

昆虫对气味信息素的感受机制

刘 召,花保祯

(西北农林科技大学 植保资源与病虫害治理教育部重点实验室,昆虫博物馆,陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 昆虫触角拥有灵敏的嗅觉系统,用以感知环境中对其生存繁衍至关重要的气味信息。气味信息素经感受器上的小孔进入,与血淋巴内的气味结合蛋白结合后,导致其结构变化,从而完成信息素到受体的传递。由信息素受体组成的离子通道在与信息素结合后,可以直接或经由环核苷酸途径打开离子通道,引起昆虫神经冲动,从而传递气味信号。文章介绍了昆虫嗅觉感受器结构的构造特点,总结了气味信息素与气味结合蛋白的结合和释放机制,说明了神经电冲动的产生过程,概述了激活离子通道的整个过程,展望了信息素与离子通道作用机制研究在害虫防治和实践中的应用前景。

[关键词] 气味结合蛋白;离子通道;嗅觉受体蛋白;昆虫化学通信

[中图分类号] Q966

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)11-0186-07

Detection mechanisms of insects to odorants

LIU Zhao, HUA Bao-zhen

(Key Laboratory of Plant Protection Resources and Pest Management, Ministry of Education, Entomological Museum,
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Insects possess fairly sophisticated olfactory system in their antennae to detect the odorants essential for their survival and reproduction. Odorant molecules penetrate into the sensilla of the antennae via pores on sensillum surface, bind with odorant-binding proteins in the lymph, and trigger the structural transformation of the odorant-binding protein to transport odorants to the receptors. The ion channel, composed of odorant receptors, can be directly opened by binding with the odorant molecules, or activated by cyclic-nucleotide causing neuron impulse for odorant signal detection after binding with odorant molecules. This paper introduces the general structure of the odorant sensilla of insects, summarizes the process of odorant binding and releasing with odorant-binding proteins, outlines the process of the ion channel activation, and forecasts their potential application prospects in insect pest management

Key words: odorant-binding protein; ion channel; olfactory protein; insect chemical communication

通过对气味信息素的感知,昆虫可以从环境中快速有效地获取交配对象、食物源、产卵寄主、栖息地等对其繁衍生存至关重要的信息^[1]。在长期的进化过程中,昆虫发展了灵敏的嗅觉系统来感知外界的气味信息素。大多数昆虫的触角、下颚须等感受器官上密布有气味感受器,借此来捕获并感知外界的气味信息素。如家蚕(*Bombyx mori*)雄虫能捕获

到雌蛾释放到空气中的单个性信息素分子,以此获得有效的交配信息^[2],而蜜蜂(*Apis mellifera carnica*)能识别多种化学结构相似的气味信息素^[3]。这种能有效吸引异性昆虫的化合物,在害虫防治应用上的潜力引起了研究者的极大兴趣。

昆虫化学通信的研究始于家蚕性信息素(sex pheromone)概念的提出及性信息素的鉴定^[4]。

* [收稿日期] 2010-04-22

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30970386)

[作者简介] 刘 召(1978—),男,河南平顶山人,在读博士,主要从事昆虫化学生态研究。E-mail: lzha216@nwsuaf.edu.cn

[通信作者] 花保祯(1962—),男,河南获嘉人,教授,主要从事昆虫形态学和分类学研究。E-mail: huabzh@nwsuaf.edu.cn

Vogt 等^[5]首先报道了在家蚕中发现的信息素结合蛋白 (pheromone-binding proteins, PBP), 随后又在果蝇 (*Drosophila*) 体内找到了受体 (olfactory receptors, ORs)^[6-7]。研究发现, 外界的气味信息素首先通过触角上的小孔进入触角, 穿过包围在嗅觉神经细胞周围的淋巴液, 到达触角内的受体与其结合并引发神经冲动, 使昆虫获得外界信息, 从而作出相应的反应。但传递过程的具体机制目前尚存在较大争议。

本文介绍了昆虫嗅觉感受器的构造特点, 分析了参与气味信息素传递蛋白的结构, 比较了蛋白与气味信息素的结合和释放机制, 说明了神经电冲动的产生过程, 系统总结了近年来昆虫化学信号感受机制的研究进展, 最后展望了其在害虫防治研究和实践中的应用前景。

1 昆虫嗅觉感受器的构造

昆虫嗅觉感受器的构造与其功能密切相关。昆虫嗅觉感受器主要分布在触角、下颚须等器官上, 从形态上主要分为毛形感受器、锥形感受器和腔锥形感受器 3 类^[8]。昆虫嗅觉感受器主要由表皮、神经细胞及淋巴液组成, 上表皮上散布着 1 至多个小孔与外界相通^[9], 这些小孔的孔壁分为单壁和双壁 2 种类型。单壁的孔壁可以将信息素分子直接转运到感受器内部; 双壁的孔壁不参与信息素分子的传递, 树突通常被许多指状的突起包围, 中间有许多开口, 信息素分子通过这些通道进入感受器^[10]。昆虫飞行或爬行时, 气味信息素气流可以通过这些小孔进入触角内部^[11]。

昆虫神经细胞由上皮细胞发育而来^[12]。在发育早期首先形成感受器 4 个母细胞群, 其中 1 个发育成神经细胞^[13], 另外 3 个在神经细胞基部形成附属细胞^[14]。每个感受器包含 1 至多个感觉神经细胞, 当信息素到达受体时, 引发神经细胞产生神经冲动, 并向神经中枢传递^[15-16]。

在昆虫中, 特定感受器可以通过识别特定的气味信息素来调控昆虫的行为。果蝇毛形感受器主要对性信息素反应, 激活特定的神经细胞, 调控交配行为^[17-18]。在其他昆虫中也有毛形感受器对性信息素反应的报道^[19]。果蝇的锥形感受器主要对普通气味信号反应, 而腔锥形感受器只分布在触角上, 其神经细胞中存在一种受体用以感受外界信息素, 可以引发由多种胺类和羧酸类物质引起的神经冲动^[20-22]。

2 信息素结合蛋白的结构与功能

2.1 信息素结合蛋白的分类与结构特点

最早报道的气味结合蛋白 (odorant-binding proteins, OBPs) 是从多音天蚕蛾 (*Antheraea polyphemus*) 的感受器内分离出来的信息素结合蛋白 (pheromone binding proteins, PBP)^[5,23]。随后, 其他昆虫的 PBP 和 GOBPs 先后得到了克隆和表达^[24-25], 并在大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 中表达了与昆虫 OBPs 功能相同的蛋白^[26]。目前, OBPs 已在 8 目 40 余种昆虫中有报道^[27], 根据蛋白氨基酸序列的差异, 将 OBPs 分为信息素结合蛋白 (PBPs)、普通气味结合蛋白 (general olfactory binding proteins, GOBPs)^[28-30] 和触角结合蛋白 (antennal binding protein)^[31]。

家蚕信息素结合蛋白的结构已经研究清楚^[32-34], 其主要由 α 螺旋组成, 通过 6 个色氨酸残基形成 3 对二硫键^[26,35-38] 来保持蛋白结构的稳定性^[39], 这也成为 OBPs 的一个重要标志。该蛋白在昆虫体内具有 A、B 2 种不同的构型。在高 pH 情况下, 其以 B 构型存在, $\alpha 1$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 和 $\alpha 6$ 螺旋形成了一个兜状结构, 将其性信息素主要成分 bombycol 与 PBP 结合在一起, 形成复合体^[40]; 在受体附近的低 pH 环境中, OBPs 以 A 构型存在, C 端伸展序列形成了一个新的 α 螺旋 ($\alpha 7$), 伸入兜状结构中将 bombycol 取代并释放^[33-34, 40-44]。

2.2 OBPs 在昆虫体内表达的位置与功能

OBPs 在感受器官中的分布在很大程度上决定着蛋白的功能^[27]。据推断, 昆虫 OBPs 是参与化学信息感受与传递的主要蛋白。依据是: 首先, 该类蛋白在触角中特异性表达, 其主要在触角、下颚须等感受器基部的膜原细胞和毛原细胞 (图 1) 内分泌, 以高浓度存在于触角血淋巴中^[45-51]; 其次, 该类蛋白是水溶性蛋白, 且易与小分子化合物结合, 这种特性使其在气味信息素转运过程中具有载体和识别作用, 并能帮助疏水信息素通过水相的血淋巴, 同时还可避免信息素被体内的酶降解^[52]; 对其功能的研究表明, 它们在对寄主植物、交配对象的选择以及产卵地点的确定等方面都起着一定作用^[1,48,53]。

但越来越多的研究表明, OBPs 不仅在触角、下颚须等器官中表达, 在昆虫的其他组织内也有发现。丽蝇 (*Phormia regina*) 的 OBPs 不仅在触角的感受器中表达, 而且在翅、下颚须、跗节的感受器中也有分布^[54-55]。对果蝇、阿拉伯按蚊 (*Anopheles ara-*

biensis)和冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*)OBPs 的研究发现,该蛋白在唇瓣以及咽部的感受器、食窦唧筒以及翅和跗节都有分布^[56-60]。在膜翅目昆虫的研究中也发现,OBPs 在多种昆虫的触角、翅、足等不同器官中表达^[38,61-62]。对致倦库蚊(*Culex pipiens quinquefasciatus*)OBPs 基因的研究表明,多数基因可以同时 在化学感受器和非化学感受器中检测到,表明这些基因表达的蛋白有可能参与嗅觉活

动^[63]。这些证据表明,OBPs 在嗅觉器官中参与信息素的感知,而在其他器官中可能具有其他功能。

在同种昆虫的不同性别中,同种感受器表达的 OBPs 种类可能不同,并且具有不同的功能。家蚕雄虫和雌虫触角上的毛形感受器都能对外界气味信息素的刺激产生反应,但雄虫触角上的毛形感受器表达 PBP_s,对性信息素有特异反应;而雌虫的毛形感受器表达 GOBP_s,对苯甲酸和沉香醇有反应^[46]。

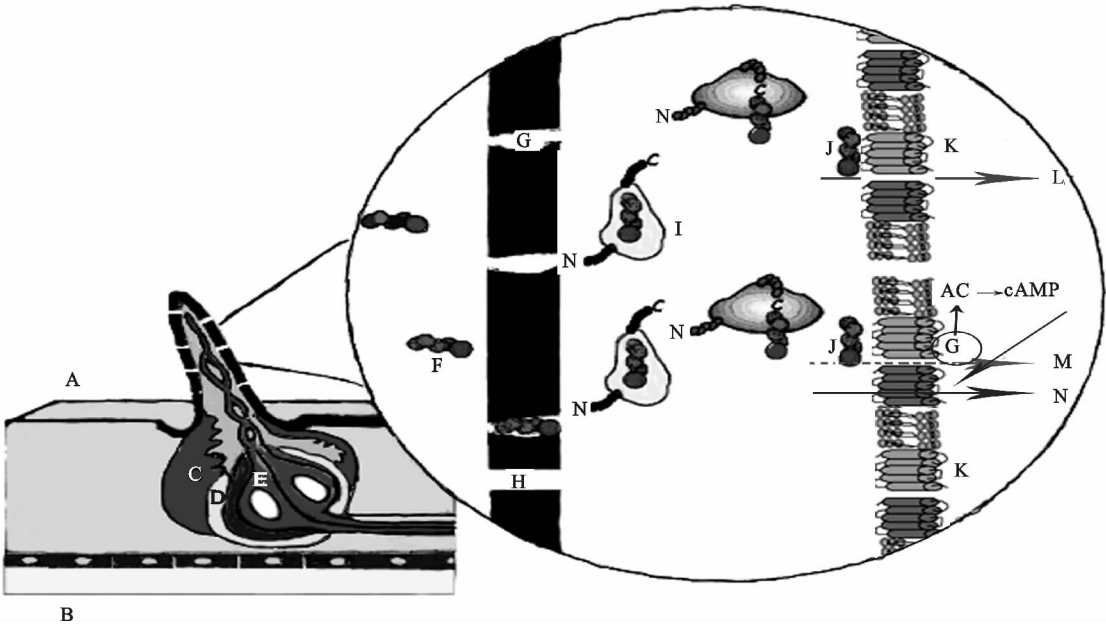


图 1 昆虫感受器构造示意图及气味分子进入感受器形成向细胞内部传递电流的过程

A. 空气;B. 触角壁;C. 膜原细胞;D. 毛原细胞;E. 神经细胞;F. 空气中的气味信息素;
G. 感受器表皮上的小孔;H. 嗅觉感受器表皮;I. 感受器内气味结合蛋白与气味信息素分子形成的复合体;
J. 被运送到树突表面的气味信息素分子;K. 嗅觉受体蛋白;L,M,N. 不同模型下产生的神经冲动

Fig. 1 Insect sensillum structure, the process of odorants penetration into sensillum and the production of current

A. Air;B. Antennae cuticle;C. Tormogen;D. Trichogen;E. Neuron cell;F. Odorant molecules;

G. Sensillum surface pore;H. Sensillum surface;I. Complex odorant binding proteins and odorant molecule;

J. The odorant molecule was transferred to dendrite surface;K. Olfactory receptor protein;L,M,N. The nervous impulse in different models

2.3 OBPs 运输气味信息素的模型

从昆虫的 OBPs 被发现以来,对其作用机理产生了多种不同的假说和模型^[64],但一直缺乏可信的证据来揭示其在气味信息素传递过程中的具体作用。目前主要存在以下 2 种模型。

第 1 种模型认为,气味信息素和 OBPs 复合体共同存在才能引发气味信息素感受器的反应。通过对多音天蚕蛾的研究发现,该昆虫的 2 种信息素, hexadecadienyl acetate (AC) 和 haxadecadienal (AL) 与 PBP 蛋白结合后形成 AC-PBP1、AL-PBP2 复合体,能分别引起 AL 和 AC 各自相应受体的反应。当 AC-PBP2 和 AL-PBP1 组合后,则能引起在

自然条件下对 AC 和 AL 没有反应的受体细胞发生反应^[65]。类似现象也存在于家蚕中^[66]。这说明只要为 PBP_s 提供合适的配基,每个受体细胞不仅被其特异的信息素激活,而且同时也能被其他信息素激活。

第 2 种模型认为,在缺失 OBPs 的情况下,昆虫仍能正确识别外界的气味信息素。将果蝇的 Or 基因在非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)卵母细胞中表达后(此时没有果蝇的 OBPs 表达),发现果蝇对外界的气味信息素仍有很强的反应和选择性^[67]。另外,在果蝇中表达冈比亚按蚊的 OBPs 发现,果蝇能被 4-甲苯酚(能引起按蚊触角强烈电生理反应的人体汗

液成分)激发出强烈的电生理反应,表明冈比亚按蚊的 OBPs 在果蝇体内仍能正常起作用,说明与气味受体 ORs 作用的是气味信息素而非 OBPs 与气味信息素的复合体^[68]。在这种模型中,OBPs 需要在 2 种不同的蛋白构型中不断地转换,以实现信息素的结合与释放,从而完成气味信息素在感受器内的运输。

关于 OBPs 通过构型变化来运输气味信息素,目前报道的主要有 2 个模型。第 1 种模型是通过对蛾类 PBPs 进行研究后提出的。在利用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳对多音天蚕蛾的研究中发现,氧化态和还原态 PBPs 可以共存,并推断疏水的信息素分子首先与还原态的 PBPs 结合,以复合体形式通过血淋巴到达受体,而氧化态的 PBPs 信息素分子复合体不能激活受体,从而使信息分子失活^[69]。信息素进入感受器后与还原态的 PBPs 结合,通过 PBPs 与信息素分子的复合体激活受体,随后通过 PBPs 的氧化作用使气味信息素分子失活、降解,从而完成气味信息素到受体的传递^[48,70-71]。

通过对家蚕信息素结合蛋白 BmPBP 结构的研究,提出了另外一种运输信息素的模型。在该模型中,BmPBP 存在 A 和 B 2 种构型,通过两者的转变,完成信息素的结合与释放(图 1)^[44]。昆虫淋巴液的 pH 值在感受器树突膜附近较低,而在表皮附近 pH 较高,接近中性^[34]。pH 值较高时,该蛋白以 BmPBP 构型存在, $\alpha 1$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 和 $\alpha 6$ 形成兜状结构,最后与 bombycol 形成 BmPBP^B-bombycol 复合体,然后运往树突膜上的受体;由于在树突膜附近 pH 值较低,BmPBP 碳端的一段原本以伸展状态存在的序列形成了一个新的 α 螺旋,并伸入兜状结构中,取代 BmPBP^B-bombycol 复合体中的性信息素 bombycol 分子,并释放到受体中,从而激活受体^[33-34,40,44]。对多音天蚕蛾、埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)、冈比亚按蚊等昆虫的 OBPs 研究也表明,均存在这种通过不同 pH 值下 OBPs 结构的变化来结合和释放气味信息素的情况^[72-75]。另有研究报道,相应氨基酸序列发生突变的 BmPBP 在不同 pH 值下结构没有变化,其与 bombycol 的结合能力也没有明显差异^[76],这从反面进一步验证了上述模型。

虽然有研究表明,OBPs 可以被气味信息素直接激活,但也有研究者认为,OBPs 对这些受体与气味信息素分子的正确组合起重要作用。野生型果蝇触角上的毛形感受器对性信息素 vaccenyl acetate (VA)有反应,缺失 *lush* 基因的果蝇在电生理和行

为学情况下对 VA 都不敏感,而在相应的感受器中转入 *lush* 基因或者 LUSH 蛋白后,果蝇立即恢复对 VA 的反应能力,证明 LUSH 蛋白能够调控果蝇对性信息素敏感的化学感受器神经细胞的活动^[77]。另外,在果蝇的感受器内表达家蚕的 OBPs 发现,该感受器对家蚕的性信息素 bombycol 有较弱的反应,而在感受器内同时表达家蚕的性信息素结合蛋白后,感受器的反应较只在感受器内表达 OBPs 明显增强^[78],证明 OBPs 对性信息的感知有作用。

3 神经电冲动的产生及传导

昆虫的感受器包含数个感觉神经细胞,当神经细胞接收到外界信号后在神经小球中处理这些信号,或者将信号传递到脑^[20]。昆虫的 ORs 与其他动物和线虫类似,都具有 7 个跨膜区域,推测昆虫与它们具有相同的传导机制,即 ORs 是 G 蛋白偶联受体,在接收到外界信息素的刺激后,发生结构变化,从而激活 G 蛋白,并引发第二信使物质的产生,从而产生神经冲动。但后来的研究发现,昆虫 ORs 的布局与其他动物、线虫的 G 蛋白偶联受体布局相反,即 N 端在细胞内部,C 端在细胞外部^[79-80],这为研究昆虫与其他动物具有不同的神经传导机制提供了证据。另外,在昆虫的神经细胞中还发现了另外一种序列比较保守的蛋白 OR83b^[81-82],其被认为是 ORs 的分子伴侣。OR83b 并不与配基结合,主要功能是与特异性的 ORs 形成 ORs/OR83b 复合体,在接收到信息素时作出相应的反应^[79,81]。

最近的研究表明,昆虫的 ORs 与 OR83b 形成由配基调控的非选择性离子通道,在接受到外界刺激后,产生离子流并引发神经冲动(图 1),使昆虫对外界作出相应反应。它不受细胞内 cAMP 等第二信使物质的调控,当该复合体与气味信息素分子结合后,离子通道打开,形成向细胞内部流动的离子流,而且当 G 蛋白的活性被抑制时,传往细胞内部的电流强度并不降低,充分证明该离子通道不受 G 蛋白偶联受体的调控^[83]。

但另有研究表明,信息素激发昆虫产生反应的过程虽然是通过 ORs/OR83b 形成的离子通道完成的,但由环核苷酸调控的第二信使系统也参与了此过程(图 1)。利用相应的信息化合物刺激表达有果蝇 Or22a 和 Or83b 基因的动物细胞后发现,在信息素浓度高时,由 ORs/OR83b 形成的离子通道直接打开,形成持续时间较短、快速向细胞内部传递的电流(图 1);而当信息素浓度低时,可通过 G 蛋白调控

环核苷酸,使环核苷酸的浓度升高,最终使离子通道打开,形成持续时间较长、传递速度较慢的电流(图 1)^[84]。

4 展 望

对 OBPs 结构和信息素转运机制的研究,可以帮助人们快速、有效地筛选信息素诱饵,从而对害虫进行更加有效的防治。气味信息素从外界进入昆虫体内到被传递至受体并激发神经冲动,是一个复杂的过程。空气中的信息素通过昆虫感受器表面形成的强气流经小孔进入感受器,与轴突周围的血淋巴接触后同 OBPs 形成复合体向受体传递。在此过程中,OBPs 被认为通过在不同环境中的结构变换来实现信息素的传递。但是,OBPs 在此过程中若只是被动运输,那么此过程与昆虫对外界信息素的快速反应相比耗时过长。同时,OBPs 在昆虫体内的复杂分布,预示着其具有更多的功能,或者其他器官也具有感受外界气味信息素的功能。以上这些问题均尚待进一步研究解决,以便揭示昆虫感受外界气味信号的详细机制,从理论上解决信息素在对有害昆虫治理上存在的问题。

信息素在昆虫的化学通信过程中最重要的作用是通过体内一系列的反应,打开离子通道,并产生神经冲动,使昆虫获得外界信息。关于昆虫对化学信号感知及信息素在昆虫体内的传导机制研究,在最近几十年内取得了较大进展,尤其是 Sato 等^[83]和 Wicher 等^[84]通过各自的研究发现,离子通道由 ORs/OR83b 复合体组成,在接受气味信息素的刺激后打开,产生神经冲动。但是以上 2 篇报道在论述 ORs 与气味信息素结合激活离子通道产生向内传递的电流的过程中,关于环腺苷酸的具体作用有很大不同之处。因此,对于信息素与离子通道作用机制的进一步研究,有可能为开发与信息素有关的农药产品提供有用的理论依据。

[参考文献]

[1] Matsuo T, Sugaya S, Yasukawa J, et al. Odorant-binding proteins OBP57d and OBP57e affect taste perception and host-plant preference in *Drosophila sechellia* [J]. PLoS Biology, 2007, 5(5): e118.

[2] Kaisslin K E, Priesner E. Die riechschwelle des seidenspinners [J]. Naturwissenschaften, 1970, 57(1): 23-28.

[3] Laska M, Galizia C G, Giurfa M, et al. Olfactory discrimination ability and odor structure-activity relationships in honeybees [J]. Chemical Senses, 1999, 24(4): 429-438.

[4] Karlson P, Lüscher M. Pheromones: a new term for a class of biologically active substances [J]. Nature, 1959, 183(3): 155-156.

[5] Vogt R G, Riddiford L M. Pheromone binding and inactivation by moth antennae [J]. Nature, 1981, 293(5828): 161-163.

[6] Vosshall L, Amrein H, Morozov P, et al. A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila antenna* [J]. Cell, 1999, 96(5): 725-736.

[7] Clyne P J, Warr C G, Freeman M R, et al. A novel family of divergent seven-transmembrane proteins: candidate odorant receptors in *Drosophila* [J]. Neuron, 1999, 22(2): 327-338.

[8] Steinbrecht R A. Structure and function of insect olfactory sensilla [J]. Ciba Foundation Symposium, 1996, 200: 174-177.

[9] Steinbrecht R A, Stankiewicz B A. Molecular composition of the wall of insect olfactory sensilla—The chitin question [J]. Journal of Insect Physiology, 1999, 45(8): 785-790.

[10] Steinbrecht R A. Pore structures in insect olfactory sensilla: A review of data and concepts [J]. International Journal of Insect Morphology and Embryology, 1997, 26(3/4): 229-245.

[11] Koehl M. The fluid mechanics of arthropod sniffing in turbulent odor plumes [J]. Chemical Senses, 2006, 31(2): 93-105.

[12] Keil T. Comparative morphogenesis of sensilla: A review [J]. International Journal of Insect Morphology and Embryology, 1997, 26(3/4): 151-160.

[13] Endo K, Aoki T, Yoda Y, et al. Notch signal organizes the *Drosophila* olfactory circuitry by diversifying the sensory neuronal lineages [J]. Nature Neuroscience, 2007, 10(2): 153-160.

[14] Park S, Shanbhag S, Dubin A, et al. Inactivation of olfactory sensilla of a single morphological type differentially affects the response of *Drosophila* to odors [J]. Journal of Neurobiology, 2002, 51(3): 248-260.

[15] Romani R, Stacconi M. Mapping and ultrastructure of antennal chemosensilla of the wheat bug *Eurygaster maura* [J]. Insect Science, 2009, 16(2): 193-203.

[16] Zhou S H, Zhang S G, Zhang L. The chemosensilla on tarsi of *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae): distribution, ultrastructure, expression of chemosensory proteins [J]. Journal of Morphology, 2009, 270(11): 1356-1363.

[17] Kurtovic A, Widmer A, Dickson B. A single class of olfactory neurons mediates behavioural responses to a *Drosophila* sex pheromone [J]. Nature, 2007, 446(7135): 542-546.

[18] Ha T, Smith D. A pheromone receptor mediates 11-cis-vaccenyl acetate-induced responses in *Drosophila* [J]. Journal of Neuroscience, 2006, 26(34): 8727-8733.

[19] de Bruyne M, Baker T. Odor detection in insects: volatile codes [J]. Journal of Chemical Ecology, 2008, 34(7): 882-897.

[20] Su C Y, Menzies K, Carlson J R. Olfactory perception: receptors, cells, and circuits [J]. Cell, 2009, 139(1): 45-59.

[21] Benton R, Vannice K, Gomez-Diaz C, et al. Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila* [J]. Cell, 2009, 136(1): 149-162.

- [22] Yao C, Ignell R, Carlson J. Chemosensory coding by neurons in the coeloconic sensilla of the *Drosophila* antenna [J]. *Journal of Neuroscience*, 2005, 25(37):8359-8367.
- [23] Raming K, Krieger J, Breer H. Molecular cloning of an insect pheromone-binding protein [J]. *Febs Letters*, 1989, 256 (1/2):215-218.
- [24] Györgyi T, Roby-Shemkovitz A, Lerner M. Characterization and cDNA cloning of the pheromone-binding protein from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*; a tissue-specific developmentally regulated protein [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1988, 85(24):9851-9855.
- [25] Kriger J, Raming K, Prestwich G D, et al. Expression of a pheromone-binding protein in insect cells using a baculovirus vector [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1992, 203(1/2):161-166.
- [26] Leal W S, Nikonova L, Peng G. Disulfide structure of the pheromone binding protein from the silkworm moth, *Bombyx mori* [J]. *Febs Letters*, 1999, 464(1/2):85-90.
- [27] Pelosi P, Zhou J J, Ban L P, et al. Soluble proteins in insect chemical communication [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2006, 63(14):1658-1676.
- [28] Vogt R, Lerner M. Two groups of odorant binding proteins in insects suggest specific and general olfactory pathways [J]. *Society for Neuroscience*, 1989, 15(1):290-291.
- [29] Vogt R, Prestwich G, Lerner M. Odorant-binding-protein subfamilies associate with distinct classes of olfactory receptor neurons in insects [J]. *Journal of Neurobiology*, 1991, 22(1):74-84.
- [30] Vogt R G, Rybczynski R, Lerner M R. Molecular cloning and sequencing of general odorant-binding proteins GOBP1 and GOBP2 from the tobacco hawk moth *Manduca sexta*; comparisons with other insect OBPs and their signal peptides [J]. *Journal of Neuroscience*, 1991, 11(10):2972-2984.
- [31] Krieger J, von Nickisch-Rosenegk E, Mameli M, et al. Binding proteins from the antennae of *Bombyx mori* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1996, 26(3):297-307.
- [32] Sandler B H, Nikonova L, Leal W S, et al. Sexual attraction in the silkworm moth: structure of the pheromone-binding-protein-bombykol complex [J]. *Chemistry and Biology*, 2000, 7(2):143-151.
- [33] Damberger F, Nikonova L, Horst R, et al. NMR characterization of a pH-dependent equilibrium between two folded solution conformations of the pheromone-binding protein from *Bombyx mori* [J]. *Protein Science*, 2000, 9(5):1038-1041.
- [34] Horst R, Damberger F, Luginbuhl P, et al. NMR structure reveals intramolecular regulation mechanism for pheromone binding and release [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(25):14374-14379.
- [35] Scaloni A, Monti M, Angeli S, et al. Structural analysis and disulfide-bridge pairing of two odorant-binding proteins from *Bombyx mori* [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1999, 266(2):386-391.
- [36] Ban L, Scaloni A, D'Ambrosio C, et al. Biochemical characterization and bacterial expression of an odorant-binding protein from *Locusta migratoria* [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2003, 60(2):390-400.
- [37] Briand L, Nespoulous C, Huet J C, et al. Ligand binding and physico-chemical properties of ASP2, a recombinant odorant-binding protein from honeybee (*Apis mellifera* L.) [J]. *European Journal of Biochemistry*, 2001, 268(3):752-760.
- [38] Calvellido M, Guerra N, Brandazza A, et al. Soluble proteins of chemical communication in the social wasp *Polistes dominulus* [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2003, 60(9):1933-1943.
- [39] Creighton T. Disulphide bonds and protein stability [J]. *BioEssays*, 1988, 8(2/3):57-63.
- [40] Klusák V, Havlas Z, Rulisek L, et al. Sexual attraction in the Silkworm Moth; Nature of binding of bombykol in pheromone binding protein—An Ab Initio study [J]. *Chemistry and Biology*, 2003, 10(4):331-340.
- [41] Lautenschlager C, Leal W S, Clardy J. Coil-to-helix transition and ligand release of *Bombyx mori* pheromone-binding protein [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2005, 335(4):1044-1050.
- [42] Wojtasek H, Leal W S. Conformational change in the pheromone-binding protein from *Bombyx mori* induced by pH and by interaction with membranes [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(43):30950-30956.
- [43] Leal W S. Duality monomer-dimer of the pheromone-binding protein from *Bombyx mori* [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2000, 268(2):521-529.
- [44] Leal W S, Chen A M, Ishida Y, et al. Kinetics and molecular properties of pheromone binding and release [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(15):5386-5391.
- [45] Zhang S, Maida R, Steinbrecht R. Immunolocalization of odorant-binding proteins in Noctuid moths (Insecta, Lepidoptera) [J]. *Chemical Senses*, 2001, 26(7):885-896.
- [46] Steinbrecht R A, Laue M, Ziegelberger G. Immunolocalization of pheromone-binding protein and general odorant-binding protein in olfactory sensilla of the silk moths *Antheraea* and *Bombyx* [J]. *Cell and Tissue Research*, 1995, 282(2):203-217.
- [47] Steinbrecht R A, Ozaki M, Ziegelberger G. Immunocytochemical localization of pheromone-binding protein in moth antennae [J]. *Cell and Tissue Research*, 1992, 270(2):287-302.
- [48] Klein U. Sensillum-lymph proteins from antennal olfactory hairs of the moth *Antheraea polyphemus* (Saturniidae) [J]. *Insect Biochemistry*, 1987, 17(8):1193-1204.
- [49] 吴仲南, 杜永均, 诸葛启钊. 斜纹夜蛾普通气味结合蛋白 GOBP1 基因的表达定位分析 [J]. *昆虫学报*, 2009, 52(6):610-616.

- Wu Z N, Du Y J, Zhuge Q C. Expression and localization analysis of general odorant binding protein 1 (GOBP1) gene in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Acta Entomologica Sinica, 2009, 52(6): 610-616. (in Chinese)
- [50] Sengul M S, Tu Z. Identification and characterization of odorant-binding protein 1 gene from the Asian malaria mosquito, *Anopheles stephensi* [J]. Insect Molecular Biology, 2010, 19(1): 49-60.
- [51] Yu Y X, Zhang S A, Zhang L, et al. Developmental expression of odorant-binding proteins and chemosensory proteins in the embryos of *Locusta migratoria* [J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 2009, 71(2): 105-115.
- [52] Kaissling K E. Olfactory perireceptor and receptor events in moths; a kinetic model revised [J]. Journal of Comparative Physiology (A): Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology, 2009, 195(10): 895-922.
- [53] Vogt R, Riddiford L, Prestwich G. Kinetic properties of a pheromone degrading enzyme; the sensillar esterase of *Antheraea polyphemus* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1985, 82: 8827-8831.
- [54] Ozaki M, Takahara T, Kawahara Y, et al. Perception of noxious compounds by contact chemoreceptors of the blowfly, *Phormia regina*; putative role of an odorant-binding protein [J]. Chemical Senses, 2003, 28(4): 349-359.
- [55] Ozaki M, Morisaki K, Idei W, et al. A putative lipophilic stimulant carrier protein commonly found in the taste and olfactory systems [J]. European Journal of Biochemistry, 1995, 230(1): 298-308.
- [56] Galindo K, Smith D. A large family of divergent *Drosophila* odorant-binding proteins expressed in gustatory and olfactory sensilla [J]. Genetics, 2001, 159(3): 1059-1072.
- [57] Hekmat-Scafe D, Scafe C, McKinney A, et al. Genome-wide analysis of the odorant-binding protein gene family in *Drosophila melanogaster* [J]. Genome Research, 2002, 12(9): 1357-1359.
- [58] Zhou J J, Huang W, Zhang G A, et al. "Plus-C" odorant-binding protein genes in two *Drosophila* species and the malaria mosquito *Anopheles gambiae* [J]. Gene, 2004, 327(1): 117-129.
- [59] Li Z, Pickett J, Field L, et al. Identification and expression of odorant-binding proteins of the malaria-carrying mosquitoes *Anopheles gambiae* and *Anopheles arabiensis* [J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 2005, 58(3): 175-189.
- [60] Koganezawa M, Shimada I. Novel odorant-binding proteins expressed in the taste tissue of the fly [J]. Chemical Senses, 2002, 27(4): 319-332.
- [61] Calvellido M, Brandazza A, Navarrini A, et al. Expression of odorant-binding proteins and chemosensory proteins in some Hymenoptera [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2005, 35(4): 297-307.
- [62] Ishida Y, Chiang V, Leal W S. Protein that makes sense in the Argentine ant [J]. Naturwissenschaften, 2002, 89(11): 505-507.
- [63] Pelletier J, Leal W S. Genome analysis and expression patterns of odorant-binding proteins from the southern house mosquito *Culex pipiens quinquefasciatus* [J]. PLoS One, 2009, 4(7): e6237.
- [64] Pelosi P. Odorant-binding proteins [J]. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 1994, 29(3): 199-228.
- [65] Pophof B. Moth pheromone binding proteins contribute to the excitation of olfactory receptor cells [J]. Naturwissenschaften, 2002, 89(11): 515-518.
- [66] Pophof B. Pheromone-binding proteins contribute to the activation of olfactory receptor neurons in the silk moths *Antheraea polyphemus* and *Bombyx mori* [J]. Chemical Senses, 2004, 29(2): 117-125.
- [67] Wetzel C, Behrendt H, Gisselmann G, et al. Functional expression and characterization of a *Drosophila* odorant receptor in a heterologous cell system [J]. Proceedings of the National Academy, 2001, 98(16): 9377-9380.
- [68] Hallem E A, Fox A N, Zwiebel L J, et al. Olfaction-mosquito receptor for human-sweat odorant [J]. Nature, 2004, 427(6971): 212-213.
- [69] Ziegelberger G. Redox-shift of the pheromone-binding protein in the silkmoth *Antheraea polyphemus* [J]. European Journal of Biochemistry, 1995, 232(3): 706-711.
- [70] Kaissling K. A quantitative model of odor deactivation based on the redox shift of the pheromone-binding protein in moth antennae [J]. Annals New York Academy of Sciences, 1998, 855: 320-322.
- [71] Kaissling K. Olfactory perireceptor and receptor events in moths: a kinetic model [J]. Chemical Senses, 2001, 26(2): 125-150.
- [72] Mohanty S, Zubkov S, Gronenborn A. The solution NMR structure of *Antheraea polyphemus* PBP provides new insight into pheromone recognition by pheromone-binding proteins [J]. Journal of Molecular Biology, 2004, 337(2): 443-451.
- [73] Damberger F, Ishida Y, Leal W S, et al. Structural basis of ligand binding and release in insect pheromone-binding proteins: NMR structure of *Antheraea polyphemus* PBP1 at pH 4.5 [J]. Journal of Molecular Biology, 2007, 373(4): 811-819.
- [74] Leite N R, Krogh R, Xu W, et al. Structure of an odorant-binding protein from the mosquito *Aedes aegypti* suggests a binding pocket covered by a pH-sensitive "Lid" [J]. PLoS One, 2009, 4(11): e8006.
- [75] Wogulis M, Morgan T, Ishida Y, et al. The crystal structure of an odorant binding protein from *Anopheles gambiae*; Evidence for a common ligand release mechanism [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 339(1): 157-164.
- [76] Xu W, Leal W S. Molecular switches for pheromone release from a moth pheromone-binding protein [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2008, 372(4): 559-564.