

保幼激素分析方法研究进展

嵇保中^{*1}, 刘曙雯², 田 铃¹, 郭同斌³, 金 凤¹, 高 洁¹

(1. 南京林业大学, 南京 210037; 2. 南京中山陵园管理局, 南京 210014;

3. 徐州市林业站, 江苏徐州 221004)

摘 要:评述了保幼激素分析方法的进展, 包括放射化学测定法、高效液相色谱测定、气相色谱-质谱联用分析、放射免疫测定法、保幼激素结合蛋白测定法。引用文献 60 篇。

关键词:保幼激素; 分析方法; 评述

中图分类号: O65

文献标识码: A

1 引言

保幼激素(JH)是节肢动物的重要内激素, 调控生长发育、生殖、变态等许多生命过程。JH 在结构上属于倍半萜环氧甲基酯, 是小分子亲脂生理活性物质, 在生物体内以微量形式存在, 处于不断合成和降解的动态过程中。自 1934 年 Wigglesworth 发现 JH 以后很长时间, JH 主要通过结扎、器官切除和移植、生物测定等加以判断。1967 年 Roller 等用质谱、核磁共振等技术完成 JH 分子结构鉴定, 是现代仪器分析应用于 JH 测定的显著标志^[1-4]。随着放射免疫和色谱分析等技术的进步, JH 测定方法逐渐成熟。目前 JH 测定主要有: 放射化学法、高效液相色谱法、气相色谱-质谱法、放射免疫法、保幼激素结合蛋白法等。本文主要就不同测定方法的原理与方法、适用范围等方面的进展进行评述。

2 放射化学测定法(Radiochemical Assay, RCA)

RCA 法的建立源于 Metzler 等 1971 年的研究成果, 他们通过实验证实 S-腺苷甲硫氨酸是 JH 生物合成中的甲基供体。放射性同位素标记的甲硫氨酸(Methionine, Met)分子中的甲基, 可以结合到惜古比天蚕蛾(*Hyalophora cecropia*)的 JH 分子中, 随后的研究表明这种情况在其他昆虫中普遍存在, 为利用外源甲基供体研究 JH 生物合成奠定了理论基础。Tobe 等^[2]用质谱和高效液相色谱进一步研究了 JH 生物合成过程中 JH 前体化合物法尼酸与标记的 Met 利用情况, 查明了甲基供体与 JH 分子之间存在 1:1 的化学计量关系, 解决了利用外源甲基供体研究 JH 生物合成的理论问题。在此基础上, Pratt 和 Tobe 建立了测定 JH 生物合成和释放速率的 RCA 实验技术^[4,5]。RCA 的原理在于 JH 生物合成过程中, 以 Met 作为法尼酸酯化的甲基供体, 通过对 Met 甲基位碳或氢原子的放射性同位素标记, 使合成的 JH 带有放射性, 通过 JH 放射性测定, 跟踪器官 JH 合成情况^[6,7]。

根据 JH 分离纯化方法, 其 RCA 分为两种: 一种是用己二胺四乙酸和乙醇对整个培养体系内(培养器官和培养液)的 JH 进行提取, 加入甲基法尼酸和 JH 作内标, 混合后氯仿进一步提取, 提取物经氮气吹干后, 乙醚溶解, 再用薄层层析或 HPLC 分离, 获得法尼酸和 JH 组分, 制样后液闪计数^[3,6]。这种方法程序比较复杂, 但可同时测定 JH 和法尼酸等的合成情况; 另一种为分配测定法, 由 Feyereisen 等^[2]在原有 RCA 基础上改进而成。根据 JH 在水和有机相的分配差异, 直接用异辛烷萃取培养液内的 JH, 制样后测定放射性。该方法简便快捷, 省去复杂的分离纯化步骤。但只能测定释放到培养液内的 JH, 同时需做

收稿日期: 2005-10-20

修回日期: 2006-01-10

基金项目: 国家自然科学基金(No. 30271086, 30471399); 江苏省高校自然科学基金项目(04KJB180053)

通讯联系人: 嵇保中, 男, 博士, 教授, 主要从事昆虫生理生化研究。

空白(培养液内无咽侧体)对照测定,减去带到异辛烷相的非 J H 放射性^[6,7]。

器官在离体条件下的合成能力及其动态是分析 RCA 结果的重要参数^[8,9],器官合成能力受发育阶段及体内激素水平等因素的影响,甚至同一昆虫左、右侧咽侧体 J H 合成能力也有差异^[5]。培养基以及培养条件等也影响器官合成能力^[10-13]。为便于定量,一般采用不含 Met 的培养基质,使放射性标记的 Met 成为唯一的甲基供体,同时使用 3-辛硫基-1,1,1-3 氟-2-丙酮(OTFP)抑制 J H 酯酶活性^[14,24]。Met 分子中甲基含 C、H 两种原子,通过对 C、H 原子分别和共同标记,可以形成¹⁴CMet和³HMet以及¹⁴C³HMet三种标样试剂,目前使用的主要为³HMet,其次为¹⁴CMet。在标样试剂合成过程中,¹⁴C 或³H 对甲基上正常原子的实际取代与理论值之间存在差异,¹⁴C 与³H 标记的取代情况也有差别,因此用¹⁴C 或³H 标样试剂对结果会有差异。Yagi 等^[15]认为最好使用甲基¹⁴C 标记的 Met,或者采用¹⁴C 和³H 双重标记。

3 高效液相色谱测定法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

20 世纪 70 年代, HPLC 开始应用于 J H 的分离测定,目前已成为简便快捷的测定方法。研究对象和目的不同,样品制备和测定方法也不一致(表 1)。总体上, HPLC 在国外主要用于 J H 及其衍生物的分离,国内相关报道则采用已知 J H 标准品对照,进行 J H 滴度测定和种类鉴定。正相和反相 HPLC 均用于 J H 的分离测定,但反相 HPLC 应用较为普遍,其中 C18 反相柱,梯度乙腈洗脱较为常用^[20]。微小昆虫或特定器官内 J H 提取,一般经匀浆破碎,再加入试剂提取^[17]。液体材料(如血淋巴)则加入试剂直接提取。J H 提取的常用试剂有甲醇、乙醚、正己烷、乙腈等。由于组织材料中含有水分,而 J H 具有脂类物质特点,一般采用极性不同的试剂分步提取。为增加试剂对提取材料的亲和性,常采用极性递减的试剂系列,最初

Table 1 Application of HPLC to juvenile hormone analysis

Species and reference	Materials	Methods of J H extraction	Column and mobile phase
Philosamia cynthia ricini ^[16]	pupal hemolymph	extraction with methanol; conversion to J H-diol; TLC separation	RP: Zorbax ODS 3056 column; methanol: water (70 30, V/V)
Mythimna separata ^[17]	larval heamolymph	homogenization, extraction with (1) complexon of ether: methanol (1 1), (2) hexane	RP: Spher-C18 column; Methanol: water (80 20)
Nilaparvata lugens ^[18]	nymph, adult	ditto	RP: Spher-C18 column; Methanol: water (75 25, V/V)
Monochamus alternatus ^[19]	Larvae, pupae, adult ditto	RP: Restek C18 column; Methanol: water (68 32, V/V)	
Heliothis virescens、Romalea microptera ^[20]	heamolymph, Adult CA incubation	medium was extracted with isooctane; heamolymph was extracted with mixture of acetonitrile, PBS and isooctane	RP: Altech Econosil C18 column; 40 % ~ 100 % acetonitrile in water NP: Altech Silica column; hexane: ether (9 1, V/V)
Phormia regina ^[21]	CC CA complexes incubation	medium was extracted with isooctane	RP: Alltech C18 column; Acetonitrile (40 % ~ 100 %) in water
Heliothis virescens ^[22]	larval CC CA complexes incubation	ditto	RP: Phenomenex C18 column; 40 % ~ 100 % acetonitrile in water NP: Zorbax SiOH column; hexane: isopropanol (93 7, V/V)
Locusta migratoria migratorioides ^[23]	adult CA incubation	medium was extracted twice with hexane	RP: polymer column; 5 % ~ 80 % acetonitrile in Hepes NP: silica column; hexane: isopropanol (93 7, V/V)
Ceratitis capitata ^[24]	Adult CA incubation	ditto	RP; Merck C-18 column; 40 % ~ 80 % acetonitrile in water
Lacanobia oleracea ^[25]	larval CA incubation	medium was extracted with ethyl acetate.	RP; Aquapore RP-300 column; 12 % ~ 80 % acetonitrile/ 5mM Hepes
Procambarus clarkii ^[26]	adult male, s hemolymph	samples were extracted with (1) mixture of acetonitrile and NaCl, (2) hexane	NP: Microsorb-MV silica column 1 % ethyl ether/ hexane
Spodoptera frugiperda ^[27]	larval CA and adult CC-CA complexes incubation	J H extracted from the medium with isooctane	RP; Shiseido C18 column; 40 % ~ 100 % acetonitrile in water NP: Zorbax SiOH column; hexane/ isopropanol (93 7, V/V)

用极性较强的试剂,或极性与非极性试剂混合,得到 JH 初提物,再用非极性试剂进一步提取。为提高得率,非极性试剂提取一般重复多次。JH 分子中含有环氧基团和双键,为避免 JH 结构破坏,提取液中的试剂一般采用高纯氮气吹干,封口后低温(- 20 以下)保存待测^[28]。也可以用酸处理使环氧键打开,形成 10,11-JH 二醇,增加 JH 的极性,使其容易同其他脂类物质分离,提高提取得率和测定精度^[24,29-31]。

4 气相色谱-质谱联用技术(Gas Chromatography-Mass Spectroscopy, GC-MS)

GC-MS 测定 JH 的方法被认为是 JH 种类鉴定和含量检测最可靠的方法,目前已知的 JH 都是经质谱分析确定的。将器官离体培养与 GC-MS 检测配合使用,对器官分泌到培养基质内的产物进行鉴定,已成为发现新的 JH 和研究 JH 代谢产物的主要途径。近年来通过 GC-MS 测定(表 2),陆续发现 4 OH-JH、8 OH-JH、12 OH-JH、JHII,JHIII 二醇以及 JH、JH、JH 酸^[27,32,48]等可能的 JH 新成员。Bergot 等建立的方法包括样品内 JH 提取、分离纯化、衍生物制备和分离、GC-MS 测定等环节,目前仍然是较为常用的测定方法。

Table 2 Application of GC-MS to juvenile hormone analysis

Species	Stages examined	Species of JH homologs	Reference
Lucilia cuprina	larva and adult	J HB3	21
Phormia regina	adult CC incubation	J HB3;J H;MF	21
Locusta migratoria migratorioides	adult CC incubation	J H ;4 OH-JH ;8 OH-JH ;12 OH-JH	23;32
Procambarus clarkii	adult males	methyl farnesoate(MF)	26
Spodoptera frugiperda.	incubation with CA of larvae; adult female 's CG-CA complexes incubation	J H II,J H ;J H II diol; J H III diol	27
Periplaneta americana	adult females	J H	29
Lacanobia oleracea	larva,pupa and adult	J H0,J H ,J H ,J H	33
Diatraea grandiosella	hemolymph of pupal and adult	J H ,J H ,J H	34
Sesamia nonagrioides	larvae	J H	35
Sesamia nonagrioides	larvae	J H ,J H ,J H	36
Heliothis virescens	hemolymph of female	J H ,J H ,J H	37
Heliothis virescens	CC-CA complexes incubation; male accessory sex glands incubation	J H ,J H ,J H	38
Spodoptera littoralis	eggs and larvae; hemolymph of larvae	J H ,J H ,J H	39
Cydia pomonella ,	hemolymph pupal and adult stage	J H ,J H ,J H	40
Manduca sexta	adult female 's CG-CA complexes incubation	J H ,J H ,J H	41
Manduca Sexta; Heliothis virescens	adult female 's CG-CA complexes incubation	J H ,J H ,J H	42
Schistocerca gregaria ,	adult 's hemolymph	J H	43
Nilaparvata lugens	nymph;adult	J H ,J H	44
Coptotermes formosanus	workers, pre-soldiers, and soldiers	J H	45
Solenopsis invicta	Sexually mature female alates	J H	46
Solenopsis invicta	queens and workers	J H	47

Edwards 等^[33]提出“精确质谱”(Accurate Mass),采用 m/z 76.084 的碎片离子峰鉴定 JH,以排除污染离子的干扰。为简便程序,不制备衍生物,直接用 GC-MS 测定 JH 也获得成功。如 Yin 等^[21]采用电子轰击电离源和正化学电离源成功鉴定 JHB₃。唐健等^[44]用 HP6890-5973 气质联用仪联机化学工作站,测定褐飞虱若虫及羽化初期成虫体内 JH 滴度,JH、JH 回收率分别为 91.3%和 95.7%。

Teal 等^[42]提出毛细管气相色谱-化学电离源-离子阱质谱测定方法。该方法无需制备衍生物而直接测定 JH,测定范围达到 60~350 u,每种 JH 选择 6 种离子峰用于鉴定,不同 JH 同系物 6 个离子峰分别

为: m/z 111、153、161、217、245、263 (JH^-) ; m/z 111、139、147、203、231、249 (JH^-) ; m/z 111、125、147、189、217、235 (JH^-) 。6 种离子丰度与总离子丰度的关系用于定量,检出限达到 0.01 pmol,测定精度和可靠性优于 GC-MS 选择性离子扫描技术。GC-MS 离子阱质谱测定方法中采用化学电离源是比较温和的电离方法,样品在承受电子轰击前被反应气稀释,形成的图谱较为简单,准分子离子峰强。离子阱质量分析器结构小巧,能在极低压强下长时间储存离子。近年来,离子阱质量分析器获得的质谱图与标准质谱图已很好符合,可以利用标准图库通过计算机检索定性^[49]。

5 放射免疫测定(Radioimmunoassay, RIA)

JH (或 JH 酸)属于不完全抗原,不能形成高效价的抗体,必须与其他免疫原性分子结合以提高抗原性。Lauer 等^[2]就尝试通过 JH 分子中羧基碳位(C-1)和血清白蛋白结合,虽然抗体效价提高不大,但为 JH 与其他分子结合提高抗体效价提供了例证。目前,RIA 方法主要有 4 种^[2,4,50,51]:其中 Hunnicutt 等提出手性 RIA 法,目前成为昆虫血淋巴 JH 滴度检测的成熟方法^[52,53]。 JH 属于手性化合物,手性异构体之间理化性质相同,但生理效应和免疫识别方面往往存在很大差异。天然 JH 以外消旋形式存在,获得光学纯的手性异构体颇为不易。20 世纪 80 年代,出现了分离环氧化物手性异构体的色谱技术,使 JH 手性异构体色谱分离成为可能。Cusson 等^[54]提出的光学纯 JH 分离及其抗血清制备方法,首先通过 HPLC 从 JH 样品中分离出顺式异构体,再进一步分离纯化获得手性异构体。外消旋 JH 经 C-1 位和牛甲状腺球蛋白结合,再对新西兰白兔进行免疫处理,产生抗血清。RIA 反应表明, JH 的手性异构体可以提高反应的灵敏度和准确率。

RIA 灵敏度高,对特定测定对象,制作标准曲线后,重复测定方便,成本低。不同 JH 同系物或衍生物之间的交叉反应和脂类物质干扰是影响 RIA 精度主要因子,因此体内只有一种 JH 的生物最适于使用 RIA^[55-58],但体内同时存在多种 JH 的昆虫也有成功应用 RIA 的报道^[59]。实际使用时一般需通过平行试验排除 JH 同系物和脂类干扰,如设立等分试样进行比较脱脂对结果的影响,应用 HPLC、GC-MS 等方法平行测定,明确 RIA 的精度等,在上述试验基础上形成对特定对象和发育阶段的 RIA 方法。

6 保幼激素结合蛋白测定(Juvenile Hormone Binding Protein Assay, JHBPA)

Goodman 等^[60]利用保幼激素结合蛋白(JHBP)测定烟草天蛾(*Manduca sexta*)血淋巴内 JH 滴度,但精度较低,未被广泛采用。Glinka 等^[60]应用 JHBP 测定飞蝗(*Locusta migratoria*)血淋巴内 JH 滴度,通过 GC-MS 进行验证,精度符合微量分析要求。JHBPA 的原理与 RIA 类似,但 JHBP 替代了抗血清,在 JHBP、待测样品和放射性同位素标记 JH 标样组成的反应体系内,通过放射性活度变化分析样品中 JH 含量,并通过标准曲线进行定量。JHBPA 的灵敏度与 RIA 相当,但无需制备抗血清,增加了 JHBP 提取纯化的内容,总体上较 RIA 简便。整个测定包括 JHBP 提取纯化、待测 JH 样品制备、竞争性结合反应与同位素测定三部分。JHBPA 测定与 RIA 测定类似,但目前应用没有 RIA 广泛。考虑到昆虫血淋巴内 JH 结合蛋白含量较高, JH 和高分子量 JHBP 是不同类群昆虫的普遍存在形式, JHBPA 有进一步研究开发价值。

7 结论

JH 测定可归纳为三类,即生物测定法、放射测定法和仪器测定法。20 世纪 30~40 年代,主要通过结扎、器官切除和移植验证 Wigglesworth 的发现,推测 JH 活性;20 世纪 50~60 年代,在形态实验基础上发展出一些更精确的生物测定方法,基本做法是将一定量 JH 提取物处理试虫,通过处理后的形态变化判断 JH 的效应。如大蜡螟测定法和黄粉甲测定法,就是用抑制 50%的昆虫变态所需要的 JH 剂量作为 1 个活性表示单位。在此期间,咽侧体体外培养和一些理化分析方法出现。其中 Roller 等和 Meyer 等以惜古比天蚕蛾雄虫腹部为材料,鉴定出 JHI 和 JH 的分子结构,具有划时代意义^[4]。

生物测定法灵敏度和特异性差,操作复杂,目前一般已不再使用。在 20 世纪 70 年代以来发展的现代 JH 检测技术中,RCA、RIA、JHBPA 在测定过程中都要应用放射性同位素标记的 JH ,通过放射性活度测定,推算样品中 JH 含量,因此都可归属为放射测定法。RCA 主要用于器官离体培养条件下, JH 生物合成情况测定。RIA 是目前应用较多的 JH 滴度测定方法,在经过一系列改进后精度已大为提高,但不同

JH 及其 JH 衍生物之间特异性问题,还不能根本解决。JHBPA 目前应用不多,对不同昆虫类群的适用性需进一步研究查明。总体上,这三种测定方法都需要已知 JH 标样,适合于在已知 JH 种类的基础上,进一步研究滴度变化或特定器官组织 JH 生物合成情况。

以 GC-MS 测定技术为代表的仪器分析方法,可直接测定 JH 种类和含量,也可称为直接测定法。GC-MS 是目前公认的 JH 鉴定方法,测定精度和可信度高,是 JH 未知种类鉴定的唯一客观方法,但 GC-MS 测定法对仪器设备和费用要求较高,限制了其在一般研究工作中的应用。HPLC 不仅是组分分离纯化的有效手段,在已知 JH 标样条件下,也可用于 JH 的定性和定量,且操作相对简单,不涉及放射性同位素等特殊操作,对实验仪器和费用的要求也较易满足,在 JH 测定方面的应用将更加普遍。

参考文献:

- [1] WANG Yir-chang(王荫长). Insect Biochemistry(昆虫生物化学)[M]. Beijing(北京):China Agri. Press(中国农业出版社)[M]. 2001,422.
- [2] Tobe S S, Feyerisen R. Endocrinology of Insects[M]. Downer R G. New York:Alan R. Liss,1983:161.
- [3] King D S. Endocrinology of Insects[M]. Edited by In:Downer R G H, Laufer H. New York: Alan R. Liss,1983,57.
- [4] SI Li-qin(司丽琴). Yantai Teachers' Coll. J. (Nat. Sci. Edit.) (烟台师范学院学报(自然科学版)) [J],1990,6(2):76.
- [5] OU YANG Ying-chun(欧阳迎春), TANG Shuang(唐 爽), GUAN Xue-chen(关雪辰). J. Agri. Univ. Hebei. (河北农业大学学报) [J],2003,26(1):47.
- [6] GUAN Xue-chen(关雪辰). Entomol. Knowl(昆虫知识) [J],1992,(4):237.
- [7] GUAN Xue-chen(关雪辰). Modern Sci. Instru(现代科学仪器) [J],2000,(6):64.
- [8] GUAN Xue-chen(关雪辰), ZHU Diarr-hui(朱典辉), CHEN Jian-xin(陈建新). Acta Zool. Sinica(动物学报) [J],1998,44(1):107.
- [9] KOU Rong, TU Mengping. Zool. Stu. [J],1998,37(2):119.
- [10] HUANG Dong-lin(黄东林), LORENZ M W, HOFFMANN K H. J. Jiangsu Agri. Coll. (江苏农学院学报) [J],1994,15(1):41.
- [11] Hsieh Yichun, Hsu Errlieh, Chow Yingshing, Kou Rong. Arch. Insect Biochem. Physiol. [J],2001,48:89.
- [12] Rachinsky A, Srinivasam A, Ramaswamy S B. Arch. Insect Biochem. Physiol. [J],2003,54:121.
- [13] Rachinsky A, Hartfelder K. In Vitro Cell. Develop. Biol. [J],1998,34(8):646.
- [14] Tu Meng-Ping, Yin Chih-Ming, Tatar M. Gen. Comp. Endocrinol. [J],2005,142:347.
- [15] Yagi K J, Tobe S S. J. Insect Physiol. [J],2001,47:1227.
- [16] WANG Zong-shun(王宗舜), ZHENG Wen-hui(郑文惠), GUO Fu(郭 鄂). Chinese Sci. Bull. (科学通报) [J],1988,15:1182.
- [17] GONG Guo-ji(龚国玑), YANG Chun-long(杨春龙). J. Nanjing Agri. Univ. (南京农业大学学报) [J],1996,19(1):105.
- [18] YANG Yi-hua(杨亦桦), DAI Hua-guo(戴华国), HAN Hang-ru(韩航如), WANG Ming-hua(王鸣华). Entomol. J. East China(华东昆虫学报) [J],1997,6(2):24.
- [19] QIAN Ming-hui(钱明惠), FAN Jun-xiang(范军祥), QIN Chang-sheng(秦长生). Guangdong Forestry Sci. Technol. (广东林业科技) [J],2004,20(2):51.
- [20] OU YANG Ying-chun(欧阳迎春), LI Sheng(李 胜). Acta Entomol. Sinica(昆虫学报) [J],2003,46(3):282.
- [21] Yin Chihming, Zou Baixiang, Jiang Mugeng, Li Meifang, Qin Wenhong, Potter T L, Stoffolano Jr J G. J. Insect Physiol. [J],1995,41:473.
- [22] Li Sheng, Falabella P, Kuriachan I, Vinson S B, Borst D W, Malva C, Pennacchio F. J. Insect Physiol. [J],2003,49:1021.
- [23] Darrouzet E, Mauchamp B, Prestwich G D, Kerhoas L, Ujváry I, Couillaud F. Biochem. Biophys. Res. Commun. [J],1997,240(3):752.
- [24] Moshitzky P, Gilbert L I, Applebaum S W. J. Insect Physiol. [J],2003,49:603.
- [25] Audsley N, Weaver R J, Edwards J P. Insect Biochem. Mol. Biol. [J],2000,30:681.
- [26] Laufer H, Demir N, Pan X, Stuart J D, Ahl J S B. J. Insect Physiol. [J],2005,51:379.
- [27] Range S, Oeh U, Lorenz M W, Etzel W, Nauen R, Hoffmann K H. Compar. Biochem. Physiol. Part (B) [J],2002,132:191.
- [28] Scott M P, Panaitof S C. Horm. Behav. [J],2004,45:159.

- [29] Weaver R J , Paterson Z A , Short J E , Edwards J P. J. Insect Physiol. [J] , 1995 , **41** : 117.
- [30] Cole T J , Ramaswamy S B , Srinivasan A , Dorn S. Arch. Insect Biochem. Physiol. [J] , 2002 , **49** : 10.
- [31] Kurata K. J. Chromatogr. B [J] , 1995 , **668** : 322.
- [32] Mauchamp B , Darrouzet E , Malosse C , Couillaud F. Insect Biochem. and Mol. Biol. [J] , 1999 , **29** : 475.
- [33] Edwards J P , Corbitt T S , Mcardle H F , Short J E , Weaver R J. J. Insect Physiol. [J] , 1995 , **41** : 641.
- [34] Shu Shengqiang , Park Y I , Ramaswamy S B , Srinivasan A. J. Insect Physiol. [J] , 1997 , **43** (8) : 719.
- [35] Eizaguirre M , Prats J , Abellana M , Lopez C , Llovera M , Canela R. J. Insect Physiol. [J] , 1998 , **44** : 419.
- [36] Eizaguirre M , Schafellner C. L. pez C. Sehna F. J. Insect Physiol. [J] , 2005 , **51** : 1127.
- [37] Shu Shengqiang , Park Y I , Ramaswamy S B , Srinivasan A. J. Insect Physiol. [J] , 1998 , **44** : 1111.
- [38] Park Y I , Shu Shengqiang , Ramaswamy S B , Srinivasan A. Arch. Insect Biochem. Physiol. [J] , 1998 , **38** : 100.
- [39] Steiner B , Pfister-Wilhelm R , Grossniklaus-Burgin C , Rembold H , Treiblmayr K , Lanzrein B. J. Insect Physiol. [J] , 1999 , **45** : 401.
- [40] Webb T J , Shu Shengqiang , Ramaswamy S B , Dorn S. Arch. Insect Biochem. Physiol. [J] , 1999 , **41** : 186.
- [41] Teal P E A , Proveaux A T , Heath R R. Anal. Biochem. [J] , 2000 , **277** : 206
- [42] Teal P E A. Peptides [J] , 2002 , **23** : 663.
- [43] Tawfik A I , Treiblmayr K , Hassanali A , Osir E O. J. Insect Physiol. [J] , 2000 , **46** : 1143.
- [44] TANG Jian (唐 健) , PING Xiao-fei (平霄飞) , TANG Fu-bin (汤富彬) . Chinese J. Rice Sci. (中国水稻科学) [J] , 2001 , **15** (2) : 142.
- [45] Park Y I , Raina A K. J. Insect Physiol. [J] , 2004 , **50** : 561.
- [46] Burns S N , Teal P E A. Vander Meer R K. Nation J L. Vogt J T. J. Insect Physiol. [J] , 2002 , **48** : 357.
- [47] Brent C S , Vargo E L. J. Insect Physiol. [J] , 2003 , **49** , 967.
- [48] Ismail S M , Satyanarayana K , Bradfield J Y , Dahm K H , Bhaskaran G. Arch. Insect Biochem. Physiol. [J] , 1998 , **37** : 305.
- [49] SUN Feng-xia (孙凤霞) . Instrumental Analysis (仪器分析) [M]. Beijing (北京) : Chemical Industry Press (化学工业出版社) [M] , 2004 , 182.
- [50] Niimi S , Sakurai S. J. Insect Physiol. [J] , 1997 , **43** (9) : 875.
- [51] Bloch G , Borst D. W. Huang Z Y. Robinson G. E. Cnaani J. Hefetz A. J. Insect Physiol. [J] , 2000 , **46** : 47.
- [52] Trumbo S T , Borst D W. Robinson G E. J. Insect Physiol. [J] , 1995 , **41** : 535.
- [53] Pankiw T , Huang Z Y. Winston M L. Robinson G E. J. Insect Physiol. [J] , 1998 , **44** : 685.
- [54] Cusson M , Miller D , Goodman W G. Anal. Biochem. [J] , 1997 , **249** : 83.
- [55] Cisper G , Zera A J. Borst D W. J. Insect Physiol. [J] , 2000 , **46** : 585.
- [56] Bede J C , Goodman W G. Tobe S S. Phytochem. [J] , 1999 , **52** : 1269.
- [57] Scott , P M. Panaitof S C. Horm. Behav. [J] , 2004 , **45** : 159.
- [58] Pearce A N , Huang Z Y. Breed M D. J. Insect Physiol. [J] , 2001 , **47** : 1243.
- [59] Cusson M , Delisle J. Miller D. J. Insect Physiol. [J] , 1999 , **45** : 637.
- [60] Glinka A V , Braun R P , Edwards J P , Wyatt G R. Insect Biochem. [J] , 1995 , **25** (7) : 775.

Progress in Research on Analytical Methods of Juvenile Hormone

J I Bao-zhong^{*1} , L IU Shu-wen² , TIAN Ling¹ , GUO Tong-bin³ , JIN Feng¹ , GAO Jie¹

(1. Nanjing Forestry University , Nanjing 210037 ; 2. Management Office of Sun Yatsen 's Mausoleum , Nanjing , 210014 ; 3. Forestry Station of Xuzhou , Jiangsu Province , Xuzhou , Jiangsu 221004)

Abstract : Developments of analytical methods in juvenile hormone are reviewed in this paper , including radiochemical assay , high performance liquid chromatography , gas chromatography-mass spectroscopy , radio immunoassay and juvenile hormone binding protein assay . 60 references are quoted .

Keywords : Juvenile hormone ; Analytical method ; Review