

# 花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3 与其寄主挥发物的分子对接



郭莉<sup>1</sup> 谢寿安<sup>1\*</sup> 杨平<sup>1</sup> 巩雪芳<sup>2</sup> 陈迪<sup>1</sup> 吕淑杰<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 中国科学院成都生物研究所, 成都 610041)

**摘要:** 为明确花椒窄吉丁 *Agrilus zanthoxylumi* 气味结合蛋白 AzanOBP3 与其寄主花椒 *Zanthoxylum bungeanum* 主要气味挥发物的结合模式及结合能力, 利用 Signal P 5.0 和 ProParam Tool-ExpASy 软件对 AzanOBP3 的基本理化性质进行生物信息学分析, 采用 Swiss-Model 对 AzanOBP3 序列进行同源建模, 通过 SAVES 5.0 软件中 Verify-3D、ERRAT 以及 ProCheck 模块评价模型, 应用 AutoDock Tool 1.5.6 软件对 AzanOBP3 模型和 46 种主要寄主挥发物进行分子对接分析。结果显示, 花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3 同源建模所得模型质量较好, 其 Verify-3D、ERRAT 以及 ProCheck 得分均符合同源建模要求。AzanOBP3 与 46 种花椒气味挥发物主要以氢键、疏水作用和范德华力相结合, 其中, 13 种链状配体与 AzanOBP3 的结合能力总体上弱于 33 种环状配体, 链状配体中的芳樟醇和环状配体中的萜烯茄油烯与 AzanOBP3 表现出较好的结合能力, 自由结合能分别为  $-5.2$  kJ/mol 和  $-6.6$  kJ/mol。最终筛选出 4 种链状配体 (乙酸芳樟酯、芳樟醇、乙酸香叶酯和别罗勒烯) 和 10 种环状配体 (乙酸松油酯、 $\beta$ -石竹烯、葎草烯、3-萜烯、萜烯茄油烯、右旋大根香叶烯、 $\beta$ -榄香烯、乙酸叶醇酯、可巴烯和倍半水芹烯) 可与 AzanOBP3 稳定结合。表明花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3 能与寄主植物花椒的多种挥发性物质结合, 推测 AzanOBP3 可能在其寻找寄主与取食行为中发挥着重要作用。

**关键词:** 花椒窄吉丁; 气味结合蛋白; 寄主挥发物; 同源建模; 分子对接

## Molecular docking of AzanOBP3 in jewel beetle *Agrilus zanthoxylumi* with its host volatiles

Guo Li<sup>1</sup> Xie Shou'an<sup>1\*</sup> Yang Ping<sup>1</sup> Gong Xuefang<sup>2</sup> Chen Di<sup>1</sup> Lü Shujie<sup>1</sup>

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China; 2. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, Sichuan Province, China)

**Abstract:** In order to clarify the binding mode and ability of AzanOBP3 in *Agrilus zanthoxylumi* with the main volatiles from its host *Zanthoxylum bungeanum*, Signal P 5.0 and ProParam Tool-ExpASy softwares were used to predict the basic properties of AzanOBP3. The Swiss-model was used to construct homologous models of AzanOBP3, and the model equality was evaluated using Verify-3D, ERRAT and Procheck. AutoDock Tool 1.5.6 was used to perform molecular docking analysis on AzanOBP3 model and 46 main host volatiles. The results showed that the quality of the homology modeling of AzanOBP3 in *A. zanthoxylumi* was reliable, and its Verify-3D, ERRAT, and ProCheck scores all met the homology modeling requirements. Molecular docking showed that AzanOBP3 combined with 46 host volatiles mainly through hydrogen bonding, hydrophobic interaction and van der Waals force. The binding ability

基金项目: 国家公益性行业(林业)科研专项(201504324), 云南省林业科技推广示范项目(云[2019]TG01号), 陕西省第二批特支计划领军人才项目(陕组通字2020-44号)

\* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: shouanxie@163.com

收稿日期: 2020-07-29

of 13 chain ligands to AzanOBP3 was weaker than that of 33 cyclic ligands. Among them, linalool and  $\alpha$ -cubebene performed better, with a free binding energy of  $-5.2$  kJ/mol and  $-6.6$  kJ/mol, respectively. Four kinds of chain ligands (linalyl acetate, linalool, geranyl acetate and allo-ocimene) and ten kinds of cyclic ligands (terpineol acetate,  $\beta$ -caryophyllene, humulene, 3-carene, piperene,  $\alpha$ -cubebene,  $\beta$ -elemene, *cis*-3-hexenyl phenylacetate,  $\alpha$ -copaene and  $\beta$ -sesquiphellandrene) were screened out, which stably bound to AzanOBP3. AzanOBP3 had a binding capacity with main host plant volatiles, suggested a significant role in insect feeding and host locating.

**Key words:** *Agrilus zanthoxylumi*; odorant binding protein; host volatile; homology modeling; molecular docking

花椒窄吉丁 *Agrilus zanthoxylumi* 属鞘翅目吉丁科窄吉丁属昆虫, 在陕西省 1 年发生 1 代, 是为害花椒树干的重要害虫(党心德等, 1988; 李孟楼等, 1990)。该虫仅为害花椒, 其幼虫取食花椒树韧皮部, 后逐渐蛀蚀形成层, 老熟后向木质部蛀蚀化蛹坑道, 成虫取食花椒叶补充营养, 从而导致树势衰弱, 枝干流胶枯死, 产量显著降低, 严重时可导致整片花椒林死亡(张伟, 2009)。目前, 花椒窄吉丁的防治仍以化学防治为主, 而关于其绿色无公害防治未见明确报道。基于信息化学物质的引诱技术是绿色无公害防治的有效手段, 能够在保证病虫害防治效果的同时保护生态环境免受影响和污染。挥发性化合物是信息化学物质中的重要成员。目前, 刘绥鹏等(2016)对花椒窄吉丁为害后的花椒挥发物成分进行了鉴定; 袁丽芳(2016)和王延来等(2020)于花椒窄吉丁高发期对 3 种花椒果实挥发物成分进行了测定, 初步获得了对花椒窄吉丁成虫有电生理活性和行为活性的组分。

引诱剂主要利用昆虫的嗅觉识别机制来防治害虫。昆虫通过寄主挥发物等气味信息来完成寄主定位等行为活动, 这类气味挥发物通常是脂溶性的, 具有较强的疏水性, 不能被昆虫直接识别, 需要气味结合蛋白(odorant binding protein, OBP)来帮助气味物质在昆虫淋巴液中溶解。Vogt & Riddiford(1981)首次在多声目大蚕蛾 *Antheraea polyphemus* 雄成虫触角中鉴定出第 1 个 OBP 家族成员性信息素结合蛋白(pheromone binding protein, PBP), 目前昆虫纲中 OBP 的鉴定已经涵盖了鳞翅目、直翅目、鞘翅目以及膜翅目等 12 个目(张玉等, 2019)。因此, 探究气味结合蛋白与寄主气味挥发物的结合模式, 筛选能和气味结合蛋白有效结合的寄主气味挥发物, 利用花椒窄吉丁寄主挥发物筛选出新型引诱剂配方成为了亟待解决的重要问题。为进一步揭示昆虫 OBP 对环境中复杂气味物质的识别机制, 通常经过表达、

纯化及产物结晶等多个步骤得到 OBP 晶体结构, 但该方法解析蛋白的过程繁琐冗长, 随着计算机技术的不断发展, 可通过同源建模分子对接方法研究 OBP 的结构并预测其功能, 分析 OBP 与相关化学物质的结合模式, 从而筛选能和 OBP 相互作用的小分子化合物, 以期开发绿色无公害引诱剂提供新的配方(阎伟等, 2017; 郭冰等, 2019)。

分子对接技术是通过构建并优化蛋白质与小分子化合物的三维结构, 将小分子匹配到蛋白质的结合位点上, 并评估结合力强弱的一种生物分析技术(李敏等, 2019)。He et al.(2010)首次通过分子对接技术研究了家蚕 *Bombyx mori* 普通气味结合蛋白 GOBP2 与性信息素成分的结合机制。随后大量的气味结合蛋白同相关化学物质结合情况的研究在鞘翅目昆虫中展开, 验证了气味结合蛋白在昆虫定位和取食行为中的作用。如 Zhuang et al.(2014)发现华北黑鳃金龟甲 *Holotrichia oblita* 的 HoblOBP1 和苯甲酸乙酯主要通过范德华力和疏水作用结合, 其中氨基酸 Tyr11 和 Ile80 是 HoblOBP1 结合的关键位点; Li et al.(2015)发现与花绒寄甲 *Dastarcus helophorides* 的 DhelOBP21 结合能力较好的配体大小在 100~125 Å 之间; 之后 Li et al.(2020)进一步验证了松墨天牛 *Monochamus alternatus* 中的 MaltOBP9 和 MaltOBP10 与气味物质具有广泛的结合能力, 在嗅觉识别机制中发挥着重要作用。

目前, 巩雪芳等(2020)和杨平等(2020)已成功克隆表达了花椒窄吉丁与嗅觉识别机制相关的气味结合蛋白 AzanOBP3 和化学感受蛋白 AzanCSP3。本研究拟对 AzanOBP3 进行同源建模, 以 AzanOBP3 为受体, 以花椒气味挥发物为配体, 通过 AutoDock Tool 1.5.6 软件进行分子对接, 模拟 AzanOBP3 与寄主挥发物的结合方式, 初步解析花椒窄吉丁 AzanOBP3 与寄主挥发物的结合机制, 以期筛选新型绿色无公害高效引诱剂提供理论基础和参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试 *AzanOBP3* 序列: 从本课题组前期获得的花椒窄吉丁雌雄成虫触角转录组数据中筛选得到, NCBI 数据库基因登录号为 MT318832。

供试花椒气味挥发物: 选取本课题组前期鉴定的 46 种寄主花椒主要气味挥发物用于 *AzanOBP3* 的分子对接, 预试验发现 46 种气味挥发物主要结合在蛋白受体的空腔中或者空腔表面, 参考 Mao et al. (2010) 的 *AzanOBP3* 同源建模模板以及郑志川 (2017) 对配体物质的分类依据, 将 46 种花椒气味挥发物分为链状配体和环状配体。链状配体共 13 种, 包含烯烃类 4 种、烷类 1 种、醇类 4 种、酮类 1 种、醛类 1 种以及酯类 2 种; 环状配体共 33 种, 包含烯烃类 22 种、醇类 3 种、酮类 1 种、酯类 2 种、芳香烃类 4 种以及醚类 1 种。46 种寄主花椒气味挥发物的二级结构于 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中下载, 利用 ChemBio 3D 17.1 软件模拟其三维结构。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 *AzanOBP3* 的同源建模

同源建模前先对 *AnznOBP3* 进行基本理化特性分析。使用 Signal P 5.0 软件预测 *AzanOBP3* 氨基酸序列的信号肽位置, 应用 ProParam Tool-ExPASy 软件 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 分析蛋白质氨基酸组成、相对分子质量和等电点等。以删除信号肽的 *AzanOBP3* 氨基酸序列为目标蛋白序列, 通过 Swiss-Model 软件 (<https://swissmodel.expasy.org/>) 搜寻同源建模的模板蛋白。综合模板蛋白搜寻给出的全球模型质量估算 (global model quality estimation, GMQE) 值、定性模型能量分析 (qualitative model energy analysis, QMEAN) 值、*AzanOBP3* 与模板蛋白的氨基酸序列一致性应大于等于 30% 以及模板蛋白是否具有 X 射线衍射晶体结构的条件, 选择出最适晶体结构作为模板蛋白 (Qu et al., 2016)。利用 Clustal X 比较 *AzanOBP3* 和模板蛋白的氨基酸序列一致性, 通过 ESPript 3.0 程序 (<http://esprict.ibcp.fr/ESPript/cgi-bin/ESPript.cgi>) 对多序列比对结果进行着色处理, 完成 *AzanOBP3* 三维模型的构建。

#### 1.2.2 *AzanOBP3* 同源建模所得模型评价及分析

通过 SAVES 5.0 软件 (<https://servicesn.mbi.ucla.edu/SAVES/>) 中 ProCheck、Verify-3D 以及 ERRAT 三个模块评价 1.2.1 所建 *AzanOBP3* 模型的质量。利用 ProCheck 程序评价蛋白质三维结构的立体化学质量, 结果以拉氏构象图呈现, 表明了蛋白质残基中

二面角  $\phi$  和  $\psi$  之间的相互关系, 若 90% 以上的氨基酸残基处于最佳区域则认为该模型结构可靠 (Laskowski et al., 1996)。利用 Verify-3D 程序通过确定蛋白质三维结构与氨基酸序列一级结构间的相溶性来评价结构与序列之间的匹配度, 若 80% 以上氨基酸残基三维结构与一级结构对应关系得分大于 0.2, 则认为该模型质量合格 (Bowie et al., 1991)。利用 ERRAT 程序统计蛋白质中 0.35 nm 范围内不同原子类型对之间形成的非共价键数目, 若 ERRAT 值大于 50%, 则认为该模型整体合理 (Colovos & Yeates, 1993)。

#### 1.2.3 *AzanOBP3* 与花椒气味挥发物的分子对接

受体和配体间的自由结合能反应了两者间的结合情况, 自由结合能越小说明受体-配体结构越稳定。本研究利用 Autodock Tool 1.5.6 软件对花椒窄吉丁气味结合蛋白 *AzanOBP3* 和 46 种花椒气味挥发物进行半柔性分子对接, 其中 *AzanOBP3* 为刚性受体, 寄主挥发物为柔性配体。首先准备受体文件, 通过 AutoDock Tool 1.5.6 软件对蛋白质受体添加氢键, 合并蛋白分子中的非极性氢, 识别受体各原子类型, 同时赋予原子电荷以及力场, 并储存为 PDBQT 格式文件。其次准备配体文件, 利用 ChemBio 3D 17.1 软件中 MM2 力场进行配体能量优化, 通过 AutoDock Tool 1.5.6 软件识别寄主挥发物小分子受体各原子类型, 同时赋予原子电荷以及力场, 并储存为 PDBQT 格式文件。然后计算格点相关能量, 利用 Auto grid 模块对定义的配体原子类型形成原子相互作用能量地图, 设置受体与配体的结合搜寻空间 Grid Box, 格点盒子中心位于 *AzanOBP3* 活性位点中心, 坐标为  $x=-0.147, y=25.229, z=5.995$ ; 格点间距离为 0.375 Å, 网格参数为 90 点×90 点×90 点, 得到 GPF 格式的格点参数文件。最后搜寻及评价对接构象, 通过 AutoDock Vina 进行半柔性分子对接, 每组对接输出 10 个复合物构象结果, 根据复合物构象的合理程度以及自由结合能等参数进行评价与排序。选取结合位点合理且自由结合能最小的构象, 通过 Discovery Studio 2019 Client 分析评价气味结合蛋白与寄主挥发物的分子对接结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 花椒窄吉丁 *AzanOBP3* 的基本理化性质

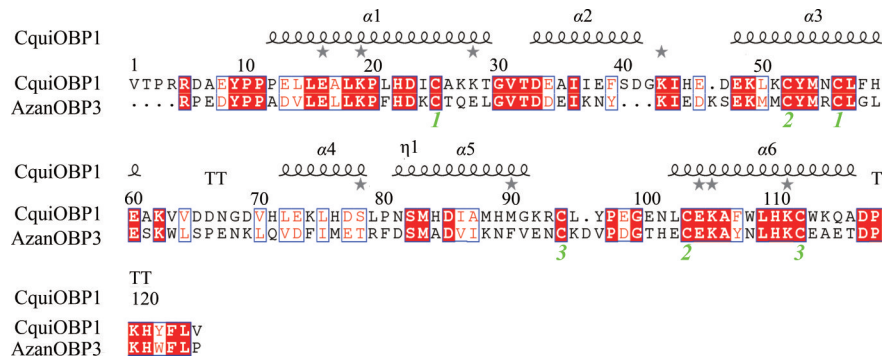
*AzanOBP3* 含有 137 个氨基酸, 分属 20 种氨基酸, 其中谷氨酸 (glutamic acid, Glu) 含量最高, 为 10.20%, 色氨酸 (tryptophan, Trp) 含量最低, 为 1.50%, 其余依次为赖氨酸 (lysine, Lys)、天冬氨酸

(aspartic acid, Asp)、亮氨酸(leucine, Leu)、脯氨酸(proline, Pro)、丙氨酸(alanine, Ala)、缬氨酸(valine, Val)、半胱氨酸(cysteine, Cys)、苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)、天冬酰胺(asparagine, Asn)、异亮氨酸(isoleucine, Ile)、甲硫氨酸(methionine, Met)、苏氨酸(threonine, Thr)、酪氨酸(tyrosine, Tyr)、组氨酸(histidine, His)、丝氨酸(serine, Ser)、精氨酸(arginine, Arg)、谷氨酰胺(glutamine, Gln)、甘氨酸(glycine, Gly), 含量分别为9.50%、8.80%、8.00%、5.80%、5.80%、5.10%、5.10%、4.40%、4.40%、4.40%、4.40%、2.90%、2.90%、2.20%、2.20%和2.20%。带负电荷的氨基酸残基(Asp+Glu)为26个, 带正电荷的氨基酸残基(Arg+Lys)为16个, 亲水性指数为-0.476。预测 AzanOBP3 分子质量为16.038 kD, 理论等电点为4.79, 信号肽预测结果显示, 含有从

N-端开始的由18个氨基酸组成的信号肽。

## 2.2 AzanOBP3 同源建模模板搜索结果

在PDB 蛋白数据库中对 AzanOBP3 氨基酸序列进行同源性搜索, 得分最高的为致卷库蚊 *Culex quinquefasciatus* 的气味结合蛋白 CquiOBP1 (ID: 3ogn.1.A), 模板覆盖率为97.00%, 氨基酸序列同源性为41.38%, 且 CquiOBP1 具有通过X射线衍射得到的三维晶体结构, 符合蛋白同源建模要求, 故选择 CquiOBP1 (3ogn.1.A) 为模板对 AzanOBP3 进行模型构建。利用 Clustal X 对 AzanOBP3 与 CquiOBP1 进行序列比对, 两者的二级结构一致性较好, AzanOBP3 的二级结构主要为  $\alpha$  螺旋, AzanOBP3 与 CquiOBP1 均含有6个保守半胱氨酸(图1), 半胱氨酸两两之间氨基酸数量稳定, 形成了3个二硫键, 使得OBP的整体结构稳定, 有利于 AzanOBP3 模型构建。



红色背景所示为保守氨基酸, 蓝色框所示为相同或相似的氨基酸, 绿色数字为半胱氨酸形成的二硫键。Conserved residues are highlighted in white letters with a red background, alignment positions are framed in blue box if the corresponding residues are identical or similar, and the green numbers indicate the disulfide bonds formed by cysteine.

图1 花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3 与同源蛋白 CquiOBP1 的序列比对

Fig. 1 Sequence alignment of AzanOBP3 and homologous proteins CquiOBP1

## 2.3 AzanOBP3 同源建模结果

以 CquiOBP1 (3ogn.1.A) 为模板建模得到 AzanOBP3 的构象, AzanOBP3 的三维结构模型符合气味结合蛋白的典型特征, 含有6个  $\alpha$  螺旋, 分别由 Ala8~Leu25 ( $\alpha$ 1)、Asp29~Tyr35 ( $\alpha$ 2)、Glu42~Ser55 ( $\alpha$ 3)、Val66~Thr72 ( $\alpha$ 4)、Asp75~Val85 ( $\alpha$ 5) 和 Glu97~Thr111 ( $\alpha$ 6) 位氨基酸组成; 6个保守的半胱氨酸残基形成3对二硫键, 起到了稳定气味结合蛋白疏水结合腔的作用(图2)。半胱氨酸残基 Cys21 和 Cys50、Cys46 和 Cys98、Cys88 和 Cys107 间形成3对二硫键分别连接  $\alpha$ 1 和  $\alpha$ 3、 $\alpha$ 3 和  $\alpha$ 6、 $\alpha$ 5 和  $\alpha$ 6。其中  $\alpha$ 1、 $\alpha$ 3、 $\alpha$ 4、 $\alpha$ 5 和  $\alpha$ 6 这5个螺旋结构形成了 AzanOBP3 的接合腔, AzanOBP3 构象的 C 末端延伸到螺旋形成的锥形空腔中, C 末端的氨基酸 Tyr11 与 Phe122 形成了蛋白分子内氢键, 促使 C 末端构成空腔壁的一部分。AzanOBP3 因为  $\alpha$  螺旋结构和二硫键的固定作用使得蛋白结构更

加紧密并且形成了疏水结合腔, 因此以 CquiOBP1 (3ogn.1.A) 为模板构建的 AzanOBP3 模型合理。

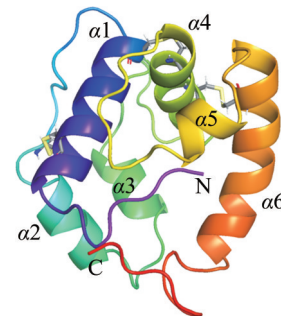


图2 花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3 的三维结构

Fig. 2 Tertiary structure of AzanOBP3

## 2.4 AzanOBP3 同源建模质量评价及分析

以 CquiOBP1 (3ogn.1.A) 为模板建模得到 AzanOBP3 的构象, 其 GMQE 值为 0.77, QMEAN 值为 -0.53, 说明该构象可靠性较高。通过 ProCheck 程序评价

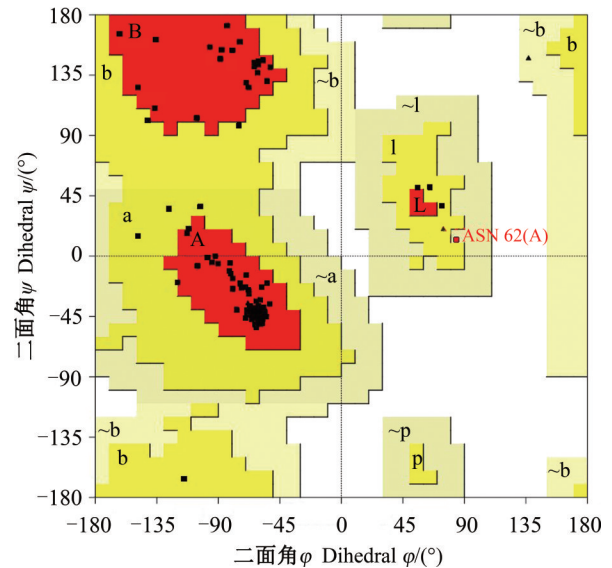
AzanOBP3的立体化学质量,其拉氏构象图表明 AzanOBP3 中 90.60% 的氨基酸残基处于最佳区域, 8.50% 的氨基酸残基处于许可区域, 0.90% 的氨基酸残基处于勉强许可区, 无氨基酸处于不合理区域(图3), 表明 AzanOBP3 构象的立体化学质量合理; 经 Verify-3D 程序统计分析, 构象中 89.98% 的氨基酸残基三维结构与一级结构对应关系得分大于 0.2(图4), 表明 AzanOBP3 同源建模结构氨基酸残基结构合理; 通过 ERRAT 程序统计氨基酸数量, AzanOBP3 构象的 ERRAT 值为 97.25%(图5), 该值远大于 50%, 表明 AzanOBP3 中非共价键相互作用整体合理。综上, 所建 AzanOBP3 构象可进一步用于分子对接。

## 2.5 AzanOBP3与花椒气味挥发物质的分子对接

### 2.5.1 AzanOBP3与链状配体分子对接结果

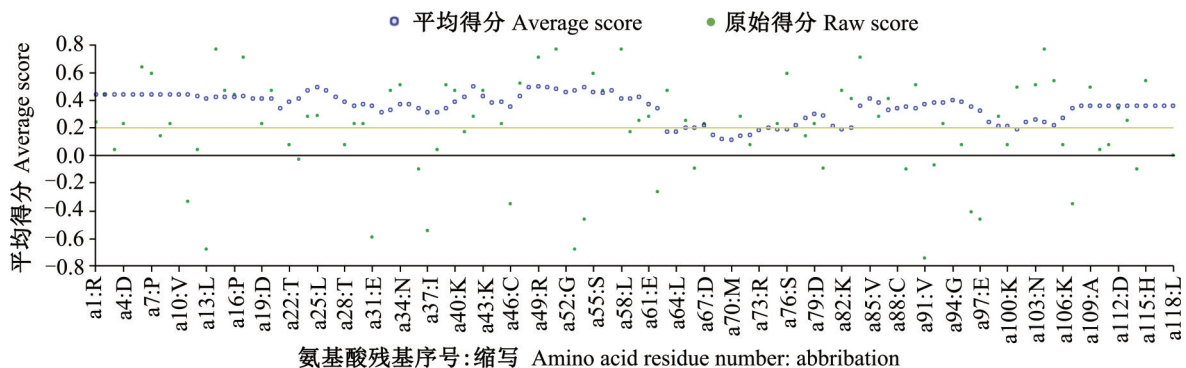
花椒窄吉丁 AzanOBP3 与 13 种链状配体的自由结合能在  $-5.2 \sim -3.7$  kJ/mol 之间, 其中乙酸芳樟酯、芳樟醇、乙酸香叶酯和别罗勒烯这 4 种物质与 AzanOBP3 的结合能力较其他链状配体更强, 其中 AzanOBP3 与芳樟醇的结合能力最好, 自由结合能为  $-5.2$  kJ/mol, AzanOBP3 主要以氢键、疏水作用和范德华力与链状配体结合(表1)。AzanOBP3 与芳樟醇形成氢键的氨基酸为 Arg73 (2.96 Å) 和 Glu108 (2.38 Å), 形成疏水作用的氨基酸为 Leu14 (4.07 Å / 4.29 Å)、Trp57 (5.08 Å)、Leu51 (4.64 Å) 和 Leu118 (4.56 Å), 形成范德华力的氨基酸为 Trp116、Phe84、Tyr5、Ile81、Met77 和 His105 (大于 5.00 Å 的键长不再标出)(图6-A)。芳樟醇与 AzanOBP3 的结合如图7-A 所示, 芳樟醇结合口袋处于  $\alpha$  螺旋形成的蛋白结合腔表面, 包围芳樟醇的空腔疏水性较好, 结合紧密但容易分离。AzanOBP3 的 Arg73 和 Glu108 与芳樟

醇之间形成的氢键是使蛋白-配体结合更加稳固的重要作用力(图6-A、图7-B), 同样链状配体中香叶醇和 2-十三烷酮也在 Arg73 和 Glu108 处形成了氢键, 此外反式-2-己烯醛与 Tyr102、反式-2-己烯-1-醇与 Lys106、乙酸芳樟酯与 Glu38、顺-3-己烯-1-醇与 Tyr35 之间均有氢键形成, 推测 Arg73、Glu108、Tyr102、Lys106、Glu38 和 Tyr35 是 AzanOBP3 与链状配体形成氢键的关键位点。



红色: 最佳区域, 包括 A、B、L 区域; 黄色区域: 许可区域, 包括 a、b、l、p 区域; 奶黄色: 较合理区域, 包括 ~a、~b、~l、~p 区域; 白色: 不合理区域。Red: The best region, including A, B and L areas; yellow: the appropriate region, including a, b, l, p areas; pale yellow: the barely permitted region, including ~a, ~b, ~l, ~p areas; white: the disallowed region.

图3 花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3 模型的拉氏构象图  
Fig. 3 Ramachandran plots of homologous model of AzanOBP3



a: 氨基酸; A: 丙氨酸; K: 赖氨酸; L: 亮氨酸; M: 甲硫氨酸; T: 苏氨酸; D: 天冬氨酸; I: 异亮氨酸; G: 甘氨酸; R: 精氨酸; C: 半胱氨酸; S: 丝氨酸; E: 谷氨酸; P: 脯氨酸; N: 天冬酰胺; H: 组氨酸; V: 缬氨酸。a: Amino acid; A: alanine; K: lysine; L: leucine; M: methionine; T: threonine; D: aspartic acid; I: isoleucine; G: glycine; R: arginine; C: cysteine; S: serine; E: glutamic acid; P: proline; N: asparagine; H: histidine; V: valine.

图4 花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3 模型的 Verify-3D 得分结果

Fig. 4 Verify-3D scores for homologous model of AzanOBP3

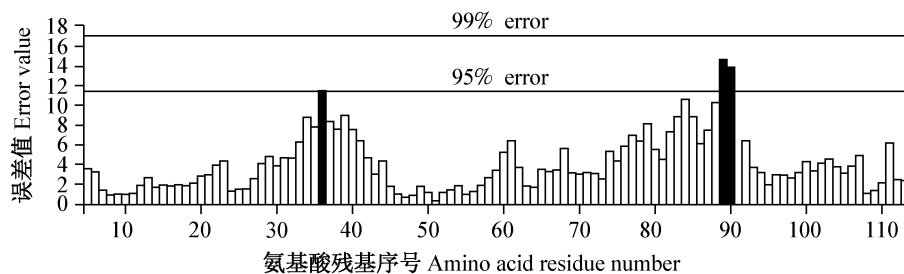


图5 基于ERRAT程序计算花椒窄吉丁气味结合蛋白AzanOBP3模型残基误差值

Fig. 5 Error values of residues in the homologous model of AzanOBP3 evaluated by using ERRAT

图中白色表示误差值<95%,黑色表示95%≤误差值<99%。White color indicates the error value<95%, black color indicates 95%≤the error value<99%.

表1 花椒窄吉丁气味结合蛋白AzanOBP3与链状配体分子对接

Table 1 Molecular docking of AzanOBP3 with chain ligand molecules

气味挥发物 Odor volatile compound		物质数字 识别号 CAS no.	结合能 Binding energy/ (kJ/mol)	疏水作用 Hydrophobic interaction	氢键 Hydrogen	范德华力 van der Waals force
烯烃 Olefin	月桂烯 Myrcene	123-35-3	-4.7	Leu14, Trp57, Met77, Ile81, Phe84, Leu118, His105, Trp116, Phe117	—	Leu51, Tyr53, Arg73, Glu10, His115
	别罗勒烯 Allo-ocimene	7216-56-0	-5.1	Ile37, Tyr102, Lys106, Ala109, Trp116	—	Tyr35, Glu38, Asp39, Met48, His105, Glu110
	$\beta$ -罗勒烯 <i>Trans</i> - $\beta$ -ocimene	3779-61-1	-3.8	Lys36, Lys106, Pro113	—	Ala10, Tyr35, Glu38, Glu110
	$\alpha$ -罗勒烯 $\alpha$ -ocimene	502-99-8	-3.7	Leu13, Leu14, Phe17, Trp57, Val10	—	Ser55, Lys56, Thr72, Arg73
	烷类 Ethers	2-甲基二十烷 2-methylcosane	1560-84-5	-3.9	Arg1, Ile32, Lys33, His108	—
醇类 Alcohol	芳樟醇 Linalool	78-70-6	-5.2	Leu14, Leu51, Trp57, Leu118	Arg73, Glu108	Tyr5, Met77, Ile81, Phe84, His105, His115, Trp116, Phe117
	香叶醇 Geraniol	106-24-1	-4.8	Ile81, Phe117, Trp57, Leu14, Leu118, Leu51	Glu108	Phe108, Trp116, Met77, Arg73, His105
	反式-2-己烯-1-醇 <i>Trans</i> -2-hexen-1-ol	928-95-0	-4.0	—	Lys106	Ile37, Glu38, Asp39, Met48, Tyr102, His105, Ala109, Glu110, Trp116
	顺-3-己烯-1-醇 <i>cis</i> -3-hexen-1-ol	928-96-1	-4.0	Ile37, Tyr102, Lys106, Trp116	Tyr35	Lys36, Glu38, Asp39, Met48, His105, Ala109, Glu110
	酮类 Ketone	2-十三烷酮 2-tridecanone	593-08-8	-4.8	Lys15	Arg73
醛类 Aldehydes	反式-2-己烯醛 <i>Trans</i> -2-hexenal	6728-26-3	-4.1	Lys106	Tyr102	Tyr35, Lys36, Met48, Glu38, Ile37, His105, Ala109, Glu110, Trp116
酯类 Ester	乙酸芳樟酯 Linalyl acetate	115-95-7	-5.1	Tyr35, Pro113, Trp116	Glu38	Arg1, Lys36, Ile37, Lys106, Ala109, Glu110
	乙酸香叶酯 Geranyl acetate	105-87-3	-5.1	Phe17, Trp57, Val10, Leu13, Leu14	—	Ser55, Thr72, Arg73

—表示未发现该种作用类型的氨基酸。— indicates that no amino acids of this type of action has been found.

链状配体中 $\alpha$ -罗勒烯、 $\beta$ -罗勒烯、月桂烯、乙酸香叶酯、2-甲基二十烷以及别罗勒烯与AzanOBP3仅通过疏水作用和范德华力结合。配体 $\alpha$ -罗勒烯与AzanOBP3的结合能力较其他链状配体更弱,其自由结合能为-3.7 kJ/mol。 $\alpha$ -罗勒烯的结合口袋位于AzanOBP3结合腔的表面,同时所处的结合口袋较

浅,仅有小部分呈现疏水性(图7-C),从而导致其分子对接能力较弱。分析其所处结合位置(图7-D)发现,Trp57(5.06 Å)、Leu13(4.15 Å)、Val10(3.81 Å)、Leu14(4.45 Å)和Phe14(5.35 Å)这5个氨基酸是疏水作用的关键结合位点,氨基酸Lys56、Ser55、Thr72和Arg73是范德华力的结合位点(图6-B)。

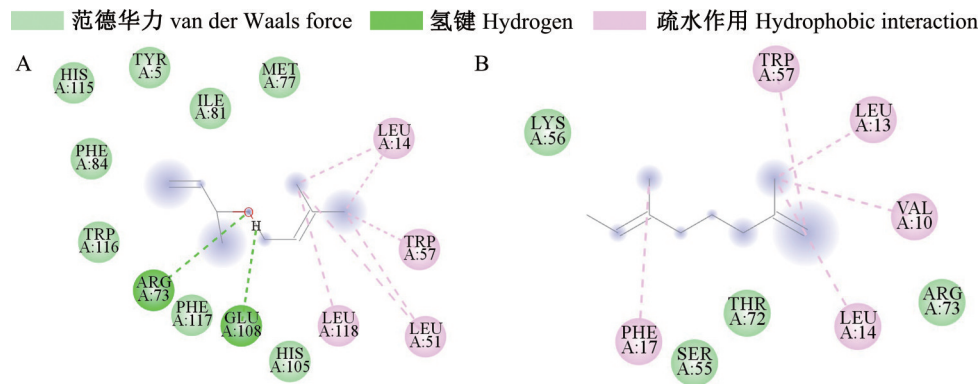
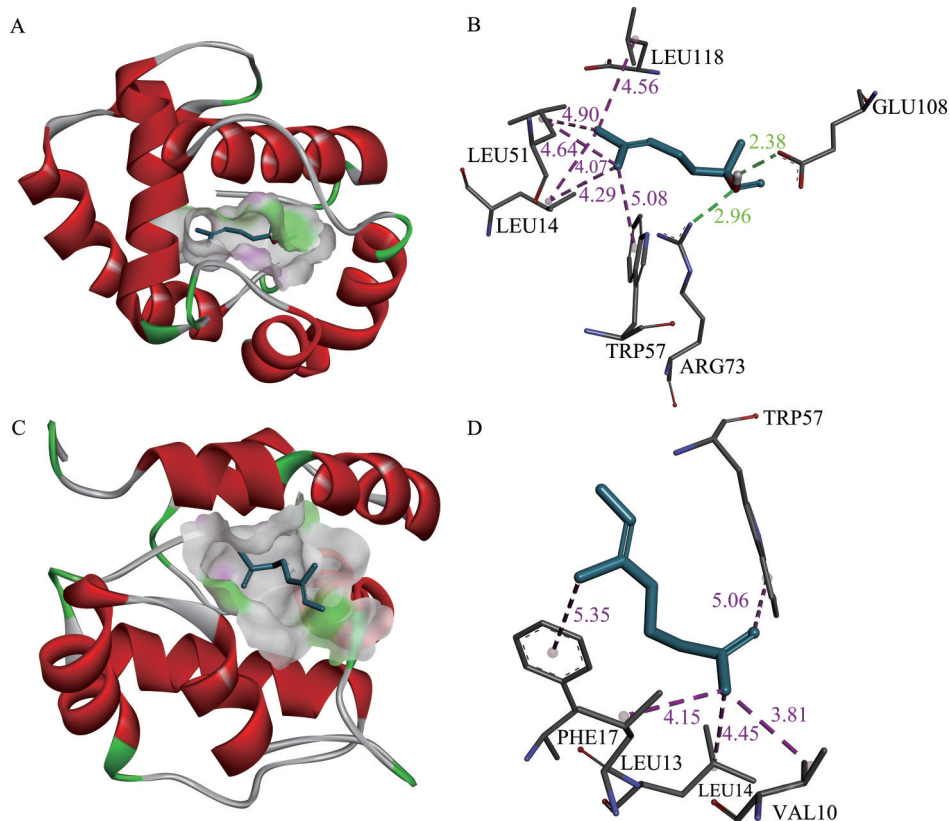


图6 花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3与芳樟醇(A)和 $\alpha$ -罗勒烯(B)的二维结合模式

Fig. 6 Two-dimensional binding mode of AzanOBP3 interacted with linalool (A) and  $\alpha$ -ocimene (B)



A和C: 分别为AzanOBP3(螺旋模型)与芳樟醇和 $\alpha$ -罗勒烯(蓝色模型)结合的三维结构; B和D: 分别为芳樟醇和 $\alpha$ -罗勒烯同氨基酸发生氢键和疏水作用的详细结合模式。A and C: Three-dimensional structure of the combined model between AzanOBP3 (the spiral model) and linalool,  $\alpha$ -ocimene (the blue model), respectively; B and D: detailed binding mode of linalool and  $\alpha$ -ocimene with amino acids undergoing hydrogen and hydrophobic interaction.

图7 花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3与芳樟醇(A~B)和 $\alpha$ -罗勒烯(C~D)的三维结合模式

Fig. 7 Three-dimensional binding pattern of AzanOBP3 with linalool (A~B) and  $\alpha$ -ocimene (C~D)

### 2.5.2 AzanOBP3与环状配体分子对接

与AzanOBP3结合的33种环状寄主挥发物属于烯烃类、醇类、酮类、醛类、芳香烃类、醚类以及酯类,其中烯烃类最多,为22种,环状配体的自由结合能集中在-6.6~-4.6 kJ/mol之间(表2),其中乙酸松油酯、 $\beta$ -石竹烯、葎草烯、3-萜烯、葎澄茄油烯、右旋大根香叶烯、 $\beta$ -榄香烯、乙酸叶醇酯、可巴烯和倍半

水芹烯这10种物质与AzanOBP3的结合能力较其他环状配体更强,总体上环状配体与AzanOBP3的自由结合能低于链状配体。环状配体中仅有乙酸松油酯、胡椒酮、萜品醇和4-侧柏醇与AzanOBP3结合时存在氢键作用,其他环状配体均以疏水作用和范德华力相结合。葎澄茄油烯与AzanOBP3结合最紧密,自由结合能为-6.6 kJ/mol。葎澄茄油烯结合口

袋位于 AzanOBP3 的  $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$  以及 C 末端形成的部位, 结合口袋并没有闭合而是贯通的, 从而使其与 AzanOBP3 紧密结合(图 8-A)。萘澄茄油烯以氨基酸 Leu11(3.67 Å/4.36 Å/5.30 Å/5.44 Å)、Leu14(4.09 Å)、Lys15(4.03 Å)、Ile32(5.40 Å)、Lys33(4.60 Å)和 His108

(5.50 Å)与蛋白受体发生疏水作用, 氨基酸 Tyr35、Phe117 和 Leu118 则在结合过程中以范德华力与蛋白结合(图 8-B 和图 9-A)。萘澄茄油烯与 AzanOBP3 之间没有形成氢键, 说明疏水作用和范德华力是受体-配体结合过程中的主要作用力。

表 2 花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3 与环状配体分子对接  
Table 2 Molecular docking of AzanOBP3 with cyclic ligand molecules

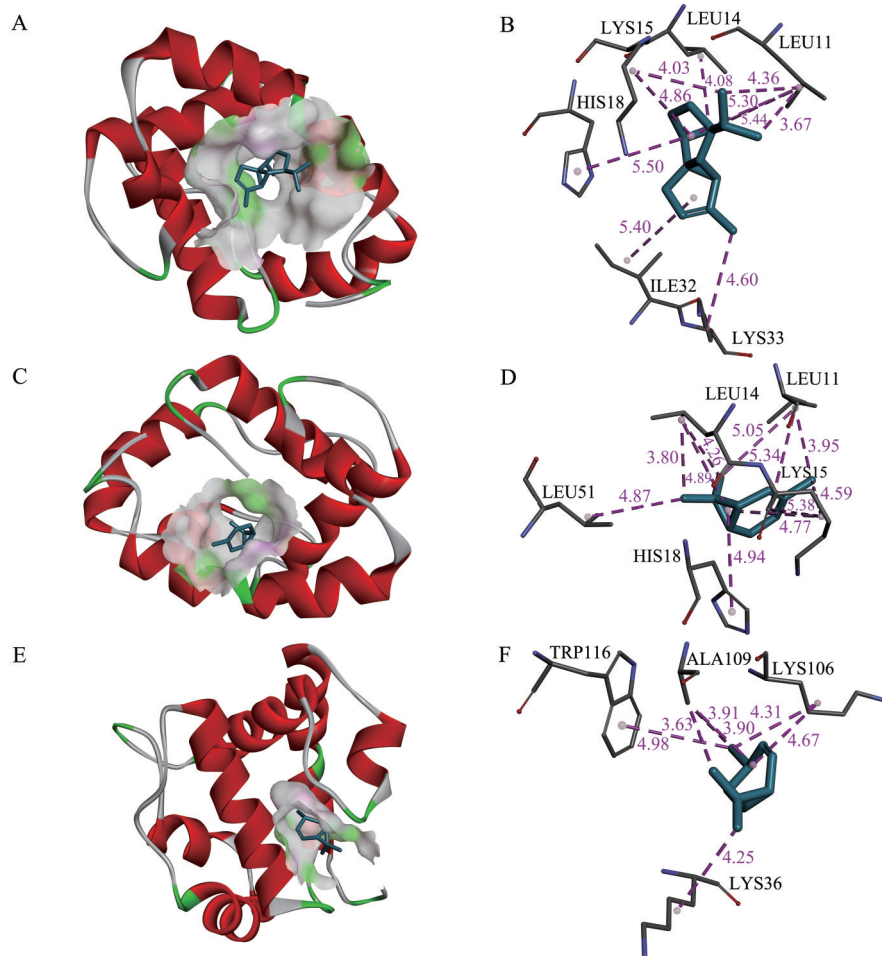
气味挥发物 Odor volatile compound		物质数字 识别号码 CAS no.	结合能 Binding energy/ (kJ/mol)	疏水作用 Hydrophobic interaction	氢键 Hydrogen	范德华力 van der Waals force	
烯烃 Olefin	萘澄茄油烯 <i><math>\alpha</math>-cubebene</i>	17699-14-8	-6.6	Leu11, Leu14, Lys15, His18, Ile32, Lys33	—	Tyr35, Phe117, Leu118	
	可巴烯 <i><math>\alpha</math>-copaene</i>	3856-25-5	-6.5	Leu13, Leu14, Phe17, Trp57, Val10	—	Ser55, Thr72, Arg73	
	$\zeta$ -依兰油烯 <i><math>\zeta</math>-muurolene</i>	24268-39-1	-6.2	Lys36, Ile37, Tyr102, Lys106, Ala109, Pro113	—	Tyr35, Glu38, Asp39, Glu110	
	$\beta$ -石竹烯 <i><math>\beta</math>-caryophyllene</i>	87-44-5	-5.9	Leu11, Leu14, Lys15, His18, Lys33, Phe117	—	Ile32, Tyr35, Leu118	
	右旋大根香叶烯 Gemmaene D	37839-63-7	-5.9	Pro6, Leu11, Ile32, His108, Phe117	—	Arg1, Glu12, Lys15, Tyr35, Leu118	
	葎草烯 <i><math>\alpha</math>-caryophyllene</i>	6753-98-6	-5.8	Leu11, Leu14, Lys15, Ile32, Lys33	—	His18, Tyr47, Leu51, Leu118	
	倍半水芹烯 <i><math>\beta</math>-sesquiphellandrene</i>	20307-83-9	-5.6	Lys36, Ile37, Tyr102, Lys106, Ala109	—	Tyr35, Glu38, Asp39, Glu110, Pro113	
	3-萜烯 3-carene	13466-78-9	-5.6	Leu11, Leu14, Lys15, His18, Leu51	—	Tyr47, Phe117, Leu118	
	$\beta$ -榄香烯 <i><math>\beta</math>-elemene</i>	515-13-9	-5.5	Ile37, Tyr102, Lys106, Ala109, Pro113, Trp116	—	Tyr35, Lys36, Glu38, Asp39, Glu110	
	4-萜烯 4-carene	5208-49-1	-5.3	Lys106, Trp116, Ala109, Lys36	—	Tyr35, Ile37, Glu38, His105, Glu110, Pro113	
	$\alpha$ -侧柏烯 (-)- <i><math>\alpha</math>-thujone</i>	2867-05-2	-5.3	Phe17, Leu13, Leu14, Trp57, Arg73, Val10	—	Ser55, Thr72	
	萜品油烯 Terpinolene	586-62-9	-5.3	Lys36, Ile37, Tyr102, Lys106, Ala109	—	Tyr35, Glu38, Asp39, Glu110, Pro113	
	$\beta$ -蒎烯 <i><math>\beta</math>-pinene</i>	18172-67-3	-5.3	Leu13, Trp57, Val10	—	Ser55, Thr72, Arg73, Phe17, Leu14	
	$\alpha$ -蒎烯 <i><math>\alpha</math>-pinene</i>	7785-70-8	-5.1	Leu13, Leu14, Trp57, Arg73, Val10	—	Ser55, Thr72	
	$\alpha$ -水芹烯 <i><math>\alpha</math>-phellandrene</i>	99-83-2	-5.1	Leu13, Leu14, Phe17, Trp57, Val10	—	Ser55, Thr72, Arg73	
	$\beta$ -水芹烯 <i><math>\beta</math>-phellandrene</i>	555-10-2	-5.1	Leu11, Leu14, Lys15, Leu51	—	His18, Tyr47, Leu118, Phe117	
	柠檬烯 (+)-dipentene	5989-27-5	-5.1	Leu13, Leu14, Trp57, Arg73, Val10	—	Ser55, Thr72, Leu14	
	$\alpha$ -萜品烯 <i><math>\alpha</math>-terpinene</i>	99-86-5	-5.1	Tyr35, Lys36, Ala109, Pro113	—	Arg1, Glu110, Trp116	
	$\gamma$ -油松烯 <i><math>\gamma</math>-terpinene</i>	99-85-4	-5.0	Tyr35, Lys36, Ala109, Pro113	—	Arg1, Glu110, Trp116	
	(R)-1-甲基-5-(1-甲基乙基)环己烯 (R)-1-methyl-5-(1-methylvinyl)cyclo-hexene	1461-27-4	-5.0	Lys36, Lys106, Ala109, Trp116	—	Tyr35, Ile37, Glu38, His105, Glu110	
	莜烯 Camphene	79-92-5	-5.0	Leu13, Leu14, Phe17, Trp57	—	Ser55, Thr72, Val10	
	桉烯 Sabinene	3387-41-5	-4.8	Leu13, Leu14, Phe17, Trp57, Val10	—	Ser55, Thr72, Arg73	
	醇类 Alcohol	4-萜品醇	562-74-3	-5.2	Lys106, Ala109	—	Glu11, Tyr35, Tys36, Ile37, Glu38, His105, Pro113
		萜品醇 $\gamma$ -terpineol	586-81-2	-4.9	Lys36, Ala109	Tyr102, Glu38	Tyr35, Ile37, Asp39, Met48, His105, Lys106, Glu110, Trp116
		4-侧柏醇 4-thujanol	546-79-2	-5.2	Leu13, Leu14, Phe17, Trp57, Val10	Thr72	Ser55, Arg73



续表2 Continued

气味挥发物 Odor volatile compound	物质数字 识别号码 CAS no.	结合能 Binding energy/ (kJ/mol)	疏水作用 Hydrophobic interaction	氢键 Hydrogen	范德华力 van der Waals force
酮类 Ketone	胡椒酮 Pipertone	89-81-6	-5.0	Leu11, Leu14, Lys15, Lys36, His18	Ile32, Tyr35, Ile37, Tyr47, Lys106, Glu110, Trp116, Phe117, Leu118
酯类 Ester	乙酸叶醇酯 <i>cis</i> -3-hexenyl phenylacetate	42436-07-7	-5.9	Lys36, Lys106, Ala109, Pro113, Trp116,	— Tyr35, Ile37, Glu38, Asp39, Tyr102, His105, Glu110
芳香烃 Aromatic hydrocarbon	乙酸松油酯 Terpinyl acetate	80-26-2	-5.9	Lys36, Ala109, Pro113	Glu38 Tyr35, Ile37, Lys106, Glu110, Trp116
芳香烃 Aromatic hydrocarbon	1,3-二乙基苯 1,3-diethylbenzene	141-93-5	-5.3	Ile37, Tyr102, Lys106, Ala109, Trp116	— Tyr35, Lys36, Glu38, Asp39, Met48, His105, Glu110, Pro113
芳香烃 Aromatic hydrocarbon	1,4-二乙基苯 1,4-diethylbenzene	105-05-5	-5.3	Lys106, Ala109, Pro113, Trp116	— Tyr35, Lys36, Ile37, Asp39, Glu38, Met48, Tyr102, His105, Glu110
醚类 Ethers	乙苯 Ethylbenzene	100-41-4	-4.8	Ala109, Trp116, Lys106	— Tyr35, Lys36, Ile37, Glu38, Asp39, Met48, Tyr102, His105, Glu110
醚类 Ethers	对二甲苯 <i>P</i> -xylene	106-42-3	-4.6	Ile37, Tyr102, Lys106, Ala109	— Tyr35, Lys36, Glu38, Asp39, Glu110
醚类 Ethers	桉叶油醇 1,8-cineole	470-82-6	-5.2	Leu13, Leu14, Phe17, Trp57, Val10	— Ser55, Thr72, Arg73

—表示未发现该种作用类型的氨基酸。— indicates that no amino acids of this type of action has been found.



A, C和E: 分别为AzanOBP3(螺旋模型)与萜澄茄油烯、3-萜烯和4-萜烯(蓝色模型)结合的三维结构; B, D和F: 分别为萜澄茄油烯、3-萜烯和4-萜烯同氨基酸发生疏水作用的详细结合模式。A, C and E: Three-dimensional structure of the combined model between AzanOBP3 (the spiral model) and  $\alpha$ -cubebene, 3-carene and 4-carene (the blue model), respectively; B, D and F: detailed binding mode of  $\alpha$ -cubebene, 3-carene and 4-carene with amino acids undergoing and hydrophobic interaction.

图8 花椒窄吉丁气味结合蛋白AzanOBP3与萜澄茄油烯(A~B)、3-萜烯(C~D)和4-萜烯(E~F)的三维结合模式  
Fig. 8 Three dimensional binding pattern of AzanOBP3 with  $\alpha$ -cubebene (A~B), 3-carene (C~D) and 4-carene (E~F)

环状配体中存在3对同分异构体,即3-萜烯与4-萜烯、 $\alpha$ -蒎烯与 $\beta$ -蒎烯和1,3-二乙基苯与1,4-二乙基苯,其中本试验仅分析与AzanOBP3结合能力最高的一组同分异构体3-萜烯与4-萜烯。3-萜烯和4-萜烯与AzanOBP3的结合部位与萆澄茄油烯的结合位点相似,位于蛋白受体C末端与 $\alpha$ 螺旋形成的空腔中(图8-C、E),3-萜烯的自由结合能为-5.6 kJ/mol,略低于4-萜烯的自由结合能-5.3 kJ/mol,说明3-萜烯与AzanOBP3结合更紧密。分析发现3-萜烯以疏水

作用的结合氨基酸为Leu11(3.95 Å/5.05 Å/5.34 Å)、Leu14(3.80 Å/4.26 Å/4.89 Å)、His18(4.94 Å)、Lys15(4.59 Å/4.77 Å/5.38 Å)和Leu51(4.87 Å),以范德华力结合的氨基酸为Leu118、Tyr47和Phe117(图8-D、图9-B)。与3-萜烯相比,4-萜烯虽然参与结合的氨基酸个数更多,但因多数氨基酸以范德华力进行结合(图8-F、图9-C),所以总体的结合能力较3-萜烯弱,推测在受体-配体结合过程中疏水作用要略强于范德华力。

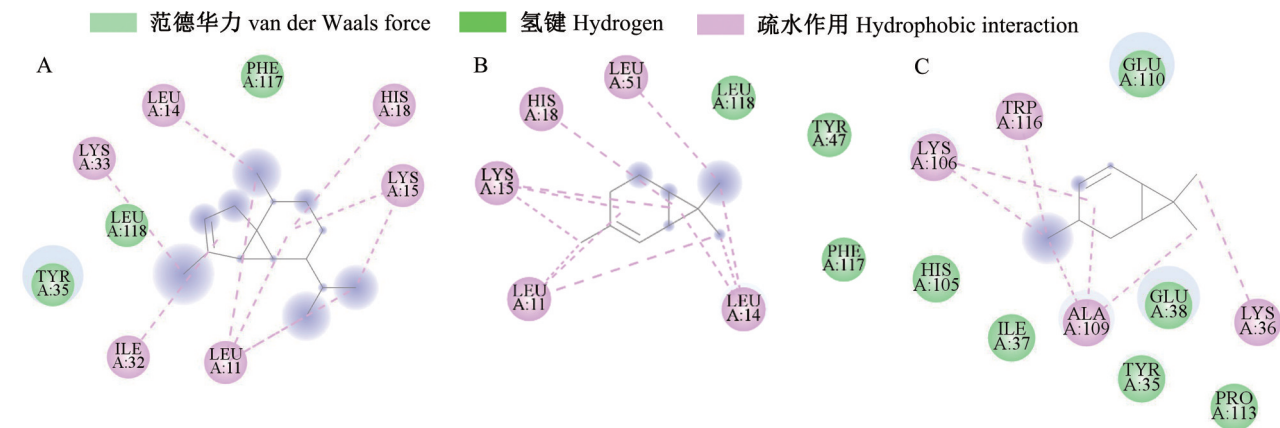


图9 花椒窄吉丁气味结合蛋白 AzanOBP3 与萆澄茄油烯(A)、3-萜烯(B)和4-萜烯(C)的二维结合模式

Fig. 9 Two-dimensional binding mode of AzanOBP3 interacted with  $\alpha$ -cubebene (A), 3-carene (B) and 4-carene (C)

### 3 讨论

同源建模是迄今为止精度最高的一类结构预测方法,相似的蛋白质序列往往拥有相似的三维结构,大部分研究以PDB数据库中的解析结构为模板进行蛋白三维结构预测(邓海游等,2016)。本研究采用同源建模的方法以CquiOBP1(3ogn.1.A)为模板,预测了花椒窄吉丁气味结合蛋白AzanOBP3的三维结构,该结构中所含6个半胱氨酸直接形成3个保守的二硫键,即 $\alpha$ 1螺旋中的Cys21和 $\alpha$ 3螺旋中的Cys50连接, $\alpha$ 3螺旋中的Cys46和 $\alpha$ 6螺旋中的Cys98连接及 $\alpha$ 5螺旋中的Cys88和 $\alpha$ 6中螺旋的Cys107连接。 $\alpha$ 1、 $\alpha$ 3、 $\alpha$ 4、 $\alpha$ 5和 $\alpha$ 6这5个螺旋构成了AzanOBP3的接合腔,C末端延伸到螺旋形成的锥形空腔中,构成结合腔的一部分。这与飞蝗*Lucosta migratoria*的LmigOBP1、光肩星天牛*Anoplophora glabripennis*的AglOBP2(Jiang et al., 2009; 赵新民等, 2019)等气味结合蛋白的构象类似。

昆虫依赖其嗅觉感受系统对所处环境中的物质进行探测和特异性识别,继而产生生理生化反应(Field et al., 2000)。在识别气味分子发生生理反应的过程中,气味结合蛋白最先与气味物质结合

(Krieger & Breer, 1999)。张婷等(2012)和Yu et al. (2018)发现气味结合蛋白可以同醇类、醛类、酯类、萜烯类和酮类等多种化合物结合,本研究选取了46种花椒窄吉丁寄主花椒的主要气味挥发物进行了分子对接试验,发现其中仅有9种挥发物与AzanOBP3以氢键结合,而其他37种物质均以疏水作用和范德华力同AzanOBP3结合,这与冈比亚按蚊*Anopheles gambiae*的AgamOBP1与配体PEG(Wogulis et al., 2006)以及致卷库蚊的CquiOBP1和配体MOP(Mao et al., 2010)的结合方式类似,因此推测花椒窄吉丁AzanOBP3与其寄主花椒气味挥发物之间的相互作用力主要为范德华力和疏水作用。本研究中认为环状配体的结合能力要强于链状配体,但郑志川(2017)报道云斑天牛*Batocera horsfieldi*的BhorOBP2与长链配体的结合能力要强于环状配体,并且其选择方式是基于配体碳链的长度。推测产生这种差异的原因可能是本试验在同源建模时以模板蛋白CquiOBP1的A链同源建模所致。Mao et al.(2010)报道了CquiOBP1-MOP复合结构,结构中蛋白A链和B链的空腔相对形成了一个狭长的结合部位将配体MOP包裹在其中从而紧密结合,这也解释了环状配体能在蛋白结合腔中形成较深的结合口袋,但是

结合腔并不能闭合贯通的现象。

植物在受到昆虫为害后会释放出能够调控植食性昆虫行为的挥发性化合物,这些挥发性化合物影响着昆虫对寄主选择的同时也形成了自我防御机制(Dicke et al., 1990; Turlings et al., 1990)。袁丽芳(2016)和王延来等(2020)曾通过触角电位试验以及行为趋向反应证实了 $\beta$ -石竹烯、乙酸芳樟酯、芳樟醇和可巴烯能引起花椒窄吉丁的行为反应,这与本试验中发现乙酸芳樟酯、 $\beta$ -石竹烯、可巴烯和芳樟醇与AzanOBP3具有较好的结合能力相符合,推测乙酸芳樟酯、 $\beta$ -石竹烯、芳樟醇和可巴烯能引起花椒窄吉丁的生理行为反应,可能是因为其与AzanOBP3进行了结合,后续可通过荧光竞争结合试验进一步明确AzanOBP3与寄主挥发物的结合情况。

通过同源建模方法对未解析的蛋白结构进行三维结构模拟,以分子对接的方法直观地显示蛋白受体和其配体间的结合模式,可以从大量物质中筛选出与蛋白紧密结合的物质,继而再进行荧光竞争结合试验,进一步判断气味结合蛋白和化合物的结合能力。分子对接适用于气味结合蛋白的初步功能研究以及配体筛选(郭冰等,2019),本研究通过分子对接技术模拟了花椒窄吉丁AzanOBP3与其46种寄主挥发物的结合模式,结合本课题组前期研究结果筛选出4种链状配体(乙酸芳樟酯、芳樟醇、乙酸香叶酯和别罗勒烯)和10种环状配体(乙酸松油酯、 $\beta$ -石竹烯、葎草烯、3-萜烯、葎澄茄油烯、右旋大根香叶烯、 $\beta$ -榄香烯、乙酸叶醇酯、可巴烯和倍半水芹烯)与AzanOBP3能稳定结合,为之后研究花椒窄吉丁气味结合蛋白功能奠定了基础。今后将继续对筛选的物质进行荧光竞争结合试验,以进一步确定不同气味挥发物与AzanOBP3之间的结合能力,为新型绿色无公害高效引诱剂的配制提供参考依据。

### 参 考 文 献 (References)

- Bowie JU, Lüthy R, Eisenberg D. 1991. A method to identify protein-sequences that fold into a known three-dimensional structure. *Science*, 253(5016): 164-170
- Colovos C, Yeates TO. 1993. Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions. *Protein Science*, 2(9): 1511-1519
- Dang XD, Chen XD, Wang MC, Li F, Li ML, Sun YM. 1988. A preliminary study of three important pests of *Zanthoxylum bungeanum*. *Shaanxi Forest Science and Technology*, (2): 57-62 (in Chinese) [党心德, 陈孝达, 王明春, 李锋, 李孟楼, 孙彦民. 1988. 花椒主要害虫的初步研究. *陕西林业科技*, (2): 57-62]
- Deng HY, Jia Y, Zhang Y. 2016. Protein structure prediction. *Acta Physica Sinica*, 65(17): 178170 (in Chinese) [邓海游, 贾亚, 张阳. 2016. 蛋白质结构预测. *物理学报*, 65(17): 178170]
- Dicke M, Sabelis MW, Takabayashi J, Bruin J, Posthumus MA. 1990. Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: prospects for application in pest control. *Journal of Chemical Ecology*, 16(11): 3091-3118
- Field LM, Pickett JA, Wadhams LJ. 2000. Molecular studies in insect olfaction. *Insect Molecular Biology*, 9(6): 545-551
- Krieger J, Breer H. 1999. Olfactory reception in invertebrates. *Science*, 286(5440): 720-723
- Gong XF, Yang P, Wang YL, Guo L, Chen D, Xie SA, Lü SJ. 2020. Cloning, prokaryotic expression and tissue expression profiling of odorant binding protein gene *AzanOBP3* from *Agrilus zanthoxylumi* (Coleoptera: Buprestidae). *Acta Entomologica Sinica*, 63(4): 390-400 (in Chinese) [巩雪芳, 杨平, 王延来, 郭莉, 陈迪, 谢寿安, 吕淑杰. 2020. 花椒窄吉丁气味结合蛋白基因 *AzanOBP3* 的克隆、原核表达及组织表达谱分析. *昆虫学报*, 63(4): 390-400]
- Guo B, Hao EH, Wang JZ, Lu PF, Qiao HL. 2019. Molecular docking of odorant binding proteins and its related semiochemicals of siren woodwasp *Sirex noctilio*, an invasive insect pest. *Journal of Plant Protection*, 46(5): 1004-1017 (in Chinese) [郭冰, 郝恩华, 王菁桢, 陆鹏飞, 乔海莉. 2019. 入侵害虫松树蜂气味结合蛋白与其相关信息化学物质的分子对接. *植物保护学报*, 46(5): 1004-1017]
- He XL, Tzotzos G, Woodcock C, Pickett JA, Hooper T, Field LM, Zhou JJ. 2010. Binding of the general odorant binding protein of *Bombyx mori* BmorGOBP2 to the moth sex pheromone components. *Journal of Chemical Ecology*, 36(12): 1293-1305
- Jiang QY, Wang WX, Zhang ZD, Zhang L. 2009. Binding specificity of locust odorant binding protein and its key binding site for initial recognition of alcohols. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39(7): 440-447
- Laskowski RA, Rullmann JA, MacArthur MW, Kaptein R, Thornton JM. 1996. AQUA and PROCHECK-NMR: programs for checking the quality of protein structures solved by NMR. *Journal of Biomolecular NMR*, 8(4): 477-486
- Li DZ, Huang XF, Yang RN, Chen JY, Wang MQ. 2020. Functional analysis of two odorant-binding proteins, MaltOBP9 and MaltOBP10, in *Monochamus alternatus* Hope. *Frontiers in Physiology*, 11: 317
- Li DZ, Yu GQ, Yi SC, Zhang YN, Kong DX, Wang MQ. 2015. Structure-based analysis of the ligand-binding mechanism for DheIOBP21, a C-minus odorant binding protein, from *Dastarcus hehlophoroides* (Fairmaire; Coleoptera: Bothrioderidae). *International Journal of Biological Sciences*, 11(11): 1281-1295
- Li M, Guo MQ, Xiang WF, Yang YX, Wang YH, Zhu GP, Pan LN. 2019. Research progress in molecular docking in insect chemosense. *Plant Protection*, 45(5): 121-127 (in Chinese) [李敏, 郭美琪, 相伟芳, 杨艺新, 王永辉, 朱耿平, 潘丽娜. 2019. 分子对接技术在昆虫化学感受研究中的应用进展. *植物保护*, 45(5): 121-127]

- Li ML, Li ZM, Jiao AY. 1990. Spatial distribution pattern and damage character of prickly ash stem girdler. *Journal of Northwest College of Forestry*, 5(1): 34–38 (in Chinese) [李孟楼, 李宗明, 焦爱叶. 1990. 花椒窄吉丁的危害规律及其分布型. 西北林学院学报, 5(1): 34–38]
- Liu SP, Xie SA, Yuan LF, Cheng HG. 2016. Effect of *Agrilus zanthoxylumi* infection on the volatile constituents of *Zanthoxylum bungeanum*. *Journal of Northwest Forestry University*, 31(5): 246–254 (in Chinese) [刘绥鹏, 谢寿安, 袁丽芳, 成宏刚. 2016. 花椒窄吉丁的入侵对花椒挥发物成分的影响. 西北林学院学报, 31(5): 246–254]
- Mao Y, Xu XZ, Xu W, Ishida Y, Leal WS, Ames JB, Clardy J, Meinwald J. 2010. Crystal and solution structures of an odorant-binding protein from the southern house mosquito complexed with an oviposition pheromone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(44): 19102–19107
- Qu SX, Ma L, Li HP, Song JD, Hong XY. 2016. Chemosensory proteins involved in host recognition in the stored-food mite *Tyrophagus putrescentiae*. *Pest Management Science*, 72(8): 1508–1516
- Turlings TCJ, Tumlinson JH, Lewis WJ. 1990. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science*, 250(4985): 1251–1253
- Vogt RG, Riddiford LM. 1981. Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature*, 293(5828): 161–163
- Wang YL, Xie SA, Lai Q, Gong XF, Yang P, Lü SJ, Li D. 2020. Electroantennogram and behavioral responses of *Agrilus zanthoxylumi* to volatiles from *Zanthoxylum bungeanum*. *Journal of Northwest Forestry University*, 35(1): 150–157 (in Chinese) [王延来, 谢寿安, 赖青, 巩雪芳, 杨平, 吕淑杰, 李冬. 2020. 花椒窄吉丁对寄主果实挥发物的触角电位及行为反应. 西北林学院学报, 35(1): 150–157]
- Wogulis M, Morgan T, Ishida Y, Leal WS, Wilson DK. 2005. The crystal structure of an odorant binding protein from *Anopheles gambiae*: evidence for a common ligand release mechanism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 339(1): 157–164
- Yan W, Luo YQ, Li CX, Liu L, Qin WQ, Peng ZQ. 2017. Modeling the odorant binding protein of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(6): 909–914 (in Chinese) [阎伟, 骆有庆, 李朝绪, 刘丽, 覃伟权, 彭正强. 2017. 锈色棕榈象气味结合蛋白的同源建模. 应用昆虫学报, 54(6): 909–914]
- Yang P, Gong XF, Chen D, Guo L, Wang YL, Lü SJ, Xie SA. 2020. cDNA cloning and prokaryotic expression of chemosensory protein AzanCSP3 from the *A. zanthoxylumi*. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 28(2): 302–312 (in Chinese) [杨平, 巩雪芳, 陈迪, 郭莉, 王延来, 吕淑杰, 谢寿安. 2020. 花椒窄吉丁化学感受蛋白AzanCSP3的cDNA克隆及原核表达. 农业生物技术学报, 28(2): 302–312]
- Yu GQ, Li DZ, Lu YL, Wang YQ, Kong DX, Wang MQ. 2018. Deciphering the odorant binding, activation, and discrimination mechanism of Dhelobp21 from *Dastarus helophoroides*. *Scientific Reports*, 8(1): 13506
- Yuan LF. 2016. The preliminary study on mechanism of odor perception of *Agrilus zanthoxylumi* to volatiles from *Zanthoxylum bungeanum*. Master thesis. Yangling: Northwest A&F University (in Chinese) [袁丽芳. 2016. 花椒窄吉丁对寄主挥发物化学感受机制的初步研究. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学]
- Zhang T, Liu NY, Dong SL. 2012. cDNA cloning, tissue distribution and ligand binding characteristics of antennal binding protein 2 from the beet army worm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, 55(5): 499–509 (in Chinese) [张婷, 刘乃勇, 董双林. 2012. 甜菜夜蛾触角结合蛋白II的cDNA克隆、组织分布及配体结合特性分析. 昆虫学报, 55(5): 499–509]
- Zhang W. 2009. Natural enemies of *Agrilus zanthoxylumi*. Master thesis. Yangling: Northwest A&F University (in Chinese) [张伟. 2009. 花椒窄吉丁天敌研究. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学]
- Zhang Y, Yang B, Wang GR. 2019. Research progress of soluble proteins on chemosensation in insects. *Journal of Environmental Entomology*, 41(2): 229–240 (in Chinese) [张玉, 杨斌, 王桂荣. 2019. 昆虫嗅觉相关可溶性蛋白的研究进展. 环境昆虫学报, 41(2): 229–240]
- Zhao XM, Li TT, Pen XY, Liu SQ. 2019. Homology modeling of the odorant binding protein AglaOBP12 of *Anoplophora glabripennis* and its molecular docking to the host plant volatile *cis*-3-hexenyl acetate. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(2): 290–297 (in Chinese) [赵新民, 李滔滔, 彭晓赟, 刘石泉. 2019. 光肩星天牛气味结合蛋白AglaOBP12同源建模及与乙酸-顺-3-己烯酯的分子对接研究. 应用昆虫学报, 56(2): 290–297]
- Zheng ZC. 2017. The binding and releasing mechanism between Minus-C OBPs from *Batocera horsfieldi* (Hope) and ligands. Master thesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese) [郑志川. 2017. 云斑天牛Minus-C OBPs与配基的结合与释放机制. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学]
- Zhuang XJ, Wang Q, Wang B, Zhong T, Cao Y, Li KB, Yin J. 2014. Prediction of the key binding site of odorant-binding protein of *Holotrichia oblita* Faldermann (Coleoptera: Scarabaeida). *Insect Molecular Biology*, 23(3): 381–390

(责任编辑:李美娟)