

昆虫精氨酸激酶研究综述

魏玉红^{1,2}, 袁伟宁^{1,2}, 张新瑞^{1,2}

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 农业部天水作物有害生物科学观测实验站, 甘肃 甘谷 741200)

摘要: 治理农业害虫及其抗药性发展, 探寻新的防虫杀虫靶标位点非常必要。精氨酸激酶是昆虫能量代谢的关键酶, 与飞行活动、识别寄主、消化食物和生长发育等密切相关, 而且由于其只存在于无脊椎动物体内而成为热点防虫靶标位点。本文综述了昆虫体内精氨酸激酶的分子和晶体结构特点、分布规律与活性、环境因子影响、精氨酸激酶调节剂, 及其在害虫防治中的应用及前景。

关键词: 精氨酸激酶; 结构特征; 抑制剂; 害虫防治

中图分类号: Q555.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2019)05-0069-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2019.05.016

Research Summary on Arginine Kinase in Insects

WEI Yuhong^{1,2}, YUAN Weining^{1,2}, ZHANG Xinrui^{1,2}

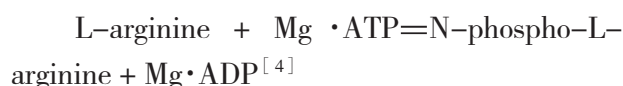
(1. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pests in Tianshui, Ministry of Agriculture, Tianshui Gansu 741200, China)

Abstract: In order to control agricultural pests and pest resistance development, the exploring of new insecticidal target sites is importantly necessary. Arginine kinase is a key functional enzyme relate to energy metabolism of insects, flight activities, identifying host, digestion, the growth and development, etc, as well, because of its exist in invertebrates merely, Arginine kinase becomes a famous pest control target. Thus, This study summarized the arginine kinase molecular and crystal structure characteristics, distribution and activity and, influences of environmental factors, regulator of arginine kinase, application in pest control and the application prospect, so as to make a steppingstone to the future study and new pesticide development with arginine kinase.

Key words: Arginine Kinase; Sstructure traits; Inhibitors; Pest control

精氨酸激酶(Arginine Kinase, AK)广泛存在于无脊椎动物体中, 与肌酸激酶具有相似功能, 是昆虫体内唯一存在的磷酸源激酶^[1], 1935年 Lohmann^[2]首次从蟹肌肉中分离获得。不同来源的精氨酸激酶具有相同功能, 即在肌基和 ADP 之间可逆的转移一份子磷酸基团, 缓冲 ATP 水平^[3]。昆虫体

中, 精氨酸激酶主要分布在代谢旺盛和能量需求大的组织中, 催化如下反应:



因此, 精氨酸激酶活性和表达与昆虫飞行活动、识别寄主和生长发育等诸多方面息息相关^[5-6]。由于其不存在于脊椎动物中,

收稿日期: 2019-01-09

基金项目: 甘肃省科技重大专项(1062NKDF021); 甘肃省科技支撑计划项目(1604NKCA063); 兰州市科技计划项目(2016-3-95); 甘肃省农业科学院农业科技创新专项(2017GAAS23)。

作者简介: 魏玉红(1976—), 女, 甘肃皋兰人, 高级农艺师, 主要从事农业昆虫与害虫防治研究工作。

通信作者: 张新瑞(1964—), 男, 甘肃武山人, 研究员, 博士, 硕士生导师, 研究方向为农业有害生物综合防治。Email: zxr@gsagr.ac.cn。

因此可以作为农业害虫防治中化学药剂和生物药剂新的靶标位点,通过抑制或干扰害虫能量代谢,达到杀伤或杀死害虫的目的。可见,深入研究并明确昆虫精氨酸激酶特性及其抑制剂,不仅能为害虫防治提供理论依据,而且对新型杀虫剂的研发具有重要意义。我们综述了精氨酸激酶结构与特性,精氨酸激酶基因表达规律,精氨酸激酶抑制剂及其在害虫防治中的应用等方面的研究进展,以期为精氨酸激酶的进一步研究提供借鉴。

1 精氨酸激酶结构特征

1.1 分子结构特征

不同来源的精氨酸激酶结构有很大差异^[7],主要结构形式为单亚基精氨酸激酶,其次为双亚基和四亚基酶结构形式^[8],根据亚基不同,分子质量 40~160 kD。精氨酸激酶由 N 端结构域和 C 端结构域组成^[3,9],两个结构域中均具有高度保守的环状结构,其活性部位位于 C 末端^[10-11]。精氨酸激酶活性中心是一对离子对的高度保守氨基酸残基。将蝗虫(Locust)的精氨酸激酶的 P272 氨基酸残基诱导突变后,精氨酸激酶疏水残基外露,因此学者猜测,活性位点附近的氨基酸残基可能具有维持精氨酸激酶结构稳定和活性的作用^[12]。

1.2 晶体结构特征

精氨酸激酶晶体主要为片状晶体,长维为 0.1 mm 短维为 0.05 mm;也有四棱棒状晶体,但四棱棒状晶体在复合结晶中所占比例很小,三维为 0.1 mm × 0.02 mm × 0.02 mm。通过 X 射线衍射得到精氨酸激酶晶体的晶胞参数为 $a = 14.16 \text{ nm}$ 、 $b = 5.93 \text{ nm}$ 、 $c = 27.12 \text{ nm}$ 、 $\alpha = \beta = \gamma = 90.0^\circ$,表明该晶体属于正交晶系,根据系统消光可知空间群为 P212121。根据晶胞每不对称单位内所含的蛋白质分子数目推算出,在精氨酸激酶复合物晶体中,每不对称单位含有 3 个双亚基精氨酸激酶分子^[13]。

2 精氨酸激酶分布规律与活性

2.1 空间分布差异

研究表明,蝗虫成虫飞行肌精氨酸激酶活性显著高于若虫,与静止状态相比,成虫飞行后飞行肌磷酸精氨酸含量降低^[14]。在鳞翅目幼虫中,腹足精氨酸激酶活性最高^[6,15]。通过计算 ATP 最大转化率,发现厌氧肌肉中精氨酸激酶活性最高^[16],而蜜蜂精氨酸激酶在具有高能量需求的复眼组织中的表达水平最高,是头部的 2~3 倍;其次为触角,在卵巢中的表达水平最低^[17-18]。由此可见,精氨酸激酶在昆虫体中的空间分布与组织器官的能量需求相对应,能量需求越大,酶表达量越高,活性越强。基于以上规律,精氨酸激酶活性和基因表达受到抑制,必然不利于昆虫的飞行活动^[19],并干扰昆虫对外界环境因子和气味等因子的识别。

2.2 时序分布差异

精氨酸激酶在昆虫体中除了存在空间分布上的差异,还存在时序差异。鳞翅目幼虫随龄期增加,精氨酸激酶表达量增大^[20]。在棉铃虫 5 龄幼虫中肠中,精氨酸激酶水平随日龄增加而逐渐升高,预蛹期达到最高^[15]。黑腹果蝇精氨酸激酶活性随发育阶段的变化规律与蜕皮激素保持一致,预蛹期达到高峰,蛹期下降,成虫羽化期达到第二个高峰^[21]。这种时序差异的例证有很多。呈现这种时序性的主要原因与组织和发育阶段的能量代谢需求相关,能量需求越大,基因表达上调越高。因此,如果抑制或干扰害虫精氨酸激酶基因表达,必然不利于昆虫的生长发育,甚至使其致死^[22]。

3 环境因子对精氨酸激酶的影响

精氨酸激酶是昆虫能量代谢的关键酶,通过上调基因表达和酶活力参与昆虫体对外界不良环境因子和逆境胁迫的抵御^[23],因此不同环境因子对精氨酸激酶的基因表达和酶活力的影响较大。过氧胁迫、缺氧、高温和低温等均能诱导精氨酸激酶基因表达量的

增加, 进而增加相对酶活力^[4,24-25]。pH 降低能引起精氨酸激酶的去折叠化, 从而降低精氨酸激酶本身的活力, 当 pH 呈中性时, 精氨酸激酶也能够通过恢复折叠而恢复酶活力^[26]。通过上调基因表达促使酶活力上升的持续时间相对较长, 在环境因子恢复正常后, 这种上调还会持续一段时间, 但通过改变精氨酸激酶构象或三级结构而致使酶活力下降的现象会在不良环境因子解除后即恢复酶活力。

4 精氨酸激酶调节剂

精氨酸激酶是昆虫体中能量代谢的关键酶, 其酶活性和基因表达也可以被各类化学因子影响。对中华蜜蜂(*Apis cerana*)精氨酸激酶基因 Acc AK 研究发现, 氯化镉、吡丙醚、辛硫磷、百草枯、过氧化氢和维生素 C 等非生物胁迫因子分别处理 15 日龄成虫, Acc AK 基因的表达水平均显著上调^[27]。对精氨酸激酶及其底物复合物的结晶分析表明, 该晶体具有较高内含水量^[13], 而 Cu^{2+} 可以使精氨酸激酶的疏水基暴露, 从而抑制酶动力和分子动力^[28]。黄酮类物质可以结合在精氨酸激酶的色氨酸周围, 因此对精氨酸激酶均有一定抑制效果^[29]。比如蝗虫体表接触槲皮素和木犀草素 6 d 后, 其酶活力分别下降 63.1% 和 23.5%, 两种化合物之间的抑制效率差异可能是由结构差异引起的^[30]。另外, 杨梅素可以引起精氨酸激酶二级结构及其构象发生显著改变, 使 α 螺旋和 β 折叠明显减少, 最终使其疏水性减弱^[29]。黄酮类化合物的母核二苯基色原酮是否也具有这种抑制作用目前尚不清楚。

与黄酮类物质具有类似抑制作用的化合物有硫氰酸根、硝酸根、硼酸根、亚硝酸根等一价阴离子, 在体外条件下, 它们能够干扰精氨酸激酶中间产物 MgADP-E-Arg 的形成^[24], 以 NO_3^- 对精氨酸激酶的抑制作用最强, 抑制效率最高可达到 92%。D- 精氨酸和 L- 高精氨酸是精氨酸的类似物可以竞争

性地结合底物, 从而抑制精氨酸激酶活性^[24,30-31]。盐酸胍浓度超过 0.25 mol/L 时, 精氨酸激酶的活性随着盐酸胍浓度的升高而降低, 浓度达到 0.8 mol/L 后精氨酸激酶活性丧失。氧化应激反应可消耗大量的 ATP 并最终导致 ATP 耗竭^[25,32], 因此对克氏锥虫(*Trypanosoma cruzi*)用产生氧化胁迫的化合物 H_2O_2 和抗锥虫药硝咪噻氧处理后, 其必须上调精氨酸激酶基因表达量才能克服逆境胁迫^[33]。目前已经发现多种竞争与非竞争型精氨酸激酶抑制剂, 本文不再赘述。

5 精氨酸激酶在害虫防治中的应用

目前已注册的杀虫剂无不例外对靶向昆虫以外的其它非靶向脊椎动物具有毒性, 如鸟类、兽类、牲畜、鱼类和人, 而精氨酸激酶只存在于无脊椎动物中, 以精氨酸激酶为靶标进行害虫防治不会对其它脊椎动物造成不利影响^[34]。因此, 基于精氨酸激酶分子特点和结构功能, 很多学者提出了精氨酸激酶抑制剂, 例如可以使精氨酸激酶疏水基暴露, 抑制酶动力的金属离子; 改变精氨酸激酶二级结构的植物次生代谢产物; 能够竞争性结合底物或干扰中间产物形成的化合物等^[28,30,33,35-36]。

近几年随着分子生物学的迅猛发展, 以精氨酸激酶基因为靶标的 RNA 干扰 (或 RNA silencing, RNA 沉默) 技术得以实现^[37], 虽然该技术尚处于探索阶段, 但已经为害虫综合治理开启了新的篇章。Eduardo 和 Wayne 通过植物内系统 (In Plant System, IPS) 饲喂技术向柑橘木虱 (*Diaphorina citri*) 饲喂 100 ng (673 bp) 特异性精氨酸双链 RNA (dsAK), 进行精氨酸激酶基因转录敲除。饲喂 6 d 后引起柑橘木虱死亡, 8 d 时死亡率显著高于对照, 13 d 时死亡率稳定在 50% 以上。Eduardo 的补充研究表明, dsAK 剂量的增加不会引起柑橘木虱死亡率的增加, 在 100 ng 至 10 μg 的浓度梯度下最终累积死亡率为 53% ~ 56%。于雪等^[5]研究证明, 利用重组

质粒的菌液饲喂家蝇(*Musca domestica*)幼虫,能将幼虫精氨酸激酶基因敲低,菌液饲喂后第3天幼虫开始死亡,至第6天幼虫死亡率达到80%以上,而且存活的幼虫发育历期延长,体型变小。可见,精氨酸激酶可以成为害虫防治的新靶标位点。此类对精氨酸激酶RNA干扰的致死型研究在黄曲条跳甲(*Phyllotreta striolata*)^[38]和棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)^[20]等多种昆虫上已得到验证,针对害虫的特有基因设计特异性药物已经成为了害虫生物防治的重要研究方向,而针对精氨酸激酶设计杀虫剂,不会对其它脊椎动物的正常生长和发育产生影响,具有较高安全性,也为今后杀虫剂的研发提供了新方向。

6 展望

长期使用广谱性杀虫剂所带来的环境安全和害虫抗药性等问题已日益严峻,农业生产中亟需开发新的防虫治虫靶标位点,以促进安全高效的新型杀虫剂的研发,从而保证农业经济效益。精氨酸激酶由于只存在于无脊椎动物中而成为害虫防治中化学药剂和生物药剂等的热点靶标位点,通过抑制或干扰害虫生物能代谢达到杀伤或杀死害虫的目的。

随着精氨酸激酶结构和功能研究不断深入,具有强抑制作用的精氨酸激酶抑制剂的筛选和拓展对新型杀虫剂开发具有广阔的应用前景,而且以该酶为抑制靶标位点的新化合物正逐步被发现,例如黄酮类物质、高精氨酸类似物、胍类化合物、以及能引起精氨酸激酶构象变化的金属离子和一些一价阴离子等。因此,深入研究并明确昆虫精氨酸激酶特性,拓展昆虫精氨酸激酶抑制剂种类,不仅能为农业害虫防治提供新方向,而且对新型杀虫剂的研发具有实际指导意义。

参考文献:

- [1] LAINO A, LOPEZZAVALA A A, GARCIAOROZCO K D. Biochemical and structural characterization of a novel arginine kinase from the spider *Polybetes pythagoricus*. [J]. Peerj, 2017, 5(2): e3787.
- [2] KLOHMANN. Über die aufspaltung der adenylpyrophosphorsäure and arfininephosphorsäure in krebmskulatur [J]. Biochemistry Zeitschilt, 1935, 282: 109-123.
- [3] GENFA ZHOU W, ROSS ELLINGTON MICH-AEL S, CHAPMAN. Induced fit in arginine kinase [J]. Biophysical Journal, 2000, 78: 1541-1550.
- [4] TEAGUE W E, DOBSON G P. Thermodynamics of the arginine kinase reaction [J]. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274 (32): 22459-22463.
- [5] 于雪,曹新茹,高一夫,等.家蝇精氨酸激酶基因克隆及其在害虫防治上的应用[J].河北大学学报(自然科学版),2015,35(1):70-75.
- [6] 张元臣.烟夜蛾气味受体基因和精氨酸激酶基因的克隆与表达分析[D].郑州:河南农业大学,2011.
- [7] OKAZAKI N, MOTOMURA S, OKAZOE N, et al. Cooperativity and evolution of *Tetrahymena* two domain arginine kinase [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 79: 696-703.
- [8] 黄丽娜,刘宁,赵洁,等.精氨酸激酶研究进展[J].生命科学研究,2015,19(5):452-456.
- [9] TANAKA K, ICHINARI S, IWANAMI K, et al. Arginine kinase from the beetle *Cissites cephalotes* (Olivier). Molecular cloning, phylogenetic analysis and enzymatic properties [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2007, 37(4): 0-345.
- [10] 雷婧,万华涛,汪劲松,等.精氨酸激酶C端结构域的克隆及其表达纯化[J].化学与生物工程,2010,27(6):41-44.
- [11] MATTHEWS B F, MACDONALD M H, THAI V K, et al. Molecular Characterization of arginine kinases in the Soybean Cyst Nematode (*Heterodera glycines*) [J]. Journal of nematology, 2003, 35(3): 252-258.
- [12] 吴庆运.蝗虫精氨酸激酶基因的克隆、表达、纯化及酶学性质研究[D].泰安:山东农业大学,2008.
- [13] 郭淑元,叶盛,王政,等.精氨酸激酶

- 及其底物复合物的结晶和结晶学初步研究[J]. 自然科学进展, 2004, 14(12): 1475-1478.
- [14] SCHNEIDER A, WIESNER R J, GRIESHABER M K. On the role of arginine kinase in insect flight muscle [J]. *Insect Biochemistry*, 1989, 19(5): 471-480.
- [15] 张元臣, 安世恒, 李为争, 等. 烟夜蛾精氨酸激酶基因的克隆及 mRNA 表达分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(7): 754-761.
- [16] NEWSHOLME E A, BEIS I, LEECH A R, et al. The role of creatine kinase and arginine kinase in muscle [J]. *Biochemical Journal*, 1978, 172(3): 533-537.
- [17] KUCHARSKI R, MALESZKA R. Arginine kinase is highly expressed in the compound eye of the honey bee, *Apis mellifera* [J]. *Gene*, 1998, 211(2): 343-349.
- [18] CHEN X, YAO P, CHU X, et al. Isolation of arginine kinase from *Apis cerana cerana* and its possible involvement in response to adverse stress [J]. *Cell Stress & Chaperones*, 2015, 20(1): 169-183.
- [19] ROMERO M R, CLAYDON A J, FITCHES E C, et al. Sequence homology of the fly proteins tropomyosin, arginine kinase and myosin light chain with known allergens in invertebrates [J]. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2016, 2(2): 69-81.
- [20] QI X L, SU X F, LU G Q, et al. The effect of silencing arginine kinase by RNAi on the larval development of *Helicoverpa armigera* [J]. *Bulletin of Entomological Research*, 2015, 105(5): 555-565.
- [21] KRING J B. Behavioral responses of winged bean aphids to colored fluorescent lamps [J]. *Journal of Economic Entomology*, 1969, 62(6): 1450-1455.
- [22] ANDRADE E C, HUNTER W B. RNAi feeding bioassay: development of a non-transgenic approach to control Asian citrus psyllid and other hemipterans [J]. *Entomologia Experimentalis Applicata*, 2017, 162(3): 389-396.
- [23] BENYAMIN Y, ROBIN Y, THOAI N V. Immunochemistry of lobster arginine kinase. Effect of chemical modifications of the essential amino-acid residues on the antigenic reactivity [J]. *Febs Journal*, 2010, 37(3): 459-466.
- [24] BROWN A E, FRANCE R M, GROSSMAN S H. Purification and characterization of arginine kinase from the American cockroach (*Periplaneta americana*) [J]. *Archives of Insect Biochemistry & Physiology*, 2004, 56(2): 51-60.
- [25] AGALAKOVA N I, GUSEV G P. Fluoride induces oxidative stress and ATP depletion in the rat erythrocytes in vitro [J]. *Environmental Toxicology & Pharmacology*, 2012, 34(2): 334-337.
- [26] CANONACO F, SCHLATTNER U, WALLMANN T, et al. Functional expression of arginine kinase improves recovery from pH stress of *Escherichia coli* [J]. *Biotechnology Letters*, 2003, 25(13): 1013-1017.
- [27] CHEN X, YAO P, CHU X, et al. Isolation of arginine kinase from *Apis cerana cerana* and its possible involvement in response to adverse stress [J]. *Cell Stress & Chaperones*, 2015, 20(1): 169-183.
- [28] SI Y X, JINHYUK LEE, YIN S J, et al. The inhibitory effects of Cu²⁺ on *Exopalaemon carinicauda* arginine kinase via inhibition kinetics and molecular dynamics simulations [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2015, 176(4): 1217-1236.
- [29] 褚靖, 汪劲松, 张新潮, 等. 杨梅素对精氨酸激酶结构与功能的影响 [J]. *山东化工*, 2016, 46(4): 39-45.
- [30] WANG H R, ZHU W J, WANG X Y. Mechanism of inhibition of arginine kinase by flavonoids consistent with thermodynamics of docking simulation [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2011, 49(5): 0-991.
- [31] ROSENTHAL G A, DAHLMAN D L, ROBINSON G W. L-arginine kinase from tobacco hornworm, *Manduca sexta* (L.). Purification, properties, and interaction with L-canavanine [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1977, 252(11): 3679.

甘肃省洋葱产业发展现状及对策

马彦霞, 王晓巍, 蒯佳琳, 张俊峰, 张玉鑫

(甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 洋葱是甘肃农业生产中发展速度较快、经济效益较高的特色优势产业和农村经济支柱产业之一。分析了甘肃省洋葱生产的优势、发展现状及发展中存在的主要问题, 从加快新品种引进和选育, 建立健全良种繁殖体系; 大力推进机械化生产水平, 健全信息服务体系, 完善监测预警体系等方面提出了甘肃省洋葱产业今后发展的对策。

关键词: 甘肃省; 洋葱产业; 发展现状; 对策

中图分类号: S633.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2019)05-0074-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2019.05.017

洋葱(*Allium cepa* L.)为百合科葱属葱蒜类两年生草本作物, 含有丰富的营养物质和多种矿物元素, 具有降血脂、降血糖、降血压、舒张血管等作用, 可预防骨质疏松、糖尿病、高血压、感冒等多种疾病, 有抗衰老的功效, 是一种营养价值很高的保健蔬菜。

洋葱已有 5 000 多年的栽培历史, 20 世纪初传入中国, 甘肃省从 20 世纪 80 年代起大面积种植, 现已成为中国洋葱主产地之一。据统计, 2017 年甘肃省洋葱种植面积达 2.12 万 hm^2 , 主要分布在酒泉、张掖、金昌、武威等地。随着农业产业结构的调

收稿日期: 2019-02-18

基金项目: 国家特色蔬菜产业技术体系兰州综合试验站 (CARS-24-G-25); 农业部西北地区蔬菜科学观测实验站(2015-A2621-620321-G1203-066)。

作者简介: 马彦霞(1982—), 女, 甘肃定西人, 副研究员, 博士, 主要从事蔬菜栽培方面的研究与示范推广工作。Email: mayx1982@126.com。

通信作者: 张玉鑫(1980—), 男, 甘肃张掖人, 副研究员, 主要从事蔬菜栽培方面的研究与示范推广工作。Email: zhangyuxin@gsagr.ac.cn。

- [32] TIWARI B S, BELENGHI B, LEVINE A. Oxidative stress increased respiration and generation of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition, and programmed cell death[J]. *Plant Physiology*, 2002, 128(4): 1271-1281.
- [33] MIRANDA M R, CANEPA G E, BOUVIER L A, et al. *Trypanosoma cruzi*: Oxidative stress induces arginine kinase expression[J]. *Experimental Parasitology*, 2006, 114(4): 341-344.
- [34] LIU Z, XIA L, WU Y, et al. Identification and characterization of an arginine kinase as a major allergen from silkworm (*Bombyx mori*) Larvae [J]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2009, 150(1): 8-14.
- [35] CHEN BY, GUO Q, GUO Z, et al. Improved activity assay method for arginine kinase based on a ternary heteropolyacid system [J]. *Tsinghua Science and Technology*, 2003, 8(4): 422-427.
- [36] ROBIN Y, BENYAMIN Y, THOAI N V. Existence of homologous antigenic structures in unfolded creatine kinase and arginine kinase [J]. *Febs Letters*, 1976, 63(1): 174-178.
- [37] 苏晓峰. 精氨酸激酶在棉铃虫中的表达及调控研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [38] 赵伊英. 黄曲条跳甲关键功能基因的克隆及利用 RNAi 技术控制害虫[D]. 福州: 福建农林大学, 2008.

(本文责编: 杨 杰)