

昆虫嗅觉感受细胞电反应计算机数据分析

吴 锋

(北京志同电子公司 北京 100080)

吴才宏

(北京大学生命科学学院 北京 100871)

昆虫触角电位和单个嗅觉感受细胞电反应记录已成为研究昆虫性信息素及化学通讯机制的重要手段。实验中要记录和分析处理大量数据。在所记录的电信号中,某些重要的动力学特征参数属于毫秒数量级,很难用常规方法进行准确测量。利用计算机配上专用软件,则可摆脱繁重劳动进行准确测量、精确分析。SD-软件是以 Quick Basic 语言和汇编语言结合开发而成的专用软件,底层的采集和存储充分利用汇编语言的指令少及运行速度快的优势,上层界面发挥 Quick Basic 语言编程简易和图形丰富的特点。SD-软件是基于 Dos 操作系统开发的专用软件,适用于各种兼容 386, 486 计算机。本软件专用性强,操作简单,效果良好,值得推广普及。

1 昆虫触角电图和单个嗅觉感受细胞电反应的特征

1.1 触角电图(EAG)

昆虫触角是接收化学信息的感受器官,在昆虫化学通讯中起着重要作用。触角电图(Electroantennogram EAG)记录由气味刺激引起的整个触角上对刺激气味敏感的所有细胞的综合电位。EAG一般表示去极化反应,振幅大小是衡量其对某种气味化合物敏感性的标志^[1]。EAG的时程一般在0.5~2s左右,如图1所示。

1.2 单细胞电反应记录

由于EAG表示整个触角上众多细胞的综合电位,因而单细胞记录比EAG能提供更为真实可靠的信息。在触角的一个毛形感器中常含有1~3个不同类型的嗅觉感受细胞,每个感受细胞只对一种化学物质具有特异的敏感性。不同振幅的神经脉冲是区别不同类型嗅觉感受细胞的一个重要的标志^[2],如图2所示天蚕对某种气味化合物的单细胞反应。

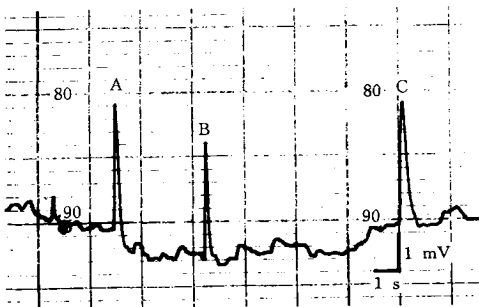


图1 棉铃虫的EAG反应

$10^{-2}\mu\text{g}$ 的青叶醇(A), 己醇(B), $10^{-3}\mu\text{g}$ 的Z11-16:Al(C)

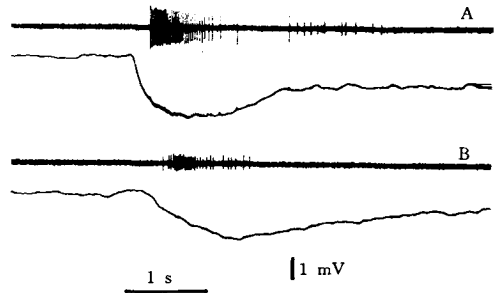


图2 柞蚕雄蛾触角单个毛形感器对性信息素组分的反应
对 $10^{-3}\mu\text{g}$ 的E6, Z11-16:Al (A), 对 $10^{-3}\mu\text{g}$ 的E6, Z11-16:Ac (B).
上线为AC记录的神经脉冲反应, 下线为DC记录的感受器电位

2 数据采集和实时显示

本系统由 PC /AT机、16通道 12位 A /D-D /A 数据采集器(中国科学院计算所)及打印机或绘图仪组成。SD-软件的设计采用组合结构及窗口式用户界面,全部操作均由鼠标控制执行。

系统所采集的数据可以从数据磁带记录器回放原始记录,也可以直接联机由微电极放大器输出经由高、低通滤波后实时采样。采样间隔设定为 $66\mu\text{s}$,在同步触发信号后的 2s 内采集 3 万个点的信号参数,采集点足够密集,以尽量避免信号失真。本系统可分别采集触角电图(EAG)和单细胞记录信号。单细胞反应为并行三路信号,分别记录 AC 耦合的神经脉冲反应、DC 耦合的感受器电位及刺激信号标记。

采集的信号参数直接写入计算机的扩展内存,利用其作为缓冲区,可以满足迅速读写和显示的需要。因此,在 2s 的采样期间,可以任意选取一段波形,用 $30\,000/640$, $15\,000/640$, $10\,000/640$, $5\,000/640$, $2\,000/640$ 和 $640/640$ 等 6 个级别,观察所需的局部波形的细微差别。SD-软件可以设定界面参数,以实现将时间轴展宽或压缩,能以不同的显示比例任意放大或缩小指定的一段波形。采集得到的数据可以文件形式存入硬盘,供随时调用。

3 数据分析

3.1 EAG 反应及感受器电位幅值的测量

在采样前输入放大器的增益参数或实时采入标准的方波信号,就可定义 EAG 反应的幅值,以数字显示。

3.2 不同振幅的神经脉冲的识别和计数

对于单细胞反应,不同类型的嗅觉感受细胞发放不同振幅的神经脉冲。由于神经脉冲的频率较高,通常需采用价格昂贵的高频响喷墨记录器。尤其在高刺激强度的情况下,人的视觉很难对神经脉冲作准确的计数。SD-软件可根据脉冲振幅的大小,设置不同水平的检测线,这样可以分别得到设定期间内的大、小神经脉冲数及总脉冲数^[1],如图 3 所示。

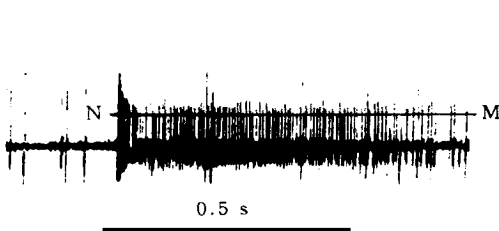


图 3 烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 对性信息素组分 $10^{-3}\mu\text{g}$ 的 Z11-16:Al 的反应
直线 M—N 为窗口检测线,对被窗口检测线切割的脉冲计数。底线为气味刺激期间和计数期间 0.5 s

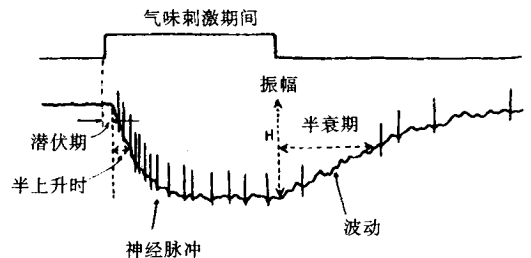


图 4 感受器电位的动力学参数
反应的潜伏期;感受器电位上升到 1/2 最大值所需的时间;感受器电位从最大值下降 1/2 所需的时间及波动状态

3.3 单细胞反应的动力学参数测量

性信息素感受细胞对特定的性信息素组分有特异的敏感性,不同类型的性信息素感受细胞有特定

的动力学参数, 它反映了嗅觉感受细胞的传输特征。SD-软件用中值滤波法排除杂波噪音的干扰, 并用比较法确定波形的最低点(即去极化电位的最大值)。通过计算求得斜率最大值, 即可得到感受器电位上升相的半时程和下降相的半时程; 反应的潜伏期 T 也可以通过比较法求得^[4], 如图4所示。

4 建立数据库

嗅觉感受细胞的反应谱是对应于及不同的气味刺激剂量, 而昆虫雌蛾的性信息素系统常常是多组分化合物的混合物, 雄蛾触角感受系统有相应的几种不同类型的嗅觉感受细胞。记录不同类型的嗅觉感受细胞对不同的气味化合物在不同浓度反应, 因此实验所记录的数据量是很大的, SD-软件根据所设定的参数以文件形式建立数据库。文件中含有实验日期、文件编号、昆虫名称、气味刺激剂量及放大器的放大倍数等有关参数。建立了数据库, 即可大大节省存储图形的空间。

5 统计分析的结果

5.1 剂量-反应曲线

SD-软件提供的数据结果的文件格式可被 Windows Excel 5.0 软件直接调用, 绘制剂量-反应曲线, 用以确定性信息素系统各组分及其类似物的生物活性、反应阈值及产生感受器电位饱和和振幅的气味刺激剂量。曲线的横坐标是气味刺激剂量的对数, 纵坐标可以是感受器电位的振幅, 也可以是反应的前500ms的神经脉冲数^[5], 如图5所示。

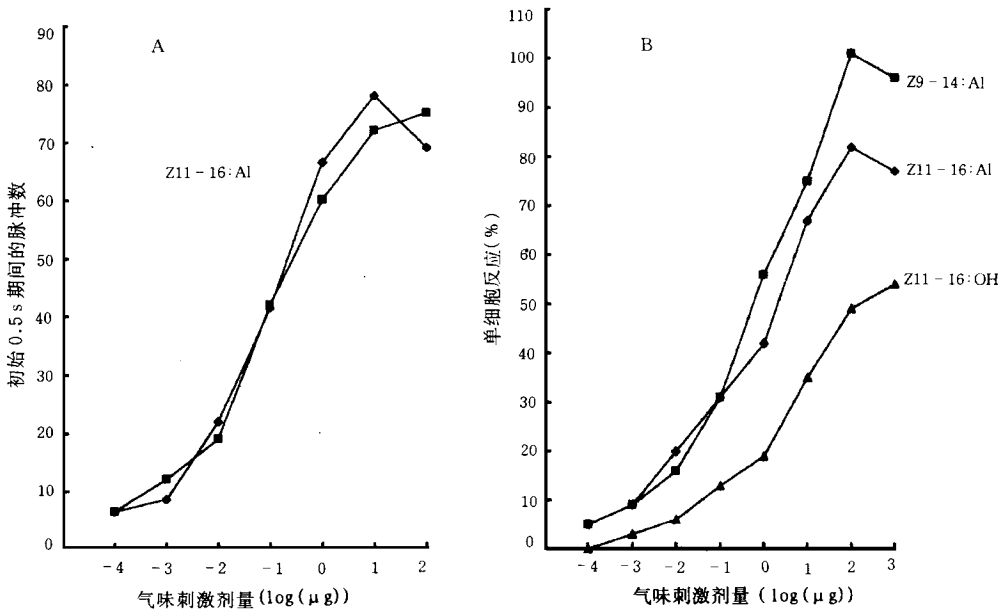


图5 烟芽夜蛾对气味刺激的剂量-反应曲线

- A. 对不同剂量的性信息素组分 Z11-16:Al 的脉冲反应; B. 对三种性信息素组分 (Z9-14:Al, Z11-16:Al, Z11-16:OH) 反应活性的比较, 纵坐标以最大感受器电位的百分数作为相对反应值

5.2 神经脉冲间隔直方图

神经脉冲间隔直方图可以得到不同类型的嗅觉感受细胞对各种气味化合物在不同浓度下的反应谱, 对反应谱可作定性或定量的比较, 从中可以得到不同类型的嗅觉感受细胞化学特异性的重要信息^[6,7], 如图 6 所示。

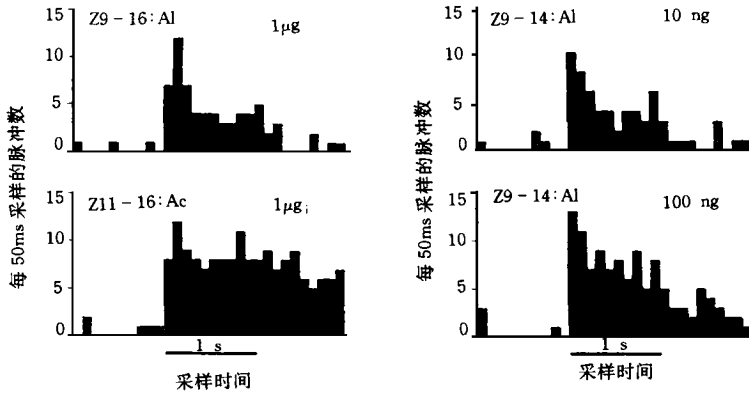


图 6 谷实夜蛾 *Heliothis zea* 对几种化合物(Z9-14:Al, Z9-16:Al, Z11-16:Ac)的脉冲反应的时间间隔直方图
底部黑线为气味刺激期间 1s

参 考 文 献

- 1 Hanson F E *et al.* Mechanisms in Insect Olfaction. Oxford, 1986, 269 ~ 278
- 2 James L F *et al.* Recording and Analysis of Insect Chemosensory. Oxford, 1987, 286 ~ 330
- 3 Kaissling K -E. Structure of odour molecules and multiple activities of receptor cells. Olfaction and Taste VI, Paris, 1977
- 4 Kaissling K -E. Chemo-electrical transduction in insect olfactory receptors, Ann. Rev. Neurosci. 1986, 9, 121 ~ 145
- 5 Roelofs W L *et al.* Sex pheromone perception: Electroantennogram responses of the red-banded leaf roller moth. J. Insect Physiol. 1971, 17: 1869 ~ 1882
- 6 刘克球, 程会文. 美洲蜚蠊机械感受器输出信号的计算机分析. 生物物理学报, 1992, 8(4): 629 ~ 633
- 7 郭京虎, 屈金河, 郑永芳. 离子通道记录数据分析的程序. 基础医学与临床. 1992, 12(5): 60 ~ 64

THE PROGRAM OF COMPUTER ANALYSIS FOR THE RESPONSES OF OLFACTORY RECEPTOR CELLS IN INSECTS

Wu Feng

Wu Caihong

(Beijing Conway Electronic Corporation Beijing 100080) (College of Life Sciences, Peking University Beijing 100871)