

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*

赵新民** 李滔滔 彭晓赞 刘石泉

(湖南城市学院材料与化学工程学院黑茶金花湖南省重点实验室, 益阳 413000)

摘要 【目的】研究光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* 气味结合蛋白 AglaOBP12 与寄主植物挥发物乙酸-顺-3-己烯酯的相互作用机制, 为利用化学生态手段调控光肩星天牛行为提供理论依据。【方法】采用同源建模预测 AglaOBP12 三维结构, 虚拟氨基酸突变构建两个突变子, 利用 Molegro Virtual Docker 程序进行分子对接研究 AglaOBP12 与乙酸-顺-3-己烯酯的结合模式。模型的合理性评价采用 GMQE、QMEAN、ramachandran 图和 Verify-3D。【结果】AglaOBP12 的三维结构由 6 个 α -螺旋构成且形成锥形疏水口袋结构。6 个保守半胱氨酸在螺旋结构之间形成稳定结构的 3 个二硫键。AglaOBP12 的 C 端疏水性氨基酸位于结合口袋的出口并对口袋形成一定的遮挡。乙酸-顺-3-己烯酯位于疏水口袋中与疏水性氨基酸发生作用, 而亲水头部羰基氧原子则与 Asn123 产生氢键。在与突变子 N123A 的对接中, 乙酸-顺-3-己烯酯更接近疏水口袋的出口, 乙酸-顺-3-己烯酯与 C 端 Phe135 形成氢键。而在与突变子 F135E/L136E/V137E 的对接中, 乙酸-顺-3-己烯酯位于疏水口袋较深处, 但未发现与 Asn123 氢键作用, 相比野生型, 两个突变子的对接空间能和范德华能增大, 结合稳定性下降。【结论】乙酸-顺-3-己烯酯位于 AglaOBP12 疏水口袋并通过氢键与 Asn123 形成稳定的复合物, AglaOBP12 的 Asn123 和 C 端疏水氨基酸对结合乙酸-顺-3-己烯酯具有重要作用。

关键词 光肩星天牛; 气味结合蛋白; AglaOBP12; 乙酸-顺-3-己烯酯; 同源建模; 分子对接

Homology modeling of the odorant binding protein AglaOBP12 of *Anoplophora glabripennis* and its molecular docking to the host plant volatile cis-3-hexenyl acetate

ZHAO Xin-Min** LI Tao-Tao PENG Xiao-Yun LIU Shi-Quan

(Hunan Provincial Key Laboratory of Dark Tea and Jin-hua, School of Materials and Chemical Engineering,
Hunan City University, Yiyang 413000, China)

Abstract [Objectives] To investigate the binding mechanism between the *Anoplophora glabripennis* odorant binding protein AglaOBP12 and the host plant volatile cis-3-hexenyl acetate. [Methods] The three dimensional structure of AglaOBP12 was predicted by homology modeling. Two mutants were obtained by virtual amino acid mutation, and the binding mode of AglaOBP12 with cis-3-hexenyl acetate was analyzed with the Molegro Virtual Docker program. The model was evaluated by GMQE, QMEAN, Ramachandran plot and Verify-3D. [Results] AglaOBP12 has six helical structures that shape a hydrophobic pocket. Three disulphide connections in various helices caused by six conserved cysteines could be conducive to maintaining structural stability. The hydrophobic residues in the C terminus located at the export of the pocket restrained the ligand in the binding site. Cis-3-hexenyl acetate was bound in the hydrophobic pocket, and its carbonyl oxygen atom formed a hydrogen bond with Asn123 of AglaOBP12. Cis-3-hexenyl acetate was closer to the export in mutant N123A. Phe135 of AglaOBP12 was related to the hydrogen bond. No hydrogen bond was found between the ligand and the mutant F135E/L136E/V1237E. Both docked mutants had less negative potential energy than the wild type. [Conclusion] Cis-3-hexenyl

*资助项目 Supported projects: 湖南省教育厅科研项目 (17A038); 黑茶金花湖南省重点实验室科研项目 (2016TP1022)

**通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhaoxmcn@163.com

收稿日期 Received: 2018-05-17; 接受日期 Accepted: 2018-09-07

acetate was located in the hydrophobic pocket of AglaOBP12 and formed a stable complex with a hydrogen bond with Asn123. Asn123 and the hydrophobic residues in the C terminus play an important role in binding the host plant volatile cis-3-hexenyl acetate.

Key words *Anoplophora glabripennis*; odorant binding protein; AglaOBP12; cis-3-hexenyl acetate; homology model; molecular docking

光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* 是危害我国林木的一种重要蛀干害虫(李国宏等, 2010), 它的寄主较为广泛, 主要为害加杨、美杨、小叶杨、旱柳和五角枫等树木。光肩星天牛与其他昆虫一样具有复杂的嗅觉系统。昆虫的触角表面有多种不同类型的感受器, 这些感受器由表皮退化形成, 是昆虫感知周围环境中气味小分子的主要化学监测器。昆虫依靠高度专一且灵敏的化学感受器, 实现精准定位寄主植物(Tzotzos *et al.*, 2018)。这种精准定位依赖于感受器中的相关蛋白, 例如气味结合蛋白(Odorant binding proteins, OBP)、气味降解酶以及与神经膜紧密相连的嗅觉受体等。

早期研究表明, OBP 在昆虫嗅觉反应过程中发挥着非常重要的作用。昆虫嗅觉感受器是一个存有大量感受器淋巴液的腔, 双向感觉神经元上有十分发达的树突, 分布于淋巴液中。嗅觉感受器表皮上有许多微孔, 当气味分子通过微孔后被 OBP 捕获或激活。OBP 通过与特定脂溶性气味分子结合, 形成水溶性气味分子-OBP 复合物, 复合物穿过感受器淋巴液后到达位于嗅觉感受神经元树突膜的嗅觉受体上, 激活受体和与受体偶联的 G 蛋白从而产生一系列嗅觉上的生理生化反应(Biessmann *et al.*, 2010; Leal, 2013)。

前人研究表明, 多种昆虫触角中含有大量的 OBP 蛋白(Gong *et al.*, 2007; Ahmed *et al.*, 2017; 李广伟等, 2017a)。依据氨基酸序列的同源性可将昆虫 OBP 分为性信息素结合蛋白(Pheromone binding protein, PBP)、普通气味结合蛋白(General odorant binding proteins, GOBP)和触角结合蛋白(Antennal binding proteins, ABP)。昆虫 OBP 通常为小分子球状水溶性蛋白, 多肽链全长一般为 135-220 个氨基酸, 多数 OBP 的 N 末端含有一段信号肽。已解析多个昆虫的 OBP

三维结构(Mao *et al.*, 2010; Ziemba *et al.*, 2013), 它们通常由 6 个 α 螺旋区域构成, 其包含 6 个保守的半胱氨酸形成 3 对二硫键, 或者 4 个保守的半胱氨酸形成 2 对二硫键。螺旋结构之间构成的一个疏水性口袋, 可以结合挥发性疏水气味物质和性信息素。利用荧光竞争结合实验证实多种昆虫的 OBP 可与不同的气味物质结合(Zhang *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2004)。

目前, 对光肩星天牛嗅觉相关蛋白功能的研究主要集中在蛋白的表达和寄主植物挥发物筛选, 尚未解析相关蛋白的三维结构。Hu 等(2016)利用转录组测序方法在光肩星天牛成虫触角中鉴定出 42 种 OBP。李广伟等(2017a)证实光肩星天牛气味结合蛋白主要在触角中表达, 而在头、胸、腹、足和翅的个别组织中只有少量表达。王菁桢等(2017)鉴定了光肩星天牛性信息素结合蛋白 PBP1 和 PBP2 基因, 并分析了两种 PBPs 基因在成虫身体不同部位的表达特点。李广伟等(2017b)利用异源原核表达获得了 AglaOBP12 重组蛋白, 利用荧光竞争结合实验测定重组蛋白与 39 种气味物质的结合能力。在待测的 39 种寄主植物挥发物中, 有 19 种化合物与重组蛋白 AglaOBP12 具有结合活性, 表明 AglaOBP12 对寄主植物挥发物具有明显的选择结合特性。其中十二烷醇、十四烷醇、法尼醇、十二醛、乙酸-顺-3-己烯酯和 β -石竹烯等化合物与重组蛋白 AglaOBP12 的结合能力较强。除了研究 OBP 蛋白的结构和功能, 研究人员在寄主植物挥发物鉴定、对成虫有电生理活性的挥发物组分的筛选等方面进行了相关研究(杜和芬等, 2016; 王紫薇等, 2016; 朱宁等, 2017)。乙酸-顺-3-己烯酯、橙花叔醇、法尼醇和 β -石竹烯是光肩星天牛嗜食寄主五角枫的主要挥发物, 对成虫有明显的电生理反应和行为活性(李广伟等, 2017a)。

本研究采用同源建模预测 AglaOBP12 的三维结构,通过虚拟氨基酸突变构建两种突变子并采用研究分子对接方法研究光肩星天牛气味结合蛋白 AglaOBP1 与气味物质乙酸-顺-3-己烯酯相互作用的结合模式,为进一步利用化学生态手段调控光肩星天牛行为提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 目标蛋白序列和配体分子构建

AglaOBP12 氨基酸序列由 Genbank 数据库获得,登录号: ARH65467.1。全长为 137 个氨基酸。虚拟氨基酸突变构建突变子 N123A 和突变子 F135E/L1236E/V137E,虚拟氨基酸突变使用 Swiss-Model (<http://swissmodel.expasy.org/>) 程序构建。配体乙酸-顺-3-己烯酯的结构由 ChemBioDraw Ultra 12.0 绘制,并转化为三维结构,同时使用 MMFF94 力场进行优化。

1.2 同源建模和模型质量评价

以 AglaOBP12 作为目标蛋白序列,用 Genbank 数据库在线 Blast 程序对 Brookhaven PDB 蛋白结构数据库分别进行序列同源性搜索获得模板,使用在线同源建模服务器 (Swiss-Model) 进行同源建模,获得 AglaOBP12 蛋白的分子模型 (pdb 文件)。蛋白质模型质量评价采用 GMQE (Benkert *et al.*, 2011)、QMEAN (Benkert *et al.*, 2008)、Ramachandran 图 (Ramachandran *et al.*, 1963) 和 Verify-3D (Eisenberg *et al.*, 1997)。GMQE 是一种基于目标模板对准结合性质的质量估计,数值在 0-1 之间,越接近于 1 表示模型越接近实验结果。QMEAN 对模型的质量估计是基于蛋白模型的局部 (每个氨基酸) 和全局 (蛋白质总体) 几何性质计分,可以反映蛋白质的天然度 (degree of nativeness)。QMEAN 包括四个结构描述符: All atom: 成对原子距离依赖性电位。C- β : C- β 相互作用势能。Solvation: 残基包埋情况。Torsion: 扭转角分布。QMEAN Z-score 越接近于 0 表示模型越接近实验结果, Z-score 为 -4 或更低,通

常表明模型质量较差。Ramachandran 图用来描述蛋白质结构中氨基酸残基二面角 ψ 和 ϕ 是否在合理区域。Verify-3D 对三维结构和一维结构的相容性模型进行评价。

1.3 分子对接

分子对接前利用 ICM-PRO 程序对 AglaOBP12 进行局部 (Local) 200 步能量最小化 (Abagyan *et al.*, 1994)。采用 Molegro Virtual Docker (MVD) 程序进行分子对接 (Thomsen and Christensen, 2006), MVD 采用微分进化作为优化方法,评价函数采用分段线性势函数打分,以最低的对接能量确定分子对接构象。MolDock 能够根据配体预测大分子蛋白的活性点,是较精确半柔性分子对接程序。参数设置: 评分函数为 MolDock; 网格分辨率为 0.3Å; 配体评估为 internal ES 和 internal HBond; 结合位点坐标设置为 center_x = 1.08, center_y = 24.38, center_z = 8.87; 半径范围为 15Å; 设置对接后能量最小化; 其他参数均采用系统默认值。对接后获得 10 个最优的复合物构象,其中具有最低能量的一个选为研究对象。蛋白质序列比对采用 ICM-PRO 程序,蛋白质三维结构比对均方根偏差 (RMSD) 采用 Superpose 程序计算 (Maiti *et al.*, 2004)。对接结果分析采用 Pymol 程序 (www.pymol.org)。

2 结果与分析

2.1 模型二级结构及与模板序列比对

用 Blast 对 PDB 蛋白结构数据库分别进行序列同源性搜索。结果表明, AglaOBP12 与 CquiOBP1 (PDB: 3OGN) 同源性为 34.45%, 为最高值, AglaOBP12 与 CquiOBP1(3ognA-a) 的序列比对及二级结构分布结果见图 1, 它们的氨基酸序列在起始的 N 端具有较高的相似性, 而在 C 端具有较大的差异性, AglaOBP12 二级结构主要为 α 螺旋。

2.2 模型质量评价

模型质量评价显示, GMQE 为 0.66, QMEAN

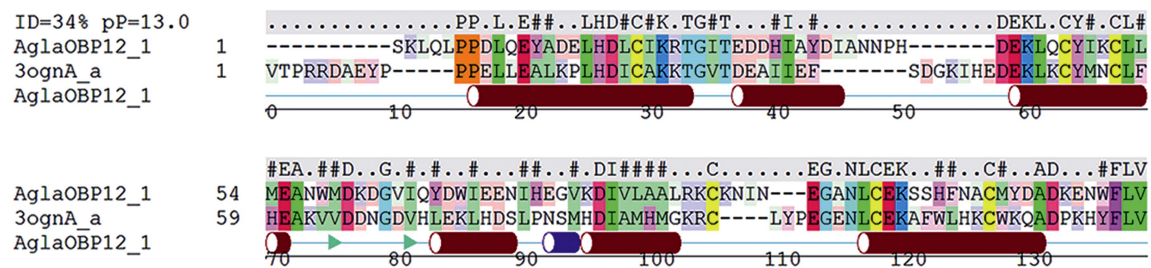


图 1 AglaOBP12 模型二级结构及与模板 CquiOBP1 序列比对
Fig. 1 Secondary structure of AglaOBP12 and its sequence alignment with the template CquiOBP1

为 -1.62, 说明模型较合理。Verify-3D 评价模型的合理性一般需要至少 80% 的氨基酸 3D-1D 的相容性分值大于或等于 0.2 (Eisenberg *et al.*, 1997), 本模型评价结果为 93.33%, 可见模型合理 (图 2)。Ramachandran 图结果见图 3。主链

二面角落于最佳区域的残基数占 93.9%, 落于允许区域占 4.7%, 落于不允许区域的占 1.4%, 表明本蛋白模型主链结构合理。综合以上多个评价结果, 同源建模构建的 AglaOBP12 模型具有较高的合理性。

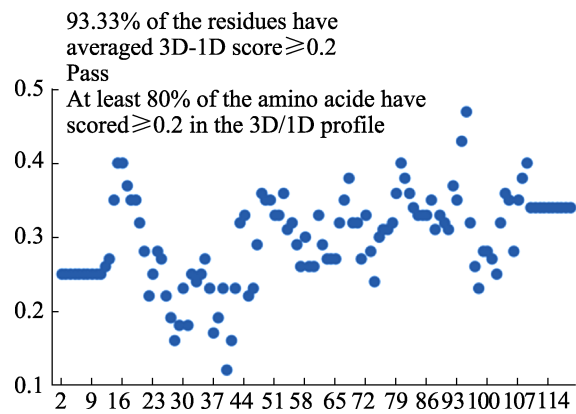


图 2 AglaOBP12 模型 Verify-3D 评价图
Fig. 2 Verify-3D evaluation of the model of AglaOBP12

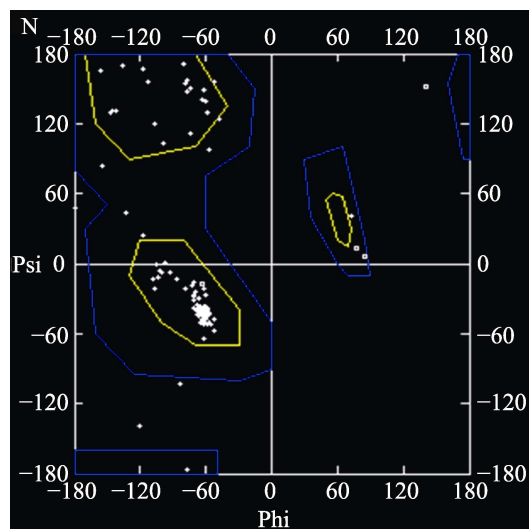


图 3 AglaOBP12 模型 Ramachandran 图
Fig. 3 Ramachandran plot of the model of AglaOBP12

2.3 模型结构特点

构建的三维结构由 6 个 α -螺旋构成, 且构成锥形的疏水口袋结构 (图 4 : A)。尽管 AglaOBP12 与模板 CquiOBP1 氨基酸同源性不高, 但结构比对显示它们的三维结构高度相似 (图 4 : B)。计算表明, 119 个 $C\alpha$ 原子比对的 RMSD 为 0.25 nm, 表明构建模型与模板非常相似。6 个保守半胱氨酸分别在 7-68、64-116 和 125-106 位之间形成的 3 个二硫键, 能起到稳定三维结构的作用。AglaOBP12 含有 3 个色氨酸, 其中 Try75 和 Try134 位于疏水性口袋, Try86 在疏水性口袋外面 (图 4 : A)。

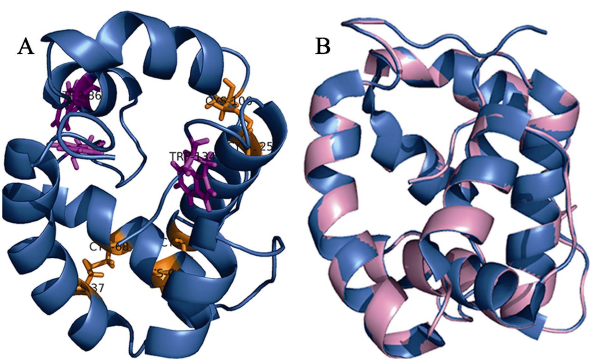


图 4 AglaOBP12 三维结构 (A) 及与模板 (粉色) 的结构比对图 (B)

Fig. 4 Three dimensional structure of AglaOBP12 (A) and its structure superimposition with the template CquiOBP1 (pink) (B)

2.4 对接结果和相互作用分析

构成 AglaOBP12 疏水性口袋的氨基酸残基为 Ala30、Leu33、Ile66、Leu69、Ala73、Leu70、Try75、Phe122 和 Try134，疏水口袋可结合疏水气味物质乙酸-顺-3-己烯酯（图 5），有助于疏水气味物质乙酸-顺-3-己烯酯通过水性的淋巴液运到气味受体。

分子对接表明，AglaOBP12 的 C 端结构与 CquiOBP1 相似，由疏水性氨基酸 Phe135、Leu136 和 Val137 组成并对结合口袋的出口形成一定的遮挡（图 6：A）。乙酸-顺-3-己烯酯的疏水端可以与疏水口袋的疏水性氨基酸发生作用，而亲水头部则与 Asn123 产生氢键（图 6：A）。

为了研究 Asn123 的重要性，将 Asn123(N) 虚突变为疏水的 Ala(A)，构建突变子 N123A，分子对接结果表明，乙酸-顺-3-己烯酯结合位点更接近突变子 N123A 疏水口袋的出口处，乙酸-顺-3-己烯酯与 Phe135 形成氢键（图 6：B），对接相对构象能和范德华力能增大，结合稳定性

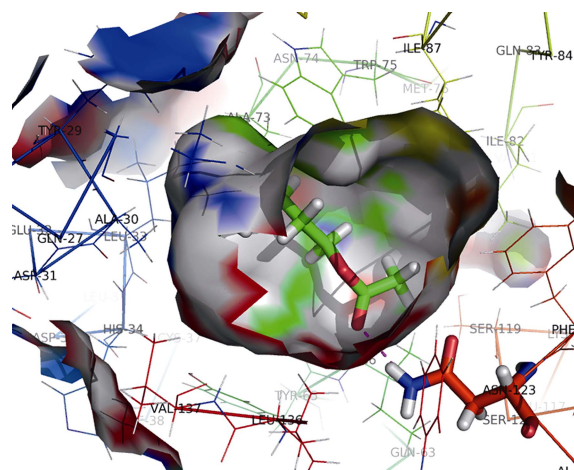


图 5 乙酸-顺-3-己烯酯与 AglaOBP12 疏水性口袋的结合

Fig. 5 The binding of cis-3-hexenyl acetate to AglaOBP12 in its hydrophobic pocket

下降（表 1），说明 AglaOBP12 的 Asn123 对气味物质的结合有重要作用。

为了研究 C 端对配体结合的影响，将 C 端三个疏水氨基酸突变为带负电的谷氨酸(E)，构建突变子 F135E/L136E/V137E，发现乙酸-顺-3-

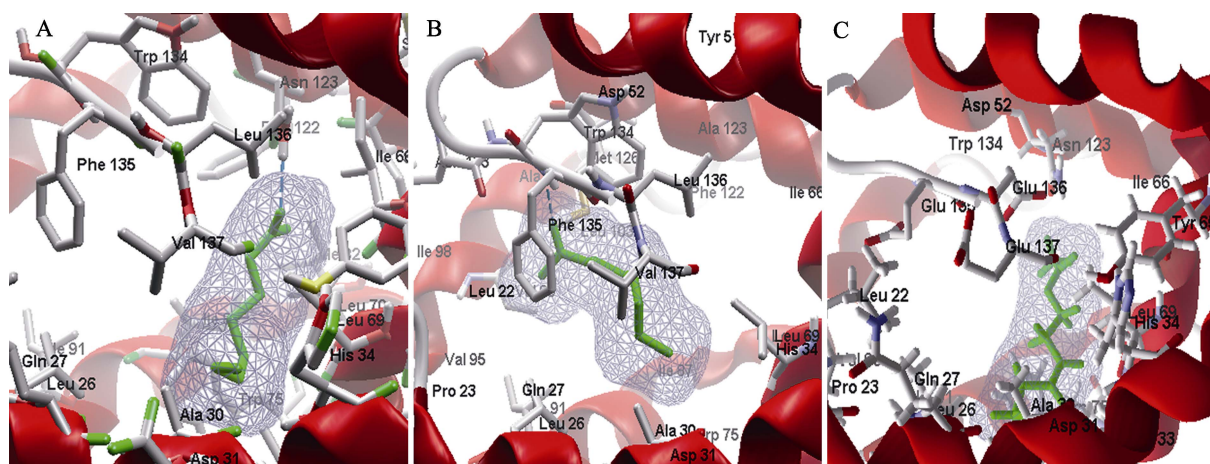


图 6 AglaOBP12 野生型 (A) 及突变子 N123A (B) 和 F135E/L136E/V137E (C) 与乙酸-顺-3-己烯酯的分子对接
Fig. 6 Molecular docking of wild type (A), N123A (B), F135E/L136E/V137E (C) with cis-3-hexenyl acetate

表 1 分子对接能量计算结果
Table 1 Energy score of molecular docking

	构象能 Steric energy (kcal/mol)	范德华力能 van der Waals (kcal/mol)	氢键能 Hydrogen bonds (kcal/mol)	静电能 Electrostatic (kcal/mol))
野生型 Wild type	- 65.32	- 18.66	- 2.42	0
突变子 N123A	- 56.93	- 14.97	- 2.47	0
突变子 F125E/L126E/V127E	- 65.06	- 18.32	0	0

己烯酯位于疏水口袋较深处,但未发现配体与 Asn123 发生氢键作用(图 6:C),并表现出较低的范德华力能。但与野生型相比,乙酸-顺-3-己烯酯与突变子 F135E/L136E/V137E 的结合能力更低(表 1),表明 C 端三个疏水氨基酸有助于与气味物质形成稳定的结合物。

3 讨论

通常用同源性大于 30% 的蛋白作为模板,可以构建较为理想的模型(Baker and Sali, 2001),这里采用了同源性最高的 CquiOBP1 为构建 AglaOBP12 三维结构的模板,虽然二者的一级结构相差较大(同源性为 34.45%),但它们的三维结构是高度相似的(RMSD 为 0.25 nm)。CquiOBP1 为一种致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* 气味结合蛋白,解析结构中包含有产卵信息素 6-乙酰氧基-5-十六内酯配体(Mao et al., 2010),晶体结构分辨率为 1.3 Å。显然,CquiOBP1 和 AglaOBP12 属于同一家族,在进化过程中通常结构比序列更加保守,而保守的结构表明它们与气味物质的结合模式是相似的。

AglaOBP12 由 6 个 α -螺旋构成,且构成锥形的疏水口袋结构,不仅模板 CquiOBP1 存在这一结构特点,而且较多的 OBP 都具有这样保守的半胱氨酸并存在类似的疏水口袋结构(Mao et al., 2010),3 个二硫键对维持 OBP 的立体结构并发挥生理作用具有重要意义,疏水口袋可以选择性的接受和识别气味物质。疏水口袋中的色氨酸属于临界氨基酸,其吲哚环的-NH-部位促进它与水的相互作用。另外色氨酸能发射荧光,其与气味结合蛋白结合后,产生荧光猝灭效应,因此可利用荧光竞争结合实验测定 OBP 与候选配体的结合能力。前人实验结果表明,CquiOBP1 含有的两个色氨酸位于 C 端(Mao et al., 2010),苜蓿盲蝽 (*Adelphocoris suturalis*) AlinOBP3、家蚕 (*Bombyx mori*) BmorGOBP2 和草地螟 (*Loxostege sticticalis*) LstiGOBP1 等气味结合蛋白氨基酸序列中各有一个色氨酸(Brito et al.,

2016),通过荧光竞争结合实验证实它们与多种气味物质具有良好的结合能力。

关于气味物质和信息素与嗅觉受体(OR)的信号传导有三种模式。第一种为家蚕性信息素结合蛋白(BmorPBP)信号传导模式(Lautenschlager et al., 2005; Leal et al., 2005),BmorPBP 存在两种依赖 pH 主要构象,在 pH 低于 5.5 时,BmorPBP 的 C 端可以形成一个新的 α 螺旋并占住蚕蛾醇结合位点。而在 pH 高于 5.5 时,C 端变成一个长的伸展结构位于结合位点外侧,这使得结合位点得以曝露。由此提出 BmorPBP 在细胞膜遇到膜表面负电荷产生低 pH,致使结合的信息素释放。多音天蚕 (*Antheraea polyphemus*) OBP 也存在这一机制(Leal et al., 2005)。第二种为果蝇 OBP 信号传导模式,它不同于 BmorPBP 直接释放模式(Damberger et al., 2007)。相反,果蝇 OBP 结合特定的信息素导致本身构象发生变化,并打开表面的一个 loop 结构,由此果蝇 OBP 从非活性状态变为活性状态,触发 T1 神经元并产生信号传导,气味受体探测到的是特异信息素导致 OBP 构象变化的信息。第三种模式为蚊虫 OBP 信号传导模式(Mao et al., 2010),如 AgamOBP1 和 AaegOBP1 和 CquiOBP1。CquiOBP1 的 C 端羧基可以与 Tyr54 的羟基和 His23 的 δ -氮原子形成一个对 pH 敏感的“三合体(triad)”,并将 C 端羧基与 α 螺旋 1 和 α 螺旋 2 锁住,推测 pH 下降可能导致“三合体”氢键网络破坏,并导致 C 端 loop 结构与蛋白其他氨基酸的相互作用,从而释放产卵信息素。

与 BmorPBP 相比,AglaOBP12 的 C 端较短,难以采取第一种模式进行信号传导。与模板 CquiOBP1 的序列比对结果表明(图 1),AglaOBP12 氨基酸残基带负电的 Asn123 对应的是 His,但二者都属于极性氨基酸,具有亲水性。根据李广伟等(2017a, 2017b, 2017c)对 AglaOBP12 与其他昆虫多个 Classical OBPs 氨基酸序列比对结果,AglaOBP12 带负电的 Asn123 对应的氨基酸也具有一定的保守性,说明

AglaOBP12 在 C 端的保守性疏水氨基酸影响本身与气味的结合的稳定性。有趣的是在本研究中, 虽然突变子 F135E/L136E/V137E 与乙酸-顺-3-己烯酯没有形成氢键, 但其结合配体的稳定性仍要高于突变子 N123A 结合配体的稳定性。但由于未发现类似 CquiOBP1 “三合体” 结构, 目前也无依赖 pH 的配体结合实验, 故难以确定 AglaOBP12 的 C 端与配体结合和释放的直接作用, C 端的作用有待进一步研究。

参考文献 (References)

- Abagyan RA, Totrov MM, Kuznetsov DN, 1994. ICM-a new method for protein modeling and design. Applications to docking and structure prediction from the distorted native conformation. *Journal of Computational Chemistry*, 15(5): 488–506.
- Ahmed T, Hang T, Wang Z, He K, Bai S, 2017. Molecular cloning, expression profile, odorant affinity, and stability of two odorant binding proteins in *Macrocentrus cingulum* Brischke (Hymenoptera: Braconidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 92(2): e21347.
- Baker D, Sali A, 2001. Protein structure prediction and structural genomics. *Science*, 294 (5540): 93–96.
- Benkert P, Biasini M, Schwede T, 2011. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics*, 27(3): 343–350.
- Benkert P, Tosatto SCE, Schomburg D, 2008. QMEAN: A comprehensive scoring function for model quality assessment. *Proteins*, 71(1): 261–277.
- Biessmann H, Andronopoulou E, Biessmann MR, Douris V, Dimitratos SD, Eliopoulos E, 2010. The *Anopheles gambiae* odorant binding protein 1 (AgamOBP1) mediates indole recognition in the antennae of female mosquitoes. *PLoS ONE*, 5(3): e9471.
- Brito NF, Moreira MF, Melo AC, 2016. A look inside odorant-binding proteins in insect chemoreception. *Journal of Insect Physiology*, 95: 51–65.
- Damberger FF, Ishida Y, Leal WS, Wüthrich K, 2007. Structural basis of ligand binding and release in insect pheromone-binding proteins: NMR structure of *Antheraea polyphemus* PBP₁ at pH 4.5. *Journal of Molecular Biology*, 373(4): 811–819.
- Du HF, Wang PX, Xu HC, Zhang WW, Wang ZW, 2016. EAG responses of Asian longhorn beetle *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) to volatiles of hickory. *Journal of Zhejiang A & F University*, 33(1): 166–171. [杜和芬, 王佩星, 徐华潮, 张妮妮, 王紫薇, 2016. 光肩星天牛对山核桃挥发物组分的触角电位分析. 浙江农林大学学报, 33(1): 166–171.]
- Eisenberg D, Luthy R, Bowie JU, 1997. VERIFY3D: assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Methods in Enzymology*, 277: 396–404.
- Gong DP, Zhang HJ, Zhao P, Liu Y, Xia QY, Xiang ZH, 2007. Identification and expression pattern of the chemosensory protein gene family in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37(3): 266–277.
- Hu P, Wang JZ, Cui MM, Tao J, Luo YQ, 2016. Antennal transcriptome analysis of the Asian longhorned beetle *Anoplophora glabripennis*. *Scientific Reports*, 6: 26652.
- Lautenschlager C, Leal WS, Clardy J, 2005. Coil-to-helix transition and ligand release of *Bombyx mori* pheromone-binding protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 335(4): 1044–1050.
- Leal WS, 2013. Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. *Annual Review of Entomology*, 58(1): 373–391.
- Leal WS, Chen AM, Ishida Y, 2005. Kinetics and molecular properties of pheromone binding and release. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(15): 5386–5391.
- Li GH, Gao RT, Smith MT, Kong LC, 2010. Study on dispersal of *Anoplophora glabripennis* (Motsch.) (Coleoptera: Cerambycidae) population. *Forest Research*, 23(5): 678–684. [李国宏, 高瑞桐, Smith MT, 孔令才, 2010. 光肩星天牛种群扩散规律的研究. 林业科学研究, 23(5): 678–684.]
- Li GW, Chen XL, Shang TC, 2017a. Identification and tissue distribution of odorant binding proteins of female antennae *Anoplophora nobilis* Ganglbauer (Coleoptera: Cerambycidae). *Chinese Journal of Ecology*, 36(6): 1678–1689. [李广伟, 陈秀琳, 尚天翠, 2017a. 黄斑星天牛雌虫触角气味结合蛋白基因的鉴定及组织分布. 生态学杂志, 36(6): 1678–1689.]
- Li GW, Lu YM, Chen XL, Shang TC, 2017b. cDNA cloning, expression and ligand binding properties of the odorant binding protein AglaOBP12 in the Asian longhorned beetle, *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Acta Entomologica Sinica*, 60(10): 1141–1154. [李广伟, 陈秀琳, 尚天翠, 2017b. 光肩星天牛气味结合蛋白 AglaOBP12 的基因克隆、表达及配体结合特征. 昆虫学报, 60(10): 1141–1154.]
- Li GW, Lu Y, Chen XL, Shang TC, 2017c. Extraction and identification of host-plant volatiles of *Acer mono* and EAG responses of *Anoplophora nobilis* to the primary compounds of A.

- mono volatiles. *Journal of Henan Normal University (Nature Science Edition)*, 45(2): 53–59. [李广伟, 芦屹, 陈秀琳, 尚天翠, 2017c. 五角枫挥发物的提取鉴定及黄斑星天牛对主要组分的触角电位反应. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 45(2): 53–59.]
- Maiti R, Van Domselaar GH, Zhang H, Wishart DS, 2004. SuperPose: a simple server for sophisticated structural superposition. *Nucleic Acids Research*, 32(Suppl. 2): 590–594.
- Mao Y, Xu XZ, Xu W, Ishida Y, Leal WS, Ames JB, Clardy 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.
- Ramachandran GN, Ramakrishnan C, Sasisekharan V, 1963. Stereochemistry of polypeptide chain configurations. *Journal of Molecular Biology*, 7: 95–99.
- Thomsen R, Christensen MH, 2006. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(11): 3315–3321.
- Tzotzos G, Iley JN, Moore EA, 2018. New insights on repellent recognition by *Anopheles gambiae* odorant-binding protein 1. *PLoS ONE*, 13(4): e0194724.
- Wang JZ, Hu P, Luo YQ, Tao J, 2017. Identification and expression patterns of the pheromone binding protein genes AglaPBP1 and AglaPBP2 in *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(1): 45–55. [王菁桢, 胡平, 骆有庆, 陶静, 2017. 光肩星天牛性信息素结合蛋白 AglaPBP1 和 AglaPBP2 基因鉴定和表达分析. *应用昆虫学报*, 54(1): 45–55.]
- Wang ZW, Xu HC, Zhang WW, Wang PX, 2016. *Anoplophora glabripennis* host plant selection with main host plant volatile chemical component analysis. *Journal of Zhejiang A & F University*, 33(4): 558–563. [王紫薇, 徐华潮, 张娓娓, 王佩星, 2016. 光肩星天牛对寄主的选择及主要寄主挥发物的化学成分分析. *浙江农林大学学报*, 33(4): 558–563.]
- Zhang AJ, Oliver JE, Chauhan K, Zhao BG, Xia LQ, Xu ZC, 2003. Evidence for contact sex recognition pheromone of the Asian longhorned beetle, *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Naturwissenschaften*, 90(9): 410–413.
- Zhou JJ, Zhang GA, Huang W, Birkett MA, Field LM, Pickett JA, Pelosi P, 2004. Revisiting the odorant-binding protein LUSH of *Drosophila melanogaster*: Evidence for odour recognition and discrimination. *FEBS Letters*, 558(1): 23–26.
- Zhu N, Zhang DY, Wu LP, Hu Q, Fan JT, 2017. Attractiveness of aggregation pheromones and host plant volatiles to *Anoplophora glabripennis* and *A. chinensis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Acta Entomologica Sinica*, 60(4): 421–430. [朱宁, 张冬勇, 吴利平, 胡琴, 樊建庭, 2017. 聚集信息素和寄主植物挥发物对光肩星天牛和星天牛的引诱作用. *昆虫学报*, 60(4): 421–430.]
- Ziemba BP, Murphy EJ, Edlin HT, Jones DN, 2013. A novel mechanism of ligand binding and release in the odorant binding protein 20 from the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Protein Science*, 22(1): 11–21.