



李建芳, 成杨, 陆永跃, 齐易香. 昆虫毒蕈碱型乙酰胆碱受体的研究进展 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43 (1): 66–78.

昆虫毒蕈碱型乙酰胆碱受体的研究进展

李建芳, 成 杨, 陆永跃, 齐易香*

(华南农业大学植物保护学院昆虫学系, 广州 510642)

摘要: 毒蕈碱型乙酰胆碱受体 (Muscarinic Acetylcholine Receptors, mAChRs) 是昆虫神经系统中一类重要的 G 蛋白偶联受体。昆虫 mAChRs 可以分为 A、B、C 型三大类, 它们通过偶联不同的 G 蛋白激活不同的第二信使, 完成信号转导过程, 从而发挥其功能。mAChRs 参与调控昆虫多种生理反应和行为过程, 如生长发育、运动、鸣声、嗅觉以及学习记忆等, 是潜在的杀虫剂靶标, 对昆虫 mAChRs 的全面研究有助于开发新型杀虫剂。本文较为全面地综述了近年来国内外昆虫 mAChRs 的组织分布、信号转导、药理学特性以及生理功能等方面的研究新进展, 为今后研究该类受体提供参考。

关键词: 昆虫; 毒蕈碱乙酰胆碱受体; 药理学; 生理功能

中图分类号: Q965; S476

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2021) 01-0066-13

Advances in insect muscarinic acetylcholine receptors

LI Jian-Fang, CHENG Yang, LU Yong-Yue, QI Yi-Xiang (Department of Entomology, College of Plant Protection, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Muscarinic acetylcholine receptors (mAChRs), are mainly G-protein-coupled receptors in insect nervous system. There are three subtypes of insect mAChRs, namely mAChR-A, mAChR-B and mAChR-C. These receptors initiate different second-messenger pathways via coupling different G-proteins. mAChRs are involved in the regulation of a variety of physiological responses and behavioral processes in insects, such as growth and development, locomotion, stridulation, olfaction, learning and memory. Insect mAChRs are important potential targets of insecticides. In this paper, the recent advances in the tissue distribution, signal transduction, pharmacological properties and physiological roles of insect mAChRs were reviewed, which would provide a reference for further study on those receptors.

Key words: Insect; muscarinic acetylcholine receptor; pharmacology; physiological function

乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 是昆虫重要的神经递质, 它通过与不同类型的乙酰胆碱受体 (acetylcholine receptors, AChRs) 结合发挥作用。与脊椎动物类似, 昆虫 AChRs 分为两类: 烟碱型乙酰胆碱受体 (nicotinic AChRs, nAChRs) 和毒蕈碱型乙酰胆碱受体 (muscarinic AChRs, mAChRs), 其中 nAChRs 为离子通道受体, mAChRs

为 G 蛋白偶联受体。昆虫 nAChRs 广泛分布于中枢神经系统, 是以吡虫啉为代表的新烟碱类杀虫剂及生物农药多杀菌素的作用靶标 (李健和巨修炼, 2007; 封云涛等, 2009)。目前对昆虫体内 mAChRs 的研究相对较少, 有研究报道 mAChRs 参与昆虫神经元轴突的延伸、表皮的形成 (Clark *et al.*, 2005)、代谢调节 (Chowański *et al.*,

基金项目: 国家自然科学基金 (31801741); 农业农村部农作物病虫害疫情综合防控项目 (15206036)

作者简介: 李建芳, 女, 1995 年生, 广东吴川人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫分子毒理学, E-mail: ljf@stu.scau.edu.cn

* 通讯作者 Author of correspondence: 齐易香, 女, 博士, 副教授, 研究方向为昆虫分子毒理学, E-mail: qiyixiang@scau.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-07-28; 接受日期 Accepted: 2021-01-09

2018)、飞行运动 (Buhl *et al.*, 2008) 及学习记忆等 (Ismail *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2015)。mAChRs 是一类潜在的杀虫剂靶标位点, 研究该类受体, 可为害虫防治提供新思路, 具有很大的开发和利用价值。

1 毒蕈碱型乙酰胆碱受体的概述

1.1 mAChRs 的结构

mAChRs 是膜受体家族成员, 通过与异三聚体鸟苷酸结合蛋白 (G 蛋白) 偶联介导信号转导过程, 因此属于 G 蛋白偶联受体家族 (G protein coupled receptor, GPCR)。GPCR 包括 A 类视紫红质受体、B 类分泌素受体、C 类代谢型谷氨酸受体、F 类 Frizzled/Smoothed 受体等 6 个亚家族, 其中 mAChRs 属于 A 类视紫红质受体家族 (Hauser *et al.*, 2006)。mAChRs 的基本结构特征是具有 7 个跨膜螺旋结构域, 其中 7 个跨膜区 (TM I-TM VII) 由 3 个胞外环 (O1-O3) 和 3 个胞内环 (I1-I3) 连接而成, 其氨基端位于细胞外侧, 羧基端位于细胞内侧。mAChRs 被激活后通过偶联 G 蛋白转导后续信号, 引起细胞内多种生理生化反应。

1.2 mAChRs 的克隆与分类

通过分子克隆的方法已经从脊椎动物中鉴定出 5 种 mAChRs 亚型 (M1-M5), 根据这 5 个亚型所转导的信号途径不同又分为两大类: M1、M3、M5 属于 I 类, M2、M4 属于 II 类 (Caulfield and Birdsall, 1998; Bubser *et al.*, 2012)。然而, 脊椎动物 mAChRs 的分类并不完全适用于昆虫 (Eldefrawi and Eldefrawi, 1997)。Onai 等在 1989 年通过分子克隆方法从黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 体内获得了第一个昆虫 mAChR 基因序列 (编码 788 个氨基酸, 分子量大小为 85 kDa), 命名为 DM1。该受体位于果蝇第二条染色体的右臂, 其结构和功能与脊椎动物 M1、M3、M5 受体最为相似 (Onai *et al.*, 1989)。

随着分子生物学的深入研究和进展, mAChRs 被报道在多种昆虫体内均有表达, 包括摇蚊 *Chironomus tentans* (Wegener *et al.*, 1996)、家蚕 *Bombyx mori* (Aizono *et al.*, 1997)、沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* (Hinton *et al.*, 1998)、烟草天蛾 *Manduca sexta* (Clark *et al.*, 2005)、拟黑多刺蚁 *Polyrhachis vicina* (Lu *et al.*, 2011) 等, 但

未从分子水平验证昆虫存在多种 mAChRs 亚型。直到 2013 年 Collin 等人重新克隆黑腹果蝇 mAChR (CG4356), 发现 Shapiro 等 (1989) 发表的 cDNA 序列并不完整 (DM1), 并将该受体命名为 A 型 mAChR; 同时从黑腹果蝇中克隆了第二个 mAChR (CG7918), 命名为 B 型 mAChR; B 型受体药理学特征与 A 型受体及脊椎动物的 mAChRs 的药理学性质有很大的区别, 对毒蕈碱敏感性要比乙酰胆碱低 1 000 倍, 而且传统的拮抗剂对其不起作用 (Collin *et al.*, 2013)。从赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 中也克隆得到了 A 型和 B 型 mAChRs; 通过生物信息学分析发现, A 型和 B 型 mAChRs 的同源基因在其它节肢动物的基因组序列库中均能找到 (Collin *et al.*, 2013)。2016 年从黑腹果蝇基因组中发现一种新的 mAChR (CG12796), 命名为 C 型 mAChR, 该受体的氨基酸序列与人类和昆虫中报道的其他 mAChRs 的序列相似性较低, 其药理学特征与 A 型受体相近, 与 B 型受体差异较大 (Xia *et al.*, 2016)。因此, 根据药理学特性和偶联的 G 蛋白不同, 目前已知的昆虫 mAChRs 可以分为 3 大类: mAChR-A、mAChR-B 和 mAChR-C。为了进一步了解昆虫、线虫与脊椎动物的 mAChRs 在系统发育上的关系, 笔者选取了 GenBank 中收录的 9 种昆虫的 mAChR-A、8 种昆虫的 mAChR-B、5 种昆虫的 mAChR-C、线虫的 3 种 mAChRs 亚型以及人类的 5 种 mAChRs 亚型的氨基酸序列, 利用 Mega 7.0 软件基于 Neighbor-Joining 法构建了分子进化树 (图 1)。

2 昆虫 mAChRs 的信号转导途径

GPCR 信号转导过程的共同特点是受体被激活后会与 G 蛋白结合引起细胞内第二信使浓度的改变。G 蛋白是由 α 、 β 、 γ 亚基组成, GPCR 被配体激活后使得偶联的 G_α 亚基与 β 、 γ 亚基分离, 引发 G_β 、 G_γ 参与下游的信号调节, 完成信号转导过程 (李聪慧等, 2019)。脊椎动物 I 类 mAChRs 通过与 $G_{\alpha q/11}$ 结合, 激活磷脂酶 C (phospholipase C, PLC), PLC 能够启动三磷酸肌醇级联反应, 水解磷脂酰肌醇二磷酸 (phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate, PIP₂) 产生两种第二信使, 即 1, 4, 5-三磷酸肌醇 (inositol triphosphate, IP₃) 和二酰基甘油 (diacylglycerol, DAG); IP₃ 自由扩散并与内质网上的 IP₃ 离子通道受体结合, 激活 Ca²⁺ 通道,

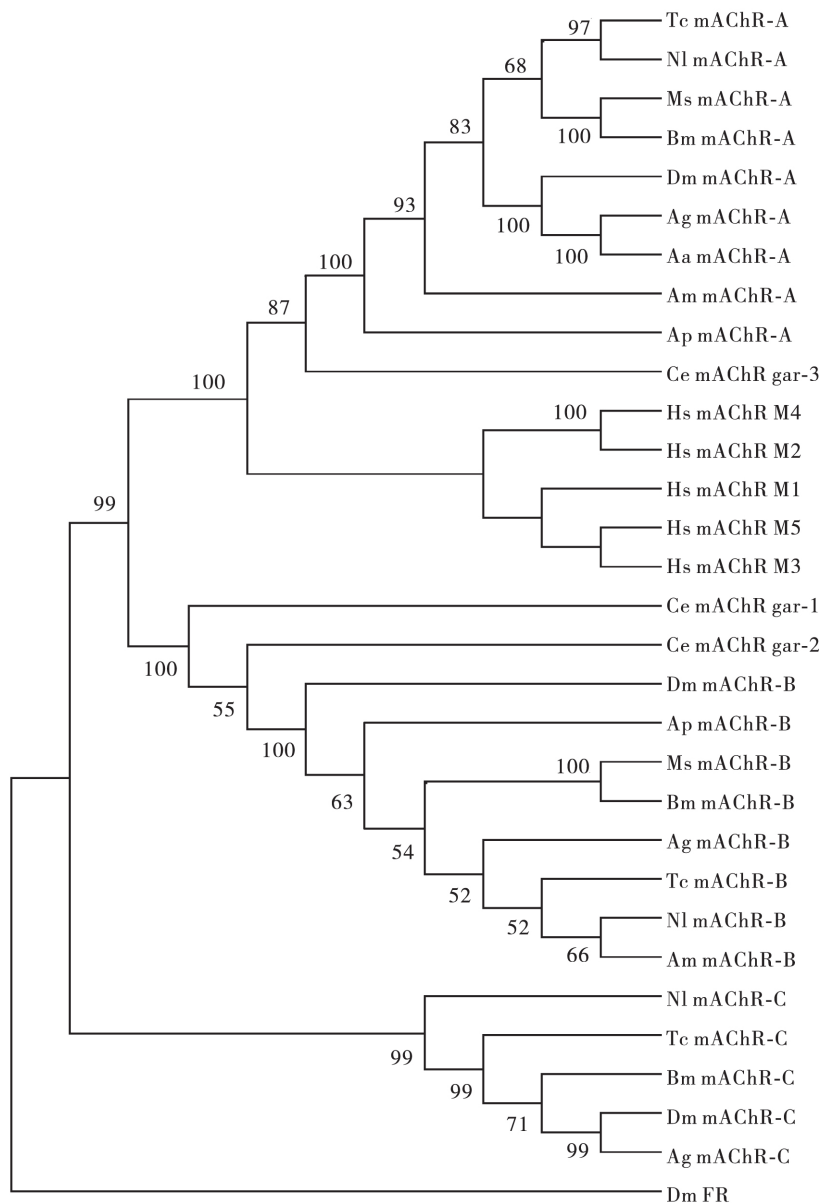


图1 不同物种 mACHRs 的系统发育分析

Fig. 1 Phylogenetic tree of mACHRs from different species

注: mACHRs 来源及 GenBank 登录号如下。Note: The origin of mACHRs and their GenBank accession numbers. Aa, 埃及伊蚊 *Aedes aegypti* (Aa mACHR-A: XP_021708563. 1); Ag, 冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* (Ag mACHR-A: XP_314486. 1; Ag mACHR-B: XP_003436890. 1; Ag mACHR-C: XP_310742. 3); Am, 西方蜜蜂 *Apis mellifera* (Am mACHR-A: XP_395760. 4; Am mACHR-B: XP_006558421. 1); Ap, 豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* (Ap mACHR-A: XP_008187332. 1; Ap mACHR-B: XP_008178482. 1); Bm, 家蚕 *Bombyx mori* (Bm mACHR-A: XP_012545273. 1; Bm mACHR-B: XP_021208951. 1; Bm mACHR-C: XP_004924179. 1); Ce, 秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* (Ce mACHR gar-1: NP_001024403. 1; Ce mACHR gar-2: NP_001022594. 1; Ce mACHR gar-3: NP_001024236. 1); Dm, 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* [Dm mACHR-A: NP_726440. 1; Dm mACHR-B: NP_001287221. 1; Dm mACHR-C: NP_572358. 1; Dm FR (FMRamide receptor): NP_001261347. 1]; Hs, 人 *Homo sapiens* (Hs mACHR M1: NP_000729. 2; Hs mACHR M2: NP_000730. 1; Hs mACHR M3: NP_000731. 1; Hs mACHR M4: NP_000732. 2; Hs mACHR M5: NP_036257. 1); Ms, 烟草天蛾 *Manduca sexta* (Ms mACHR-A: XP_030021104. 1; Ms mACHR-B: XP_030032719. 1); Nl, 褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Nl mACHR-A: XP_022187654. 1; Nl mACHR-B: XP_022207514. 1; Nl mACHR-C: XP_022186837. 1); Tc, 赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* (Tc mACHR-A: NP_001280533; Tc mACHR-B: XP_015840901. 1; Tc mACHR-C: EFA01319. 1)

使 Ca^{2+} 从内质网流向细胞内, 从而使胞内 Ca^{2+} 升高; DAG 激活膜上的蛋白激酶 (protein kinase C, PKC), PKC 能够使很多蛋白发生磷酸化, 从而产生生物学效应 (Shapiro *et al.*, 1989; Bubser *et al.*, 2012)。II 类是通过与 $G_{\alpha i/o}$ 结合, 降低腺苷酸环化酶 (adenylyl cyclase, AC) 的活性, 抑制胞内 ATP 转化成 cAMP, 从而使胞内 cAMP 的含量下降 (Felder *et al.*, 2000; Wenzel *et al.*, 2002)。

与脊椎动物类似, 昆虫 mAChRs 也可引发两种不同的信号转导途径 (图 2)。A 型与 C 型 mAChR 与 $G_{\alpha q/11}$ 偶联, 激活 PLC, 调节肌醇磷酸盐的水解, 从而使胞内 Ca^{2+} 升高; B 型 mAChR 与 $G_{\alpha i/o}$ 偶联, 抑制 cAMP 的形成 (Ren *et al.*, 2015; Xia *et al.*, 2016)。

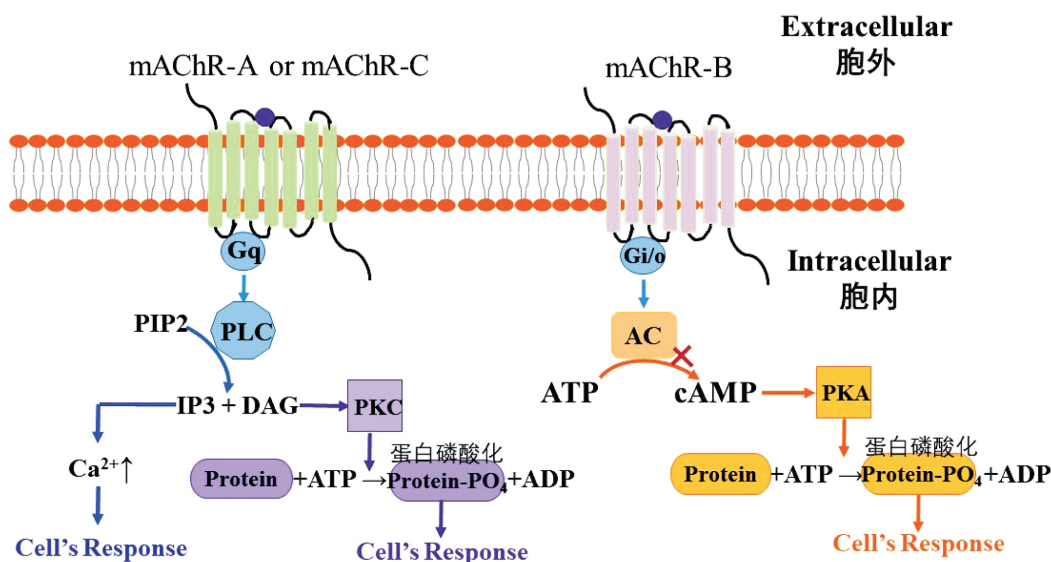


图 2 昆虫 mAChR 的信号转导途径 (修改自 Felder *et al.* (1989))

Fig. 2 Signaling pathways of insect mAChRs (adapted from Felder *et al.* (1989))

注: PLC, 磷脂酶 C; PIP_2 , 4, 5-二磷酸磷脂酰肌醇; IP_3 , 三磷酸肌醇; DAG, 二酰甘油; PKC, 蛋白激酶 C; ATP, 三磷酸腺苷; ADP, 二磷酸腺苷; AC, 腺苷酸环化酶; cAMP, 环腺苷酸; PKA, 蛋白激酶 A。Note: PLC, Phospholipase C; PIP_2 , Phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate; IP_3 , Inositol triphosphate; DAG, Diacylglycerol; PKC, Protein kinase C; ATP, Adenosine triphosphate; ADP, Adenosine diphosphate; AC, Adenylyl cyclase; cAMP, Cyclic adenosine monophosphate; PKA, Protein kinase A.

3 昆虫 mAChRs 的药理学特征

目前对昆虫 mAChRs 的研究主要集中在药理学性质上 (表 3)。脊椎动物 5 种类型 mAChRs 均可被传统的激动剂毒蕈碱充分激活, 并被拮抗剂阿托品阻断 (Caulfield and Birdsall, 1998)。非选择性拮抗剂二苯羟乙酸-3-奎宁环酯 (3-quinuclidinyl benzilate, QNB)、东莨菪碱和阿托品对果蝇 DM1 的亲合性最高, 但对蝇类的毒性较轻 (Honda *et al.*, 2007)。昆虫 mAChRs 根据药理学性质分为三大类: mAChR-A 与脊椎动物 mAChRs (M1-M5) 的药理学特性相似, 可以被乙酰胆碱、毒蕈碱激活, 也能被传统的拮抗剂阿托品、东莨

菪碱及 QNB 抑制; mAChR-B 虽然对乙酰胆碱很敏感, 但对毒蕈碱的敏感性要低 1 000 倍, 且对上述传统的拮抗剂均不起作用 (Collin *et al.*, 2013); mAChR-C 的药理学特征与 A 亚型相近, 与 B 亚型不同, 可以被氧化震颤素 M 激活, 传统的拮抗剂阿托品和东莨菪碱在 $100 \mu\text{M}$ 时可以完全阻断 $100 \mu\text{M}$ 乙酰胆碱引起的反应 (Xia *et al.*, 2016)。通过与烟草天蛾幼虫高亲和 QNB 结合位点的结合分析, 发现烟草天蛾 mAChRs 具有异质性, 其中一些受体对吡啶敏感, 一些对吡啶不敏感 (Qazi *et al.*, 1996)。在摇蚊的药理学实验中发现与放射标记 QNB 的竞争顺序为 QNB > 阿托品 > 氧化震颤素, 哌仑西平 > 美索曲明 (Wegener *et al.*, 1996)。1,2,4-恶二唑和 1,2,4-噻二唑作为 mAChR

激动剂,对褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 等所测昆虫均表现良好的杀虫活性,衍生物 3-甲基-1,2,4-噁二唑-2,2,1-四氢吡啶在蝇类神经组织中起着毒蕈碱激动剂的作用 (Dick *et al.*, 1997); 1,2,4-噁二唑的衍生物 3-甲基-5-(1,2,5,6-四氢吡啶-3-基)-1,2,4-噁二唑对褐飞虱的杀虫活性最高 (Suzuki *et al.*, 2011)。目前没有针对 mAChRs 开发的农药, mAChR 的激动剂和拮抗剂及其衍生物可作为杀虫剂的潜在资源。

4 昆虫 mAChRs 的功能

目前主要通过免疫组化的方法研究 mAChRs 在昆虫体内的分布,该类受体广泛存在于昆虫的神经系统中。Blake 等发现黑腹果蝇 mAChR 主要位于大脑的触角叶,在肌肉组织中不表达 (Blake *et al.*, 1993)。烟草天蛾 mAChR 在触角中有表达 (Torkkeli *et al.*, 2004),并且触角中除了感觉神经元,胶质细胞和表皮细胞中也存在 mAChR (Clark *et al.*, 2005)。拟黑多刺蚁 mAChR 在卵期及整个幼虫期均有表达,并且各个品级蚂蚁的脑部都广泛表达 mAChR,脑部又以蘑菇体、触角叶和视叶中表达量较高 (Lu *et al.*, 2011)。关于昆虫 mAChRs 功能方面的研究,以下从运动行为、生长发育、感觉系统及学习记忆等方面进行总结。

4.1 运动行为

通过药理学的方法证明了用 mAChR 激动剂处理美洲大蠊 *Periplaneta americana* 可以使触角长时间有节奏的运动,而拮抗剂可以抑制激动剂诱导的节律运动 (Okada *et al.*, 2009)。同样在竹节虫 *Carausius morosus* 上用激动剂处理也发现 mAChR 对其持续、有节奏的触角运动有影响 (Krause *et al.*, 2013)。章鱼胺等胺类物质和毒蕈碱激动剂可以激活沙漠蝗的飞行启动神经元,毒蕈碱的飞行激活不依赖于生物胺,而胺能的飞行启动需要 mAChR (Buhl *et al.*, 2008)。毒蕈碱激活黑腹果蝇 mAChR 能降低幼虫的运动速度,而 mAChR 拮抗剂抑制这种作用。利用 RNAi 发现黑腹果蝇运动神经元中 mAChR-A 水平的降低并没有显著改变运动行为,但干扰运动神经元中 mAChR-C 的表达,以及干扰泛神经元中 mAChR-C 或者 mAChR-A 的表达均显著增强黑腹果蝇运动能力,说明 mAChR-A 和 mAChR-C 在调节昆虫运动行为方面发挥作用 (Malloy *et al.*, 2019)。

4.2 生长发育

雄性劳氏粘虫 *Mythimna loreyi* 咽侧体中保幼激素的释放可被卡巴胆碱而非尼古丁显著激活,表明这种胆碱能效应可能是由 mAChR 引起的。此外通过药理学方法证明粘虫雄性成虫咽侧体的胆碱能调节是由类似于 M2 和 M3 受体的 mAChR 介导的 (Kou, 2002)。研究报道 mAChR 在家蚕的心侧体/咽侧体 (corpus cardiacum/corpus allatum, CC/CA) 复合体中有表达,该结构参与多种昆虫神经激素的分泌,如促前胸腺激素 (prothoracicotropic hormone, PTTH) 或者家蚕素 (一种昆虫胰岛素样肽, insulin-like peptides, ILPs, 在决定昆虫生长速率和大小、代谢特性、抗逆性和繁殖力等方面起着关键作用) (Shirai *et al.*, 2001)。家蚕产生 PTTH 的神经分泌细胞中表达一种 mAChR (Aizono *et al.*, 1997),且 CC/CA 复合体中 ILPs 的分泌受 mAChR 的调控 (Shirai *et al.*, 2001)。通过研究黄粉虫 *Tenebrio molitor* 营养组织中代谢物水平,发现 mAChRs 在糖原水平、血淋巴总糖浓度、ILPs 水平等代谢调节中起重要作用,但不排除烟碱型受体的参与 (Chowański *et al.*, 2018)。

另外, mAChR 在沙漠蝗前肠的收缩中起重要作用 (Hinton *et al.*, 1998)。研究发现 mAChR 存在于黑腹果蝇幼虫的心脏组织中,毒蕈碱在低浓度和高浓度均可增加心率,表明 mAChR 在调节幼虫心率方面具有重要的作用 (Malloy *et al.*, 2016)。腹中神经节 (mid-ventral ganglion, mVG) 的谷氨酸能神经元在营养胁迫条件下通过 mAChR 调节昆虫化蛹,所以当食物中蛋白质缺乏时, mVG 中 mAChR 或者 IP₃R 缺失会影响果蝇幼虫化蛹 (Jayakumar *et al.*, 2016)。

4.3 感觉系统及学习记忆

西方蜜蜂 *Apis mellifera* 和收获蚁 *Pogonomyrmex barbatus* 能够区分同巢者和非同巢者与 mAChR 有关。药理学实验证明 mAChR 的拮抗剂处理蜜蜂和收获蚁都会干扰其对同巢者的识别能力,增加对同巢者的攻击,但是这种药物处理不影响嗅觉,也没有改变实验昆虫的运动能力,说明 mAChR 起气味记忆检索的作用 (Ismail *et al.*, 2008; Coates and Robertson, 2013)。

用 mAChR 激动剂匹罗卡品处理有一周自然觅食经验的蜜蜂,可使其蘑菇体神经纤维网的体积增加 (Ismail *et al.*, 2006)。Dobrin 等用匹罗卡品和东莨菪碱处理幼蜂和觅食蜜蜂,证明 mAChR 可

表 1 昆虫 mAChRs 的药理学性质
Table 1 Pharmacological properties of insect mAChRs

物种 Species	受体名 Receptor name	登录号 GenBank accession number	功能 Function	细胞反应 Cellular response	表达模式 Expression pattern	激动剂 Agonists (EC ₅₀ or K _i)	拮抗剂 Antagonists (EC ₅₀ or K _i)	表达 细胞系 Cell line	文献 Reference
西方蜜蜂 <i>Apis mellifera</i>	mAChR	-	识别同伴 Distinguish nestmates、神经 纤维网体积增 加 Increase in neurolil volume	提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i	脑 Brain	Pilocarpine	Scopolamine	-	Ismail <i>et al.</i> , 2008; Dobrin <i>et al.</i> , 2011
家蚕 <i>Bombyx mori</i>	mAChR	-	-	-	脑-心侧体-咽侧体 复合体 Brain-corpus cardiacum-corpus allatum complex, PTTH 神经内分泌细胞 PTTH neurosecretory cells	Carbachol	Atropine	-	Aizono <i>et al.</i> , 1997; Shirai <i>et al.</i> , 2001
竹节虫 <i>Carausius morosus</i>	mAChR	-	行走、触角节律 性运动 Rhythmic motion of locomotion and antenna	提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i	腿部运动神经元 Leg motoneuron somata、头 神经节 Head ganglia、 中枢神经模式发生器 Central pattern generators	Muscarine、 oxotremorine、 pilocarpine	Atropine	-	Oliveira <i>et al.</i> 2010; Krause <i>et al.</i> , 2013; Mantziaris <i>et al.</i> , 2017
摇蚊 <i>Chironomus tentans</i>	mAChR	-	-	-	上皮细胞 Epithelial Cell	-	QNB > atropine > propylbenzylcholine mustard > oxotremorine = pirenzepine > methoctramine. 4-DAMP (3.7 × 10 ⁻⁹ M) > pirenzepine (2.48 × 10 ⁻⁷ M) > methoctramine (7.07 × 10 ⁻⁷ M)	-	Wegener <i>et al.</i> , 1996
烟草天蛾 <i>Manduca sexta</i>	mAChR	-	-	-	幼虫的腹神经索 Larval abdominal nerve cords	-	-	-	Qaziet <i>et al.</i> , 1996

续表 1 Continued table 1

物种 Species	受体名 Receptor name	登录号 GenBank accession number	功能 Function	细胞反应 Cellular response	表达模式 Expression pattern	激动剂 Agonists (EC ₅₀ or K _i)	拮抗剂 Antagonists (EC ₅₀ or K _i)	表达 细胞系 Cell line	文献 Reference
黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	DM1、 mAChR-A	M27495、 M23412、 FBgn0000037、 JQ922420、 JG922421	激活磷脂酶 C. Activates	提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i ;	Thorax、蛹 Pupa、雄性 成虫 Male adult、唾液 腺 Larval salivary gland、神经系统 Nervous system、触角 叶 Antennal lobes、触 角叶肾小球 Antennal lobe glomeruli、成虫 Kenyon 细胞 Adult Kenyon cell	Acetylcholine(5 × 10 ⁻⁸ M) > muscarine(6 × 10 ⁻⁸ M) > carbachol (5 × 10 ⁻⁷ M) > oxotremorine(1.9 × 10 ⁻⁶ M) > carbachol (2.2 × 10 ⁻⁶ M)	QNB (8.6 × 10 ⁻¹¹ M) > atropine(8.2 × 10 ⁻¹⁰ M) >4-DAMP(1.4 × 10 ⁻⁸ M) > pirenzepine (5.7 × 10 ⁻⁷ M) >AFDX- 116(1.1 × 10 ⁻⁵ M)	Y1 Cell、 COS-7、 <i>Drosophila</i> S2 cell line、 CHO-K1	Shapiro <i>et al.</i> , 1989; Onai <i>et al.</i> , 1989; Blake <i>et al.</i> , 1993; Harrison <i>et al.</i> , 1995 Cordova <i>et al.</i> , 2003 Collin <i>et al.</i> , 2013; Ren <i>et al.</i> , 2015; Bielopolski <i>et al.</i> , 2019
			C.厌恶性嗅 觉学习 Aversive olfactory learning						
			-		提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i ;	头部 Head、蛹 Pupa、 雄性成虫 Male adult	Acetylcholine(3 × 10 ⁻⁷ M) > muscarine(more than 3 × 10 ⁻⁴ M)	-	CHO-K1
	mAChR-B	JX028234、 JX028235	-	提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i ;	头部 Head	Oxotremorine M(4.8 × 10 ⁻⁸ M) > acetylcholine (7.3 × 10 ⁻⁸ M)	Atropine、 scopolamine	CHO-K1	Xia <i>et al.</i> , 2016
	mAChR-C	AAF46208	-	提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i ;	头部 Head				
	mAChR	-	-	-	脑 Brain				Honda <i>et al.</i> , 2007

续表 1 Continued table 1

物种 Species	受体名 Receptor name	登录号 GenBank accession number	功能 Function	细胞反应 Cellular response	表达模式 Expression pattern	激动剂 Agonists (EC ₅₀ or K _i)	拮抗剂 Antagonists (EC ₅₀ or K _i)	表达 细胞系 Cell line	文献 Reference
黄斑黑蟋蟀 <i>Gryllus bimaculatus</i>	mAChR	-	-	-	蘑菇体 Mushroom bodies	-	Atropine, scopolamine	-	Terazima and Yoshino, 2010
家蝇 <i>Musca domestica</i>	mAChR	-	-	提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i	脑 Brain	MOQ、5- methylfurmethiodide、 arecaidine but-2-ynyl ester、pilocarpine、 arecaidine propargyl ester、oxotremorine、 aceclidine	Scopolamine, atropine、 AF-DX384、DAU5884、 4-DAMP、(S)-(+)- dimethindene、 pirenzepine、AF- DX116、PD102807、 methoctramine	-	Honda <i>et al.</i> , 2007
劳氏粘虫 <i>Mythimna loreyi</i>	mAChR	-	激活咽侧体 释放保幼激 素酸 Activate juvenile hormone acids release from the corpora allata	提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i	咽侧体 Corpora allata	Carbachol	Gallamine triethiodide、 4-DAMP	-	Kou, 2002
对粘虫 <i>Mythimna separata</i>	mAChR-A	KY296116	-	提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i	马氏管 Malpighian tubules、卵巢 Ovary、 脂肪体 Fat body、头 部 Head.	Carbachol (1.25 × 10 ⁻⁷ M) > muscarine (3.88 × 10 ⁻⁷ M)	Atropine	HEK 293	Li <i>et al.</i> , 2020
拟黑多刺蚁 <i>Polyrhachis vicina</i>	Pv mAChR	EU573239	-	-	脑 Brain	-	-	-	Lu <i>et al.</i> , 2011

续表 1 Continued table 1

物种 Species	受体名 Receptor name	登录号 GenBank accession number	功能 Function	细胞反应 Cellular response	表达模式 Expression pattern	激动剂 Agonists (EC ₅₀ or K _i)	拮抗剂 Antagonists (EC ₅₀ or K _i)	表达 细胞系 Cell line	文献 Reference
沙漠蝗 <i>Schistocerca gregaria</i>	mAChR	-	前肠收缩、启动飞行 Contraction of the foregut, flight initiation	提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i	前肠 Foregut、飞行启动神经元 Flight-initiating interneurone	Proctolin (5×10^{-10} M) > ACh (1.9×10^{-8} M)、pilocarpine、carbachol	Atropine、scopolamine、tubocurarine	-	Hinton <i>et al.</i> , 1998 Buhl <i>et al.</i> , 2008
黄粉虫 <i>Tenebrio molitor</i>	mAChR	-	调节代谢 Regulation of metabolism	提高胞内 Ca ²⁺ 浓度 Stimulation of [Ca ²⁺] _i	幼虫 Larvae	ACh、carbachol、pilocarpine	Scopolamine、atropine	-	Chowński <i>et al.</i> , 2018
赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i>	mAChR-A	JX174094	-	-	-	Acetylcholine (3×10^{-8} M) > muscarine (9×10^{-8} M)	Atropine、scopolamine、QNB	CHO-K1	Collin <i>et al.</i> , 2013
	mAChR-B	JQ860106、JQ860107	-	-	-	Acetylcholine (3×10^{-8} M) > muscarine (3×10^{-6} M)	-	CHO-K1	Collin <i>et al.</i> , 2013

注: EC₅₀, 有效中浓度; K_i, 抑制常数; Y1 Cell, 小鼠 Y1 肾上腺瘤细胞; COS-7, 起源于 CV-1 (simian) 且携带 SV40 遗传物质的细胞; CHO, 中国仓鼠卵巢细胞; HEK 293, 人胚肾细胞; QNB, 二苯羟乙酸-3-奎宁环酯; 4-DAMP, 4-二甲氨基苯酚; MOQ, 3-(3-甲基-1,2,4-恶二唑-5-基)奎宁环; ACh, 乙酰胆碱。Note: EC₅₀, Median effective concentration; K_i, Inhibition concentration; Y1 Cell, Mouse Y1 adrenal carcinoma cells; COS-7, Cell being CV-1 (simian) in origin, and carrying the SV40 genetic material; CHO, Chinese hamster ovary cells; HEK 293, Human embryonic kidney cell; QNB, 3-quinuclidinyl benzilate; 4-DAMP, 4-diphenylacetoxy-N-methylpiperidine methiodide; MOQ, 3-(3-methyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl) quinuclidine; ACh, acetylcholine.

以影响蜜蜂蘑菇体的生长, 揭示了毒蕈碱在调节大脑可塑性方面的进化保守作用 (Dobrin *et al.*, 2011)。研究者发现黄斑黑蟋蟀 *Gryllus bimaculatus* 的 mAChR 可能与嗅觉联想学习中长期记忆的形成有关 (Terazima and Yoshino, 2010; Hasebe and Yoshino, 2016)。

通过免疫组化发现, 黑腹果蝇幼虫 mAChR-A 主要定位于中枢神经系统蘑菇体的蕈体萼和蕈体叶上, 通过 RNAi 特异性干扰蘑菇体中 mAChR-A 的表达可以完全抑制幼虫新厌恶性嗅觉记忆的形成, 并降低学习能力, 表明 mAChR-A 是果蝇幼虫厌恶性嗅觉学习所必需的 (Silva *et al.*, 2015)。Bielopolski 等也证明了黑腹果蝇成虫的厌恶性嗅觉学习和短期记忆需要 mAChR-A, 同时发现 mAChR-A 在 Kenyon 细胞的树突中起作用, 抑制气味反应 (Bielopolski *et al.*, 2019)。有研究报道, mAChR-A 在黑腹果蝇的触角叶中广泛表达, 作用于 GABA 抑制性局部神经元 (inhibitory local neurons, iLNs) 的一个亚群, 通过药理学和遗传学手段证明 mAChR-A 可以增加 iLNs 的兴奋性, 并增加 iLN 对气味的反应和减少嗅觉受体神经元 (olfactory receptor neurons, ORNs) 和 iLNs 之间突触所产生的短期抑制; 还可以间接抑制兴奋性投射神经元 (excitatory projection neurons, ePNs) 对气味的作用 (Rozenfeld *et al.*, 2019)。

mAChR 通过激活 NO/cGMP/PKG 信号级联调节 Kenyon 细胞 (Terazima and Yoshino, 2010), 而 NO 不仅参与嗅觉记忆 (Su and O'Dowd, 2003), NO/cGMP/PKG 在中央复合体内参与果蝇的视觉图形记忆 (Wang *et al.*, 2008), 说明 mAChR 可能与视觉相关。通过药理学和钙成像技术发现, A 型或者 C 型 mAChR 有助于增强若隐若现物体的辨别能力 (Zhu *et al.*, 2018)。黑腹果蝇 mAChR-B 在视觉回路的谷氨酸能中间神经元 (glutamatergic interneuron, glu-IOLP) 中表达, 而 glu-IOLP 只对光线的减弱 (OFF) 有 Ca^{2+} 立即升高的反应, 这表明 glu-IOLP 是被 OFF 激活的; 敲除 mAChR-B 可以消除 glu-IOLP 诱导 OFF 的 Ca^{2+} 瞬变, 表明 mAChR-B/ $G_{\alpha o}$ 信号调节 glu-IOLP 中 OFF 响应 (Qin *et al.*, 2019)。

4.4 其它

在绿牧草蝗 *Omocestus viridulus* 和异翅雏蝗 *Chorthippus biguttulus* 的脑部中央复合体小剂量注射 mAChR 激动剂会导致蝗虫鸣声更加尖锐且持续

时间更长, 并伴随发声的间隔时间缩短, 表明蝗虫的鸣声与 mAChR 的激活有关 (Wenzel *et al.*, 2002)。研究还发现昆虫 mAChR 信号与其它神经递质系统之间的串扰, 如毒蕈碱拮抗剂阿托品可以阻断黑腹果蝇中枢神经系统中由章鱼胺引起的持续性神经兴奋 (Gross and Bloomquist, 2018)。

5 小结与展望

新烟碱类杀虫剂如吡虫啉和噻虫嗪等作为 nAChR 激动剂, 对多种昆虫都有杀虫活性, 世界范围内已经有多种新烟碱类杀虫剂投入使用 (李健和巨修炼, 2007)。随之而来的害虫抗药性问题有待解决, 因此开发新型杀虫剂非常必要。mAChRs 是昆虫神经系统中重要的神经递质受体, 属于 GPCR 家族。昆虫 GPCRs 在调控生殖、渗透、生长发育等方面具有重要作用 (Jiang *et al.*, 2017), 也是最常被开发的药物靶点之一 (Audsley and Down, 2015; Hill *et al.*, 2018)。因此, mAChR 是潜在的杀虫剂作用靶标 (Dick *et al.*, 1997)。已有一些研究利用 mAChR 防治害虫, 例如, 驱蚊剂 N, N-二乙基-3-甲基苯甲酰胺 (N, N-Diethyl-3-methylbenzamide, DEET) 对昆虫 mAChRs 具有选择性高亲和力, 进而增强氨基甲酸酯残杀威的活性, 因此 mAChRs 能够促进 DEET 和残杀威之间的协同作用, 从而提高雌性埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 的死亡率 (Abd-Ella *et al.*, 2015)。另外, 杀虫剂 IR3535 (10 nM) 通过 mAChRs 的原位激活提高 Ca^{2+} 浓度, 增强新烟碱类杀虫剂噻虫啉的效果 (Moreau *et al.*, 2020)。

脊椎动物 mAChRs 的作用是众所周知的, 它是多种药物的靶标位点 (Felder *et al.*, 2000; Kruse *et al.*, 2014; Navarria *et al.*, 2015)。脊椎动物 mAChRs 的拮抗剂可减轻炎症反应, 被广泛应用于人类疾病的治疗 (Sales, 2010)。M3 受体调控小鼠对巴西日圆线虫 *Nippostrongylus brasiliensis* 和肠道沙门氏菌 *Salmonella enterica* 的适应性免疫反应 (Darby *et al.*, 2015)。而在牡蛎 *Crassostrea gigas* 和秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 中也发现毒蕈碱信号在宿主免疫反应中起关键作用 (Liu *et al.*, 2016; Labed *et al.*, 2018)。这为昆虫 mAChRs 的功能研究提供了一个新的方向。

目前有关昆虫体内 mAChRs 的研究还不够, 研究的昆虫种类还不多。早期人们对昆虫 mAChRs

的研究都没有明确的分类,直到 2016 年有研究报告昆虫 mAChRs 分为 A、B 和 C 3 种类型, C 型与 A 型的药理学性质相似;与脊椎动物相比, B 型是无脊椎动物所特有的类型 (Collin *et al.*, 2013; Xia *et al.*, 2016)。昆虫 (原口动物) 和脊椎动物 (后口动物) 的 mAChRs 大约在 7 亿年前分裂 (Ren *et al.*, 2015)。B 型 mAChR 与脊椎动物 mAChRs 的药理学特性存在较大差异,脊椎动物和昆虫 mAChRs 之间的药理学性质差异可能是发现特异作用于昆虫 mAChRs 的新化学物质的关键 (Gross and Bloomquist, 2018)。因此加强对 mAChRs 药理学、信号转导和功能的研究,特别是无脊椎动物特有的 B 型 mAChR 的功能研究,可为新型杀虫剂的开发提供思路。

参考文献 (References)

- Abd-Ella A, Stankiewicz M, Mikulska K, *et al.* The repellent DEET potentiates carbamate effects via insect muscarinic receptor interactions: An alternative strategy to control insect vector-borne diseases [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10 (5): e126406.
- Aizono Y, Endo Y, Sattelle DB, *et al.* Prothoracicotrophic hormone-producing neurosecretory cells in the silkworm, *Bombyx mori*, express a muscarinic acetylcholine receptor [J]. *Brain Research*, 1997, 763: 131–136.
- Audsley N, Down RE. G protein coupled receptors as targets for next generation pesticides [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2015, 67: 27–37.
- Bielopolski N, Amin H, Apostolopoulou AA, *et al.* Inhibitory muscarinic acetylcholine receptors enhance aversive olfactory learning in adult *Drosophila* [J]. *eLife*, 2019, 8: e48264.
- Blake AD, Anthony NM, Chen HH, *et al.* *Drosophila* nervous system muscarinic acetylcholine receptor: Transient functional expression and localization by immunocytochemistry [J]. *Molecular Pharmacology*, 1993, 44: 716–724.
- Buhl E, Schildberger K, Stevenson PA. A muscarinic cholinergic mechanism underlies activation of the central pattern generator for locust flight [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2008, 211: 2346–2357.
- Caulfield MP, Birdsall NJ. International union of pharmacology. XVII. classification of muscarinic acetylcholine receptors [J]. *Pharmacological Reviews*, 1998, 50 (2): 279–290.
- Chowański S, Pacholska-Bogalska J, Rosiński G. Cholinergic agonists and antagonists have an effect on the metabolism of the beetle *Tenebrio Molitor* [J]. *Molecules*, 2019, 24 (1): 17.
- Clark J, Meisner S, Torkkeli PH. Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase and muscarinic ACh receptors in the antenna during development of the sphinx moth *Manduca sexta* [J]. *Cell and Tissue Research*, 2005, 320 (1): 163–173.
- Coates K, Robertson K. Muscarinic acetylcholine receptors are required for nestmate – odor memory retrieval but not for olfaction in harvester ants (*Pogonomyrmex barbatus*) [J]. *BIOS*, 2013, 84 (3): 158–164.
- Collin C, Hauser F, de Valdivia EG, *et al.* Two types of muscarinic acetylcholine receptors in *Drosophila* and other arthropods [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2013, 70: 3231–3242.
- Cordova D, Delpech VR, Sattelle DB, *et al.* Spatiotemporal calcium signaling in a *Drosophila melanogaster* cell line stably expressing a *Drosophila* muscarinic acetylcholine receptor [J]. *Invertebrate Neuroscience*, 2003, 5 (1): 19–28.
- Darby M, Schnoeller C, Vira A, *et al.* The M3 muscarinic receptor is required for optimal adaptive immunity to helminth and bacterial infection [J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11 (1): e1004636.
- Dick MR, Dripps JE, Orr N. Muscarinic agonists as insecticides and acaricides [J]. *Pesticide Science*, 1997, 49 (3): 268–276.
- Dobrin SE, Herlihy JD, Robinson GE, *et al.* Muscarinic regulation of Kenyon cell dendritic arborizations in adult worker honey bees [J]. *Arthropod Structure & Development*, 2011, 40: 409–419.
- Eldefrawi ME, Eldefrawi AT. Comparative molecular and pharmacological properties of cholinergic receptors in insects and mammals [J]. *American Chemical Society*, 1997, 658: 327–338.
- Felder CC, Bymaster FP, Ward J, *et al.* Therapeutic opportunities for muscarinic receptors in the central nervous system [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2000, 43 (23): 4333–4353.
- Feng YT, Xu BY, Wu QJ, *et al.* Advances in the molecular target for insecticides of nicotinic acetylcholine receptors [J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2009, 11 (2): 149–158. 尉云涛, 徐宝云, 吴青君, 等. 杀虫剂分子靶标烟碱型乙酰胆碱受体研究进展 [J]. *农药学报*, 2009, 11 (2): 149–158.
- Gross AD, Bloomquist JR. Pharmacology of central octopaminergic and muscarinic pathways in *Drosophila melanogaster* larvae: Assessing the target potential of GPCRs [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018, 151: 53–58.
- Harrison JB, Chen HH, Blake AD, *et al.* Localization in the nervous system of *Drosophila melanogaster* of a C-terminus anti-peptide antibody to a cloned *Drosophila* muscarinic acetylcholine receptor [J]. *Journal of Neuroendocrinology*, 1995, 7: 347–352.
- Hasebe M, Yoshino M. Nitric oxide/cGMP/PKG signaling pathway activated by M1-type muscarinic acetylcholine receptor cascade inhibits Na⁺-activated K⁺ currents in Kenyon cells [J]. *Journal of Neurophysiology*, 2016, 115 (6): 3174–3185.
- Hauser F, Cazzamali G, Williamson M, *et al.* A review of neurohormone GPCRs present in the fruitfly *Drosophila melanogaster* and the honey bee *Apis mellifera* [J]. *Progress in Neurobiology*, 2006, 80 (1): 1–19.
- Hill CA, Sharan S, Watts VJ. Genomics, GPCRs and new targets for the control of insect pests and vectors [J]. *Current Opinion in Insect Science*, 2018, 30: 99–106.
- Hinton JM, Nejad M, Issberner JP, *et al.* Muscarinic acetylcholine and proctolin receptors in the foregut of the locust *Schistocerca gregaria*: Role of inositol phosphates, protein kinase C and calcium in second messenger effects [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*,

- 1998, 28 (5): 331 – 343.
- Honda H, Tomizawa M, Casida JE. Insect muscarinic acetylcholine receptor: Pharmacological and toxicological profiles of antagonists and agonists [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55 (6): 2276 – 2281.
- Ismail N, Christine S, Robinson GE, et al. Pilocarpine improves recognition of nestmates in young honey bees [J]. *Neuroscience Letters*, 2008, 439 (2): 178 – 181.
- Ismail N, Robinson GE, Fahrbach SE. Stimulation of muscarinic receptors mimics experience – dependent plasticity in the honey bee brain [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103 (1): 207 – 211.
- Jayakumar S, Richhariya S, Reddy OV, et al. *Drosophila* larval to pupal switch under nutrient stress requires IP_3 R/ Ca^{2+} signalling in glutamatergic interneurons [J]. *eLife*, 2016, 5: e17495.
- Kou R. Cholinergic regulation of the corpora allata in adult male loyeyi leafworm *Mythimna loyeyi* [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2002, 49: 215 – 224.
- Krause AF, Winkler A, Dürr V. Central drive and proprioceptive control of antennal movements in the walking stick insect [J]. *Journal of Physiology – Paris*, 2013, 107: 116 – 129.
- Kruse AC, Kobilka BK, Gautam D, et al. Muscarinic acetylcholine receptors: Novel opportunities for drug development [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2014, 13 (7): 549 – 560.
- Labe SA, Wani KA, Jagadeesan S, et al. Intestinal epithelial Wnt signaling mediates acetylcholine – triggered host defense against infection [J]. *Immunity*, 2018, 48: 963 – 978.
- Li CH, Cui SY, Gu YY, et al. Research advances in G protein coupled receptor [J]. *Bulletin of Sericulture*, 2019, 50 (2): 4 – 15. [李聪慧, 崔诗瑶, 顾燕燕, 等. G 蛋白偶联受体的研究进展 [J]. 蚕桑通报, 2019, 50 (2): 4 – 15]
- Li J, Ju XL. The recent advances of the nicotinic acetylcholine receptor and its agonists [J]. *World Pesticides*, 2007, 29 (5): 1 – 5. [李健, 巨修炼. 烟碱乙酰胆碱受体及其激动剂的研究进展 [J]. 世界农药, 2007, 29 (5): 1 – 5]
- Liu Z, Zhou Z, Wang L, et al. The cholinergic immune regulation mediated by a novel muscarinic acetylcholine receptor through TNF pathway in oyster *Crassostrea gigas* [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2016, 65: 139 – 148.
- Lü S, Jiang M, Tian X, et al. Characterization of an A – type muscarinic acetylcholine receptor and its possible non – neuronal role in the oriental armyworm, *Mythimna separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Frontiers in Physiology*, 2020, 11: 400.
- Lu S, Zhao Z, Li K, et al. Cloning and expression analysis of a muscarinic cholinergic receptor from the brain of ant, *Polyrhachis vicina* [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2011, 78 (1): 46 – 60.
- Malloy CA, Ritter K, Robinson J, et al. Pharmacological identification of cholinergic receptor subtypes on *Drosophila melanogaster* larval heart [J]. *Journal of Comparative Physiology-B*, 2016, 186 (1): 45 – 57.
- Malloy CA, Somasundaram E, Omar A, et al. Pharmacological identification of cholinergic receptor subtypes: Modulation of locomotion and neural circuit excitability in *Drosophila* larvae [J]. *Neuroscience*, 2019, 411: 47 – 64.
- Mantziaris C, Bockemühl T, Holmes P, et al. Intra – and intersegmental influences among central pattern generating networks in the walking system of the stick insect [J]. *Journal of Neurophysiology*, 2017, 118: 2296 – 2310.
- Moreau E, Mikulska – Ruminska K, Goulu M, et al. Orthosteric muscarinic receptor activation by the insect repellent IR3535 opens new prospects in insecticide – based vector control [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10 (1): 1 – 15.
- Navarria A, Wohleb ES, Voleti B, et al. Rapid antidepressant actions of scopolamine: Role of medial prefrontal cortex and M1 – subtype muscarinic acetylcholine receptors [J]. *Neurobiology of Disease*, 2015, 82: 254 – 261.
- Okada J, Morimoto Y, Toh Y. Antennal motor activity induced by pilocarpine in the American cockroach [J]. *Journal of Comparative Physiology A*, 2009, 195 (4): 351 – 363.
- Oliveira EE, Pippow A, Salgado VL, et al. Cholinergic currents in leg motoneurons of *Carausius morosus* [J]. *Journal of Neurophysiology*, 2010, 103 (5): 2770 – 2782.
- Onai T, FitzGerald MG, Arakawa S, et al. Cloning, sequence analysis and chromosome localization of a *Drosophila* muscarinic acetylcholine receptor [J]. *Federation of European Biochemical Societies*, 1989, 255 (2): 219 – 225.
- Qazi S, Proulx D, Trimmer BA. Characterization of muscarinic binding sites in the central nervous system of larval *Manduca* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1996, 26 (7): 721 – 732.
- Qin B, Humberg T, Kim A, et al. Muscarinic acetylcholine receptor signaling generates OFF selectivity in a simple visual circuit [J]. *Nature Communications*, 2019, 10 (1): 4093.
- Ren GR, Folke J, Hauser F, et al. The A – and B – type muscarinic acetylcholine receptors from *Drosophila melanogaster* couple to different second messenger pathways [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 462: 358 – 364.
- Rozenfeld E, Lerner H, Parnas M. Muscarinic modulation of antennal lobe GABAergic local neurons shapes odor coding and behavior [J]. *Cell Reports*, 2019, 29: 3253 – 3265.
- Sales ME. Muscarinic receptors as targets for anti – inflammatory therapy [J]. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 2010, 11 (11): 1239 – 1245.
- Shapiro RA, Wakimoto BT, Subers EM, et al. Characterization and functional expression in mammalian cells of genomic and cDNA clones encoding a *Drosophila* muscarinic acetylcholine receptor [J]. *Pharmacology*, 1989, 86: 9039 – 9043.
- Shirai Y, Jiang Y, Yoshioka S, et al. The release of an insect neuropeptide hormone, bombyxin, is regulated by muscarinic transmission in the brain – corpus cardiacum – corpus allatum complex of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) [J]. *Applied Entomology and Zoology*, 2001, 36 (4): 431 – 438.
- Silva B, Molina – Fernandez C, Ugalde MB, et al. Muscarinic ACh receptors contribute to aversive olfactory learning in *Drosophila* [J].

- Neural Plasticity*, 2015, 2015: 658918.
- Su H, O'Dowd DK. Fast synaptic currents in *Drosophila* mushroom body Kenyon cells are mediated by alpha-bungarotoxin-sensitive nicotinic acetylcholine receptors and picrotoxin-sensitive GABA receptors [J]. *Journal of Neuroscience*, 2003, 23 (27): 9246–9253.
- Suzuki J, Okamura D, Gushikawa T, et al. Synthesis and insecticidal activity of 1,2,4-oxadiazole and 1,2,4-thiadiazole derivatives [J]. *Journal of Pesticide Science*, 2011, 36 (3): 392–401.
- Terazima E, Yoshino M. Modulatory action of acetylcholine on the Na^+ -dependent action potentials in Kenyon cells isolated from the mushroom body of the cricket brain [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2010, 56 (12): 1746–1754.
- Torkkeli PH, Widmer A, Meisner S. Expression of muscarinic acetylcholine receptors and choline acetyltransferase enzyme in cultured antennal sensory neurons and non-neural cells of the developing moth *Manduca sexta* [J]. *Journal of Neurobiology*, 2004, 62 (3): 316–329.
- Turberg A, Schröder I, Wegener S, et al. Presence of muscarinic acetylcholine receptors in the cattle tick *Boophilus microplus* and in epithelial tissue culture cells of *Chironomus tentans* [J]. *Pest Management Science*, 1996, 48 (4): 389–398.
- Wang Z, Pan Y, Li W, et al. Visual pattern memory requires foraging function in the central complex of *Drosophila* [J]. *Learning & Memory*, 2008, 15 (3): 133–142.
- Wegener S, Spindler – Barth M, Spindler KD. A muscarinic acetylcholine receptor, present in the epithelial cell line from *Chironomus tentans* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 377 (12): 819–824.
- Wenzel B, Elsner N, Heinrich R. MACHRs in the grasshopper brain mediate excitation by activation of the AC/PKA and the PLC second-messenger pathways [J]. *Journal of Neurophysiology*, 2002, 87: 876–888.
- Xia RY, Li MQ, Wu YS, et al. A new family of insect muscarinic acetylcholine receptors [J]. *Insect Molecular Biology*, 2016, 25 (4): 362–369.
- Xia RY. Signaling and Pharmacology of Orphan Receptors CG12796 and CG13579 in *Drosophila melanogaster* [D]. Hangzhou: Zhejiang University Master Thesis, 2015. [夏仁英. 黑腹果蝇孤儿受体CG12796和CG13579的信号转导和药理学研究 [D]. 杭州: 浙江大学硕士论文, 2015]
- Zhu Y, Dewell RB, Wang H, et al. Pre-synaptic muscarinic excitation enhances the discrimination of looming stimuli in a collision-detection neuron [J]. *Cell Reports*, 2018, 23: 2365–2378.