

松墨天牛幼虫体内神经毒性酯酶和乙酰胆碱酯酶对甲胺磷敏感性的比较

伍一军¹, 刘杰^{1,2}, 杨琳¹, 李薇¹, 高希武^{2*}

(1. 中国科学院动物研究所分子毒理学实验室 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100080;

2. 中国农业大学农学与生物技术学院昆虫学系, 北京 100094)

摘要: 松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope 是传播松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* Nickle 的主要媒介昆虫, 在其化学防治中经常使用有机磷杀虫剂, 而这类杀虫剂有些可通过作用于神经毒性酯酶 (neurotoxic esterase, NTE) 使敏感的脊椎动物产生迟发性神经毒性。为了深入理解有机磷杀虫剂对害虫毒杀作用机理, 增强对昆虫体内 NTE 活性的了解, 我们在松墨天牛中开展了相关的研究。通过差异测定法和经典的乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 活性测定方法, 分别测定了松墨天牛幼虫体内 NTE 和 AChE 的活性。结果发现, 在松墨天牛体内存在 NTE 活性, 其头部的 NTE 活力为 $2.80 \pm 0.30 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$, 比脂肪体高出了近 10 倍, 但仍较鸟类等脊椎动物为低。体内实验显示, 松墨天牛体内 NTE 可被甲胺磷所抑制; 但在体外实验条件下, 甲胺磷对来自松墨天牛头部的 NTE 活性并没有产生明显抑制作用, 而此浓度下的甲胺磷对 AChE 表现出较高水平的抑制作用。表明松墨天牛体内 NTE 和 AChE 对甲胺磷的敏感性完全不同。

关键词: 松墨天牛; 甲胺磷; 神经毒性酯酶; 乙酰胆碱酯酶

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)03-0399-05

Comparison of the sensitivity of neurotoxic esterase and acetylcholinesterase from *Monochamus alternatus* Hope larva to the inhibition by methamidophos

WU Yi-Jun¹, LIU Jie^{1,2}, YANG Lin¹, LI Wei¹, GAO Xi-Wu^{2*} (1. Laboratory of Molecular Toxicology, State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; 2. Department of Entomology, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: *Monochamus alternatus* Hope is a main insect vector of pinewood nematodes (*Bursaphelenchus xylophilus* Nickle), which causes the serious pine wilt disease. Organophosphate is a kind of common insecticide used for the control of the pest insect. In birds and mammals, some organophosphates can cause a syndrome called organophosphate-induced delayed neurotoxicity by inhibiting neurotoxic esterase (NTE). The activity of the enzyme was found in various organisms, but people know little about it in insects and especially its physiological functions at the present time. We detected the NTE activity in larva of *M. alternatus* by using the differential assay method, and found that the enzyme activity in the head was $2.80 \pm 0.30 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$, which was nearly 10 times that in the fat body of the insect, but much lower than that in birds and mammals. The NTE activity from the insect head could be inhibited by methamidophos *in vivo*; however, *in vitro*, the NTE activity was found to be insensitive to methamidophos, which was quite different from that in birds and mammals.

Key words: *Monochamus alternatus*; methamidophos; neurotoxic esterase; acetylcholinesterase

松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope 不仅是传播松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* Nickle 的主要媒介昆虫,而且其自身钻蛀也给松属植物带来严重危害(Morimoto and Iwasaki, 1972; 吕传海等, 2000),但人们对它的毒理学研究开展甚少。在化学防治中,有机磷杀虫剂是防治松墨天牛的有效药物(戴建昌等, 1998),而甲胺磷则是目前最常用的有机磷杀虫剂。

人们发现,许多有机磷杀虫剂除了急性毒性外,还可在鸟类和哺乳类等高等脊椎动物上引起迟发性神经毒性(Abou-Donia, 1981),与急性毒性的机理涉及乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)的活性抑制不同,这种迟发性神经毒性被认为与机体内的一种被称为神经毒性酯酶(neurotoxic esterase, NTE)的酶活性被有机磷化合物抑制有关(Johnson, 1974)。NTE 属于羧酸酯酶(carboxylesterases) (EC3.1.1.1),它是在研究有机磷杀虫剂诱导的迟发性神经毒性(organophosphate-induced delayed neurotoxicity)的过程中被发现的,当时,英国生化毒理学家 Johnson(1969)以同位素标记的方法发现,引起迟发性神经毒性的有机磷化合物能选择性地抑制一种酯酶的活性,遂将该酯酶命名为神经毒性酯酶(Johnson, 1974),也称为神经病靶酯酶(neuropathy target esterase, NTE)(Johnson, 1982, 1993)。然而,对于 NTE 的生理功能,尤其是正常机体内的生理功能的了解并不全面。在脊椎动物体内, NTE 被发现是一种定位于内质网的丝氨酸酯酶,属于磷脂酶 B 家族,体外最适底物为戊酸苯酯(phenyl valerate)(Zaccheo *et al.*, 2004)。在小鼠试验中发现,神经毒性有机磷化合物可以抑制溶血磷脂酯酶的活性,进一步研究认为, NTE 的生理底物可能是溶血卵磷脂(Quistad *et al.*, 2003; Quistad and Casida, 2004)。在以往的针对 NTE 的基因序列研究中,人们在细菌、酵母、果蝇等生物中均发现了与高等动物的 NTE 具有较高相似性的蛋白(Moser *et al.*, 2000)。而在对昆虫的研究中,尚未见到有机磷杀虫剂引起迟发性毒性之说,人们在讨论杀虫剂的杀虫机理时也还很少涉及 NTE(伍一军和冷欣夫, 2003)。但在果蝇中人们却已经发现了一种称为多孔硬干酪蛋白(Swiss cheese protein, SWS)的蛋白质与 NTE 具有较高的氨基酸序列相似性(Moser *et al.*, 2000)。本实验室曾经在棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 的头部和脂肪体等部位检测到 NTE 的活性(伍一军等, 2005)。由此我们可以推测, NTE 或其同源蛋白可能广泛存在于从低等到高等的生物体内。

然而,毕竟人们对昆虫体内 NTE 活性的存在情况以及有机磷杀虫剂对它的作用情况目前尚缺乏了解,为此,我们借鉴了高等动物的 NTE 研究方法,对松墨天牛体内 NTE 活性及甲胺磷对其作用情况进行了研究,并与甲胺磷对 AChE 作用的情况进行了比较。

1 材料与方法

1.1 化学试剂

74% 甲胺磷原药为山东高密农药厂产品。

牛血清白蛋白(BSA)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、碘化硫代乙酰胆碱(AChI)、二硫苏糖醇(DTT)、对氧磷(paraoxon)、苯甲基磺酰氟(PMSF)和十二烷基硫酸钠(SDS)为 Sigma 产品; Triton X-100 为上海化学试剂厂产品; 二甲基甲酰胺、铁氰化钾和二氨基四乙酸钠盐(EDTA)为北京化工厂产品; 4-氨基安替吡啉和考马斯亮蓝 G-250 为 Fluka 产品; 5, 5'-二硫代双-2-硝基苯甲醚(DTNB)为北京东环化工厂产品; 戊酸苯酯(PV)和氟丙胺磷(mipafos)为实验室自行合成。以上试剂均为分析纯级产品。

1.2 供试昆虫

试虫为采自安徽马鞍山林场的松墨天牛野生种群幼虫(3~5 龄)。

1.3 AChE 活性测定

1.3.1 酶液样品制备:取松墨天牛幼虫,在冰盘上解剖,去中肠和脂肪体,其余部分用预冷的 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 7.5)冲洗后剪碎,按照每头天牛 2 mL 的量加入预冷的匀浆缓冲液(0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液),使用电动玻璃匀浆器于冰浴中匀浆(上下 30~40 次),将匀浆液转入离心管中, 4℃ 下以 2 000 × g 离心 15 min,取其上清液(此为酶活性测定用的待测样品),立即测定或冻存于 -80℃ 冰箱中, 48 h 内使用。

1.3.2 酶活性测定:参照 Ellman 等(1961)的方法并作适当改进。反应体系总体积为 200 μL,反应缓冲液为 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.5),反应底物为 1 mmol/L AChI,反应体系中含蛋白质样品 200~300 μg,测定用杀虫剂甲胺磷配成相应浓度梯度。反应温度为 30℃,药物孵育时间为 10 min,反应时间 15 min,显色 15 min, 412 nm 处比色。

上述测定每次取幼虫 3~4 头,重复 3 次。

1.4 NTE 活性测定

1.4.1 酶液样品制备:将松墨天牛幼虫解剖后取出头部、脂肪体及剩余部分,置于冰浴中预冷的 TE 缓冲

液(50 mmol/L Tris, 0.2 mmol/L EDTA, pH 8.0)中漂洗后,用电动匀浆器匀浆。每份样品用4 mL TE 缓冲液。匀浆液在4℃ 500 × g 离心 10 min,离心后取上清液(此为待测酶液),立即进行 NTE 活性测定。

1.4.2 体内实验时甲胺磷对松墨天牛的染毒处理:处理组在含有 10 mmol/L 甲胺磷的 0.1% Triton X-100 溶液中浸泡,浸泡时确保松墨天牛的口器不接触溶液,15 min 后将松墨天牛从溶液中取出;分别以蒸馏水和 0.1% Triton X-100 溶液以同样长的时间浸泡松墨天牛,作为对照。24 h 后同上述方法解剖天牛取其组织测定 NTE 活性。

1.4.3 酶活性测定:参照 Kayyali 等(1991)以及 Correll 和 Ehrlich(1991)的方法,并作适当改进(伍一军等,2005)。反应体系总体积为 300 μL,每反应体系中的样品蛋白质含量约 60 μg,根据 NTE 的性质分为 4 组进行测定:(1)空白组只含 TE 缓冲液;(2)控制组含有对氧磷(40 μmol/L)氟丙胺磷(50 μmol/L)以及底物戊酸苯酯(5.3 mmol/L),但不含有待测样品;(3)对氧磷组含对氧磷、底物和酶液;(4)氟丙胺磷组含对氧磷、氟丙胺磷、底物和酶液。测定时先将待测样品与对氧磷和/或氟丙胺磷在 37℃ 预保温 30 min,再加入底物与之反应,30 min 后加入终止液(1%的 SDS-0.025%的 4-氨基氨基替比林)终止反应。反应终止后加入铁氰化钾溶液显色 5 min,用空白组调零测定 510 nm 处的光吸收值。对氧磷组与控制组活性之差减去氟丙胺磷组与控制组活性之差为 NTE 活性。

体外实验测定 NTE 活性时,用未经药物处理的试虫制备样品。除空白组以外,各组另外加入不同浓度的甲胺磷溶液,预孵育时间为 15 min。其余步骤与体内实验的测定完全相同。

酶活性计算:以重蒸酚在 TE 缓冲液中配成浓度梯度,制作标准曲线用以计算 NTE 活性,以每分钟每毫克蛋白催化戊酸苯酯水解所产生酚量表示 NTE 活性大小。

上述体内和体外实验每个处理从 3~4 头幼虫取样,重复 3 次。

1.5 蛋白质含量测定

使用 Bradford(1976)蛋白浓度测定法,以牛血清白蛋白(BSA)作为标准,建立标准曲线。

1.6 数据处理

所得数据均以 EXCEL 和 Origin7.5 进行处理和统计学分析,对不同的处理组或药物浓度作用效果进行方差分析,以 $P < 0.05$ 视为有显著意义。

2 结果与分析

2.1 松墨天牛幼虫各部分的 NTE 活性

研究结果显示,松墨天牛体内存在 NTE 活性,且以头部活性最高,脂肪体部分活性较低,而其他部分的 NTE 活性则介于两者之间,约接近头部活性的一半(表 1)。可以理解的是,头部作为天牛神经系统的神经元密度较高的中枢部位,其 NTE 活性可能较高,结合在高等动物组织中的 NTE 活性分布情况推测,松墨天牛体内的 NTE 活性也可能主要分布在神经组织。

表 1 松墨天牛体内主要部位的 NTE 活性
(平均值 ± 标准误)

Table 1 NTE activity of *Monochamus alternatus* larva (mean ± SE)

样品组织 Sampled tissues	NTE 活性 NTE activity (nmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹)
头部 Head	2.80 ± 0.30
脂肪体 Fat body	0.31 ± 0.11
其余部分 Other parts	1.37 ± 0.90

2.2 甲胺磷体内处理对松墨天牛 NTE 活性的影响
对松墨天牛幼虫给以浓度为 10 mmol/L 甲胺磷(含 0.1%的 Triton X-100)处理 24 h 测定 NTE 活性(取 NTE 活性相对较高的头部进行测定)。从表 2 可以看出,甲胺磷对 NTE 活性的抑制达到 67%($P < 0.05$),单独用 Triton X-100 溶液处理对 NTE 活性的影响较轻微,其活性比蒸馏水对照组降低了约 23%。

表 2 甲胺磷处理对松墨天牛幼虫头部
NTE 活性的影响(体内实验)

Table 2 *In vivo* effect of methamidophos on the activity of NTE from head of *Monochamus alternatus* larva

处理 Treatment	NTE 活性 NTE activity (nmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹)
蒸馏水对照 Control (Water)	2.71 ± 0.17
表面活性剂处理 Triton X-100	2.08 ± 0.23
甲胺磷处理 Methamidophos	0.90 ± 0.21**

** 表示 $P < 0.01$ 。

** indicates the significant difference at $P < 0.01$, compared with the control group.

2.3 甲胺磷体外处理对松墨天牛 NTE 活性的影响
为了进一步了解松墨天牛体内 NTE 的性质,作者使用了松墨天牛中 NTE 活性相对较高的头部进行了甲胺磷体外影响的研究,但出乎意料的是,在体外,松墨天牛的 NTE 活性对甲胺磷并不敏感(表 3),在所测定的浓度范围内,甲胺磷处理与对照相比均

无明显差异 ($P > 0.05$)。与此同时,测定了甲胺磷在不同浓度下对 AChE 活性的影响(表 3)在体外测定条件下,甲胺磷在其测试浓度范围($10^{-9} \sim 10^{-2}$ mol/L)对 AChE 活性有抑制作用,当其浓度在 10^{-7} mol/L 以上时,与对照相比甲胺磷对 AChE 抑制作用显著 ($P < 0.05$);当甲胺磷浓度达到 10^{-3} mol/L

以上时,其抑制作用更为明显 ($P < 0.01$) (表 3)。通过对 AChE 的抑制曲线分析,甲胺磷对 AChE 的抑制相当平缓,在整个测试浓度范围($10^{-9} \sim 10^{-2}$ mol/L)内,甲胺磷对 AChE 的抑制率从 10% 到 60% 缓慢增加,其半数抑制浓度大约在 0.5×10^{-3} mol/L 左右(图 1)。

表 3 甲胺磷对松墨天牛头部的 AChE 和 NTE 活性的影响(体外实验)

Table 3 *In vitro* effect of methamidophos on the activities of AChE and NTE in the head from *Monochamus alternatus* larva

甲胺磷浓度(mol/L) Concentration of methamidophos	酯酶活性 Activity of the esterases ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$)	
	AChE	NTE
0	23.27 ± 2.22	2.53 ± 0.24
1.0×10^{-9}	20.68 ± 2.11	-
1.0×10^{-8}	19.52 ± 1.29	-
1.0×10^{-7}	$17.03 \pm 2.14^*$	-
1.0×10^{-6}	$17.13 \pm 1.13^*$	2.88 ± 0.42
1.0×10^{-5}	$15.18 \pm 1.26^*$	2.23 ± 0.33
1.0×10^{-4}	$15.14 \pm 1.31^*$	2.03 ± 0.58
1.0×10^{-3}	$9.53 \pm 2.18^{**}$	3.27 ± 0.68
1.0×10^{-2}	$9.92 \pm 1.32^{**}$	-

* 和**分别表示与对照(0 mol/L 甲胺磷)相比差异显著 ($P < 0.05$) 和极显著 ($P < 0.01$)。

* and ** in the table indicate the significant difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively, compared with the control group (0 mol/L methamidophos).

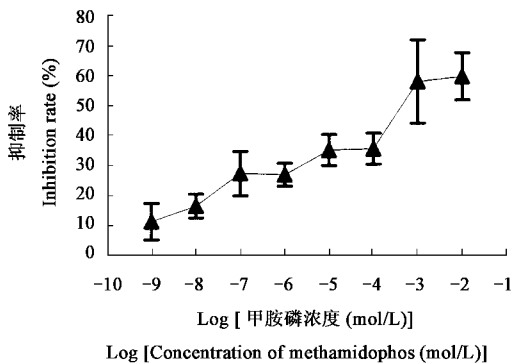


图 1 不同浓度甲胺磷对松墨天牛幼虫 AChE 活性的体外抑制率

Fig. 1 *In vitro* inhibition of AChE from larva of *Monochamus alternatus* by methamidophos at different concentrations

3 讨论

通过实验,我们在松墨天牛幼虫体内检测到了 NTE 活性,由于其具有与脊椎动物 NTE 相似的特性,将其称之为 NTE 活性或 NTE 样活性。根据其头部活性高的情况,推断天牛体内这种酶很可能与脊椎动物的类似,在神经组织中活性较高。松墨天牛 NTE 活性与我们实验室曾经测定的棉铃虫体内的 NTE 活性不同,棉铃虫头部 NTE 活性是松墨天牛头部 NTE 活性的近 2 倍。此外,NTE 活性的分布也有所不同,棉铃虫脂肪体中 NTE 活性最高,是头部的

2.7 倍(伍一军等,2005),但这是否就是鞘翅目昆虫和鳞翅目昆虫体内 NTE 分布上的差别尚待进一步研究。总体上,与鸟类等脊椎动物相比,松墨天牛体内的 NTE 活性要低很多。

通过体表给药处理,松墨天牛体内 NTE 活性在 24 h 后受到了较强的抑制。我们曾试验过其他体内给药的方法,发现如果没有表面活性剂参与,即使使用浓度很高的甲胺磷水溶液浸泡处理,也难以测出其对 NTE 活性的影响(数据未列出),造成这种现象的原因可能是松墨天牛表皮的蜡层较厚,水溶性物质不易穿透,这一点也与松墨天牛难于化学防治的特点相吻合。使用表面活性剂 Triton X-100 处理的对照组与仅使用水处理的对照组相比,NTE 活性也有轻微减弱,这是否是由于表面活性剂破坏了松墨天牛幼虫表皮的蜡层而引起的还有待进一步研究。

比较甲胺磷对 AChE 的作用结果发现,体外实验中甲胺磷可以明显地抑制 AChE 活性。 10^{-4} mol/L 的甲胺磷抑制 AChE 活性的 35%,而 10^{-2} mol/L 的甲胺磷对 AChE 的抑制率则达 58%(图 1)。根据 AChE 在甲胺磷由低到高的系列浓度梯度下的活性变化曲线看,松墨天牛体内 AChE 对甲胺磷浓度的变化并不敏感,尽管其体内 AChE 对甲胺磷本身是敏感的(在 10^{-9} mol/L 时即发生抑制作用)。

杨琳等(2005)的研究结果表明,在体外实验中甲胺磷对鸡脑 NTE 活性具有明显的抑制作用。本研究却发现松墨天牛体内 NTE 体外实验中对甲胺

磷的作用不敏感,其原因可能比较复杂。由于所测定的松墨天牛幼虫体内 NTE 活性的基值很低,与鸡脑 NTE 活性(34.42 ± 1.50)相比(伍一军和冷欣夫,1995),天牛幼虫体内即使是在 NTE 活性最高的头部,其 NTE 活性还不到鸡脑 NTE 活性的 1/12,如此低的活性通过在体外采用抑制剂差异抑制的测定方法有可能难以检出其微弱变化,而目前差异抑制测定仍然是 NTE 活性测定不可替代的方法。另外,以往的研究发现,甲胺磷等有机磷杀虫剂是通过磷酸化丝氨酸酯酶活性中心的丝氨酸残基对其活性产生抑制作用的(Kellner *et al.*, 2000)。本研究结果提示,松墨天牛体内存在的 NTE 活性与鸟类等脊椎动物的相比可能有较大的差异。由于松墨天牛体内具有这种 NTE 活性蛋白的编码基因尚未克隆,对这种差异的原因目前尚不明了,很可能在松墨天牛体内具有这种 NTE 活性的蛋白不一定是丝氨酸酯酶,或者虽然是丝氨酸酯酶而由于某种原因不能被有机磷杀虫剂甲胺磷磷酸化。如果今后的研究能将这种 NTE 活性具体到哪一种(或几种)蛋白质,则可望能进一步明确这种差异产生的原因。

致谢 中国科学院动物研究所孙江华研究员为本实验提供了松墨天牛试虫,在此表示感谢。

参 考 文 献 (References)

Abou-Donia MB, 1981. Organophosphorous ester-induced delayed neurotoxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 21: 511 - 548.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *J. Anal. Biochem.*, 72: 248 - 254.

Correll L, Ehrlich M, 1991. A microassay method for neurotoxic esterase determinations. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 16: 110 - 116.

Dai JC, Zhao JN, Zhang GX, Chen XZ, Wu ZL, Bao LF, 1998. Study on the chemical control of *Monochamus alternatus*. *Forestry Research*, 11(4): 412 - 416. [戴建昌, 赵锦年, 张国贤, 陈行知, 吾中良, 鲍丽芳, 1998. 松墨天牛化学防治研究. 林业科学研究, 11(4): 412 - 416]

Ellman GL, Courtney KD, Andres VJr, Feather-Stone RM, 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7: 88 - 95.

Johnson MK, 1969. The delayed neurotoxic action of some organophosphorus compounds: Identification of phosphorylation site as an esterase. *Biochem. J.*, 114(4): 711 - 717.

Johnson MK, 1974. The primary biochemical lesion leading to the delayed neurotoxic effects of some organophosphorus esters. *J. Neurochem.*, 23(4): 785 - 789.

Johnson MK, 1982. The target for initiation of delayed neurotoxicity by organophosphorus esters: biochemical studies and toxicological

applications. *Rev. Biochem. Toxicol.*, 4: 151 - 212.

Johnson MK, 1993. Symposium introduction: retrospect and prospects for neuropathy target esterase (NTE) and the delayed polyneuropathy (OPIDP) induced by some organophosphorus esters. *Chem. Biol. Interact.*, 98(1-3): 339 - 346.

Kayyali US, Moore TB, Randall JC, Richardson RJ, 1991. Neurotoxic esterase (NTE) assay: optimized conditions based on detergent-induced shifts in the phenol/4-aminoantipyrine chromophore spectrum. *J. Anal. Toxicol.*, 15(2): 86 - 89.

Kellner T, Sanborn J, Wilson B, 2000. *In vitro* and *in vivo* assessment of the effect of impurities and chirality on methamidophos-induced neuropathy target esterase aging. *Toxicol. Sci.*, 54: 408 - 415.

Lu CH, Pu HP, Han B, Wang M, Yang Q, 2000. Study on the biological characteristics of *Monochamus alternatus* Hope. *J. Anhui Agr. Univ.*, 27(3): 243 - 246. [吕传海, 濮厚平, 韩兵, 王蒙, 杨琴, 2000. 松墨天牛生物学特性研究. 安徽农业大学学报(自然科学版), 27(3): 243 - 246]

Morimoto K, Iwasaki A, 1972. Role of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) as a vector of *Bursaphelenchus lignicolus* (Nematoda: Aphelenchoididae). *J. Jpn. For. Soc.*, 54: 177 - 183.

Moser M, Stempfl T, Li Y, Glynn P, Buettner R, Kretzschmar D, 2000. Cloning and expression of the murine sws/NTE gene. *Mech. Dev.*, 90(2): 279 - 282.

Quistad GB, Casida JE, 2004. Lysophospholipase inhibition by organophosphorus toxicants. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 19(3): 319 - 326.

Quistad GB, Barlow C, Winrow CJ, Sparks SE, Casida JE, 2003. Evidence that mouse brain neuropathy target esterase is a lysophospholipase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(13): 7 983 - 7 987.

Wu YJ, Chang PA, Li W, Qin QL, Chen R, Liu CY, Leng XF, 2005. Colorimetric assay of neuropathy target esterase activity in insect. *Chinese Bull. Entomol.*, 42(4): 458 - 460. [伍一军, 常平安, 李薇, 秦启联, 陈瑞, 刘承芸, 冷欣夫, 2005. 昆虫神经毒性酯酶活性的测定. 昆虫知识 42(4): 458 - 460]

Wu YJ, Leng XF, 1995. Studies on the delayed neuropathy induced by organophosphate and its influence on the activity of neuropathy target esterase (NTE). *Acta Sci. Circum.*, 15(4): 461 - 465. [伍一军, 冷欣夫, 1995. 有机磷酸酯诱导的迟发性神经毒性及其对神经毒性酯酶(NTE)活性影响的动态研究. 环境科学学报, 15(4): 461 - 465]

Wu YJ, Leng XF, 2003. Recent advances in insecticide neurotoxicology. *Acta Entomol. Sin.*, 46(3): 382 - 389. [伍一军, 冷欣夫, 2003. 杀虫药剂的神经毒理学研究进展. 昆虫学报, 46(3): 382 - 389]

Yang L, Liu J, Li W, Wu YJ, 2005. Delayed neurotoxicity is not induced by methamidophos in adult hen. *Chinese Journal of Zoology*, 40(4): 12 - 16. [杨琳, 刘杰, 李薇, 伍一军, 2005. 甲胺磷诱发母鸡迟发性神经毒性模型. 动物学杂志 40(4): 12 - 16]

Zaccheo O, Dinsdale D, Meacock PA, Glynn P, 2004. Neuropathy target esterase and its yeast homologue degrade phosphatidylcholine to glycerophosphocholine in living cells. *J. Biol. Chem.*, 279: 24 024 - 24 033.