

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00017

嗅觉受体基因的研究进展

高一龙^{1,2}, 缪勤¹, 张汇东¹, 温海¹, 秦海斌¹, 谢庄²

1. 公安部南京警犬研究所, 南京 210012;
2. 南京农业大学动物科技学院, 南京 210095

摘要: 嗅觉在动物的生命活动中起着重要的作用, 与嗅觉相关的基因主要是嗅觉受体(Olfactory receptor, *OR*) 基因。文章介绍了嗅觉受体基因的结构、表达调控、分布、分子进化及其多态性研究进展, 并讨论了该基因与嗅觉功能和嗅觉障碍的关系。

关键词: 嗅觉受体基因; 多态性; 嗅觉功能; 嗅觉障碍

Advances on olfactory receptor gene

GAO Yi-Long^{1,2}, MIU Qin¹, ZHANG Hui-Dong¹, WEN Hai¹, QIN Hai-Bin¹,
XIE Zhuang²

1. Nanjing Policedog Institute of the Ministry of Public Security, Nanjing 210012, China;
2. College of Animal Science and Technology, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, China

Abstract: The olfactory sense plays a key role in animals' life time. The main gene related with olfaction was olfactory receptor (*OR*) gene. This review introduced the structure, expression regulation, distribution, molecular evolution and polymorphism of *OR* gene. The relationship between *OR* gene and olfactory function and olfactory deficits was also discussed.

Keywords: olfactory receptor gene; polymorphism; olfactory function; olfactory deficits

嗅觉是动物机体最重要的感觉之一, 动物机体通过嗅觉感受器探测同种的异性个体、其他动物个体、其他生物或非生物对象所挥发出来的气味分子, 以获得对外界环境的直观感觉联系。动物依赖嗅觉来定位、获得食物、识别有毒物质、避开天敌和危险, 进行种间识别、个体或群体辨别、性别辨别、配偶的选择和领域标记等^[1,2]。

科研人员对动物嗅觉发生机理的研究由来已久。1991 年, Linda 和 Richard^[3]首先在褐家鼠中发现嗅觉受体(Olfactory receptor, *OR*) 基因超家族, 阐明了嗅觉系统的结构组成和工作原理, 并因此获得

2004 年度诺贝尔生理学或医学奖。*OR* 基因与动物机体辨别气味的能力密切相关。随着各物种基因组计划的开展, 科学家们陆续在多个物种中发现 *OR*, 并鉴定出部分物种的全部 *OR* 基因, 同时探索其进化以及与嗅觉功能的关系。

1 *OR* 的结构组成、分类分布和信号转导途径

1.1 *OR* 基因的结构组成

OR 是由嗅觉细胞表达的一种蛋白质, 由哺乳动物体内最大的基因家族编码, *OR* 属于 G 蛋白偶联受

收稿日期: 2009-05-06; 修回日期: 2009-07-29

作者简介: 高一龙(1982-), 男, 研究实习员, 在读硕士研究生, 专业方向: 犬分子遗传育种。E-mail: gaoyilong726@163.com

通讯作者: 谢庄(1949-), 男, 教授, 研究方向: 动物分子数量遗传学。E-mail: xzie@njau.edu.cn

体超家族^[4]。编码嗅觉受体的基因约占哺乳动物基因组基因总量的 3%~5%，总数约有 1 000 多个。*OR*基因很小，每一嗅觉受体基因由大约 1 kb 单一编码的外显子组成，且在编码区没有内含子，相邻的*OR*编码区的平均间距为 21 kb^[3]。*OR*基因家族的数目在脊椎动物基因组中跨度很大，从豚豚 100 个*OR*基因到奶牛的 2 130 个*OR*基因^[5,6]。Glusman等^[7]发现人基因组中约有 900 个*OR*基因。Olender^[8]等在犬基因组中研究发现了 1 300 个嗅觉受体基因，据估计约占犬嗅觉受体基因组总量的 80%。Zhang等^[9]研究证明了小鼠有 1 500 个*OR*基因。

研究证明，有很大部分的*OR*基因退化为假基因。假基因的序列与一个或多个平行基因(平行进化的同源基因)类似，但由于基因突变已经丧失了编码蛋白质的能力，因此没有功能。有意思的是，假基因的比例在不同物种中也大相径庭。就哺乳动物而言，估计犬的*OR*基因有 12%~18%属于假基因，而人类则约有 50%~65%的*OR*基因逐渐退化成了假基因^[5,6,10]。

1.2 *OR* 分子结构特征

嗅觉受体属于数目庞大的G蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptor, GPCR)家族。哺乳动物的*OR*存在于鼻腔后上部的嗅上皮内的嗅觉神经元的嗅纤毛上。所有的嗅觉受体结构都相似，各种*OR*蛋白分子的氨基酸大小不一，但都具有 7 个长度为 19~26 个氨基酸疏水区即 7 次 α -螺旋跨膜蛋白(TM)形成的结构域，总长度约为 300~350 个氨基酸^[11]。氨基酸链的N端在膜外侧，C端在膜内侧，这样在细胞膜的两侧各形成 3 个环。*OR*基因的TM区域由 3 个胞内环(IC)和 3 个胞外环(EC)组成，其中尤以 EC2 长度最长。*OR*蛋白结构示意图见图 1。

*OR*基因同时拥有高度保守和高度变异的蛋白编码区域。不同的GPCR跨膜螺旋区的氨基酸比较保守，而C、N末端和回环区的氨基酸差异较大。通过比较分析不同的*OR*氨基酸序列发现具有高度一致的氨基酸基本序列(保守区)，如膜内第一环I₁的LHTPMY、第三跨膜区TMIII的尾端和膜内的第二环I₂的头端MAYDRYVAIC、第五跨膜区TMV的尾端的SY、第六跨膜区TMVI的头端PSTCSSH和第七跨膜区TMVII的PMLNPF等。相反，在跨膜区

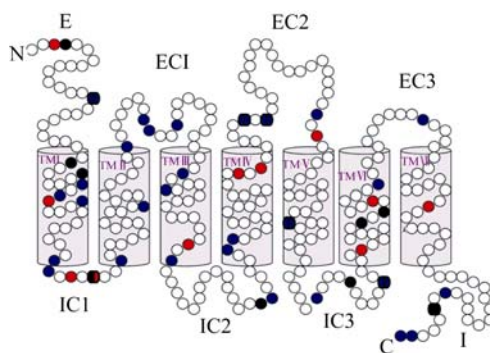


图 1 嗅觉受体(*OR*)蛋白示意图^[14]

跨膜区域 III-V 具有高度的多态性，是气味分子的识别和结合位点。C 末端和胞内环 IC2、IC3 是 G 蛋白结合位点。

TMIII、TMIV、TMV区域表现出高度的序列多样性，这些区域可能和气味分子的结合能力有关^[12]。因此，我们预测在跨膜段TMII和TMVI区域之间，有形成结合嗅质(气味)分子的“口袋”区域。而TMIII区域末端又存在高度保守(种间和种内)的氨基酸基序-MAYDRYVAIC，这可以作为标志性的序列来分类*OR*蛋白^[13]。

1.3 *OR* 基因的分布

在人类基因组中，95 个*OR*基因簇(每个包含 6~138 个基因)遍布于除 20 号 和 Y 染色体外的其他所有染色体^[7,15]。小鼠的*OR*基因也遍布于除 5、12、18 号和 Y 染色体外的其他所有染色体，这些基因分成 27 个基因簇分布在小鼠的染色体上^[16]。但*OR*基因并非均衡的分布于各个染色体上，比如人类的 70%*OR*基因就集中分布在 6 个染色体上，11 号染色体上聚集了最大的*OR*基因簇^[7]；而小鼠的*OR*基因最大的基因簇则在第 7 号染色体上，共 208 个，占*OR*基因总数的 16%。

犬的*OR*基因分布在 24 条染色体中，分布最密集的两个*OR*基因簇分别在第 18 号染色体和第 21 号染色体上，各自达到 124 个和 109 个*OR*基因；它们与人类的 11 号染色体上的 11q11-q13 和 HSA11p15 两个区段的*OR*基因是正向同源基因，分别包括 174 和 115 个*OR*基因。犬的*OR*基因的假基因频率分布很不平衡，在包含最大的犬*OR*基因簇的第 18 和第 21 条犬染色体上，其*OR*基因的假基因频率分别为 4% 和 10%^[17]。基于这些研究发现，推测在*OR*基因家族的扩大过程中必然发生了基因串联复制^[13]。

1.4 *OR* 基因的分类

脊椎动物的*OR*基因，根据序列同源性被分为两

大类: class-I (也称class- α) 和class-II (也称class- γ) [18,19]。Class-I类基因是最古老的嗅觉受体基因群, 首先是在鱼类中确定的, 因此大家认为该类基因在水生环境下被水溶性气味分子所激发。而由于class-II基因主要在哺乳动物中发现, 它们通常被认为在陆地环境下由挥发性的气味分子所激发[18,20]。而在两栖类动物中则发现class-I和 class-II(哺乳类)OR基因有所交叉和混杂。

根据氨基酸序列的同源性, OR基因可进一步细分为家族和亚家族: 同源性>40%定义为家族, 同源性>60%定义为亚家族。在犬、人和小鼠三类哺乳动物中, 共发现 412 个基因亚家族, 其中有 60 个亚家族为人类所独有, 小鼠的特异性亚家族则有 69 个。而犬的OR基因可分为 17 个家族, 每个基因家族又可细分为许多基因亚族, 有 34 个基因亚族为犬特有。Class-I类OR基因集中在人类 11 号染色体上, 共有 120 个[21], 小鼠class-I类OR基因则有 147 个, 集中于 7 号染色体上的 85~88 Mb区域[9]。Class-II 类OR基因簇中的 38 个家族, 为犬类所特有; 而class-I类OR基因占有所有犬OR基因的 18%, 显著高于人和小鼠, 这可能与犬的特异性嗅觉受体能力相关[8]。

人类的class-I类基因可分为 17 个家族, 而class-II类基因可分为 14 个家族[21]。人类OR基因家族有 172 个亚家族组成, 而同一个亚家族成员的OR基因序列相似性很高, 因此它们能识别结构类似的气味分子[21]。有趣的是, 很多同属于一个进化分支的OR基因被定位于相同的基因组簇中, 这就证明了在OR基因的进化过程中, 基因串联复制是一个很重要的分子机制[15]。

1.5 嗅觉的感知以及 OR 的信号转导途径

嗅觉是动物机体对外界气味物质的一种化学感受和反应。这些气味物质主要包括水溶性或挥发性的化学物质类的气味分子、性外信息激素和味觉分子。脊椎动物的OR基因表达于嗅觉神经元纤毛表面上的嗅上皮部位。一般而言, 鼻上皮层的每一个嗅觉受体神经元都只表达某一种特定的OR。嗅上皮部位的 4 个区域上随机分布着表达特定OR的嗅觉神经元细胞体[22]。表达相同嗅觉受体的嗅觉神经元的轴突都汇聚于同一个嗅觉神经纤维球上[23], 每个纤维球受到神经元的支配。OR通过激活信号转导通路而

识别气味。

在气味的感受过程中, 气味分子溶解在鼻粘液的水/脂质环境中, 首先与气味绑定蛋白(Odorant binding proteins, OBP)结合形成复合物, 之后再与OR特异性绑定, 导致与之偶联的G蛋白活化并脱离。脱离的G蛋白激活腺嘌呤环化酶, 使得细胞内第二信使——cAMP增加, Ca^{2+} 等大量阳离子通过cAMP-门控通道涌进, 进而产生动作电位。从而把气味分子的化学信号转换为电信号, 该电信号从神经元直接传递到嗅球[24], 从嗅球开始逐次传递, 最终传播到嗅觉皮层(梨状皮质、海马体和杏仁核), 实现嗅觉的感知[10]。

2 OR 基因表达部位以及调控

2.1 OR 的表达部位

OR主要在嗅觉上皮的神经元表面表达, 但经研究发现, OR基因不仅仅在嗅觉上皮表达, 在鱼类和哺乳动物的其他非嗅觉组织, 如雄性动物的睾丸[25]、前列腺[26]以及心脏[27]、味蕾细胞[28]和脊椎[29]等组织。另外有报道在一些原始胚胎细胞[30]和红细胞[31]中也可表达OR。这表明OR基因的功能, 并不局限于先前所定义的内容—嗅觉[13]。但到目前为止, 这些组织为何能表达出OR基因以及OR基因的具体功能和作用还不清楚[32]。有意思的是, 哺乳动物的睾丸/精液表达的OR蛋白定位于精子的鞭毛中段, 且该OR蛋白对调节鞭毛的活力有显著效果[33]。因此, 人们推断精子表达的OR蛋白可能对精虫的趋向性/活力起着至关重要的作用[34]。

2.2 OR 基因表达调控

Southern blotting法使用代表OR基因亚家族的独特序列探针, 以估测在鱼类[35]、两栖类[20]、鸟类[29]和哺乳类[36,37]等动物中的OR基因亚家族的大小。尽管Southern杂交法具有直接探清全基因组的优点, 但该法并不能鉴定杂交序列中功能性基因的状态。

Issel-Tarver等[38]应用Southern blotting法, 并结合RNA酶保护性实验从犬的基因组中挑选了CFOLF1、CFOLF2、CFOLF3和CFOLF4四个OR基因进行研究, 结果发现这 4 个基因在嗅觉上皮组织中均有表达, 且犬中表达的蛋白序列与小鼠、大鼠和人的同源性高达 40%~64%。Young等[39]则对嗅觉

上皮细胞 *OR* 基因的转录水平很感兴趣, 他用实时 PCR 的方法定量转录水平, 研究发现: 各 *OR* 基因的表达转录水平差异很大, 有的甚至达到 300 倍。

Gilad 等^[40]曾设计一对大约覆盖 *OR* 基因 TM2—7 区域的简并引物, 试图扩增出 670 bp 的产物。采用简并引物, 可以在单个 PCR 反应中从基因组 DNA 中扩增出数个 *OR* 基因。随后对 PCR 产物进行克隆和测序, 可以估计出在给定的基因组内功能 *OR* 基因和非功能 *OR* 基因的比例。目前, 该方法已经成功地应用于评估哺乳动物(如灵长类^[40,41]、肉食类^[17]、啮齿类^[41]以及鲸类^[42]等)的功能 *OR* 基因和非功能 *OR* 基因的比例。

3 *OR* 基因的分子进化

科研人员在无脊椎动物(如线虫和果蝇)中也发现了嗅觉化学受体。然而无脊椎动物和脊椎动物的 *OR* 基因的序列同源性很低^[43]。例如, 秀丽隐杆线虫和脊椎动物的 *OR* 基因的序列同源性只有 10%, 而且无脊椎动物的嗅觉化学受体基因还包括内含子。因此, 人们质疑无脊椎动物和脊椎动物的 *OR* 基因, 是否进化来源于一个共同祖先^[11]。

比较基因组学证据显示, 哺乳动物的嗅觉灵敏性与其基因组中的功能性 *OR* 基因的数目和比例呈正向相关^[40,41,44]。功能性 *OR* 基因所占的比例, 揭示了物种进化过程中 *OR* 基因所承受的选择压力^[5,41]。如果嗅觉在该物种的进化过程中并不是很重要, 那么与嗅觉相关的基因保守区域的进化选择压力就会大为宽松, 即对功能缺失性的基因突变没有选择压, 这将导致假基因数量激增。

究竟有多大的进化选择压力改变了 *OR* 基因的组成? 蛋白水平的选择压力经典的评估方法, 是采用非同义突变 (dN) 和同义突变 (dS) 之间的比率 ω ($\omega = dN/dS$) 评估的^[45]。非同义突变会导致氨基酸的改变, 而同义突变则不会。正向选择 ($\omega > 1$), 即该选择会导致蛋白质的氨基酸序列的改变; 负向选择 ($\omega < 1$), 即组成蛋白质的氨基酸序列保持恒定; 中性选择, 其比率 $\omega = 1$ 。比率 ω 通常是计算所有编码位点或者是对感兴趣的序列编码区域位点与位点之间的平均数。

OR 基因的显著多样性与位点特异性的密码子正向选择作用 ($\omega > 1$) 密切相关, 比如先前研究所发现

的在鱼类^[46,47]和哺乳类动物 *OR* 基因^[48,49] 中的正向选择证据。人们预测正向选择的密码子主要位于 TM 区域, 并且很有可能与配体(气味分子)结合能力有关。因此, 进一步研究正向选择作用是否对脊椎动物的 *OR* 基因的进化起到了至关重要的作用, 是很有必要的。通过比较基因组学对各物种的 *OR* 基因核苷酸序列和其翻译的氨基酸多肽链的变化及其多态性研究表明, *OR* 基因的一些区域受到正向选择, 导致蛋白序列的改变, 进而会进化出更多的不同受体基因^[50]。

OR 基因家族随着物种的进化而逐步改变。比如在灵长类动物这个物种形成期间, 部分 *OR* 基因会退化成假基因。即使是人类, 不同的种族和个体之间的功能性 *OR* 基因也不尽相同^[51]。

4 *OR* 基因与嗅觉的关系

在脊椎动物中, 嗅觉的分子基础是由嗅上皮的感觉神经元上的 *OR* 表达调控的^[3]。脊椎动物可以感知和辨别大量的挥发性的化学气味, 而探测和辨别这些气味的分子机制在于“组合的嗅觉受体密码”。简而言之, 一种气味分子可以被数种嗅觉受体所识别, 一个嗅觉受体也能识别数种气味分子。即一种特殊的气味分子可与多个 *OR* 发生反应, 而每个 *OR* 也可与多种气味物质分子结合产生不同的感受效应^[10]。

比较基因组学研究结果表明, 哺乳动物的嗅觉灵敏性与其基因组中的功能性 *OR* 基因的数目和比例呈正向相关^[40,41,44]。哺乳动物基因组中 *OR* 基因的总数, 可能反映出其探测和辨别多少种不同气味的能力^[5]。功能性 *OR* 基因所占的比例, 揭示了物种进化过程中 *OR* 基因所承受的选择压力^[5,41]。与灵长类相比, 人类的嗅觉之所以相对较弱, 是因为其基因组中功能性 *OR* 基因的比例的降低^[40,41]。人类 *OR* 基因的假基因化速率是其他灵长类的 5 倍, 而假基因数量则是其他灵长类的 2 倍, 人类的 *OR* 基因有约 65% 退化成了假基因, 功能性 *OR* 基因仅剩约 350 个, 这可能与人类的生存对嗅觉的依赖度大大低于其他灵长类有关。

小鼠属于嗅觉敏感动物, 其生存对气味的依赖度远大于人类。小鼠基因组中有 1 500 个 *OR* 基因(人只有近 1 000 个), 假基因的比例仅占 20%^[9], 其功能性 *OR* 基因的数量约是人的 3 倍。Pascale 等^[17]发现,

犬的功能性OR基因是人的两倍,假基因的比例仅为18%。这些都说明影响动物嗅觉灵敏度的关键因素之一就是功能性OR基因的数量和比例。有研究表明,小鼠的完整OR基因的某些基序高度保守,但在人类的OR完整基因中则缺乏这些基序。也许正是由于基序的缺乏,从而导致人和小鼠嗅觉存在不同程度的差异^[50]。

陆生四足动物拥有的庞大OR基因家族,对其保持良好嗅觉起着至关重要的作用。在陆生四足动物与水生四足动物进化分离后,哺乳动物的OR基因分化很厉害。人们对陆生哺乳动物的OR基因研究的比较多,而对水生哺乳动物的研究相对较少。据Takushi等^[42]对小须鲸、抹香鲸、海狮、海龟等水生四足动物的OR基因研究结果表明:鲸类的假基因比例显著高于海狮和海龟,同时也显著高于其陆生动物近亲(牛);而海狮的假基因比例则并不显著高于其陆生动物近亲(狗)。这说明完全适应海洋环境的脊椎动物(鲸类)在进化过程中已经丧失了大量的功能性OR基因,而半适应海洋环境的脊椎动物(海狮和海龟)则保留了大量的功能性OR基因,这一切都表明了OR基因对陆生动物的重要性。

鸟(禽)类的嗅觉并不为人们所了解,因为人们通常认为鸟(禽)类主要是依靠视觉和听觉接受信息,人们预测其OR受体基因组中的基因绝大部分应该是非功能基因。德国马普学会鸟类研究所的分子生态学家Silke和她的研究生Bart领导的一个研究小组,对鸟类系谱图的7个主要分支中的蓝山雀、黑鸦鹃、金丝雀、红原鸡、鸚鵡、野鸭等9种鸟的嗅觉基因进行了研究,他们在这些鸟(禽)类的基因组中发现了大量的功能性OR基因,且还发现不仅是功能性OR基因的数量与嗅球的大小密切相关,而更是所有OR基因的数量与嗅球的大小呈正向相关^[52]。该研究结果表明,嗅觉对鸟类的重要性比人们先前预测的要重要得多。

犬的嗅觉非常灵敏,人类应用犬打猎、追踪、搜爆和缉查毒品等。研究发现,犬的嗅觉上皮表面积是人的20倍,其与嗅觉功能密切相关的脑组织—嗅球较大,且犬的嗅觉神经元的数目与密度也大大多于人类^[37,53]。犬因品种和个体差异,也会导致犬之间的嗅觉敏感性的不同,嗅觉上皮的表面积也有高达16倍的差异^[54,55]。犬有约1300个OR基因,基因

的结构组成形式与人及小鼠类似,但其功能性OR基因数目众多,仅有12%~18%的OR基因是假基因。假基因的比率比人和小鼠要小得多。犬OR基因数目尽管少于小鼠,但基因多态性更高,因此犬具有更好的嗅觉天赋。犬的嗅觉能力比人强,不只是因为它们的嗅觉上皮面积和嗅觉神经元密度比人大,其根本在于OR基因的数目、种类、多样性及其表达水平上比人更具优势。或许正是由于人类对狗的长期选育,不仅仅是体型外貌特征和行为性状(胆量、兴奋性、攻击性等),最重要的还包括对嗅觉特征的选育,才造成犬的OR基因多态性较之人类和小鼠都高。

因此,各不同种类动物以及同一种类动物不同个体之间之所以对不同气味的嗅觉灵敏性差异很大,可能与很多因素有关,比如嗅球直径的不同、嗅上皮的表面积、嗅觉神经元的数目、OR基因的表达式、功能性OR基因的数目以及OR与气味分子的亲和力等等。

OR基因发生的非同义突变会导致编码的氨基酸序列的改变,能对动物的嗅觉产生特异性影响^[38]。因此,增加联系密切的OR基因的序列多样性的阳性选择,可能会引起特异性的嗅觉分辨力的增强。

5 OR基因的多态性

OR在漫长的进化过程中,在不同的生物物种中具有高度的多态性。研究这些OR的多态性,对于探讨不同物种之间嗅觉灵敏性和嗅觉功能障碍具有重要意义。

5.1 犬OR基因的多态性研究进展

Tacher等^[14]选取了CfOR0044、CfOR0115、CfOR0423等16个嗅觉受体基因,对来自20个不同品种的95只犬开展了在品种内和品种间OR遗传多态性水平的研究工作,共检测到98个SNPs和4个插入位点/缺失位点;分布于蛋白质的各个部分:4个N端区域突变,25个跨膜区域突变,5个C端区域突变,10个细胞内膜区域突变,11个细胞外膜区域突变;其中55个SNPs引起氨基酸序列改变,30个SNPs导致氨基酸化学结构改变。

波兰科学研究院的Anna等^[56]挑选了cORIP2、cOR5IH5、cOR52N9、cOR52P3和cOR9SI3这5个OR基因,并探讨了OR基因与警犬嗅探能力之间

的关系,在上述 5 个 *cOR* 基因中共检测到 18 个 SNPs,其中有 10 个位点导致了氨基酸的突变,其他几个位点的突变是同义突变。在 *cOR52N9* 基因 176 碱基位置发生 A-G 突变,导致多肽链 59 位氨基酸由甘氨酸(Gly)突变为精氨酸(Arg);在 *cOR9S13* 基因 592 碱基位置发生的突变 G-A,导致 EC2 受体结构上 198 位置的丙氨酸被苏氨酸替代。这 2 个 *OR* 基因的突变位点显著影响嗅探犬的检测能力。

Robin 等^[57]从犬的 *OR* 基因组中挑选了具有代表性的 109 个 *OR* 基因,对来自 6 个不同品种的 48 只犬开展了 *OR* 基因多态性的研究工作,发现几乎所有的 *OR* 基因都在不同程度上具有多态性,其中有 50% 以上的 *OR* 基因存在大量的 SNP 位点,有 25% 的 SNP 位点为部分品种所特有,47% 的 SNP 均导致了氨基酸序列的改变。

5.2 *OR* 基因多态性与人类嗅觉功能障碍的关系

近年来,有研究表明人 *OR* 基因单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)与人类嗅觉功能障碍(先天性一般嗅觉丧失和特异性嗅觉丧失)发生有关。Idan 等^[58]发现 *OR* 基因可能是影响特异性嗅觉缺失功能障碍的重要遗传因子。人类基因组中的某些 *OR* 基因 SNP,可能会影响基因功能,造成 *OR* 基因失活;或降低其对某些特异性气味的敏感性,不能被低阈值的气味激活,导致 *OR* 受体与气味分子结合能力降低。

OR 基因多种类型的 SNP,可能会相应地导致机体对不同类型的特异性气味的缺失。据估计目前约有 600 多种非同义 SNP,可能会改变某个关键性氨基酸残基,进而影响蛋白的功能^[59]。比如 *OR* 基因的 TMIII 区域末端的高度保守区域(MAYDRY),与 G 蛋白偶联受体密切相关,若该区域的精氨酸(R)发生改变,就会导致该蛋白功能的终止;尽管该氨基酸残基具有相对较高的保守性,但是我们还是在 15 个不同的 *OR* 基因中发现了多态性^[11]。

其他类型的候选多态性,则是在互补性决定区域出现的氨基酸残基的改变,这与功能性 *OR* 基因的气味识别范围有关。也许这些多态性造成的改变,并不能导致 *OR* 受体的钝化,但却可以影响其对气味分子的识别波谱^[60,61]。除此以外在启动子或调控区域出现的多态性,也会导致功能性 *OR* 基因的失活或

钝化^[62]。

6 结 语

目前,科研人员对嗅觉受体基因的组成结构、分类分布、表达调控和多态性等方面的研究已经取得了较大的进展,但还有很多问题需要进一步深入研究才能解决。比如工作犬的作业能力是其嗅觉性能的外在表现,从根本上讲是受犬 *OR* 基因调控的,而目前对犬的嗅觉性能与相关受体基因的研究还不够深入,对犬的选育大多是凭经验和感官,没有从分子水平上研究对犬的嗅觉起决定作用的 *OR* 基因;人类的嗅觉功能障碍(先天性一般嗅觉丧失和特异性嗅觉丧失)与 *OR* 基因相关性还缺少直接的理论支持。未来的研究工作中,进一步探明动物嗅觉系统的发育规律以及与嗅觉相关的受体基因的表达调控机制,将有助于揭示嗅觉发生的分子生物学原理,发现影响哺乳动物嗅觉功能的主要候选基因,这不仅可以为筛选和培育高嗅觉灵敏性的工作犬提供理论依据,而且还有望为诊断和治疗人类嗅觉功能障碍提供新理论和方法。

参考文献(References):

- [1] Malakoff D. Following the scent of avian olfaction. *Science*, 1999, 286(5440): 704–705. [\[DOI\]](#)
- [2] Stoddart DM. The Ecology of Vertebrate Olfaction. London, Chapman and Hall, 1980, 208–226.
- [3] Buck L, Axel R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell*, 1991, 65(1): 175–187. [\[DOI\]](#)
- [4] Sharon D, Glusman G, Pilpel Y, Horn-Saban S, Lancet D. Genome dynamics, evolution, and protein modeling in the olfactory receptor gene superfamily. *Ann N Y Acad Sci*, 1998, 855: 182–193. [\[DOI\]](#)
- [5] Niimura Y, Nei M. Evolutionary dynamics of olfactory and other chemosensory receptor genes in vertebrates. *J Hum Genet*, 2006, 51(6): 505–517. [\[DOI\]](#)
- [6] Niimura Y, Nei M. Extensive gains and losses of olfactory receptor genes in mammalian evolution. *PLoS ONE*, 2007, 2(8): e708. [\[DOI\]](#)
- [7] Glusman G, Yanai L, Rubin L, Lancet D. The complete human olfactory subgenome. *Genome Res*, 2001, 11(5): 685–702. [\[DOI\]](#)
- [8] Olender T, Fuchs T, Linhart C, Shamir R, Adams M,

- Kalush F, Khen M, Lancet D. The canine olfactory subgenome. *Genomics*, 2004, 83(3): 361–372. [\[DOI\]](#)
- [9] Zhang X, Firestein S. The olfactory receptor gene superfamily of the mouse. *Nat Neurosci*, 2002, 5(2): 124–133.
- [10] Mombaerts P. Genes and ligands for odorant, vomeronasal and taste receptors. *Nat Rev Neurosci*, 2004, 5(4): 263–278. [\[DOI\]](#)
- [11] Gaillard I, Rouquier S, Chavanieu A, Mollard P, Giorgi D. Amino-acid changes acquired during evolution by olfactory receptor 912-93 modify the specificity of odorant recognition. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(7): 771–780. [\[DOI\]](#)
- [12] Floriano WB, Vaidehi N, Goddard III WA. Making sense of olfaction through predictions of the 3-D structure and function of olfactory receptors. *Chem Senses*, 2004, 29(4): 269–290. [\[DOI\]](#)
- [13] Young JM, Trask BJ. The sense of smell: genomics of vertebrate odorant receptors. *Hum Mol Genet*, 2002, 11(10): 1153–1160. [\[DOI\]](#)
- [14] Tacher S, Quignon P, Rimbault M, Dreano S, Andre C, Galibert F. Olfactory receptor sequence polymorphism within and between breeds of dogs. *J Hered*, 2005, 96(7): 812–816. [\[DOI\]](#)
- [15] Niimura Y, Nei M. Evolution of olfactory receptor genes in the human genome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 12235–12240. [\[DOI\]](#)
- [16] Godfrey PA, Malnic B, Buck LB. The mouse olfactory receptor gene family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 2156–2161. [\[DOI\]](#)
- [17] Quignon P, Kirkness E, Cadieu E, Touleimat N, Guyon R, Renier C, Hitte C, André C, Fraser C, Galibert F. Comparison of the canine and human olfactory receptor gene repertoires. *Genome Biol*, 2003, 4(12): R80. [\[DOI\]](#)
- [18] Freitag J, Krieger J, Strotmann J, Breer H. Two classes of olfactory receptors in *Xenopus laevis*. *Neuron*, 1995, 15(6): 1383–1392. [\[DOI\]](#)
- [19] Niimura Y, Nei M. Evolutionary dynamics of olfactory receptor genes in fishes and tetrapods. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 6039–6044. [\[DOI\]](#)
- [20] Freitag J, Ludwig G, Andreini I, Rössler P, Breer H. Olfactory receptors in aquatic and terrestrial vertebrates. *J Comp Physiol*, 1998, 183(5): 635–650. [\[DOI\]](#)
- [21] Malnic B, Godfrey PA, Buck L B. The human olfactory receptor gene family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 7205–7205. [\[DOI\]](#)
- [22] Vassar R, Ngai J, Axel R. Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell*, 1993, 74(2): 309–318. [\[DOI\]](#)
- [23] Vassar R, Chao SK, Sitcheran R, Nuñez JM, Vosshall LB, Axel R. Topographic organization of sensory projections to the olfactory bulb. *Cell*, 1994, 79(6): 981–991. [\[DOI\]](#)
- [24] Firestein S. How the olfactory system makes sense of scents. *Nature*, 2001, 413(6852): 211–218. [\[DOI\]](#)
- [25] Asai H, Kasal H, Matsuda Y, Yamazaki N, Nagawa F, Sakano H, Tsuboi A. Genomic structure and transcription of a murine odorant receptor gene: differential initiation of transcription in the olfactory and testicular cells. *Biophys Res Commun*, 1996, 221(2): 240–247. [\[DOI\]](#)
- [26] Yuan TT, Toy P, McClary JA, Lin RJ, Miyamoto NG, Kretschmer PJ. Cloning and genetic characterization of an evolutionarily conserved human olfactory receptor that is differentially expressed across species. *Gene*, 2001, 278(1–2): 41–51. [\[DOI\]](#)
- [27] Drutel G, Arrang JM, Diaz J, Wisniewsky C, Schwartz K, Schwartz JC. Cloning of OL1, a putative olfactory receptor and its expression in the developing rat heart. *Receptors Channels*, 1995, 3(1): 33–40.
- [28] Thomas MB, Haines SL, Akeson RA. Chemoreceptors expressed in taste, olfactory and male reproductive tissues. *Gene*, 1996, 178(1–2): 1–5. [\[DOI\]](#)
- [29] Nef S, Nef P. Olfaction: transient expression of a putative odorant receptor in the avian notochord. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(9): 4766–4771. [\[DOI\]](#)
- [30] Goto T, Salpekar A, Monk M. Expression of a testis-specific member of the olfactory receptor gene family in human primordial germ cells. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7(6): 553–558. [\[DOI\]](#)
- [31] Feingold EA, Penny LA, Nienhuis AW, Forget BG. An olfactory receptor gene is located in the extended human beta-globin gene cluster and is expressed in erythroid cells. *Genomics*, 1999, 61(1): 15–23. [\[DOI\]](#)
- [32] Branscomb A, Seger J, White RL. Evolution of odorant receptors expressed in mammalian testes. *Genetics*, 2000, 156(2): 785–797.
- [33] Spehr M, Gisselmann G, Poplawski A, Riffell JA, Wetzel C H, Zimmer RK, Hatt H. Identification of a testicular odorant receptor mediating human sperm chemotaxis. *Science*, 2003, 299(5615): 2054–2058. [\[DOI\]](#)
- [34] Spehr M, Schwane K, Riffell JA, Zimmer RK, Hatt H. Odorant receptors and olfactory-like signaling mechanisms in mammalian sperm. *Mol Cell Endocrinol*, 2006, 250(1–2): 128–136. [\[DOI\]](#)
- [35] Irie-Kushiyama S, Asano-Miyoshi M, Suda T, Abe K, Emori Y. Identification of 24 genes and two pseudogenes

- coding for olfactory receptors in Japanese loach, classified into four subfamilies: a putative evolutionary process for fish olfactory receptor genes by comprehensive phylogenetic analysis. *Gene*, 2004, 325: 123–135. [\[DOI\]](#)
- [36] Lssell-Tarver L, Rine J. Organization and expression of canine olfactory receptor genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(20): 10897–10902. [\[DOI\]](#)
- [37] Lssell-Tarver L, Rine J. The evolution of mammalian olfactory receptor genes. *Genetics*, 1997, 145(1): 185–195.
- [38] Krautwurst D, Yau KW, Reed RR. Identification of ligands for olfactory receptors by functional expression of a receptor library. *Cell*, 1998, 95(7): 917–926. [\[DOI\]](#)
- [39] Young JM, Shykind BM, IAlne RP, Tonnes-Priddy L, Ross JA, Walker M, Williams EM, Trask BJ. Odorant receptor expressed sequence tags demonstrate olfactory expression of over 400 genes, extensive alternate splicing and unequal expression levels. *Genome Biol*, 2003, 4(11): R71. [\[DOI\]](#)
- [40] Gilad Y, Wiebel V, Przeworski M, Lancet D, Paabo S. Loss of olfactory receptor genes coincides with the acquisition of full trichromatic vision in primates. *Plos Biology*, 2004, 2 (1): 120–125. [\[DOI\]](#)
- [41] Rouquier S, Blancher A, Giorgi D. The olfactory receptor gene repertoire in primates and mouse: evidence for reduction of the functional fraction in primates. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(6): 2870–2874. [\[DOI\]](#)
- [42] Takushi K, Shin K, Shirayama Y, Fukami H. The olfactory receptor gene repertoires in secondary-adapted marine vertebrates: evidence for reduction of the functional proportions in cetaceans. *Biol Lett*, 2007, 3(4): 428–430. [\[DOI\]](#)
- [43] Dahanukar A, Hallem EA, Carlson JR. Insect chemoreception. *Curr Opin Neurobiol*, 2005, 15(4): 423–430. [\[DOI\]](#)
- [44] Laska M, Genzel D, Wieser A. The number of functional olfactory receptor genes and the relative size of olfactory brain structures are poor predictors of olfactory discrimination performance with enantiomers. *Chemical Senses*, 2005, 30(2): 171–175. [\[DOI\]](#)
- [45] Yang Z, Bielawski JP. Statistical methods for detecting molecular adaptation. *Trends Ecol Evol*, 2000, 15(12): 496–503. [\[DOI\]](#)
- [46] Alioto TS, Ngai J. The odorant receptor repertoire of teleost fish. *BMC Genomics*. 2005, 6: 173. [\[DOI\]](#)
- [47] Ngai J, Dowling MM, Buck L, Axel R, Chess A. The family of genes encoding odorant receptors in the channel catfish. *Cell*, 1993, 72(5): 657–666. [\[DOI\]](#)
- [48] Gilad Y, Bustamante CD, Lancet D, Paabo S. Natural selection on the olfactory receptor gene family in humans and chimpanzees. *Am J Hum Genet*, 2003, 73(3): 489–501
- [49] Hughes AL, Hughes MK. Adaptive evolution in the rat olfactory receptor gene family. *J Mol Evol*, 1993, 36(3): 249–254. [\[DOI\]](#)
- [50] Young JM, Friedman C, Williams EM, Ross JA, Tonnes-Priddy L, Trask BJ. Different evolutionary processes shaped the mouse and human olfactory receptor gene families. *Hum Mol Genet*, 2002, 11(5): 535–546. [\[DOI\]](#)
- [51] Ehlers A, Beck S, Forbes SA, Trowsdale J, Volz A, Younger R, Ziegler A. MHC-linked olfactory receptor loci exhibit polymorphism and contribute to extended HLA/OR-haplotypes. *Genome Res*, 2000, 10(12): 1968–978. [\[DOI\]](#)
- [52] Steiger SS, Fidler AE, Valcu M, Kempnaers B. Avian olfactory receptor gene repertoires: evidence for a well-developed sense of smell in birds. *Proc R Soc B*, 2008, 275(1649): 2309–2317. [\[DOI\]](#)
- [53] Throne C, Serpell J. Feeding behaviour of domestic dogs and the role of experience. In: *The Domestic Dog: Its Evolution, Behaviour and Interactions with people*. UK: Cambridge University Press, 1995, 104–114. [\[DOI\]](#)
- [54] Chess A, Simon I, Cedar H, Axel R. Allelic inactivation regulates olfactory receptor gene expression. *Cell*, 1994, 78(5): 823–834. [\[DOI\]](#)
- [55] Ressler KJ, Sullivan SL, Buck LB. A zonal organization of odorant receptor gene expression in the olfactory epithelium. *Cell*, 1993, 73(3): 597–609. [\[DOI\]](#)
- [56] Lesniak A, Walczak M, Jezierski T, Sacharczuk M, Gawkowski M, Jaszczak K. Canine olfactory receptor gene polymorphism and its relation to odor detection performance by sniffer dogs. *J Hered*, 2008, 99(5): 518–527. [\[DOI\]](#)
- [57] Robin S, Tacher S, Rimbault M, Vaysse A, Dréano S, André C, Hitte C, Galibert F. Genetic diversity of canine olfactory receptors. *BMC Genomics*, 2009, 10: 21, 1471–2164.
- [58] Menashe I, Feldmesser E, Lancet D. Genetic Basis of Olfactory Deficits. *Genomic Disorders*. Humana Press, 2006, 101–113.
- [59] Olender T, Feldmesser E, Atarot T, Eisenstein M, Lancet D. The olfactory receptor universe from whole genome analysis to structure and evolution. *Genet Mol Res*, 2004, 3(4): 545–553.
- [60] Pilpel Y, Lancet D. The variable and conserved interfaces of modeled olfactory receptor proteins. *Protein Science*, 1999, 8(5): 969–977. [\[DOI\]](#)
- [61] Man O, Gilad Y, Lancet D. Prediction of the odorant binding site of olfactory receptor proteins by humanmouse comparisons. *Protein Sci*, 2004, 13(1): 240–254. [\[DOI\]](#)
- [62] Serizawa S, Miyamichi K, Sakano H. One neuron-one receptor rule in the mouse olfactory system. *Trends Genet*, 2004, 20(12): 648–653. [\[DOI\]](#)