

九香虫保幼激素环氧水解酶基因克隆、 生物信息学及表达分析*

周汶桢** 吴有芳 郭建军***

(贵州大学昆虫研究所, 贵州山地农业病虫害重点实验室, 贵阳 550025)

摘 要 【目的】保幼激素环氧水解酶 (Juvenile hormone epoxide hydrolase, JHEH) 是昆虫体内保幼激素 (Juvenile hormone, JH) 的主要降解酶。本文旨在分析九香虫 *Aspongopus chinensis* Dallas 保幼激素环氧水解酶基因序列 (*AcJHEH*) 信息, 探索其在九香虫生长发育过程中的作用。【方法】以九香虫成虫的 cDNA 为模板, 采用 RT-PCR 技术克隆获得 *AcJHEH* 基因序列, 并利用生物信息学软件对其编码蛋白的理化特性、结构特征和系统进化进行分析; 采用 qRT-PCR 技术检测并分析九香虫不同龄期和不同组织中 *AcJHEH* 的相对表达量。【结果】成功获得了 *AcJHEH* 的完整开放阅读框 ORF 序列, 全长均为 1 363 bp, 共编码 453 个氨基酸, 预测分子量为 51.74 ku, 等电点 (pI) 为 7.66, 分子蛋白式 $C_{2414}H_{3683}N_{581}O_{653}S_{14}$, 含有 N-端跨膜基序 XWG、催化三联体、保守基序 HGWP 和 2 个酪氨酸, 属于环氧水解酶家族。系统进化树分析表明, *AcJHEH* 与茶翅蜡 *Halyomorpha halys* 的 *JHEH* 聚为一支, 再与同为半翅目的臭虫 *Cimex lectularius* 和绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 的 *JHEH* 聚为一类。荧光定量 PCR 结果显示, *AcJHEH* 在九香虫不同发育阶段和各组织中均有表达, 且脂肪中的表达量极显著高于其它组织 ($P<0.001$); 滞育九香虫成虫表达量最高, 其次为 4-5 龄若虫都极显著高于其它发育阶段 ($P<0.001$)。【结论】九香虫 *JHEH* 属于环氧水解酶家族, 确定为保幼激素环氧水解酶。依据 qPCR 结果推测 *AcJHEH* 通过改变九香虫体内保幼激素浓度来影响九香虫 4-5 龄若虫蜕皮发育、成虫生殖系统发育和滞育等。

关键词 保幼激素环氧水解酶; 九香虫; 克隆; 生物信息学分析; 表达分析

Cloning, bioinformatics and expression of the juvenile hormone epoxide hydrolase gene in *Aspongopus chinensis* Dallas

ZHOU Wen-Zhen** WU You-Fang GUO Jian-Jun***

(Institute of Entomology, Guizhou University, Guizhou Provincial Key Laboratory for Agricultural Pest Management of the Mountainous Region, Guiyang 550025, China)

Abstract 【Objectives】To sequence the *Aspongopus chinensis* juvenile hormone epoxide hydrolase and use bioinformatic analysis to investigate its role in the development of *A. chinensis*. 【Methods】The cDNA sequence of *AcJHEH* was amplified and cloned from adult *A. chinensis* with RT-PCR. Its physiochemical properties and structural characteristics were described and a phylogenetic tree of the deduced amino acids constructed using bioinformatics software. The expression of *AcJHEH* in different tissues (ovary, testis, fat, muscle, body wall, midgut and head) and in different developmental stages (1st, 2nd, 3rd, 4th, 5th instar larvae, adult males and females, diapausing and reproductive adults) was measured using quantitative real-time PCR. 【Results】The entire ORF sequence of *AcJHEH* containing 1 363 bp was obtained. Both genes encoded a putative protein of 453 amino acids with an estimated molecular weight of 51.74 ku. The isoelectric point (pI) was 7.66 and the molecular protein formula was $C_{2414}H_{3683}N_{581}O_{653}S_{14}$. The amino acid encoded by *JHEH* contained the N-terminal

*资助项目 Supported projects: 贵州省优秀青年科技人才培养对象专项资金项目 (黔科合人字[2015]25 号); 国家自然科学基金 (81360612)

**第一作者 First author, E-mail: 952586370@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: jjguo@gzu.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-07-13; 接受日期 Accepted: 2021-02-23

transmembrane motif XWG, a catalytic triad, the conserved motif HGWP and two tyrosines, suggesting that it belongs to the epoxide hydrolase family. The phylogenetic tree indicates that *AcJHEH* is most similar to *Halyomorpha halys JHEH* and that it clusters with *JHEH* genes from the Hemipteran species *Cimex lectularius* and *Apolygus lucorum*. Quantitative real-time PCR revealed that *AcJHEH* is expressed in various tissues and developmental stages of *A. chinensis*. Expression in the fat body was significantly higher than in other tissues ($P < 0.001$). *AcJHEH* was most highly expressed in diapausing *A. chinensis*, followed by 4-5 instar larvae, in which expression was significantly higher than in other instars ($P < 0.001$). **[Conclusion]** The *JHEH* of *A. chinensis* belongs to the epoxide hydrolase enzyme family and was identified as a juvenile hormone epoxide hydrolase. qPCR results suggest it is involved in the molting and development of 4-5th instar larvae, the development of the adult reproductive system and diapause.

Key words juvenile hormone epoxide hydrolase; *Aspongopus chinensis*; gene clone; bioinformatics analysis; expression analysis

九香虫 *Aspongopus chinensis* Dallas, 1851 是我国传统的药食两用昆虫 (郭建军等, 2019)。隶属于昆虫纲 Insecta 半翅目 Hemiptera 兜蝽科 Dinidoridae (彩万志等, 2011)。广泛分布在东南亚各个国家, 在我国主要分布于长江以南地区 (Rolston *et al.*, 1996)。九香虫入药历史悠久, 最早由《本草纲目》记载 (李时珍, 1979)。近代有医学研究表明, 九香虫具有壮阳、保健和抗癌三个方面的药用功效 (黄清春等, 1995; 孟景春, 1996; 刘庆芳, 2002; 檀军等, 2013; Tan *et al.*, 2019a, 2019b)。

九香虫具有严格的越冬滞育行为, 滞育期长达 7-8 个月, 属于一化性昆虫 (魏超等, 2015)。而保幼激素 (Juvenile hormone, JH) 浓度的增加对九香虫的滞育解除和生长发育存在一定的促进作用 (吴有芳, 2019)。对昆虫 JH 的研究发现, 最主要且广泛分布于昆虫体内的 3 个关键保幼激素降解酶为保幼激素环氧水解酶 (Juvenile hormone epoxide hydrolase, JHEH)、保幼激素脂酶 (Juvenile Hormone Esterase, JHE) 与保幼激素二醇激酶 (Juvenile hormone diol kinase, JHDK) (Hammock and Sparks, 1977)。在部分昆虫体内 JH 降解的过程中, *JHEH* 发挥了更重要的作用, 例如致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* 和烟草天蛾 *Manduca sexta* (Lassiter *et al.*, 1994; Halarnkar *et al.*, 2016)。*JHEH* 主要存在于昆虫细胞质中, *JHEH* 将 JH 降解为没有活性的保幼激素二醇 (Juvenile hormone diol, JHd), 并进一步降解保幼激素酸 (Juvenile

hormone acid, JHa), 使之成为无活性的保幼激素酸二醇 (Juvenile hormone acid diol, JHad) (李胜等, 2004)。此外, 有研究发现 *JHEH* 对昆虫的生长发育、繁殖代谢起到了非常重要的作用, 在鳞翅目中, *JHEH* 除了参与 JH 代谢, 还在 JH 的生物合成以及信号通路方面起到重要作用, 包括性引诱剂和脂肪物质分解代谢等 (Anand *et al.*, 2008; Konopova and Jindra, 2008; Chieka *et al.*, 2009)。

保幼激素环氧水解酶在昆虫中已有大量研究, 但在半翅目昆虫的研究中鲜有报道。作者所在课题组前期对九香虫滞育与滞育解除转录组测序, 通过对滞育与滞育解除九香虫转录组测序 GO 和 KEGG 显著富集分析, 未注释到 *JHDK* 基因; 注释到 2 条 *JHE* 基因, 且个体之间表达无差异; 注释到 5 条 *JHEH* 基因, 发现基因名为 *TRINITY_DN48721_c0_g4* 表达量差异显著 (吴有芳, 2019)。在上述研究的基础上, 本文选取通过 RT-PCR 技术克隆出 *TRINITY_DN48721_c0_g4* 即 *AcJHEH*, 并通过生物学软件等对该基因进行生物学分析, 旨在为深入研究 JH 降解酶基因提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

九香虫采自贵州省毕节市纳雍县阳长镇三岔河 (105°11' E, 26°09' N), 在河畔石块下采集, 带回实验室置于人工气候箱 (RGL-P400A, 合肥

达斯卡特生物科技公司)内饲养,饲养条件为温度(28 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $85\%\pm 5\%$,光周期 16 L : 8 D,用新鲜的南瓜苗(密本南瓜,翁源得宝种业有限公司)饲养。

1.2 主要试剂

RNAeasyTM 动物 RNA 抽提试剂盒离心柱式(上海碧云天生物公司)、GoldenstarTM RT6 cDNA Synthesis Kit(北京擎科新业生物公司)、pClone007 Versatile Simple Vector Kit(北京擎科新业生物公司)、SanPrep Column DNA Gel Extraction Kit(上海生工生物工程公司)、DH5 α Competent Cells(上海生工生物工程公司)等。

1.3 主要仪器

微量分光光度计(ND-2000,美国 Thermo Scientific),T100TMPCR 仪(T100TM,美国 BIO-RAD),凝胶成像仪(GelDocXR Biorad,美国 BIO-RAD),电泳仪(PowerPacTM,美国 BIO-RAD),实时荧光定量 PCR 仪(CFX96TM,美国 BIO-RAD)。

1.4 九香虫总 RNA 的提取及 cDNA 的合成

九香虫总 RNA 的提取方法参照 RNAeasyTM 动物 RNA 抽提试剂盒(离心柱式)说明书进行,并由微量分光光度计检测, - 80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。cDNA 合成方法参考 GoldenstarTMRT6 cDNA Synthesis Kit 说明书进行, - 20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.5 九香虫 JHEH 基因克隆

以合成的九香虫 cDNA 为模板,通过软件 Primer5 设计特异性引物: F'-TTGAGATAT GCGCTTCCGATCCA, R'-GACAACATAAGTT TATTTTTTATTGTAAAGTGTCTTC,经 RT-PCR 扩增获取九香虫 JHEH 基因序列,PCR 反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 56.2 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 34 个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 5 min, 反应体系为 25 μL 。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测,并参考 SanPrep Column DNA Gel Extraction Kit 说明书回收纯化后连接到 pClone007 载体,转化到 DH5 α 感受态细胞中,

涂布含有 Amp 抗性的 LB 平板培养基后 37 $^{\circ}\text{C}$ 过夜培养,次日挑选单菌落,菌液 PCR 验证后送至上海生工测序。

1.6 九香虫 JHEH 基因编码区序列的生物信息学分析

利用 DNAMAN 软件和 ORF finder 对 AcJHEH 的核苷酸序列进行翻译得到氨基酸序列,将获得的氨基酸序列在 NCBI 数据库中的 BLSAT 进行比对,通过 DNAMAN 软件对氨基酸序列进行同源性分析,利用 MEGA 5 软件中的邻接法(Bootstrap 为 1 000 次)构建系统进化树。运用 ORF finder(<https://www.ncbi.nlm.gov/orffinder>)分析基因的开放阅读框;运用 HMMER 和 InterProScan(<https://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer>)(<http://www.ebi.ac.uk/interpro>)预测其结构域;运用 ProtParam(<http://web.expasy.org/cgi-bin/protparam>)预测分析该蛋白的理化性质;运用 KinasePhos(<http://kinasephos.mbc.nctu.edu.tw/>)预测该蛋白磷酸化位点;运用 TMHMM(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM>)预测分析该蛋白跨膜结构;运用 SignalP(www.cbs.dtu.dk/services/SignalP)预测分析该蛋白信号肽;运用(<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2>)预测该蛋白的亚细胞定位;运用 SOPMA(http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)预测蛋白质的二级结构;运用 SWISS(<https://swissmodel.expasy.org/>)预测该蛋白三级结构。

1.7 九香虫 JHEH 基因表达分析

以九香虫不同发育阶段(1-5 龄若虫、新羽化雌成虫、雄成虫、滞育成虫和生殖成虫)和成虫不同组织(卵巢、精巢、脂肪、肌肉、体壁、中肠和头部)的 RNA 为模板,用 GoldenstarTM RT6 cDNA Synthesis Kit 试剂盒分别进行反转录,合成第一链 cDNA 作为实时荧光定量的 PCR 模板,以九香虫的 beta actin 作为内参基因,按照 ChamQTM SYBR qPCR MASTER MIX 试剂盒,用实时荧光定量 PCR 仪进行荧光定量,引物见表 1。其中 1-2 龄幼虫每处理用 10 头试虫,

3-4 龄 5 头, 5 龄和成虫各 1 头, 共 3 次重复。

表 1 荧光定量 PCR 特异性引物
Table 1 Specific primers for real-time fluorescent quantitative PCR

引物名称 Primer names	引物序列 (5'-3') Primer sequences
JHEH-F	tgtgtcccagtatccagatttc
JHEH-R	ggcgagtctgtgagagcaa
Actin-F	aaccgtctacaactccatc
Actin-R	agcgatgatcttgatcttga

1.8 数据统计与分析

所有的 q-PCR 数据通过相对定量法 ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) 获得, 所得的 q-PCR 数据利用 Excel 2007 处理制图, SPSS 19.0 进行单因素方差分析, Duncan's 进行事后多重比较。

2 结果与分析

2.1 九香虫 JHEH 基因克隆与序列分析

提取九香虫的总 RNA 经过微量分光光度计检测, 其浓度为 352 ng/μL, OD_{260/280} 值为 2.01, 可以用于下一步实验。以九香虫 cDNA 为模板, 通过设计引物, RT-PCR 扩增和 1%琼脂糖胶电泳检测, *AcJHEH* 的扩增产物条带大小在 1 500 bp 左右 (图 1), 测序结果显示 *AcJHEH* 全长为 1 548 bp。*AcJHEH* 包含 1 363 bp 完整的开放阅读框 (ORF), 预测可编码的蛋白质含 453 个氨基酸 (图 2)。

利用 DNAMAN 软件对 *AcJHEH* 氨基酸序列多重比较, 发现该基因与其它物种 *JHEH* 具有相似的稳定结构域。*AcJHEH* 与茶翅蜡的 *JHEH* 氨基酸序列一致性最高, 达到 70.64%, 其次与臭虫、马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* 和绿盲蝽的一致性分别为 55.29%、51.76%和 52.34%。

利用 InterProScan 和 Hmmer 工具进行的氨基酸分析得到环氧水解酶的 N-末端结构域, 位于第 51-62 位氨基酸; 3 个环氧水解酶家族标签, 即序列催化三联体 Asp、His 和 Glu (QGGDWG、GGHF 和 EL); 第 2-452 位氨基酸间具有典型的氧化物水解酶的结构域(即环氧水解酶家族的结构域)。

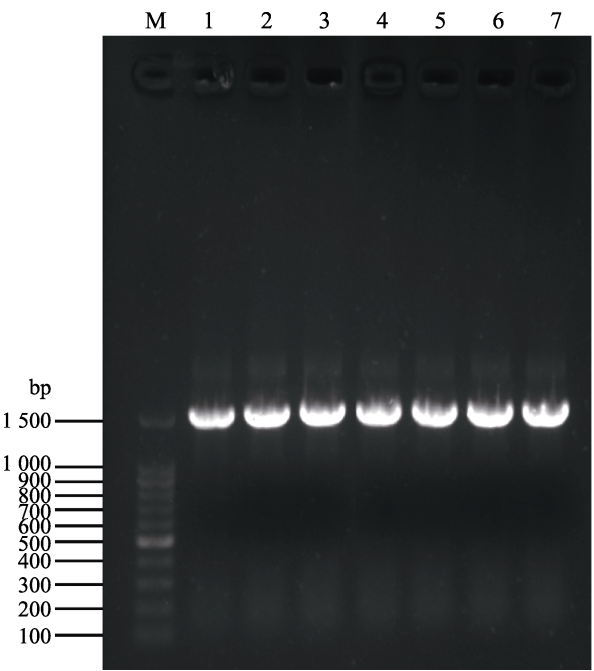


图 1 *AcJHEH* 扩增结果
Fig. 1 Amplification results of *AcJHEH*
泳道 M 代表 Marker, 泳道 1-7 代表 7 个重复实验结果。
Lane M represent Marker, lane 1-7 represent 7 independent experiments.

此外发现 *AcJHEH* 蛋白保守基序 HGWP 花样结构, 2 个作为稳定剂结合环氧环中氧离子洞的结构酪氨酸 GY 和 RLY, N-端的跨膜基序 XWG (其中 X 为芳香族残基) (图 3)。应用 KinasePhos 工具, 分析得到磷酸化位点 Serine (S) 为 3, Threonine (T) 为 2, Tyrosine (Y) 为 3。

2.2 九香虫 JHEH 基因系统进化分析

从 NCBI 数据库中在线 Blast 搜索与 *AcJHEH* 同源蛋白的氨基酸序列, 获得半翅目、鞘翅目、膜翅目的 13 种昆虫 *JHEH* 氨基酸序列与 *AcJHEH* 推导的氨基酸序列采用 Bootstrap 法重复 1 000 次构建系统发育树 (图 4)。结果显示, 九香虫与茶翅蜡聚为一支, 该支进一步与臭虫和绿盲蝽聚为一类。

2.3 九香虫 JHEH 基因生物信息学分析

2.3.1 九香虫 JHEH 基因编码产理化性质和疏水性分析 根据 ProtParam 预测分析结果显示, *AcJHEH* 编码 453 个氨基酸, 编码蛋白相对分子量为 51.74 ku, 等电点 (pI) 为 7.66,

```

1      TTGAGATATGCGCTTCGGATCCAAAGTTTATATTAGCTCTAATTAATTTTATTGGACATATTTACGTG
70     AGGAAGGTGTTTAAAGATACTTATTAAATAGATAACTACTAGTTCGTGAAGTTCAAAACCAAAGTATAGG
139    ATATTTTGTAGAGATATTGTGGATCTAAAGTTGAGCAATGGGCTGTACCTTGAACATTTCTATCATAATT
1      M G C T L N I S I I I
208    CTATTAATTTTCAGTATTAATAGGATATTTTCGTATACAATATTACGCAACCACCACCATTACCAAAGATT
12     L L I S V L I G Y F V Y N I T Q P P P L P K I
277    AGTTTAAGATATTGGGGACCGGAAAAGAAAAACCAGATGATAAAGCATTAAACCATTAAAAATTAGC
35     S L R Y W G P G K E K P D D K S I K P F K I S
346    TTTCTGAATCTGATTAAAGGATCTCAAAGAAAACTACATAATACCAGAAAGTTAGCTCCTCCATTG
58     F P E S D L K D L K E K L H N T R K L A P P L
415    GAAGATGTCGGTTTCACATATGGAGTTAATACAGTTTATCTCAATAAATTGTTGAATTCTGGAAAACG
81     E D V G F T Y G V N T V Y L N K F V E F W K T
484    AACTATACTGGACAGAAAGGGAAGCTTATTTAAACAAATATCCCAATTTATTACTGAAATTGGAGGT
104    N Y N W T E R E A Y L N K Y P Q F I T E I G G
553    CTAACATACATTTTCATTCATGTGAAACCAGATTGAGCTAAAGCAAAAGGGAACAAGTCCTACCTTTA
127    L N I H F I H V K P D S A K A K G K Q V L P L
622    TTGATGATTCATGGCTGGCCAGGCTCTGTTATAGAATTTTTTAAATAATACCATTGTTGACTACACCG
150    L M I H G W P G S V I E F F K I I P L L T T P
691    AAGCAGGATGCAAAATTTGTTTTTGAATAATTGTACCGTCACTCCAGGCTATGGATTTTACACAGGCT
173    K Q D A N F V F E I I V P S L P G Y G F S Q A
760    TCTTCGAAACAAGGCTTTCATGCAGCCACATGGGATTGATATTTAATGAACTTATGGCAAGACTGGGT
196    S S K Q G L H A A H M G L I F N E L M A R L G
829    TTTGAAAAGTATTATATCCAAGGAGGTGATTGGGGTCACTTATTGGATTGACACAATCTATTTTACTG
219    F E K Y Y I Q G G D W G S L I G L T Q S I L L
898    CCAGATCGAGTACTTGGGTACCATTCCAATTTTGTGCAGCACTGACTAAAAGGCACAATATATATG
242    P D R V L G Y H S N F C A A L T K R A Q L Y M
967    TTACTGTTTACTTTTTTCCAAGGTATTTGTTGAAGAATCAATGCAAGAACTTATGTGTCCAGTAT
265    L L F Y F F P K V F V E E S M Q E T Y V S Q Y
1036   CCAGATTTCAATTTTGAATCTGGATACAACCATTTACAATCTACAAAACCAGATACCATTGGTGTGTGCT
288    P D F I F E S G Y N H L Q S T K P D T I G V A
1105   CTCACAGACTCGCCAGTTGGGTGGCTGCATATATTCTTGAAAAATTTTCAACATGGCAAAACCCTAAT
311    L T D S P V G L A A Y I L E K F S T W T N P N
1174   TGGAGATTTTGTGCAGATGGTGGACTAGAAACATTAGAAAAAGTAGAACTCATTGATAATATTATGATT
334    W R F L S D G G L E T L E K V E L I D N I M I
1243   TATTGGTTAACAAAAAGCATTACAACCTCTATGAGATTATATCGTGAAGTCTTTGGTTCAATGGATTC
357    Y W L T K S I T T S M R L Y R E V F G S M D F
1312   TTTGAACTAGGAATTTGTATAATCCATCAAAGTACCAACAGCTTGTGCTGTGTTAATTATGAGCTG
380    F E L G I L Y N P S K V P T A C A V F N Y E L
1381   CTGGAATGCCAGTCGCATTTTGAAGAAGCCTACACTAATTTAGTTTCAGTGACATCCATGCCAAAG
403    L V M P R R I L E E A Y T N L V S V T S M P K
1450   GGTGGTCACTTTGCAGCTTTAGAACAAACAAACTTCTTTCAGAAGATATTTGGAATTTTTTGAAGACA
426    G G H F A A L E Q P K L L S E D I W N F L K T
1519   CTTAACAATAAAAAATAAATTTATGTTGTC
449    L N N K K *

```

图2 *AcJHEH* 碱基和氨基酸序列Fig. 2 Nucleotide and deduced amino acid sequences of *AcJHEH*

起始密码子 ATG 和终止密码子 TAA 用双下划线标出。

The initiation codon ATG and the termination codon TAA are shown by double underline.

分子蛋白式 $C_{2414}H_{3683}N_{581}O_{653}S_{14}$ ，原子总数为 7 345。编码的总氨基酸序列中，Leu（亮氨酸）占比最高为 11.9%，Ile（异亮氨酸）其次为 7.5%，Cys（半胱氨酸）含量最低为 0.7%，Pyl（吡咯赖氨酸）与 Sec（硒半胱氨酸）含量为 0%。含有带负电荷的氨基酸残基有（Asp + Glu）43 个，

带正电荷的氨基酸残基（Arg + Lys）有 44 个。N-端氨基酸为蛋氨酸 M（Met），推测的蛋白质半衰期为 30 h。不稳定性系数为 36.76，总平均亲水系数为 - 0.023，脂肪系数 91.36。

根据 ProtScale 运用 Kyte & DOO little 法（K-D 法）对疏水性分析，*AcJHEH* 编码蛋白 N

九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	K G C T L N I S . I I	10
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	M I V G L H H S V S H C V G W S R F F L G N D S S G F Q A M G C A L N I S . I I	39
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	M G C I K M F G L V	11
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	M G M C I K L L G L V	11
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	M A S A A I K L A V I	11
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	I L L I S V L I G Y F V Y N I T Q F F P L E K I S I R Y W G F E K E K F D D K S	50
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	V I L V S L V I G Y F V Y E H S L F E P V E N V E L M Y W G L C K E K F D D K T	79
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	T I V S A V L L G L G W H W L T T V F D V E N I K T E Y W G F C T F K F D D K S	51
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	S V G S A I G I G V L W H C F T S V E D L E D I P L G H W G F C A P K F D I T A	51
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	V L I F S V F A F Y A G K T F F Q V E F V E K M E E K W G F C S P S F L . T G	50
	▲▲▲	
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	I R F F K I S F P E S D L K D L K E K L H N T R K L A F L E D V G F T Y G Y N	90
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	I R F Y K I K F P E S D L E D L R K R I S N R T L T F T I V E G . E N Y G E N	118
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	I R F F I I N V S D E V I N D L K D R L A R K . L T R F L E G V G F C Y G S N	90
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	V R F F T I N I S E A D V K D F E A R L D N T R N L V E F L E G I G F C Y G S N	91
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	I T F F K I N V S D E V L R D L Q H R I T T L F F Q E F L E G V K Q Y G S N	90
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	T V Y N K F V E F W R K T Y N W T E R E A Y L N K Y P Q F I T E I G L N I H	130
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	T V Y N K F V E F W R K N Y N W T E R E T Y L N K Y P Q F T T E I G L N I H	158
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	T G Y L A K I L D F W R T K Y N K E R E V Y L N K Y P Q F K T Q I G L I C I H	130
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	S V Y L K K V L A F W K N N Y K W S E R C T L N K Y P Q F K T Q I G L N I H	130
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	T N L I K T V V E F W R N N Y K W R D C E K L N K E P Q F K V G I C L N I H	131
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	F I H V K F D S A K A K E K Q V I P L L M D H G W P G S V I E F F K I I F L T	170
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	F I H V K F D K A L I K G K V I P L L M D H G W P G S V E F F K I I F M I T	198
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	F I H V K F D F K K A K E K Q T I P L L M D H G W P G S V E F F E I I F M I T	170
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	F I H V K F D A K . S K E K V V E V I L L H G W P G S V E F F E S I P M I T	170
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Y I H V K F E K T . . K G V K V F E L L L H G W P G S V E S Y E I I F L T	168
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	T E K Q D A N F V F E I I V P S L P G Y G S S Q A S S K Q C L H A A H M G L I F	210
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	T E R P D A D F V F E I A P S L P G Y A F S E A A S K G L H H G H I G L I F	238
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	T E K F E H D F V F E V A P S L P G Y G S S D G A S K F G L G F V H M A A L F	210
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	G Q K A M F V A L E L V I P S L P G Y G W S D A A R R G M G F A Q I G N I F	210
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	T F Q K G R D I V F E V I V P S L P G Y G S D A A V R F G L N A A H M G I M	208
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	N E L M A R I G F E K Y Y I Q G G D W C S I I G L T Q S I L L E D R V I G Y H S	250
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	N E L M D R I G F K C Y Y I Q G G D W C S F H G R A M T I L R D R V I G Y H S	278
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	N D L M V R I G H Q R Y Y I Q G G D W C S I I G V S L A V I R E N N V I G Y H S	250
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	T E L M K R I G H D K F F I Q G G D W C S V I G S S M A L L H E Q N V I G Y H S	250
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	K N L M Q K I G F D K Y Y V Q G G D W C A L T V Q Q S V L F E G K L I G Y H S	248
	▼	
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	N F C A A L T K R A Q L Y M L L F Y F F F K V F V E E S M Q E T Y V . . . S Q Y	287
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	N F C A A E T S K A K L Y M L L F Y L F F K L F V E E S I Q E K Y V . . . S Q F	315
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	N Y C F V N S A L A K L Q T L V A Y F F S L L I E K H M Q A D Y F . . . N T F	287
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	N Y C F D C K I A M L H S I V G S M F F S L I V D E H M V D E F . . . G G F	287
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	N M C V V N T A L S N I K R L F L Y S F Y F S A I D E K L G H L V Y P M T D K W	288
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	P D F I F E S G Y N H I C S T K P D T I G V A L T I L S P W G L A Y I I E K E S	327
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	P D M I F E S G Y N H I C A T K P D T I G V A L T I L S P W G L A Y I I E K E S	355
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	F N I I F E S G Y N H I C A T K P D T I G V A L S K S P A G L A Y I I E K E S	327
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	S N I I F E S G Y N H I C A T K P D T I G V C L T I S P A G L A Y I I E K E S	327
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	T Y I I L E T G Y N H I C A T K P D T I G V A L R S P W G L A Y I I E K E T	328
	★	
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	T W T N F N K R F I S D G G L E I . L E K V E L I D N I M I Y W L I R S I T S	366
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	T W T D R R R S F E D G G L E K . L D K V E L I D N V M I Y W L I N S I T S	394
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	T W T N K A W R F I S D G G L E H . Y D K A A L I D N V M I Y W I T N S I T S	366
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	T W T N K K W R F I S D G G L E N . W D K I G L I D N I M I Y W F S R S I T S	366
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	T W T N P A W K L I S D G G L T K K Y I L T R L I D N V M I Y W I T R S I T S	368
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	M R L Y R E V F G S M D F F E L G I L Y N E S K V F T A C A V E N Y D L L V M F	406
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	M R L Y K E M F . A D D I F K H G L F R G L I T V F T G C I Y K N E I A I Y P	433
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	V R L Y S E A F . S K N Y Q A L R M D E I F M L R E T G C A R E K N E L V F S S	405
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	M R L Y S E C F . S K Y R A Y K L D I P V T V E S G C A R E D N E V A F S F	405
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	M R L Y S E F . S K E T M S L Q I D N I F T K V E Y C A R E W Y E L A F C F	407
	★	
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	R R I I E E A Y T N I V S V T S M P R G G H F A A F E Q E K L I S E D I W N I L	446
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	R Q V I E Q T Y T N I L S Y N L Q T R G G H F A A F E L E E L S A D I W N I L	473
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	A S M I T H H L K L L V Q I T D Y A D G G H F A A F E V E D V L A A D I W R E V	445
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	T V S I R H K F T L L V Q I K D Y K . G G H F A A F E V E K T I D D I V D I I	444
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	E A I I R E M F Q L V H V S D Y E . G G H F A A F E E G A A A Q D I F F A T	446
	▼	
九香虫 <i>Aspongopus chinensis</i>	R T L N N K . . .	453
茶翅蜡 <i>Halyomorpha halys</i>	R L L M K K . . .	480
臭虫 <i>Cimex lectularius</i>	K T V R L R K S A V	455
绿盲蝽 <i>Apolygus lucorum</i>	K T V L S R F P K K	454
马铃薯甲虫 <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	D K V E K L . . .	452

图 3 *AcJHEH* 氨基酸序列多重比较Fig. 3 Homologous comparisons of *AcJHEH*

▲ 表示跨膜基序 (XWG), 红色矩形框表示花样结构 (HGWP), ★表示两个酪氨酸 (Y-296 和 Y-370), ▼表示催化三联体 (D-228, E-401, H-428)。不同序列中同列有背景色氨基酸具有相似的结构和功能, 且颜色越深保守性越高。

▲ represents “XWG”, red rectangle represents “HGWP”, ★ represents two tyrosine residues (Y-296 and Y-370), ▼ represents the catalytic triad (D-228, E-401, H-428). The background chromatic amino acids in different sequences have similar structure and function, and the darker the color, the higher the conservatism.

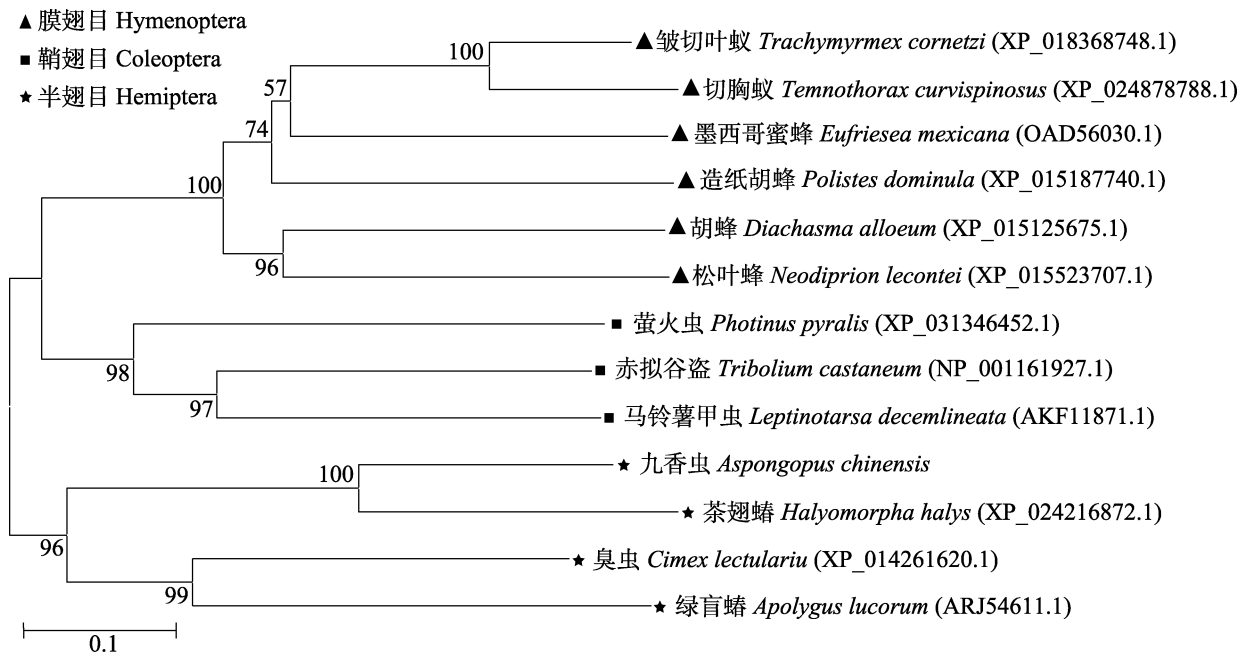


图 4 基于 *AcJHEH* 同源蛋白氨基酸系统构建的系统发育树
Fig. 4 Phylogenetic tree based on amino acid of *AcJHEH* homologous protein

端位置有一个典型的疏水性区域，约在 1-30 位氨基酸之间。

2.3.2 九香虫 *JHEH* 基因跨膜结构的预测和分析 使用 TMHMM 工具进行跨膜预测分析，结果显示 *AcJHEH* 编码产物 28-453 位氨基酸位于细胞膜表面，5-27 位氨基酸之间形成一个典型跨膜螺旋区（图 5），与该蛋白的疏水性区域分析结果基本一致。

2.3.3 九香虫 *JHEH* 基因信号肽、亚细胞定位分析 使用 SignalP 5.0 软件预测 *AcJHEH* 编码产物的信号肽，结果显示该编码产物在 24 个氨基

酸的存在 Sec 信号肽的可能性为 16.05%，其综合剪切位点可能在第 24 氨基酸位置，而不存在信号肽的可能性为 83.95%。利用 cell-Ploc2.0 进行亚细胞定位结果显示被定位在细胞膜、细胞质、内质网和线粒体。

2.3.4 九香虫 *JHEH* 基因编码蛋白二级结构预测分析 利用 SOPMA 工具预测 *AcJHEH* 编码蛋白二级结构（图 6）。结果显示，在其编码的二级结构中 α 螺旋占比 37.53%，延伸链占比 15.45%，无规则卷曲占比 43.05%， β 转角占比 3.97%。

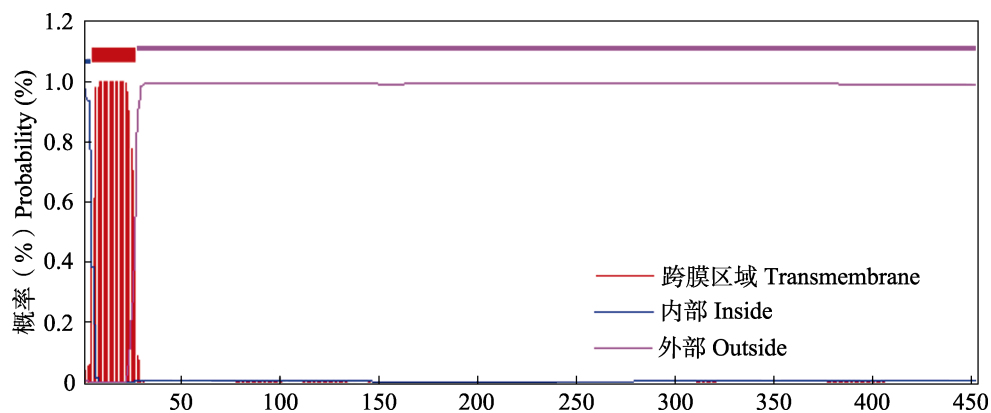
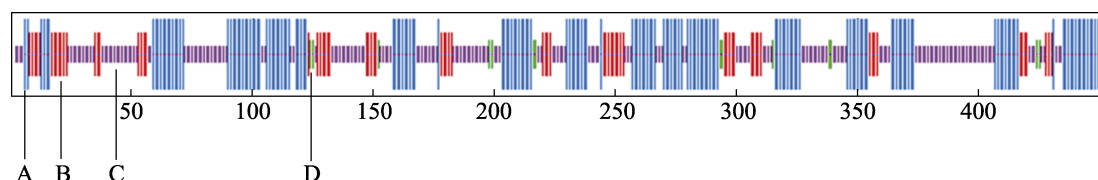
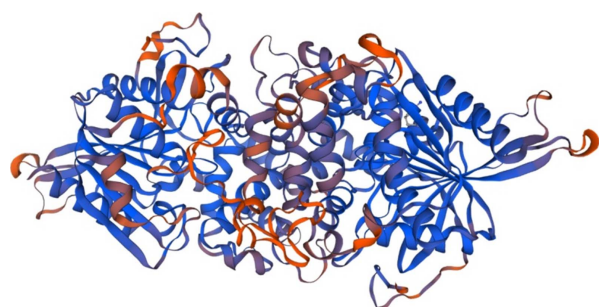


图 5 *AcJHEH* 编码产物跨膜区预测
Fig. 5 Transmembrane domain prediction of *AcJHEH*

图 6 *AcJHEH* 编码蛋白二级结构预测Fig. 6 Secondary structure prediction of *AcJHEH*A: α -螺旋; B: 延伸链; C: 无规则整曲; D: β -转角。

A: Alpha helix; B: Extended strand; C: Random coil; D: Beta turn.

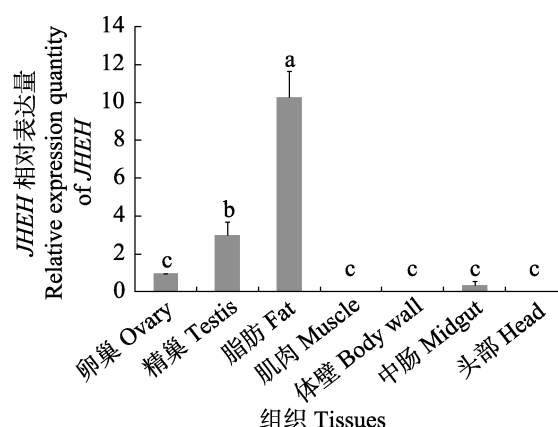
2.3.5 九香虫 *JHEH* 基因编码蛋白三级结构预测分析 采用 SWISS 工具进行在线预测 *AcJHEH* 编码产物的三级结构 (图 7)。以家蚕保幼激素环氧水解酶的晶体结构为模板, 在 34-451 氨基酸位置建模, 结果显示序列同源性为 47.03%, 模型覆盖率为 92.05%。

图 7 *AcJHEH* 编码蛋白三级结构预测Fig. 7 Tertiary structure prediction of *AcJHEH*

2.4 九香虫 *JHEH* 基因表达分析

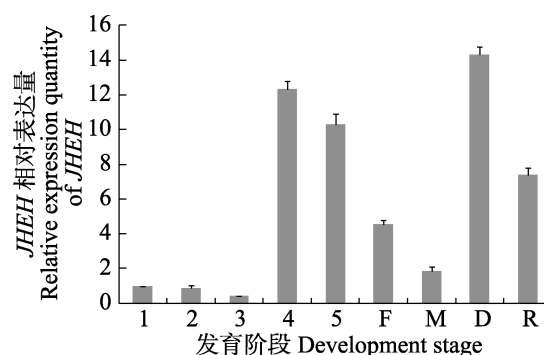
从图 8 中可以看出, *AcJHEH* 在九香虫成虫的卵巢、精巢、脂肪、肌肉、体壁、中肠和头部均有表达, 但表达程度存在明显差异 ($P < 0.001$), 其中在脂肪中的表达量最高, 均极显著高于其他组织; 其他组织中表达量卵巢、精巢和中肠相对较高, 肌肉、体壁和头部呈微量表达。

由图 9 中可以看出, *AcJHEH* 在九香虫的 1-5 龄和成虫均有表达, 但表达程度存在明显差异 ($P < 0.001$)。其中在九香虫若虫中, 4 龄若虫的表达量最高, 均极显著高于其他若虫阶段, 其次为 5 龄若虫, 在 1-3 龄表达量较小。而在初羽化成虫、滞育成虫和生殖成虫之间, 滞育成虫体内 *AcJHEH* 表达量极高, 其次是生殖成虫。

图 8 九香虫不同组织的 *JHEH* 相对表达量Fig. 8 Relative expression of *JHEH* in different tissues of *Aspongopus chinensis*

柱上标有不同字母表示经 Duncan's 多重比较差异显著 ($P < 0.001$)。下图同。

Histograms with different lowercase letters indicate significant difference at 0.001 level by Duncan's multiple range test. The same below.

图 9 九香虫不同发育阶段的 *JHEH* 相对表达量Fig. 9 Relative expression of *JHEH* in different development stages of *Aspongopus chinensis*

1: 1 龄幼虫; 2: 2 龄幼虫; 3: 3 龄幼虫;

4: 4 龄幼虫; 5: 5 龄幼虫; F: 雌成虫; M: 雄成虫;

D: 滞育成虫; R: 生殖成虫。

1: 1st instar larva; 2: 2nd instar larva; 3: 3rd instar larva;

4: 4th instar larva; 5: 5th instar larva; F: Female adult;

M: Male adult; D: Diapause adult; R: Reproduction adult.

3 讨论

JHEH 属于环氧水解酶家族, 大部分为膜蛋白 (Arand *et al.*, 2005)。*JHEH* 作为昆虫体内 JH 主要降解酶之一, 其基因的 cDNA 序列也已经在大量昆虫中被克隆 (孙丹, 2018; 王晶晶等, 2020)。其中的 XWG 基序在 *JHEH* 中保守存在, 这段基序可能与 *JHEH* 的细胞膜结合功能有关 (Gilbert *et al.*, 2000)。在诱导家蚕 *JHEH* 成功表达后, 发现其编码蛋白可以与细胞膜结合 (Zhou *et al.*, 2014)。HGWP 是 *JHEH* 编码蛋白保守基序 (Lü *et al.*, 2015)。所具有的催化三联体作为折叠保守结构特征 (Beetham *et al.*, 1995)。同时 *JHEH* 具有 2 个保守的络氨酸作为稳定及结合环氧化环中氧离子洞的结构 (Yamada *et al.*, 2000)。而对九香虫预测的 *AcJHEH* 氨基酸序列与茶翅蝽、臭虫、绿盲蝽和马铃薯甲虫的氨基酸相比对, 具有高度同源性的稳定结构域。发现了 3 个环氧水解酶家族标签, 即序列催化三联体 Asp、His 和 Glu (D-228, E-401, H-428), 存在稳定蛋白继续 HWGP 和 2 个络氨酸 (Y-296 和 Y-370), 说明九香虫的 *JHEH* 基因序列属于环氧化物水解酶蛋白家族, 且具有稳定发挥环氧化水解酶活性的结构域。靠近 N 端存在 XWG, 意味着九香虫的 *JHEH* 基因可能是一个膜结合蛋白。使用 TMHMM 工具进行跨膜预测分析, 结果显示 *AcJHEH* 编码产物 N 端有一段典型跨膜螺旋区, 表明 *AcJHEH* 可能是一个与细胞信号传导有关的膜受体蛋白。同时由蛋白理化性质可知该蛋白质性质稳定, 亲水性较差, 脂溶性良好, 属于脂溶性蛋白。此外构建进化树分析发现, 可以与半翅目昆虫茶翅蝽、臭虫和绿盲蝽聚为一类, 说明 *JHEH* 在半翅目中具有保守性。

在对斑蟋 *Gryllus assimilis* 的 *JHEH* 表达研究中发现, 中肠和脂肪体内保幼激素环氧化水解酶的活性最高 (Anand *et al.*, 2008)。在大猿叶虫 *Colaphellus bowringi* 体内的 *JHEH* 在脂肪体中有较高表达, 卵巢、头部和中肠表达量较低 (孙丹, 2018)。对九香虫不同组织的 *AcJHEH* 相对表达量检测同样发现 *AcJHEH* 在九香虫成虫的

脂肪中表达量最高, 极显著高于其它组织, 其次为卵巢、精巢和中肠, 这说明九香虫保幼激素环氧化水解酶可能在不同的组织中均有降解保幼激素的作用, 且主要存在于脂肪体中起到主要作用。有研究报道, JH 信号主要是在脂肪体内与其受体蛋白 Methoprene-tolerant (Met) 相结合并作用于其下游 *Krüppel-homolog 1* (Kr-h1) 转录因子, 进而影响其变态、卵巢发育和代谢等 (Wang *et al.*, 2017)。因此, 推测 *AcJHEH* 在脂肪体中高表达可能是因为 JH 信号大量存在于脂肪体中, 并同时参与了脂肪的分解代谢。

此外在部分昆虫滞育期间保幼激素降解酶基因高表达, 昆虫体内 JH 处于低浓度水平, 而通过 dsRNA 干扰保幼激素降解酶基因可以提高保幼激素浓度并诱导昆虫解除滞育, 例如褐飞虱 *Nilaparvata lugens*、舞毒蛾 *Lymantria dispar* 和马铃薯甲虫等 (周云龙, 2014; Lü *et al.*, 2015; 张振威, 2019)。同样在九香虫滞育期间, 其体内 *AcJHEH* 表达量显著上升, 推测高表达 *AcJHEH* 会快速降解其体内 JH 并保持低水平的 JH 浓度, 抑制了 JH 信号通路, 导致其生殖系统发育受阻, 从而导致滞育。有研究表明在始红蝽 *Pyrrhocoris apterus* 中, 干扰若虫 4-5 龄若虫 JH 受体蛋白 Met 会导致始红蝽难以蜕皮而死亡, 而不影响 JH 受体蛋白施加 JHA 处理后, 则 4 龄若虫蜕皮后早熟为类成虫个体而不是 5 龄若虫 (Smykal *et al.*, 2014)。而在本研究中发现, 在九香虫 4-5 龄若虫体内 *AcJHEH* 表达量较高, 推测是由于九香虫若虫蜕皮发育对激素的敏感期在 4-5 龄若虫。

保幼激素环氧水解酶与九香虫体内保幼激素信号息息相关, 其表达量的高低可能会通过降解体内 JH, 从而影响九香虫若虫蜕皮发育、成虫生殖系统发育以及滞育等。本研究结果为半翅目昆虫保幼激素降解酶基因研究提供理论基础, 同时为将来深入研究九香虫保幼激素信号降解通路提供了理论依据。

参考文献 (References)

- Anand A, Crone EJ, ZerA AJ, 2008. Tissue and stage-specific juvenile hormone esterase (JHE) and epoxide hydrolase (JHEH)

- enzyme activities and Jhe transcript abundance in lines of the cricket *Gryllus assimilis* artificially selected for plasma JHE activity: Implications for JHE microevolution. *Journal of Insect Physiology*, 54(9): 1323–1331.
- Arand M, Cronin A, Adamska M, Oesch F, 2005. Epoxide hydrolases: Structure, function, mechanism, and assay. *Methods in Enzymology*, 400: 569–588.
- Beetham JK, Grant D, Arand M, Garbarino J, Kiyosue T, Pinot F, Oesch F, Belknap WR, Shinozaki K, Hammock BD, 1995. Gene evolution of epoxide hydrolases and recommended nomenclature. *DNA and Cell Biology*, 14(1): 61–71.
- Cai WZ, Pang XF, Hua BZ, Liang GW, Song GL, 2011. General Entomology (2nd Edition). Beking: China Agricultural University Press. 318–327. [彩万志, 庞雄飞, 花保桢, 梁广文, 宋郭伦, 2011. 普通昆虫学 (第二版). 北京: 中国农业大学出版社. 318–327.]
- Chieka M, Toshiki N, Tetsuro S, 2009. *Krüppel homolog 1*, an early juvenile hormone-response gene downstream of Methoprene-tolerant, mediates its anti-metamorphic action in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Developmental Biology*, 325(2): 341–350.
- Gilbert LI, Granger NA, Roe RM, 2000. The juvenile hormones: Historical facts and speculations on future research directions. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30(8/9): 617–644.
- Guo JJ, Tan J, Wei C, Feng Y, Jin DC, 2019. Overwintering conditions optimization of *Aspongopus chinensis*. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 38(2): 71–74. [郭建军, 檀军, 魏超, 冯瑶, 金道超, 2019. 九香虫人工养殖越冬条件的优化. 山地农业生物学报, 38(2): 71–74.]
- Hammock BD, Sparks TC, 1977. A rapid assay for insect juvenile hormone esterase. *Analytical Biochemistry*, 82(2): 573–579.
- Halarnkar PP, Jackson GP, Straub KM, Schooley DA, 2016. Juvenile hormone catabolism in *Manduca sexta*: Homologue selectivity of catabolism and identification of a diol-phosphate conjugate as a major end product. *Journal of Clinical Investigation*, 126(12): 988–994.
- Huang QC, Shen Y, Chen ML, 1995. 42 cases of impotence treated by Yuchun Wan. *Journal of New Chinese Medicine*, S1: 86–87. [黄青春, 沈鹰, 陈铭伦, 1995. 玉春丸治疗阳痿 42 例. 新中医, S1: 86–87.]
- Konopova B, Jindra M, 2008. Broad-complex acts downstream of met in juvenile hormone signaling to coordinate primitive holometabolism metamorphosis. *Development*, 135(3): 559–568.
- Lü FG, Fu KY, Guo WC, Li GQ, 2015. Characterization of two juvenile hormone epoxide hydrolases by RNA interference in the Colorado potato beetle. *Gene*, 570(2): 264–271.
- Lassiter MT, Apperson CS, Crawford CL, Roe RM, 1994. Juvenile hormone metabolism during adult development of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 31(4): 586–593.
- Liu QF, 2002. Modern clinical research and application of *Aspongopus chinensis*. *Journal of Henan University (Medical Science)*, 4(21): 66–67. [刘庆芳, 2002. 九香虫现代临床研究与应用. 河南大学学报(医学科学版), 4(21): 66–67.]
- Li S, Jiang RJ, Cao MX, 2004. Metabolism of juvenile hormone. *Acta Entomologica Sinica*, 47(3): 389–393. [李胜, 蒋容静, 曹梅讯, 2004. 保幼激素的代谢. 昆虫学报, 47(3): 389–393.]
- Li SZ, 1979. Compendium of Materia Medica (4th Edition). Beking: People's Medical Publishing House. 258–2259. [李时珍, 1979. 本草纲目(第四版). 北京: 人民卫生出版社. 258–2259.]
- Meng JC, 1996. *Aspongopus chinensis* for the treatment of hemangioma. *Jiangsu Journal of Traditional Chinese Medicine*, 6(17): 24. [孟景春, 1996. 九香虫为治血管瘤专药. 江苏中医, 6(17): 24.]
- Rolston LH, Rider DA, Murray MJ, Aalbu RL, 1996. Catalog of the Dinidoridae of the world. *Papua New Guinea Journal of Agriculture Forestry and Fisheries*, 39(1): 22–101.
- Sun D, 2018. Role of genes involved in juvenile hormone degradation during diapause preparation of *Colaphellus bowringi*. Master dissertation. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [孙丹, 2018. 保幼激素降解酶基因在大猿叶虫滞育准备中的功能研究. 武汉: 华中农业大学.]
- Smykal V, Bajgar A, Provaznikl J, Fexova S, Buricova M, Takaki K, Hodkova M, Jindra M, Dolezel D, 2014. Juvenile hormone signaling during reproduction and development of the linden bug, *Pyrrhocoris apterus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45(1): 69–76.
- Tan J, Guo JJ, Wei C, Yang JQ, 2013. The inhibitory effects of haemolymph from *Aspongopus chinensis* Dallas on in vitro proliferation of gastric carcinoma Cell SGC-7901. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 32(2): 119–122. [檀军, 郭建军, 魏超, 杨佳琪, 2013. 九香虫血淋巴对胃癌 SGC-7901 细胞体外增殖的抑制作用. 山地农业生物学报, 32(2): 119–122.]
- Tan J, Tian Y, Cai RL, Jin DC, Guo JJ, 2019a. Antiproliferative and proapoptotic effects of a protein component purified from *Aspongopus chinensis* Dallas on cancer cells in Vitro and in Vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019: 1–12.
- Tan J, Tian Y, Cai RL, Luo R, Guo JJ, 2019b. Chemical composition and antiproliferative effects of a methanol extract of *Aspongopus chinensis* Dallas. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019(8): 1–9.
- Wang JJ, Liang TT, Cheng WN, Zhu KY, 2020. Cloning of juvenile hormone esterase and juvenile hormone epoxidehydrolase genes

- and their expression dynamics during diapause and metamorphosis in *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae). *Acta Entomologica Sinica*, 63(4): 401–412. [王晶晶, 梁婷婷, 成卫宁, 朱克岩, 2020. 小麦吸浆虫保幼激素酯酶和保幼激素环氧化水解酶基因的克隆及在滞育和变态发育过程中的表达动态. 昆虫学报, 63(4): 401–412.]
- Wang ZM, Yang LB, Song JS, Kang L, Zhou ST, 2017. An isoform of Taiman that contains a PRD-repeat motif is indispensable for transducing the vitellogenic juvenile hormone signal in *Locusta migratoria*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 82: 31–40.
- Wei C, Shu GZ, Luo HS, Guo JJ, 2015. Morphological and biological characteristics of *Aspongopus chinensis*. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 34(4): 26–30. [魏超, 舒国周, 罗会嵩, 郭建军, 2015. 九香虫的形态特征和生物学特性. 山地农业生物学报, 34(4): 26–30.]
- Wu YF, 2019. Preliminary study on diapause physiology of *Aspongopus chinensis* Dallas. Master dissertation. Guiyang: Guizhou University. [吴有芳, 2019. 九香虫滞育生理原因初步研究. 硕士学位论文. 贵阳: 贵州大学.]
- Yamada T, Morisseau C, Maxwell JE, Argiriadi MA, Christianson DW, Hammock BD, 2000. Biochemical evidence for the involvement of tyrosine in epoxide activation during the catalytic cycle of *Epoxide Hydrolase*. *Journal of Biological Chemistry*, 275(30): 23082–23088.
- Zhang ZW, 2019. Cloning and characterization of genes involved in juvenile hormone degradation of *Lymantria dispar*. Master dissertation. Harbin: Northeast Forestry University. [张振威, 2019. 舞毒蛾保幼激素降解酶基因的分子克隆及功能初探. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北林业大学.]
- Zhou K, Jia N, Hu C, Jiang YL, Yang JP, Chen YX, Li S, Li WF, Zhou CZ, 2014. Crystal structure of juvenile hormone epoxide hydrolase from the silkworm *Bombyx mori*. *Proteins-Structure Function and Bioinformatics*, 82(11): 3224–3229.
- Zhou YL, 2014. The function research of juvenile hormone epoxide hydrolase in brown planthopper (*Nilaparvata lugens*). Master dissertation. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [周云龙, 2014. 褐飞虱保幼激素环氧化物水解酶基因 *jheh* 功能研究. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学.]



白斑跳珠 *Evarcha albaria* (L. Koch)

蜘蛛是节肢动物门 Arthropoda 蛛形纲 Arachnida 蜘蛛目 Araneae) 种的通称。《应用昆虫学报》不仅发表昆虫（节肢动物门的昆虫纲 Insecta）的各类研究成果，同时也从广义角度关注蜘蛛等相关研究成果的报道。本期封面照片为白斑跳珠 *Evarcha albaria* (L. Koch)（跳蛛科 Salticidae，李枢强鉴定物种名称，张润志拍摄照片），2020 年 9 月 26 日拍摄于天津宝坻周良庄。白斑跳蛛广泛分布于北京、天津、河北、河南、山东、吉林、辽宁、江苏、安徽、浙江、湖北、江西、湖南、四川、广东、云南、陕西、新疆等地。体长 7-8 mm，头胸部黑褐色，背面密被长毛，眼区近似方形。螯肢红褐色，步足粗壮，黄褐色，有黄色环纹。

（张润志，中国科学院动物研究所）