

鱼类嗅觉系统和性信息素受体的研究进展

赖晓健^① 洪万树^{②*} 张其永^②

① 集美大学水产学院 厦门 361021; ② 厦门大学海洋与地球学院 厦门 361005

摘要: 鱼类嗅觉系统包括外部嗅觉器官、嗅神经和嗅球三个部分。嗅觉器官也称为嗅囊,由嗅上皮和髓质组成。气味物质的化学信息主要由嗅上皮上随机分布的嗅觉感受神经元感知,通过嗅神经将嗅觉信息传递到嗅球,嗅球在空间上有不同的功能分区,嗅觉信息经过嗅球各分区整合后分别传入端脑,发挥其生理功能。性信息素在鱼类生殖过程中的作用是通过嗅觉系统来完成的,其中嗅觉感受神经元上的性信息素受体起着重要作用。鱼类性信息素受体的研究主要从两个方面入手,一是从低浓度特异的性信息素引起嗅觉器官电生理反应或行为反应入手,寻找特异的性信息素受体;二是参照哺乳动物嗅觉受体的研究结果,从嗅觉受体基因遗传保守性入手,研究鱼类性信息素受体的结构与功能。

关键词: 嗅觉系统;性信息素受体;嗅觉感受神经元;G蛋白耦联受体

中图分类号:Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2013)02-298-08

Research Progresses in Fish Olfactory System and Sex Pheromonal Receptors

LAI Xiao-Jian^① HONG Wan-Shu^{②*} ZHANG Qi-Yong^②

① *Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021;*

② *College of Ocean and Earth Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China*

Abstract: Fish olfactory system is composed of olfactory sac, olfactory nerve and olfactory bulb. Olfactory sac, also called olfactory organ, is composed of olfactory epithelium and central core. Chemical signals are first detected by the olfactory receptor neurons that randomly distribute in the entire olfactory epithelium, and then transferred to the olfactory bulb through the olfactory nerve. There exist different functional regions in the olfactory bulb, where the chemical signals are integrated and transferred to the telencephalon to play physiological functions. The sex pheromones play their functions through the olfactory system in fish reproduction, and the sex pheromonal receptors of the olfactory neurons play an important role. Usually, two approaches are used to investigate the sex pheromonal receptors in fishes: the first is based on species-specific electrophysiological or behavioral responses to sex pheromones at very low concentrations, and the second is based on the conservative structures of receptors genes taking reference of the mammalian counterparts.

Key words: Olfactory system; Sex pheromonal receptor; Olfactory receptor neuron; G protein-coupled receptor

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 41276129),福建省农业科技重大项目(No. 2012N5011),集美大学科研启动金(No. C612002);

* 通讯作者, E-mail: wshong@xmu.edu.cn;

第一作者介绍 赖晓健,男,博士;研究方向:鱼类病害和生理学;E-mail: laixj@jmu.edu.cn。

收稿日期:2012-08-22,修回日期:2012-11-23

1 鱼类嗅觉系统研究进展

1.1 鱼类嗅觉器官研究进展 嗅觉器官作为鱼类的重要化学感受器,可以感受的刺激十分广泛,如食物的气味、地理位置和同类的识别等(Sorenson et al. 1998)。1786年, Moron 首次报道了鱼类的嗅觉系统(Kleerekoper 1982)。19世纪,学者主要开展了鱼类外部嗅觉器官的形态结构、组织学、发育过程以及嗅觉系统神经通路等方面的研究。软骨鱼类的一对嗅窝通常位于吻部的腹侧,而硬骨鱼类则通常位于头部背侧。每个嗅窝有两个开口,前面的入口和后面的出口。后来的研究主要集中在嗅上皮。Trujillo-Cenoz(1961)首先应用电镜观察斑鲮(*Cyprinodon macularius*)嗅上皮细胞的超微结构,随后在金鱼(*Carassius auratus*)等很多鱼类中也进行了类似的研究。研究结果提示,嗅上皮的结构与鱼类的生活环境和摄食行为有关。国内对鱼类嗅觉系统的研究较少,开始主要集中在一些鱼类的外部嗅觉器官的形态观察描述和组织学研究。随后应用电镜研究了嗅上皮的超微结构。鱼类嗅上皮主要由嗅觉感受神经元(olfactory receptor neuron, ORN)、支持细胞和基细胞3种细胞组成。从形态和发生上看,硬骨鱼类的 ORN 有2种:纤毛 ORN(ciliated ORN, cORN)和微绒毛 ORN(microvillus ORN, mORN),软骨鱼类只有 mORN。一些原始鱼类只有其中一种 ORN,如七鳃鳗(*Lampetra fluviatilis*)和非洲肺鱼(*Protopterus annectens*)只有 cORN,澳洲肺鱼(*Neoceratodus forsteri*)只有 mORN。有学者发现了第三种 ORN,即隐窝细胞(crypt cell),这种细胞呈球形或梨形位于嗅上皮的表层,含有一些纤毛和微绒毛。由于这3种 ORN 树突的长短不一,它们在嗅上皮上的位置不同。Hamdani 等(2001)应用荧光染料 DiI 对 ORN 进行标记,发现隐窝细胞在嗅上皮的最表层, mORN 在中间层,而 cORN 在较深层。有研究表明, ORN 的形态不同,它们表达的 G 蛋白和气味受体可能不同。cORN 表达嗅

受体型的气味受体和 G 蛋白 α 亚基(G protein alpha subunit, $G\alpha_{olf/s}$),信号传导路径为环腺苷酸门控通道(Speca et al. 1999); mORN 表达 V2R 型的气味受体和 G 蛋白 α 亚基(G protein Galpha subunit, 包括 $G\alpha_o$ 、 $G\alpha_q$ 或 $G\alpha_{1-3}$),信号传导途径为瞬时受体电位通道 C2(transient receptor potential cation channel C2, TRPC2)(Sato et al. 2005);隐窝细胞表达 $G\alpha_o$ 和 $G\alpha_q$ 信号通道蛋白(Hansen et al. 2004)。但是在一些鱼类中,不同嗅觉受体的功能差异、配体结合以及分子生物学机制还不清楚(Hino et al. 2009)。

20世纪下半叶,鱼类嗅觉电生理的研究逐渐开展。分别在淡水鱼和海水鱼嗅上皮上记录到嗅电(electro-olfactogram, EOG)反应。国外学者研究了许多鱼类嗅觉对氨基酸的电反应特征,还测定了一些鱼类对氨基酸的相对刺激有效性(relative stimulus effectiveness, RSE)。确定嗅觉反应与氨基酸剂量的关系,发现 EOG 幅值随刺激浓度对数值的增加呈指数上升。随后 EOG 逐渐成为研究鱼类性信息素的重要方法。Sorensen 等(1998)对金鱼的性信息素进行了长期深入的研究,已发现金鱼对多种类固醇和前列腺素有 EOG 反应,主要是 $17\alpha, 20\beta$ -双羟孕酮(17α -hydroxy- 20β -dihydroprogesterone, $17\alpha, 20\beta$ -P)和前列腺素 $F_{2\alpha}$ (prostaglandin $F_{2\alpha}$, $PGF_{2\alpha}$)。国外学者对100多种鱼类(包括鲤形目、鲇形目、鲑形目、鲉形目和鲈形目)嗅上皮的电生理研究已发现,嗅上皮能够对10多种前列腺素(prostaglandins, PGs)、150多种性类固醇(sex steroids,如 C_{21} 、 C_{19} 和 C_{18})、葡糖苷酸和硫酸盐化合物等性信息素产生 EOG 反应(王德寿等 2000)。

进入20世纪80~90年代,随着膜片钳技术的发展,对微观的单个 ORN 电生理特点的研究开始兴起。鱼类有专门的嗅感受神经元能感觉多种类型的水溶性分子,如氨基酸、胆汁酸盐、核苷、多胺和信息素等。使用不同天然化学气味刺激可以在斑马鱼(*Danio rerio*)2种不同的嗅觉神经元中通过电压钳记录下一系列电压门控电流,比如,斑马鱼纤毛感受神经元中氨基

酸诱导的内向电流中存在 Ca^{2+} 激活的 Cl^- 电导 (Corotto et al. 1996); 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 纤毛感受神经元具有电压依赖性内向 Na^+ 、 Ca^{2+} 电流和 3 种外向 K^+ 电流 (Sato et al. 2001)。

1.2 鱼类嗅球研究进展 嗅上皮上 ORN 的轴突组成嗅神经 (颅神经 I)。有些鱼类的 ORN 的轴突直接连着嗅球,如金鱼,这种嗅球被称为有柄嗅球;有的鱼类嗅上皮和嗅球中间连着较长的嗅神经,如鲑科 (Salmonidae) 鱼类,这种嗅球被称为无柄嗅球。ORN 的轴突进入嗅球的最表层,未到达嗅球后部;嗅球表层大部分由嗅神经组成,此层称为嗅神经层。嗅神经层下面是嗅小球层,鱼类的嗅小球层没有细胞体,在嗅小球层 ORN 的轴突与次级 ORN (僧帽细胞) 的树突形成突触。ORN 轴突的终端与僧帽细胞树突的顶端形成的结构称为嗅小球。嗅小球被认为是嗅觉信号整合的地方 (Laberge et al. 2001)。嗅小球层下面是僧帽细胞层,主要由僧帽细胞的细胞体组成,僧帽细胞发出轴突到达端脑。Zippel et al. (1999) 研究发现僧帽细胞层还有另一种具有环状纤毛的细胞 (ruffed cell), 这种细胞不与 ORN 形成突触。在僧帽细胞层下面是内层细胞层或称为颗粒细胞层,其中密布着小的颗粒细胞。颗粒细胞只有树突没有轴突,其树突与僧帽细胞形成突触 (Laberge et al. 2001)。

20 世纪末和 21 世纪初,国外对鱼类嗅觉系统的研究更加深入。很多学者研究了 ORN 在嗅球的不同投射区域和嗅球的功能分区,以探讨鱼类嗅球对嗅觉信息的传递和处理机制。目前,已有学者从进化的角度比较软骨鱼、肺鱼和辐鳍鱼的 ORN 投射的不同 (Yáñez et al. 2011, Northcutt et al. 2012)。Thommesen (1978) 最早提出鱼类嗅球可能存在功能分区。他记录了嗅球表面电生理特点,结果表明嗅球侧部对氨基酸起电生理反应,而嗅球中部对胆汁酸起电生理反应。Satou (1990) 从解剖学、行为学和电生理学综述了嗅球中部和侧部的功能分区。随着研究的深入,已发现嗅球可以区分

和记忆不同氨基酸的气味,这利于鱼类寻找食物 (Miklavc et al. 2012)。Fujita 等 (1991) 研究发现金鱼嗅球对性信息素敏感的区域在中部的一小块区域。Friedrich 等 (1998) 研究发现斑马鱼嗅球中对 2 种性信息素 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 和 17α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone-sulfate (17α , 20 β -P-S) 敏感的嗅小球是位于嗅球腹部的单个嗅小球,Lastein 等 (2006) 在鲫鱼 (*Carassius auratus*) 中也发现对性信息素敏感的嗅小球位于嗅球腹部。而值得注意的是,大西洋鲑 (*Salmo salar*) 嗅球中没有对性信息素敏感的小块区域,Hara 等 (1998) 推测信息素信息是通过嗅球外神经元传递到脑部的。

在无柄嗅球鱼类中,嗅球次级 ORN 的轴突形成嗅束,嗅束与端脑相连。嗅束可分为中部嗅束 (medial olfactory tract, MOT) 和侧部嗅束 (lateral olfactory tract, LOT), 分别从嗅球的中部和侧部发出。对无柄嗅球鱼类的研究表明,嗅束的不同区域功能也不同,刺激中部嗅束的中部 (the medial part of the medial olfactory tract, mMOT) 会引起警戒反应;刺激中部嗅束的侧部 (the lateral part of the medial olfactory tract, lMOT) 会引起生殖行为;而刺激 LOT 会引起摄食反应 (Hamdani et al. 2007)。Hamdani 等 (2006) 还研究了 3 种形态的 ORN 与嗅束的 3 个组成部分可能的关系,发现与纤毛感受神经元形成突触的次级感受神经元的轴突组成 mMOT;与隐窝细胞形成突触的次级感受神经元的轴突组成 lMOT;与微绒毛感受神经元形成突触的次级感受神经元的轴突组成 LOT。

2 鱼类性信息素受体的研究进展

性信息素 (sex pheromone) 是指生物体释放到体外、能够引起同种生物体产生特定和先天繁殖反应的一种化合物或混合物 (Sorensen et al. 1999)。研究鱼类性信息素受体能够明确性信息素信息在嗅觉系统的传导、性信息素受体对性信息素作用的调控,探明性信息素受体与生殖内分泌系统之间的调控机理。鱼类性信息素受体研究形成的基础理论,可为利用性信

息素诱导鱼类产卵技术的创新提供科学依据,具有理论意义和潜在的应用价值。

2.1 鱼类性信息素特异性受体的研究 已有的研究表明,鱼类可以感受 4 类水体中的化学(气味)物质:氨基酸、性腺分泌的类固醇、胆汁酸和前列腺素。这 4 类物质都可以作为鱼类的性信息素。很多鱼类都能感受到几乎所有氨基酸的刺激,因此推测鱼类对氨基酸的嗅觉感知没有种属差异;但鱼类对性类固醇的嗅觉感知有很强的种属特异性,这提示由不同类型的性信息素受体完成性信息素刺激信号的传递(Cole et al. 2006)。研究表明,有 11 种鲤科(Cyprinidae)鱼类能够感受到性类固醇激素;早熟的大西洋鲑幼鱼对 $17\alpha, 20\beta\text{-P}$ 没有反应,但是对 10^{-14} mol/L 的睾酮有 EOG 反应。

电生理学和行为学研究发现性信息素受体在性信息素通讯上有重要的作用。已有的研究表明,嗅上皮 ORN 上存在性信息素受体,能与水中的性信息素物质结合从而引发 ORN 某些离子通道的开启,产生去极化电位,传递到脑产生嗅觉信息。所有动物都利用 G 蛋白耦联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs, 一类能被其配体激活,进而能够刺激 G 蛋白信号通路的 7 次跨膜受体)来感受大量的组合气味。气味作用于 G 蛋白耦联受体后,细胞内 cAMP 浓度增加, cAMP 可激活环核苷酸门控通道(cyclic nucleotide gated, CNG)的开启,引起 Ca^{2+} 内流,使细胞膜去极化并产生动作电位;同时 Ca^{2+} 内流激活 Cl^- 通道使 Cl^- 流出,使细胞膜进一步去极化(图 1)(Reed et al. 1992)。产生的嗅感受电位经感觉神经将信息传至中枢神经系统,通过下丘脑-脑垂体-性腺轴的反馈调控作用于鱼的生殖生理过程。

嗅电反应(EOG)实验表明,金鱼嗅觉器官能感受到极低浓度(0.1 ~ 1.0 pmol/L)的 $17\alpha, 20\beta\text{-P}$,而且 EOG 对不同类固醇激素有很强的特异性。深入研究发现,EOG 对 $17\alpha, 20\beta\text{-P}$ 的反应有以下一些特性:很快(反应时间少于 1 s);剂量效应;一定的饱和度(大约在 10 nmol/L)(Sorensen et al. 1987)。这些研究结果推动

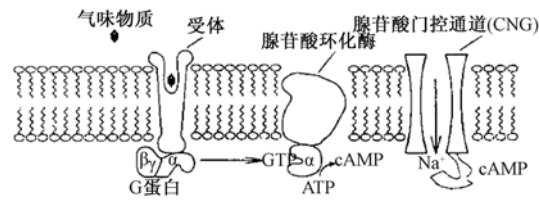


图 1 嗅觉产生的机制(Reed et al. 1992)

Fig. 1 The mechanism of olfaction (Reed et al. 1992)

学者去寻找金鱼嗅觉器官中可能存在的孕激素特异性受体。而已有体外实验发现,在一些鱼类嗅上皮组织中含有 L-氨基酸结合蛋白,分布于细胞膜上(Bruch et al. 1988)。嗅上皮组织的膜组分是一种结合蛋白,这种结合蛋白具有配体特异性、饱和性、组织特异性和高亲和力。由于 EOG 实验表明金鱼嗅上皮对 $17\alpha, 20\beta\text{-P}$ 刺激的电生理特性和对氨基酸的相似,并且 EOG 值更大、更敏感和更具配体结构特异性,因此 Rosenblum 等(1991)认为金鱼嗅上皮的细胞膜上也有孕激素的结合蛋白。

遵循这个研究思路, Rosenblum 等(1991)发现了金鱼嗅上皮上一个 $17\alpha, 20\beta\text{-P}$ 的结合蛋白,该结合蛋白具高亲和力 [$K_d = (1.02 \pm 0.06)$ nmol/L, K_d 为离解常数(dissociation constant)],中低结合容量 [$B_{max} = (1.38 \pm 0.24)$ pmol/mg 蛋白, B_{max} 为最大结合容量(maximum specific binding capacity)]。该结合蛋白的特异性不强,在结合竞争实验中,除了能与 $17\alpha, 20\beta\text{-P}$ 结合外,雄激素和孕激素也可以代替 $17\alpha, 20\beta\text{-P}$ 与该蛋白结合。嗅上皮组织中 $17\alpha, 20\beta\text{-P}$ 结合蛋白的量显著多于胃肠道、肝和脑。这个 $17\alpha, 20\beta\text{-P}$ 的特异性结合蛋白在嗅上皮组织各亚细胞组分中都有发现,细胞核中也有可能存在。另外, Rosenblum 等(1991)还发现,该结合蛋白的类固醇结合饱和度和在 EOG 实验中发现的嗅上皮对 $17\alpha, 20\beta\text{-P}$ 饱和度的范围内,因此推论这个结合蛋白与信息素信号传递有关。Pottinger 等(1997)在褐鳟(*Salmo trutta*)和虹鳟嗅觉器官的 3 种细胞组分中发现睾酮的特异性结合蛋白。嗅觉器官的细胞膜组分对 ^3H -睾酮有很高的亲和力(K_d 为 0.5

~1.9 nmol/L)和有限的容量[N_{\max} 为30~60 fmol/mg 蛋白, N_{\max} 为最大结合位点数(maximum number of binding sites)],结合是可逆的。膜组分结合蛋白有很高的配体特异性,11-羟基睾酮、11-酮基睾酮(11-KT)、17 α -羟基孕酮、17 α ,20 β -P、皮质醇和17 β -雌二醇都不能与之结合。细胞质组分对睾酮有中度的亲和性(K_d 为9.0~23.0 nmol/L)和高容量(N_{\max} 为0.5~2.9 pmol/mg 蛋白),而且可以与其他类固醇结合。细胞核组分对睾酮有高度的亲和性(K_d 约3.0 nmol/L)和有限的容量(N_{\max} 约50 fmol/mg 蛋白)。

经过一系列关于介导孕激素快速非基因作用的膜受体的研究积累,21世纪初,一些学者在鱼类中克隆出孕激素的膜受体(membrane progesterin receptor, mPR)基因。Zhu等(2003a)在云纹犬牙石首鱼(*Cynoscion nebulosus*)卵巢中克隆出孕激素膜受体基因(mPRs)后,分别在金鱼、大西洋石首鱼(*Micropogonias undulatus*)和斑点叉尾(*Ictalurus punctatus*)的精巢及卵巢中也发现mPRs。Kazeto等(2005)克隆并比较分析了鲇鱼(*Ictalurus punctatus*)孕激素膜受体3种亚型的基因。Zhu等(2003a)从云纹犬牙石首鱼卵巢组织中克隆出非类固醇核受体的类固醇膜受体基因,其mRNA大小为4.0 kb,表达的蛋白质大小为40 585 u,同时推测了其氨基酸系列的磷酸化和糖基化位点。而且Zhu等(2003b)在其他7种动物中也克隆出了相似的13个基因,构建了进化树,认为是一种未命名的mPRs家族。根据系统发生分析和它们的核苷酸及氨基酸系列的差异,这些mPRs cDNA分为 α 、 β 和 γ 3种不同的进化枝。mPRs具有和G蛋白偶联受体相似的7次跨膜结构域(Thomas et al. 2007),N端是糖基化位点和半胱氨酸残基保守区域。虽然mPRs的结构和G蛋白偶联受体很接近,但是也不能归为已知的任何一类GPCR(Thomas et al. 2004)。基于这类受体家族具有7次跨膜区域和UPF0073(一类未被描述的膜整合蛋白家族,目前已发现11个编码基因)的结构,这些mPRs应属于孕激素

脂联素受体家族(progesterin and adiponectin receptor, PAQR)的成员。PAQR拥有和GPCR相似的结构和功能,两者细胞外的N端和细胞内的C端都能与异三聚体G蛋白耦合,介导快速的非基因作用反应(Zhu et al. 2003a, Thomas et al. 2007)。

以往的研究表明,mPR α 最有可能是孕激素性信息素受体,因为mPR α 是通过cAMP信号传递通路来完成功能的(Zhu et al. 2008)。另外,Kolmakov等(2008)比较分析了金鱼嗅上皮和斑马鱼嗅上皮的转录组,发现它们的转录组都有16 400个独立基因。通过反转录PCR的亚克隆,从这2种鱼分离出嗅上皮可能的孕激素性信息素受体mPR β 和mPR γ 基因。mPR γ 也在多种低等脊椎动物中发现,说明mPR γ 基因的产物可能在感受孕激素中起到特殊的作用。因此,金鱼mPR γ -1和mPR γ -2可能是鲤科鱼类的孕激素性信息素受体。关于mPRs的结构、性质、功能和介导孕激素快速反应的可能机制,虽然Thomas等(2004,2007)做了大量的研究并证实mPRs的存在,但对孕激素膜受体是否存在还有争议,包括其作用机制、分布、配体特异性及其生理作用。

2.2 基于嗅觉受体基因家族研究鱼类性信息素受体 Buck等(1991)在大鼠(*Rattus norvegicus*)嗅上皮发现一个数量巨大且呈多样性的GPCR超家族基因,并提出它们具有气味受体(odor receptors, ORs)的功能。他们的工作和基因组技术的发展打开了嗅觉受体分子克隆和生物信息学研究之门。在哺乳类、鸟类、鱼类和两栖类动物都发现了大量的这种GPCR,在无脊椎动物中也发现类似结构的气味受体。尽管在很多物种中都是由相似的基因来感受气味物质的,但是在不同物种的嗅觉受体家族还是有很大差异的。人类(*Homo sapiens*)大概有400种嗅觉受体,远少于小鼠(*Mus musculus*) (1 200种)和大鼠(1 430种)。嗅觉受体基因是已知的最大的基因家族之一,在嗅觉功能很重要的物种,如大鼠中大约占基因组的6%。另外,脊椎动物中还发现有大量独立的GPCR

家族可以感受信息素物质。Ferrando 等(2010)把与嗅觉相关的 G 蛋白作为标记蛋白,研究其在鱼类嗅上皮的分布,从而定位气味受体和 ORN 的位置。

一些学者受到哺乳动物嗅觉受体研究的启发,从鱼类中克隆出一些可能与性信息素受体相关的基因,均属于犁骨受体(vomerolateral receptor, VR)。Naito 等(1998)从红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)基因组中发现一个受体基因家族的 6 个成员,它们的基因序列和结构有很高的相似度,和钙敏感受体(calcium sensing receptor, CaSR)相关,与哺乳动物的信息素受体非常相似。研究还发现这些基因都可在嗅觉器官中表达,进一步证实了这些基因可能是嗅觉受体。Cao 等(1998)从金鱼嗅上皮中克隆出 2 个 GPCRs 家族的多基因信息素受体, *GFA* 和 *GFB*。其中, *GFB* 蛋白(约 840 个氨基酸残基)含有与红鳍东方鲀嗅觉器官和哺乳动物犁骨器官(vomerolateral organ, VNO)信息素受体类似的结构,属于 V2R 家族,有很长的胞外 N 端结构域、胞外钙敏感受体(CaSR)和亲代谢性谷氨酸盐受体(metabotropic glutamate receptor, mGluR),该文作者推测 *GFB* 受体可能与金鱼孕酮类和前列腺素类性信息素的识别有关。应用相同的方法, Dukes 等(2006)发现大西洋鲑嗅上皮也表达 V2R 和 CaSR 基因。Pfister 等(2005)在斑马鱼、青鳉(*Oryzias latipes*)、丹鱼(*Danio malabaricus*)、红鳍东方鲀和黑青斑河鲀(*Tetraodon nigroviridis*)中发现 1 种可能的信息素受体(V1R 样),随后在许多鱼类中都发现有该受体(Pfister et al. 2007, Saraiva et al. 2007, Shi et al. 2007)。最新的研究发现在维多利亚湖的 2 种丽鱼(*Haplochromis chilotes*、*H. sauvagei*)和大西洋鲑中均发现 6 个 V1R 家族受体基因(V1R1 ~ V1R6)(Ota et al. 2012, Johnstone et al. 2012)。研究还发现鱼类 V1R 样基因编码的化学感受器与种内个体的相互作用有关,而不同鱼类间 V1R 样基因表达的多肽只有极低的同源性,表现出很高的种属特异性,这与性信息素的种属特异性相符,推测 V1R 样

基因是鱼类性信息素的特异性受体,但还需要实验证明。这些研究都是从基因序列结构的特点和进化的角度去判定它们可能是信息素受体,但对它们的具体功能,如怎样选择特异性的配体和配体的结合特性等方面还没有系统的研究,而关于 mPRs 功能和介导孕激素快速反应的可能机制已有相关的研究报道,将来可能要通过体外表达和电生理学等技术方法在这一方面深入研究。

3 总结和展望

鱼类性信息素的研究因为其重要作用而越来越受到重视。性信息素的作用体现在:①在诱导动物排卵、排精、产生生殖行为和实现生殖同步化等方面起着重要作用;②性信息素可以成为一种有用的养殖和管理工具,用于经济鱼类的生殖过程;对一些有重大经济价值的养殖鱼类的性信息素系统进行研究,确定每种鱼特有的性信息素种类,弄清其结构、性质,以及性信息素的传递和作用机制后,可使用性信息素控制这些鱼类的繁殖过程。

目前,对鱼类性信息素受体的研究起步不久,很多是从借鉴哺乳动物研究方法和序列相似性的角度出发,克隆出一些可能的性信息素受体基因,对其结构了解很少,且功能还未验证。下一步,应进行性信息素受体蛋白的体外表达和功能验证(如敲除基因)等方面的研究,以了解性信息素受体的结构和功能以及作用机制,进而研究鱼类性信息素和性信息素受体的相互作用,为鱼类性信息素的利用提供科学依据。

参 考 文 献

- Bruch R C, Rulli R D. 1988. Ligand binding specificity of a neutral L-amino acid olfactory receptor. *Comparative Biochemistry Physiology Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, 91(3): 535-540.
- Buck L, Axel R. 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors; a molecular basis for odor recognition. *Cell*, 65(1): 175-187.
- Cao Y X, Oh B C, Stryer L. 1998. Cloning and localization of two

- multigene receptor families in goldfish olfactory epithelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(20): 11987–11992.
- Cole T B, Stacey N E. 2006. Olfactory responses to steroids in an African mouth-brooding cichlid, *Haplochromis burtoni* (Günther). *Journal of Fish Biology*, 68(3): 661–680.
- Corotto F S, Piper D R, Chen N, et al. 1996. Voltage- and Ca^{2+} gated currents in zebrafish olfactory receptor. *The Journal of Experimental Biology*, 199(5): 1115–1126.
- Dukes J P, Deaville R, Gottelli D, et al. 2006. Isolation and characterisation of main olfactory and vomeronasal receptor gene families from the Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Gene*, 371(2): 257–267.
- Ferrando S, Gallusa L, Gambardella C, et al. 2010. G protein alpha subunits in the olfactory epithelium of the holocephalan fish *Chimaera monstrosa*. *Neuroscience Letters*, 472(1): 65–67.
- Friedrich R W, Korsching S I. 1998. Chemotopic, combinatorial, and noncombinatorial odorant representations in the olfactory bulb revealed using avoltage-sensitive axon tracer. *Journal of Neuroscience*, 18(23): 9977–9988.
- Fujita I, Sorensen P W, Stacey N E, et al. 1991. The olfactory system, not the terminal nerve, functions as the primary chemosensory pathway mediating responses to sex pheromones in male goldfish. *Brain, Behavior and Evolution*, 38(6): 313–321.
- Hamdani E H, Alexander G, Døving K B. 2001. Projection of sensory neurons with microvilli to the lateral olfactory tract indicates their participation in feeding behaviour in crucian carp. *Chemical Senses*, 26(9): 1139–1144.
- Hamdani E H, Døving K B. 2006. Specific projection of the sensory crypt cells in the olfactory system in crucian carp, *Carassius carassius*. *Chemical Senses*, 31(1): 63–67.
- Hamdani E H, Døving K B. 2007. The functional organization of the fish olfactory system. *Progress of Neurobiology*, 82(2): 80–86.
- Hansen A, Anderson K T, Finger T E. 2004. Differential distribution of olfactory receptor neurons in goldfish: structural and molecular correlates. *Journal of Comparative Neurology*, 477(4): 347–359.
- Hara T J, Zhang C. 1998. Topographic bulbar projections and dual neural pathways of the primary olfactory neurons in salmonid fishes. *Neuroscience*, 82(1): 301–313.
- Hino H, Miles N G, Bandoh H, et al. 2009. Molecular biological research on olfactory chemoreception in fishes. *Journal of Fish Biology*, 75(5): 945–59.
- Johnstone K A, Lubieniecki K P, Koop B F, et al. 2012. Identification of olfactory receptor genes in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Journal of Fish Biology*, 81(2): 559–575.
- Kazeto Y, Goto-Kazeto R, Thomas P. 2005. Molecular characterization of three forms of putative membrane-bound progesterin receptors and their tissue-distribution in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of Molecular Endocrinology*, 34(3): 781–791.
- Kleerekoper H. 1982. Research on olfactory in fishes; historical aspects//Hara T J. *Chemoreception in Fishes*. Amsterdam: Elsevier, 1–14.
- Kolmakov N N, Kube M, Reinhardt R, et al. 2008. Analysis of the goldfish *Carassius auratus* olfactory epithelium transcriptome reveals the presence of numerous non-olfactory GPCR and putative receptors for progesterin pheromones. *BMC Genomics*, 9: 429.
- Laberge F, Hara T J. 2001. Neurobiology of fish olfaction: a review. *Brain Research Reviews*, 36(1): 46–59.
- Lastein S, Hamdani E H, Døving K B. 2006. Gender distinction in neural discrimination of sex pheromones in the olfactory bulb of crucian carp, *Carassius carassius*. *Chemical Senses*, 31(1): 69–77.
- Miklavc P, Valentincic T. 2012. Chemotopy of amino acids on the olfactory bulb predicts olfactory discrimination capabilities of zebrafish *Danio rerio*. *Chemical Senses*, 37(1): 65–75.
- Naito T, Saito Y, Yamamoto J, et al. 1998. Putative pheromone receptors related to the Ca^{2+} -sensing receptor in *Fugu*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(9): 5178–5181.
- Northcutt R G, Rink E. 2012. Olfactory projections in the lepidosirenid lungfishes. *Brain, Behavior and Evolution*, 79(1): 4–25.
- Ota T, Nikaido M, Suzuki H, et al. 2012. Characterization of V1R receptor (ora) genes in Lake Victoria cichlids. *Gene*, 499(2): 273–279.
- Pfister P, Rodriguez I. 2005. Olfactory expression of a single and highly variable V1r pheromone receptor-like gene in fish species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(15): 5489–5494.
- Pfister P, Randall J, Montoya-Burgos J I, et al. 2007. Divergent evolution among teleost V1r receptor genes. *PLoS One*, 2(4): e379.
- Pottinger T G, Moore A. 1997. Characterization of putative steroid receptors in the membrane, cytosol and nuclear fractions from the olfactory tissue of brown and rainbow trout. *Fish Physiology and Biochemistry*, 16(1): 45–63.
- Reed R R, Bakalyar H A, Cunningham A M, et al. 1992. The molecular basis of signal transduction in olfactory sensory neurons. *Society for General Physiology Series*, 47: 53–60.

- Rosenblum P M, Sorensen P W, Stacey N E, et al. 1991. Binding of the steroidal pheromone 17α , 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one to goldfish (*Carassius auratus*) olfactory epithelium membrane preparations. *Chemical Senses*, 16(2): 143–154.
- Saraiva L R, Korsching S I. 2007. A novel olfactory receptor gene family in teleost fish. *Genome Research*, 17(10): 1448–1457.
- Sato Y, Miyasaka N, Yoshihara Y. 2005. Mutually exclusive glomerular innervation by two distinct types of olfactory sensory neurons revealed in transgenic zebrafish. *Journal of Neuroscience*, 25(20): 4889–4897.
- Sato K, Suzuki N. 2001. Whole-cell response characteristics of ciliated and microvillous olfactory receptor neurons to amino acids, pheromone candidates and urine in rainbow trout. *Chemical Senses*, 26(9): 1145–1156.
- Satou M. 1990. Synaptic organization, local neuronal circuitry, and functional segregation of the teleost olfactory bulb. *Progress of Neurobiology*, 34(2): 115–142.
- Shi P, Zhang J Z. 2007. Comparative genomic analysis identifies an evolutionary shift of vomeronasal receptor gene repertoires in the vertebrate transition from water to land. *Genome Research*, 17(2): 166–174.
- Sorenson P W, Caprio J C. 1998. Chemoreception // Evans D H. *The Physiology of Fishes*. Boca Raton: CRC Press, 375–405.
- Sorensen P W, Hara T J, Stacey N E. 1987. Extreme olfactory sensitivity of mature and gonadally regressed goldfish to a potent steroidal pheromone, 17α , 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one. *Journal of Comparative Physiology A*, 160(3): 305–313.
- Sorensen P W, Stacey N E. 1999. Evolution and specialization of fish hormonal pheromones // Johnston R E, Müller-Schwarze D, Sorenson P W. *Advances in Chemical Signals in Vertebrates*. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers, 15–47.
- Specia D J, Lin D M, Sorensen P W, et al. 1999. Functional identification of a goldfish odorant receptor. *Neuron*, 23(3): 487–498.
- Thomas P, Pang Y, Dong J, et al. 2007. Steroid and G protein binding characteristics of the seatrout and human progestin membrane receptor alpha subtypes and their evolutionary origins. *Endocrinology*, 148(2): 705–718.
- Thomas P, Pang Y F, Zhu Y, et al. 2004. Multiple rapid progestin actions and progestin membrane receptor subtypes in fish. *Steroids*, 69(8/9): 567–573.
- Thommesen G. 1978. The spatial distribution of odour induced potentials in the olfactory bulb of char and trout (Salmonidae). *Acta Physiologica Scandinavica*, 102(2): 205–217.
- Trujillo-Cenoz O. 1961. Electron microscope observations on chemo- and mechano-receptor cells of fishes. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 54(5): 654–676.
- Yáñez J, Folgueira M, Köhler E, et al. 2011. Connections of the terminal nerve and the olfactory system in two galeomorph sharks: an experimental study using a carbocyanine dye. *Journal of Comparative Neurology*, 519(16): 3202–3217.
- Zhu Y, Bond J, Thomas P. 2003b. Identification, classification, and partial characterization of genes in humans and other vertebrates homologous to a fish membrane progestin receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(5): 2237–2242.
- Zhu Y, Hanna R N, Schaaf M J M, et al. 2008. Candidates for membrane progestin receptors—Past approaches and future challenges. *Comparative Biochemistry Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(4): 381–389.
- Zhu Y, Rice C D, Pang Y F, et al. 2003a. Cloning, expression, and characterization of a membrane progestin receptor and evidence it is an intermediary in meiotic maturation of fish oocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(5): 2231–2236.
- Zippel H P, Reschke C, Korff V. 1999. Simultaneous recordings from two physiologically different types of relay neurons, mitral cells and ruffed cells, in the olfactory bulb of goldfish. *Molecular and Cellular Biology*, 45(3): 327–337.
- 王德寿, 江宗秀. 2000. 鱼类性外激素的研究进展. *水生生物学报*, 2000, 24(3): 282–288.