昆虫嗅觉反应机理的研究进展

黄恩炯　郭晓霞　赵彤言
(军事医学科学院微生物流行病研究所，病原微生物生物安全国家重点实验室，北京　100071)

摘要　嗅觉是昆虫产生行为的重要基础，阐明昆虫嗅觉机理有助于调控昆虫行为和进行害虫治理。近年来，随着昆虫行为学、生物化学、分子生物学和昆虫电生理的快速发展，许多与嗅觉相关的生物活性分子和相关基因被发现和克隆，深入研究昆虫的嗅觉反应机理已有可能。作者从气味分子、气味结合蛋白和气味受体等方面对昆虫的嗅觉反应机理进行了综述。

关键词　昆虫嗅觉；气味分子；气味结合蛋白；气味受体

昆虫嗅觉系统是一个高度专一、极其灵敏的化学监测器，能识别环境中特异的化学气味分子，并以此作为觅食、寻偶、交配、产卵的重要信息，因此，灵敏的嗅觉对于昆虫适应环境和种群繁殖具有重要的作用。一般而言，昆虫对气味物质的识别过程大致包括以下几步(穆兰芳等，2005)：(1) 外界环境中亲脂性的气味分子通过昆虫触角感器表皮上的微孔进入亲水性的感器淋巴液，与感器淋巴液中的可溶性气味结合蛋白(Odorant binding protein，OBP) 结合，形成气味分子-OBP 复合体；(2) 复合体穿过亲水性的嗅觉淋巴液，到达神经树突膜上的气味受体；(3) 气味受体受到刺激后，膜通透性发生改变，产生动作电位，同时气味分子在 OBP 作用下又迅速失活，然后在气味降解酯酶和谷胱苷肽转移酶的作用下降解。下面将分别从气味分子的化学结构及特征、气味结合蛋白和气味受体等几个方面对昆虫的嗅觉反应机理进行阐述，以期推动该领域的研究与发展。

1　气味分子的化学结构及特征

气味分子的研究目前以鳞翅目昆虫居多，重点在其外激素。鳞翅目昆虫性外激素结构同源性高，易于与其他气味区别。它们大多由 12～20 个碳原子的非饱和碳链组成，线性排列，疏水性强；在 1 号位上具有醇、醛或酯的官能团。舞毒蛾(*Lymantria dispar*) 的性外激素具有氧环结构，有对应体存在。由于其大多为线状分子，结构上具有一定的灵活性，在水溶性的介质内，为了缩小同水分子的相互作用，碳氢链可能弯曲形成胶态分子团(Pelosi and Maida，1995)。植源气味分子的结构变化较大，包括醇、醛、酯、萜类、芳香族化合物及呋喃等。昆虫的嗅觉感器对性外激素的反应具有较高的敏感性和特异性，对植物的一般气味组分的敏感性和特异性较低(刘勇等，2000)。

昆虫感受到的气味物质多为脂溶性的小分子化合物，这些小分子物质通过触角上皮细胞间的孔道扩散到达触角感器淋巴液，而触角感器淋巴液是亲水性的液体，外界亲脂性分子不能直接穿过这些亲水性的液体到达嗅觉神经树突末梢，据此推测嗅觉神经树突周围液体中可能存在一种气味结合蛋白，溶解并运输脂溶性气味物质穿过亲水性液体。

2　气味结合蛋白

昆虫气味结合蛋白(OBP) 是一类水溶性的酸性蛋白，全长约 144 个氨基酸，相对分子量较小，一般为 15～17 kDa 。N-末端有一段 20 个氨基酸左右的信号肽，序列中有 6 个保守的半胱氨酸位点，具有相似的水溶性及次级结构(Pelosi and Maida，1995)。在成熟蛋白上第 40～60 位约有 20 个亲脂性氨基酸，这种结构可能与OBP 结合脂溶性的气味物质有关(Du *et al*.，1994)。OBP 与脂溶性的气味物质发生作用，是昆虫专一性地识别外界气味物质的第一步生化反应，对于

收稿日期：2007-12-10

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

昆虫与外界进行信息交流具有重要意义。

近十多年来，有关气味结合蛋白研究较多，特别是对昆虫气味结合蛋白的研究尤为热门。昆虫的OBP在触角感器淋巴液中浓度很高，主要分为4种，包括信息素结合蛋白(Pheromone binding protein，PBP)、普通气味结合蛋白Ⅰ(General odorant binding protein Ⅰ，GOBP Ⅰ)、普通气味结合蛋白Ⅱ(GOBP Ⅱ)和气味结合蛋白类似蛋白(王桂荣等，2002)。PBP主要存在于对性信息素敏感的毛形感器中，而GOBP则存在于锥形感器中，已在多种昆虫中发现存在OBP(刘勇等，2000)。

2.1 OBP的生理功能

OBP在昆虫对外界气味的感受中起重要作用。目前虽然对昆虫和脊椎动物OBP的生理功能知之甚少(Pelosi and Maida，1995；Steinbrecht，1996)，但根据最近的研究结果可概括为以下几点。

2.1.1 气味识别功能：经过长期的演化，OBP也具有对外界气味物质选择性结合的能力。OBP通过选择性结合一定类别的气味分子，在气味识别中起着外周滤器的作用。

OBP可识别不同结构的气味分子，使昆虫的嗅觉感器表现出特异性。GOBP在雌雄个体触角中的表达很相似，它们限制在对食物、寄主气味应答的锥形感器上，这类蛋白质有助于气味识别(Krieger *et al*.，1996)，PBP在雌雄个体触角中的表达有差异性，一般在雄性个体中表达，通过信息物类似物标记实验(van den and Ziegelberger，1991)，它特异性地与信息素结合，表明它与识别信息素有关。

2.1.2 协助运送气味分子：OBP在昆虫嗅觉淋巴液中可能执行着一种聚集疏水性气味分子，并将它运输到感觉嗅觉神经膜上或者从神经膜上运输离开的功能(Kaissling，1986；Vogt *et al*.，1999)。因此，OBP具有双重功能，将气味分子运输到树突膜上并又将它运走。

2.1.3 降解和清除气味分子及有毒物质：气味分子到达膜受体后，OBP能迅速与其结合，形成OBP-气味分子复合物，阻止气味分子进一步刺激受体，使其失活，这亦即气味分子失活的非酶学机制(Kaissling，1986；Pelosi and Maida，1995)。有研究表明，在性信息素引起昆虫发出终端信号的同时，昆虫的嗅觉感器中存在一种特殊的酶，对信息素进行功能修饰(Maida *et al*.，2000)。

2.1.4 保护触角的化学感器：GOBP这类蛋白只在锥形感受器上表达，负责对食物等特定的气味分子接受，而PBP在昆虫的毛形感受器上表达，对信息素作出反应，所以气味蛋白可能起到了一种选择性滤网的功能(Raming *et al*.，1990)。另外，它的降解和清除气味分子及有毒物质其实也是一种保护功能。

2.2 OBP的作用机制

近年来，除了对OBP的生理功能进行了研究和合理的推测外，对OBP以何种方式刺激树突膜也进行了研究，并提出了3种假说。在3种假说中，均认为OBP与孔道末端的气味分子结合并运输气味分子穿过神经树突周围的水溶性淋巴液。

假说A认为气味分子与OBP复合物不稳定，复合物穿过亲水性液体后随即解离，气味分子单独与神经膜上的受体结合(Vogt *et al*.，1985；Vogt，1995)。假说B则认为气味分子-OBP复合物很稳定，穿过亲水性液体后，仍以复合物的形式同周围受体分子结合(Steinbretch，1996；Ziegelberger，1996)。而假说C是假说A的改进，主要是基于Rogers等(1997)在丝蚕蛾触角中发现的一种受体膜蛋白，因此认为气味分子-OBP复合物穿过亲水性液体后，先与受体膜上的跨膜蛋白结合，促使气味分子与OBP解离，然后，气味分子单独刺激附近神经膜上的气味受体。在以上3种假说中，触角专一性气味降解酯酶都参与气味分子的降解作用，使刺激信号终止(Vogt *et al*.，1985；Rybczynski *et al*.，1990；Rogers *et al*.，1999)。

通过以上分析，对气味结合蛋白的生理功能和作用机制可以得出以下结论：首先，还原型的OBP在触角上皮孔道末端与气味分子发生特异性结合，溶解并运载气味分子穿过感器淋巴液到达神经树突膜上的受体，受体接受到刺激后，气味分子在氧化型OBP作用下又迅速失活，而后在气味降解酯酶和谷胱苷肽转移酶等的作用下降解(王桂荣等，2002)。

3 气味受体

当气味分子和OBP结合后，就被运送到跨

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

膜气味受体蛋白上。嗅觉的识别和传导是从气味分子和嗅觉神经元树突膜上的气味受体的相互作用开始的。气味受体是具有 7 个跨膜域的 G-蛋白偶联受体（G protein coupled receptor，GPCR）。气味分子与气味受体作用后，激发了G-蛋白偶联反应的连锁信号。受体调节的G-蛋白激活与第二信使连锁的关键酶，使腺苷酸环化酶（AC）催化 5′-腺苷三磷酸形成 3′，5′-环化腺苷酸 (cAMP)，也可使磷脂酶C（PLC）水解膜上的磷脂酰肌醇释放 1，4，5-三磷酸肌醇 (IP_3) 和甘油二酯（DAG）。细胞内IP_3 和cAMP 浓度的升高激活了膜上的离子通道，从而产生动作电位（Krieger and Breer，1999）。

自Buck 和 Axel（1991）从老鼠的嗅觉上皮组织克隆得到第 1 个气味受体基因后，多种气味受体基因陆续被发现。哺乳动物和线虫（*Caenorhabditis elegans*）气味受体基因的发现，激发了人们对昆虫气味受体基因的研究。迄今，至少已有 4 个目（鞘翅目、鳞翅目、双翅目和膜翅目）12 种昆虫的气味受体基因得到鉴定。已在黑尾果蝇（*Drosophila melanogaster*）的全基因组序列中识别出至少 61 个候选气味受体 Dor 基因，在烟芽夜蛾（*Heliothis virescens*）中已鉴定出 9 个，冈比亚按蚊（*Anopheles gambiae*）中至少有 79 个气味受体基因。而且，昆虫的气味受体基因高度分化，如Dor 蛋白之间的同源性只有 17%～26%，烟芽夜蛾与果蝇的同源性仅有 7%～16%，一些较近源的昆虫才达 40%～60% (Jacquin-Joly and Merlin，2004；李卫华等，2006)。一般每个嗅觉神经元只有 1 个气味受体基因表达，但 Or83b 是例外，该基因几乎在所有的嗅觉神经元中都表达，且和其他气味受体共同表达（Krieger *et al*.，2003；Larsson *et al*.，2004）。在果蝇、疟蚊和谷实夜蛾等昆虫中，基因敲除后的 Or83b 突变体的嗅觉相关行为严重削弱，当转入 Or83b 后又恢复了正常（Larsson *et al*.，2004；Jones *et al*.，2005），表明 Or83b 基因与果蝇的嗅觉行为关系密切。

对昆虫气味受体基因的研究起初主要是通过同源碱基方法进行克隆，例如比较已经发现的受体基因同源性设计简并引物进行RT-PCR 扩增，或利用哺乳动物的嗅觉受体基因筛选昆虫cDNA 文库，但却没有取得成功，最终通过搜索果蝇基因组数据库，找到了一种与已知气味受体结构相关的蛋白质编码基因，才使得这一难题得以突破。Clyne 等（2000）利用一种新型多变量计算机程序首次报道了 2 个可能编码 7 个横跨膜域气味受体蛋白的基因，这种气味受体蛋白基因特异地在化感细胞的一个亚家族中表达。与此同时，Vosshall 等（1999）利用差显杂交技术，也发现了仅在嗅觉器官，特别是在触角和下颚须中表达的气味受体基因。使用同源性搜索，在果蝇基因组数据库中，找到了 17 个相关的序列，但有趣的是果蝇相关的气味受体基因具有高度的多样性，各受体基因之间很少有相同的序列，且与线虫、脊椎动物的气味受体基因及其他任何家族的G-蛋白偶联受体基因也没有相似的序列。这就解释了为什么早期使用同源碱基方法找果蝇的气味受体基因没有获得成功。至于脊椎动物、果蝇和线虫这些不同的动物间气味受体基因的同源性为何如此之低，现在仍不清楚。昆虫中发现的气味受体基因与其他家族的G-蛋白偶联气味受体基因有很大的不同（如视蛋白或神经递质受体蛋白），功能上的相同可能是一种趋同进化现象，原因可以归结为 50 亿年的进化（Krieger and Breer，1999）。

4 结语

近些年来，已在分子和细胞水平上对昆虫的嗅觉反应进行了大量研究，特别是气味受体的发现，揭开了对果蝇嗅觉感受系统的全面研究。然而，目前的研究成果还不足以对昆虫的嗅觉机理作一个完整而全面的阐述，很多问题还有待进一步的研究，比如缺乏关于各种蛋白功能及其相互作用的研究，尤其缺乏对信号传导过程以及与昆虫动作电位产生有关的离子通道的详细了解。因此，今后应该在明确这些嗅觉相关蛋白的生理生化特性和功能的基础上，从它们的相互联系入手，研究昆虫对化学信息的接受、信号传递、综合加工以及行为反应等，这将有助于人们调控昆虫间的通讯系统，最终达到控制害虫和利用益虫的目的。如蝗虫、果蝇、蚊子、蛾、蜜蜂等昆虫的嗅觉细胞都有 Or83b 基因，因此，可能针对 Or83b 基因设计一种新的害虫治理策略，从而使昆虫丧失寄主搜寻能力以避免其为害（Jones *et al*.，2005）。

昆虫都是通过嗅觉找到食物和交配的，对昆

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

虫嗅觉感受机理的详细了解，将会有助于设计新的化合物来干扰害虫间的通讯系统，最终达到控制害虫的目的，这样可以减少使用神经毒剂，避免对环境造成污染。此外，还可以模仿昆虫发达的嗅觉识别系统研制高度灵敏的生物传感器。因此，对昆虫嗅觉感受机理的研究，不仅有助于揭开昆虫是如何感受和识别环境中的气味物质，并引起相关行为反应的，更重要的是它具有很大的生态和经济价值，而且对研究脊椎动物的嗅觉机理也具有借鉴作用。

参考文献

王桂荣，郭予元，吴孔明. 2002. 昆虫触角气味结合蛋白的研究进展. 昆虫学报，**45** (1)：131-137.

刘勇，倪汉祥，胡萃. 2000. 昆虫气味结合蛋白研究进展. 昆虫知识，**37** (6)：367-371.

李卫华，涂洪涛，苗雪霞，等. 2006. 昆虫嗅觉相关蛋白的研究进展. 昆虫知识，**43** (6)：757-762.

穆兰芳，董双林，修伟明. 2005. 无脊椎动物是怎样感受外界化学信号的? 自然杂志，**26** (5)：305-309.

Buck, L. and R. Axel 1991 A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell*, **65**: 175-187.

Clyne, P. J., G. G. Warr, J. R. Carlson 2000 Candidate taste receptors in *Drosophila*. *Science*, **287**: 1 830-1 834.

Du, G., C. S. Ng, G. D. Prestwich 1994 Odorant binding by a pheromone binding protein: active site mapping by photoaffinity labeling. *Biochemistry*, **33**: 4 812-4 819.

Jacquin-Joly, E. and C. Merlin 2004 Insect olfactory receptors: contributions of molecular biology to chemical ecology. *J. Chem. Ecol.*, **30**: 2 359-2 397.

Jones, W. D., T. A. Nguyen, B. L. Kloss *et al*. 2005 Functional conservation of an insect odorant receptor gene across 250 million years of evolution. *Curr. Biol.*, **15**: 119-121.

Kaissling, K. E. 1986 Chemo-electrical transduction in insect olfactory receptors. *Annu. Rev. Neurosci.*, **9**: 121-141.

Krieger, J. and H. Breer 1999 Olfactory reception in invertebrates. *Science*, **286**: 720-723.

Krieger, J., E. N. R. von, M. Mameli *et al*. 1996 Binding proteins from the antennae of *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **26**: 297-307.

Krieger, J., O. Klink, C. Mohl *et al*. 2003 A candidate olfactory receptor subtype highly conserved across different insect orders. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol.*, **189**: 519-526.

Larsson, M. C., A. I. Domingos, W. D. Jones *et al*. 2004 Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron*, **43**: 703-714.

Maida, R., J. Krieger, T. Gebauer *et al*. 2000 Three pheromone-binding proteins in olfactory sensilla of the two silkmoth species *Antheraea polyphemus* and *Antheraea pernyi*. *Eur. J. Biochem.*, **267**: 2 899-2 908.

Pelosi, P. and R. Maida 1995 Odorant-binding proteins in insects. *Comp. Biochem. Physiol. Mol. Biol.*, **111** (3): 503-514.

Raming, K., J. Krieger, H. Breer 1990 Primary structure of a pheromone-binding protein from *Antheraea pernyi*: homologies with other ligand-carrying proteins. *J. Comp. Physiol. B*, **160**: 503-509.

Rogers, M. E., M. K. Jani, R. G. Vogt 1999 An olfactory-specific glutathione-S-transferase in the sphinx moth *Manduca sexta*. *J. Exp. Biol.*, **202**: 1 625-1 637.

Rogers, M. E., M. Sun, M. R. Lerner *et al*. 1997 Snmp-1, a novel membrane protein of olfactory neurons of the silk moth *Antheraea polyphemus* with homology to the CD36 family of membrane proteins. *J. Biol. Chem.*, **272** (23): 14 792-14 799.

Rybczynski, R., R. G. Vogt, M. R. Lerner 1990 Antennal-specific pheromone-degrading aldehyde oxidases from the moths *Antheraea polyphemus* and *Bombyx mori*. *J. Biol. Chem.*, **265** (32): 19 712-19 715.

Steinbrecht, R. A. 1996 Are odorant-binding proteins involved in odorant discrimination? *Chem. Senses*, **21** (6): 719-727.

van den Berg, M. J. and G. Ziegelberger 1991 On the function of the pheromone binding protein in the olfactory hairs of *Antheraea polyphemus*. *J. Insect Physiol.*, **37** (1): 79-85.

Vogt, R. G. 1995 Molecular genetics of moth olfaction: a model for cellular identity and temporal assembly of the nervous system. In: Goldsmith, M. R. and A. S. Wilkins (eds.). Molecular Model Systems in the Lepidoptera. Cambridge: Cambridge University Press. 341-367.

Vogt, R. G., F. E. Callahan, M. E. Grogers *et al*. 1999 Odorant binding protein diversity and distribution among the insect orders, as indicated by LAP, an OBP-related protein of the true bug *Lygus lineolaris* (Hemiptera, Heteroptera). *Chem. Senses*, **24** (5): 481-495.

Vogt, R. G., L. M. Riddiford, G. D. Prestwich 1985 Kinetic properties of a sex pheromone-degrading enzyme: the sensillar esterase of *Antheraea polyphemus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **82**: 8 827-8 831.

Vosshall, L. B., H. Amrein, P. S. Morozov *et al*. 1999 A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila* antenna. *Cell*, **96**: 725-736.

Ziegelberger, G. 1996 The multiple role of the pheromone-binding protein in olfactory transduction. *Ciba Found Symp.*, **200**: 267-280.

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

ADVANCES ON THE OLFACTORY MECHANISM OF INSECT

HUANG En-Jiong　GUO Xiao-Xia　ZHAO Tong-Yan
(*State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity*, *Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology*, *Beijing* 100071, *China*)

Abstract　Olfaction plays important roles in the behavior of insect. Therefore, unraveling the olfactory mechanism will be useful to regulate insect behaviors for effective pest control. With the rapid development of insect behavior, biochemistry, molecular biology and insect electrophysiology, many bioactive molecules and genes associated with olfaction have been identified in recent years, which makes it possible to investigate the olfactory mechanism of insect deeply. Here, the odor molecules, odorant-binding proteins and odorant receptors were reviewed to unravel the olfactory mechanism of insect.

Key words　Insect olfaction; Odor molecules; Odorant binding proteins; Olfactory receptors

---

军事医学科学院微生物流行病研究所
卫生杀虫剂药效试验情况简介

军事医学科学院微生物流行病研究所自1987年作为农业部第1批获准农药登记药效试验单位，依托国家和军队重点实验室的技术支撑，二十年来经过全体科研和技术人员的不懈努力，不仅高质量地完成卫生杀虫剂药效登记的测试任务，而且在试验设备及方法的建立、试验昆虫养殖等技术达到国内领先的水平。

本所是卫生杀虫剂药效登记试验国标和病媒生物检测与控制国标的主要起草单位和专家组成员，参与和承担了全国卫生杀虫剂药效试验及卫生害虫防治技术人员的培训及技术咨询等大量工作。本所拥有亚洲最大，馆藏量居国内首位的医学昆虫标本馆，馆藏标本4500余种近200余万号标本；医学昆虫的养殖种类国内最多，拥有10间，200余平米可四季恒温恒湿的昆虫养殖室，养殖有8大类21种和9个不同地理株，不仅可以提供用于研究疟疾、登革热、脑炎、鼠疫和莱姆病等相关重要媒介试虫(如蚊、蝇、蚤和蜱等)，而且养殖的还有对人们生活带来诸多骚扰的城市卫生害虫(如蟑螂、蚂蚁、螨虫、皮蠹、衣蛾和书虱等)；养殖技术达到国内领先、国际先进水平。在国内首次成功地采用人工离体喂血技术养殖吸血昆虫，自主研制的多功能吸血昆虫供血器，已被日本、香港和台湾及国内多家研究教学机构采纳和应用。现有卫生杀虫剂药效测试室8间，面积约150 m^2，拥有完善的国标规定的各种测试设备，并且成功地研制了气雾剂电子喷射控制装置，精确度可达到(1.000±0.005) g之内。

我所完全有能力承担并确保高质量地完成卫生杀虫剂药效试验及其他医学昆虫防治研究课题，并可为试验单位提供敏感试虫及试验昆虫引种等项服务。

通信地址：北京丰台东大街20号　　联系电话：010-66948542/540
邮政编码：100071　　手　　机：13651305982
电子邮箱：zhanghj1180@126.com　　传　　真：010-66948542
联系人：张洪杰　赵彤言

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net