

## 昆虫化学感受蛋白及其功能研究进展

徐浩智<sup>1</sup> 游银伟<sup>1,2</sup> 张龙<sup>1\*</sup>

1 中国农业大学 昆虫学系, 北京 100193; 2 山东省农业科学院 生物技术研究中心, 济南 250100

\* 通讯作者, locust@cau.edu.cn

**摘要** 化学感受蛋白(chemosensory protein, CSP)是一类广泛表达于昆虫体内的水溶性小分子量蛋白, 1994年首次从黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)中克隆报道, 随后在几乎所有昆虫类群中都被广泛鉴定, CSP编码基因在物种基因组中多以基因簇形式存在, 表明其源于相同祖先。本文对CSP理化特性、表达特点、结构特征和进化模式等研究进行概述, 重点介绍了CSP功能研究的主要成果。根据本实验室该方向的研究, 结合他人已有研究成果, 推导出了昆虫CSP的新功能, 即CSP具有保护和运输在代谢过程有重要作用的小分子化合物的功能。

**关键词** 昆虫, 化学感受蛋白(CSP), 结构特征, 表达特点, 生理功能

## A Review on Chemosensory Protein and Its Functions in Insects

XU Hao-Zhi<sup>1</sup> YOU Yin-Wei<sup>1,2</sup> ZHANG Long<sup>1\*</sup>

1 Department of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2 Bio-tech Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China

\* Corresponding Author, locust@cau.edu.cn

**Abstract** Chemosensory proteins(CSPs) widely express in insect organs. Since its first being identified in *Drosophila melanogaster*, it has been identified from almost all insects. CSPs had been suggested to evolve from the same ancestor because gene clusters of CSP had been found in many species of animals. This review summarized the physical and chemical characters, expression features, molecule structures and evolution modes of CSPs, focused on their functions. Finally, a new functional view of CSPs has been proposed on the basis of previous study, including our lab's study, which is as protector and transfer of small molecules that are involved in metabolism.

**Keywords** Insect, Chemosensory protein(CSP), Structure feature, Expression pattern, Physiological function

近年来关于昆虫中参与感受外界化学信息的关键蛋白的研究进展十分迅速。其中有一类小分子量可溶性蛋白, 具有较低的等电点和分子量, 含有4个保守的半胱氨酸, 可顺次连接形成两个二硫键, 该类蛋白的高级结构由6个 $\alpha$ 螺旋组成一个疏水腔, 由于该类蛋白最初在昆虫化学感受器官中发现, 因此被认为与感受化学信息有关, 被命名为化学感受蛋白(chemosensory protein, CSP)。该类蛋白1994年首次从双翅目的黑腹果蝇(*Drosophila me-*

*lanogaster*)克隆报道(McKenna et al., 1994), 随后相继在鳞翅目、竹节虫目、蜚蠊目、膜翅目、同翅目、直翅目等几乎所有昆虫类群中被广泛鉴定。生物信息学检索发现其表达种属范围可以外延至多足纲、甲壳纲及螯肢动物亚门(Vieira, Rozas, 2011; Zhou, 2006)。随后大量研究表明, CSP种类具有多样性, 表达部位也不仅仅局限于感受器官, 一些功能性实验也不完全支持该类蛋白的化学感受功能, 所以该类蛋白生理功能可能具有多样性, 需深入探讨。

## 1 CSP的结构特点

CSP是一类分子量约为12~14 kD的酸性可溶蛋白,含有100~120个氨基酸,具有4个位置保守的半胱氨酸,在其二级结构上相邻的半胱氨酸顺次连接形成两个二硫键,从而形成2个小的突出环状结构。该类蛋白在进化上十分保守,即便在种属差异很远的物种之间也有很高的序列相似性和明显的高度保守区域,包括N-端的YTTKYDN(V/I)(N/D)(L/V)DEIL、中心区的DGKELKXX(I/L)PDAL和C-端的KYDP(图1)。该类蛋白氨基酸序列多样性主要表现在C端,有些CSP的C端有100~200个氨基酸的延伸,使得蛋白总长度达到200~300个氨基酸。管氏肿腿蜂(*Scleroderma guani*)CSP1和丽蝇蛹集金小蜂(*Nasonia vitripennis*)CSP(XP\_001601633)C端具有额外的2个保守的半胱氨酸,目前还不明确其是否参与这类化学感受蛋白结构的正确折叠;此外,C端翻译提前终止而序列较短(80~100个氨基酸)的CSP也被广泛报道于膜翅目、鞘翅目、双翅目、鳞翅目昆虫及甲壳纲和螯肢动物中(Li et al., 2011; Pelosi, 2005; Vieira, Rozas, 2011; Wanner et al., 2004)。

到目前为止,昆虫CSP家族中有3个蛋白的三维结构得到解析,分别是甘蓝夜蛾(*Mamestra brassi-*

*cae*)MbraCSPA6、沙漠蝗(*Schistocerca gregaria*)CSPsg4和家蚕(*Bombyx mori*)BmorCSP1。甘蓝夜蛾MbraCSPA6呈球形结构,大小为25×30×32 Å,由6个α螺旋组成,折叠形成非常紧密而稳定的结构,其中螺旋A和B,螺旋D和E分别成两个平行60度角V型结构,螺旋C盖在V型结构形成的疏水性结合腔上,碳端螺旋F靠在螺旋D~E外侧,不参与构成结合腔。半数以上的氨基酸残基都参与了形成6个α螺旋的区域,其结合腔为长约14 Å的通道,通道端部由26位酪氨酸的芳香环封闭,由于这个芳香环容易被旋转,所以可灵活的将结合位点的通道延长至20 Å,其重组蛋白能有效结合12~18个碳原子的长链脂肪烃类化合物及其卤代物。通过对MbraCSP A6/12-bromododecanol (BrC<sub>12</sub>OH)复合物的晶体结构研究,发现该CSP在与溴化十二烷醇结合时构象发生明显改变,为了容纳这些较大的配基分子,结合位点发生型变以增大结合腔体积,各个螺旋的位置都发生了适度的变化,其中变化最大的为螺旋C,被向外推出5 Å,变化的构型可使结合腔结合3个BrC<sub>12</sub>OH分子(图2)(Campanacci et al., 2003; Lartigue et al., 2002)。

沙漠蝗CSPsg4与MbraCSPA6氨基酸序列的相似性为52%,二者高级结构也十分相似,结构叠加后均方根偏差(RMSD)仅为2.21 Å,相比于

DmelOS-D(黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i> , AAA21358.1)	MVEQAYDDKFDNVDLDEILNQRLLINYIKCLEG--TGPCTPDAKNLKEI
BmorCSP1(甘蓝夜蛾 <i>Bombyx mori</i> , AAV34688.1)	-----YTDKYDKINLQEI LENKRLLESYMDCVLG--K GKCTPEGKELKDH
MbraCSPA6(黑腹果蝇 <i>Mamestra brassicae</i> , AAF19649.1)	--EDKYTDKYDNINLDEILANKRLLVAYVNCVHE--RGKCSPEGKELKEH
PameP10(美洲大蠊 <i>Periplaneta americana</i> , AAB84283.1)	RRDDKYTTYKYNIDLDEILASDRLLANYHKCLIE--EGKCTPDGEELKSH
AmelCSP3(意大利蜜蜂 <i>Apis mellifera</i> , ABH88171.1)	RPDESYSKFDNINVDEILHSDRLLNMYFKCLM--DEGRCTAEGNELKRV
TcasCSP2(赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i> , ABH88176.1)	ATYDVYPTKYDNVDIDAILHNKRLFDNYLQCLLK--K GKCNEEAAILRDV
CSPsg4(沙漠蝗 <i>Schistocerca gregaria</i> , AAC25402.1)	--EEKYTTYKYNVNLDEILANDRLLNKYVQCLLEDDENSNCTADGKELKSV
LmigCSP II-10(东亚飞蝗 <i>Locusta migratoria</i> , AA016793.1)	--AAAYTTYKYNIDLDDVLHNDRLLLKKYHECLLSDSASCTPDGKELKAA
	* * * . . . * ** * * . * . *
DmelOS-D(黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i> , AAA21358.1)	LPDAIQTDCTRPTDWERLEKIYDPEGTYRIKYQEMKSKANEPE---
BmorCSP1(甘蓝夜蛾 <i>Bombyx mori</i> , AAV34688.1)	LQEALETGCEELEIWKELTAHFDPDGKWRKKYEDRAKAKGIVIPE-
MbraCSPA6(黑腹果蝇 <i>Mamestra brassicae</i> , AAF19649.1)	LQDAIENGCKEIEIWRELTAKYDPTGNWRKKYEDRAKAAGIVIPEE
PameP10(美洲大蠊 <i>Periplaneta americana</i> , AAB84283.1)	VSDALQNDCAKMPWESLQKKYDPENTYVYTKYADRLKELHD-----
AmelCSP3(意大利蜜蜂 <i>Apis mellifera</i> , ABH88171.1)	LPDALATDCKKPELWDSLANKYDPDKKYRVKFEEAKKLGINV---
TcasCSP2(赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i> , ABH88176.1)	IPDALITGCRNSDWQQLISVYDPKGEYQTYAHYLEKI-----
CSPsg4(沙漠蝗 <i>Schistocerca gregaria</i> , AAC25402.1)	IPDALSNCAKPDVWAQLKAKYDPTGYSKKYEDREKELHQ-----
LmigCSP II-10(东亚飞蝗 <i>Locusta migratoria</i> , AA016793.1)	IPDALTNECAKPDLEPELKKYDPTGSRQKYDQELKRVSA-----
	. . * . . * * * . ** . .

图1 部分昆虫CSP序列比对

Figure 1 Amino acids alignment of representative chemosensory proteins in insects

MbraCSPA6, CSPsg4的 $\alpha$ 螺旋排布更加松散,螺旋C的结构有很多不规则的位点,螺旋B和E比MbraCSPA6分别多1和3个氨基酸,而螺旋F只有7个氨基酸。沙漠蝗CSPsg4疏水性氨基酸被包埋在蛋白内部,而亲水性氨基酸大量分布于蛋白表面,蛋白内部和表面的疏水性结合腔比MbraCSPA6数量更多,体积更大,表现出了对结构庞大的芳香族化合物较强的结合特性。油酸酰胺的结合对沙漠蝗CSPsg4的NMR谱有很明显的改变,表明配基结合可以诱导其构型变化(Tomaselli et al., 2006)。

家蚕BmorCSP1与甘蓝夜蛾MbraCSPA6之间有70%的序列相似性,其6个 $\alpha$ 螺旋结构比较紧凑,界限也很分明,使得整个蛋白略呈棱柱形。螺旋的疏水侧主要由亮氨酸和异亮氨酸组成,形成一个疏水性结合腔(Jansen et al., 2007)。

总之,CSP三维结构基本上呈球形,亲水性氨基酸分布在表面,赋予了CSP很强的水溶性,疏水性氨基酸位于蛋白内表面,形成疏水性结合腔,具有结合蛋白的典型特征。竞争结合实验研究表明,该类蛋白对小分子化合物确实具有很强的亲和力。构成CSP的各个 $\alpha$ 螺旋流动性很强,使CSP具备了可塑性的结构特点。尽管CSP分子中参与对配基分子识别和结合的关键位点还不甚清楚,而且其配基结合诱导的构型变化的生理学意义尚不明确,但其广泛的表达特点及高度保守的序列特征表明这类蛋白在节肢动物中应该扮演着十分重要的角色。

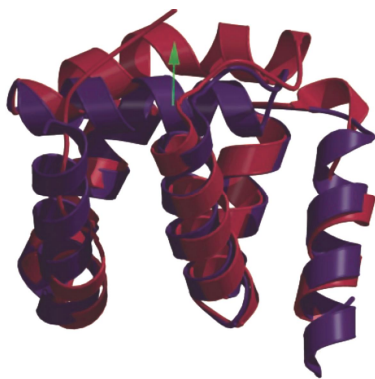


图2 甘蓝夜蛾化学感受蛋白MbraCSPA6与配基(BrC<sub>12</sub>:OH)结合前(蓝色)后(红色)构型的变化(Campanacci et al., 2003)

Figure 2 Conformational change of chemosensory protein in *M. brassicae* (MbraCSPA6) with the binding of BrC<sub>12</sub>:OH (before binding, blue; after binding, red) (Campanacci et al., 2003)

## 2 CSP的基因结构及进化特点

探讨CSP序列进化特点时,本文先介绍与该类蛋白十分相似、广泛存在于昆虫周缘神经系统中的另外一类小分子量酸性蛋白,即气味分子结合蛋白(odorant binding protein, OBP)。该类蛋白分子量一般在15~30 kD,含有150~300个氨基酸残基,具有6个保守的半胱氨酸,在其二级结构中形成交叉的二硫键。其三维结构基本特点是具有6个保守的 $\alpha$ 螺旋,形成一个疏水性结合腔。OBP与CSP在氨基酸序列和三维结构上差异显著,进化分析表明二者也可能源于相同祖先,然而,二者进化先后不同。通过邻接法建立OBP和CSP的进化树,结果显示,OBP聚类模式与物种分类单元一致,序列之间差异性明显,表明大多数OBP是新基因,是新翅类昆虫分支后新近产生的(Vieira, Rozas, 2011)。相比之下,某些CSP序列在物种之间高度保守,表明其进化历程更加古老,通过生物信息学分析发现,甲壳纲和螯肢亚门物种中也有CSP编码基因存在,这将CSP的年龄提前到了节肢动物的祖先时代(Sánchez-Gracia et al., 2009)。在脊椎动物中并未发现有编码CSP的基因,因此有学者认为CSP是生物识别环境刺激的古老机制,在高等生物中,这种功能被专业化性更高的OBP所取代。在昆虫中OBP和CSP共存,表明CSP可能仍执行非常重要的其他的生理功能(Danty et al., 1999)。事实上,基于正向选择的结果,参与昆虫化学感受的气味分子受体(odorant receptor, OR)和气味分子结合蛋白的结合位点的氨基酸进化速率显著高于其他氨基酸,然而CSP并不存在这种特点,而体现为中性进化,从进化角度说明CSP的生理功能与化学感受可能并没有直接关系。

CSP编码基因在物种基因组中多以基因簇形式存在,表明其源于相同祖先。通过基因复制形成单独拷贝,然后各自积累突变而成。黑腹果蝇(*D. melanogaster*)DmelCSP2(peb3)和DmelCSP1(cg30172)的基因座位仅相距3 kb碱基对;冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*)7个CSP编码基因全部集中于3R染色体上一段105 kb片段上;赤拟谷盗(*Tribolium castaneum*)仅2个CSP编码基因单独存在,其余都成簇存在于基因组上(Vieira, Rozas, 2011)。

随着基因测序技术的发展,多种昆虫的全基因组序列已公布。对已知基因组序列的昆虫化学感

受相关基因比较可知,CSP编码基因的数目在物种间具有较大的差异,果蝇属昆虫一般有4个CSP编码基因,而冈比亚按蚊和意大利蜜蜂(*Apis mellifera*)分别有8个和6个CSP基因,相比之下,家蚕和赤拟谷盗中分别有22个和19个CSP编码基因,且有假基因的存在;在渐变态昆虫中,人体虱(*Pediculus humanus*)有7个CSP编码基因,而豌豆蚜(*Acyrtosiphon pisum*)有12个CSP编码基因(Vieira, Rozas, 2011)。同时还发现,CSP编码基因数目在各昆虫物种中都少于化学感受受体(OR或GR)和OBP编码基因数(Sánchez-Gracia et al., 2009; Vieira, Rozas, 2011)。

CSP基因进化速率在物种间,甚至在同一物种各异形体之间都表现出明显差异,这也是导致CSP功能多样化的关键因素。红火蚁(*Solenopsis invicta*)CSP9、意大利蜜蜂CSP-5在进化上更加古老,和其他CSP相似性更低,而且在各个昆虫支系中都有其同源基因,表明其可能起源于一个扮演着某种古老而保守功能的祖先基因,在随后的物种分化中,这类CSP基因及其功能得到了保留和延续。系统进化研究发现,有些CSP种内差异性通常大于种间,表明这些基因的分化早于物种形成。如东亚飞蝗和沙漠蝗CSP I的相似性介于87%~91%之间,然而东亚飞蝗CSP I与CSP II的相似性仅55%左右(Ban et al., 2003; González et al., 2009; Maleszka et al., 2007)。

研究表明,高度保守的基因序列,在进化上保持中立,并非来自于正向选择压力。昆虫CSP和OBP基因家族最初都是由一个不具有化学感受功能的基因通过基因重复演化而来,并通过基因重复使家族成员不断增多,物种形成事件则使这些等位基因朝着有利于个体嗅觉行为的方向选择。信息素结合蛋白的多样性可能是种、属或科内的生殖选择压造成的。总之,CSP与OBP进化模式相似,因此推测基因重复和分化在其进化历程中发挥了十分重要的作用(Sánchez-Gracia et al., 2009; Vogt, 2003; Wanner et al., 2004)。

### 3 CSP的功能研究

关于CSP的理化特点、时空表达、结合特性及结构的研究,目前已有大量的报道,由此也提出了一些功能假说,但到目前为止,被广泛认同的假说

仍没有建立。通过对已报道CSP功能研究结果分析,作者将其功能归纳为以下三大类。

#### 3.1 参与信息化化合物的感受和释放

化学信号是昆虫与环境 and 自身进行信息交流的重要媒介,昆虫如何感知这些微量的化学信号分子,并将其转化为生物电信号,最终被机体所接受,是一个引起科学家极大兴趣的研究课题。

CSP对化合物的结合特性及其在周缘神经系统中的大量表达,表明其有可能参与了化学信号的感知过程,竞争结合实验也表明其可与链状的信息素组分结合。昆虫CSP对化合物的结合特异性虽不如OBP强,但仍表现出了一定的选择性,即便是同一种昆虫的不同CSP,也体现出不同的结合谱。如意大利蜜蜂CSP1对直链醇、酯类化合物有较强的亲和性,CSP2对芳香族化合物的结合能力最强,而CSP4对萜类化合物的结合能力最强(Forêt et al., 2007)。

日本弓背蚁(*Campanotus japonicus*)中只报道了1个CSP,该蛋白对表皮碳水化合物有较强的结合特性,因此普遍认为该蛋白参与了工蜂对巢穴的识别。红火蚁Si-CSP与极性的表皮脂类分子有较强的结合能力,并且特异地表达于工蜂触角末端膨大的节上,而多孔的嗅觉感器几乎全分布在这里,表明该CSP参与了红火蚁对挥发性化学刺激的感受(González et al., 2009)。交配后的小菜蛾(*Plutella xylostella*)个体中的CSP表达量明显大于未交配个体,并且该CSP对产卵抑制剂闹羊花毒素有显著的结合特性,因此推测该CSP通过参与小菜蛾对产卵场所的识别,进而调控小菜蛾的产卵行为(Liu et al., 2010)。中红侧沟茧蜂(*Microplitis mediator*)CSP的表达量在雄成虫羽化后持续上调,至第四天达到最高峰,这可能与成虫寻找配偶和觅食行为密切相关(Zhang et al., 2009)。

此外,CSP在社会性昆虫种群之间表现出了差异性的表达特点,说明该类CSP可能在调节昆虫的社会分工和种群稳定过程中起到了一定作用。如W-API在工蜂触角中的表达量远远高于其他阶层,又比如欧美散白蚁(*Reticulitermes flavipes*)中contig794在兵蚁中的表达量是其他种群的10倍以上,而contig827主要表达于有翅蚁和兵蚁中,在有翅蚁中的表达水平是工蚁和幼虫的10倍左右,这表明社会性昆虫CSP在种群之间的信息交流过程

中起到了重要作用(Kamikouchi et al., 2004; Steller et al., 2010)。东亚飞蝗某些CSP在群居型和散居型个体之间体现了显著性差异的表达丰度,如LmigEST8在散居型蝗虫中表达量更高,而LmigEST12只表达在群居型个体中(Zhou, 2006)。当通过RNAi技术干扰其表达后,群居型个体对群居型种群的趋向反应显著下降,表明这类CSP对飞蝗感知自身种群动态是必不可少的(Guo et al., 2011)。此外,大量研究表明,东亚飞蝗CSP仅表达于末端开孔的刺形感器中,表明其参与感知的主要是非挥发性化合物。

昆虫CSP除了大量表达于触角、喙及跗节等化学感受器官中之外,在信息素腺体中也有很高的表达丰度,表明这类蛋白除了介导昆虫对化学信息物质的识别外,同时也可能参与了这些信息物质的分泌和释放。甘蓝夜蛾、家蚕、美洲烟叶蛾(*Heliothis virescens*)和黄地老虎(*Agrotis segetum*)信息素腺体以及黑腹果蝇射精球中分别检测到了CSP的大量表达,并且对信息素组分表现了较强的结合能力(Dani et al., 2011; Gong et al., 2007; Jacquin-Joly et al., 2001; Strandh et al., 2008)。其中家蚕BmorCSP6、BmorCSP11、BmorCSP15仅表达在雌虫信息素腺体中,而且其对信息素有特异的结合能力。意大利蜜蜂一个重组的CSP对孵育信息素也有很强的结合能力(Briand et al., 2002)。东亚飞蝗翅中CSP的纯化产物中伴有直链的油酸酰胺,竞争结合实验表明CSP II对这种物质具有较强的结合能力(Ban et al., 2003)。对家蚕雌蛾性信息素腺体的蛋白质组学研究表明,至少有7个CSP和1个OBP基因大量表达(Yoshizawa et al., 2011)。棉大卷叶螟甲腹茧蜂(*Chelonus inanitus*)的1个CSP表达于毒腺中,并且会随着毒液排出体外(Vincent et al., 2010)。这些均表明某些CSP可能参与了信息化化合物的分泌和释放。

尽管有大量研究表明CSP参与了昆虫对化学物质的感受和释放,然而其具体的作用机理仍不甚清楚。CSP只是承担了被动的运输功能还是对化合物进行了初步筛选,在信息化化合物刺激神经元的过程中,CSP又扮演了什么角色,都有待于进一步的研究证明。此外,CSP在化学感器淋巴液中以10 mmol/L的高浓度表达,意味着这些分子处于紧密排列状态,小分子化合物是如何通过这些大分子屏障到达神经元仍是一个未解的科学难题。

### 3.2 参与昆虫组织的修复和形成

昆虫机体受到外界损伤或微生物侵染后,某些CSP的表达量也会显著上调。DmelCSP2(Pherokine-2)广泛表达于黑腹果蝇发育的各个时期,其表达量一直保持在较低水平,但当病毒、细菌侵染果蝇时,其表达水平明显上调;细菌侵染还可以诱导另一个化学感受蛋白DmelCSP3(phk3)表达量显著上调(Sabatier et al., 2003)。用细菌脂多糖处理冈比亚按蚊成虫6h, *AgamIR7*的转录大量增加(Oduol et al., 2000)。对桔小实蝇(*Bactrocera dorsalis*)噬菌体展示文库的筛选结果表明,CSP与丝氨酸蛋白酶的CLIP结构域有很强的亲和性,而在无脊椎动物中,CLIP可以通过激活酚原氧化酶合成抵御微生物侵染(Hu et al., 2010)。

此外有些CSP与昆虫发育紧密相关,体现为大量表达在代谢活跃的组织器官中,在昆虫蜕皮或产卵等时期表达量显著上调。黑腹果蝇DmelCSP3(phk3)在胚胎发育晚期开始表达,至72 h蛹内达到顶峰,随后开始下降,用蜕皮激素处理S2细胞可完全抑制该基因表达,表明该蛋白跟果蝇变态蜕皮有紧密关系,同时该蛋白还被认为是与胚胎和组织发育有关的“背部转录因子”的靶标(Sabatier et al., 2003)。意大利蜜蜂羽化蜕皮时,CSP3和CSP6表达量显著上调,CSP5是一个特异表达于卵中的化学感受蛋白,通过RNA干扰技术特异性沉默其表达后,幼虫在孵化过程中表现为体壁发育不完全(Maleszka et al., 2007)。免疫定位研究表明,东亚飞蝗CSP II大量沉积在表皮与真皮细胞之间的空隙中,可能起到了意大利蜜蜂中同样的生理功能(Jin et al., 2005)。云杉色卷蛾(*Chroistoneura fumiferana*)中的1种CSP, CfumAY426540.2在成虫体内有大量表达,但并没有检测到另一种CSP, CfumAY426538的表达,而后者在晚期老龄幼虫体内表达量最高,并且在蜕皮过程中显著下调,相比之下,另外两个CSP, CfumAY701858和 CfumAY426539的表达量受蜕皮影响而显著上调(Wanner et al., 2005)。甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)SexiCSP3在雌虫卵巢中表达量远远高于雄虫精巢, RNAi干扰其表达后,成虫产卵能力显著下降70%左右,而且卵的孵化率也仅有6.2%(Gong et al., 2012)。美洲大蠊(*Periplaneta americana*)PameP10的表达量在足再生过程中明显上调,胚胎足

中其浓度是成虫足中的 30 倍 (Kitabayashi et al., 1998)。

昆虫在受到外界理化或生物损伤后,在蜕皮及产卵时,都伴随着活跃的代谢活动用以修复受损的组织或新器官及组织的形成。在这一复杂的代谢过程中,大量的中间产物进行着细胞与细胞之间、组织与组织之间的交流,又由于 CSP 对脂类化合物的结合特性,可以推测该类蛋白通过感知虫体内的刺激信息,运送代谢化合物到损伤组织,在机体修复过程中起至关重要作用。

### 3.3 CSP 的其他功能

CSP 还有一些其他新的功能。利用基因芯片对 *Diatraea saccharalis* 中 Bt 抗性种群和 Bt 敏感种群基因表达水平检测发现,某些 CSP 的表达在抗性种群中高于敏感种群,但另外一些 CSP 却在抗性种群中显著下调,表明某些 CSP 可能参与了昆虫抗药反应 (Guo et al., 2012)。米象 (*Sitophilus oryzae*) CSP10 在共生组织 bacteriome 中的表达与共生微生物相关,当有共生微生物存在时,其表达水平显著下调 (Vigneron et al., 2012)。

### 3.4 CSP 的功能新推论

昆虫生长发育过程就是一个生物大分子代谢转化的过程,从器官生成,到表皮沉积,再到营养物质消化吸收,所有这些过程都不伴随着生化分子的快速合成与降解。然而,昆虫细胞内外大量分布的降解酶在清除有毒次生代谢产物和抵御外来入侵的同时,对代谢过程的中间产物也会有非选择性的降解 (Leal, 2013; Vogt, 2003), 因此,这就需要有一个有效的保护机制;同时这些小分子中间产物往往都具有疏水性特征,而亲水性的淋巴液和细胞外液又不利于这些物质的转运,这也需要一些有效的助溶机制,使这些物质顺利抵达靶标部位。CSP 对有机化合物的结合能力和其在真皮细胞中及其与表皮之间空腔中的大量表达表明,CSP 可能在这些过程中发挥了重要作用。

伴随生物进化的历程,CSP 在不同物种中会行使不同的功能,甚至在同一物种内,各个 CSP 的功能也可能相差迥异。虽然 CSP 在各昆虫种类中,序列差异不一,但其三维结构仍保留了结合蛋白的典型特点,这表明其行使功能的途径并未发生根本性变化。我们相信,昆虫 CSP 的功能可能千差万别,

既可以参与化学信息物质的感受和释放过程,也可能在昆虫生长发育过程中起重要作用,但其作用方式也许是单一的,即通过分子间作用力结合小分子化合物,保护其不被内源性代谢酶降解并运输其穿过疏水性细胞外环境,到达靶标组织。这更符合原始功能。

综上所述,CSP 具有广谱的表达特点及非特异性结合能力,表明其可能通过结合内源性代谢中间产物或外源性化学信息物质,保护其不被相应水解酶降解,并将其运输到靶标部位。

## 4 展望

CSP 发现之初,鉴于其对信息化化合物的结合特性和在化学感受器官中的大量表达,学术界普遍认为其作为 OBP 的互补成分参与了昆虫对非挥发性化学刺激的识别。然而随后的研究表明其对化合物的结合专一性不强,并且具有十分广泛的表达特点,这引起了人们对其生理功能的重新思考,关于新功能的推论也需要开展进一步的实验验证。通过基因敲除昆虫体内相关 CSP 基因的表达后,再结合电生理学和行为学试验探讨其功能是重要的途径。

## 参考文献

- Ban L, Scaloni A, Brandazza A, et al. 2003. Chemosensory proteins of *Locusta migratoria* [J]. *Insect Molecular Biology*, 12(2): 125-134.
- Briand L, Swasdipan N, Nespoulous C, et al. 2002. Characterization of a chemosensory protein (ASP3c) from honeybee (*Apis mellifera* L.) as a brood pheromone carrier [J]. *European Journal of Biochemistry*, 269(18): 4586-4596.
- Campanacci V, Lartigue A, Hallberg B M, et al. 2003. Moth chemosensory protein exhibits drastic conformational changes and cooperativity on ligand binding [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 100(9): 5069-5074.
- Dani F R, Michelucci E, Francese S, et al. 2011. Odorant-binding proteins and chemosensory proteins in pheromone detection and release in the silkworm *Bombyx mori* [J]. *Chemical Senses*, 36(4): 335-344.
- Danty E, Briand L, Michard-Vanhee C, et al. 1999. Cloning and expression of a queen pheromone-binding protein in the honeybee: An olfactory-specific, developmentally regulated protein [J]. *The Journal of Neuroscience*, 19(17): 7468-7475.

- Forêt S, Wanner K W, Maleszka R. 2007. Chemosensory proteins in the honey bee: Insights from the annotated genome, comparative analyses and expressional profiling [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37(1): 19-28.
- Gong D P, Zhang H j, Zhao P, et al. 2007. Identification and expression pattern of the chemosensory protein gene family in the silkworm, *Bombyx mori*[J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37(3): 266-277.
- Gong L, Luo Q, Rizwan-ul-Haq M, et al. 2012. Cloning and characterization of three chemosensory proteins from *Spodoptera exigua* and effects of gene silencing on female survival and reproduction[J]. *Bulletin of Entomological Research*, 102(05): 600-609.
- González D, Zhao Q, McMahan C, et al. 2009. The major antennal chemosensory protein of red imported fire ant workers[J]. *Insect Molecular Biology*, 18(3): 395-404.
- Guo W, Wang X, Ma Z, et al. 2011. CSP and takeout genes modulate the switch between attraction and repulsion during behavioral phase change in the migratory locust [J]. *PLoS Genetics*, 7(2): e1001291.
- Guo Z, Cheng Zhu Y, Huang F, et al. 2012. Microarray analysis of global gene regulation in the Cry1Ab-resistant and Cry1Ab-susceptible strains of *Diatraea saccharalis* [J]. *Pest Management Science*, 68(5): 718-730.
- Hu L, Shen J, Hu M, et al. 2010. Screening of T7 phage displayed *Bactrocera dorsalis* (Hendel) antenna cDNA library against chemosensory protein[J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 75(3): 174-186.
- Jacquín-Joly E, Vogt R G, François M C et al., 2001. Functional and expression pattern analysis of chemosensory proteins expressed in antennae and pheromonal gland of *Mamestra brassicae*[J]. *Chemical Senses*, 26(7): 833-844.
- Jansen S, Chmelík J, Židek L, et al. 2007. Structure of *Bombyx mori* chemosensory protein 1 in solution[J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 66(3): 135-145.
- Jin X, Brandazza A, Navarrini A, et al. 2005. Expression and immunolocalisation of odorant-binding and chemosensory proteins in locusts[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(10): 1156-1166.
- Kamikouchi A, Morioka M, Kubo T. 2004. Identification of honeybee antennal proteins/genes expressed in a sex-and/or caste selective manner[J]. *Zoolog Science*, 21(1): 53-62.
- Kitabayashi A N, Arai T, Kubo T, et al. 1998. Molecular cloning of cDNA for p10, a novel protein that increases in the regenerating legs of *Periplaneta americana* (American cockroach) [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 28(10): 785-790.
- Lartigue A, Campanacci V, Roussel A, et al. 2002. X-ray structure and ligand binding study of a moth chemosensory protein[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(35): 32094-32098.
- Leal W S. 2013. Odorant reception in insects: Roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes[J]. *Annual Review of Entomology*, 58(1): 373-391.
- Li X, Lu D, Liu X, et al. 2011. Ultrastructural characterization of olfactory sensilla and immunolocalization of odorant binding and chemosensory proteins from an ectoparasitoid *Scleroderma guani* (Hymenoptera: Bethyilidae)[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 7(6): 848-868.
- Liu X, Luo Q, Zhong G, et al. 2010. Molecular characterization and expression pattern of four chemosensory proteins from diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. *Journal of Biochemistry*, 148(2): 189-200.
- Maleszka J, Forêt S, Saint R, et al. 2007. RNAi-induced phenotypes suggest a novel role for a chemosensory protein CSP5 in the development of embryonic integument in the honeybee (*Apis mellifera*) [J]. *Development Genes and Evolution*, 217(3): 189-196.
- McKenna M P, Hekmat-Scafe D S, Gaines P, et al. 1994. Putative *Drosophila* pheromone-binding proteins expressed in a subregion of the olfactory system[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 269(23): 16340-16347.
- Oduol F, Xu J, Niare O, et al. 2000. Genes identified by an expression screen of the vector mosquito *Anopheles gambiae* display differential molecular immune response to malaria parasites and bacteria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 97(21): 11397-11402.
- Pelosi P. 2005. Diversity of odorant-binding proteins and chemosensory proteins in insects[J]. *Chemical Senses*, 30 (Supplement 1): i291-i292.
- Sabatier L, Jouanguy E, Dostert C, et al. 2003. Pherokine-2 and -3. Two *Drosophila* molecules related to pheromone/odor-binding proteins induced by viral and bacterial infections[J]. *European Journal of Biochemistry*, 270(16): 3398-3407.
- Sánchez-Gracia A, Vieira F G, Rozas J. 2009. Molecular evolution of the major chemosensory gene families in insects[J]. *Heredity*, 103(3): 208-216.

- Steller M M, Kambhampati S, Caragea D. 2010. Comparative analysis of expressed sequence tags from three castes and two life stages of the termite *Reticulitermes flavipes* [J]. BMC Genomics, 11(1): 463.
- Strandh M, Johansson T, Ahrén D, et al. 2008. Transcriptional analysis of the pheromone gland of the turnip moth, *Agrotis segetum* (Noctuidae), reveals candidate genes involved in pheromone production[J]. Insect Molecular Biology, 17(1): 73-85.
- Tomaselli S, Crescenzi O, Sanfelice D, et al. 2006. Solution structure of a chemosensory protein from the desert locust *Schistocerca gregaria*[J]. Biochemistry, 45(35): 10606-10613.
- Vieira F G, Rozas J. 2011. Comparative genomics of the odorant-binding and chemosensory protein gene families across the arthropoda: Origin and evolutionary history of the chemosensory system[J]. Genome Biology and Evolution, 3(0): 476-490.
- Vigneron A, Charif D, Vincent-Monégat C, et al. 2012. Host gene response to endosymbiont and pathogen in the cereal weevil *Sitophilus oryzae*[J]. BMC Microbiology, 12 (Suppl 1): S14.
- Vincent B, Kaeslin M, Roth T, et al. 2010. The venom composition of the parasitic wasp *Chelonus inanitus* resolved by combined expressed sequence tags analysis and proteomic approach[J]. BMC Genomics, 11(1): 693.
- Vogt R G. 2003. Biochemical Diversity of Odor Detection: OBPs, ODEs and SNMPs[M]. Elsevier, Amsterdam, pp. 391-445.
- Wanner K W, Isman M B, Feng Q, et al. 2005. Developmental expression patterns of four chemosensory protein genes from the eastern spruce budworm, *Chroistoneura fumiferana*[J]. Insect Molecular Biology, 14(3): 289-300.
- Wanner K W, Willis L G, Theilmann D A, et al. 2004. Analysis of the insect os-d-like gene family[J]. Journal of Chemical Ecology, 30(5): 889-911.
- Yoshizawa Y, Sato R, Tsuchihara K, et al. 2011. Ligand carrier protein genes expressed in larval chemosensory organs of *Bombyx mori*[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 41(8): 545-562.
- Zhang S, Zhang Y J, Su H H, et al. 2009. Identification and expression pattern of putative odorant-binding proteins and chemosensory proteins in antennae of the microplitis mediator (Hymenoptera: Braconidae) [J]. Chemical Senses, 34(6): 503-512.
- Zhou J J. 2006. Genome and EST analyses and expression of a gene family with putative functions in insect chemoreception[J]. Chemical Senses, 31(5): 453-465.

(责任编辑 任立刚)