	gi   871834	50
7	表皮蛋白(推测) Putative cuticle protein (predicted)	gi  223670988	60
8	表皮蛋白(推测) Putative cuticle protein (predicted)	gi  223670988	71
9	表皮蛋白(推测) Putative cuticle protein (predicted)	gi  223670988	64
11	丙酮酸脱氢酶激酶 Pyruvate dehydrogenase kinase	gi   167860162	59
12	丙酮酸脱氢酶激酶 Pyruvate dehydrogenase kinase	gi   167860162	52

### 3 讨论

家蚕一化性和多化性品种的化性非常稳定;而二化性品种的化性受环境调控,环境温度对所产卵的化性影响最大,尤以催青后期即胚胎反转期(己,期)后的影响显著<sup>[7]</sup>。本实验分别采用常温自然光照和低温黑暗催青,收集己,期前后的戊,、戊3、己2、己3和己4期蚕卵,寻找家蚕胚胎期滞育关联候选蛋白。结果在己4期蚕卵蛋白双向电泳图谱中找到12个差异表达蛋白点,其中8个蛋白点获得可信结果,鉴定出卵特异蛋白、卵黄原蛋白、表皮蛋白和丙酮酸脱氢酶激酶4种蛋白。

卵特异蛋白被认为是胚胎发生过程中最重要的蛋白之一,其储存形式是大小为 225 kD 的多肽,由 2 个 72 kD 和 1 个 64 kD 多肽亚基组成。其降解分 2 步进行: 首先水解成由 2 个 55 kD 多肽亚基组成的 125 kD 多肽中间产物; 然后该中间产物进一步断裂成由 2 个 36 kD 多肽组成的 71 kD 蛋白质  $^{\mbox{\scriptsize B}}$  。本实验中第 1 号和第 2 号差异蛋白点的分子质量分别为 55 kD 和 54 kD 因此它们极可能为卵特异蛋白水解中间产物的 2 个亚基。

将家蚕滞育性品种的卵在产卵 48 h 后一直保

护于 5 飞和 1 ℃环境,用 SDS-PAGE 和孵化率测定来追踪卵黄蛋白质区带图谱随滞育解除和发生过程的变化 结果发现来自卵特异蛋白的 55 kD 多肽随滞育解除不断减少,来自卵黄磷蛋白的 46 kD 多肽逐渐增加;而如果将保护于 5 ℃的卵在滞育解除后置于 25 ℃催青,则来自卵特异蛋白的 55 kD 多肽在滞育解除后不断增加,在孵化前一天达到最高点,来自卵黄磷蛋白的 46 kD 多肽与之前情况相比,在滞育解除后的增加速度更快  $^{12}$ 。该结果暗示也许可以通过卵特异蛋白的 55 kD 多肽和卵黄磷蛋白的 46 kD 多肽水平的变化来监测滞育解除状况。卵黄原蛋白是卵黄磷蛋白的前体  $^{10-111}$  不仅为胚胎发生时期提供营养和功能性物质,而且在生物体内还具有物质运输、免疫防御和促进生长分化等其他功能  $^{12}$  。

家蚕的表皮蛋白是家蚕重要的结构蛋白。有学者运用生物信息学方法,通过保守的基序检索家蚕基因组和 EST 文库,得到 220 条候选的表皮蛋白序列 13 。本实验获得的第 7、8 和 9 号差异蛋白点与其中一条推测的表皮蛋白相匹配。该推测的表皮蛋白在胚胎发育不同阶段的低温催青和常温催青蚕卵蛋白双向电泳图谱中,呈现不同的上升和下降趋势。其原因可能在于该家蚕表皮蛋白受到蜕皮激素和保幼激素的精细调控,而蜕皮激素和保幼激素含量在滞育性卵胚胎发育过程中的变化幅度很大 [14],并且有报道证实在滞育卵和非滞育卵胚胎发育阶段过程中蜕皮激素发生了不同的修饰 15 1,推测低温催青和常温催青可能引起蜕皮激素不同的变化,导致受蜕皮激素调控的该表皮蛋白呈现不同的表达模式。

丙酮酸脱氢酶激酶可以通过磷酸化丙酮酸脱氢酶复合体抑制其活性,丙酮酸脱氢酶复合体能够催化丙酮酸氧化脱羧生成烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)和乙酰辅酶 A,丙酮酸脱氢酶激酶通过调节丙酮酸脱氢酶复合体的活性,进一步将糖酵解与三羧酸循环以及三磷酸腺苷(ATP)的生成紧密地联系在一起<sup>[6]</sup>。

本实验检测到的这些差异表达蛋白可能导致蚕卵内物质代谢和能量代谢的不同,据此推测低温和常温催青可能在蚕卵内诱导了不同的生理生化反应,但是这些差异表达蛋白是否参与胚胎滞育发生?如何调控滞育发生?在后期的工作中,我们将进一步利用抑制性消减杂交(SSH)技术从基因 mRNA水平进行探索研究。

### 参考文献 (References)

- [1] 黄君霆. 家蚕滞育分子机制的研究 [J]. 蚕业科学 ,2003 ,29 (1):1-6
- [2] Tsurumaki J, Ishiguro J, Yamanaka A. Effects of photoperiod and temperature on seasonal morph development and diapause egg ovi– position in a bivoltine race (Daizo) of the silkmoth , Bombyx mori [J]. J Insect Physiol, 1999 45 (2):101 – 106
- [3] 钟伯雄 颜海燕 沈飞英 等. 家蚕蛋白质双向电泳的样品制备 方法 [J]. 蚕业科学 2003 29(4):427-432
- [4] 叶伟民 韩焕兴 范列英 等. Bradford 比色法简便、快速测定微量蛋白 [1]. 上海医学检验杂志 ,1996 ,11(4):207-208
- [5] 颜新培 钟伯雄 徐孟奎 等. 家蚕卵黄蛋白组成及其胚胎时期 的变化 [1]. 农业生物技术学报 2004 ,12(5):556 - 563
- [6] 颜新培 . 钟伯雄 . 曹家树 . 等. 家蚕催青期胚胎蛋白质图谱的建立 [1]. 蚕业科学 2004 30(1):28-33
- [7] 中国农业科学院蚕业研究所. 中国养蚕学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社,1991:70-73
- [8] Indrasith L Sasaki T ,Yamashita O. A unique protease responsible for selective degradation of a yolk protein in *Bombyx mori* [J]. J Biol Chem ,1988 263 (2):1045 – 1051
- [9] Furusawa T ,Indrasith L. Quantative and qualitative changes of pol-

- ypeptides of egg-specific protein and vitellin depending on the diapause state of *Bombyx* eggs exposed to lower temperatures [J ]. J Seric Sci Jpn ,1987 ,56(6):467 – 473
- [10] Doira H ,Kawaguchi Y. Changes in haemolymph and egg protein by the castration and implantation of the ovary in *Bombyx mori* [J]. J Fac Agr Kyushu Univ ,1972 ,17 (1):119 – 127
- [11] Ono S ,Nagayama H ,Shimura K. The occurrence and synthesis of female and egg-specific proteins in the silkworm *Bombyx mori* [J]. Insect Biochem ,1975 ,5(3):313 – 329
- [12] 张士璀 孙旭彤 李红岩 等. 卵黄蛋白原研究及其进展 [J]. 海 洋科学 2002 26(1):32-35
- [13] Futahashi R Okamoto S Kawasaki H et al. Genome-wide identification of cuticular protein genes in the silkworm Bombyx mori [J]. Insect Biochem Mol Biol 2008 38 (12):1138-1146
- [14] 李晚忱 / 村凤玲 吴玉澄. 家蚕滞育性卵胚胎发育过程中蜕皮激素和保幼激素含量的变化 [J]. 蚕业科学 /1999 25(2):97 101
- [15] Makka T ,Sonobe H. Ecdysone metabolism in diapause eggs and non-diapause eggs of the silkworm ,Bombyx mori [J]. Zool Sci , 2000 ,17 (1):89 – 95
- [16] 菅记涌 涨勇 朱大海 等. 丙酮酸脱氢酶激酶的研究进展 [J]. 基础医学与临床 2008 28(11):1212-1215

### • 书 讯•

### 《蚕业史论文选》出版

古老的中国,自从有原始农业出现,先民们就发现了蚕丝利用的奥秘,数千年来"农桑并举"维护着古老的中华民族长盛不衰,养育着人类发展史上最大的人群,"男耕女织"也推动着我国数千年悠久历史的不断前进和发展。

周匡明先生以毕生精力,孜孜不倦从事源远流长的蚕丝业研究,取得了丰硕的成果。早在 20 世纪 50 年代撰写的《柞蚕今昔》承当年新华通讯社推荐在法国《国际蚕丝》刊载(1958/4 期,P. 111~130),名: "The Tussah silkworm",1958 年发表后,日本《蚕丝学杂志》转载该文。著作有《蚕业史话》(上海科技出版社,1983 年出版 20 万字),该书曾荣获上海市优秀科普作品二等奖,后又荣获全国第二届科普优秀作品二等奖;1983 年,承担国家级著作《中国农业科技史》分类专业史"蚕业"部分,该书出版后荣获国家科技进步一等奖,作者为获奖者之一。近期由中国文史出版社出版的《蚕业史论文选》,作为"长江学人作品集"选有周先生毕生研究之代表作:起源问题,桑、茧、丝以及我国近代蚕丝业发展坎坷经历等文,今辑集成册,供有志于斯的学人参考。

欲购《蚕业史论文选》一书者,请从邮局汇款至江苏省镇江市四摆渡中国农业科学院蚕业研究所科研处,每册 28 元(含邮费 2 元)。联系人:吴秋明,电话:0511-85616612 85628183。