

昆虫嗅觉受体及其介导的信号转导机制研究进展*

李 慧^{1,2,3**} 洪习文¹ 张智毅¹ 樊逸菲¹ 王争艳^{1***}

(1. 河南工业大学粮油食品学院, 郑州 450001; 2. 粮食储藏安全河南省协同创新中心, 郑州 450001;

3. 河南粮食作物协同创新中心, 郑州 450001)

摘 要 高度灵敏的嗅觉系统, 能够帮助昆虫准确识别环境中不同来源的挥发性化合物, 在昆虫觅食、交配和产卵等生命活动过程中起着至关重要的作用。通过感觉神经元膜上数量巨大且种类繁多的嗅觉受体, 昆虫可以识别不同的气味物质, 进而调控其行为。已知的昆虫嗅觉受体主要有三种, 离子型受体、气味受体和响应二氧化碳及信息素的味觉受体。目前嗅觉受体的分子结构及其介导的信号转导机制仍然没有得到完整的阐释, 嗅觉受体配体的鉴定工作也还任重道远。本综述就昆虫嗅觉受体的结构、进化、功能表征方法以及气味受体介导信号转导的机制等方面的研究进展进行了综述, 以期对研究昆虫嗅觉编码和调控, 以及昆虫与植物间互作提供一定的理论参考。

关键词 气味受体; 进化; 结构; 功能表征; 信号转导

Progress in research on insect olfactory receptors and their mechanisms of signal transduction

LI Hui^{1,2,3**} HONG Xi-Wen¹ ZHANG Zhi-Yi¹ FAN Yi-Fei¹ WANG Zheng-Yan^{1***}

(1. College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China;

2. Collaborative Innovation Center of Grain Storage Security in Henan Province, Zhengzhou 450001, China;

3. Collaborative Innovation Center of Henan Grain Crops, Zhengzhou 450001, China)

Abstract A highly sensitive olfactory system can help insects accurately identify different volatile compounds and play a vital role in activities such as foraging, mating and oviposition. Insects use a huge number and variety of olfactory receptors on sensory neuron membranes to recognize different odors and regulate their behavior. Three main families of insect olfactory receptors have been identified: ionotropic receptors, odorant receptors, and gustatory receptors that respond to carbon dioxide and pheromones. At present, the molecular structure of olfactory receptors and the signal transduction mechanisms mediated by olfactory receptors have not been fully elucidated, also the identification of olfactory receptor ligands needs further research. In this review, we summarize progress in research on the structure, evolution, and functional characterization of insect olfactory receptors, as well as the mechanism of odorant receptor-mediated signal transduction, in order to provide some theoretical references for studying insect olfactory coding and regulation, as well as the interaction between insects and plants.

Key words odorant receptors; evolution; structure; functional characterization; signal transduction

灵敏、准确的感知并识别各种气味物质对昆虫生命活动具有十分重要的意义。昆虫通过复杂的嗅觉系统, 对环境中各种不同来源的气味物质

进行检测和分析, 进而调控其寻找食物、躲避天敌、交配和产卵场所确定等行为。在昆虫对信息物质的感受过程中, 有气味结合蛋白 (Odorant

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31501891); 河南工业大学青年骨干教师培育计划 (21420094)

**第一作者 First author, E-mail: levy1025@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: zywangedu@163.com

收稿日期 Received: 2021-04-29; 接受日期 Accepted: 2021-06-15

binding proteins, OBPs)、化学感受蛋白(Chemosensory proteins, CSPs)、气味受体(Odorant receptors, ORs)、感觉神经元膜蛋白(Sensory neuron membrane proteins, SNMPs)、气味降解酶(Odorant degrading enzymes, ODEs)等多种蛋白质的参与(Schmidt and Benton, 2020)。其中分布于嗅觉神经元(Olfactory sensory neurons, OSNs)树突膜上,数量巨大且种类繁多的嗅觉受体,在昆虫气味识别及信号传导过程中发挥着重要作用。气味分子通过 OBPs 抵达嗅觉神经元细胞后即与嗅觉受体结合,从而诱导 OSNs 产生动作电位,将化学信号转变为电信号,传递给大脑,进而引发相应的嗅觉行为反应(Pask and Ray, 2016)。目前已经确定了多种昆虫的嗅觉受体,部分嗅觉受体的功能已经得到了鉴定,例如参与气味分子及信息素的识别、寄主的定位、温湿度的感应等(Fleischer *et al.*, 2018; Gomez-Diaz *et al.*, 2018)。本文拟通过对昆虫嗅觉受体的发现、嗅觉受体的生理功能、结构、进化、配体选择及特异性、信号转导以及在害虫防治中的应用等方面进行综述,以期对嗅觉受体的功能研究以及嗅觉受体作为靶标在害虫防控方面提供一些参考建议。

1 嗅觉受体的发现与分类

1991 年,人们首次从大鼠 *Rattus norvegicus* Berkenhout 中发现了气味受体家族,显示该家族具有 7 个跨膜结构域,属于 G 蛋白耦联受体家族(Buck and Axel, 1991)。然而,直至 1999 年,黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 全基因组序列测定后,才成功筛选出首个编码昆虫气味受体的基因家族的成员(Clyne *et al.*, 1999; Gao and Chess, 1999; Vosshall *et al.*, 1999),并最终确定果蝇含有 60 个气味受体基因和少数假基因,共编码 62 个气味受体蛋白(Robertson *et al.*, 2003)。随后在果蝇气味受体的研究基础上,又从多种昆虫中鉴定出大量的嗅觉受体(Montagné *et al.*, 2015)。此后,转录组被逐渐应用于昆虫气味受体的筛选工作。利用转录组可以测定昆虫在特定时间或特定组织中的气味受体,并筛选出

性别特异性表达的气味受体(表 1)。

目前研究发现昆虫嗅觉受体可以分为三类:气味受体(Odorant receptors, ORs)、离子型受体(Ionotropic receptors, IRs)和响应二氧化碳或性信息素等的味觉受体(Gustatory receptors, GRs)。其中 ORs 在昆虫嗅觉行为调控中发挥着非常重要的作用,也是目前昆虫嗅觉研究的重点(Fleischer *et al.*, 2018)。

1.1 气味受体(Odorant receptors, ORs)

ORs 广泛分布于昆虫嗅觉神经元树突膜上,一般由 400-450 个氨基酸构成(杜立啸等,2016)。与哺乳动物 G 蛋白耦联受体相似,昆虫 ORs 同样具有典型的 7 个跨膜结构域,然而两者却具有相反的拓扑结构,昆虫 ORs 的 C 端位于细胞外, N 端位于细胞内(图 1)(Benton, 2006)。ORs 主要用于感受外界气味物质以调控昆虫觅食、寻偶和交配等行为。研究发现 ORs 可以分为配体特异性受体(Odorant receptor x, ORx)和气味受体共受体(Odorant receptor co-receptor, Orco)两类(Fleischer *et al.*, 2018)。

通过对 ORx 的氨基酸序列进行比对分析,发现在不同昆虫间 ORx 的同源性很低,在同种昆虫间 ORx 也具有分散性,这可能与 ORx 参与昆虫生境中气味物质的识别有关(Fleischer *et al.*, 2018)。Orco 在不同物种间则具有较高的同源性,且一种昆虫体内通常只含有一种 Orco(Yan *et al.*, 2020)。与 ORx 不同,Orco 不参与气味物质的识别,但可以作为非选择性的阳离子通道,同时 Orco 可以提高 ORx 检测气味分子的灵敏度,Orco 和 ORx 一般在同一个 OSNs 中表达,通过保守的 C 末端形成 ORx-Orco 复合体,并构成配体门控离子通道,共同参与昆虫的嗅觉反应(Benton, 2006; Sato *et al.*, 2008; Wicher *et al.*, 2008)。

1.2 味觉受体(Gustatory receptors, GRs)

随后研究发现,一些在嗅觉器官中表达的味觉受体也可能参与昆虫的嗅觉感受。目前,在昆虫中已鉴定的味觉受体有糖受体、苦味受体、CO₂ 受体和信息素识别受体等几大类。研究表

表 1 转录组学方法确定的昆虫气味受体
Table 1 Insect olfactory receptors identified in transcriptomes

昆虫所属目 Insect orders	昆虫种类 Insect species	组织 Tissues	气味受体数量 Number of ORs	测序方法 Sequencing method	参考文献 References
鞘翅目 Coleoptera	花绒寄甲 <i>Dastarcus helophoroides</i>	触角 Antennae	1	Illumina	Wang <i>et al.</i> , 2014
	榆紫叶甲 <i>Ambrostoma quadriimpressum</i>	触角 Antennae	38	Illumina	Wang <i>et al.</i> , 2016
	星天牛 <i>Anoplophora chinensis</i>	触角 Antennae	53	Illumina	Sun <i>et al.</i> , 2018
	光肩星天牛 <i>Anoplophora glabripennis</i>	触角 Antennae	37	Illumina	Hu <i>et al.</i> , 2018
	云南切梢小蠹 <i>Tomicus yunnanensis</i>	触角 Antennae; 除触角外的头部 Heads (without antennae); 胸部 Thorax; 腹部 abdomens; 足和翅 Legs and wings	9	Illumina	Liu <i>et al.</i> , 2018
	桑天牛 <i>Apriona germari</i>	触角 Antennae	43	Illumina	Qian <i>et al.</i> , 2020
膜翅目 Hymenoptera	斑痣悬茧蜂 <i>Meteorus pulchricornis</i>	触角 Antennae	99	Illumina	Sheng <i>et al.</i> , 2017
	菜蛾盘绒茧蜂 <i>Cotesia vestalis</i>	触角和足 Antennae and leg	158	Illumina	Liu <i>et al.</i> , 2020
	松树蜂 <i>Sirex noctilio</i>	触角 Antennae	41	Illumina	Guo <i>et al.</i> , 2021
鳞翅目 Lepidoptera	小线角木蠹蛾 <i>Streltzoviella insularis</i>	触角 Antennae	56	Illumina	Yang <i>et al.</i> , 2019
	黄野螟 <i>Heortia vitessoides</i>	触角 Antennae	28	BGISEQ	Cheng <i>et al.</i> , 2019
	大蜡螟 <i>Galleria mellonella</i>	触角 Antennae	46	Illumina	Zhao <i>et al.</i> , 2019
	沙棘木蠹蛾 <i>Eogystia hippophaecolus</i>	触角 Antennae	63	Illumina	Hu <i>et al.</i> , 2019
	美国白蛾 <i>Hyphantria cunea</i>	触角 Antennae	52	Illumina	Zhang <i>et al.</i> , 2020
	重阳木锦斑蛾 <i>Histia rhodope</i>	触角 Antennae	45	Illumina	Yang <i>et al.</i> , 2020
	疆夜蛾 <i>Peridroma saucia</i>	触角 Antennae	63	Illumina	Sun <i>et al.</i> , 2020c
双翅目 Diptera	黑带食蚜蝇 <i>Episyrphus balteatus</i>	触角 Antennae	51	Illumina	Wang <i>et al.</i> , 2017
	大灰优食蚜蝇 <i>Eupeodes corollae</i>	触角 Antennae	42	Illumina	Wang <i>et al.</i> , 2017
半翅目 Hemiptera	茶翅蟥 <i>Halyomorpha halys</i>	触角 Antennae	138	Illumina	Sun <i>et al.</i> , 2020a
竹节虫目 Phasmatodea	东方叶蝓 <i>Phyllium siccifolium</i>	触角 Antennae	<30	Illumina	Missbach <i>et al.</i> , 2014
衣鱼目 Zygentoma	斑衣鱼 <i>Thermobia domestica</i>	触角 Antennae	3	Illumina	Missbach <i>et al.</i> , 2014

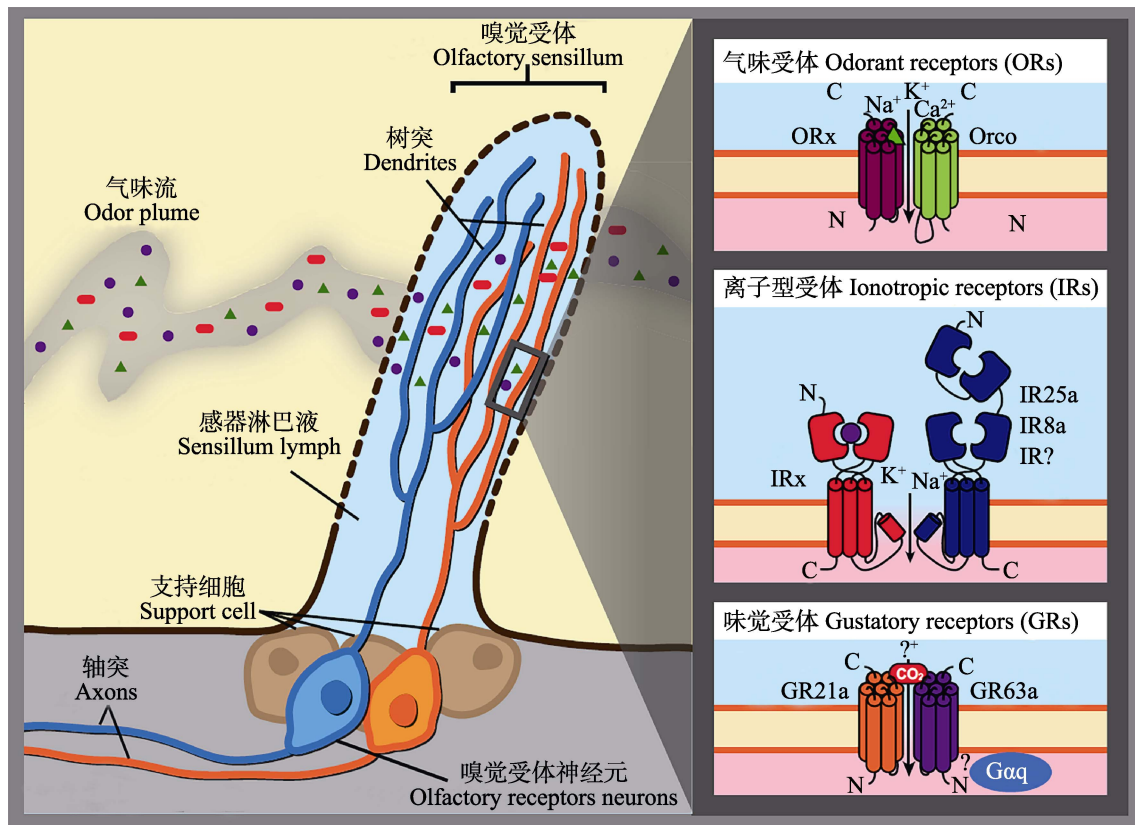


图 1 3 种嗅觉受体结构模式图 (仿 Pask and Ray, 2016 绘制)

Fig. 1 Structural diagram of three olfactory receptors (Drawn after Pask and Ray, 2016)

明, GRs 也具有 7 个跨膜结构, 其功能结构域由 3 个或更多的受体亚单位组成。对 *D. melanogaster*、冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*、赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*、家蚕 *Bombyx mori*、埃及伊蚊 *Aedes aegypti*、意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 等昆虫味觉受体基因的分析发现, 昆虫味觉受体基因高度分化, 序列相似性极低, 在 8%-12% 之间, 表明不同昆虫味觉受体对配体的识别具有较大的差异性 (Robertson and Kent, 2009)。CO₂ 受体是一类在蚊类触角感觉神经元中表达的味觉受体, 研究发现这类受体在吸血雌蚊寻找寄主的过程中发挥至关重要的作用。雌蚊可以根据 CO₂ 浓度的微小波动确定寄主方位, 并进行搜寻、跟随和降落等行为 (Majeed et al., 2017)。蚊类 CO₂ 受体还可对人类散发的一些其它气味物质产生反应, 如 *A. aegypti* 的 Gr3 突变体对乳酸的反应消失 (McMeniman et al., 2014)。除了 CO₂ 受体外, 还有感知信息素的味觉受体, 也被认为在嗅觉感受中发挥着一定的作用。如

Gr68a 可能作为信息素受体去感知一种由 *Drosophila* 雄虫产生的抑制其它雄虫求偶行为的信息素 (Kohl et al., 2015); 而工蜂/工蚁表达的 GRs 可能参与识别由蜂后/蚁后释放的信息素, 以抑制种群中工蜂/工蚁的繁殖行为 (Holman, 2018)。

此外, GRs 还参与了昆虫对甜味物质和苦味物质 (植物有毒代谢物) 的识别, 帮助昆虫确定富含糖类的食物, 增强自身的摄食行为 (Agnihotri et al., 2016)。如 *D. melanogaster* 的 Gr43a 通过测定血淋巴中果糖的含量, 进而调控其摄食行为 (Miyamoto et al., 2012)。而苦味物质则通过激活昆虫体内特定的 GRs, 诱发昆虫的拒食行为 (Xu et al., 2016)。

1.3 离子型受体 (Ionotropic receptors, IRs)

研究表明, 昆虫腔锥形感器的 OSNs 中虽然不表达 ORs 和 GRs, 但却对多种气味分子产生反应, Benton 等 (2009) 首次从 *D. melanogaster*

腔锥形感器中发现了一类离子型谷氨酸受体, 并将其命名为离子型受体 (Ionotropic receptors, IRs)。随后在鳞翅目、鞘翅目等多个目的昆虫触角中同样发现了该类受体 (Gomez-Diaz *et al.*, 2018)。基于已发现的 IRs 的氨基酸序列和表达模式的差异, 可以将昆虫 IRs 家族分为 3 个亚族, 分别为触角 IRs、分散型 IRs、保守受体 IR8a 与 IR25a (Benton *et al.*, 2009)。

随着对 IRs 家族功能研究的深入, 发现 IRs 可以感受有机酸类、胺类、醛类等物质。利用电生理构建表达 IRs 的腔锥形感器的 OSNs 的气味感受谱, 确定激活 IRs 的气味物质属于胺和羧酸两个化学类别 (Wicher, 2018)。此外触角 IRs 还被证实可以对多胺产生反应, 而这对昆虫的繁殖具有重要意义 (Hussain *et al.*, 2016)。通过对 *Drosophila* IR76b 的分析发现, 其参与了

Drosophila 对低盐环境和氨基酸的响应 (Zhang *et al.*, 2013; Croset *et al.*, 2016)。近年来的研究表明 IRs 除了参与嗅觉作用和味觉作用外, 还参与了昆虫对温度和湿度的感应 (Knecht *et al.*, 2016; Ni *et al.*, 2016)。

2 气味受体的结构与进化

2.1 气味受体的结构

目前, 昆虫 ORs 的三维结构常用核磁共振、X-射线晶体学及冷冻电镜三维重构 3 种方法进行解析, 对 *Drosophila* 气味受体的结构分析发现, *Drosophila* 的 ORs 的 N 端位于细胞膜内, C 端在细胞膜外, 因此 Benton (2006) 推测昆虫的 ORs 不是 G 蛋白耦联受体中的一员, 而是一个全新的跨膜受体家族 (图 2: A)。Hopf 等 (2015)

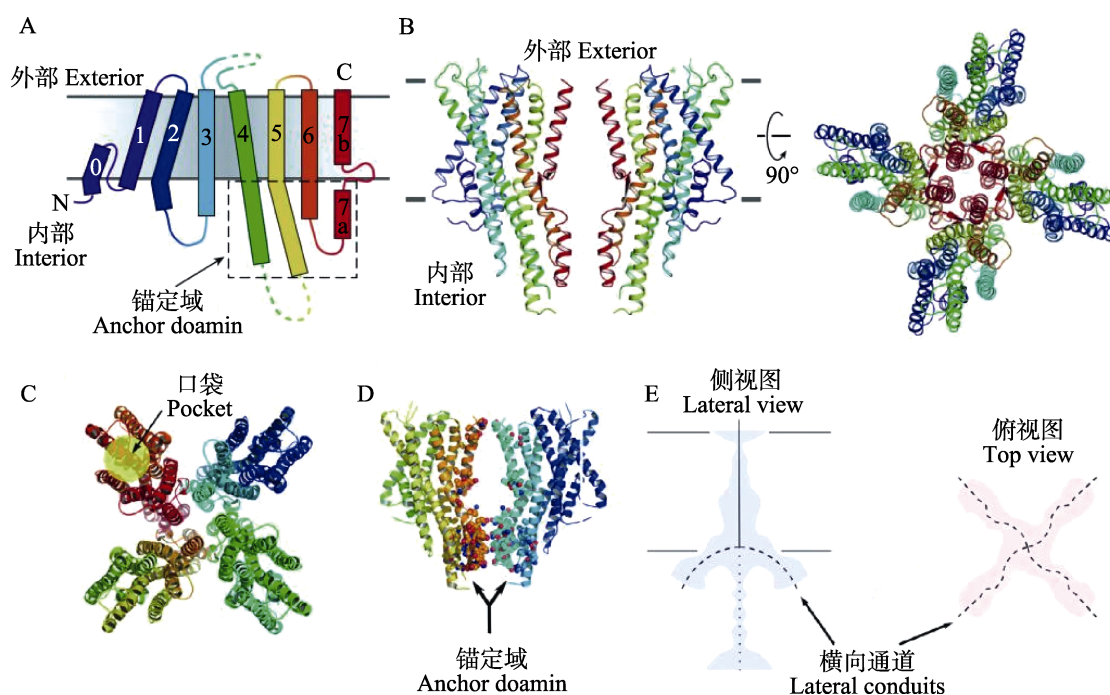


图 2 气味受体共受体蛋白四聚体结构图 (仿 Butterwick *et al.*, 2018; Luo and Carlson, 2018 绘制)

Fig. 2 Architecture of the Orco tetramer (Drawn after Butterwick *et al.*, 2018; Luo and Carlson, 2018)

A. Orco 单个亚基模式图; B. Orco 结构图的侧面视图和膜外侧观察视图; C. Orco 膜外部分存在配体结合口袋; D. Orco 侧面观, 各亚基膜内部分结合构成锚定域; E. 从侧面 (左) 和顶部 (右) 观察, 在通道前半部分离子从中心孔进入离子通道 (实线), 后半部分离子通道可能发生异构, 直接从中心孔道进入神经元 (虚线), 或者离子从亚基构成的四条侧管进入神经元 (虚线)。

A. Schematic description of single subunit of Orco; B. Side view and lateral view of Orco structure; C. Ligand binding pockets in the ectodomain of Orco; D. The anchoring domain formed by internal parts of each subunits; E. The side view (left) and top view (right) of Orco channels. The transmembrane domain formed a central pore for ion passage (solid line), and the ion could enter the neurons through the central pore (dashed line) or the four lateral conduits formed by the subunit (dashed line).

通过对已知的 ORs 的氨基酸序列进行分析, 统计在 ORs 的进化过程中成对的保守氨基酸残基的分布情况, 并且结合 ORs 的二级结构对多肽链进行折叠, 构建了昆虫 ORs 的三维模型, 并预测存在两个保守氨基酸残基参与 ORx-Orco 复合物构成的门控离子通道的中心孔道的形成; Butterwick 等 (2018) 利用冷冻电镜技术解析出了寄生榕小蜂 *Apocrypta bakeri* 的 Orco 的结构, 发现其是一个四聚体结构, 四个亚基被延伸至细胞质的蛋白质 (锚定域) 锚定在细胞膜上, 形成一个含有中心孔道的类似风车的结构 (图 2: B)。

研究发现, *A.bakeri* 的 Orco 每个亚基含有 7 个跨膜螺旋结构 (命名为 S1-S7), 其中 S7 靠近四聚体的中心轴, 被一段长度为 15 个氨基酸的 β 发夹结构分为两个螺旋结构, 分别被命名为 S7a 和 S7b, 其中 S7a 构成锚定域的核心, S7b 则参与中心孔道的构成 (图 2: A); 而 S1-S6 的胞外部分构成了一个长 10Å, 深 20Å 的口袋, 推测可能是一些通往离子通道的小分子配体的结合位点 (图 2: C); 同时 S3-S4 的胞外部分可阻止气味分子进入配体结合口袋与 Orco 结合, 从而确保 ORx-Orco 复合体与配体结合的特异性 (Butterwick *et al.*, 2018; Luo and Carlson, 2018)。Orco 除在靠近胞外的一端具有单独的中心孔道, 在靠近细胞质一端还有四条中心对称的辅助通道, 可以帮助离子从中心孔道进入细胞质, 封闭状态时, 中心孔道靠近细胞外的开口被两个疏水氨基酸残基限制, 形成明显的紧缩, 致使开口直径仅有 2Å, 水合离子受到限制, 不能通过该孔道 (图 2: D, E) (Luo and Carlson, 2018)。

Mármol 等 (2021) 利用冷冻电镜技术成功解析了石蛎目昆虫 *Machilis hrabei* 的气味受体 MhOR5。结果表明, MhOR5 具有与 *A.bakeri* 的 Orco 相似的结构, 当用配体丁香酚与 MhOR5 结合时, MhOR5 的 S7b 螺旋即发生位移, 导致第 468 位缬氨酸 (Val468) 发生旋转并被转移出中心孔道, 而第 467 位谷氨酰胺 (Gln467) 则旋转进入中心孔道, 最终中心孔道胞外开口处的缢缩被打开, 而锚定域则不发生结构变化, 进而使细

胞外水和离子进入中心孔道后, 通过四条横向辅助通道, 顺利到达细胞内, 这与 Butterwick 等 (2018) 的推测一致 (Mármol *et al.*, 2021)。

2.2 气味受体的进化

生物从水生向陆生进化的过程中, 其生存环境中的气味物质也由溶于液体转变为溶于气体, 因此有学者提出气味受体是昆虫由水生到陆生环境适应性进化而来的假说 (Krång *et al.*, 2012)。Missbach 等 (2014) 对不同昆虫 (包括石蛎目, 衣鱼目和竹节虫目) 的嗅觉系统研究后发现, 在石蛎目中不存在 ORs, 在衣鱼目中仅发现 Orco, 而在竹节虫目中则发现了完整的气味受体系统包括 ORx 和 Orco, 且 ORx 仅在有翅昆虫中发现, 由于昆虫在飞行中需要对气味刺激做出非常快速的反应, 所以其推测 ORx 可能是昆虫嗅觉系统对飞行的适应性产物。然而 Brand 等 (2018) 的研究却否定了这种推测, 研究者首先从无翅的 *M. hrabei* 中成功鉴定出 5 种编码 ORx 的基因; 又从斑衣鱼 *Thermobia domestica* 中筛选出 42 种编码 ORx 的基因以及一种编码 Orco 的基因; 此后, 通过研究弹尾纲、双尾纲、蜉蝣目和蜻蜓目的几种昆虫的基因组, 发现在弹尾纲、双尾纲昆虫中没有编码 ORs 的基因, 而在蜉蝣目和蜻蜓目昆虫中均发现了编码 ORx 和 Orco 的基因, 因此他们认为配体特异性 ORx 和 Orco 系统在昆虫的翅进化之前就已存在, 是昆虫对地球环境的适应性进化, 而并非是昆虫嗅觉系统对飞行的适应性产物, 并认为气味受体的进化是昆虫进化历程中重要的环节 (图 3)

随后, Brand 等 (2018) 又对 *M. hrabei*、*T. domestica*、蜻蜓 *Ladona fulva*、蜉蝣 *Ephemera danicade* 和豆娘 *Caenagrion splendens* 5 种昆虫已经注释的 ORs 基因构建系统发育树, 分析发现 TdomOrco 与所有有翅昆虫的 Orco 聚合在一起, 构成一个独立分支, 且具有与所有有翅昆虫的 Orco 相同的特征, 因此推测其可能是所有有翅昆虫 Orco 的共同起源 (图 4)。此外, *M. hrabei* 不存在编码 Orco 的基因, 其 5 种编码 Orx 的基因聚合在一起, 在进化树中构成高度独立的

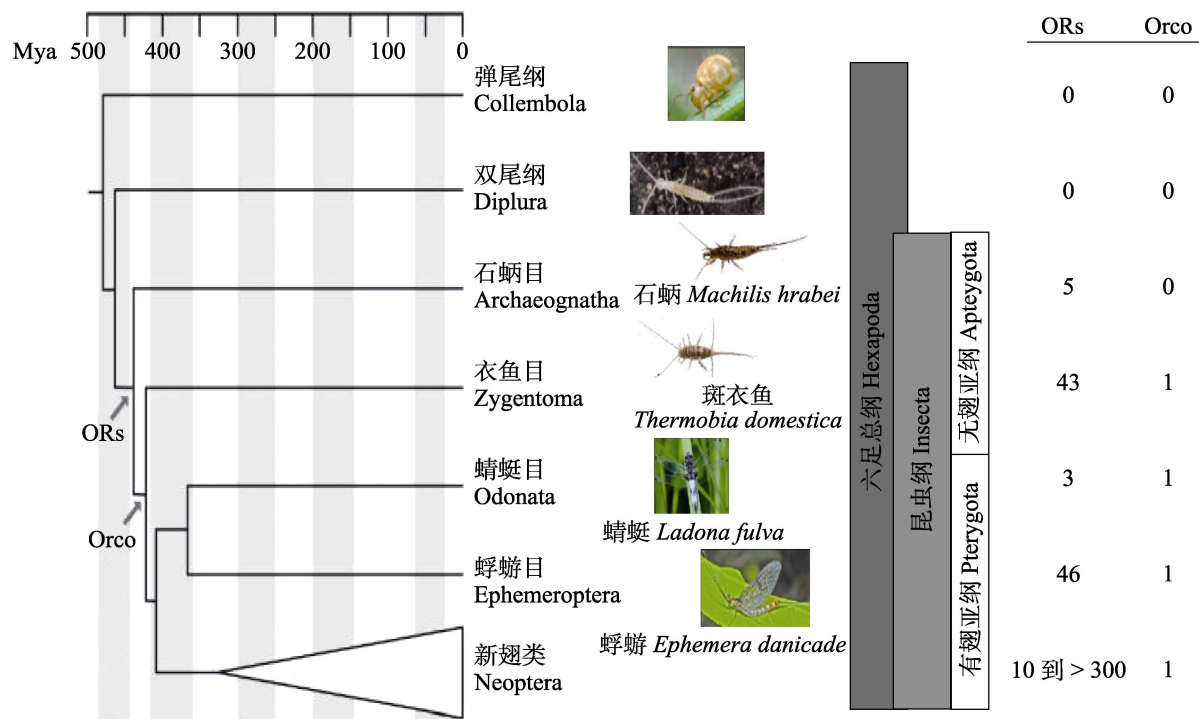


图 3 六足总纲动物 ORs 和 Orco 数量分布图 (仿 Brand et al., 2018 绘制)
Fig. 3 ORs and Orco population distribution of hexapods (Drawn after Brand et al., 2018)
Mya: 百万年前。 Mya: Million years ago.

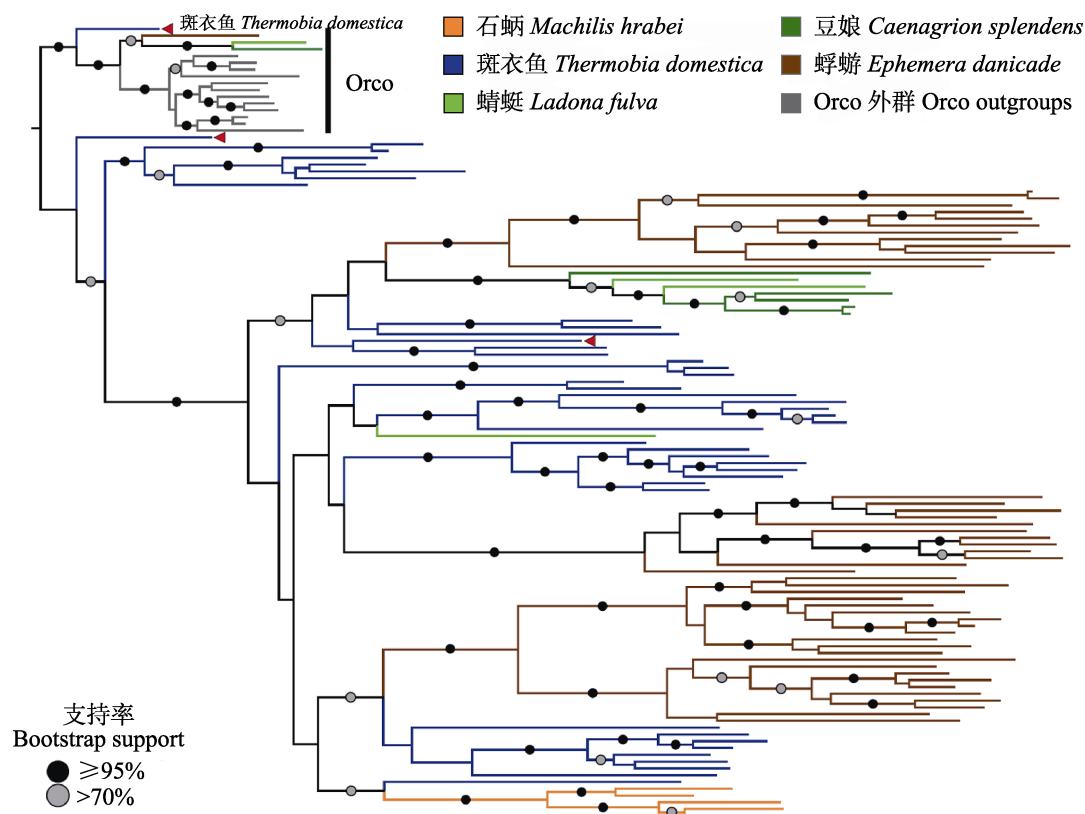


图 4 气味受体基因家族系统发育包括所有无翅昆虫和有翅昆虫的代表 (仿 Brand et al., 2018 绘制)
Fig. 4 Phylogeny of Odorant receptor gene family from representatives of apterygote and paleopteran insect orders (Drawn after Brand et al., 2018)

分支(图4)(Brand *et al.*, 2018)。导致 *M. hrabei* 编码 Orco 的基因缺失的原因可能是在近期发生于两种石蛎目昆虫之间;另一种推测认为在石蛎目和衣鱼目昆虫的分化过程中,还存在一种生物介于两个目之间,而这种生物的 Orco 是所有昆虫 Orco 的共同起源(Brand *et al.*, 2018)。

随着大量昆虫气味受体被鉴定出来,发现昆虫的气味受体及其进化也呈现出多样性,分析原因可能是为应对生活环境中纷繁复杂的气味物质,昆虫 ORs 基因家族进行了大规模扩增,以适应外界生存环境的变化。如在社会性昆虫蚂蚁种群中,鉴定出了目前最大的 ORs 家族(多于 300 个),对同种蚂蚁不同等级的个体进行转录组分析,发现工蚁的触角中 ORs 的丰度和化学感受系统都优于其他等级的个体,这可能与工蚁需要感知更复杂的气味物质相一致(Zhou *et al.*, 2015);而其他非社会性昆虫的 ORs 基因家族也可出现极大的扩增,如 *T. castaneum* 含有 259 种气味受体基因,这种扩增或与昆虫的化学通讯或者原始栖息场所有关(Engsontia *et al.*, 2008)。

3 昆虫气味受体的配体特异性

3.1 气味受体功能表征

为研究昆虫气味受体的功能,目前已经构建了多种体外或体内表达系统,其中爪蟾卵母细胞异源表达系统是构建最早也是应用最广泛的一种。2001 年人们成功地将 *Drosophila* 的 OR43a 受体在非洲爪蟾卵母细胞中表达,并确定了它的 4 种配体:环己酮、环己醇、苯甲醛和苜醇(Wetzel *et al.*, 2001),这也是人们首次鉴定出昆虫单个类型的气味受体对应的气味物质。随后,人们陆续利用哺乳动物细胞和昆虫细胞成功建立了多种用于表达 ORs 的细胞系,如人类胚胎肾细胞系 293 (HEK293 细胞系)、*Drosophila* 施耐德 2 号细胞系(S2 细胞系),这些细胞系通过转染表达载体,驱动 ORx 和 Orco 在细胞系中的表达,然后利用钙成像和膜片钳技术分析转染成功的细胞对不同气味物质的反应(Fleischer *et al.*, 2018)。为了适应大批量鉴别 ORs 配体的需要,

近年来已经成功将异源表达系统和自动化平台连接起来,实现了气味受体配体的中高通量鉴定(Pask *et al.*, 2011)。

然而,自然条件下 ORs 的特异性和灵敏度比异源表达系统中更强(Wang *et al.*, 2020)。基于此,人们又开发设计了 *Drosophila* “空神经元”系统。“空神经元”缺失 OR22a,但保留了 ORs 响应气味物质所需的上下游产物,因此通过在“空神经元”中构建 GAL4/UAS 表达系统,可以模拟自然条件下 ORs 对气味物质的反应(Pellegrino *et al.*, 2010)。但是“空神经元”系统由于缺乏上游蛋白 SNMP1,因此只能用于研究普通气味受体,人们又构建了 *Drosophila* T1 毛形感器表达系统,用于鉴定信息素受体的配体,且该方法已经在蛾类信息素的筛选中成功得到了应用(Kurtovic *et al.*, 2007)。结合“空神经元”和 T1 表达系统研究目的气味受体的配体,即可得到近似于自然条件下的配体谱。

对 Orco 功能表征研究,除上述方法外,还可以使用基因靶向技术和基因沉默技术。如利用基因靶向技术将 *D. melanogaster* 的 OR83b (Orco) 基因敲除后,发现其识别气味物质的能力明显降低,当将 OR83b 的同源基因转入突变体内后, *D. melanogaster* 即恢复正常相关嗅觉反应(Jones *et al.*, 2005);利用 RNAi 技术将德国小蠊 *Blattella germanica* 的 Orco 基因沉默, *B. germanica* 对信息素和食物源的反应同样明显降低(He *et al.*, 2021),而将 OrcodsRNA 注射至 *T. castaneum* 蛹后,其羽化成虫也降低了对聚集信息素的趋性(Engsontia *et al.*, 2008)。

3.2 昆虫气味受体的配体特异性

研究表明大多数昆虫 ORs 和气味物质并不是一一对应的,通常一种受体可以被多种配体激活,同样一种配体也可以激活多种气味受体。但也有学者认为实验中使用的气味物质会对 ORs 的配体谱的鉴定存在较大影响,当我们使用更多与配体相关的气味物质时,得出的配体谱会更宽,而当试验的气味物质与配体无关时,则配体谱就会变窄,导致一部分宽调谐气味受体的配体

谱可能存在人为的改变(Andersson *et al.*, 2015)。在高浓度气味物质刺激下, *D. melanogaster* 和 *A. gambiae* 的气味受体调谐谱要宽于低浓度气味物质刺激下的气味受体调谐谱, 导致气味受体的调谐谱被人为扩大(Andersson *et al.*, 2015)。

大多数 ORs 可以被多种配体激活, 这类 ORs 被称为宽调谐受体, 通常是普通气味受体, 一般参与食物源、产卵地等的确定。但也存在一些高度特异性的气味受体, 仅被一种或几种特定的气味激活, 被称为窄调谐受体。研究发现, 窄调谐受体可以识别与生态相关的气味, 并激活专门的神经回路, 将信息向神经中枢传递(Andersson *et al.*, 2015)。蛾类信息素受体即是一类典型的窄调谐受体, 如草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* SfruOR13 对其信息素主要成分 Z9-十四碳烯醇醋酸酯高度敏感, 而对次级成分则不敏感(Guo *et al.*, 2020)。窄调谐受体如信息素受体这种对某种信息素成分高度敏感的特性, 可以帮助雄性个体准确找到同种雌性个体, 进行交配, 繁衍后代, 对种群延续具有重要意义。

值得注意的是, 研究发现 Orco 不直接与气味物质结合, 但是可通过与 ORx 形成复合体参与昆虫的嗅觉过程(Sato *et al.*, 2008)。如构建昆虫 Orco 突变体或人为将 Orco 基因沉默, 昆虫对气味物质的敏感程度显著下降, 这可能与 Orco 参与 ORx 在 OSN 膜上的定位有关(Jones *et al.*, 2005; Benton, 2006)。

4 ORs 介导信号转导的作用机制

4.1 ORs 介导普通气味信号转导

Sato 等(2008)及 Wicher 等(2008)同时发表研究论文, 提出 ORx-Orco 复合体是一种受气味分子激活的非选择性门控离子通道, 可允许 Ca^{2+} , Na^{+} 和 K^{+} 通过。Sato 等(2008)认为气味分子可以在没有第二信使环磷酸腺苷(cAMP)参与的情况下, 激活 Orco-ORx 复合体, 打开离子通道, 形成动作电位; Wicher 等(2008)则认为, 当气味分子浓度较低时, 首先由 G 蛋白诱导产生 cAMP, 随后 cAMP 激活 Orco, 促进阳离子内流, 形成动作电位; 当气味分子浓度较高时, 门控离子通道的激活不需要第二信使的参与。此外研究发现, Orco 的激活还依赖于蛋白激酶 C (PKC) 和钙调素(CaM) 的参与(图 5: A)(Mukunda *et al.*, 2016)。

4.2 ORs 介导信息素信号转导

Benton 等(2007)发现, 信息素信号传导离不开感觉神经元膜蛋白 1 (SNMP1) 的参与, 如将 SNMP1 基因突变, *Drosophila* 即无法感知信息素, 将编码 SNMP1 的正常基因转入 *Drosophila* 突变体, 则可以修复这种缺陷, 表明在自然条件下, 气味受体响应信息素的刺激必须有 SNMP1 的参与。利用原位杂交和免疫组化方法, 发现 SNMP1 通常在毛形传感器的 OSNs 中与信息素受

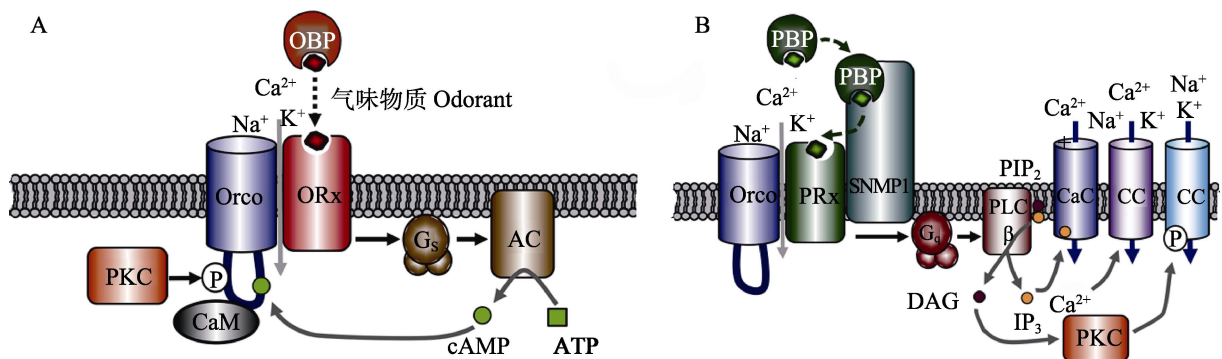


图 5 气味受体介导信号转导(仿 Fleischer *et al.*, 2018)

Fig. 5 Odorant receptor mediated signal transduction (Drawn after Fleischer *et al.*, 2018)

A. 普通气味受体介导信号转导机制; B. 蛾类信息素受体介导信号转导机制。

A. Common ORs-mediated signal transduction mechanism; B. The mechanism of pheromone receptor-mediated signal transduction in moths.

体 (Pheromone receptor, PR)-Orco 复合体共同表达, 当 PBP 运载信息素接近 OSNs 细胞膜后, SNMP1 通过改变局部的 pH 值, 诱导信息素结合蛋白 (Pheromone binding proteins, PBPs) 构型发生变化或者直接与 PBPs 发生作用使 PBPs 构型发生变化, 促使 PBPs 释放信息素, 然后 SNMP1 将信息素传递到附近的 PR-Orco 复合体处, 并激活 PR-Orco 复合体, 促使阳离子内流, 最终实现信号的传递 (Cassau and Krieger, 2021)。

有证据表明蛾类中 ORs 介导性信息素的转导还依赖 G 蛋白信号级联反应。在信息素刺激下, 蛾类触角神经元可以提高三磷酸肌醇 (IP₃) 的表达, 并产生电流。在信息素刺激下 G 蛋白首先被激活, 进而激活 β 型磷脂酶 (PLC) 介导的信号通路, β 型 PLC 诱导磷脂酰肌醇二磷酸 (PIP₂) 转化为 IP₃ 和二酰甘油 (DAG), IP₃ 增加激活了 OSNs 膜上的阳离子通道, 产生依赖于 Ca²⁺ 的电流 (Stengl, 2010); DAG 含量的增加则激活 PKC, 进而激活了 OSNs 膜上的阳离子通道和 Orco 非选择性阳离子通道, 形成持续的内部电流 (Stengl and Funk, 2013); 通过这种级联反应, 提高了蛾类雄性个体对信息素的敏感程度, 保证即使在环境中信息素含量极低的条件下, 雄性蛾类依然可以接收到足够的刺激, 从而准确的确定雌性个体的位置 (图 5: B) (Fleischer *et al.*, 2018)。

4.3 ORs 的增敏与减敏机制

对 *D. melanogaster* 嗅觉机制的研究发现, 利用低于阈值浓度的配体刺激表达 OR22a 的 OSNs, OR22a 活性并无增强, 但在几秒钟后利用同样浓度的配体再次刺激 OSNs, OR22a 活性却明显增强 (Getahun *et al.*, 2013); 同样在异源表达系统中利用低于阈值浓度的配体重复刺激表达 ORs 的 HEK293 细胞后, 细胞内钙离子浓度明显升高, 电信号强度也随之增强 (Mukunda *et al.*, 2016), 据此推测在 OSN 内存在信号系统调控 ORs 增敏反应, 并推测该信号系统包括 cAMP、PKC 和 CaM (Getahun *et al.*, 2013; Mukunda *et al.*, 2016)。进一步研究发现, 当气

味分子刺激 ORx-Orco 复合体, 却不足以直接形成动作电位时, OSNs 内可先生成 cAMP, 进而激活 Orco, 致使 Ca²⁺ 内流, OSNs 内 Ca²⁺ 浓度升高, 激活 PKC 和 CaM, PKC 使 Orco 磷酸化, 进一步增强 Orco 活性, 促进阳离子内流; 而 CaM 与 Orco 结合, 也可以促进 Ca²⁺ 的内流, 通过如此反复循环, ORs 灵敏度被逐步增强到适宜的强度, 进而帮助昆虫实现对原本无法检测的低浓度气味物质的响应 (图 6) (Wicher, 2018)。

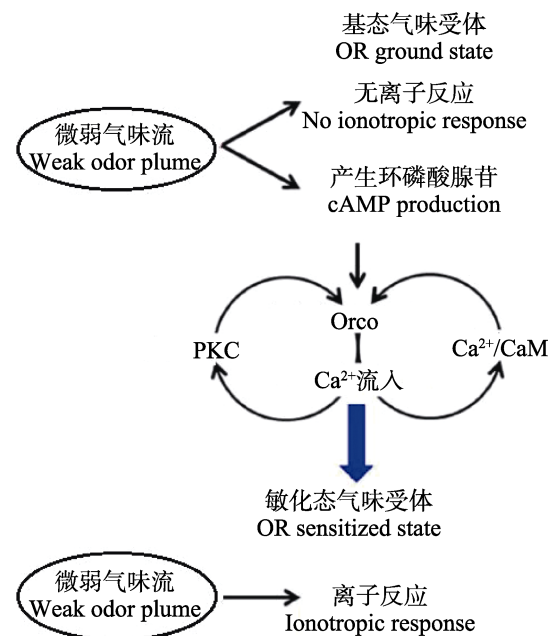


图 6 ORs 的敏化模式 (仿 Wicher, 2018 绘制)

Fig. 6 Sensitization pattern diagram of Ors (Drawn after Wicher, 2018)

而当昆虫处于长时间或高浓度气味物质刺激下时, OSNs 会降低对气味物质的敏感度, 这可以帮助 ORs 在合适的时间响应气味刺激, 而不会受到气味浓度的影响 (Gorur-Shandilya *et al.*, 2017)。研究表明, 这种适应行为依赖于 Orco 表达量的下调或者去磷酸化。如经过高浓度乙醇处理后的 *D. melanogaster*, 其触角组织中 Orco 的表达量下降, 对高浓度乙醇的灵敏度下降, 从而提高其对高浓度气味物质环境的适应能力 (Riveron *et al.*, 2013)。此外, 长时间的气味刺激, 果蝇 Orco 蛋白的第 289 位丝氨酸 (Ser289) 位点会发生去磷酸化现象, 导致 ORs 对气味剂的敏感度降低, 从而提高果蝇对气味剂长期刺激

的适应能力 (Guo *et al.*, 2017), 进一步研究表明, 果蝇这种在长时间气味刺激下降低对同种气味物质敏感度的方式受 PKC98E 的调控, 在正常状态 (无长时间气味暴露) 下 PKC98E 在嗅觉神经元中正常表达, Ser289 发生磷酸化, ORs 对气味剂具有较强的敏感性, 当 ORs 处于长时间的气味刺激条件下时, PKC98E 表达量下降, Ser289 则发生去磷酸化, 导致 ORs 对气味剂的敏感性降低, 进而提高果蝇对环境的适应能力 (Poudel *et al.*, 2021)。

5 昆虫气味受体的应用现状

5.1 ORs 在害虫防治中的应用

明确气味受体的配体特异性和介导信号传导的分子机制有利于开发具有全新作用靶标位点的杀虫剂, 破坏气味分子和气味受体的结合, 从而对昆虫的寻偶和交配行为产生巨大的影响, 为害虫绿色防控提供新的防治策略。根据对蚊虫 ORs 功能的研究, 人们已经筛选出多种引诱物质和趋避物质。例如 *A. gambiae* 的 AgOR2 能够特异性识别吡啶, AgOrR8 可以特异性识别 1-辛烯-3 醇, AgOR65 对 2-乙基苯酚反应强烈, 这些引诱物质均可用于蚊虫诱杀; 两种趋避物质酰基吡啶和羧酰胺, 也已经在体外实验中被证实可以有效抑制 *A. gambiae* 的 ORs, 而趋避剂 VUAA1 能够作用于 ORx-Orco 二聚体, 使蚊虫丧失部分嗅觉能力, 干扰蚊虫搜寻寄主 (谷真毓等, 2020)。

随着生物信息技术的应用, 部分农林昆虫的 ORs 与配体的结合位点也已经被确认, 如 Xing 等 (2021) 通过对冷杉梢斑螟 *Dioryctria abietella* 的两个信息素受体三维结构进行模拟, 进而预测了它们与信息素的结合位点; Yuvaraj 等 (2021) 成功从云杉八齿小蠹 *Ips typographus* 鉴别出两种信息素受体 ItypOR46 和 ItypOR49, 并证实它们分别对信息素成分齿小蠹烯醇 (Ipsenol) 和齿小蠹二烯醇 (Ipsdienol) 产生特异性反应, 随后他们通过同源建模和分子对接技术预测了 ItypOR46 与齿小蠹烯醇的结合位点, 并通过对预测位点进行定点突变, 证实突变体感知齿小蠹

烯醇的能力显著降低。因此开发针对昆虫特定 OR 的药剂, 进而对某类害虫的行为进行针对性干扰, 可能成为未来新型农药开发的重要方向, 也是未来绿色防控的重要发展方向。

我们还可以将 ORs 基因进行敲除或沉默, 阻断害虫嗅觉信号传导过程, 进而影响其生命活动, 达到绿色防控的目的。如将两种白蚁 *Odontotermes formosanus* 和 *Reticulitermes chinensis* 的 Orco 基因沉默后, 白蚁感知踪迹信息素的能力显著下降, 同时运动速度也有降低, 且持续做无规则曲线运动, 严重影响白蚁的觅食活动 (Gao *et al.*, 2020); 当科鲁兹按蚊 *Anopheles coluzzii* 的 Orco 基因被敲除后, 突变体感知气味物质的能力显著减低, 从而对其寻找人类寄主的行为产生了严重的影响 (Sun *et al.*, 2020b)。此外由于不同昆虫 Orco 之间具有较高的同源性, 且这种蛋白仅在昆虫中存在, 因此针对昆虫 Orco 开发的药剂, 可能对其他非靶标生物不产生危害, 是一种理想的广谱杀虫剂。

5.2 ORs 在生物传感器中的应用

昆虫 ORs 种类繁多, 且部分 ORs 对不同的气味化合物具有较强的敏感性和选择特异性, 因此可构建 ORs/脂质重组体生物传感器, 实现对某些特定物质的检测 (Khadka *et al.*, 2019; Bohbot and Vernick, 2020)。如 Khadka 等 (2019) 将 *Drosophila* 气味受体 OR10a、OR22a 和 OR71a 整合到人工脂质体中, 并固定在金电极上, 利用电化学阻抗法实现对气味物质的超灵敏和选择性检测; 将纯化的 OR9 固定在碳纳米管-场效应晶体管的侧壁, 可实现对吡啶和 3-甲基吡啶的特异性检测, 可用于肉类品质及水质的检测 (Bohbot and Vernick, 2020)。若将 ORx-Orco 复合体作为生物传感器的检测元件, 生物传感器的灵敏度会大幅提高, Murugathas 等 (2020) 以 ORx-Orco 复合体替代 ORx 作为检测元件, 可以将生物传感器的检测阈值降低一个数量级。

此外, 以 ORs 作为检测元件研发的生物传感器在隐蔽性害虫监控方面也具有广阔的应用前景。林木蛀干类害虫的幼虫寄主广泛, 常钻蛀

林木进行为害, 隐蔽性极强, 监控难度较大, 严重威胁我国林业生产安全。目前针对这类害虫通常采用对林区定点定时巡查的方法, 通过检查树身有无产卵刻槽、侵入孔、排粪孔、羽化孔以及周围是否存在取食后碎屑判断害虫为害情况, 但是这种方法需要耗费大量的人力物力, 且需要巡查人员具有较强的专业技能(柏超, 2020)。虽然这种方法具有一定的效果, 但是当监测到虫情并进行防治时, 害虫通常已经在一定范围内发生了为害。因此准确、灵敏、快速、便捷地检测这些隐蔽性害虫, 提前防控, 可以有效地减轻其为害, 对我国农林业生产具有重要意义。如 Antony 等(2021)发现红棕象 *Rhynchophorus ferrugineus* 的 RferOR1 能够特异性识别其信息素(4RS, 5RS)-4-甲基壬烷-5-醇(铁锈酮)和 4(RS)-甲基壬烷-5-酮(铁锈酮), 因此可利用 RferOR1 构建生物传感器检测 *R. ferrugineus* 的发生情况。

6 结论与展望

经过近 20 年的研究, 多种昆虫编码气味受体的基因得到了鉴定, 其中 ORs 是具有 7 个跨膜结构域的蛋白质家族, Orco 和 ORx 则构成复合体作为门控离子通道介导信号转导, 发挥主要的嗅觉功能。一些气味受体(特别是信息素受体)的配体也已经确认, 但配体鉴定工作进展缓慢, 严重阻碍了利用气味受体防治害虫技术的发展, 也延缓了基于 ORs 的生物传感器的研发进程。同时我们对 ORs 的结构了解还不够深入, ORs 如何与配体结合, 怎样变构, 离子通道怎样打开等分子机制还有待人们进一步的研究。

随着异源表达系统和自动化技术的联用, 中、高通量的配体筛选将成为可能, 未来大量的气味受体配体将被筛选出来, 意味着更多的作为生物传感器检测元件的 ORs 会被鉴定, 进一步扩大了基于 ORs 的生物传感器在污染检测, 食品检测, 医疗检测等方面的应用前景。

Orco 在不同昆虫中存在较高的同源性, 鉴于 Orco 基因沉默或缺失会对昆虫生命活动产生较大的影响, 可能在未来会成为新型广谱杀虫剂一个新的作用靶标。冷冻电镜的使用将有助于人

们更加深入了解 Orco 的结构、结合位点和作用方式, 通过研发基于气味受体的新型农药, 实现害虫的绿色防控。

参考文献 (References)

- Agnihotri AR, Roy AA, Joshi RS, 2016. Gustatory receptors in Lepidoptera: Chemosensation and beyond. *Insect Molecular Biology*, 25(5): 519–529.
- Andersson MN, Löfstedt C, Newcomb RD, 2015. Insect olfaction and the evolution of receptor tuning. *Front. Ecol. Evol.*, 3(53): 1–14.
- Antony B, Johny J, Montagné N, Jacquín-Joly E, Capoduro R, Cali K, Persaud K, Al-Saleh MA, Pain A, 2021. Pheromone receptor of the globally invasive quarantine pest of the palm tree, the red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*). *Molecular Ecology*, 30(9): 2025–2039.
- Bai C, 2020. Monitoring and control technology of forest borer pests. *Forest Science and Technology*, (3): 35–39. [柏超, 2020. 林木蛀蛀性害虫的监测及防治技术. 林业科技通讯, (3): 35–39.]
- Benton R, 2006. On the origin of smell: Odorant receptors in insects. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 63(14): 1579–1585.
- Benton R, Vannice KS, Gomez-Diaz C, Vossall LB, 2009. Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila*. *Cell*, 136(1): 149–162.
- Benton R, Vannice KS, Vossall LB, 2007. An essential role for a CD36-related receptor in pheromone detection in *Drosophila*. *Nature*, 450(7167): 289–293.
- Bohbot JD, Vernick S, 2020. The emergence of insect odorant receptor-based biosensors. *Biosensors*, 10(3): 26.
- Brand P, Robertson HM, Lin W, Pothula R, Klingeman WE, Jurat-Fuentes JL, Johnson BR, 2018. The origin of the odorant receptor gene family in insects. *eLife*, doi: 10.7554/eLife.38340.
- Buck L, Axel R, 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell*, 65(1): 175–187.
- Butterwick JA, Mármol J, Kim KH, Kahlson MA, Rogow JA, Walz T, Ruta V, 2018. Cryo-EM structure of the insect olfactory receptor Orco. *Nature*, 560(7719): 447–452.
- Cassau S, Krieger J, 2021. The role of SNMPs in insect olfaction. *Cell and Tissue Research*, 383(1): 21–33.
- Cheng J, Wang CY, Lyu ZH, Chen JX, Tang LP, Lin T, 2019. Candidate olfactory genes identified in *Heortia vitessoides* (Lepidoptera: Crambidae) by antennal transcriptome analysis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, doi: 10.1016/j.cbd.2018.11.006.

- Clyne PJ, Warr CG, Freeman MR, Lessing D, Kim J, Carlson JR, 1999. A novel family of divergent seven-transmembrane proteins: Candidate odorant receptors in *Drosophila*. *Neuron*, 22(2): 327–338.
- Croset V, Schleyer M, Arguello JR, Gerber B, Benton R, 2016. A molecular and neuronal basis for amino acid sensing in the *Drosophila* larva. *Sci. Rep.*, 6(1): 34871.
- Du LX, Liu Y, Wang GR, 2016. Molecular mechanisms of signal transduction in the peripheral olfactory system of insects. *Sci. Sin. Vitae*, 46(5): 573–583. [杜立啸, 刘杨, 王桂荣, 2016. 昆虫外周嗅觉系统信号转导机制研究进展. 中国科学: 生命科学, 46(5): 573–583.]
- Engsontia P, Sanderson AP, Cobb M, Walden KK, Robertson HM, Brown S, 2008. The red four beetle's large nose: An expanded odorant receptor gene family in *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38(4): 387–397.
- Fleischer J, Pregitzer P, Breer H, Krieger J, 2018. Access to the odor world: Olfactory receptors and their role for signal transduction in insects. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(3): 485–508.
- Gao Q, Chess A, 1999. Identification of candidate *Drosophila* olfactory receptors from genomic DNA sequence. *Genomics*, 60(1): 31–39.
- Gao YY, Huang QY, Xu H, 2020. Silencing Orco impaired the ability to perceive trail pheromones and affected locomotion behavior in two termite species. *Journal of Economic Entomology*, 113(6): 2941–2949.
- Getahun MN, Olsson SB, Lavista-Llanos S, Hansson BS, Wicher D, 2013. Insect odorant response sensitivity is tuned by metabotopically autoregulated olfactory receptors. *PLoS ONE*, 8(3): e58889.
- Gomez-Diaz C, Martin F, Garcia-Fernandez JM, Alcorta E, 2018. The two main olfactory receptor families in *Drosophila*, ORs and IRs: A comparative approach. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, doi: 10.3389/fncel.2018.00253.
- Gorur-Shandilya S, Demir M, Long J, Clark DA, Emonet T, 2017. Olfactory receptor neurons use gain control and complementary kinetics to encode intermittent odorant stimuli. *eLife*, doi:10.7554/eLife.27670.
- Gu ZY, Zhao T, Li CX, 2020. Research progress on odor binding proteins and odor receptors of mosquitoes. *Chinese Journal of Parasitology Parasitic Diseases*, 38(5): 1–5. [谷真毓, 赵腾, 李春晓, 2020. 蚊虫气味结合蛋白和气味受体研究进展. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 38(5): 1–5.]
- Guo B, Hao E, Qiao H, Wang JZ, Wu WW, Zhou JJ, Lu PF, 2021. Antennal transcriptome analysis of olfactory genes and characterizations of odorant binding proteins in two woodwasps, *Sirex noctilio* and *Sirex nitobei* (Hymenoptera: Siricidae). *BMC Genomics*, 22(1): 172.
- Guo H, Kunwa K, Smith D, 2017. Odorant receptor sensitivity modulation in *Drosophila*. *Journal of Neuroscience*, 37(39): 9465–9473.
- Guo JM, Liu XL, Liu SR, Wei ZQ, Han WK, Guo YZ, Dong SL, 2020. Functional characterization of sex pheromone receptors in the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *Insects*, 11(3): 193.
- He P, Ma YF, Wang MM, Wang H, Dewey Y, El-Ghany NMA, Chen GL, Yang GQ, Zhang F, He M, 2021. Silencing the odorant coreceptor (Orco) disrupts sex pheromonal communication and feeding responses in *Blattella germanica*: Toward an alternative target for controlling insect-transmitted human diseases. *Pest Manag. Sci.*, 77(4): 1674–1682.
- Holman L, 2018. Queen pheromones and reproductive division of labor: A meta-analysis. *Behavioral Ecology*, 29(6): 1199–1209.
- Hopf TA, Morinaga S, Ihara S, Touhara K, Marks DS, Benton R, 2015. Amino acid coevolution reveals three-dimensional structure and functional domains of insect odorant receptors. *Nature Communications*, 6(1): 6077.
- Hu P, Wang JZ, Cui MM, Tao J, Luo YQ, 2018. Antennal transcriptome analysis of the Asian longhorned beetle *Anoplophora glabripennis*. *Sci. Rep.*, 6(1): 26652.
- Hu P, Tao J, Cui MM, Gao CL, Lu PF, Luo YQ, 2019. Antennal transcriptome analysis and expression profiles of odorant binding proteins in *Eogystia hippophaecolus* (Lepidoptera: Cossidae). *BMC Genomics*, 17(1): 651.
- Hussain A, Zhang M, Üçpınar HK, Svensson T, Quillery E, Gompel N, 2016. Ionotropic chemosensory receptors mediate the taste and smell of polyamines. *PLoS Biol.*, 14(5): e1002454.
- Jones WD, Nguyen TA, Kloss B, Lee KJ, Vossell LB, 2005. Functional conservation of an insect odorant receptor gene across 250 million years of evolution. *Current Biology*, 15(4): R119–R121.
- Khadka R, Aydemir N, Carraher C, Hamiaux C, Colbert D, Cheema J, Malmström J, Kralicek A, Travares-Sejdic J, 2019. An ultrasensitive electrochemical impedance-based biosensor using insect odorant receptors to detect odorants. *Biosensors and Bioelectronics*, doi: 10.1016/j.bios.2018.10.043.
- Knecht ZA, Silbering AF, Ni L, Klein M, Budelli G, Bell R, 2016. Distinct combinations of variant ionotropic glutamate receptors mediate thermosensation and hygro-sensation in *Drosophila*. *eLife*, doi: 10.7554/eLife.17879.
- Kohl J, Huoviala P, Jefferis GSXE, 2015. Pheromone processing in *Drosophila*. *Curr. Opin. Neurobiol.*, doi: 10.1016/j.conb.2015.06.009.

- Krång AS, Knaden M, Steck K, Hansson BS, 2012. Transition from sea to land: Olfactory function and constraints in the terrestrial hermit crab *Coenobita clypeatus*. *Proceedings Biological Sciences/The Royal Society*, 279(1742): 3510–3519.
- Kurtovic A, Widmer A, Dickson BJ, 2007. A single class of olfactory neurons mediates behavioural responses to a *Drosophila* sex pheromone. *Nature*, 446(7135): 542–546.
- Liu NY, Li ZB, Zhao N, Song QS, Zhu JY, Yang B, 2018. Identification and characterization of chemosensory gene families in the bark beetle, *Tomicus yunnanensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, doi: 10.1016/j.cbd.2017.11.003.
- Liu YP, Du LX, Zhu Y, Yang SY, Zhou Q, Wang GR, Liu Y, 2020. Identification and sex-biased profiles of candidate olfactory genes in the antennal transcriptome of the parasitoid wasp *Cotesia vestalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, doi: 10.1016/j.cbd.2020.100657.
- Luo YC, Carlson JR, 2018. Sensory biology: Structure of an insect chemoreceptor. *Current Biology*, 28(20): R1190–R1211.
- Mármol DJ, Yedlin M, Ruta V, 2021. The structural basis of odorant recognition in insect olfactory receptors. *BioRxiv*. doi: 10.1101/2021.01.24.427933.
- Majeed S, Hill SR, Dekker T, Ignell R, 2017. Detection and perception of generic host volatiles by mosquitoes: Responses to CO₂ constrains host-seeking behaviour. *Royal Society Open Science*, 4(5): 170–189.
- McMeniman CJ, Corfas RA, Matthews BJ, Ritchie SA, Vosshall LB, 2014. Multimodal integration of carbon dioxide and other sensory cues drives mosquito attraction to humans. *Cell*, 156(5): 1060–1071.
- Missbach C, Dweck HKM, Vogel H, Vilcinskis A, Stensmyr MC, Hansson BS, Grosse-Wilde E, 2014. Evolution of insect olfactory receptors. *eLife*, doi:10.7554/eLife.02115.
- Miyamoto T, Slone J, Song X, Amrein H, 2012. A fructose receptor functions as a nutrient sensor in the *Drosophila* brain. *Cell*, 151(5): 1113–1125.
- Montagné N, Fouchier A, Newcomb RD, Jacquín-Joly E, 2015. Advances in the identification and characterization of olfactory receptors in insects. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 130(4): 1877–1173.
- Mukunda L, Miazzi F, Sargsyan V, Hansson BS, Wicher D, 2016. Calmodulin affects sensitization of *Drosophila melanogaster* odorant receptors. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, doi: 10.3389/fncel.2016.00028.
- Murugathas T, Hamiaux C, Colbert D, Kralicek AV, Plank NOV, Carraher C, 2020. Evaluating insect odorant receptor display formats for biosensing using graphene field effect transistors. *ACS Applied Electronic Materials*, 2(11): 3610–3617.
- Ni L, Klein M, Svec KV, Budelli G, Chang EC, Ferrer AJ, 2016. The ionotropic receptors IR21a and IR25a mediate cool sensing in *Drosophila*. *eLife*, doi: 10.7554/eLife.13254.
- Pask GM, Jones PL, Rutzler M, Rinker DC, Zwiebel LJ, 2011. Heteromeric anopheline odorant receptors exhibit distinct channel properties. *PLoS ONE*, 6(12): e28774.
- Pask GM, Ray A, 2016. Insect olfactory receptors: An interface between chemistry and biology//Zufall F, Munger SD(eds.). *Chemosensory Transduction: The Detection of Odors, Tastes and Other Chemostimuli*. New York: Academic Press. 101–122.
- Pellegrino M, Nakagawa T, Vosshall LB, 2010. Single sensillum recordings in the insects *Drosophila melanogaster* and *Anopheles gambiae*. *J. Vis. Exp.*, (36): 1–5.
- Poudel S, Guo H, Smith DP, 2021. PKC98E regulates odorant responses in *Drosophila melanogaster*. *J. Neurosci.*, 41(18): 3948–3957.
- Qian JL, Mang DZ, Lv GC, Ye J, Li ZQ, Chu B, Sun L, Liu YJ, Zhang LW, 2020. Identification and expression profile of olfactory receptor genes based on *Apriona germari* (Hope) antennal transcriptome. *Front. Physiol.*, doi: 10.3389/fphys.2020.00807.
- Riveron J, Boto T, Esther A, 2013. Transcriptional basis of the acclimation to high environmental temperature at the olfactory receptor organs of *Drosophila melanogaster*. *BMC Genomics*, 14(1): 1–16.
- Robertson HM, Kent LB, 2009. Evolution of the gene lineage encoding the carbon dioxide receptor in insects. *Journal of Insect Science*, 9(1): 1–14.
- Robertson HM, Warr CG, Carlson JR, 2003. Molecular evolution of the insect chemoreceptor gene superfamily in *Drosophila melanogaster*. *PNAS*, 100(24): 14537–14542.
- Sato K, Pellegrino M, Nakagawa T, Nakagawa T, Vosshall LB, Touhara K, 2008. Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. *Nature*, 452(7190): 1002–1006.
- Schmidt HR, Benton R, 2020. Molecular mechanisms of olfactory detection in insects: Beyond receptors. *Open Biol.*, 10(10): 200252.
- Sheng S, Liao CW, Zheng Y, Zhou Y, Xu Y, Song WM, He P, Zhang J, Wu FA, 2017. Candidate chemosensory genes identified in the endoparasitoid *Meteorus pulchricornis* (Hymenoptera: Braconidae) by antennal transcriptome analysis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, doi: 10.1016/j.cbd.2017.01.002.
- Stengl M, 2010. Pheromone transduction in moths. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, doi: 10.3389/fncel.2010.00133.
- Stengl M, Funk NW, 2013. The role of the coreceptor Orco in insect

- olfactory transduction. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.*, 199(11): 897–909.
- Sun DD, Huang Y, Qin ZJ, Zhan HX, Zhang JP, Liu Y, Yang SY, 2020a. Identification of candidate olfactory genes in the antennal transcriptome of the stink bug *Halyomorpha halys*. *Front. Physiol.*, doi: 10.3389/fphys.2020.00876.
- Sun H, Liu F, Ye Z, Baker A, Zwiebel LJ, 2020b. Mutagenesis of the orco odorant receptor co-receptor impairs olfactory function in the malaria vector *Anopheles coluzzii*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, doi: 10.1016/j.ibmb.2020.103497.
- Sun L, Zhang YN, Qian JL, Kang K, Zhang XQ, Deng JD, Tang YP, Chen C, Hansen L, Xu T, Zhang QH, Zhang LW, 2018. Identification and expression patterns of *Anoplophora chinensis* (Forster) chemosensory receptor genes from the antennal transcriptome. *Front. Physiol.*, doi: 10.3389/fphys.2018.00090.
- Sun YL, Dong JF, Gu N, Wang SL, 2020c. Identification of candidate chemosensory receptors in the antennae of the variegated cutworm, *Peridroma saucia* Hübner, based on a transcriptome analysis. *Front. Physiol.*, doi: 10.3389/fphys.2020.00039.
- Vosshall LB, Amrein H, Morozov PS, Rzhetsky A, Axel R, 1999. A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila* Antenna. *Cell*, 96(5): 725–736.
- Wang B, Cao S, Liu W, Wang GR, 2020. Effect of OBPs on the response of olfactory receptors. *Methods in Enzymology*, 642: 278–300.
- Wang B, Liu Y, Wang GR, 2017. Chemosensory genes in the antennal transcriptome of two syrphid species, *Episyrphus balteatus* and *Eupeodes corollae* (Diptera: Syrphidae). *BMC Genomics*, 18(1): 586.
- Wang J, Li DZ, Min SF, Mi F, Zhou SS, Wang MQ, 2014. Analysis of chemosensory gene families in the beetle *Monochamus alternatus* and its parasitoid *Dastarcus helophoroides*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, doi: 10.1016/j.cbd.2014.05.001.
- Wang L, Chen Q, Zhao HB, Kang K, Zhang XQ, Deng JD, Tang YP, Chen C, Hansen L, Xu T, Zhang QH, Zhang LW, 2016. Identification and comparison of candidate olfactory genes in the olfactory and non-olfactory organs of elm pest *Ambrostoma quadriimpressum* (Coleoptera: Chrysomelidae) based on transcriptome analysis. *PLoS ONE*, 11(1): e0147144.
- Wetzel CH, Behrendt HJ, Gisselmann G, Störtkuhl KF, Hovemann B, Hatt H, 2001. Functional expression and characterization of a *Drosophila* odorant receptor in a heterologous cell system. *PNAS*, 98(16): 9377–9380.
- Wicher D, 2018. Tuning insect odorant receptors. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, doi: 10.3389/fncel.2018.00094.
- Wicher D, Schäfer R, Bauernfeind R, Stensmyr MC, Heller R, Heinemann SH, Hansson BS, 2008. *Drosophila* odorant receptors are both ligand-gated and cyclic-nucleotide-activated cation channels. *Nature*, 452(7190): 1007–1011.
- Xing Y, Thanasirungkul W, Adeel MM, Yu J, Aslam A, Chi DF, 2021. Identification and analysis of olfactory genes in *Dioryctria abietella* based on the antennal transcriptome. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, doi: 10.1016/j.cbd.2021.100814.
- Xu W, Papanicolaou A, Zhang HJ, Anderson A, 2016. Expansion of a bitter taste receptor family in a polyphagous insect herbivore. *Sci. Rep.*, 6(1): 23666.
- Yan H, Jafari S, Pask G, Zhou XF, Reinberg D, Desplan C, 2020. Evolution, developmental expression and function of odorant receptors in insects. *Journal of Experimental Biology*, 22(Suppl. 1)3: jeb208215.
- Yang H, Dong J, Sun YL, Hu ZJ, Lyu QH, Li DX, 2020. Identification and expression profiles of candidate chemosensory receptors in *Histia rhodope* (Lepidoptera: Zygaenidae). *PeerJ*, doi: 10.7717/peerj.10035.
- Yang Y, Li W, Tao J, Zong SX, 2019. Antennal transcriptome analyses and olfactory protein identification in an important wood-boring moth pest, *Steltzoviella insularis* (Lepidoptera: Cossidae). *Sci. Rep.*, 9(1): 17951.
- Yuvaraj JK, Roberts RE, Sonntag Y, Hou XQ, Grosse-Wilde E, Machara A, Zhang DD, Hansson BS, Johanson U, Löfstedt C, Andersson MN, 2021. Putative ligand binding sites of two functionally characterized bark beetle odorant receptors. *BMC Biol.*, 19: 16.
- Zhang LW, Kang K, Jiang SC, Zhang YN, Wang TT, Zhang J, Sun L, Yang YQ, Huang CC, Jiang LY, Ding DG, 2020. Correction: Analysis of the antennal transcriptome and insights into olfactory genes in *Hyphantria cunea* (Drury). *PLoS ONE*, 15(6): e0235200.
- Zhang YV, Ni J, Montell C, 2013. The molecular basis for attractive salt-taste coding in *Drosophila*. *Science*, 340(6138): 1334–1338.
- Zhao HX, Xiao WY, Ji CH, Ren Q, Xia XS, Zhang XF, Huang WZ, 2019. Candidate chemosensory genes identified from the greater wax moth, *Galleria mellonella*, through a transcriptomic analysis. *Sci. Rep.*, 9(1): 10032.
- Zhou XF, Rokas A, Berger SL, Liebig J, Ray A, Zwiebel LJ, 2015. Chemoreceptor evolution in hymenoptera and its implications for the evolution of eusociality. *Genome Biology and Evolution*, 7(8): 2407–2416.