

八字地老虎 *GOBP1* 基因的克隆、序列分析与原核表达

王舒¹, 韩岚岚¹, 赵寅², 赵奎军¹

(1. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省富裕县农业技术推广中心, 黑龙江 富裕县 161200)

摘要: *GOBP1* 蛋白作为昆虫化学感受机制的重要蛋白, 对于研究气味调控防治害虫有重要意义。采用 RT-PCR 技术以八字地老虎的触角总 RNA 为模板进行克隆得到 1 条 1 260 bp 的八字地老虎 *GOBP1* 基因片段 (GenBank 登录号为 JX978464), 编码 161 个氨基酸残基, 预测分子量约为 18.6 kD, 等电点 5.14。生物信息学在线预测分析表明: 八字地老虎 *GOBP1* 核苷酸序列与黄地老虎 *Agrotis segetum* (登录号为 DQ838577.1) 同源性最高, 为 97%, 与其他昆虫的同源性达 80% 以上。构建了重组表达质粒 pET21-b/*Acni* *GOBP1* 原核表达后检测到 18.6 kD 的外源蛋白, Western blot 检测该蛋白是目的蛋白。结果为深入研究 *GOBP1* 基因以及通过气味调控防治害虫提供了基础资料。

关键词: 大豆; 八字地老虎; 克隆; 原核表达; 序列分析

中图分类号: S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9841(2013)04-0467-06

Molecular Cloning, Sequence Analysis and Prokaryotic Expression of General Odorant Binding Protein 1 Gene from *Agrotis c-nigrum*

WANG Shu¹, HAN Lan-lan¹, ZHAO Yin², ZHAO Kui-jun¹

(1. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Fuyu County Agricultural Technology Extension Center, Fuyu County 150030, China)

Abstract: General odorant binding protein 1 (*GOBP1*) is the important protein of insect chemosensory mechanism, and it has great significance for researching odor control of pest. In this test, a 1 260 bp gene fragment was cloned by using the technology of RT-PCR with template of *Agrotis c-nigrum* tentacles RNA (GenBank Accession Number: JX978464), which encoded 161 amino acid residues with 18.6 kD predicted molecular weight and pI 5.14. Online bioinformatics analysis showed nucleotide sequence homology of *Agrotis c-nigrum* *GOBP1* with *Agrotis segetum* (Accession Number: DQ838577.1) reached 97%, and the similarity with other insects was higher than 80%. Western blot detection showed it was the target protein. These results provide the basic data for the pest bio-control with odor control and the research of *GOBP1*.

Key words: Soybean; *Agrotis c-nigrum*; General odorant binding protein 1; Cloning; Prokaryotic expression; Sequence analysis

大豆是我国重要的油料作物和经济作物。近年来的气候变暖以及害虫抗药性的产生, 使得害虫成为影响大豆产量的主要原因。八字地老虎 (*Agrotis c-nigrum*) 是大豆的重要害虫之一, 属鳞翅目 (Lepidoptera) 夜蛾科 (Nectuidae), 分布于世界各地, 可危害烟草、番茄、甘蓝、葡萄等多种作物, 尤以危害大豆的幼苗而著称^[1]。目前其危害有上升的趋势^[2-3], 面对应用化学药剂带来的种种问题, 进行生物防治以及探索可持续控制的方式已经迫在眉睫。

研究表明, 昆虫的整个生命周期中大部分生命活动的重要环节都受化学气味信息调节^[4]。昆虫能够识别广泛的化学信号, 如气味和味觉^[5-6]。对于昆虫化学识别的研究不仅可以阐明害虫行为反应的本质原因, 而且可用来研制高效的农药和引诱剂混剂或驱避剂进行预测和防治害虫。

昆虫对外界气味的感受作用是一个庞大而复杂的体系, 此过程的完成依赖于昆虫体内种类繁多的蛋白^[7-8], 气味结合蛋白 (odorant binding proteins,

OBPs) 便是其中的一种^[9]。人们在 20 世纪 80 年代后才开始探索 OBPs 的分子结构及生理生化功能。昆虫的 OBPs 在触角感器淋巴液中浓度很高, 主要分为 4 种: 包括信息素结合蛋白 (pheromone binding protein, PBP)、普通气味结合蛋白 I (general odorant binding protein 1, *GOBP1*)、普通气味结合蛋白 2 (*GOBP2*) 和气味结合蛋白类似蛋白^[10]。其中, *GOBP1* 对于感受植物挥发物质和天敌所散发的气味有捕捉功能, 在雌、雄蛾触角中均存在。本试验对八字地老虎 *GOBP1* 基因进行克隆、测序, 并对该基因体外表达蛋白质进行了研究, 以期更好地研究八字地老虎 *GOBP1* 的结构和功能, 为研究气味调控防治害虫提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 虫源 八字地老虎采集自东北农业大学香

收稿日期: 2013-03-07

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-04); 公益性行业 (农业) 专项资助 (201103002)。

第一作者简介: 王舒 (1986-), 女, 在读硕士, 主要从事大豆主要害虫综合防治研究。E-mail: shushu_127@163.com。

通讯作者: 赵奎军 (1960-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事大豆主要害虫综合防治研究。E-mail: kjzhao@163.com。

坊农场实验实习基地,在东北农业大学昆虫实验室用天然饲料饲养。收集八字地老虎成虫的触角,并将样品迅速放入液氮冷冻后保存于 -70°C 冰箱备用。

1.1.2 菌种及载体 pMD18-T 载体试剂盒购自 TaKaRa 公司,大肠杆菌 DH5 α 和 BL21 (DE3) 菌株以及质粒 pET21-b 均为本实验室保存。

1.1.3 主要试剂 总 RNA 提取试剂 TRIzol 购自 Invitrogen 公司。T4 DNA 连接酶、3'RACE 和 5'RACE Kit 购自 TaKaRa 公司。限制性内切酶 *EcoR* I 和 *Xho* I 购自 NEB 公司,标准蛋白分子量购自 Bio Rad 公司,His-tag 标签抗体以及 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 均购自碧云天公司。其他相关试剂均为国

产分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取 将收集好的八字地老虎成虫的触角,用 Invitrogen 公司的 TRIzol 试剂,参照说明书提取总 RNA。

1.2.2 *GOBP1* 基因的扩增 根据 GenBank 已登录的几种夜蛾科 *GOBP1* 基因核苷酸序列设计并合成 *GOBP1* 保守区引物;根据 3'RACE、5'RACE Kit 试剂盒说明书进行设计套式 PCR 引物;三段序列进行拼接并设计原核表达引物。

为了便于将目的基因克隆到表达载体上,在表达引物上游、下游中分别设计了 *EcoR* I、*Xho* I 酶切位点(下划线标出)。

表 1 八字地老虎 *GOBP1* 引物序列

Table 1 The Sequence of *A. c-nigrum* *GOBP1* Primers

引物名称 Name of primer	引物序列 Primer sequences	长度 Length/bp
保守区上游	5'-GAGAGTCAACTGACGGAGGAGAAGATG-3'	27
保守区下游	5'-CTCAGCCTCCATGATGAACTCGG-3'	23
3'RACE Outer	5'-GACAACACCGAGCAGTTCATAC-3'	22
3'RACE Inner	5'-CAGTTCGACCAGGAGGACCACTG-3'	26
5'RACE Outer	5'-GACTGTATGAACTGCTCGGTGTTGTC-3'	25
5'RACE Inner	5'-GTGCTCGAACTGAAAGTCGTCGCGCCAGAAGTG-3'	32
表达上游	5'-CCG <u>GAATTC</u> GATGAAGGACGTCACGCTCGGCTTC-3'	34
表达下游	5'-CCG <u>CTCGAGC</u> AGTGCCTCCGCTCCATGATG-3'	30

1.2.3 PCR 产物的克隆、鉴定 针对目的片段进行 PCR 扩增后,用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。将 PCR 纯化产物克隆到 pMD18-T 载体上,然后转化大肠杆菌 DH5 α 中,氨苄青霉素抗性单斑筛选,提取质粒并进行酶切鉴定。

1.2.4 序列测定及预测分析 酶切鉴定成功的阳性克隆样品送往上海生工公司进行 DNA 序列测定,并将获得的基因翻译成氨基酸序列,用生物信息学在线工具进行预测分析。利用 <http://www.expasy.ch/> 网站预测氨基酸的等电点、分子量及信号肽等信息。

1.2.5 重组表达质粒的构建 将重组 pET21-b/HtriHSP70 转化大肠杆菌 BL21 中,37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 16 h,挑取单菌落提质粒 *EcoR* I 和 *Xho* I 双酶切鉴定,1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.6 诱导表达 将初步鉴定的质粒转入大肠杆菌 BL21 中,涂于含有终浓度为 $0.1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的氨苄青霉素 LB 平板上,37 $^{\circ}\text{C}$ 过夜培养。挑取单菌落活化于 5 mL 含氨苄青霉素的 LB 液体培养基中,于 $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、37 $^{\circ}\text{C}$ 摇床培养 2 h,至 OD_{600} 值达 0.3 左右,加入终浓度为 $0.4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 IPTG 37 $^{\circ}\text{C}$ 诱导

培养,分别取诱导 0,2,4 h 的菌液作为梯度进行 SDS-PAGE 检测,对照为空质粒转入 BL21 的菌液。

1.2.7 SDS-PAGE 和 Western 印迹分析 进行 SDS-PAGE 电泳检测,选出最合适的点样量,并对目的蛋白进行纯化后重新检测。将 SDS-PAGE 胶上的蛋白转移到 PVDF 膜上,然后用封闭液(TBST + 5% 脱脂奶粉)冰上封闭过夜,His-tag 标签抗体 1:1 000 室温抚育 1 h, TBST 洗 3 次,再用 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 1:1 000 反应 1 h, TBST 洗 3 次,最后用 DAB 试剂盒进行化学显色,拍照。

2 结果与分析

2.1 八字地老虎气味结合蛋白基因序列测定和分析

测序结果表明,八字地老虎 *GOBP1* 基因全长为 1 260 bp(图 1),开放阅读框(ORF)全长为 486 bp,编码 161 个氨基酸残基,推测分子量约为 18.6 kD,等电点为 5.14。已将该基因登陆在 GenBank 中,登录号为 JX978464。预测基因推导的氨基酸在 17 和 18 位之间存在一个信号肽切割位点(图 2),序列中有 6 个保守的半胱氨酸位点 $\text{X}_{18}\text{-Cys1-X}_{30}\text{-Cys2-X}_3\text{-}$

Cys3-X₄₂-Cys4-X₈₋₁₀-Cys5-X₈-Cys6-X₂₄₋₂₆(图3),并利用 TargetP 软件进行预测分析,表明分泌的胞外的可能性大,存在于线粒体和细胞内的其他位置可能性

不大。根据所获得的序列符合 GOBP 家族所特有的氨基酸序列特征,因此确认该序列是八字地老虎 *GOBP1* 基因完整编码区 cDNA 序列。

```

1          GCGGATCCCCGCCCCCGACGATCAGTCGATCGAAAGAAACAACAGGATCCAGAAGAC
1  M T Q L V L V V L A A T A A L A D V N V M K D V T
61  ATGACGCAGCTGGTGTAGTAGTGTGGCCGCGACGGCGGCGCTGGCCGACGTCAACGTCATGAAGGACGTCACG
26  L G F G Q A L D K C R Q E S D L T E E K M E E F F
136 CTCGGCTTCGGGCGAGGCGCTCGACAAGTGTGCCAGGAGAGTGATCTGACGGAGGAGAAGATGGAGGAGTTCCTC
51  H F W R D D F K F E H R E L G C A I Q C M S H H F
211 CACTTCTGGCGCGACGACTTCAAGTTCGAGCACC GCGAGCTGGGCTGCGCCATCCAGTGCATGAGCCACCACTTC
76  N L L T D S S R M H H D N T E Q F I Q S F P N G Q
286 AACCTGCTCACGACTCCAGCCGCATGCACCACGACAACACCGAGCAGTTCATACAGTCCTTCCCCAACGGCCAG
101 V L A R Q M V S L I H A C E K Q F D H E E D H C W
361 GTGCTGGCGCGGACAGATGGTGTCCCTGATCCACGCGTGCAGAGAAGCAGTTCGACCACGAGGAGGACCAGTCTGTTG
126 R I L H V A E C F K H A C V A H G V A P S M E M M
436 CGCATCTGCACGTGGCCGAGTGTCTCAAGCAGCCTGCGTGGCGCACGGCGTGGCGCCCTCCATGGAGATGATG
151 M T E F I M E A E A L *
511 ATGACCGAGTTCATCATGGAGGCGGAGGCACTGTAG
547 CACTGCCGTACTACCACGCGGCGACGTACCGCTTGCTCACTGAGGACGTAGATCCGCTTTC AATGTTATAGACG
622 GAGGCTAATGGTGAAGTGAACATACAAAAATGTAATAATCCCAAACGGTCTGTCAACCTGAAAGAAAAGTATGTT
697 TCATTTGAAAAACAAGCATTGACAGAATGTATATTGCGCGCTGTGGTAAAGTAAGTGTGGAGCTGTGGATTGGTG
772 GAGTGATGAGCAAACAACAAGATAGTGTGGTGGTGCACCACCTACCGGCCACATGACGGAGGATCTTATGT
847 TGTTTTAATTATTATTAATAAATGCTGCGAAAAGGTGGCTGTTGTACATAACACCACCACGTGAACTCACGTGCC
922 CTCCTTGTGACCGCTGTTGAAGTGTGGATGCTACGCCACCATGGCGGCAACAACGACACGACTCAACACCTG
997 TTGCTTGTACTTATGGTTTTACATCTCACTATAGCAGCTGGGAATAATTAATTAATTTATATAATTTATGTAA
1072 TCAATAGGTAGCCAACCTACGACATCTGCATGAAAGTGATAAACGATTAGAAGGAAGAGGAGAACACGTTGGTGC
1147 GAGTACTTATATGATATAAGGTGGTGTGAACTATCTGATACAAGACACAAATATAATATGTTAGTGACGCGGGTT
1222 GTATATTTAATTAAGTAAATACTTACGTAGAAAAAAAAC

```

方框内是起始密码子和终止密码子

Start codon and stop codon are boxed

图1 八字地老虎 *GOBP1* 基因的编码区核苷酸序列及其推导的氨基酸序列

Fig. 1 Nucleotide sequence of the ORF and deduced amino acid sequence of *GOBP1* from *Agrotis c-nigrum*

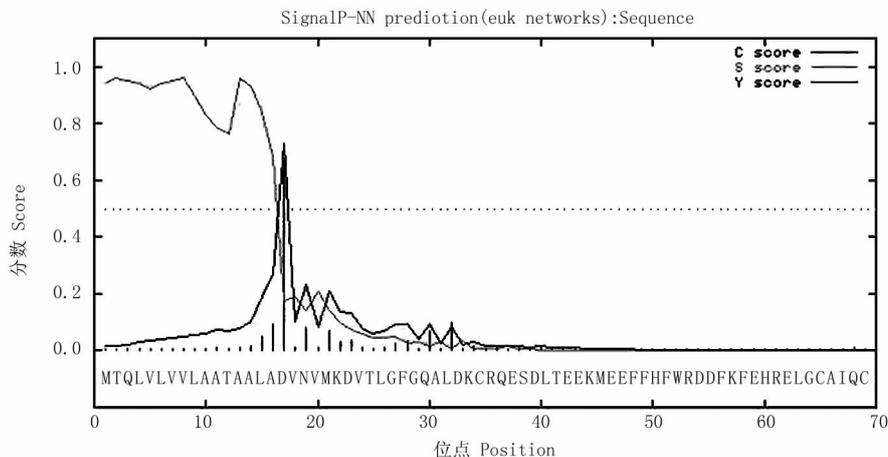


图2 八字地老虎 *GOBP1* 氨基酸序列信号肽预测图

Fig. 2 Signal P-NN result about amino acids of *Agrotis c-nigrum* *GOBP1* gene

利用 ClustalX 软件对 8 种昆虫的 *GOBP1* 氨基酸序列进行进化系统分析,结果表明(图 5):八字地老虎与鳞翅目夜蛾科的黄地老虎、小地老虎、斜纹夜蛾、苜蓿夜蛾、甜菜夜蛾、棉铃虫,天蛾科的烟夜

蛾亲缘关系较近。八字地老虎与同属夜蛾科大部分 *GOBP1* 基因的氨基酸序列亲缘关系最近,这与八字地老虎的分类地位相一致。

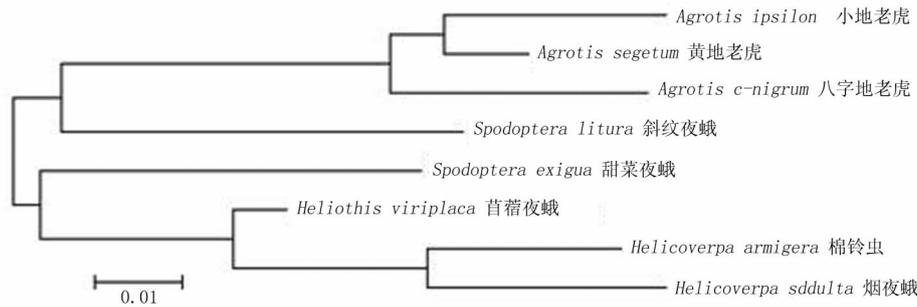
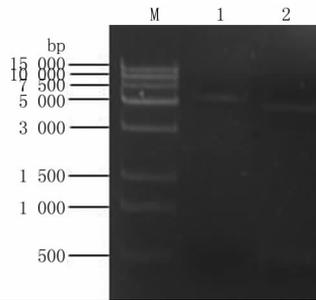


图 5 基于 *GOBP1* 氨基酸序列的系统进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree based on amino acid sequences of *GOBP1*

2.2 八字地老虎 *GOBP1* 原核表达载体的构建

经 *EcoR* I 和 *Xho* I 双酶切重组克隆 pET21-b/*Acni* *GOBP1* 质粒,转化到 BL21 内,提取质粒双酶切后检测得到 486 bp 目的片段(图 6),表明 pET21-b/*Acni* *GOBP1* 表达质粒构建成功。



M:分子量标准;1:单酶切重组质粒 pET21-b/*Acni* *GOBP1*; 2:双酶切重组质粒 pMD18/*Acni* *GOBP1*
M:DNA marker DL15000;1:Single enzyme of pET21-b/*Acni* *GOBP1*;2:Double enzyme of pET21-b/*Acni* *GOBP1*

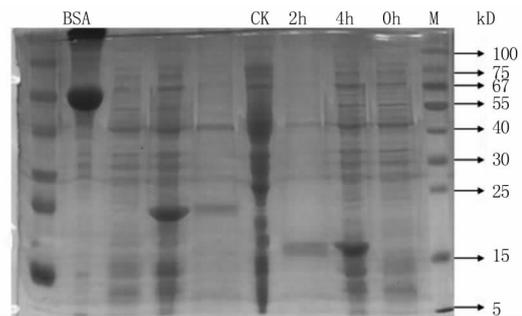
图 6 阳性克隆酶切鉴定

Fig. 6 Identification of positive clones by enzymatic digest

2.3 八字地老虎 *GOBP1* 基因在大肠杆菌中的表达与测定

重组质粒 pET/*Acni* *GOBP1* 在 BL21 中用 IPTG 诱导表达获得 20 kD 左右的特异性蛋白条带,而经 IPTG 诱导的 pET21-b 质粒没有相应的特异性条带,说明表达产物是融合了 18.6 kD 的 *GOBP1* 的目的蛋白,符合 *GOBP1* 蛋白家族的特征。

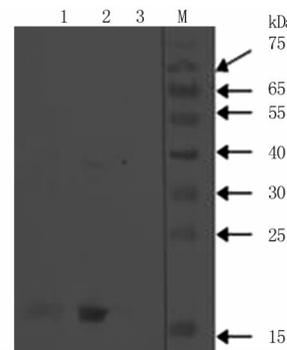
IPTG 诱导时间梯度 0, 2, 4 h, 得到蛋白表达结果如图 7。IPTG 诱导 0 h 蛋白表达为零, IPTG 诱导 2 h 开始表达并且蛋白表达量明显低于 4 h, IPTG 诱导 4 h 的蛋白表达最高, IPTG 诱导 4 h 为最佳诱导时间。对表达产物进行 Western blot 印迹分析,发现蛋白在 18.6 kD 处有一条明显的杂交带出现(图 8),与目的蛋白分子量大小完全吻合,表明重组质粒 pET21-b/*Acni* *GOBP1* 可以在 BL21 中稳定表达。



M: 蛋白分子量标准; BSA: 牛血清白蛋白; CK: 空载体 pET21-b 的表达; 2, 4, 0 h: IPTG 诱导时间为 2, 4, 0 h 后的 pET/*Acni* *GOBP1* 蛋白纯化产物

M: Protein molecular weight marker; BSA: Bovine serum albumin; CK: Expressed products of pET21-b; 2, 4, 0 h: Expressed products of purified pET/*Acni* *GOBP1* protein for 2, 4, 0 h by IPTG induction

图 7 重组质粒 pET/*Acni* *GOBP1* 表达产物的 SDS-PAGE 分析
Fig. 7 SDS-PAGE analysis of the pET/*Acni* *GOBP1* protein expressed products



M: 蛋白分子量标准; 1, 2, 3: IPTG 诱导时间为 2, 4, 0 h 后的 pET/*Acni* *GOBP1* 蛋白纯化产物

M: 蛋白分子量标准; 1, 2, 3: Expressed products of purified pET/*Acni* *GOBP1* protein for 2, 4, 0 h by IPTG induction

图 8 重组质粒 pET/*Acni* *GOBP1* 表达产物纯化后的 Western blot 分析

Fig. 8 Western blot analysis of the purified pET/*Acni* *GOBP1* protein expressed products

3 讨论

八字地老虎 *GOBP1* 基因是昆虫 *GOBP* 家族中的一员,研究昆虫 *OBP* 经典的方法是直接从昆虫触角中分离、纯化 *OBP*,进而研究其生化特性和生理功能^[11]。但是此分离过程繁琐且费用昂贵。相关研究表明,*GOBP* 有着高度的保守性,目前已报道的 *GOBPs* 编码的氨基酸都有 6 个保守的半胱氨酸位点^[12-13],通过 3 个二硫桥相连^[14],且具有相似的水溶性及次级结构^[15],这些都是昆虫 *GOBP1* 的典型特征。本研究在获得中间保守区片段基础上,采用 RACE 方法分别克隆 5'末端和 3'末端核苷酸序列,最后通过重叠连接的方法,利用分子软件将各片段连接起来,首次克隆获得了八字地老虎 *AcniGOBP1* 基因的全长 cDNA,并进行了原核表达以及 Western blot 鉴定。经氨基酸序列分析显示表明 *AcniGOBP1* 符合 *GOBP* 家族的特点。亚细胞定位预测发现 *AcniGOBP1* 存在细胞液中,进一步证明了 *GOBP* 的运输假说^[16]。但仍需进行亚细胞定位试验来证实。

本研究中,八字地老虎 *GOBP1* 蛋白在 IPTG 诱导 0 h 时没有表达,而在 2,4 h 明显出现表达,且 4 h 表达量高于 2 h,Western blot 分析结果相同,表明八字地老虎 *GOBP1* 蛋白是诱导表达蛋白,证明八字地老虎 *GOBP1* 诱导后可高度表达。

参考文献

- [1] 张履鸿,李国勋,赵奎军,等. 农业经济昆虫学[M]. 哈尔滨:哈尔滨船舶学院出版社,1993:231. (Zhang L H, Lin G X, Zhao K J, et al. Agricultural economic entomology [M]. Harbin: Harbin Shipping College Press, 1993:231.)
- [2] 吕秀莲,张静,崔子俞. 地老虎的防治措施[J]. 中国果菜,2011(1):28. (Lyu X L, Zhang J, Cui Z Y. Prevention and control measures for cutworm[J]. China Fruit Vegetable, 2011(1):28.)
- [3] 冯竣. 苗木常见地下害虫及其防治方法[J]. 云南林业,2005,26(1):20. (Feng J. Seedling common underground pest and its prevention and treatment [J]. Yunnan Forestry, 2005, 26(1):20.)
- [4] Field L M, Pickett J A, Wadhams L J. Molecular studies in insect olfaction[J]. Insect Molecular Biology, 2000, 9(6):545-551.
- [5] Hoffman S A, Aravind L, Velmurugan S. Female *Anopheles gambiae* antennae; increased transcript accumulation of the mosquito-specific odorant-binding-protein OB2[J]. Parasites & Vectors, 2012, 5:27-32.
- [6] Katsuhisa O, Masasuke R, Ayumi Y, et al. Identification and genomic structure of chemosensory proteins (CSP) and odorant binding proteins (OBP) genes expressed in foreleg tarsi of the swallowtail butterfly *Papilio xuthus* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2008, 38:969-976.
- [7] 张升祥,徐世清,王更先,等. 家蚕普通气味结合蛋白基因的表达及分子进化研究[J]. 蚕业科学,2010,36(4):610-618. (Zhang S X, Xu S Q, Wang G X, et al. Expression of general odorant binding proteins in silkworm *Bombyx mori* and molecular evaluation in lepidoteran insects [J]. Science of Sericulture, 2010, 36(4):610-618.)
- [8] Pelletier J, Leal W S. Characterization of olfactory genes in the antennae of the southern house mosquito, *Culex quinquefasciatus* [J]. Journal of Insect Physiology, 2011, 57:915-929.
- [9] 李慧,王满困,张国安,等. 昆虫对气味分子的感受机制[J]. 昆虫知识,2010,47(1):29-38. (Li H, Wang M T, Zhang G A, et al. Odors perception mechanism of insects [J]. Entomological Knowledge, 2010, 47(1):29-38.)
- [10] 黄恩炯,郭晓霞,赵彤言,等. 昆虫嗅觉反应机理的研究进展[J]. 寄生虫与医学昆虫学报,2008,15(2):115-119. (Huang E T, Gou X X, Zhao D Y, et al. Advances on the olfactory mechanism of insect [J]. Acta Parasitologica Et Medica Entomologica, 2008, 15(2):115-119.)
- [11] Vogt R G, Riddiford L M. Pheromone binding and inactivation by moth antennae [J]. Nature, 1981, 293:161-613.
- [12] Damberger F F, Ishida Y, Leal W S, et al. Structural basis of ligand binding and release in insect pheromone-binding proteins: NMR structure of antheraea polyphemus PB1 at pH 4.5 [J]. Journal of Molecular Biology, 2007, 373:811-819.
- [13] Emmanuelle J, Jonathan B, Marie C F, et al. Characterization of the general odorant-binding protein 2 in the molecular coding of odorants in *Manetea brassicae* [J]. European Journal of Biochemistry, 2000, 267:6708-6714.
- [14] Scaloni A, Monti M, Angeli S, et al. Structural analysis and disulfide bridge pairing of two odorant binding proteins from *Bombyx mori* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1999, 266:386-391.
- [15] Pelosi P, Maida R. Odorant binding proteins in insects [J]. Comparative Biochemistry and Physiology B: Biochemistry and Molecular Biology, 1995, 111:503-514.
- [16] 钱荷英,徐安英. 昆虫信息素结合蛋白研究进展[J]. 安徽农学通报,2007,13(23):128-130. (Qian H Y, Xu A Y. Insect pheromone binding protein research progress [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2007, 13(23):128-130.)
- [17] Vogt R G, Prestwich G D, Lerner M R. Odorant-binding-protein subfamilies associate with distinct classes of olfactory receptor neurons in insects [J]. Journal of Neurobiology, 1991, 22:74-84.
- [18] McKenna M P, Hekmat S D S, Gaines P, et al. Putative *Drosophila* pheromone-binding proteins expressed in a subregion of the olfactory system [J]. Journal of Biological Chemistry, 1994, 269:16340-16347.