

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2019.05.015

印度谷螟 *PintGOBP2* 基因的全长序列克隆及其生物信息学分析

李 慧, 王殿轩

(河南工业大学 粮油食品学院, 粮食储藏与安全教育工程研究中心,
粮食储运国家工程实验室, 河南 郑州 450001)

摘 要: 印度谷螟 *Plodia interpunctella* (Hübner), 是一种危害性较严重的仓储害虫, 在我国广泛分布。在其感染寄主的过程中, 气味结合蛋白 (OBPs) 对印度谷螟的行为反应有重要作用。通过转录组数据筛选、鉴定获得印度谷螟 *OBP* 基因序列, 并命名为 *PintGOBP2*, 用 DNAMAN 对其进行序列分析, BLAST 进行同源性比较, 并使用 MEGA6.0 构建系统发育进化树。结果表明: 印度谷螟普通气味结合蛋白 *PintGOBP2* 的编码基因开放阅读框全长 426 bp, 编码 141 个氨基酸, 预测分子量为 15.48 kDa, 等电点为 4.39; N 末端具有 16 个氨基酸残基组成的信号肽序列, 并含有由 6 个半胱氨酸组成的保守片段, 属于 Classical OBPs 亚家族基因。同源比对结果表明, *PintGOBP2* 基因编码蛋白与其他鳞翅目昆虫 GOBP 蛋白具有较高的同源性。进化树分析结果表明, *PintGOBP2* 基因与翅目昆虫 GOBP 超家族内相关基因的同源很高。研究结果为进一步分析印度谷螟 *PintGOBP2* 蛋白在其嗅觉信号传导过程中的生理功能提供了基础材料。

关键词: 印度谷螟; 普通气味结合蛋白; 基因克隆; 生物信息学分析

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2019)05-0075-08

网络出版时间: 2019-08-15 13:55:12

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.ts.20190815.1354.002.html>

Cloning and bioinformatic analysis of *PintGOBP2* gene in *Plodiainterpunctella* (Hübner)

LI Hui, WANG Dian-xuan

(College of Food Science and Technology, Grain Storage and Security Engineering Research
Center of Ministry of Education, National Engineering Laboratory of Grain Storage and
Logistics, Henan University of Technology, Zhengzhou Henan 450001)

Abstract: The Indian meal moth, *Plodiainterpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae, Pyralidae) is a kind of destructive polyphagous storage pests that is widely distributed in China. The odorant binding protein (OBPs) plays an important role in the behavioral response of the Indian moth in infection of its host. An Indian meal moth *OBP* gene sequence was obtained by screening and identifying the transcriptome data and named *PintGOBP2*, which was analyzed by DNAMAN and homology comparison was performed by BLAST, phylogenetic trees were constructed using MEGA 6.0. The results showed that the open reading frame of the *PintGOBP2* was 426 bp, encoding 141 amino acids with a molecular weight 15.48 kDa, and an isoelectric point of 4.39; the deduced amino acid sequence possesses a putative signal peptide of 16 amino

收稿日期: 2018-12-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31501891); 河南省高等学校重点科研项目 (16A210016); 河南工业大学“校高层次人才基金”项目 (2014BS010)

作者简介: 李慧, 1980 年生, 男, 博士, 讲师。

acid residues at the N terminus. There are 6 conservative cysteine sites in the protein sequence, belongs to the Classical OBPs family genes. Homologous alignment showed that *PintGOBP2* has high similarity with other lepidoptera insects GOBP. Further Phylogenetic analysis showed that *PintGOBP2* could be clustered in the GOBP superfamily of lepidoptera insects. The results provide a molecular basis for further analysis of the physiological function of *PintGOBP2* in the process of olfactory signal transmission in the *P. interpunctella*.

Key words: *Plodia interpunctella* (Hübner); general odorant binding protein; gene cloning; bioinformatics analysis

印度谷螟 *Plodia interpunctella* (Hübner), 属鳞翅目, 斑螟科, 是一种世界性的储粮害虫。成虫善飞, 容易引起反复感染, 大面积爆发时难以控制。幼虫食性复杂, 是极重要的初期性害虫, 老熟幼虫吐丝成网或缀粮成块, 并排出大量带有臭味的粪便, 伴随粮食结露等现象, 导致被害粮食极易发霉变质无法使用^[1-4]。该虫虽然寄主广泛, 但其取食具有明显的偏好性, 最喜食玉米, 其次是小麦和稻谷。寄主植物能够释放出特定的挥发性气味物质, 昆虫利用其灵敏的嗅觉感受系统, 一般通过存在于嗅觉感器中气味结合蛋白 (Odorant Binding Proteins, OBPs) 识别、鉴定空气中散布的挥发性化学信息素, 实现对寄主的远程定位^[5-9], 从而获得有关寄主、生殖和产卵场所等其他有利于其生存和繁殖的信息^[10]。

气味结合蛋白 OBPs 是一种水溶性小分子球状蛋白质, 广泛存在于昆虫触角淋巴液中, 可与进入嗅觉感器腔内的气味分子结合, 并运输气味分子到达神经末梢与气味受体结合, 将化学刺激转变为电信号, 释放神经冲动, 使昆虫产生特定的生理和行为反应。昆虫 OBPs 的典型特征是具有 6 个保守的半胱氨酸, 分别交叉形成 3 个二硫键^[11]。通过性外激素标记的方法, 昆虫 OBPs 首先在雄性多音天蚕蛾 *Antheraea polyphemus* 触角感器淋巴液中被发现^[12], 并被命名为性信息素结合蛋白。之后, 利用基因组学和转录组学的方法, 从鳞翅目、鞘翅目、网翅目等 30 多种昆虫中均克隆鉴定出有 OBPs 的表达分布^[5,14-15]。

近年来, 随着高通量测序技术的飞速发展, 转录组测序广泛应用于动植物的基因挖掘、功能鉴定和遗传进化等各个领域, 特别是无参考基因组信息的昆虫转录组的研究发展更为迅猛^[16]。由

于仓储害虫发生环境的特殊性, 传统化学农药难以直接应用, 新技术如引诱剂诱捕、交配干扰等方法也都存在成本高、应用效果难以达到预期目标等问题。如何快速、持续有效地防控印度谷螟仍是当前粮食储藏过程中所面临的严峻问题, 其中, 利用分子技术调控昆虫寻找寄主、交配选择和产卵行为等是未来进行仓储害虫防治的一个重要研究领域。本研究以印度谷螟为研究对象, 基于印度谷螟转录组数据分析, 采用分子生物学手段, 对印度谷螟 *PintGOBP2* 基因进行研究, 不仅可以为阐明印度谷螟的嗅觉识别机制奠定基础, 而且有助于推动印度谷螟行为调控技术的开发和应用。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

印度谷螟 *Plodia interpunctella* 采自河南省郑州市河南工业大学莲花街校区储藏物害虫防治实验室培养的数代成虫。随机选取健康的刚羽化后的印度谷螟成虫放在养虫室内培养。相对湿度控制在 $(70\pm 5)\%$, 温度控制在 $(28\pm 1)^\circ\text{C}$, 光周期 16L 8D。收集成虫触角用液氮冷冻, 存于 -80°C 备用。

1.2 印度谷螟总 RNA 提取及 cDNA 合成

将收集的样品立即置于用液氮预冷的小型研钵中迅速研磨, 参照 RNAiso Plus (TaKaRa) 提供的说明书提取触角总 RNA, 加入适量 Nuclease-Free 水溶解沉淀, 使用微量分光光度计测定 OD260/OD280 值, 同时 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的完整性, 按照 Reverse Transcription System (Promega 公司) 反转录合成第一链 cDNA, -20°C 保存备用, 具体实验步骤参照试剂盒说明书。

1.3 *PintOBP2* 全长 cDNA 序列克隆

根据转录组测序数据, 利用生物信息学分析,

获得 *PintGOBP2* 基因全长序列, 使用 Primer Premier 5.0 设计特异性引物, 引物序列如下:

PintGOBP2-F:

5'-ATGGAATACCTTGCAGTTTTA-3';

PintGOBP2-R:

5'-TTATTTGGAGTTTTCTACAAA-3'.

以反转录的第一链 cDNA 为模板进行 PCR, PCR 反应体系为 25 μ L: Ex-Taq buffer 2.5 μ L, dNTP Mixture 2.0 μ L, 上下游引物 (10 μ mol/L) 各 1 μ L, cDNA 模板 1 μ L, 其余用 ddH₂O 补足。PCR 反应条件: 预变性 95 1min; 每个循环条件为 94 30 s; 52 30 s; 72 30 s, 35 个循环; 72 10 min; 4 保存。用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 切下目的条带, 使用 DNA 凝胶回收试剂盒回收纯化 PCR 产物 (Axygen 公司), 纯化产物连接到 pGEM-T Easy 载体 (Promega 公司) 上, 然后转化 DH5 α 感受态细胞 (博迈德公司), 进行蓝白斑筛选, 及菌液 PCR 验证后 (图 1), 随机挑取 5 个阳性克隆送交生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。使用 DNASTAR®Lasergene 软件中的 SeqMan 分析, 得到完整的 *PintGOBP2* 基因编码区序列。

1.4 序列鉴定及进化树分析

印度谷螟 *PintGOBP2* 开放阅读框预测及蛋白质翻译由 DNAMAN 软件进行, 蛋白理论分子量和等电点由 ExPASy 服务器中的 Compute pI/MW 程序预测 (http://www.expasy.org/compute_pi/); 利用网络服务器 SignalP 4.1 软件 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 预测 *PintGOBP2* 信号肽; 双螺旋结构和 3D 同源建模由 <http://esprict.ibcp.fr/ESPrict/cgi-bin/ESPrict.cgi>、<http://swissmodel.expasy.org> 预测分析。

利用 NCBI 中的 BLASTx 程序进行序列相似性搜索比对, 采用 DNAMAN 软件进行蛋白序列的同源性比对, 获得印度谷螟 *PintGOBP2* 与其他昆虫 OBP 基因序列的比对结果, 用 MEGA6.0 软件构建蛋白的系统发育进化树, 用邻接法 (neighborjoining) 并经 bootstrap 重复 1 000 次抽样分析; 最后使用 Figtree v1.4.0 和 Photoshop CS5 软件对系统进化树进行特殊标记, 并对印度谷螟

等昆虫的 OBP 基因进行系统进化树分析。

2 结果与分析

2.1 印度谷螟普通气味结合蛋白 *PintGOBP2* 基因的克隆与序列分析

以印度谷螟成虫触角 cDNA 为模板, PCR 扩增获得一个印度谷螟气味结合蛋白基因, 命名为 *PintGOBP2* (cDNA 序列及其编码的蛋白序列如图 1, 2 所示)。 *PintGOBP2* 开放阅读框 (open reading frame, ORF) 包含 426 个核苷酸, 编码 141 个氨基酸, 预测其蛋白分子量大小为 15.48kD, 等电点为 4.39, 经软件预测, *PintGOBP2* 的 N-端 16 个氨基酸为其信号肽序列 (图 3)。

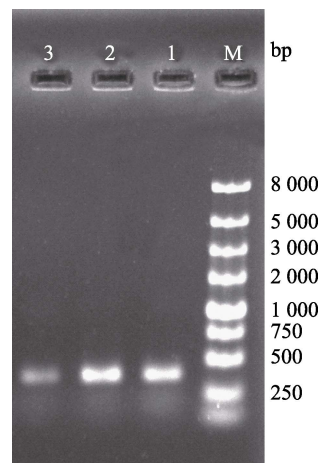


图 1 印度谷螟 *PintGOBP2* 阳性克隆

注: M 为 DNA marker, 1~3 为阳性克隆的 3 个生物学重复。

2.2 *PintGOBP2* 氨基酸多序列比对及系统进化分析

利用 NCBI-BLAST 网络服务器 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) 及 NCBI-GenBank 序列库中已登录序列对 *PintGOBP2* 进行家族预测分析, 结果 (图 4) 表明, *PintGOBP2* 基因属于昆虫 PBP-GOBP 超家族。

利用 NCBI 数据库中的 blastx 程序对印度谷螟 *PintGOBP2* 进行序列相似性搜索 ($E\text{-value} < 10^{-5}$), 获取与 *PintGOBP2* 相似性高的其他种昆虫 GOBP 氨基酸序列 6 种, 利用 DNAMAN 对 *PintGOBP2* 和其它鳞翅目昆虫同源序列进行氨基酸序列比对 (图 5)。结果显示, *PintGOBP2* 与鳞翅目昆虫 GOBP 同源性较差, 其中与家蚕的

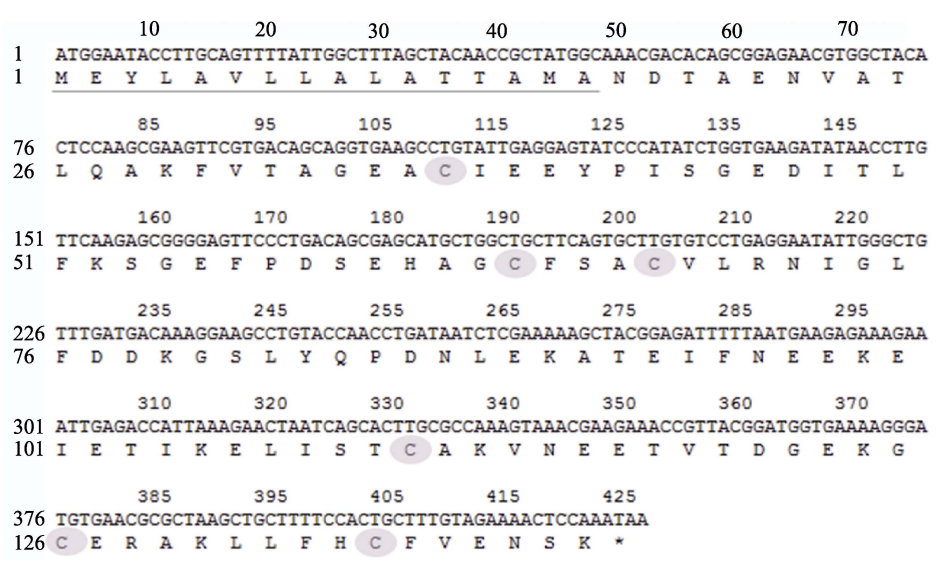


图 2 印度谷螟 *PintGOBP2* 核苷酸及氨基酸序列

注：预测的信号肽用下划线表示，6 个保守的半胱氨酸位点用灰色底纹的圆圈表示。

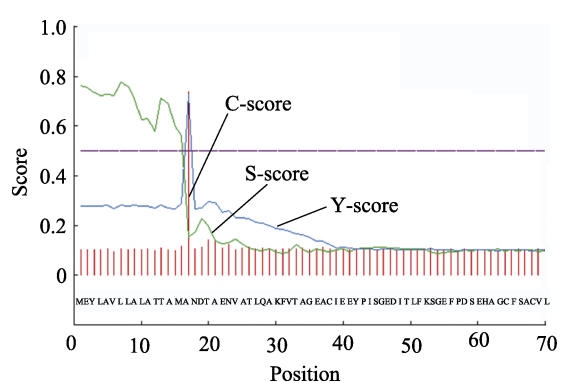


图 3 印度谷螟 *PintGOBP2* 基因信号肽预测

BmorGOBP99a (GenBank 登录号 : XP_004928233.1) 相似性最高 , 一致性为 43.42% ; 与棉铃虫的 HarmGOBP69a-like (GenBank 登录号 : XP_021194654.1) 相似性最低 , 一致性为 29.33% 。氨基酸序列多重联配结果表明 , *PintGOBP2* 具有 6 个保守的半胱氨酸位点 , 属于典型的 OBP 家族。

利用 *PintGOBP2* 同已有的巢菜修尾蚜 MvicOBP3 晶体结构的同源预测发现 , *PintGOBP2* 同 MvicOBP3 类似 , 均含有 6 个 α -螺旋和 1 个额外

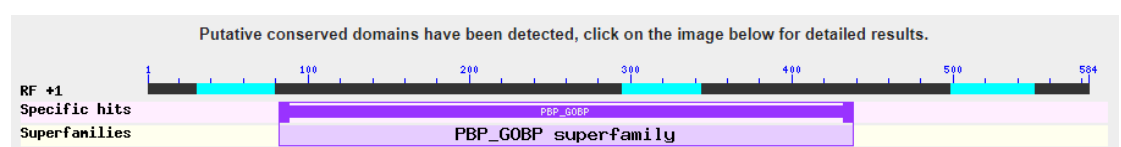


图 4 印度谷螟 *PintGOBP2* 家族预测

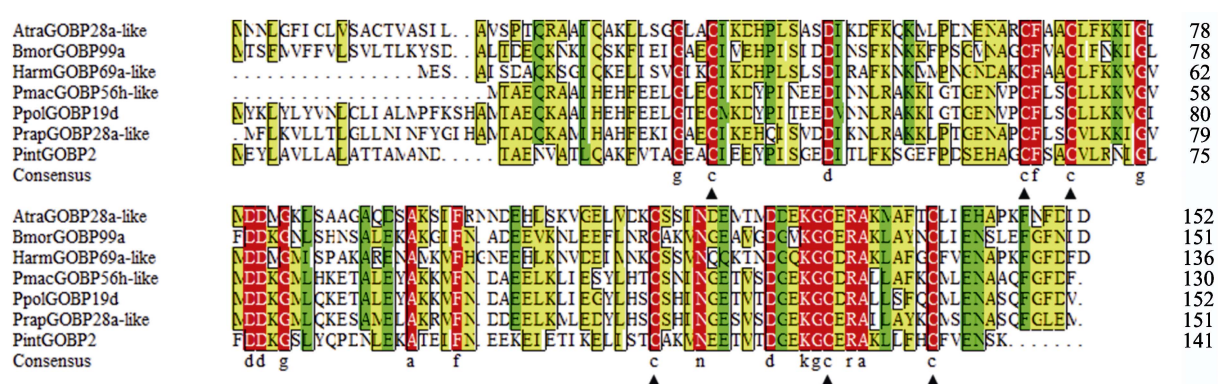


图 5 印度谷螟 *PintGOBP2* 与其他昆虫 GOBPs 氨基酸序列比对

注：三角符号表示保守的半胱氨酸残基。普通气味结合蛋白来源物种及 GenBank 登录号：脐橙螟蛾 *Amyelois transitella* (AtrGOBP28a-like , XP_013191473.1) ；家蚕 *Bombyx mori* (BmorGOBP99a , XP_004928233.1) ；棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (HarmGOBP69a-like , XP_021194654.1) ；金凤蝶 *Papilio machaon* (PmacGOBP56h-like , XP_014370103.1) ；玉带凤蝶 *Papilio polytes* (PpolGOBP19d , XP_013136188.1) ；菜粉蝶 *Pieris rapae* (PrapGOBP28a-like , XP_022112420.1)

α -螺旋(图 6A), 猜测这些螺旋机构可能会参与到印度谷螟性信息素的识别过程中。输入 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) 分析其

蛋白质三级结构, 结果如图 6B 所示, 也可以发现其主要结构为 6 个 α 螺旋, 同时发现有无规则线圈、延长线和 β 转角少量存在。

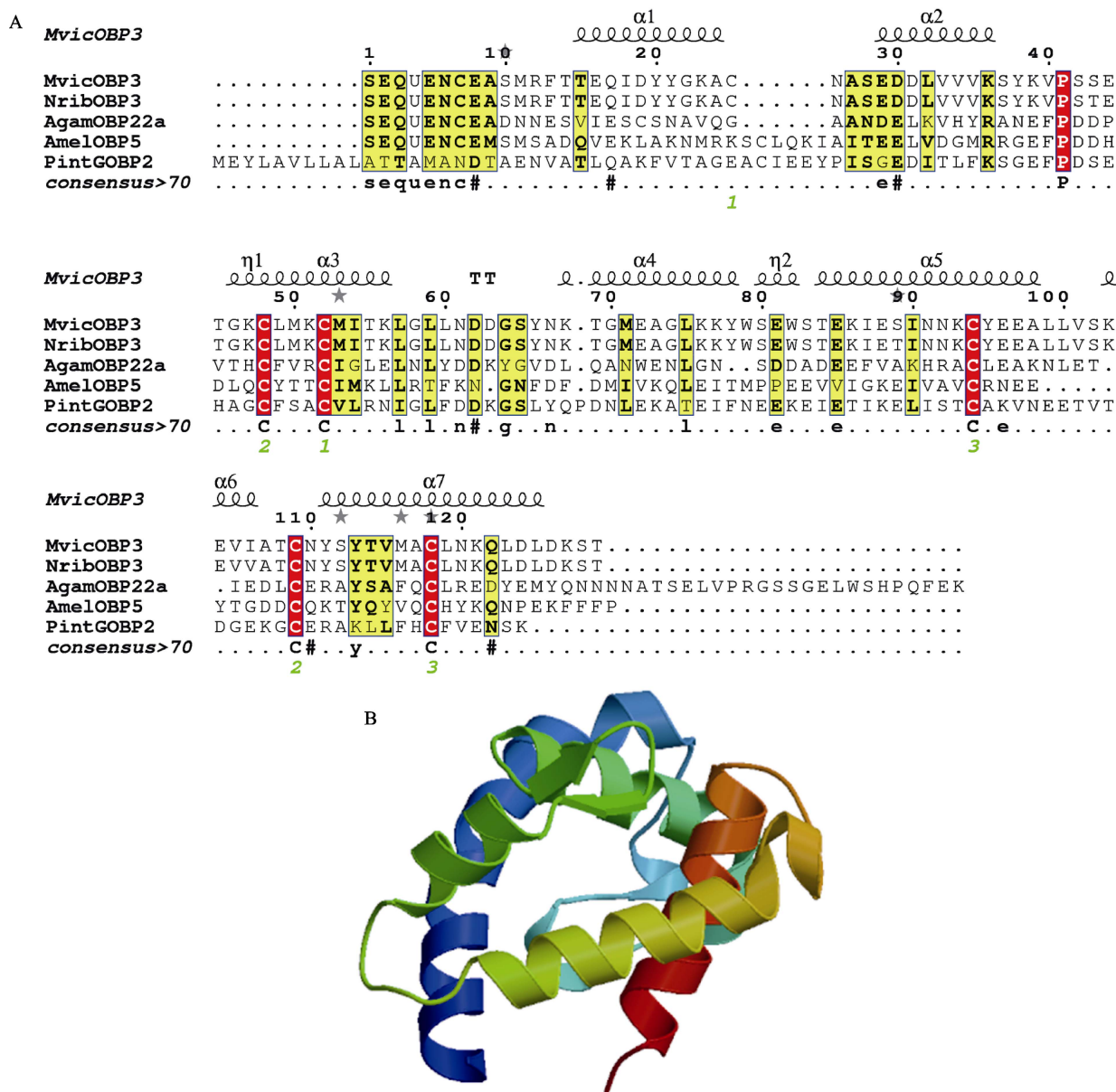


图 6 印度谷螟 *PintGOBP2* 蛋白质结构信息

注：图 A-PintGOBP2 和 *MvicOBP3* 序列比对，二硫键用 1-3 表示， $\alpha 1-7$ 代表有 7 个 α 螺旋，巢菜修尾蚜 *Megoura viciae* (*MvicOBP3*)，莴苣蚜 *Nasonovia ribisnigri* (*NribOBP3*)，中华蜜蜂 *Apis mellifera* (*AmelOBP5*)，冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* (*AgamOBP22a*)；图 B-PintGOBP2 三级结构模型

利用 Mega 5.0 软件，采用邻接法 (Neighbor Joining, NJ)，选取与印度谷螟 *PintGOBP2* 序列同源性最高的其它鳞翅目昆虫如双委夜蛾 (*Athetis dissimilis*)、脐橙螟蛾 (*Amyelois transitella*)、家蚕 (*Bombyx mori*)、稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis*)、菜粉蝶 (*Pieris rapae*) 等气味结合

蛋白构建系统进化树 (图 7)，重复抽样 1 000 次，结果同样表明，*PintGOBP2* 能聚在鳞翅目昆虫 PBP/GOBP 超家族内，同时我们发现 *PintGOBP2* 与 *BmorGOBP99a* 处于同一大分枝上，表明二者之间亲缘关系最近，其次是与 *HassOBP33* 和 *SexiOBP9* 关系较近。

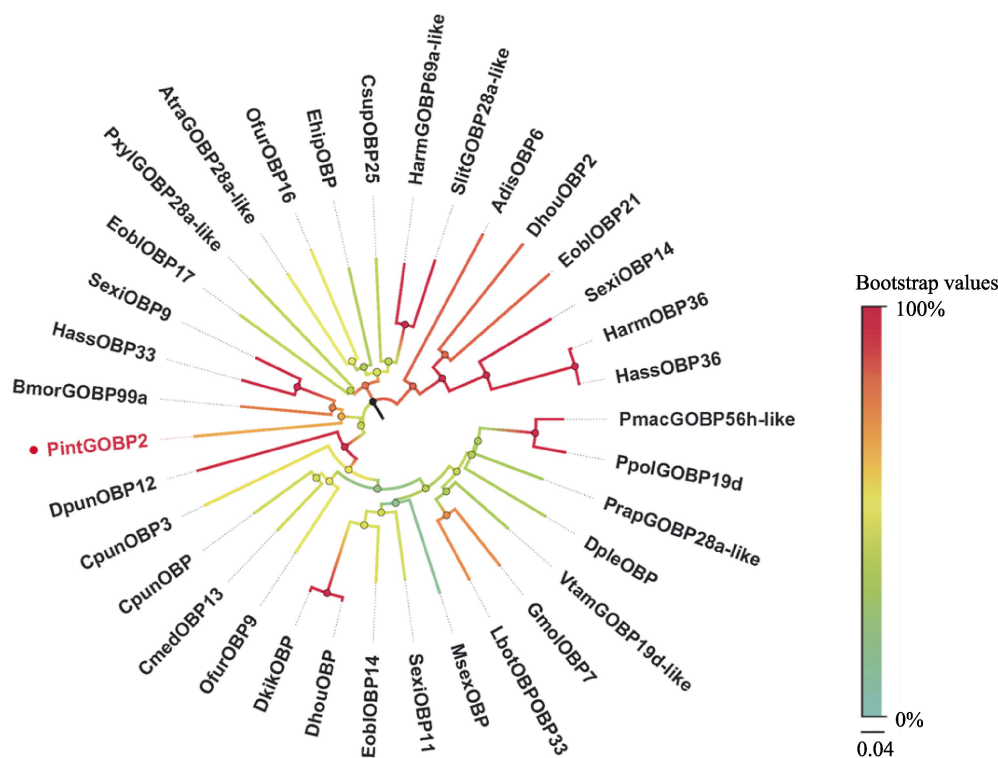


图 7 印度谷螟 *PintGOBP2* 与其他气味结合蛋白的系统进化树 (邻接法)

注：普通气味结合蛋白来源物种及 GenBank 登录号 Origin species of general odorant binding proteins and their GenBank accession numbers: 双委夜蛾 *Athetis dissimilis* (AdisOBP6, ALZ45421.1); 脐橙螟蛾 *Amyelois transitella* (AtraGOBP28a-like, XP_013191473.1); 家蚕 *Bombyx mori* (BmorGOBP99a, XP_004928233.1); 稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* (CmedOBP13, ALT31643.1); 桃蛀螟 *Conogethes punctiferalis* (CpunOBP, AHX37224.1; CpunOBP3, AHX37225.1); 二化螟 *Chilo suppressalis* (CsupOBP25, ANC68513.1); 云南松毛虫 *Dendrolimus houi* (DhouOBP, AII00972.1; DhouOBP2, AII00969.1); 思茅松毛虫 *Dendrolimus kikuchii* (DkikOBP, AII00991.1); 黑脉金斑蝶 *Danaus plexippus plexippus* (DpleOBP, OWR44714.1); 马尾松毛虫 *Dendrolimus punctatus* (DpunOBP12, ARO70171.1); 沙棘木蠹蛾 *Eogystia hippophaecolus* (EhipOBP, AOG12874.1); 茶尺蠖 *Ectropis obliqua* (EobLOBP14, ALS03862.1; EobLOBP17, ALS03865.1; EobLOBP21, ALS03869.1); 梨小食心虫 *Grapholita molesta* (GmolOBP7, AVZ44706.1); 棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (HarmGOBP69a-like, XP_021194654.1; HarmOBP36, ASA40069.1); 烟实夜蛾 *Helicoverpa assulta* (HassOBP33, ASA40072.1; HassOBP36, ASA40074.1); 葡萄花翅小卷蛾 *Lobesia botrana* (LbotOBP33, AXF48730.1); 烟草天蛾 *Manduca sexta* (MsexOBP, ADK47525.1); 亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (OfurOBP9, BAV56796.1; OfurOBP16, BAV56803.1); 金凤蝶 *Papilio machaon* (PmacGOBP56h-like, XP_014370103.1); 玉带凤蝶 *Papilio polytes* (PpolGOBP19d, XP_013136188.1); 菜粉蝶 *Pieris rapae* (PrapGOBP28a-like, XP_022112420.1); 小菜蛾 *Plutella xylostella* (PxyGOBP28a-like, XP_011557123.1); 甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (SexiOBP9, AGP03455.1; SexiOBP11, AGP03457.1; SexiOBP14, AGP03460.1); 斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (SlitGOBP28a-like, XP_022826771.1); 夏威夷红蛱蝶 *Vanessa tameamea* (VtamGOBP19d-like, XP_026494678.1)

3 结论与讨论

嗅觉相关蛋白在昆虫嗅觉反应行为过程中发挥重要作用, 昆虫 OBP 能够识别和结合外界环境中的信息素等小分子气味物质, 是昆虫嗅觉感受过程的第一步生化反应, 因此嗅觉相关蛋白的筛选及分析是研究昆虫嗅觉分子调控机制的基础。根据昆虫 OBPs 的结构特征、序列相似性以及保守半胱氨酸数量, 可以将其划分为以下几种类型: 经典 OBPs (classic OBPs, 含 6 个保守半胱氨酸), 信息素结合蛋白 (pheromone binding

proteins, PBPs), 普通气味结合蛋白 (general odorant binding protein, GOBPs), 与化学物质有关的亲脂结合蛋白 (chemical-sense-related lipophilic-ligand-binding proteins, CRLBPs), 触角结合蛋白 I、II (antennal binding protein group I、II, ABPI、ABPII), 二聚体 OBPs (Dimer OBP, 含有 12 个保守的半胱氨酸), 多 C OBP (Plus-C OBP, 特征为超过 6 个以上的保守半胱氨酸, 以及在保守位置具有一个脯氨酸), 少 C OBP (Minus-C OBP, 仅有 4 个保守的半胱氨酸) 和非典型 OBP (Atypical

OBP, 含有 9-10 个保守的半胱氨酸)^[17-22], 目前已有约 8 个目 30 余种昆虫的 OBP 得到了分离和鉴定^[11]。

本研究基于印度谷螟转录组测序结果, 首次获得了一个印度谷螟普通气味结合蛋白基因 *PintGOBP2*, 序列比对结果显示, 印度谷螟 *PintGOBP2* 基因具有昆虫 OBP 基因的典型序列特征, 即分子量在 15~17kD 之间, N-末端有 16 个氨基酸组成的信号肽, 编码的氨基酸有 6 个保守的 Cys^[11], 且 Cys 的位置符合昆虫气味结合蛋白的结构模型: C₁-X₂₀₋₆₆-C₂-X₃-C₃-X₂₁₋₄₃-C₄-X₈₋₁₄-C₅-X₈-C₆(X 代表每个半胱氨酸之间间隔的氨基酸残基数), 且第 2 个和第 3 个半胱氨酸间隔 3 个氨基酸、第 5 个和第 6 个半胱氨酸间隔 8 个氨基酸, 属于 Classical OBPs 亚家族^[18,19,22], 同时我们发现第 2 个保守半胱氨酸位点后面的一个氨基酸都是苯丙氨酸(F), 在第 5 个保守半胱氨酸位点前面的两个氨基酸分别是赖氨酸(K)和甘氨酸(G), 推测这些保守的氨基酸对于印度谷螟感受外界气味物质起着至关重要的作用。对氨基酸序列进行亲脂性分析发现 *PintGOBP2* 有多个较强的亲脂性区域, 与已报道的苜蓿盲蝽 *Adelphocoris lineolatus* AlinOBP1^[23] 和桃蛀螟 *Conogethes punctiferalis* CpunPBP1^[24] 的亲脂性区域相似, 推测该区域可能是脂溶性气味分子的结合位点。

大多数昆虫 OBPs 氨基酸序列同源性均比较低, 甚至在昆虫属之间其同源性可能低于 20%^[19]。本研究中, 将 *PintGOBP2* 与不同物种 OBP 做同源序列比对, 结果表明, 其与家蚕的 BmorGOBP99a 相似性最高, 一致性为 43.42%; 同时序列进化分析也表明与 *PintGOBP2* 亲缘关系最近的是 BmorGOBP99a, 其次是与 HassOBP33 和 SexiOBP9 关系较近, 聚在同一分支上, 推测 *PintGOBP2* 与 BmorGOBP99a 可能因为结构相似而具有相似的功能, 同时这 3 个基因可能来源于同一个祖先基因, 在长期进化过程中由于外界环境化学因子刺激产生了分化, 使其在不同物种间行使相同或某些类似的功能。

综上所述, 本研究首次从印度谷螟中得到一个典型 OBP 家族基因 *PintGOBP2*, 并对其进行了初步分析, 结果有利于对 *PintGOBP2* 及其编码蛋白的功能进行深入研究, 同时对了解印度谷螟识别寄主的嗅觉机理, 并进一步研究其生理功能及调控机制提供了理论基础。

参考文献:

- [1] 白旭光. 储藏物害虫与防治[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [2] HOFLEHNER E, BINDER M, HEMMER W, et al. Thioredoxin from the indianmeal moth *Plodia interpunctella*: cloning and test of the allergenic potential in Mice[J]. PLoS One, 2012, 7: e42026.
- [3] BŪDA V, APŠEGAITĖ V, BLAŽYTĖ-ČERESKIENĖ L, et al. Response of moth *Plodia interpunctella* to volatiles of fungus-infected and uninfected wheat grain[J]. Journal of Stored Products Research, 2016, 69: 152–158.
- [4] NASIR M F, ULRICH S C H, PROZELL S, et al. Laboratory studies on parasitism of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by two species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in different grains, and evaluation of traps for their monitoring[J]. Journal of Stored Products Research, 2017, 69: 6–12.
- [5] DE BRUYNE M, CLYNE P J, CARLSON J R. Odor coding in a model olfactory organ: the *Drosophila* maxillary palp[J]. Neurosci, 1999, 19(11): 4520–4532.
- [6] VOGT R G. Odorant binding protein homologues of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*; possible orthologues of the OS-E and OS-F OBPs of *Drosophila melanogaster*[J]. J. Chem Ecol, 2002, 28(11): 2371–2376.
- [7] KWON H W, LU T, RÜTZLER M, et al. Olfactory responses in a gustatory organ of the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae*[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(36): 13526–13531.
- [8] BENTON R. Sensitivity and specificity in *Drosophila* pheromone perception[J]. Trends in Neurosci, 2007, 30(10): 512–519.
- [9] FIELD L M, PICKETT J A, WADHA M S L J. Molecular studies in insect olfaction[J]. Insect Mol Biol, 2000, 9(6): 545–551.
- [10] PELOSI P, ZHOU J J, BAN L P, et al. Soluble proteins in insect chemical communication[J]. Cellular and Molecular Life

- Sciences, 2006, 63(14): 1658–1676.
- [11] MATSUO T, SUGAYA S, YASUKAWA J, et al. Odorant-binding proteins OBP57d and OBP57e affect taste perception and host-plant preference in *Drosophila sechellia*[J]. PLoS Biol, 2007, 5(5): e118.
- [12] ZHANG S A, ZHANG Y J, SU H H, et al. Identification and expression pattern of putative odorant-binding proteins and chemosensory proteins in antennae of the *Microplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae)[J]. Chemical Senses, 2009, 34(6): 503–512.
- [13] VOGT R G, RIDDIFORD L M, PRESTWICH G D. Kinetic properties of a sex pheromone-degrading enzyme: The sensillar esterase of *Antheraea polyphemus*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1985, 82(24): 8827–8831.
- [14] ZHOU J J, VIEIRA F G, HE X L, et al. Genome annotation and comparative analyses of the odorant binding proteins and chemosensory proteins in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*[J]. Insect Molecular Biology, 2010, 19(Suppl. 2): 113–122.
- [15] 张传溪. 中国农业昆虫基因组学研究概况与展望[J]. 中国农业科学, 2015, 48(17): 3454–3462.
- [16] KIRKNESS E F, HAAS B J, SUN W, et al. Genome sequences of the human body louse and its primary endosymbiont provide insights into the permanent parasitic lifestyle[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107: 12168–12173.
- [17] HEKMAT-SCAFE D S, SCAFE C R, MCKINNEY A J, et al. Genome-wide analysis of the odorant-binding protein gene family in *Drosophila melanogaster*[J]. Genome Research, 2002, 12: 1357–1369.
- [18] ZHOU J J. Odorant-binding proteins in insects[J]. Vitamins & Hormones, 2010, 83: 241–272.
- [19] ANGELI S, CERON F, SCALONI A, et al. Purification, structural characterization, cloning and immunocytochemical localization of chemoreception proteins from *Schistocerca gregaria*[J]. Eur J Biochem, 1999, 262: 745–754.
- [20] JI P, GU S, LIU J, et al. Identification and expression profile analysis of odorant-binding protein genes in *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae)[J]. Appl Entomol Zool, 2013, 48: 301–11.
- [21] HUI LI, AIJUN ZHANG, LI-ZHEN CHEN, et al. Construction and analysis of cDNA libraries from the antennae of *Batocera horsfieldi* and expression pattern of putative odorant binding proteins[J]. Journal of Insect Science, 2014, 14(57): 1–15.
- [22] SCHULTZE A, SCHYMURA D, FORSTNER M, et al. Expression pattern of a ‘Plus-C’ class odorant binding protein in the antenna of the malaria vector *Anopheles gambiae*[J]. Insect Molecular Biology, 2012, 21: 187–195.
- [23] 谷少华, 张学莹, 张永军, 等. 苜蓿盲蝽气味结合蛋白基因 Alin-OBP1 的克隆及表达谱分析[J]. 昆虫学报, 2010, 53(5): 487–496.
- [24] 贾小俭, 郝少东, 杜艳丽, 等. 桃蛀螟性信息素结合蛋白 CpunPBP1 的 cDNA 克隆、表达谱及其与配体化合物的结合特性分析[J]. 昆虫学报, 2015, 58(11): 1167–1176. ㉞