

# CREB 在拟黑多刺蚁不同品级脑部 mRNA 水平的定位

李青 何慧 罗晶 张文娜 奚耕思\*  
(陕西师范大学生命科学院 西安 710062)

**摘要:** 为探讨 CREB 在拟黑多刺蚁 (*Polyrhachis vicina*) 不同品级脑部 mRNA 水平的表达, 采用地高辛标记法原位杂交技术对拟黑多刺蚁工蚁、雌蚁、雄蚁 3 个品级脑部 CREB mRNA 的表达进行了定位研究。结果显示, CREB mRNA 在拟黑多刺蚁不同品级脑部均有广泛表达。阳性反应主要分布在蕈形体冠部的 Kenyon 细胞、视叶和嗅叶等部位。在 3 个不同品级蚂蚁的脑部中, 工蚁的嗅球和蕈形体内有较明显的 CREB mRNA 阳性反应, 雄蚁的视叶具有较强的阳性反应, 与工蚁和雄蚁相比, 雌蚁脑部各个部位的阳性表达都较弱。推断 CREB 可能在视觉和嗅觉信息的获取与整合中起着重要作用, 且与不同品级蚂蚁的行为相关。

**关键词:** 拟黑多刺蚁; CREB; 原位杂交

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0250 3263(2009)04 89 07

## Distribution of CREB mRNA in the Brain of *Polyrhachis vicina*

LI Qing HE Hui LIU Jing ZHANG WenNa XI Geng Si\*  
(College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

**Abstract:** The distribution of CREB mRNA was investigated by in situ hybridization in the brain of three castes of *Polyrhachis vicina*. Extensive expression of CREB mRNA was observed in the brain of all three castes. The prominent positive reaction was observed in the Kenyon cells of mushroom body, the optic lobe and the olfactory lobe. Relatively higher expression was found in the olfactory lobe and mushroom body of workers' brain as well as in the optic lobe of males' brain. These results suggest that CREB may play a critical role in obtaining and integrating the visual and olfactory information in the nervous system, and may be relevant with social community behaviors.

**Key words:** *Polyrhachis vicina*; CREB; In situ hybridization

环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(cyclic AMP response element binding protein, CREB)是一种重要的核转录因子, 具有调节包括学习记忆在内的广泛的生物学功能, 是细胞内多种信号通路的一种关键成分<sup>[1]</sup>, 对学习记忆的作用在对海兔(*Aplysia dactylomela*)<sup>[2]</sup>、果蝇(*Drosophila*)<sup>[3]</sup>、小鼠(*Mus musculus*)<sup>[4]</sup>和大鼠(*Rattus norvegicus*)<sup>[5,6]</sup>等的研究中已经证实。但有关 CREB 在蚁科昆虫中枢神经中的分布及生理功能的研究资料甚少, 且蚂蚁不同品级的行为特

征存在差异, 对信息的获取和记忆的要求各异, 这是否与 CREB 的分布及功能有关, 相关的资料还未见报道。本研究以拟黑多刺蚁 (*Polyrhachis vicina*) 为实验材料, 利用地高辛标记法原位杂交技术, 对 CREB 在拟黑多刺蚁不

基金项目 陕西省农业攻关项目 (No. 2008K02 10);

\* 通讯作者, E-mail: xigengsi@snnu.edu.cn;

第一作者介绍 李青, 女, 硕士; 研究方向: 动物的生殖和发育; E-mail: liqing123@stu.snnu.edu.cn.

收稿日期: 2008-11-26, 修回日期: 2009-04-20

同品级脑部 mRNA 水平的表达进行定位, 从 CERB 在不同品级蚂蚁脑部 mRNA 水平的表达差异中, 进一步探讨 CREB 对于不同品级蚂蚁学习记忆的生理影响作用。

## 1 材料与方法

**1.1 实验过程** 拟黑多刺蚁购自广西横县宏发食用蚂蚁研究中心, 实验室饲养。用经过消毒的锋利刀片迅速取下来自同一窝拟黑多刺蚁成体工蚁、雄蚁和蚁后的头部, 每次选取每个品级的个体各 15 只为材料进行实验, 以备取材时的损失。将取下的头立即放入 4% 的多聚甲醛固定液(含有 0.1% DEPC)中固定 8 h, 将固定好的材料放入 30% 蔗糖溶液中于 4℃ 过夜, 待材料全部沉底后, 用冰冻包埋剂包埋, 置于冰冻切片机上切片, 切片厚度为 12 μm, 将切片贴于提前粘附有多聚赖氨酸的载玻片上, 晾干备用。整个操作过程谨防 RNA 酶的污染。

从 GenBank 获得拟黑多刺蚁的 CREB 基因序列(*PvCREB*, EU523223), 并设计了地高辛标记的特异性寡核苷酸探针(中国博士德公司), 探针序列如下:

(1) 5'-3': CGTTATCTTGGITAGCAAACCT-AATTCGTGATAC

(2) 5'-3': GTGTCITCCCATTTCGCITCATT-ATCAAACA

(3) 5'-3': TGGATAAATATAGCTTATTCCA-AGCATAAA

经冰冻切片后, 用 CREB mRNA 原位杂交检测试剂盒检测切片 CREB mRNA 的表达。杂交过程采用张正洪等的实验步骤<sup>[7]</sup>, 切片经新鲜配制的 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 份+ 纯甲醇 50 份混合液室温处理 30 min, 0.1% DEPC 水洗 3 次, 每次 5 min, 3% 柠檬酸新鲜配置的胃蛋白酶(1 ml 3% 柠檬酸加 2 滴浓缩型胃蛋白酶, 混匀), 室温消化 5 min; 原位杂交用 PBS 洗 3 次, 每次 5 min; 蒸馏水洗 1 次, 后固定 10 min, 切片于 37℃ 恒温箱预杂交 2 h 后, 切片上滴加杂交液置于恒温箱 40℃ 过夜, 2 × SSC 洗 5 min × 2 次, 0.5 × SSC 洗 15 min, 0.2 × SSC 洗 15 min, 滴加封闭

液(37℃, 30 min)。滴加生物素化鼠抗地高辛(37℃, 60 min), 滴加 SABC(37℃, 20 min), 滴加生物素化过氧化物酶(37℃, 20 min), 此三步间各用原位杂交用 PBS 洗 5 min × 4 次。DAB 显色, 常规脱水、透明、封片。阴性对照实验以预杂交液代替探针杂交液, 其他步骤相同。

采用相同的实验过程进行 5 次实验。

**1.2 图像分析与数据处理** 实验结果应用 Leica QWinV3 图像分析系统统计各个品级阳性反应的灰度值。每一个品级进行了 5 次实验, 从每次实验的杂交结果切片中随机选取 5 张片子, 每张片子选取 5 个样点。将灰度值数据输入 SPSS 13.0, 进行单因素方差分析(One Way ANOVA)和并行多重比较检验(Dunnett's multiple comparison)。

## 2 结果

**2.1 CREB mRNA 在拟黑多刺蚁不同品级脑部的表达** 采用地高辛标记法原位杂交技术, 对拟黑多刺蚁不同品级脑部 CREB mRNA 的表达进行了定位研究, 结果显示, 在拟黑多刺蚁不同品级脑部 CREB mRNA 均有广泛表达, 在蕈形体、视叶和嗅叶等部位均有阳性反应, 不同品级同一脑区阳性表达均有差异, 且同一品级不同脑区也有区别。

**2.1.1 CREB mRNA 在工蚁脑部的表达** CREB mRNA 阳性反应物在工蚁主要的脑区均有分布(图版 I: 1)。以蕈形体 Kenyon 细胞的胞体内表达量最高(图版 I: 2, 3), 视叶和嗅叶次之(图版 I: 4, 5), 中央复合体相对最弱(图版 I: 3)。蕈形体 CREB mRNA 的阳性表达主要集中在 Kenyon 细胞的胞体内, 在蕈形体柄及 β 叶具有较强的阳性反应, 唇部和领部阳性反应最弱。视叶髓区和神经交叉处神经纤维的阳性反应明显, 视神经节层神经元胞体处阳性反应明显(图版 I: 5)。中央体两侧的内触角神经通路、中央上体和中央下体的边缘区域神经元有较强的阳性反应(图版 I: 3), 中脑嗅叶的边缘区域具有较强的阳性反应。而阴性对照(图版 I: 6)未见阳性反应。

### 2.1.2 CREB mRNA 在雌蚁脑部的表达

CREB mRNA 阳性反应在雌蚁脑部的表达模式与工蚁类似,但反应强度明显低于工蚁的(图版 II 1)。与工蚁类似,雌蚁蕈形体 Kenyon 细胞的阳性反应最明显(图版 II 2),视叶阳性反应强于嗅叶。在蕈形体除 Kenyon 细胞有明显的阳性反应外,柄部纤维上阳性反应明显, $\beta$  叶阳性反应较弱(图版 II 3)。视叶的视神经节层、视外髓及视内髓都有较强的阳性反应,而内、外神经交叉的阳性反应相对较弱(图版 II 4)。中央复合体及其两侧的内触角神经通路均有阳性反应,且反应强于蕈形体柄及  $\beta$  叶的(图版 II 5)。中脑嗅叶的阳性反应表达模式与工蚁类似,但强度低于工蚁。而阴性对照(图版 II 6)未见阳性反应。

### 2.1.3 CREB mRNA 在雄蚁脑部的表达

CREB mRNA 在雄蚁脑部整个脑区的神经纤维

上均有阳性反应(图版 III 1)。蕈形体唇部和领部的神经纤维上有明显的阳性反应(图版 III 2),蕈形体柄、 $\beta$  叶和中央复合体及其两侧的内触角神经通路阳性反应程度与工蚁类似(图版 III 3),雄蚁视叶内的阳性反应强度在三个品级中居首位,在视外髓和视内髓的神经纤维具有明显的阳性反应(图版 III 4),其他部位反应与工蚁和雌蚁相似。中脑嗅叶的阳性反应程度类似于工蚁和雌蚁,略弱于工蚁(图版 III 5)。而阴性对照(图版 III 6)未见阳性反应。

2.1.4 图像分析与统计结果 拟黑多刺 3 个品级不同脑区的阳性反应灰度值经 SPSS 13.0 统计学软件单因素方差分析 (One Way ANOVA), 并行多重比较检验 (Dunnett's multiple comparison) 后, 结果如表 1 所示, 不同品级脑区阳性反应强弱存在差异。

表 1 拟黑多刺蚁 3 个品级脑部 CREB mRNA 原位杂交阳性反应灰度值 (Mean  $\pm$  SE)

Table 1 The grey value of CREB mRNA in situ hybridization positive reactions in the brain of three castes

阳性反应部位 Positive reaction site	灰度值 Gray value (n = 25)			
	工蚁 Worker ant	雌蚁 Female ant	雄蚁 Male ant	
前脑 Protocerebrum	蕈形体 Mushroom body	76.57 $\pm$ 3.13 <sup>a</sup>	88.38 $\pm$ 4.11 <sup>c</sup>	86.04 $\pm$ 3.69 <sup>b</sup>
	中央复合体 Central complex body	121.66 $\pm$ 5.89 <sup>b</sup>	142.38 $\pm$ 4.98 <sup>c</sup>	119.27 $\pm$ 4.85 <sup>a</sup>
	视叶 Optic lobe	174.10 $\pm$ 3.17 <sup>b</sup>	191.81 $\pm$ 5.27 <sup>c</sup>	154.12 $\pm$ 4.59 <sup>a</sup>
中脑 Deutocerebrum	嗅叶 Olfactory lobe	124.74 $\pm$ 5.86 <sup>a</sup>	193.39 $\pm$ 3.94 <sup>c</sup>	153.33 $\pm$ 3.71 <sup>b</sup>

图中同一行中不同英文字母上标表示数据差异显著,  $P < 0.05$ ;  $n$ : 样本量。

Means with different superscripts are statistically different,  $P < 0.05$ ;  $n$ : Sample size.

## 3 讨论

CREB 是真核生物中一个重要的转录调控因子,广泛参与多种信号通路的传导<sup>[1,8]</sup>,在神经元的生长、突触可塑性、学习和记忆功能等方面起着重要作用。Montarolo 等发现软体动物海兔可显示出一种称为长时程易化 (long-term facilitation, LTF) 的类似记忆的敏化行为,而且表明这种 LTF 需要 CREB 的激活<sup>[2]</sup>。对果蝇嗅觉记忆突变体筛选的实验表明,诱导一种 CREB 的活化性异构体的表达,可增强嗅觉的长期记忆形成<sup>[9]</sup>。对小鼠学习记忆的研究发现,缺乏 CREB 的小鼠没有惊恐反应, CREB 突变小鼠不

仅表现出学习和记忆的行为缺陷而且海马功能也受到了损伤<sup>[4]</sup>。转录因子 CREB 作为学习记忆的分子标志物,存在于中枢神经系统各种类型神经元<sup>[10]</sup>。本研究利用地高辛标记的特异性寡核苷酸探针对拟黑多刺蚁不同品级脑部 CREB mRNA 的表达进行了组织定位,发现 CREB mRNA 的阳性反应广泛存在于蚂蚁脑部的神经元胞体和神经纤维上,其中,以蕈形体冠部位的 Kenyon 细胞的阳性反应最强。与雌蚁和雄蚁相比,工蚁蕈形体内 CREB mRNA 的阳性反应较为明显。蕈形体是昆虫各种信息,包括嗅觉、学习、记忆和指令的中心<sup>[11,12]</sup>,与其他昆虫相比,在蚂蚁脑中占有更大的比例<sup>[13]</sup>。对

突变体果蝇的研究发现, 蕈形体结构在果蝇嗅觉联想式学习记忆过程中起着重要的作用, 且蕈形体结构缺失的果蝇在嗅觉联想式学习记忆过程中表现受损<sup>[14-16]</sup>。对果蝇行为学及遗传学研究表明, 记忆的存储和获取是由 Kenyon 细胞的突触可塑性导致的<sup>[17,18]</sup>。拟黑多刺蚁蕈形体 Kenyon 细胞 CREB mRNA 的高强度表达, 蕈形体柄和  $\beta$  叶具中强阳性反应。Kenyon 细胞的生理功能就是负责视觉和嗅觉信息的突触后传递, 我们可以推测 CREB 将参与拟黑多刺蚁的视觉和嗅觉行为, 在学习记忆形成的过程中起重要作用。CREB 在工蚁蕈形体内 mRNA 水平的阳性反应相对较明显, 可能与它所具有的复杂行为相关, 工蚁需要获取和整合更多的视觉和嗅觉信息, 来完成抚育幼蚁、整理和清洁蚁巢、觅食等社会职责, 这进一步验证了 CREB 在对视觉和嗅觉行为上的影响作用。CREB mRNA 在拟黑多刺蚁视叶和嗅叶内有不同程度的阳性反应, 以雄蚁视叶的阳性反应最为明显, 神经纤维的阳性反应在雄蚁视内髓和视外髓内十分明显, 而工蚁嗅叶相对于雄蚁和雌蚁呈现出较强阳性反应, 3 个品级视叶及嗅叶阳性反应的差异表达可能与不同的脑部结构和行为特征相关。与雌蚁和工蚁相比, 雄蚁具有更为发达的视叶和明显的阳性反应, 这可能与婚飞这一行为职责相关。雄蚁需要依靠视觉来快速地处理信息和更准确地分辨空间方位, 进而追寻雌蚁。在 3 个品级中, 工蚁具有觅食、抚育幼蚁、清洁蚁巢等职责, 行为最为复杂, 工蚁完成这些行为需要具备一定的能力, 如空间定位、对蚁巢位置的记忆、气味信息的获取、食源的识别及与同伴之间的信息交流等<sup>[19]</sup>, 而这些方面信息的获取更多是靠嗅觉来完成, 这与工蚁嗅叶内具有较强的 CREB mRNA 阳性反应相符, 我们推测工蚁嗅叶具相对较强的阳性反应可能与其社会行为有关。CREB mRNA 在拟黑多刺蚁不同品级视叶和嗅叶内不同程度的差异表达, 与它们的行为特征相一致, 而 CREB 与拟黑多刺蚁行为相关性的研究有待深入进行。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Bonnie E L, David D G. Function and regulation of CREB family transcription factors in the nervous. *System Neuron*, 2002, **35**(4): 605~ 623.
- [ 2 ] Montarolo P G, Kandel E R, Schacher S, *et al.* A critical period for macromolecular synthesis in long term heterosynaptic facilitation in *Aplysia*. *Science*, 1986, **234**(4 781): 1 249~ 1 254.
- [ 3 ] Yin J C P, Wallach J S, Del Vecchio M, *et al.* Induction of adominate negative CREB transgene specifically blocks long term memory in *Drosophila*. *Cdl*, 1994, **79**(1): 49~ 58.
- [ 4 ] Bourchuladze R, Frenquelli B, Blendy J. Inefficient long term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP response element binding protein. *Cdl*, 1994, **79**(1): 59~ 68.
- [ 5 ] Guzowski J F, Mcgaugh J L. Antisense oligodeoxynucleotide mediated disruption of hippocampal cAMP response element binding protein levels impairs consolidation of memory for water maze training. *PNAS*, 1997, **94**(6): 2 693~ 2 698.
- [ 6 ] Taubenfeld S M, Wiig K A, Bear M F, *et al.* A molecular correlate of memory and amnesia in the hippocampus. *Nat Neurosci*, 1999, **2**(4): 309~ 310.
- [ 7 ] 张正洪, 曲鹏, 刘玉丽等. NGF 对局灶性脑缺血再灌注大鼠海马和顶叶皮质内 CREB mRNA 表达的影响. *神经解剖学杂志*, 2006, **22**(6): 669~ 672.
- [ 8 ] Carlezon J R W A, Duman R S, Nestler E J. The many faces of CREB. *Trends in Neurosciences*, 2005, **28**(8): 436~ 444.
- [ 9 ] Perazona B, Isabel G, Preat T, *et al.* The role of cAMP response element binding protein in *Drosophila* long term memory. *The Journal of Neuroscience*, 2004, **24**(40): 8 823~ 8 828.
- [ 10 ] 王怀颖, 石少慧. 环腺苷酸应答元件结合蛋白与学习记忆. *生命的化学*, 2008, **28**(4): 453~ 456.
- [ 11 ] 忻介六, 苏德明, 杨庆爽等译. 伊姆斯普通昆虫学教程 (第 10 版). 北京: 高等教育出版社, 1987, 90~ 290.
- [ 12 ] Fahrbach S E, Moore D, Capaldi E A, *et al.* Experience expectant plasticity in the mushroom bodies of the honeybee. *Learning and Memory*, 1998, **5**(1): 115~ 123.
- [ 13 ] 李伟红, 暴学祥. 昆虫脑中蕈形体功能的研究进展. *淮河工学院学报*, 2003, **12**(4): 55~ 58.
- [ 14 ] Yin J C, Tully T. CREB and the fomation of long term memory. *Curr Opin Neurobiol*, 1996, **6**(2): 264~ 268.
- [ 15 ] Heisenberg M, Borst A, Wagner S. *Drosophila* mushroom body mutants are deficient in olfactory learning. *Neurogenet*, 1985, **2**(1): 1~ 30.
- [ 16 ] Debelle J S, Heisenberg M. Associative odor learning in

drosophila abolished by chemical ablation of mushroombodies. *Science*, 1994, **263**(5 147): 692~ 695.

[17] Dulnau J, Grady L, Kitamoto T, *et al.* Disruption of neurotransmission in drosophila mushroom body blocks retrieval but not acquisition of memory. *Nature*, 2001, **411**(6 836): 476~ 480.

[18] Mcguire S E, Le P T, Davis R L. The role of drosophila mushroom body signaling in olfactory memory. *Science*, 2001, **293**(5 533): 1 330~ 1 333.

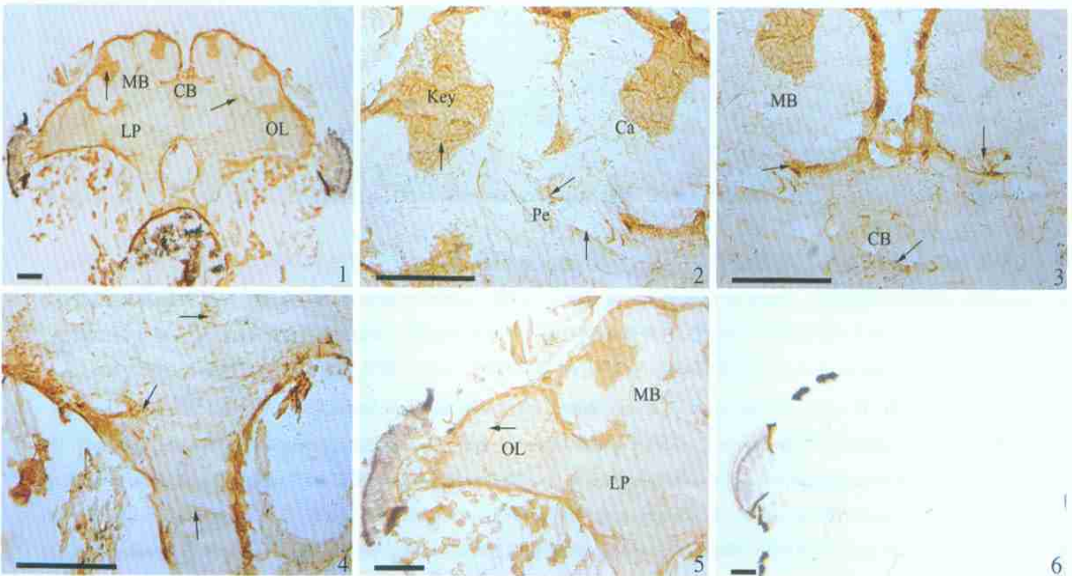
[19] Hölldobler B, Wilson E O. *The Ants: The Belknap*. Cambridge: Press of Harvard University Press, 1990, 732.

李 青等: CREB mRNA 在拟黑多刺蚁工蚁脑中的表达

图版 I

LI Qing *et al.*: Distribution of CREB mRNA in the Brain of *Polyrhachis vicina*

Plate I



CREB mRNA 在拟黑多刺蚁工蚁脑中的表达(标尺= 50 μm)

1. CREB mRNA 在工蚁额状面脑切片中的表达, × 100; 2. CREB mRNA 在蕈形体 Keyron 细胞、冠和柄部位的表达, × 400; 3. CREB mRNA 在中央复合体的表达, × 400; 4. CREB mRNA 在侧前脑和嗅球内的表达示, × 400; 5. CREB mRNA 在视叶内的表达, × 200; 6. 阴性对照, × 100. 箭头指示有明显阳性颗粒的部位。

Expression of CREB mRNA in the brain of worker ant (*Polyrhachis vicina*) (Bar= 50 μm)

1. Expression of CREB mRNA in the frontal slice of a whole brain in worker ant, × 100; 2. Expression of CREB mRNA in the Keyron cells, the coronula and pedunculus of mushroom body, × 400; 3. Expression of CREB mRNA in the central complex body, × 400; 4. Expression of CREB mRNA in lateral protocerebrum and the olfactory lobe, × 200; 5. Expression of CREB mRNA in the optic lobe, × 400; 6. Negative control of CREB mRNA in the brain, × 100. The arrow: site of prominent positive reaction.

MB: 蕈形体; Ca: 蕈形体冠; Key: Keyron 细胞; Pe: 蕈形体柄; CB: 中央复合体; OL: 视叶; LP: 侧前脑; βL: β 叶。

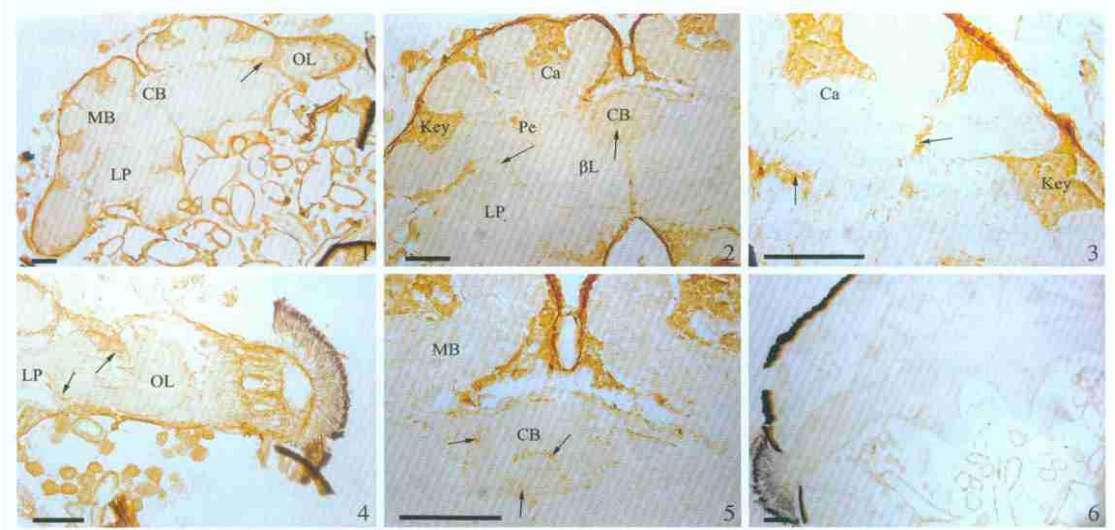
MB: Mushroom body; Ca: Calyx; Key: Keyron 细胞; Pe: Pedunculus; CB: Central complex body; OL: Optic lobe; LP: Lateral protocerebrum; βL: β lobe.

李 青等: CREB mRNA 在拟黑多刺蚁工蚁脑中的表达

图版 II

LI Qing *et al.*: Distribution of CREB mRNA in the Brain of *Polyrhachis vicina*

Plate II



CREB mRNA 在拟黑多刺蚁雌蚁脑中的表达 (标尺= 50 μm)

1. CREB mRNA 在雌蚁额状面脑切片中的表达, × 100; 2. CREB mRNA 在蕈形体 Keyron 细胞、冠和柄部位的表达, × 200; 3. CREB mRNA 在蕈形体 β 叶的阳性纤维走向及侧前脑内阳性反应, × 400; 4. CREB mRNA 在视叶内的表达, × 400; 5. CREB mRNA 在中央复合体的表达, × 200; 6. 阴性对照, × 100. 箭头指示有明显阳性颗粒的部位。

Expression of CREB mRNA in the brain of female ant (*Polyrhachis vicina*) (Bar= 50 μm)

1. Expression of CREB mRNA in the frontal slice of a whole brain in female ant, × 100; 2. Expression of CREB mRNA in the Keyron cells, the coronula and pedunculus of mushroom body, × 200; 3. Expression of CREB mRNA in the β lobe of mushroom body and in the lateral protocerebrum, × 400; 4. Expression of CREB mRNA in the optic lobe, × 400; 5. Expression of CREB mRNA in the central complex body, × 200; 6. Negative control of CREB mRNA in the brain, × 100. The arrow: site of prominent positive reaction.

MB: 蕈形体; Ca: 蕈形体冠; Key: Keyron 细胞; Pe: 蕈形体柄; CB: 中央复合体; OL: 视叶; LP: 侧前脑; βL: β 叶。

MB: Mushroom body; Ca: Calyx; Key: Keyron 细胞; Pe: Pedunculus; CB: Central complex body; OL: Optic lobe; LP: Lateral protocerebrum; βL: β lobe.

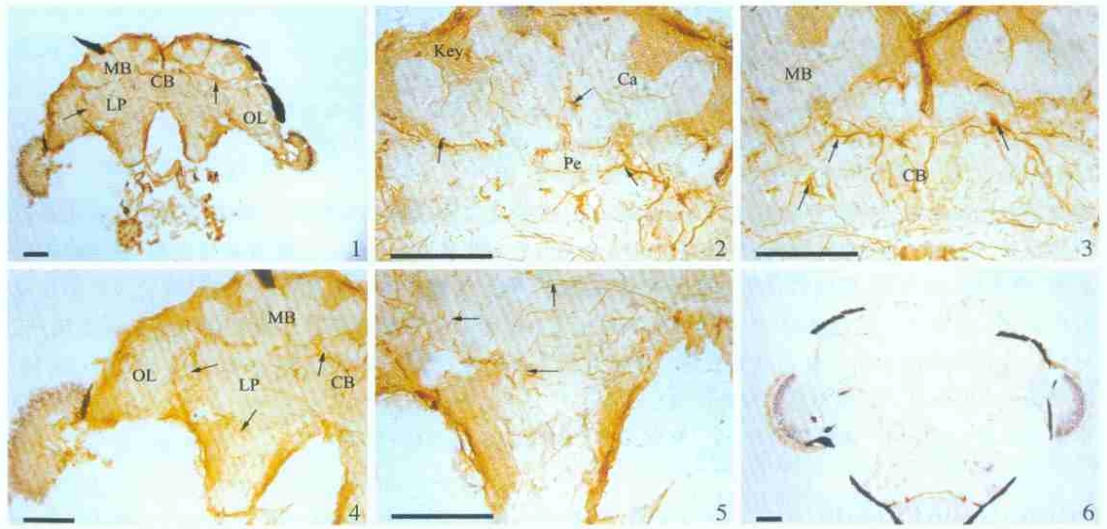


李 青等: CREB mRNA 在拟黑多刺蚁工蚁脑中的表达

图版 III

LI Qing *et al.*: Distribution of CREB mRNA in the Brain of *Polyrhachis vicina*

Plate III



CREB mRNA 在拟黑多刺蚁雄蚁脑中的表达( 标尺= 50 μm)

1. CREB mRNA 在雄蚁额状面脑切片中的表达, × 100; 2. CREB mRNA 在蕈形体 Keyron 细胞、冠和柄部位的表达, × 400; 3. CREB mRNA 在中央复合体的表达, × 400; 4. CREB mRNA 在嗅球、侧前脑和视叶内的表达, × 200; 5. CREB mRNA 在嗅球的表达, × 400; 6. 阴性对照, × 100。箭头指示有明显阳性颗粒的部位。

Expression of CREB mRNA in the brain of male ant (*Polyrhachis vicina*) (Bar= 50 μm)

1. Expression of CREB mRNA in the frontal slice of a whole brain in male ant, × 100; 2. Expression of CREB mRNA in the Keyron cells, the coronula and pedunculus of mushroom body, × 400; 3. Expression of CREB mRNA in the central complex body, × 400; 4. Expression of CREB mRNA in the olfactory lobe, the lateral protocerebrum and the optic lobe, × 200; 5. Expression of CREB mRNA in the olfactory lobe, × 400; 6. Negative control of CREB mRNA in the brain, × 100. The arrow: site of prominent positive reaction.

MB: 蕈形体; Ca: 蕈形体冠; Key: Keyron 细胞; Pe: 蕈形体柄; CB: 中央复合体; OL: 视叶; LP: 侧前脑; βL: β 叶。

MB: Mushroom body; Ca: Calyx; Key: Keyron 细胞; Pe: Pedunculus; CB: Central complex body; OL: Optic lobe; LP: Lateral protocerebrum; βL: β lobe.