

柞蚕雌蛾性信息素及其类似物的结构和活性关系的电生理学研究

吴才宏

(北京大学生物学系, 北京 100871)

摘要 本文用电生理学的单细胞记录方法,研究了柞蚕雄蛾 (*Antheraea pernyi*) 触角的毛形感器对雌蛾性信息素及相应的几何异构体、光学异构体的反应特性;测定了剂量-反应曲线。研究结果表明:信息化合物的双键构型及光学特性对触角电位(以 EAG 表示)活性大小有重要影响。

关键词 柞蚕 单细胞记录 毛形感器 几何异构体 光学异构体 触角电图

昆虫性信息素及其类似物的化学结构和活性关系的电生理学研究,对于了解昆虫的行为及嗅觉机制是十分重要的(Mustaparta, 1984)。高度特异化的嗅觉感受细胞对同种雌蛾的性信息素不同组分有特异的敏感性(Kaissling, 1974)。柞蚕(*Antheraea pernyi*)雌蛾的性信息素系统含有三个组分,其雄蛾触角的毛形感器中存在三种相应的嗅觉感受细胞(Bestmann 等,1987)。已经发现在夜蛾科中与 Z-型性信息素组分相对应的 E-型异构体的触角电位(以 EAG 表示)活性低 10 倍以上,具有高度的立体构相选择性(Priesner, 1979)。具有同样化学结构的光学异构体也存在显著的活性差别,如舞毒蛾的性信息素 disparlure,只有(+)-型组分有引诱活性,与其对应的(-)-型光学异构体则无引诱活性(Bierl 等, 1970)。齿小蠹的性信息素系统含两个组分,分别为(+)和(-)-型的 ipsdienol,其雄蛾触角存在两种不同类型的嗅觉感受细胞,分别对上述两种光学活性物质具有特异的敏感性(Mustaparta, 1984b)。在家蚕,性信息素系统的两个组分为, E-10, Z-12-16:OH 和 E-10, Z-12-16:Al, 分别用甲基取代十三位碳原子上的一个氢原子,形成含有不对称碳原子的性信息素类似物,发现两种类似物的 EAG 活性,均为 S(+)-型高于 R(-)-型(Kaissling, 1987)。本文用电生理学方法,比较柞蚕性信息素及其几何异构体。光学异构体的结构-活性关系,以气味化合物作为分子探针,探索性信息素分子的受体构型。

材料与方 法

一、材料

本研究采用羽化后 1—3 天的雄性柞蚕作为试验材料。用单细胞记录的方法记录感受器电位,以其振幅大小作为测定生物活性的指标。

本文于 1988 年 9 月收到。

本研究为国家自然科学基金资助项目。

本研究实验所用的气味化合物由德国 Bestmann 教授提供。

本实验所用的气味化合物为柞蚕性信息素的两个组分: 反-6, 顺-11-十六碳二烯酯 (E-6, Z-11-16:Ac); 反-6, 顺-11-十六碳二烯醛 (E-6, Z-11-16:Al) 及其相应的几何异构体 (E-6, E-11-16:Ac、Z-6, E-11-16:Ac、Z-6, Z-11-16:Ac 及相应的醛) 和光学异构体 (S(+)-13-Me-E-6, Z-11-16:Ac、R(-)-13-Me-E-6, Z-11-16:Ac、S(+)-13-Me-E-6, Z-11-16:Al、R(-)-13-Me-E-6, Z-11-16:Al) (Bestmann, 1987)。

二、方法

切下触角的一个侧枝, 用玻璃毛细管拉制成的参考电极(直径约为 $20\ \mu\text{m}$)插入侧枝基部, 再用一特制的镊子切去一根或几根嗅觉毛的尖端, 引导电极(直径约为 $10\ \mu\text{m}$)套在切去尖端的嗅觉毛上, 以保持良好的电接触。玻璃微电极内充灌生理盐液 (kaissling, 1980), 用银-氯化银丝作引导。为防止电极尖端有盐析出, 引导电极尖端吸入少量用生理盐液配制的聚乙烯吡咯烷酮(称作 PVP)溶液, 并在电极尖端周围涂以少许凡士林。

用重蒸正己烷稀释性信息素化合物及其衍生物, 样品滴在长方形 ($15 \times 7\text{mm}^2$) 的滤纸上, 滤纸正好卡在样品管内。样品管两端开口, 一端磨口, 连接气流系统; 另一端对准触角的侧枝, 相距约 5cm 。气流系统由气流分配仪控制, 空气经过滤净化, 气流速度为 100ml/分 。刺激间隙通以新鲜气流, 以减少气味分子在侧枝周围的积累。

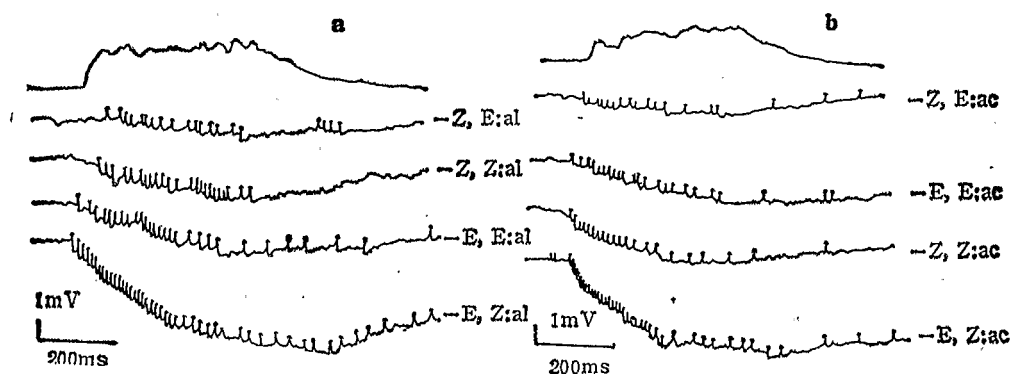


图 1 雄性柞蚕触角的单个毛形感器对同种雌性信息素及其几何异构体的反应

a:A-细胞对 E-6, Z-11-16:Al 及其几何异构体的反应。其中 -E,Z 组分刺激剂量为 $2 \times 10^{-3}\ \mu\text{g}$, -E、E 及 -Z,Z 组分为 $2 \times 10^{-1}\ \mu\text{g}$, -Z,E 组分为 $2 \times 10^0\ \mu\text{g}$ 。b:B-细胞对 E-6, Z-11-16:Ac 及其几何异构体的反应。其中 -E,Z 组分刺激剂量为 $2 \times 10^{-3}\ \mu\text{g}$, -Z,Z 及 -E,E 组分为 $2 \times 10^{-1}\ \mu\text{g}$, -Z,E 组分为 $2 \times 10^0\ \mu\text{g}$ 。

结 果

通常用剂量-反应曲线来表述性信息素感受细胞的化学特异性。气味化合物的末端功能基团、链长、双键数目与位置以及不同的几何异构体与光学异构体均能影响感受细胞的反应敏感性。图 1:a,b 表明柞蚕雄蛾触角对其雌蛾性信息素组分 E-6, Z-11-16:Ac; E-6, Z-11-16:Al 及相应的几何异构体的电反应。图中的反应是从单细胞记录得到的感受器电位, 神经脉冲叠加其上。A-型感受细胞对 E-6, Z-11-16:Al 及其几何异构体均发放大脉冲, B-型感受细胞对 E-6, Z-11-16:Ac 及其几何异构体均发放小脉冲。性信息

素组分与其相应的几何异构体在电生理活性上存在很大差异,这种差异决定于双键的几何构型。其中 E-6,Z-11-16:Al 与 Z-6, E-11-16:Al 的电生理活性差别在 1000 倍以上, E-6,Z-11-16:Ac 与 Z-6, E-11-16:Ac 的活性差别也在 100 倍以上。

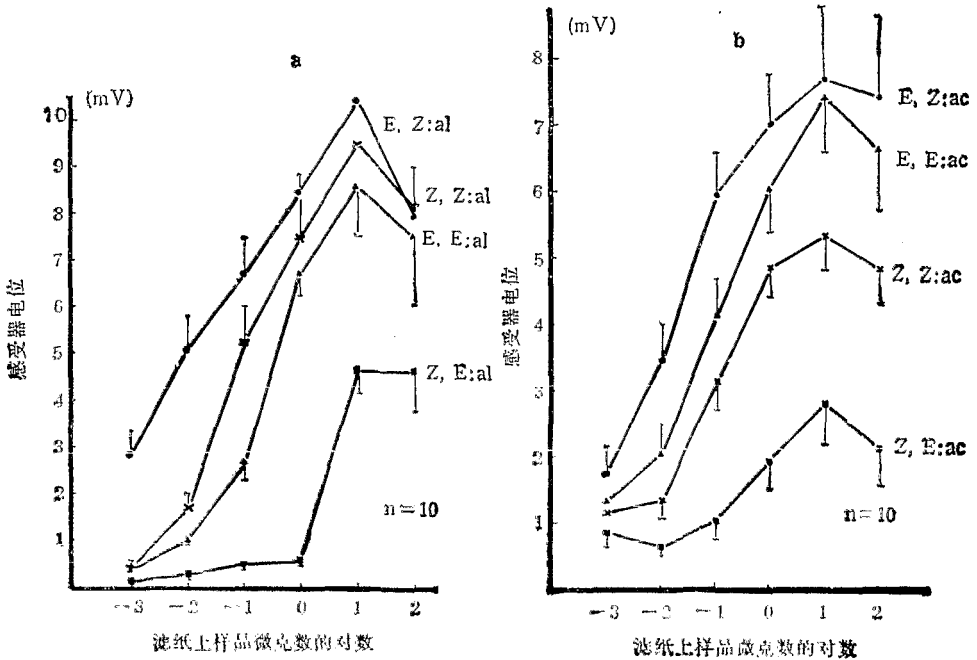


图2 雄性柞蚕触角的毛形感器对其性信息素及几何异构体的剂量-反应关系曲线图
a: A-细胞对 E-6, Z-11-16:Al 及其几何异构体的剂量-反应关系曲线。
b: B-细胞对 E-6, Z-11-16:Ac 及其几何异构体的剂量-反应关系曲线。

图2: a、b 表明雄性柞蚕触角的单个毛形感器对性信息素组分及几何异构体的剂量-反应曲线。刺激顺序由低剂量到高剂量,四种气味化合物分别以相同剂量作平行刺激,得到4条剂量-反应曲线。曲线在一定的剂量范围内呈线性关系。当剂量达到 $1 \times 10^1 \mu\text{g}$ 时,反应呈饱和状态,再增加刺激剂量,反应则下降。对于末端功能基团为醛基的四种几何异构体,第11位碳原子的顺式双键构型对电生理活性大小起着较为重要的作用(见图2: a);对于末端功能基团为乙酸酯的四种几何异构体,第6位碳原子的反式双键构型对电生理活性大小起着较为重要的作用(见图2: b)。改变天然性信息素化合物的两个双键的几何构型,会使电生理活性降低10~1000倍(图2: a、b)。从而可以推测,性信息素感受细胞的树突膜上存在一种受体,这种受体对气味分子的几何构型具有高度的选择性。

气味化合物的光学构型改变也能引起电生理活性的明显变化。对于柞蚕性信息素的两个组分 E-6, Z-11-16:Al 及 E-6, Z-11-16:Ac, 在其第十三位碳原子上分别接上一个甲基,即为 13-Me-E-6, Z-11-16:Al 及 13-Me-E-6, Z-11-16:Ac, 第十三位碳原子就成为不对称碳原子,分别形成一对具有光学活性的对映体 R(+)-13-Me-E-6, Z-11-16:Al 及 S(-)-13-Me-E-6, Z-11-16:Al; R(+)-13-Me-E-6, Z-11-16:Ac 及 S(-)-13-Me-E-6, Z-11-16:Ac。图3: a 表明,对于以醛基为末端功能基团的光学活

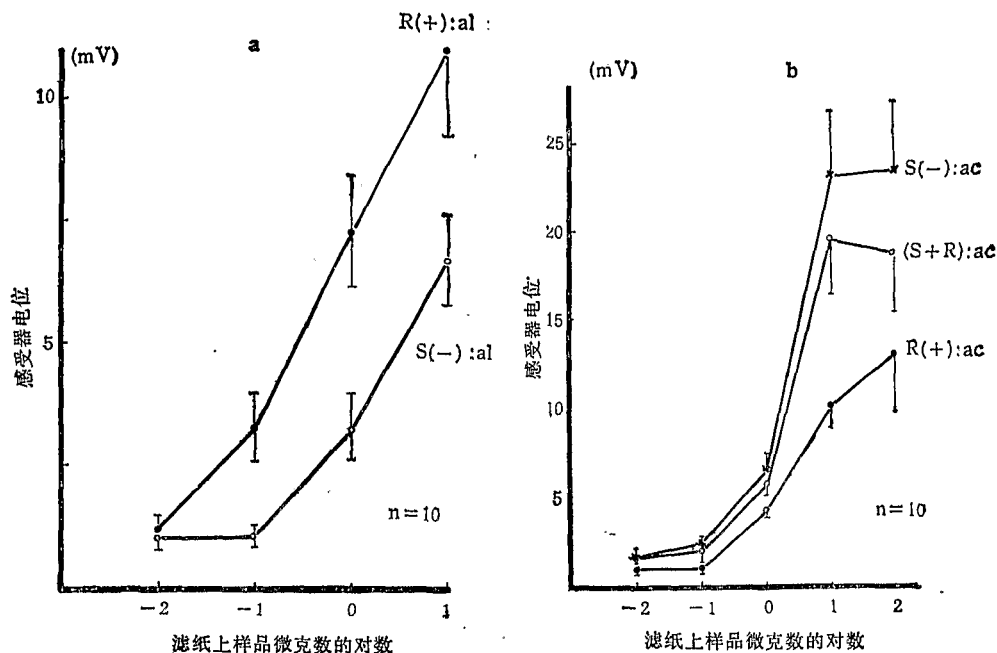


图3 雄性柞蚕触角的毛形感器对其性信息素类似物剂量-反应关系曲线

a: A-细胞对含醛基的光学活性物质剂量-反应关系曲线。

b: B-细胞对含乙酸酯基的光学活性物质剂量-反应关系曲线。

性化合物, R(+)-型化合物的电生理活性高于 S(-)-型化合物约 10 倍;图3: b 表明, 对于以乙酸酯为末端功能基团的光学活性化合物, S(-)-型化合物的电生理活性高于 R(+)-型化合物约 10—20 倍。将 S(-)-型和 R(+)-型两种光学异构体等量混合在一起, 其电生理活性仍低于 S(-)-型化合物。

讨 论

鳞翅目蛾类雌蛾性腺产生的性信息素, 可以专一性地激活雄蛾触角毛形感器中的嗅觉感受细胞, 引起雄蛾的趋向飞行和性行为 (Preiss 和 Kramer, 1986)。性信息素感受细胞对性信息素组分的反应有很高的敏感性。感受细胞反应的特异性是通过对一系列化合物的剂量-反应曲线的比较而得到的。一种感受细胞对同系列化合物的剂量-反应曲线往往是一组平行曲线, 它表明是属于同一类型的受体所引起的反应 (Mustaparta, 1984)。

从图 3: b 可以发现, (S+R)-13-Me-E-6, Z-11-16:Ac 的电生理活性并不超过 S(-)-13-Me-E-6, Z-11-16:Ac, 这说明感受细胞外段树突膜上只存在一种受体, 使 S(-)-型气味分子插入受体区域, 引起受体区域和气味分子的构相变化。Bestmann 等 (1980) 假设, 受体区域含有一些手征性原子成分, 具有几个不对称碳原子的性信息素分子常有几个部分组成, 性信息素分子插入受体区域, 只能占据每个手性中心的两个对映侧的其中之一, 这意味着, 信号分子只能被埋在一个确定的构相中。在插入的过程中, 引起接收区域的构相变化。本实验结果符合上述假设, 说明气味分子在膜受体上的结合方式并非是非是钥匙与锁的对应关系, 而可能是在感受细胞的外段树突膜上存在许多可以柔性弯曲

的区域,在此区域内,有 3—5 个结合点,这些结合点分别与末端功能基团、双键位置及构型、光学构象等特性有关。为了进一步阐明气味分子与膜受体的结合机制,必须分离膜受体,研究受体的结构与功能的关系。

参 考 文 献

- Bestmann, H. & Vostrowsky, O. 1980 Chemistry of insect pheromones, ed. Wegler, R. Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel. Vol. 6, Springer Verlag, Berlin, pp. 29—150.
- Bestmann, H. L. et al 1987 Identification of three sex pheromone components of the female Saturniid moth *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae). *Z. Naturforsch.* 42C: 631—6.
- Bierl, B. A. et al 1970 Potent sex attractant of the gypsy moth: its isolation, identification, and synthesis. *Science* 170: 87—9.
- Kaissling, K. E. 1974 Sensory transduction in insect olfactory receptors, ed. Jaenicke, L., Biochemistry of sensory functions, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York pp. 243—73.
- Kaissling, K. E. 1980 Receptors for neurotransmitters, hormones and pheromones in insects. ed. D. B. Satelle et al. pp. 261—82.
- Kaissling, K. E. 1987 R. H. Wright lecture on insect olfaction. ed. Konrad Colbow, Simon Fraser University, Burnaby, B. C., Canada.
- Mustaparta, H. 1984a Chemical Ecology of Insects, ed. William J. Bell and Ring T. Cardé, Chapman and Hall Ltd pp. 37—69.
- Mustaparta, H. 1984b Ispdienol-specific receptor cells in bark beetles: structure-activity relationships of various analogues and of deuterium labelled ispidienol. *J. Comp. Physiol. A*, 154: 591—5.
- Priesner, E. 1979 Chemical Ecology, ed. Peter, E. J. Elsevier/North Holland Biomedical Press pp. 57—71.
- Pross, R. & Kramer, E. 1986 Anemotactic orientation of gypsy moth males and its modification by the attractant pheromone (+) disparlure during walking. *J. Physiol. Entomol.* 11: 185—8.

AN ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY ON THE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP OF SEX PHEROMONE AND ANALOGS OF *ANTHERAEA PERNYI* FEMALE

WU CAI-HONG

(Department of Biology, Peking University, Beijing 100871)

Responses characteristics of the sensilla trichodea on the antenna of *Antheraea pernyi* male adults to sex pheromone geometric isomer and enantiomers are studied with single cell recording technique, and the dose-responses curves are analysed. The results show that the configuration of double bond and optical characteristics of the semiochemicals are very important to their biological activity.

Key words *Antheraea pernyi*—single cell recording—sensilla trichodea—geometric isomer—enantiomer—electroantennogram