

# 昆虫击倒抗性基因突变对钠通道功能的影响

唐振华<sup>1</sup>, 袁建忠<sup>1</sup>, 庄佩君<sup>1</sup>, 陶黎明<sup>2,1</sup>

(1. 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 上海 200032;

2. 上海市农药研究所, 上海 200032)

**摘要:** 该文综述了昆虫钠通道基因的表达与功能特性、击倒抗性突变的功能和这些突变对钠通道门控的影响, 以及钠通道基因突变与抗性表现型之间的因果关系; 还讨论了这些突变增强击倒抗性的分子机理。

**关键词:** 击倒抗性; 电压敏感的钠通道; 基因突变; 功能表达; 分子机理

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2005)01-0119-06

## Effect of the gene mutations associated with knockdown resistance on sodium channel function in pest insects

TANG Zhen-Hua<sup>1</sup>, YUAN Jian-Zhong<sup>1</sup>, ZHUANG Pei-Jun<sup>1</sup>, TAO Li-Ming<sup>2,1</sup> (1. Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China; 2. Shanghai Pesticide Research Institute, Shanghai 200032, China)

**Abstract:** The present paper reviewed the studies on expression of insect sodium channel genes and functional characterization, function of resistance-associated mutations, effects of these mutations on sodium channel gating, as well as causal relationship between sodium channel gene mutations and resistant phenotypes. The molecular mechanism by which these mutations enhance *kdr* resistance was also discussed.

**Key words:** Knockdown resistance; voltage-sensitive sodium channel; gene mutations; functional express; molecular mechanism

唐振华等(2004)论述了昆虫和其他节肢动物的门控钠通道的结构与功能、14种害虫中与击倒抗性(knockdown resistance, *kdr*)相关的基因突变、这些突变序列的多态性及其在 *para* 型钠通道  $\alpha$  亚基中的位点。在研究拟除虫菊酯对钠通道作用时, 通常应用电生理技术, 即电压钳(voltage clamp)技术来考察钠通道的功能特性, 例如导电性、离子选择性、活化和失活以及尾电流衰退速率等(Narahashi, 1989; 唐振华, 1993)。目前, 经电生理实验证实, 对拟除虫菊酯呈现 *kdr* 抗性的害虫有: 烟芽夜蛾 *Heliothis virescens*、棉贪夜蛾 *Spodoptera littoralis*、五斑库蚊 *Culex quinquefasciatus*、斯氏按蚊 *Anopheles stephensi*、德国小蠊 *Blattella germanica* 和小菜蛾 *Plutella xylostella* (Bloomquist, 1988, 1993; 唐振华, 1993; Schuler *et al.*, 1998)。但由于拟除虫菊酯均为高亲脂性类杀虫剂, 这给药物学研究带来了困难; 又由于该类杀虫

剂与钠通道结合的配体的非专一性, 对钠通道的研究也带来了麻烦。庆幸的是先进的分子生物学技术给研究 *kdr* 抗性突变对钠通道功能的影响带来了极大的机遇。本文就与 *kdr* 抗性有关的主要突变对钠通道功能的影响作一综述, 并从分子水平对 *kdr* 抗性分子机理作进一步阐述。这些研究结果可为合理用药、设计和选择绿色化学农药提供理论依据。

## 1 昆虫钠通道基因的表达及其功能的研究

昆虫钠通道敏感和抗性 *para* 型基因的克隆和测序仅是对其密码的破译, 要进一步了解这些 *kdr* 抗性基因突变对钠通道功能的影响, 其关键是必须建立离体的表达系统和相应的检测手段。要严格地证明钠通道基因突变和抗性表现型之间的因果关系

基金项目: 国家重点基础发展规划项目(2003CB114403); 国家自然科学基金项目(30230072)

作者简介: 唐振华, 男, 1939年2月生, 研究员, 博士生导师, E-mail: tangzh@public6.sta.net.cn

收稿日期 Received: 2004-04-01; 接受日期 Accepted: 2004-08-04

就必须将单个氨基酸的取代,通过定向突变克隆钠通道,在一个合适的表达系统中表达,然后应用电生理技术测定被表达的钠通道的功能和药理学特性。

Goldin (1992)的爪蟾 *Xenopus laevis* 卵母细胞注射技术为各种靶标基因的表达和功能研究奠定了基础。后来又对爪蟾卵母细胞中表达的钠通道建立了电生理技术测定,这些技术大大地推进了有关钠通道功能和药理学研究,并取得了重大突破。在对含 *kdr* 抗性突变的钠通道进行功能研究时,通常应用含有温度诱导的麻痹基因座 E (temperature-induced paralysis locus E, *tipE*) 的变异体来鉴定影响神经钠通道活性的突变作用。*tipE* 突变是一个甲基硫酸乙酯诱导的隐性突变,该突变使纯合子的 *tipE* 果蝇在 38℃ 迅速麻痹,而当温度回到 23℃ 时即恢复。经研究,*tipE* 基因有以下功能:① *tipE* 基因产物刺激 *para* 钠通道在爪蟾卵母细胞中功能性表达;② *tipE* 基因在蛹发育期间对拯救成虫麻痹是必需的;③ 保护成虫免受热诱导的致死作用 (Fen *et al.*, 1995)。由此推测,*tipE* 蛋白可能是钠通道的辅助亚基,该亚基在功能上是与脊椎动物钠通道  $\alpha$  亚基类似的,而在结构上是不相关的 (Warmke *et al.*, 1997)。*tipE* 蛋白的作用相当于各种昆虫 *para* 直向同源钠通道的一种增强子 (enhance) 和修饰基因 (modifier),这表明在这些昆虫中很可能存在 *tipE* 的直向同源体 (orthologs)。最近,在家蝇中鉴定了一个与果蝇 *tipE* 基因直向源的基因,称为 *Vssc $\beta$*  基因,并在卵母细胞中表达后测定了它的功能特性 (Lee *et al.*, 2000)。

在研究 *tipE* 对钠通道的作用时,可将 *para* 基因 (单独)、*tipE* 基因 (单独) 和 *para* + *tipE* (*para/tipE*) 的 cRNA 分别注射入卵母细胞,在 2~6 天后用电生理技术测定它们的钠电流,考察它们对钠通道功能的影响。cRNA 为干扰 mRNA 的互补 RNA (mRNA-interfere complementary RNA)。在用 *para* cRNA 单独注射时,仅检测到非常小的电流 (200~300 nA); 在仅注射 *tipE* cRNA 时未检测出电流;但是在 *para* cRNA 与 *tipE* cRNA 一起注射时,检测到的峰电流约为 5  $\mu$ A,比无 *tipE* 时平均高 18 倍。并发现这些钠电流对河豚毒素 (tetrodotoxin, TTX) 是非常敏感的,10 nmol/L 的 TTX 就可完全抑制。后来 Warmke 等 (1997) 应用果蝇的 *para/tipE* 的卵母细胞表达系统比较昆虫和脊椎动物钠通道对毒剂的专一性,发现

它们对海葵毒素 II、TTX 和拟除虫菊酯的专一性是不同的。虽然钠电流在无 *tipE* 时很小,但它们与注射 *para* cRNA 的量成比例。随后该表达系统被广泛用于研究 *kdr* 突变对钠通道功能的影响。

在卵母细胞中表达的昆虫钠通道对拟除虫菊酯和其他天然合成毒素是敏感性的。在应用电压钳测定时, I 型拟除虫菊酯,如生物芞呋菊酯和氯菊酯显然是与静息 (resting) 或失活 (inactivated) 状态的通道结合,使活化的电压依赖性改变为更负的电压,并引起一种活化减缓的钠电流。这些化合物还会产生以一级时间常数衰减的去极化脉冲,随后产生特征性的钠尾电流 (sodium tail currents) (Smith *et al.*, 1997, 1998; Warmke *et al.*, 1997; Zhao *et al.*, 2000)。II 型拟除虫菊酯与上述化合物相反,如氯氰菊酯和溴氰菊酯对钠电流表现出深刻的用药依赖性改变 (use-dependent modification),表明这些化合物很可能优先与活化状态的钠通道结合 (Smith *et al.*, 1998; Vais *et al.*, 2000; Tan *et al.*, 2002b)。由这些化合物引起的尾电流比上述 I 型拟除虫菊酯所引起的更持久。并发现溴氰菊酯引起的尾电流衰退是双相的,不是单相的 (Vais *et al.*, 2000; Tan *et al.*, 2002b),这一发现可解释为在昆虫钠通道上对溴氰菊酯存在 2 个结合位点,它们与溴氰菊酯结合的亲合性是相同的 (Vais *et al.*, 2000)。

## 2 主要突变的功能分析

### 2.1 L1014F 的突变

L1014F 突变对拟除虫菊酯敏感性的影响已在几个钠通道序列中进行了考察,并以不同的拟除虫菊酯作为探针。家蝇的 *Vssc1* 钠通道通过定向突变,使其含有 L1014F 取代,然后与果蝇 *tipE* 蛋白在爪蟾卵母细胞中表达,成为“*Vssc1/tipE*”通道,并用 2 个电极的电压钳进行测定含有 L1014F 取代的 *Vssc1/tipE* 通道和不含 L1014F 取代的野生型 *Vssc1/tipE* 通道对各种拟除虫菊酯的敏感性和尾电流衰退速率 (Smith *et al.*, 1997)。含有 L1014F 突变的几种昆虫钠通道对不同类型拟除虫菊酯敏感性的影响见表 1。表 1 的结果表明,凡是含有 L1014F 突变的钠通道的各种昆虫对不同类型的拟除虫菊酯的敏感性都会明显地下降。并且在大多数情况下会伴随加速尾电流衰退的速率。

表 1 L1014F 的突变对拟除虫菊酯敏感性的影响

Table 1 Effect of the L1014F mutation on pyrethroid sensitivity

虫种 Species	药剂 Insecticides	敏感性降低倍数 Sensitivity reduced (fold)	尾电流衰退 Tail current decay	参考文献 References
家蝇 <i>Musca domestica</i>	生物苄呋菊酯 Cismethrin	10	加速衰退 Accelerating decay	Smith <i>et al.</i> , 1997
黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	溴氰菊酯(II型) Deltamethrin (type II)	7	加速衰退 Accelerating decay	Vais <i>et al.</i> , 2000b
德国小蠊 <i>Blattella germanica</i>	溴氰菊酯(II型) Deltamethrin (type II)	6	未发现 Not accelerating decay	Tan <i>et al.</i> , 2002b
烟芽夜蛾 <i>Heliothis virescens</i>	氯菊酯(I型) Permethrin (type I)	10	衰退 57 倍 Decay(57-fold)	Zhao <i>et al.</i> , 2000

## 2.2 M918T 的突变

将 M918T 突变插入 *Vssc1/tipE* 通道可大大地减弱钠电流在卵母细胞中的表达, 未检测出生物苄呋菊酯对该通道有影响(Lee *et al.*, 1999b)。将 M918T 突变插入 *para/tipE* 通道, 所得通道对溴氰菊酯的抗性比双突变(M918T/L1014F)通道高 2 倍; 含 M918T 突变的通道对溴氰菊酯呈单相尾电流衰退动力学(Vais *et al.*, 2001)。在大鼠  $Na_v1.8$  通道中, M918T 突变对生物苄呋菊酯所产生的抗性与由单个 L1014F 突变所产生的抗性相等(Soderlund and Lee, 2001)。这些结果表明, M918T 突变对由 L1014F 突变引起的抗性并不是以相加或增效的方式增加其抗性, 而是其本身可提供一种高抗性, 其效果超过 L1014F 单个突变。

将 M918T 和 L1014F 突变掺入 *Vssc1* 蛋白, 从而获得含双突变的 *Vssc1/tipE* 钠通道, 结果发现该通道对高浓度生物苄呋菊酯和苄呋菊酯完全不敏感(Lee *et al.*, 1999b)。同样, 含有 M918T/L1014F 双突变的大鼠  $Na_v1.8$  钠通道对高浓度生物苄呋菊酯也呈现完全不敏感(Soderlund and Lee, 2001)。在 *para/tipE* 钠通道中, M918T/L1014F 双突变对溴氰菊酯的敏感性降低约 100 倍, 还产生呈单相而不是双相的尾电流衰退动力学(Vais *et al.*, 2000)。后者的效应说明, 双突变使每个通道与溴氰菊酯的结合位点从 2 个降为 1 个。

## 2.3 T929I 突变

含有 T929I 突变的 *para/tipE* 通道对溴氰菊酯的敏感性降低约 10 倍, 由溴氰菊酯诱导的尾电流以一级动力学迅速衰退。T929I/L1014F 双突变在小菜蛾中呈现高抗性, 含有该双突变的钠通道对溴氰菊酯的抗性要比野生型高 10 000 倍。

## 2.4 E435K 和 C785R 突变

这 2 个突变为次要突变。只有 C785R 突变的通

道对溴氰菊酯的敏感性与野生型 *para<sup>CSMA</sup>/tipE* 通道的敏感性是一致的, 但含有 E435K 单个突变和含有 E435K/C785R 双突变的通道对溴氰菊酯的敏感性比野生型通道更敏感(Tan *et al.*, 2002b)。在 E435K 或 C785R 突变与 L1014F 抗性突变组合时, 它们的双突变通道对溴氰菊酯的敏感性比含单个突变 L1014F 降低约 20 倍, 比野生型 *para<sup>CSMA</sup>/tipE* 通道降低 100 倍。含有这 3 个突变, 即 E435K/C785R/L1014F 的通道(如同高抗性的德国小蠊种群一样)对溴氰菊酯的敏感性比野生型通道降低 500 倍。Liu 等(2002)又对 E435K 和 C785R 对 V410M 突变抗性的影响进行了研究, 结果发现无论是 E435K 还是 C785R 突变插入含有 V410M 突变的 *para<sup>CSMA</sup>/tipE* 通道, 对由 V410M 突变所产生的抗性水平都没有明显的影响, 但含有这 3 个抗性突变的钠通道对溴氰菊酯的敏感性要比只含有 V410M 突变的通道约低 6 倍, 比野生型 *para<sup>CSMA</sup>/tipE* 通道低 100 倍。上述的这些研究结果表明, E435K 和 C785R 突变是钠通道对拟除虫菊酯类杀虫剂敏感性的二个重要的修饰基因(modifier)。

如前所述, Vais 等(2000)认为在昆虫钠通道上, 对溴氰菊酯存在 2 个结合位点, 但又发现 L1014F/M918T、M918T 和 T929I 突变可使溴氰菊酯的 2 个结合位点失去 1 个, 变成 1 个结合位点(Vais *et al.*, 2000; Vais *et al.*, 2001)。

除了上述以溴氰菊酯和生物苄呋菊酯作为探针进行鉴定的抗性突变外, 在昆虫钠通道的另一个区域内是否还存在结合位点是值得研究的, 因为在大鼠  $Na_v1.2a$ 、 $Na_v1.4$  和  $Na_v1.8$  通道的同种型(isoform)中已报道有此现象(Smith and Soderlund, 1998, 2001; Wang *et al.*, 2001)。另外, 在家蝇 *Vssc1*(Lee *et al.*, 2002)和德国小蠊的 *para<sup>CSMA</sup>* 基因座(Tan *et al.*, 2002a)中, 有关可变外显子应用(alternative exon

usage)的研究表明,在钠通道蛋白的另一个区域内含有彼此专属的 2 个外显子。在上述 2 种昆虫中,该钠通道的区域是从 III S6 片段中央向 III S4 的末端延伸,该区域是由 2 个可变剪切外显子编码的,这 2 个外显子的氨基酸序列是不同的。况且含有这 2 个不同外显子的 *para*<sup>CSMA</sup>/*tipE* 通道对溴氰菊酯的敏感性也是不同的,约有 10 倍的差异。

### 3 击倒抗性突变对钠通道门控的影响

这些 *kdr* 抗性突变除了对拟除虫菊酯的敏感性有影响外,还可影响钠通道的门控 (gating),现将 L1014F 和 V410M 突变对各种钠通道门控的电压依赖性的影响列于表 2。这些影响明显取决于不同类型钠通道中的突变特性。目前已就 L1014F 突变对 5 种不同的钠通道的影响进行了评估,评估的指标是电压依赖性钠通道活化的中点电位 (midpoint

potential)的变化。这 5 种钠通道的中点电位的改变范围为 1.5 mV (*para*<sup>CSMA</sup>/*tipE* 通道) ~ 16.5 mV (大鼠的 *Na<sub>v</sub>1.2a* 与辅助亚基  $\beta 1$  共表达)。

V410M 突变对活化和稳态失活的电压依赖性都能产生更为恒定的影响(表 2)。在 3 种不同的昆虫钠通道中,该突变对活化和稳态失活的中点电位分别产生 5 ~ 10 mV 和 5 mV 左右的去极化改变。而在非克隆的天然神经元(来自烟芽夜蛾)中,该突变对钠通道活化的电压依赖性产生 13 mV 的去极化改变。在 *kdr* 抗性昆虫中,这些去极化改变可通过增高钠通道的活化阈值来降低神经兴奋性,从而降低对拟除虫菊酯的敏感性。小的去极化改变 ( $\leq 5$  mV)对抗性水平的影响是很小的。有关 *parp*/*tipE* 钠通道的许多研究证明, *kdr* 突变可影响钠通道失活的动力学,含有 L1014F、M918T 和 T929I 突变的钠通道失活比野生型更快 (Vais *et al.*, 2000, 2001)。

表 2 L1014F 和 V410M 突变对钠通道门控的电压依赖性的影响

Table 2 Effects of the L1014F and V410M mutations on the voltage dependence of sodium channel gating

突变 Mutation	钠通道类型 <sup>a</sup> Sequence context <sup>a</sup>	中点电位改变 (mV) <sup>b</sup> Midpoint potential shift (mV) <sup>b</sup>		参考文献 References
		活化 Activation	失活 Inactivation	
L1014F	<i>Vssc1</i> / <i>tipE</i>	+5.9	+3.4	Lee <i>et al.</i> , 1999b
	<i>para</i> / <i>tipE</i>	+3.1	+5.5	Vais <i>et al.</i> , 2000
	<i>para</i> <sup>CSMA</sup> / <i>tipE</i>	+1.5	+1.0	Liu <i>et al.</i> , 2002
	Rat <i>Na<sub>v</sub>1.2a</i> / $\beta 1$	+16.5	-	Vais <i>et al.</i> , 1997
	Rat <i>Na<sub>v</sub>1.8</i>	+3.9	-0.6	Soderlund and Lee, 2001
V410M	<i>Vssc1</i> / <i>tipE</i>	+9.1	+5.0	Lee and Soderlund, 2001
	<i>para</i> / <i>tipE</i>	+6.6	+4.5	Zhao <i>et al.</i> , 2000
	<i>para</i> <sup>CSMA</sup> / <i>tipE</i>	+5.3	+5.2	Liu <i>et al.</i> , 2002
	<i>H. virescens</i> neurons	+13.0	+7.2	Lee <i>et al.</i> , 1999a

a: 除了说明的以外,均为爪蟾卵母细胞中表达的克隆钠通道 Cloned sodium channels expressed in *Xenopus laevis* oocytes except as noted; b: 无突变通道的相对改变,正值为去极化改变,负值为超极化改变 Shift relative to unmutated channel; positive values indicate depolarizing shifts and negative values indicate hyperpolarizing shifts (引自 From Soderlund and Knipple, 2003)。

### 4 结语和展望

通过 *kdr* 抗性基因突变对钠通道功能影响的研究,初步明确了这些突变与 *kdr* 抗性之间的因果关系,根据这些基因突变对 *kdr* 抗性的影响程度,可将这 14 种害虫中与 *kdr* 抗性有关的 20 个基因突变分为 3 类: ① 主要的抗性突变 (primary resistance mutations), 如 I S6 的 V410M、II S4 ~ S5 内环的 M918T、II S5 的 T929I、II S6 的 L1014F 和 L1014H、III S6 的 F1538I; ② 次要增强突变 (secondary enhance

mutations), 如 I S6 ~ II S6 接头中的 E435K 和 C785R; ③ 无特征性影响突变 (mutations of effects not characterized), 如 N 端的 D59G、I S4 ~ S5 内环的 I253N、II S4 ~ S5 内环的 M918V 和 L925I、II S5 的 L932F、II S6 的 L1014S、III S4 ~ S5 内环的 A1014V、III S5 ~ S6 内褶的 A1494V 和 E1553G 以及 C 端的 P1999L。第 3 类突变的生物学意义尚待进一步研究。

如前所述, I 型和 II 型拟除虫菊酯对钠通道所产生的尾电流衰退的动力学是不同的。根据各类拟除虫菊酯所引起的尾电流衰退的动力学特征可初步

判定其结合位点数目,如溴氰菊酯呈双相的而不是单相的尾电流衰退动力学特征,表明存在 2 个结合位点。

在了解了单个突变对 *kdr* 抗性影响的基础上,现已开始就不同的组合突变对 *kdr* 抗性影响研究。并发现含有 M918T/L1014F 双突变的 *para/tipE* 钠通道不仅可大大地降低对溴氰菊酯的敏感性,而且可使其结合位点从原来的 2 个降为 1 个。T929I/L1014F 双突变在小菜蛾中呈现了高抗性。还发现 E435K 和 C785R 突变对由 V410M 突变所产生的溴氰菊酯抗性有增效作用;E435K/C785R 双突变可增加溴氰菊酯的敏感性(Tan *et al.*, 2002b),但含有 E435K/C785R/L1014F 三突变的通道却大大地降低对溴氰菊酯的敏感性。这些研究结果表明,E435K 和 C785R 突变是钠通道对拟除虫菊酯敏感性的修饰基因。至于是否还存在其他的修饰基因也是值得研究的一个重要方面。

尽管这些突变基因的表达大大地推进了它们的功能研究,但对钠通道亚基的组成知之甚少。若要真正了解拟除虫菊酯对钠通道互相作用的分子机理,就必须要对钠通道的分子结构生物学进行研究。我们深信,随着分子生物学及其交叉学科的进一步发展,不久的将来一定能揭开其奥妙所在。

### 参 考 文 献 (References)

Bloomquist JR, 1988. Neurophysiological assays for the characterization and monitoring of pyrethroid resistance. In: Lunt GG ed. Neurotox 88: The Molecular Basis of Drug and Pesticide Action. Elsevier: Amsterdam. 543 - 551.

Bloomquist JR, 1993. Neuroreceptor mechanisms in pyrethroid mode of action and resistance. In: Roe M, Kuhr RJ eds. Reviews in Pesticide Toxicology: Toxicology Communications. Raleigh: NC. 181 - 226.

Feng G, Deak P, Chopra M, Hall LM, 1995. Cloning and functional analysis of *tipE*, a novel membrane protein that enhances *Drosophila para* sodium channel function. *Cell*, 82: 1 001 - 1 011.

Goldin AL, 1992. Maintenance of *Xenopus laevis* and oocyte injection. *Meth. Enzymol.*, 207: 266 - 297.

Lee SH, Park Y, Brown TM, Adams ME, 1999a. Altered properties of neuronal sodium channels associated with genetic resistance to pyrethroid. *Mol. Pharmacol.*, 55: 584 - 593.

Lee SH, Smith TJ, Knipple DC, Soderlund DM, 1999b. Mutations in the housefly *Vssc1* sodium channel gene associated with *super-kdr* resistance abolish the pyrethroid sensitivity of *Vssc1/tipE* sodium channels expressed in *Xenopus* oocytes. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 29: 185 - 194.

Lee SH, Smith TJ, Ingles PJ, Soderlund DM, 2000. Cloning and functional characterization of a putative sodium channel auxiliary subunit gene from

the housefly (*Musca domestica*). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 30: 479 - 487.

Lee SH, Soderlund DM, 2001. The V410M mutation associated with pyrethroid resistance in *Heliothis virescens* reduces the pyrethroid sensitivity of housefly sodium channels expressed in *Xenopus* oocytes. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31: 19 - 29.

Lee SH, Ingle PJ, Knipple DC, Soderlund DM, 2002. Developmental regulation of alternative exon usage in the housefly *Vssc1* sodium channel gene. *Invert. Neurosci.*, 4: 125 - 133.

Liu Z, Tan J, Valles SM, Dong K, 2002. Synergistic interaction between two cockroach sodium channel mutation and a tobacco budworm sodium channel mutation in reducing channel sensitivity to a pyrethroid insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32: 397 - 404.

Narahashi T, 1989. The role of ion channels in insecticide action. In: Narahashi T, Chambers JE eds. From Molecular to Organism. New York and London: Plenum Press. 55 - 84.

Schuler TH, Martinez-Torres D, Thompson AJ, Denholm I, Devonshire AL, Duce IR, Williamson MS, 1998. Toxicological, electrophysiological, and molecular characterization of knockdown resistance to pyrethroid insecticides in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 59: 169 - 192.

Smith TJ, Lee SH, Ingle PJ, Knipple DC, Soderlund DM, 1997. The L1014F point mutation in the housefly *Vssc1* sodium channel confers knockdown resistance to pyrethroid. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27: 807 - 812.

Smith TJ, Soderlund DM, 1998. Action of the pyrethroid insecticide cypermethrin on rat brain II: a sodium channels expressed in *Xenopus* oocytes. *Neurotoxicology*, 19: 823 - 832.

Smith TJ, Soderlund DM, 2001. Potent actions of the pyrethroid insecticides cismethrin and cypermethrin on rat tetrodotoxin-resistant peripheral nerve (SNS/PN3) sodium channels expression in *Xenopus* oocytes. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 70: 52 - 61.

Soderlund DM, Lee SH, 2001. Point mutations in homology domain II modify the sensitivity of rat Na<sub>v</sub>1.8 sodium channels to the pyrethroid cismethrin. *Neurotoxicology*, 22: 755 - 765.

Soderlund DM, Knipple DC, 2003. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33: 563 - 577.

Tan J, Liu Z, Nomura Y, Goldin AL, Dong K, 2002a. Alternative splicing of an insect sodium channel gene generates pharmacologically distinct sodium channels. *J. Neurosci.*, 22: 5 300 - 5 309.

Tan J, Liu Z, Tsai TD, Valles SM, Goldin AL, Dong K, 2002b. Novel sodium channel gene mutations in *Blattella germanica* reduce the sensitivity of expressed channels to deltamethrin. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32: 445 - 454.

Tang ZH, 1993. Insect Resistance to Insecticides and Its Management. Beijing: Agriculture Press. 302 - 335. [唐振华, 1993. 昆虫抗药性及其治理. 北京: 农业出版社. 302 - 335]

Tang ZH, Yuan JZ, Zhuang PJ, Tao LM, 2004. The structure of sodium channels and gene mutations associated with knockdown resistance in insects. *Acta Entomol. Sin.*, 47(6): 830 - 836. [唐振华, 袁建忠, 庄佩君, 陶黎明, 2004. 昆虫钠通道的结构和与击倒抗性有关

- 的基因突变. 昆虫学报, 47(6): 830 - 836]
- Vais H, Williamson MS, Hick CA, Eldursi N, Devonshire AL, Usherwood PNR, 1997. Functional analysis of a rat sodium channel carrying a mutation for insect knockdown resistance (*h<sub>dr</sub>*) to pyrethroid. *FEBS Lett.*, 413: 327 - 332.
- Vais J, Williamson MS, Goodson SJ, Devonshire AL, Warmke JW, Usherwood PNR, Cohen CJ, 2000. Activation of *Drosophila* sodium channels promotes modification by deltamethrin: reductions in affinity caused by knockdown resistance mutations. *J. Gen. Physiol.*, 115: 305 - 318.
- Vais H, Williamson MS, Devonshire AL, Usherwood PNR, 2001. The molecular interactions of pyrethroid insecticides with insect and mammalian sodium channels. *Pest Manag. Sci.*, 57: 877 - 888.
- Warmke JW, Reenan RAG, Wang P, Qian S, Arena JP, Wang J, Wunderler D, Liu K, Kaczorowski GJ, van der Ploeg LHT, Ganetzky B, Cohen CJ, 1997. Functional expression of *Drosophila para* sodium channels: modulation by the membrane protein *tipE* and toxin pharmacology. *J. Gen. Physiol.*, 110: 119 - 133.
- Wang SY, Barile M, Wang GK, 2001. A phenylalanine residue at segment D3 - S6 in Na<sub>v</sub>1.4 voltage-gated Na<sup>+</sup> channels is critical for pyrethroid action. *Mol. Pharmacol.*, 60(3): 620 - 628.
- Zhao Y, Park Y, Adams ME, 2000. Functional and evolutionary consequence of pyrethroid resistance mutations in S6 transmembrane segments of a voltage-gated sodium channel. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 278: 516 - 521.

(责任编辑: 黄玲巧)