

昆虫触角气味结合蛋白的研究进展

王桂荣, 郭予元, 吴孔明*

(中国农业科学院植物保护研究所植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100094)

摘要: 昆虫触角气味结合蛋白是一类亲水性的酸性蛋白, 在触角感器淋巴液中浓度很高, 主要分为 4 种, 即性外激素结合蛋白、普通气味结合蛋白 1、普通气味结合蛋白 2 和气味结合蛋白类似蛋白。由于它们在昆虫识别外界气味物质中起着重要的作用, 近 10 年来, 国外对其进行了广泛、深入的研究。该文从气味结合蛋白的研究方法、生化特性、分子结构和生理功能等方面进行综述。

关键词: 气味结合蛋白; 触角; 昆虫

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296 (2002) 01-0131-07

Progress in the studies of antenna odorant binding proteins of insects

WANG Gui-Rong, GUO Yu-Yuan, WU Kong-Ming* (Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China)

Abstract: Odorant-binding proteins of insects are soluble acidic proteins, very concentrated in the lymph of chemosensory sensilla of insect antennae and belonging to four major classes (PBP, general OBP1, general OBP2 and OBP-like). Odorant-binding proteins play an important role in insect for perceiving exoteric odorant and are widely and deeply studied in the recent decade. Research methods, biochemical characteristics, molecular structure and physiological role of odorant-binding proteins are reviewed in details in this paper.

Key words: odorant binding protein; antenna; insect

灵敏的嗅觉对于昆虫的正常生存和适应环境具有重要的作用, 昆虫嗅觉系统是一个高度专一、极其灵敏的化学监测器, 能从成千上万种不同气味中识别出低达几百万分之一的某些特异性气味物质。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 (odorant binding protein, OBP), 溶解并运输脂溶性气味化合物穿过亲水性液体。1981 年 Vogt 和 Riddiford 用标记性外激素的方法证实了昆虫触角感器淋巴液中确实存在一种蛋白, 它可溶解并运输脂溶性的性外激素穿过亲水性的淋巴液, 并将这种蛋白命名为性外激素 OBP (pheromone binding protein, PBP); 1990 年

Breer 报道在昆虫触角中存在另一类气味结合蛋白, 即普通 OBP (general odorant binding protein, GOBP), 溶解并运输普通气味 (如植物挥发性物质, 捕食者发出的气味等) 穿过亲水性的淋巴液。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, 对于昆虫与外界进行信息交流具有重要意义。近 10 年来, 国外很多实验室对昆虫 OBP 进行了研究, 国内报道却很少 (王睿等, 1999; 王桂荣等, 2001a, 2001b)。本文对这方面的最新进展进行综述。

1 OBP 的研究方法

经典的方法是直接从昆虫触角中分离、纯化 OBP, 进而研究其生化特性和生理功能。但是大部分昆虫触角小, 要分离纯化得到大量的气味结合蛋

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (G2000016208) 和植物病虫害生物学国家重点实验室开放课题资助

第一作者简介: 王桂荣, 男, 1972 年 12 月生, 汉族, 安徽宿松人, 博士, 从事昆虫生物化学和分子生物学研究, E-mail: wgrwgr@263.net

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: wukm@mail.east.net.cn

收稿日期 Received: 2001-11-17; 接受日期 Accepted: 2001-04-13

白比较困难,而且分离纯化过程繁琐。近年来,科学家们已利用新发展起来的分子生物学技术克隆获得气味结合蛋白的目的基因,再利用基因表达的方法获得大量目的蛋白用于后续研究,解决了因昆虫触角小、分离的 OBP 量少而难于进行生化分析和功能研究的困难。开始是利用抗体筛选 cDNA 文库的方法得到目的基因全长序列。随着研究的深入,多种昆虫气味结合蛋白基因不断被揭示,比较研究发现这些 OBP 间氨基酸序列同源性很高,利用这一特点可以设计合适的引物,PCR 扩增获得探针,然后筛选 cDNA 文库获得全长基因,甚至可以不用筛选 cDNA 文库,而利用新发展起来的 cDNA 末端快速扩增技术 (Rapid Amplification of cDNA End, RACE),获得气味结合蛋白 5' 端和 3' 端的完整序列,然后去除重复序列得到基因的全长序列。然而,随着研究的深入,以上方法不能完全满足进一步研究的需要。幸运的是,近年来,在人类基因组计划的推动下,多种有效基因克隆技术相继问世。有些方法不需要预先了解基因所编码的蛋白质的氨基酸序列,甚至不依赖于已知基因的位置和功能,如 mRNA 差异显示技术和表达序列标记技术 (expressed sequence tag, EST) 等已经运用到昆虫触角的研究中。Rogers 等 (1999) 利用 mRNA 差异显示技术从烟草天蛾 *Manduca sexta* 触角中克隆了对气味物质起分解作用的谷胱甘肽 S-转移酶 (glutathione S-transferase) 基因。为了寻找更多的新基因,特别是气味受体基因 (在脊椎动物中已发现丝氨酸蛋白超家族起着气味受体的作用),Robertson 等 (1999) 将 EST 技术引入了烟草天蛾触角的研究中,这样不仅可以检测到已知基因,还可以发现许多新的未知基因。

对于气味结合蛋白的鉴定和功能研究,过去主要是根据它与气味物质发生结合的特性,利用同位素标记气味物质进行结合实验来鉴定。但是利用同位素标记的方法既昂贵又不安全,因此到目前为止仅在多声大蚕 *Antheraea polyphemus*、舞毒蛾 *Lymantria dispar*、甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae* 和烟草天蛾 *Manduca sexta* 等少数昆虫中报道过 OBP 与气味物质进行的结合实验 (Vogt and Riddiford, 1981; Maibech *et al.*, 1997; Li and Prestwich, 1997; Pelosi and Maida, 1995)。随后的研究发现,亲缘关系较高的昆虫 OBP 抗体间具有交叉抗性的特点,可以利用已知 OBP 的抗体来鉴定未知的 OBP。而对于 OBP 的生理功能仍只能通过标记配体进行结合实验

来研究,因此对 OBP 的生理功能目前更多的是通过生化资料提出的一些较为合理的假说,尚缺乏足够的实验证据。

2 OBP 的生化特性

昆虫触角 OBP 是一类水溶性的酸性蛋白,多肽链全长约 144 个氨基酸,相对分子量较小,一般为 15~17kD, 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 位大约有 20 个亲脂性氨基酸,这种结构可能与 OBP 结合脂溶性气味物质有关 (Du *et al.*, 1994)。这类蛋白存在于脊椎动物和昆虫的嗅觉感受细胞周围区域,并且在昆虫嗅觉感器淋巴液中浓度很高。Li 和 Prestwich (1997) 用圆二色性研究表明烟草天蛾 PBP 和 GOBP 的二级结构主要为 α -螺旋,而在脊椎动物鼻黏液中的 OBP 主要为 β -折叠 (Boeskei *et al.*, 1992),因此昆虫和脊椎动物的 OBP 起源可能不相同,功能上的相同可能是一种趋同进化现象。在脊椎动物中已发现了丝氨酸蛋白超家族起着气味受体的作用,这一发现刺激人们利用同源搜索的方法在昆虫中寻找类似的基因。在过去的十多年中,很多实验室尝试了多种搜索同源基因的方法,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,但是均以失败而告终。近年来,通过搜索果蝇基因数据库中编码与已知嗅觉受体有关的结构基因,两个研究组独立地报道了可能编码果蝇气味受体蛋白的基因。Clyne 等 (2000) 利用一种多变量计算程序首先发现了两个编码有 7 个跨膜区域的受体基因,它们在化学感觉细胞的一个亚族中特异性表达。与此同时, Voss hall 等 (1999) 利用差显克隆策略在果蝇也发现了可能的气味受体基因,它们仅在果蝇嗅觉器官特别是触角下颏须中表达。在果蝇基因组数据库中进行同源搜寻,总共找到了 17 个相关的序列。有趣的是这些受体蛋白基因形成了一个高度变异的家族,即所发现的各种气味受体基因之间同源性很低,而且与线虫和脊椎动物或其它的 G-蛋白偶联受体家族根本没有同源性。这就说明了为什么早期应用同源搜寻的方法在昆虫中寻找与脊椎动物受体基因相似的基因没有取得成功。现在,还不清楚为什么脊椎动物、线虫和果蝇的嗅觉受体同源

性如此之低。

3 气味结合蛋白的分子结构

迄今为止,在鳞翅目昆虫中已鉴定了10种蛾类的29个OBP。根据它们氨基酸序列同源性,可分为3类:第一类为PBP,主要存在于雄蛾触角中。但最近Callahan等(2000)研究发现玉米穗虫*Helicoverpa zea*等3种鳞翅目雌蛾触角中PBP的表达量也很高,与雄蛾触角中相当,它们与昆虫感受性外激素有关。另两类在雌雄蛾触角中有相同的表达,它们都属GOBP,并分别称为GOBP1和GOBP2,它们在昆虫感受普通气味物质过程中起作用(Vogt *et al.*, 1991)。GOBP和PBP与不同类型的嗅觉受体神经协同作用,它们的作用方式也可能不一样。另外在鳞翅目中还发现了一类OBP类似蛋白,它与OBP有明显的同源性(Krieger *et al.*, 1996),但其生理功能仍不清楚。到目前为止,对昆虫OBP的研究,以美国加利福尼亚大学和德国Kaissling研究小组的研究最为深入。前者主要利用分子生物学技术对烟草天蛾的OBP进行了深入的研究,他们在这种昆虫触角中发现了4类共7种OBP或OBP类似蛋白,测定了它们的基因序列,同时还对其它的昆虫触角OBP进行研究,探讨了它们的系统进化问题(Vogt and Riddiford, 1981; Vogt *et al.*, 1991, 1999)。而后者则利用各种方法,如:电子显微镜、免疫化学、生物化学、电生理和行为观察等对OBP的结构与功能进行了研究(Steinbrecht, 1992, 1996, 1998; Steinbrecht *et al.*, 1992, 1995)。

另外,有证据表明OBP也存在于非鳞翅目昆虫中,如,在黑猩猩果蝇*Drosophila melanogaster*中发现了几类OBP。虽然与OBP同源性较低,但具有很多相同的特征(McKenna *et al.*, 1994; Pikielny *et al.*, 1994)。Dickens等(1998)从半翅目牧草盲蝽*Lygus lineolaris*触角中分离出一种OBP,并对它进行了测序,它与OBP类似蛋白有明显的同源性。到目前为止,除了在鳞翅目中分离的OBP外,还在其它4个目共7种昆虫中分离得到14种OBP或OBP类似蛋白。总的看来它们与OBP的同源性不是很高,但是,它们都具有与OBP相似的特征,即序列中有多个保守的半胱氨酸、分子量小于20kD、呈酸性,这似乎代表了昆虫化学传感器的普遍特征。

昆虫OBP氨基酸序列或基因序列可以很方便地在GenBank中搜索到。氨基酸序列比较结果表明,PBP间同源性一般在50%以上。GOBP间同源性更高,一般大于68%,OBP类似蛋白也有明显的同源性,系统分析表明OBP间的同源性与其相互间的系统距离有关,亲缘关系越近,同源性愈高(Krieger *et al.*, 1996; Vogt *et al.*, 1999)。

4 OBP在触角中的分布

昆虫的触角具有灵敏的嗅觉功能。这是其结构和功能完美统一的体现。为了精确定位PBP和GOBP在昆虫触角中的具体分布状况,进而明确其结构和功能的关系。Steinbrecht等(1992, 1995)用细胞免疫化学和免疫电镜的方法先后对PBP和GOBP在几类鳞翅目昆虫触角中的分布进行了详细的研究。结果发现,在多声大蚕和家蚕的雄蛾触角中,PBP存在于对性外激素敏感的毛形感器中。在丫纹夜蛾*Autographa gamma*中,PBP仅存在于毛形感器的一个亚族中,表明不是所有的对性外激素敏感的感器中都有同类PBP,这可能是PBP具有高度专一性的原因之一。GOBP存在于锥形感器中,从没有发现PBP和GOBP存在于同一感器中,而在有的感器中,PBP和GOBP都不存在,暗示OBP可能存在不同的亚族。这一想法现在已经得到了证实,如:在甘蓝夜蛾中发现了3种PBP和一种GOBP。Vogt等也发现在烟芽夜蛾中3种OBP可以在同一个体中同时表达。另外还发现PBP也存在于雌虫的毛形感器中,甚至表达量也很高(Callahan *et al.*, 2000)。通过单细胞记录证明在家蚕雌蛾中,对性外激素敏感的感受细胞也不少,这表明雌虫也可以感受自身发出的性外激素。长形毛形感器在雌雄虫中具有不同的专一性,在雌虫中感受性外激素,在雌虫中感受普通气味,OBP的表达在长形毛形感器也有类似的差别,在雄虫中为PBP,而在雌虫中为GOBP,可见OBP的功能和分布协调一致,从侧面证明了PBP和GOBP所起的不同生理作用,它们都参与外界不同刺激的识别过程。

5 OBP的生物合成和降解途径

Steinbrecht(1992)利用放射自显影技术研究表明辅助细胞从血淋巴中摄取³H-leucine,5分钟后被重标记,暗示合成蛋白质的前体来自于血淋巴

中。用免疫化学标记结合免疫电镜的方法观察发现：毛形感器、毛腔和感器淋巴腔的细胞外淋巴液被 PBP 抗体重标记，细胞内标记主要见于毛原和膜原细胞中的内质网、高尔基体和各种致密颗粒。毛原和膜原细胞在昆虫感器发育过程中起着重要作用，然而，它们在个体发育完后，不再合成蛋白，却显示典型的蛋白质合成特征 (Kelly, 1985)。由上可以推测，PBP 在体内遵循经典的蛋白质合成途径，即在毛原和膜原细胞的内质网上合成，经高尔基体运送到致密颗粒体，最后在颗粒体中进行浓缩，因此许多颗粒体标记较重。用蛹进行细胞免疫化学实验观察表明，PBP 生物合成仅在成虫羽化前的最后几天，并且只有当血淋巴腔随着辅助细胞顶膜内陷发育时才发生 (Keil and Steiner, 1991)。当发育完全时，PBP 的产生不会停止，在成虫生活期内会继续发生并且 PBP 的含量保持在一个较高水平。

免疫化学标记和电镜观察表明 PBP 有几种可能的降解途径：首先，在毛原细胞和膜原细胞中，被膜内陷、被膜小泡和溶酶体可能参与 PBP 的降解；其次，鞘膜原细胞没有完整的蛋白合成器官，不可能合成 PBP，它被标记表明其可能是参与 PBP 的降解作用；第三，感受细胞有时也被标记，但其中的内质网和高尔基体从不被标记，不可能合成 PBP，很可能参与 PBP 的降解作用；最后，在纤毛结构下的内树突中发现了大量被标记的内吞凹陷和小泡，许多泡状小体（已知作为内吞器官）被标记，它们在嗅觉感受细胞的内树突中含量丰富，而在机械感器中含量很少，可能参与了降解作用 (Ljungberg *et al.*, 1993)。

6 OBP 的生理作用

OBP 除了发现存在于昆虫的触角感器中外，还发现存在于脊椎动物的鼻黏液中 (Bignetti *et al.*, 1985; Lee *et al.*, 1987)。比较结果表明，昆虫和脊椎动物的 OBP 氨基酸序列没有同源性，但独立的实验结果却表明它们起着相似的作用，即溶解并运输脂溶性的气味物质穿过亲水性的鼻黏液或嗅觉淋巴液，这可能是一种趋同进化的现象。在昆虫中，主要以多声大蚕为材料，对气味的分子识别机制特别是 PBP 的作用进行了研究，主要形成了以下两种较为合理的假说。一种假说认为受体分子受刺激后，PBP 在几秒中内迅速地与性外激素结合并

使之失活，随后通过酶解清除。按照以上假说的推测，性外激素分子是经亲脂性孔道穿过淋巴液到达树突上的受体 (Kaissling, 1986)。另一种假说则认为 PBP 在孔道的末端结合性外激素分子，并运送其穿过亲水性的感器淋巴液到达树突膜，性外激素分子刺激受体后，在感器淋巴液中一种酯酶的作用下迅速失活 (Vogt, 1987)。以上两种假说主要的分歧是气味结合蛋白是使气味分子迅速失活还是溶解并运输气味分子到达受体膜？为了弄清楚这个问题，van den Berg 等 (1991) 利用灌注技术和电生理研究表明，如果没有 PBP，性外激素的浓度需要达到 180 nmol/L 才能引起反应，加入 PBP 后，引起刺激的性外激素的最低浓度降低到约 18 nmol/L，表明 PBP 可以作为溶剂和载体，使性外激素顺利到达受体。这一结果支持了前一种假说。但是这种假说并不完全正确，因为一次刺激后，完整的性外激素分子仍在血淋巴液中残留几分钟，而感受细胞的反应却在几秒钟内停止。Vogt 等 (1985) 通过计算认为以体内酯酶的浓度完全降解性外激素需要几百万秒，刺激的迅速失活不可能是单纯酶解性外激素的结果。可能 PBP 与性外激素发生结合使之失活，再由酯酶和谷胱甘肽转移酶等降解清除 (Rybczynski *et al.*, 1990; Rogers *et al.*, 1999)。也就是说，PBP 起着运载性外激素和使之失活的双重作用。生物化学研究的结果为这种观点提供了支持，非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳可以看到两条 PBP 条带，两者之间仅仅是二硫键的数目不同，是同一蛋白的两种不同的异构形式 (Vogt *et al.*, 1991)，从 PBP 中有 6 个保守的丝氨酸残基推测，这种蛋白可能不止一种稳定的三级结构。动力学研究进一步证明了被标记的性外激素首先结合的是还原型的 PBP，性外激素同受体膜结合后，PBP 从还原型变成氧化型，氧化型的 PBP 同气味分子结合使刺激迅速失活。因此，PBP 的还原形式可能作为载体运转性外激素，为树突膜上的受体提供结合配体，而氧化形式的 PBP-性外激素复合物不再刺激感受细胞，受体介导 PBP-性外激素复合物可能是刺激失活的第一步 (Ziegelberger, 1996a, 1996b)。

除了进行刺激物的运输和使之失活外，免疫细胞化学研究表明嗅觉毛和 PBP 与 GOBP 分布之间存在高度相关性，PBP 主要存在于毛形感器中，而 GOBP 主要存在于锥形感器中，两者从不存在于同一感器中，即使是同一种类的性外激素感器的感觉毛，也具有不同的 PBP，这种分布与其功能相适

应。亲和标记性外激素表明不同种 PBP 与不同的性外激素表现出专一性结合，PBP 和 GOBP 对配体的选择性具有普遍性，因此，OBP 在化学刺激物的运输和识别过程中还起着滤器的作用，使到达受体的刺激性化学物的种类减少。

Steinbrecht (1998) 总结了自己和前人的工作，认为 OBP 在气味识别过程中起着以下多种生理作用：(1) OBP 在亲水性的淋巴液中作为脂溶性气味分子的溶剂和载体；(2) 通过选择性结合一定类别的气味分子，OBP 在气味识别中起着外周滤器的作用；(3) OBP 使刺激分子通过特殊的途径到达受体蛋白，使信号传导更易于进行；(4) OBP 可能清除外周感器中不需要的或有毒物质；(5) 气味分子刺激受体后，OBP 迅速地使其失活。

除了对 OBP 的生理作用进行了研究和合理的推测以外，近年来对 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 (Ziegelberger, 1996a; Steinbrecht, 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了一种受体膜蛋白，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。在以上三种假说中，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甘肽转移酶等的作用下降解。

7 结语

昆虫能够感受到空气中的挥发性气味物质，对

于昆虫寻找配偶、生存场所及食物都非常重要，这一事实已用于害虫防治的实践中，根据性外激素设计的性引诱剂诱杀和干扰害虫交配已成为害虫管理中一个重要手段。根据昆虫偏好的寄主植物气味设计了对害虫两性均具有引诱作用的高效引诱剂，如：美国曾成功地运用苹实蝇寻找其寄主的行为化学机制模式，设计出带有苹果气味的假苹果，用于防治苹实蝇。与苹实蝇不同的是，大多数昆虫所感受到的气味物质为数量较多较复杂，如本实验室研究表明：棉铃虫取食和产卵所感知的来自于寄主植物的化学信息至少由萜烯 (α -pinene)、香叶烯 (myrcene) 和罗勒烯 (ocimene) 等 13 种化合物组成，据此筛选高效的两性引诱剂比较困难 (郭予元, 1998)。已经明确，昆虫能够随时感知空气中的挥发性气味物质从而指导其行为反应包括两个方面：一是寄主植物挥发出的多种气味物质组成的化学图谱，二是昆虫具有与之相适应的结构和识别机制，只有对这两方面都进行了深入研究，才能很好地应用到害虫防治的实践中。近年来，国内对昆虫感受气味物质的行为化学模式的研究较多，以本实验室研究棉铃虫取食和产卵所感知的化学信息较为深入，但是对昆虫感知气味物质的另一个重要方面，即昆虫触角 OBP 及其与气味识别的关系研究很少。如果说以前对昆虫触角识别气味的机理研究较少是由于受到技术上的限制，那么，随着生物技术的不断发展和日趋成熟，对这方面进行深入研究已成为可能而且很迫切，因为这方面的深入研究与以前的化学生态学的研究成果相结合，能较完整的解释昆虫取食、产卵、驱避和寻求遇的生化 and 分子机制，阐明害虫行为反应的本质原因，为研制对昆虫两性均有吸引力的高效引诱剂提供理论依据，为防治害虫提供新的思路与途径，如为利用基因工程的方法治理害虫提供理论基础。

参 考 文 献 (References)

- Bignetti E, Carvaggioni A, Pelosi P, Persaud K C, Sorbi R T, Tirindelli R, 1985. Purification and characterization of an odorant-binding protein from cow nasal tissue. *Eur. J. Biochem.*, 149: 227 ~ 231.
- Bocskai Z, Groom C R, Folwer D R, Wright C E, Phillips S E V, Carvaggioni A, Findlay J B C, North A C T, 1992. Pheromone binding to two rodent urinary proteins revealed by X-ray crystallography. *Nature*, 360: 186 ~ 188.
- Breer H, 1990. A novel class of binding proteins in the antennae of the silkworm *Antheraea pernyi*. *Insect Biochem.*, 20 (7): 735 ~ 740.

- Callahan F E, Vogt R G, Tucker M L, Dickens J C, Mattoo A K, 2000. High level expression of "male specific" pheromone binding proteins (PBPs) in the antennae of female noctuid moths. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 30: 507 ~ 514.
- Clyne P J, Warr G G, Carlson J R, 2000. Candidate taste receptors in *Drosophila*. *Science*, 287: 1 830 ~ 1 834.
- Dickens J C, Callahan F E, Wergin W P, Murphy C A, Vogt R G, 1998. Odorant-binding proteins of true bugs: generic specificity, sexual dimorphism, and association with subsets of chemosensory sensilla. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 30 (855): 306 ~ 310.
- Du G, Ng C S, Prestwich G D, 1994. Odorant binding by a pheromone binding protein: active site mapping by photoaffinity labeling. *Biochemistry*, 33: 4 812 ~ 4 819.
- Guo Y Y, 1998. Research of *Helicoverpa armigera*. Beijing: China Agricultural Sciences Press. 82 ~ 110. [郭予元, 1998. 棉铃虫的研究. 北京: 中国农业出版社. 82 ~ 110]
- Kaissling K E, 1986. Chemo-electrical transduction in insect olfactory receptors. *Ann. Rev. Neurosci.*, 9: 121 ~ 145.
- Keil T A, Steiner G, 1991. Morphogenesis of the antenna of the male silkworm, *Antheraea polyphemus*. III. Development of olfactory sensilla and the properties of hairforming cells. *Tissue Cell*, 23: 821 ~ 851.
- Kelly R B, 1985. Pathways of protein secretion in eukaryotes. *Science*, 230: 25 ~ 32.
- Krieger J, E von N R, Mameli M *et al.*, 1996. Binding Proteins from the Antennae of *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 26: 297 ~ 307.
- Lee K H, Wells R G, Reed R R, 1987. Isolation of an olfactory cDNA: similarity to retinol binding protein suggests a role of olfactory. *Science*, 235: 1 053 ~ 1 056.
- Li Feng, Prestwich G D, 1997. Expression and characterization of a lepidopteran general odorant binding protein. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27 (5): 405 ~ 412.
- Ljungberg H, Anderson P, Hansson B S, 1993. Physiology and morphology of pheromone-specific sensilla on the antennae of male and female *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Insect Physiol.*, 39: 253 ~ 260.
- Maibeche C M, Franck S, Thierry D, Martine L, Jacqueline D, Emmanuelle J J, Patricia N L M, 1997. Pheromone binding proteins of the moth *Mamestra brassicae*: specificity of ligand binding. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27 (3): 213 ~ 221.
- McKenna M P, Hekmat S D S, Gaines P, Carlson J R, 1994. Putative *Drosophila* pheromone-binding proteins expressed in a subregion of the olfactory system. *J. Biol. Chem.*, 269: 16 340 ~ 16 347.
- Pelosi P, Maida R, 1995. Odorant-binding proteins in insects. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 111 (3): 503 ~ 514.
- Pikielnny C W, Hasan G, Rouyer F, Rosbash M, 1994. Members of a family of *Drosophila* putative odorant-binding proteins are expressed in different subsets of olfactory hairs. *Neuron*, 12: 35 ~ 49.
- Robertson H M, Martos R, Sears C R, Todres E Z, Walden K K, Nardi J B, 1999. Diversity of odorant binding proteins revealed by an expressed sequence tag project on male *Manduca sexta* moth antennae. *Insect Mol. Biol.*, 8 (4): 501 ~ 518.
- Rogers M E, Jani M K, Vogt R G, 1999. An olfactory-specific glutathione-S-transferase in the sphinx moth *Manduca sexta*. *J. Exp. Biol.*, 202: 1 625 ~ 1 637.
- Rogers M E, Sun M, Lerner M R, Vogt R G, 1997. Smp-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, Vogt R G, Lerner M R, 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, 1992. Experimental morphology of insect olfaction-tracer studies. X-ray microanalysis, autoradiography, and immunocytochemistry with silkworm antennae. *J. Electron. Microsc. Res. Techn.*, 270: 287 ~ 302.
- Steinbrecht R A, 1996. Are odorant-binding proteins involved in odorant discrimination? *Chem. Senses*, 21 (6): 719 ~ 727.
- Steinbrecht R A, 1998. Odorant-binding proteins: expression and function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 855: 323 ~ 332.
- Steinbrecht R A, Laue M, Ziegelberger G, 1995. Immunocytochemical of pheromone-binding protein and general odorant-binding protein in olfactory sensilla of the silk moth *Antheraea* and *Bombyx*. *Cell Tissue Res.*, 282: 203 ~ 217.
- Steinbrecht R A, Ozaki M, Ziegelberger G, 1992. Immunocytochemical localization of pheromone-binding protein in moth antennae. *Cell Tissue Res.*, 270: 287 ~ 302.
- van den Berg M J, Ziegelberger G, 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, 1987. The molecular basis of pheromone reception: its influences on behavior. In: Prestwich G D, Blomquist G H, eds. Pheromone Biochemistry. Orlando Fla: Academic Press. 385 ~ 431.
- 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, Vilkins A S eds. Molecular Model Systems in the Lepidoptera. Cambridge: Cambridge University Press. 341 ~ 367.
- Vogt R G, Callahan F E, Rogers M E, Dickens J C, 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, Riddiford L M, 1981. Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature*, 293, 161 ~ 613.
- Vogt R G, Riddiford L M, Prestwich G D, 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.
- Vogt R G, Rybczynski R, Lerner M R, 1991. 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. Neurosci.*, 11: 2 972 ~ 2 984.
- Vosshall L B, Amrein H, Morozov P S, Rzhetsky A, Axel R, 1999. A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila* antenna.

- Cell*, 96: 725 ~ 736.
- Wang G R, Guo Y Y, Xu G, Wu K M. 2001a. Cloning and sequencing of a gene encoding GOBP2 in the antenna of *Spodoptera exigua*. *Scientia Agricultural Sinica*. 34 (6): 619 ~ 625. [王桂荣, 郭予元, 徐广, 吴孔明, 2001a. 甜菜夜蛾 GOBP2 基因的克隆及序列测定. 中国农业科学, 34 (6): 619 ~ 625]
- Wang G R, Guo Y Y, Wu K M. 2001b. Partial cloning and characterization of the cDNA of general odorant binding protein 1 gene in the antenna of *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Entomologia Sinica*, 8 (4): 289 ~ 297.
- Wang R, Zhang W, Tian Y, Zhang S G. 1999. Identification of odorant binding proteins of *Helicoverpa armigera*. *Entomol. Knowl.*, 36 (5): 297 ~ 298. [王睿, 张薇, 田雨, 张善干, 1999. 棉铃虫触角气味物质结合蛋白的鉴别. 昆虫知识, 36 (5): 297 ~ 298]
- Ziegelberger G. 1996a. The multiple role of the pheromone-binding protein in olfactory transduction. *Ciba Found Symp.*, 200: 267 ~ 280.
- Ziegelberger G. 1996b. Redox-shift of the pheromone-binding protein in the silkworm *Antheraea polyphemus*. *Eur. J. Biochem.*, 232: 706 ~ 711.