

埃及伊蚊表皮结构蛋白 AaCPR100A 的 抗原表位的生物信息学预测*

陈 静** 卢浩然** 张 磊 廖承红*** 韩 谦***

(海南大学生命科学与药学院, 海口 570228)

摘 要 【目的】 预测埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 表皮结构蛋白 AaCPR100A 的抗原表位。【方法】 通过 DNASTar 8 的 Protean 软件对埃及伊蚊表皮结构蛋白 AACPR100A 的二级结构和亲疏水性、表面可及性、柔韧性等特性进行分析, 预测其潜在的 B 细胞抗原表位和潜在的 T 细胞抗原表位。【结果】 AaCPR100A 蛋白的二级结构以转角和不规则卷曲为主, 表面可及性、柔韧性较强, 存在 7 个潜在的 B 细胞抗原表位, 位于 18-29、32-42、47-82、87-98、111-178、194-248 氨基酸残基或其附近, 同时有 11 个潜在的 T 细胞抗原表位, 位于 20-24、35-39、44-48、51-53、79-82、103-106、109-112、146-148、150-152、185-203、224-235 氨基酸残基或其附近。【结论】 AaCPR100A 蛋白潜在的 B 细胞抗原表位有 7 个, 潜在的 T 细胞抗原表位有 11 个, 综合后有 3 个潜在抗原表位, 预测结果将为进一步研究 AaCPR100A 蛋白的免疫学特性和功能奠定基础, 并为蚊虫的控制提供潜在的靶标。

关键词 埃及伊蚊; 抗原表位; DNASTar 8; AaCPR100A

Bioinformatic prediction of epitopes of the cuticular gene AACPR100A in *Aedes aegypti*

CHEN Jing** LU Hao-Ran** ZHANG Lei LIAO Cheng-Hong*** HAN Qian***

(School of Bioscience and Pharmacy, Hainan University, Haikou 570228)

Abstract 【Objectives】 To predict the epitopes of the *Aedes aegypti* epidermis protein AaCPR100A. 【Methods】 The secondary structure and hydrophobicity, surface probability and flexible regions of AaCPR100A were analyzed by DNASTar software to predict potential B cell antigen epitopes and potential T cell antigen epitopes. 【Results】 The secondary structure of the AaCPR100A protein was rich in β -turns and random coils, and had high surface probability and flexibility. There were 7 potential B cell epitopes located at amino acid residues 18-29, 32-42, 47-82, 87-98, 111-178 and 194-248, or nearby, and also 11 potential T cell epitopes located at amino acid residues 20-24, 35-39, 44-48, 51-53, 79-82, 103-106, 109-112, 146-148, 150-152, 185-203 and 224-235, or nearby. 【Conclusion】 The AaCPR100A protein contains both potential B cell antigen epitopes and potential T cell antigen epitopes. The predicted results provide a foundation for studies of the immunological properties and function of the AACPR100A protein, and suggest a potential target protein for mosquito control.

Key words *Aedes aegypti*; epitope; DNASTar software; AaCPR100A

埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 是一种在世界范围内广泛分布的昆虫, 长期以来分布于北纬 22°以南的沿海区域, 在我国主要分布在海南、广东、云南和广西等地区(陆宝麟, 1979; 白纹伊蚊和

埃及伊蚊及其综合防治研究组, 1982)。但随着全球气候的变化和全国交通条件的迅速发展, 埃及伊蚊的分布已呈向北方扩散的趋势。埃及伊蚊常孳生在室内外的各种积水处, 成蚊刺吸人血,

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31860702, 31472186)

**共同第一作者 Co-first authors, E-mail: 1101173833@qq.com; 1048322442@qq.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: qianhan@hainu.edu.cn; liaochh77@163.com

收稿日期 Received: 2018-11-06; 接受日期 Accepted: 2019-01-17

且在同一个生殖营养周期内可二次吸血,因而成为许多疾病的重要传播媒介(贾德胜等, 2017; 赵宣等, 2017), 如黄热病毒(谭维国等, 2016)、寨卡病毒(廖承红等, 2016; 闫飞虎等, 2017)和登革热病毒(陆宝麟, 1979; 靳建超, 2011; 谢晖等, 2011)等, 对人类健康和生产生活都存在较大威胁。

昆虫的表皮是覆盖于其体表的一种复杂的外骨骼, 具有抵御外界环境侵害、体形发育塑造和维持活动能力等功能(Moussian, 2010; 梁欣等, 2014), 昆虫表皮也是杀虫剂渗透的主要途径, 可以通过增厚或者改变表皮的化学成分减少杀虫剂的摄入(Zhou *et al.*, 2017), 因此昆虫表皮在昆虫中扮演着重要的角色。昆虫表皮主要是由表皮蛋白和几丁质组成(Jasrapuria *et al.*, 2010), 两者相互作用形成 Bouligand 模型(Karouzou *et al.*, 2007; Soares *et al.*, 2007; Su *et al.*, 2016)。节肢动物中最大的表皮蛋白 Cuticle protein (CP) 家族是 CPR 家族, 可分为 RR-1、RR-2 和 RR-3 3 种基序, 含有 RR-1 基序的蛋白通常与柔性表皮相关, 含有 RR-2 基序的蛋白通常与硬角质层有关。埃及伊蚊是完全变态发育的昆虫, 其角质层的产生、分化、消化和重建贯穿昆虫的整个生命周期。CP 基因显示出不同的时空表达模式(Charles, 2010; Jasrapuria *et al.*, 2010; Vannini and Willis, 2016), 在不同组织和不同发育阶段的表达情况不同, 在组织形成和发育中的功能作用也是不尽相同。因此, 在整个蚊子生命周期中 CP 基因表达模式和功能的多样性对于维持蚊子的重要生理功能和过程至关重要。在埃及伊蚊中, CPR 家族是数量最多的一个家族, 在 28-157 之间, 而且 CPR 基因在整个表皮蛋白 CP 基因中的数量超过 50%, 因此研究蚊虫表皮相关性实验对于未来蚊虫的防控具有重要的意义。在前期研究中, 笔者通过 RNAseq 数据分析发现埃及伊蚊的表皮蛋白 AaCPR100A 是一种表皮结构蛋白, 其具有 CPR 家族中 RR-1 基序, 在蚊虫表皮发育过程中起到了关键作用(Matthews *et al.*, 2016; 陈静等, 2018), 但目前对其机制的了解尚不明确, 有待进一步探讨。

本研究通过生物信息学途径, 对埃及伊蚊表皮蛋白 AaCPR100A 的二级结构和抗原表位进行预测与分析, 从而为埃及伊蚊表皮蛋白 AaCPR100A 抗体的制备提供数据支持, 为其功能研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

信号肽分析网站: SignalP 网站 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP>, 丹麦技术大学开发)。

抗原表位分析软件: DNASTar 软件包中的 EditSeq、Protean 软件(美国 DNASTar 公司开发)。

蛋白多序列比对网站: PRALINE 多序列比对 (<http://www.ibi.vu.nl/programs/pralinewww>, 荷兰阿姆斯特丹自由大学开发)。

1.2 方法

1.2.1 氨基酸序列获取 在 NCBI 网站下载 AaCPR100A 氨基酸全长序列, 编号为 XP_001662974, 含有 254 个氨基酸。

1.2.2 BLAST 分析 使用 NCBI 网站的 BLAST 工具, 选择蛋白数据库, 导入 AaCPR100A 氨基酸序列进行分析。

1.2.3 信号肽预测 通过 SignalP 网站, 对 AaCPR100A 信号肽进行预测。

1.2.4 二级结构预测 通过 EditSeq 对 AaCPR100A 的等电点进行分析。通过 Protean 软件, 利用 Garnier-Robson 法(Garnier *et al.*, 1978)和 Chou-Fasman 法(Chou and Fasman, 1978)对 AaCPR100A 蛋白的 α 螺旋、 β 折叠等二级结构进行预测。

1.2.5 疏水、亲水性分析 通过 Protean 软件, 利用 Kyte-Doolittle 法(Kyte and Doolittle, 1982)和 Hopp-Woods 法(Hopp and Woods, 1983)对 AaCPR100A 蛋白的疏水、亲水性进行分析。

1.2.6 表面可及性(Surface Probability)分析 通过 Protean 软件, 利用 Emini 法(Emini *et al.*, 1985)对 AaCPR100A 蛋白的表面可及性进行分析。

1.2.7 柔韧性(Flexible)分析 通过 Protean 软件, 利用 Karplus-Schulz 法(Karplus and Schulz, 1985)对 AaCPR100A 蛋白的柔韧性进行分析。

1.2.8 抗原性预测 通过 Protean 软件, 利用 Jameson-wolf 法 (Jameson and Wolf, 1988) 预测 AaCPR100A 抗原的潜在 B 细胞抗原表位、利用 AMPHI 法 (Gao *et al.*, 1989) 预测 AACPR100A 抗原的免疫优势辅助性 T 细胞抗原位点、利用 Rothbard-Taylor 法 (Kutubuddin *et al.*, 1991) 预测有特定 motif 的潜在 T 细胞抗原位点。综合以上的结果, 最终预测抗原表位。

1.2.9 抗原特异性检验 在 PRALINE 网站, 导入 BLAST 后的结果进行比对, 以检验抗原表位的特异性。

2 结果与分析

2.1 AaCPR100A 氨基酸序列信号肽分析与二级结构预测

AaCPR100A 蛋白的氨基酸序列为: MFRFIVVSTLLVAASAQYNGYNRDPKTVAIVSEQRYLAGDGQFGAAYDQEDGTNFKEETDADGNRRGSYSYLDPSGQRRRTISYVAGKNGFQAS

GDHLPVAPAAPPAPAHAAAPQPQYRQQAQPQYQQQAQPQYQQQAQPQYNFDHQGRSYDNQG YEDGGYDPRWNDPSFSQQHSRPTAAPVVTPA PVQNYHHQPAPIENYHRQQAQAPVPQNYHH ASPQPQQEWTTQAPHRFQPPGKLQLNR TPDGFSYTFNKV。

AaCPR100A 蛋白含有 254 个氨基酸, 等电点为 6.888, N 端 16 个氨基酸残基是信号肽 (图 1), 信号肽序列为: MFRFIVVSTLLVAASA。

根据 Garnier-Robson 法和 Chou-Fasman 法分析的结果, 预测 AaCPR100A 蛋白的二级结构以 β 转角和无规则卷曲为主, 大约占 85%, β 转角主要分布在 17-23、35-40、59-63、65-69、74-78、114-119、122-127、130-155、139-158、161-163、167-172、186-190、196-202、211-215、244-247 氨基酸残基, 无规则卷曲主要分布在 41-48、52-58、100-113、191-195、206-210、216-220 氨基酸残基, 同时也存在较少的 α 螺旋和 β 折叠, 利用 Garnier-Robson 法未分析出 α 螺旋 (图 2)。

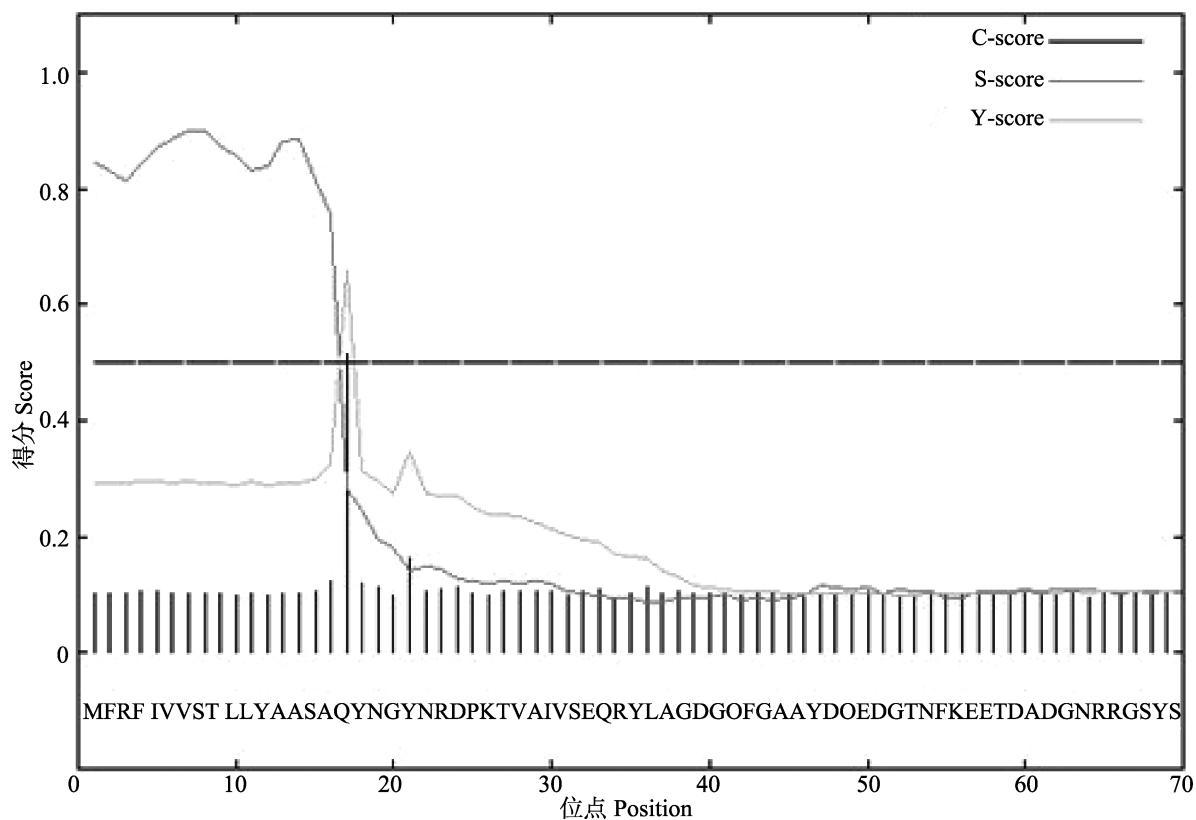


图 1 信号肽预测

Fig. 1 Prediction of the signal peptide

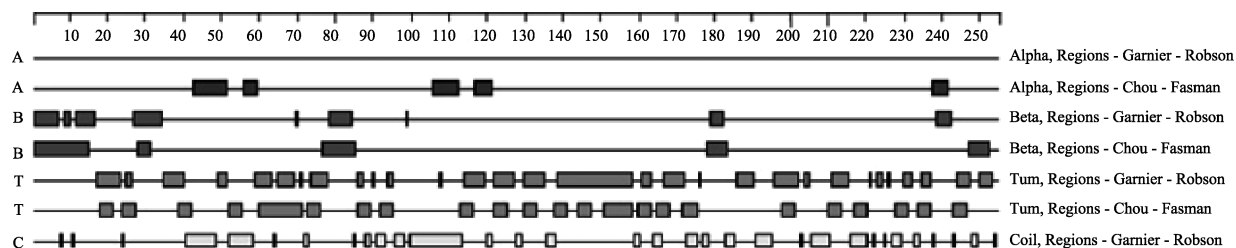


图 2 二级结构预测

Fig. 2 Prediction of the secondary structure

2.2 特性分析与抗原表位预测

通过 Protean 软件, 对 AaCPR100A 蛋白亲水性分析、疏水性、表面可及性及柔韧性进行了分析, 并预测了可能存在的抗原表位 (图 3)。

2.2.1 AaCPR100A 蛋白的亲水性 利用 Kyte-Doolittle 方法和 Hopp-Woods 方法对 AaCPR100A 蛋白的疏水性区域 (Hydrophobicity plot) 进行分析, 结果显示疏水区主要集中在 1-16、27-34、96-113、178-193 氨基酸残基, 其中 1-16 氨基酸残基具很大的疏水性, 为 AaCPR100A 蛋白的信号肽。亲水性 (Hydrophilicity plot) 区域集中分布在 17-26、35-40、43-84、108-176、

185-254 氨基酸残基。

2.2.2 AaCPR100A 蛋白的表面可及性及可塑性 由图 3 可见, AaCPR100A 蛋白表面可及性 (Surface probability) 较高的区域主要集中分布在 16-26、33-36、46-68、70-80、111-176、184-192、194-205、208-236、239-244 氨基酸残基。Karplus-Schulz 方法分析 AaCPR100A 蛋白可塑区 (Flexible region), 结果显示可塑性较高的区域集中分布在 21-27、48-68、73-80、112-139、145-176、217-228 氨基酸残基。根据蛋白特性分析, 这些区域柔韧性较强, 容易与抗体结合, 因此形成抗原表位的可能性很大。

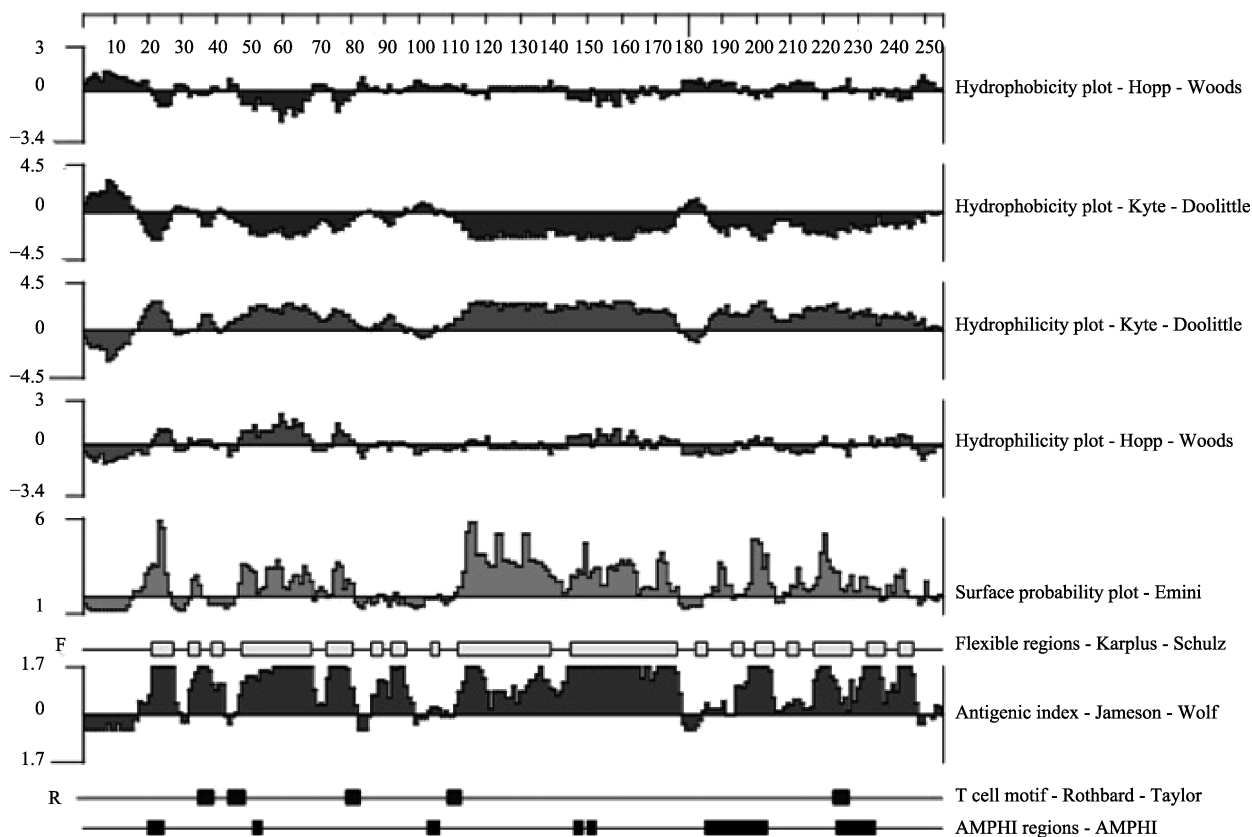


图 3 特性分析与抗原表位预测

Fig. 3 Characteristic analysis and prediction of antigen epitope

2.2.3 AaCPR100A 蛋白的抗原表位 根据 Jameson-Wolf 方法分析, AaCPR100A 蛋白有 6 个潜在的 B 细胞抗原表位 (Antigenic index), 分别是 18-29、32-42、47-82、87-98、111-178、194-248 氨基酸残基。利用 Rothbard-Taylor 法和 AMPHI 综合预测, AaCPR100A 蛋白有 11 个潜在的 T 细胞抗原表位, 分别是 20-24、35-39、44-48、51-53、79-82、103-106、109-112、146-148、150-152、185-203、224-235 氨基酸残基。

3 讨论

通过 BLAST 比对分析, AaCPR100A 蛋白在双翅目中具有很强的同源性, 尤其是与同为蚊属的白纹伊蚊 *Aedes albopictus*、致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus*、中华按蚊 *Anopheles sinensis*、达氏按蚊 *Anopheles darlingi*、冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*, 以及果蝇属 *Drosophila* spp. 同源性极高。因此 AaCPR100A 蛋白的研究对于其它昆虫表皮发育、结构组成等方面也有所助益。

本研究通过生物信息学手段对表皮蛋白 AaCPR100A 的等电点、信号肽进行了分析, 并从二级结构、亲水疏水性、表面可及性、柔韧性以及抗原指数等方面出发进行了抗原表位预测。AaCPR100A 蛋白的 α 螺旋和 β 折叠较少, β 转角和无规则卷曲占绝对对数, 更容易分布在蛋白质的表面, 与抗体结合, 这可能是 B 细胞抗原表位较多的原因之一; 亲水性区段多, 疏水性区段少, 使得蛋白易溶于水, 对 B 细胞抗原表位的进一步研究非常有利; 表面可及性高的区域相对较多, 这说明暴露在蛋白表面的氨基酸残基相对较多, 有利于后续抗体的结合; 柔韧性高的区域也较多, 说明其可能发生折叠和扭曲的概率高, 能够容易的形成抗原表位; 抗原指数也非常高, 非常有利于抗体结合。根据以上的结果综合分析来看, AaCPR100A 蛋白的潜在 B 细胞抗原表位比较多。但 DNASTar 8 软件是基于 AaCPR100A 蛋白一级结构, 运用多种算法综合预测 B 细胞抗原表位, 存在一定的缺陷, 没有考虑到氨基酸分子间的相互作用情况 (王晓哲等, 2017)。因

此对于最终结果还需要进一步人工分析取舍, 或辅以其他预测方法检验 (何焱和郝永清, 2014; Potocnakova *et al.*, 2016), 选取最佳肽段作为高效的抗原表位。在 T 细胞抗原表位预测方面, 本研究利用了 AMIPHI 法和 Rothbard-Taylor 法, 在 DNASTar 8 软件中 T 细胞抗原表位的预测是一个短板, 考量到的因素不多 (李江英等, 2015), 应交叉比较其他方法结果, 如使用 ANNs+QM 法对 HLA 抗原肽进行分析预测、使用 MHC-II 类分子结合肽分析 Th 表位, 进行合理选取。综合潜在的 B 细胞、T 细胞抗原表位分析后, 最终确定了三个候选抗原表位: 49-64、230-243 和 158-173。

埃及伊蚊是一种完全变态发育的昆虫, 一生要经历多次蜕皮才能发育成成虫, 在整个蚊子生命周期中 CP 基因表达模式和功能的多样性对于维持蚊子的重要生理现象和过程至关重要 (闫飞虎等, 2017; Zhao *et al.*, 2017)。AaCPR100A 基因在埃及伊蚊的不同时期表达量有显著差异, 是其发育过程中的关键基因, 产物 AaCPR100A 蛋白是表皮的重要组成部分。因此研究 AaCPR100A 蛋白对于埃及伊蚊和其它可传播疾病的媒介生物的防制有突出作用, 在后续对该基因的表达调控、代谢调节等功能性实验中也具有深远意义。目前, 并没有有效的药物或疫苗来抵抗蚊媒所传播的疾病, 大量的使用杀虫剂使得蚊虫的抗药性显著提高, 因此生物防控受到越来越多研究者的重视, 对于 AaCPR100A 的研究, 可为蚊虫防控提供一个新的生物学靶标。

综上所述, AaCPR100A 蛋白的 B 细胞、T 细胞潜在抗原表位较多, 其结构非常有利于抗原表位设计。AaCPR100A 蛋白抗原表位的预测为探究此蛋白的免疫学特性研究、昆虫发育过程中此蛋白的表达与分布情况研究及功能性实验奠定了一定的基础。

参考文献 (References)

- Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* and Its Integrated Control Research Group, 1982. Distribution of *Aedes aegypti* in China and its comprehensive control. *Chinese Journal of Epidemiology*,

- 3(6): 354–356. [白纹伊蚊和埃及伊蚊及其综合防治研究组, 1982. 埃及伊蚊在我国的分布及其综合防制. 中华流行病学杂志, 3(6): 354–356.]
- Charles JP, 2010. The regulation of expression of insect cuticle protein genes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40(3): 205–213.
- Chen J, Zhang L, Lu HR, Cong JH, Shang ZA, Liao CH, Han Q, 2018. Sequence characterization and expression analysis of cuticular gene aacpr100a in *Aedes aegypti*. *Acta Parasitology et Medica Entomologica Sinica*, 25(1): 18–22. [陈静, 张磊, 卢浩然, 从军灏, 商子昂, 廖承红, 韩谦, 2018. 埃及伊蚊表皮结构基因 AaCPR100A 序列特征和表达特性分析. 寄生虫与医学昆虫学报, 25(1): 18–22.]
- Chou PY, Fasman GD, 1978. Prediction of the secondary structure of proteins from their amino-acid sequence. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 47: 45–148.
- Emini EA, Hughes JV, Perlow DS, Boger J, 1985. Induction of hepatitis A virus-neutralizing antibody by a virus-specific synthetic peptide. *Journal of Virology*, 55(3): 836–839.
- Gao XM, Liew FY, Tite JP, 1989. Identification and characterization of T helper epitopes in the nucleoprotein of influenza A virus. *The Journal of Immunology*, 143(9): 3007–3014.
- Garnier J, Osguthorpe DJ, Robson B, 1978. Analysis of the accuracy and implications of simple methods for predicting the secondary structure of globular proteins. *Journal of Molecular Biology*, 120(1): 97–120.
- He Y, Hao YQ, 2014. Cloning and antigen epitopes prediction of fibronectin-binding protein A gene a domain of bovine *Staphylococcus aureus*. *China Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 41(5): 7–11. [何焱, 郝永清, 2014. 牛源金黄色葡萄球菌 FnbA-A 基因克隆及抗原表位预测. 中国畜牧兽医, 41(5): 7–11.]
- Hopp TP, Woods KR, 1983. A computer program for predicting protein antigenic determinants. *Molecular Immunology*, 20(4): 483–489.
- Jameson BA, Wolf H, 1988. The antigenic index: a novel algorithm for predicting antigenic determinants. *Bioinformatics*, 4(1): 181–186.
- Jasrapuria S, Arakane Y, Osman G, Kramer KJ, Beeman RW, Muthukrishnan S, 2010. Genes encoding proteins with peritrophin A-type chitin-binding domains in *Tribolium castaneum* are grouped into three distinct families based on phylogeny, expression and function. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40(3): 214–227.
- Jia DS, Tan WL, Wang CJ, Han ZJ, Jiang ZK, Lu NH, Zheng J, 2017. Aedes-borne diseases prevention and control. *Chinese Journal of Hygienic Insecticides & Equipments*, 23(1): 1–7. [贾德胜, 谭伟龙, 王长军, 韩招久, 姜志宽, 陆年宏, 郑剑, 2017. 伊蚊传播疾病及其防治. 中华卫生杀虫药械, 23(1): 1–7.]
- Jin JC, 2011. Insecticide resistance of different populations of dengue fever mosquitoes in China and population of *Culex Tritaenihunchus* in Dandong. Master thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [靳建超, 2011. 我国不同地理种群登革热媒介伊蚊和丹东三带喙库蚊对杀虫剂的抗性. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学.]
- Karouzou MV, Spyropoulos Y, Iconomidou VA, Cornman RS, Hamodrakas SJ, Willis JH, 2007. Drosophila cuticular proteins with the R&R consensus: annotation and classification with a new tool for discriminating RR-1 and RR-2 sequences. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37(8): 754–760.
- Karplus PA, Schulz GE, 1985. Prediction of chain flexibility in proteins. *Naturwissenschaften*, 72(4): 212–213.
- Kutubuddin M, Kolaskar AS, Galande S, Gore MM, Ghosh SN, Banerjee K, 1991. Recognition of helper T cell epitopes in envelope (E) glycoprotein of Japanese encephalitis, west Nile and Dengue viruses. *Molecular Immunology*, 28(1/2): 149–154.
- Kyte J, Doolittle RF, 1982. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *Journal of Molecular Biology*, 157(1): 105–132.
- Li JY, Bai XJ, Liang Y, Zhang JX, Yang YR, Zhao WG, Wu XQ, 2015. Prediction of epitopes of Rv1410c Mycobacterium tuberculosis protein using DNASTar software. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 31(4): 474–477. [李江英, 白雪娟, 梁艳, 张俊仙, 阳幼荣, 赵卫国, 吴雪琼, 2015. 用 DNASTar 软件预测 Rv1410c 结核分枝杆菌蛋白抗原表位. 细胞与分子免疫学杂志, 31(4): 474–477.]
- Liang X, Chen B, Qiao L, 2014. Research progress in insect cuticular protein genes. *Acta Entomologica Sinica*, 57(9): 1084–1093. [梁欣, 陈斌, 乔梁, 2014. 昆虫表皮蛋白基因研究进展. 昆虫学报, 57(9): 1084–1093.]
- Liao CH, Lan JQ, Zhang L, Han Q, 2016. Zhai card virus - a new threat to human and animal health. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 52(4): 74–76. [廖承红, 兰坚强, 张磊, 韩谦, 2016. 寨卡病毒-人兽健康新威胁. 中国兽医杂志, 52(4): 74–76.]
- Lu BL, 1979. The medium of dengue fever and its prevention. *People's Military Surgeon*, (5): 11–14. [陆宝麟, 1979. 登革热的媒介及其防制. 人民军医, (5): 11–14.]
- Matthews BJ, McBride CS, Degennaro M, Despo O, Vossall LB, 2016. The neurotranscriptome of the *Aedes aegypti* mosquito. *BMC Genomics*, 17: 32.
- Moussian B, 2010. Recent advances in understanding mechanisms

- of insect cuticle differentiation. *Insect Biochemistry Molecular Biology*, 40(5): 363–375.
- Potocnakova L, Bhide M, Pulzova LB, 2016. An introduction to B-cell epitope mapping and in silico epitope prediction. *Journal of Immunology Research*, .http://dx.doi.org/10.115.
- Soares MP, Elias-neto M, Simoes ZL, Bitondi MM, 2007. A cuticle protein gene in the honeybee: expression during development and in relation to the ecdysteroid titer. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37(12): 1272–1282.
- Su C, Tu G, Huang S, Yang Q, Shahzad MF, Li F, 2016. Genome-wide analysis of chitinase genes and their varied functions in larval moult, pupation and eclosion in the rice striped stem borer, *Chilo suppressalis*. *Insect Molecular Biology*, 25(4): 401–412.
- Tan WG, Jia DS, Tan WL, Cao YP, Han ZJ, Wang CJ, 2016. Yellow fever epidemic situation and prevention and control countermeasures. *Chinese Journal of Hygienic Insecticides & Equipments*, 22(3): 220–224. [谭维国, 贾德胜, 谭伟龙, 曹勇平, 韩招久, 王长军, 2016. 黄热病疫情及防控对策. 中华卫生杀虫药械, 22(3): 220–224.]
- Vannini L, Willis JH, 2016. Immunolocalization of cuticular proteins in Johnston's organ and the corneal lens of *Anopheles gambiae*. *Arthropod Structure & Development*, 45(6): 519–535.
- Wang XZ, Xiao ZP, Wei SS, Wang DY, Pei YC, 2017. Prediction of eptopes of the major allergen blo t 5 from blomia tropicalis by using DNASTar software. *Journal of South China University of Tropical Agriculture*, 8(1): 107–112. [王晓哲, 肖正泮, 韦双双, 王大勇, 裴业春, 2017. 利用 DNASTar 软件预测热带无爪螨主要致敏原 Blo t 5 的抗原表位. 热带生物学报, 8(1): 107–112.]
- Xie H, Zhou HN, Yang YM, 2017. Advances in the research on the primary dengue vector *Aedes aegypti* in China. *Chinese Journal of Vector Biology and Control*, 22(2): 194–197. [谢晖, 周红宁, 杨亚明, 2011. 我国登革热重要媒介埃及伊蚊的研究进展. 中国媒介生物学及控制杂志, 22(2): 194–197.]
- Yan FH, Huang P, Li ET, Zhao YK, Yang ST, 2017. Advance in study of Zika virus. *Chinese Journal of Biologicals*, 30(1): 93–102. [闫飞虎, 黄培, 李恩涛, 赵永坤, 杨松涛, 2017. 寨卡病毒研究进展. 中国生物制品学杂志, 30(1): 93–102.]
- Zhao X, Hou NX, Chen C, Zhang QY, Zhao J, Lu YJ, 2017. Analysis of mosquito vector species and epidemic situation of mosquito-borne viruses in Hainan Province. *Hainan Medical Journal*, 28(7): 1174–1179. [赵宣, 侯乃旭, 陈晨, 张琪悦, 赵静, 芦亚君, 2017. 海南省传播病毒蚊媒种类及蚊媒病毒流行情况分析. 海南医学, 28(7): 1174–1179.]
- Zhao X, Gou X, Qin Z, Li D, Wang Y, Ma E, Li S, Zhang J, 2017. Identification and expression of cuticular protein genes based on *Locusta migratoria* transcriptome. *Scientific Reports*, 7: 45462.
- Zhou D, Duan B, Sun Y, Ma L, Zhu C, Shen B, 2017. Preliminary characterization of putative structural cuticular proteins in the malaria vector *Anopheles sinensis*. *Pest Management Science*, 73(12): 2519–2528.