



咖啡豹蠹蛾普通气味结合蛋白 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 同源建模及其与 杜仲挥发物分子对接*

黄星瑞^{1,2**} 邹洁^{1,2} 杨洁¹ 文玺¹ 黄兴龙^{1,2***}

(1. 吉首大学生物资源与环境科学学院, 吉首 416000;

2. 吉首大学, 杜仲综合利用技术国家地方联合工程实验室, 吉首 416000)

摘要 【目的】为揭示钻蛀性害虫咖啡豹蠹蛾 *Zeuzera coffeae* 选择杜仲作为寄主的嗅觉识别机制。【方法】借助咖啡豹蠹蛾转录组数据开展普通气味结合蛋白 (General odorant binding proteins, GOBPs) 基因鉴定, 然后通过同源建模和分子对接预测了这些蛋白与杜仲挥发物的结合特性。【结果】从咖啡豹蠹蛾中鉴定得到 2 个普通气味结合蛋白基因 (ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2), 这 2 个基因编码的蛋白为水溶性蛋白, 包含 6 个 α 螺旋和 6 个保守的半胱氨酸残基。同源建模发现 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 的保守半胱氨酸残基参与了 3 个二硫键的形成, 这些二硫键将 α -螺旋约束呈特定的立体结构, α -螺旋围绕的空间形成了一个开口位于蛋白表面的配体结合空腔。分子对接发现, ZcofGOBP1 与植醇、11,14,17-三烯酸甲酯等 5 种杜仲挥发物结合能小于 -7 kJ/mol, ZcofGOBP2 与软脂酸乙酯和大马烯酮等 5 种杜仲挥发物结合能小于 -7 kJ/mol; 氢键、共价键、范德华力在这两个蛋白与配体的相互作用中发挥了重要作用。【结论】咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 是具有配体结合空腔的可溶性蛋白, 可能通过结合和转运寄主挥发物分子参与该虫对杜仲的嗅觉识别。

关键词 咖啡豹蠹蛾; 分子对接; 普通气味结合蛋白; 杜仲; 挥发物

Homology modelling of general odorant binding proteins (ZcofGOBP1 and ZcofGOBP 2) in *Zeuzera coffeae* and their molecular docking with volatiles of *Eucommia ulmoides*

HUANG Xing-Rui^{1,2**} ZOU Jie^{1,2} YANG Jie¹ WEN Xi¹ HUANG Xing-Long^{1,2***}

(1. College of Biology and Environmental Sciences, Jishou University, Jishou 416000, China; 2. National and Local United Engineering Laboratory of Integrative Utilization of *Eucommia Ulmoides*, Jishou University, Jishou 416000, China)

Abstract [Aim] To elucidate the olfactory mechanisms of the wood-boring pest *Zeuzera coffeae* selecting *Eucommia ulmoides* as host plant. [Methods] General odorant binding proteins (GOBPs) in *Z. coffeae* were identified by transcriptome data analysis. Homology modelling and molecular docking were performed to predict the binding properties of these proteins with volatile compounds from *E. ulmoides*. [Results] Two GOBP genes (ZcofGOBP1 and ZcofGOBP2) were identified in *Z. coffeae*. The proteins encoded by these genes were soluble proteins with six α -helices and six conserved cysteine residues. Homology modelling indicated that the conserved cysteine residues form three disulfide bonds and the α -helices were fixed by

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (32001320); 湖南省研究生科研创新项目 (CX20231078); 吉首大学校级科研项目 (Jdx20031)

**第一作者 First author, E-mail: huangxingrui@stu.jsu.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: hxl@jsu.edu.cn

收稿日期 Received: 2023-05-19; 接受日期 Accepted: 2024-01-10

disulfide bonds to form a ligand-binding pocket with a mouth on the protein surface. Molecular docking revealed prominent binding abilities (Free energy lower than -7 kJ/mol) of ZcofGOBPs with several *E. ulmoides* volatile compounds. For example, ZcofGOBP1 with phytol and methyl cis-11,14,17-eicosatrienoate, and ZcofGOBP2 with ethyl palmitate and damascenone. The interaction of ZcofGOBPs with ligands was strongly influenced by hydrogen bonds, covalent bonds, and van der Waals forces.

[Conclusion] ZcofGOBP1 and ZcofGOBP2 are soluble proteins with ligand binding pockets and may be involved in the perception of *E. ulmoides* by binding and transporting the host volatiles.

Key words *Zeuzera coffeae*; molecular docking; general odorant binding protein; *Eucommia ulmoides*; volatile

昆虫通过嗅觉感知环境中弥散的各种挥发性物质（即“气味”），高度敏感的嗅觉系统在昆虫识别寄主、寻找配偶和选择产卵位点等行为中发挥了至关重要的作用（Leal, 2013; Wechsler and Bhandawat, 2023）。寄主植物“气味”的化学本质是各种易挥发的脂溶性化合物，主要由植物各种代谢过程产生，确切地反映了植物的化学信息和生理特征（Carrasco *et al.*, 2015; Masui *et al.*, 2022）。到达昆虫嗅觉感受器的气味分子被气味结合蛋白（Odorant binding proteins, OBPs）等可溶蛋白结合，然后转运到嗅觉神经元树突由气味受体（Olfactory receptors, ORs）识别（Brito *et al.*, 2016）。OBPs 与寄主植物挥发物的特异性结合是决定昆虫寄主偏好的关键因素之一。

普通气味结合蛋白（General odorant binding proteins, GOBPs）是一类在各种昆虫中广泛存在的 OBPs，属于包含 6 个保守半胱氨酸残基的经典气味结合蛋白，与昆虫对寄主的嗅觉识别高度关联（Zhang *et al.*, 2021）。随着生物学信息学的发展，蛋白同源建模和分子对接越来越广泛地用于 OBPs 与气味配体的结合特性研究（Liu *et al.*, 2021; Liggri *et al.*, 2023）。蛋白同源建模的主要步骤包括查找蛋白结构模板、建立目的蛋白三维结构、蛋白结构优化与评估等（Venthur *et al.*, 2019）。构建好的蛋白结构可以在 AutoDock 等软件中与气味化合物进行模拟对接（Eberhardt *et al.*, 2021）。通过分析蛋白与配体之间的正负电荷对应、氢键供体与受体对应、疏水区的对应等，可以评估蛋白与配体的结合模式和结合能力（Shen *et al.*, 2019）。在冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 上的研究表明，分子对接呈现的 OBPs 配体结合特性与传统的荧光竞争结合实验结果基本一致（Okoli *et al.*, 2021）。Neto 等（2022）

以埃及伊蚊 *Aedes Aegypti* AaegOBP1 为靶标进行软件模拟筛选，发现喹啉酮类化合物 2-Phenyl-3,4-dihydroquinazolin-4-one 和异戊腈类化合物 (2S)-2-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1H-isindol-2-yl)-3-methylbutanenitrile 与 AaegOBP1 的结合性能优于避蚊胺，可作为候选化合物用于新型驱蚊剂开发。寄主植物、昆虫同类等释放的挥发物种类繁多，通过蛋白同源建模和分子对接分析 OBPs 与候选气味挥发物的结合特性可以实现 OBPs 气味配体的高效筛选，为开展昆虫嗅觉功能和嗅觉行为研究提供数据。

杜仲 *Eucommia ulmoides* 是原产我国的珍贵药用植物，收录于《中华人民共和国药典》（张智等, 2022）。杜仲所含的杜仲胶属于硬性橡胶，与天然橡胶性质相似，在材料领域也有很高的应用价值（李超凡等, 2022）。杜仲包含种类繁多的挥发性物质，这些挥发性物质在植食性昆虫对杜仲的选择和识别中起到了关键作用（巩江, 2010; 贾智若等, 2013）。林杰等（2018）通过顶空固相微萃取法（Head space solid-phase microextraction, HS-SPME）和气相色谱-质谱联用（Gas chromatography-Mass spectrometry, GC-MS）分离和鉴定了药用杜仲皮和叶的挥发性物质，从杜仲叶中鉴定出 19 种化学成分，从杜仲皮中鉴定出 13 种化学成分。李岩和赵德刚（2010）提取了鲜活杜仲叶片和树皮的挥发性物质，在雌株叶片、雄株叶片、雌株树皮和雄株树皮分别鉴定到 21, 29, 18 和 14 种挥发性化合物；其中反-3-己烯-1-醇、呋喃甲酯、3-呋喃甲基醋酸酯、3-己烯-1-醇在鲜活杜仲叶中含量较高；2-萜烯-10-醛、3-顺-3-辛烯-5-炔、软脂酸在鲜活杜仲皮中含量较高。

咖啡豹蠹蛾 *Zeuzera coffeae* 隶属于鳞翅目木蠹蛾科豹蠹蛾属，是一种食性杂、为害重的枝干

钻蛀害虫(冯荣扬等, 2000)。寄主植物已知 24 科 34 种, 包括蔷薇科(苹果、梨、桃等)、茶科(茶)和杜仲科(杜仲)等, 分布范围遍布我国南方各省, 在陕西、河南、山东也有所分布(冯荣扬等, 2000)。在杜仲林, 咖啡豹蠹蛾以幼虫钻蛀杜仲枝干为害, 被害的杜仲枝干在风力作用下易折断掉落, 长期为害可导致树势低下甚至枯死(周云龙等, 1996)。咖啡豹蠹蛾为害时间长且隐蔽, 传统的化学防治手段难以控制, 且导致环境污染和杜仲产品农药残留。因此, 查明咖啡豹蠹蛾为害杜仲的嗅觉识别机制, 发展基于嗅觉功能的咖啡豹蠹蛾防治策略具有广阔的应用前景。本研究从咖啡豹蠹蛾转录组数据中鉴定得到 2 个普通气味结合蛋白基因(ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2), 并通过蛋白同源建模和分子对接分析了这 2 个基因编码的蛋白与杜仲挥发物的结合特性; 研究结果有助于揭示咖啡豹蠹蛾选择杜仲作为寄主的嗅觉识别机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 基因序列来自转录组(GenBank 登录号: PRJNA972835), 基因的 GenBank 登录号分别为 PP097392 和 PP097393。采用的杜仲挥发性化合物为文献报道的鲜活杜仲组织挥发物(李岩和赵德刚, 2010), 化合物分子模型来自 PubChem 有机小分子生物活性数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

1.2 序列分析

通过 Blastp 线上服务(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast>)分析咖啡豹蠹蛾 GOBPs 与其他昆虫 OBPs 的序列一致性; 采用 TMHMM-2.0(<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)进行跨膜区域分析; 使用 ProtScale 线上服务(<https://web.expasy.org/protscale/>)分析蛋白亲/疏水性。通过 Clustal Omega(<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>)进行蛋白序列比对, 查找保守的氨基酸残基。

1.3 同源建模和分子对接

通过 Blastp 在 Protein Data Bank proteins 数据库中查找蛋白空间结构模板; 采用 SWISS-MODEL 线上服务(<https://swissmodel.expasy.org>)进行蛋白三维结构模拟。使用在线工具 Proteinplus(<https://proteins.plus/>)预测蛋白的配体结合空腔。在 SAVES v6.0 线上服务(<https://saves.mbi.ucla.edu/>)中使用 ERRAT 和 PROCHECK 对蛋白结构预测质量进行评估; ERRAT 主要分析不同原子类型之间的非键相互作用, ERRAT 值通常要求大于 50%; PROCHECK 通过分析氨基酸残基间的几何结构和蛋白整体几何结构来检查蛋白结构的立体化学性能, 输出的拉氏构象图以不同颜色的区域表示氨基酸残基所在位置的合理性, 红色为最佳区域, 亮黄色为许可区域, 浅黄色为勉强许可区域, 白色为不合理区域。

通过 Open Babel GUI 软件(http://openbabel.org/wiki/Main_Page)将下载的化合物分子模型文件转换成 PDB 格式; 在 AutoDock 软件中进行 OBPs 与气味化合物的分子对接。在 Discovery Studio 4.5 Client(Dassault Systèmes Biovia, USA)中分析并展示 OBPs 与气味化合物对接的相互作用。

2 结果与分析

2.1 咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBPs 同源建模与模型评价

咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 去除信号肽的成熟蛋白分别包含 145 和 141 个氨基酸残基, 二者之间的氨基酸序列一致性为 52.99%; 跨膜区域预测和疏水性分析发现, 这 2 个蛋白均为不包含跨膜区域的可溶性蛋白。将 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 与同源建模参考家蚕 *Bombyx mori* 蛋白 BmorGOBP2 进行序列比对, 它们与 BmorGOBP2 的序列一致性分别为 51.77% 和 78.57%(图 1: A, F)。构建的 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 三维模型分别包含 6 个 α 螺旋($\alpha 1a/b$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 和 $\alpha 6$) 和 6 个保守的半胱氨酸残基(Cys1-Cys6), 其中 Cys1 位于 $\alpha 1b$, Cys2

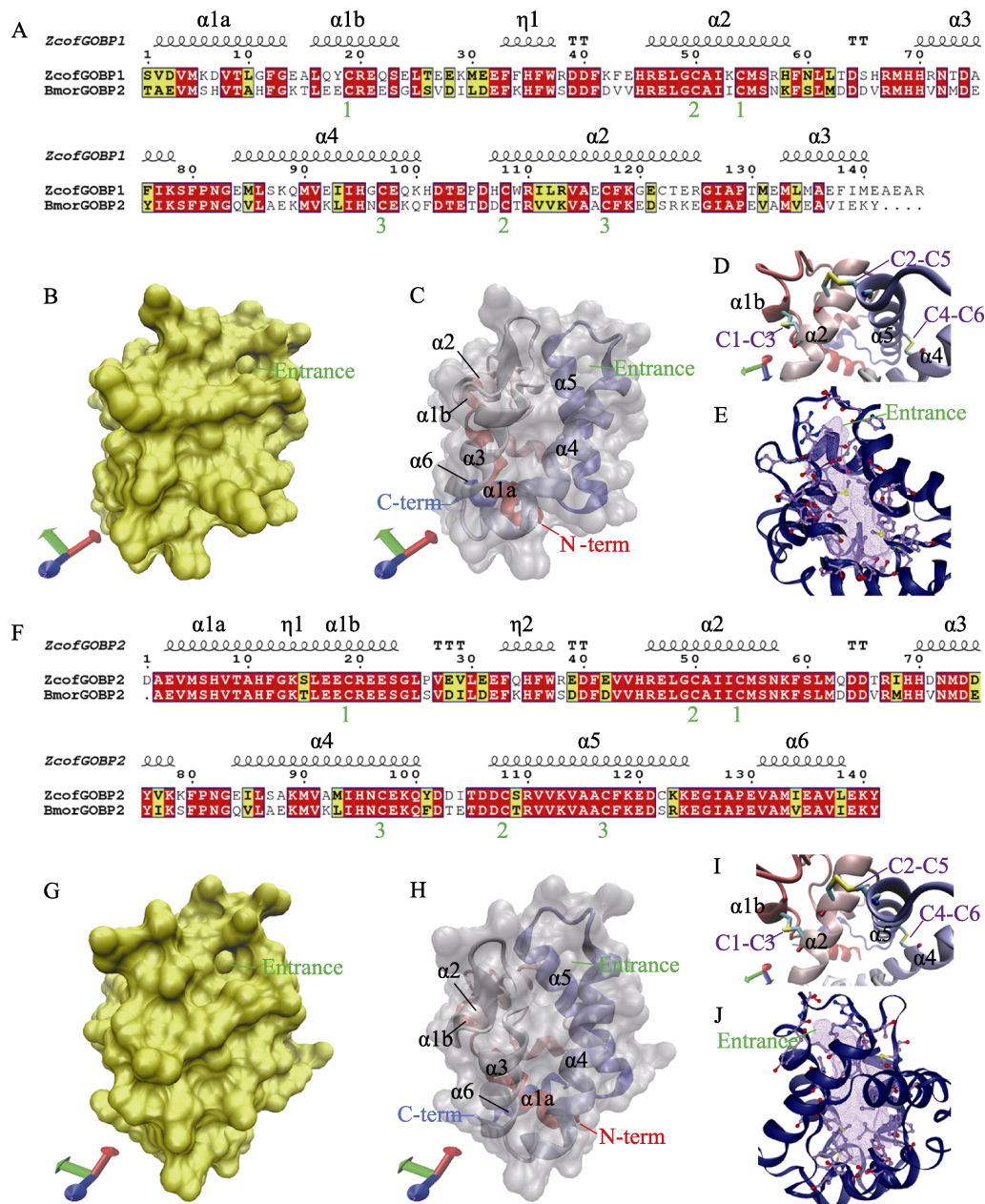


图 1 咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBPs 的二级结构和三维结构

Fig. 1 Secondary and three-dimensional structures of ZcofGOBPs of *Zeuzera coffeae*

A. ZcofGOBP1 与模板 BmorGOBP2 序列比对; B. ZcofGOBP1 蛋白外形; C. ZcofGOBP1 三维结构; D. ZcofGOBP1 二硫键分布; E. ZcofGOBP1 配体结合空腔预测; F. ZcofGOBP2 与模板 BmorGOBP2 序列比对; G. ZcofGOBP2 蛋白外形; H. ZcofGOBP2 三维结构; I. ZcofGOBP2 二硫键分布; J. ZcofGOBP2 配体结合空腔预测。Entrance 表示底物结合空腔开口; N-term 表示氮端; C-term 表示碳端; C1-C3 表示 Cys1 与 Cys3 形成的二硫键; C2-C5 表示 Cys2 与 Cys5 形成的二硫键; C4-C6 表示 Cys4 与 Cys6 形成的二硫键; 紫色阴影区域为配体结合空腔。

A. Alignment of ZcofGOBP1 and BmorGOBP2; B. Surface of ZcofGOBP1; C. Three-dimensional structures of ZcofGOBP1; D. Distribution of disulfide bonds in ZcofGOBP1; E. Predicted ligand binding pocket of ZcofGOBP1; F. Alignment of ZcofGOBP2 and BmorGOBP2; G. Surface of ZcofGOBP2; H. Three-dimensional structures of ZcofGOBP2; I. Distribution of disulfide bonds in ZcofGOBP2; J. Predicted ligand binding pocket of ZcofGOBP2. Entrance of the ligand binding pocket is indicated by "Entrance"; N-terminal of the protein is indicated by "N-term"; C-terminal of the protein is indicated by C-term; C1-C3 is the disulfide bonds formed by Cys1 and Cys3; C2-C5 is the disulfide bonds formed by Cys2 and Cys5; C4-C6 is the disulfide bonds formed by Cys4 and Cys5; Predicted ligand binding pocket is marked by purple shadow.

和 Cys3 位于 α_2 , Cys4 位于 α_4 , Cys5 和 Cys6 位于 α_5 (图 1: B-E, G-J); 这些半胱氨酸残基形成的 3 个二硫键 (Cys1-Cys3、Cys2-Cys5 和 Cys4-Cys6), 将 α 螺旋约束呈特定的空间结构, 形成了一个开口位于蛋白表面的配体结合空腔。通过 Proteinplus 预测 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 配体结合空腔, 发现 ZcofGOBP1 的结合空腔的面积为 $536.02\text{\AA}^2$, 容积为 $676.03\text{\AA}^3$; ZcofGOBP2 的结合空腔的面积为 $369.20\text{\AA}^2$, 容积为 $554.05\text{\AA}^3$ 。

通过 ERRAT 统计蛋白结构中不同原子之间非键相互作用的整体性能, ERRAT 值通常要求大于 0.50。ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 空间结构的 ERRAT 值分别为 0.91 和 0.89, 均符合要求(图 2: A, B)。采用拉氏构象图评价蛋白模型的立体化学特性, ZcofGOBP1 中 93.8% 的氨基酸残基位于最佳区域, 6.2% 的氨基酸残基位于许可区域,

无氨基酸残基位于勉强许可区域和不合理区域(图 2: C)。ZcofGOBP2 中 95.4% 的氨基酸残基位于最佳区域, 4.6% 的氨基酸残基位于许可区域, 无氨基酸残基位于勉强许可区域和不合理区域(图 2: D)。

2.2 咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBPs 与杜仲挥发物分子对接

将 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 分别与 20 种杜仲挥发性化合物进行分子对接, 预测的结合能分别为 -7.68 - -3.39 kJ/mol 和 -7.62 - -3.51 kJ/mol, ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 与这些挥发物的相互作用主要包括氢键、共价键和范德华力(表 1, 表 2)。ZcofGOBP1 与 5 种挥发物的结合能低于 -7 kJ/mol, 由低到高依次为植醇 (-7.68 kJ/mol)、11,14,17-三烯酸甲酯 (-7.51 kJ/mol)、大马烯酮 (-7.39 kJ/mol)、

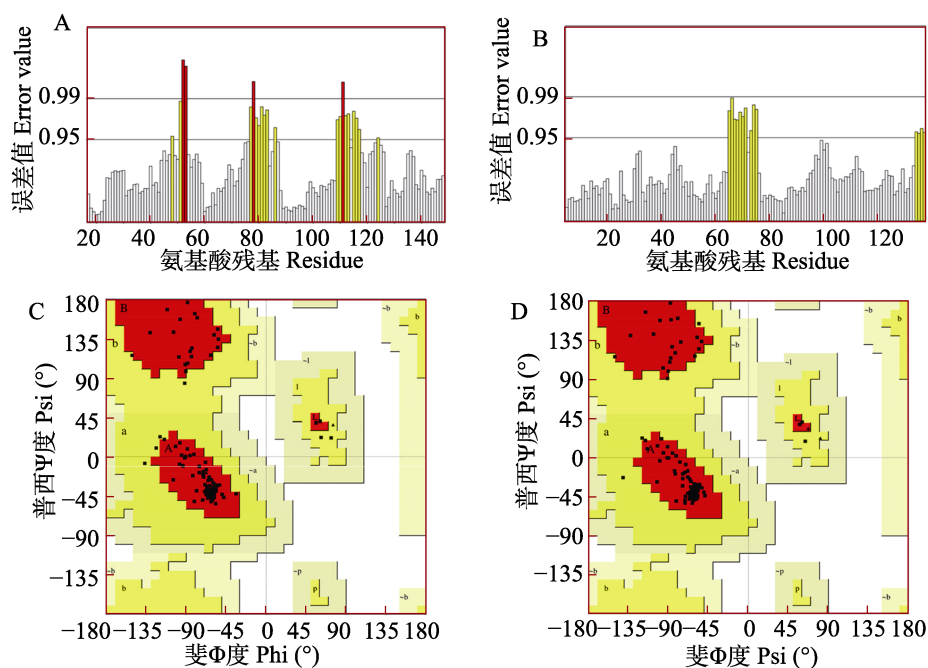


图 2 咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBPs 三维结构模型评估

Fig. 2 Evaluation of the three-dimensional structures of ZcofGOBPs of *Zeuzera coffeae*

A. ZcofGOBP1 模型 ERRAT 统计结果; B. ZcofGOBP2 模型 ERRAT 统计结果; C. ZcofGOBP1 模型拉氏构象图; D. ZcofGOBP2 模型拉氏构象图。ERRAT 图中白色表示误差值 <0.95 , 黄色表示误差值 <0.99 , 红色表示误差值 ≥ 0.99 ; 拉氏图中红色为最佳区域, 亮黄色为许可区域, 浅黄色为勉强许可区域, 白色为不合理区域。

A. ERRAT of ZcofGOBP1 model; B. ERRAT of ZcofGOBP2 model; C. Ramachandran plot of ZcofGOBP1;

D. Ramachandran plot of ZcofGOBP2. In the ERRAT, white indicates the error value <0.95 , yellow indicates the error value <0.99 , and red indicates the error value ≥ 0.99 ; In the Ramachandran plot, red indicates the most favoured regions, gloss yellow indicates the additional regions, light yellow indicates the allowed regions; white indicates the disallowed regions.

表 1 咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBP1 与杜仲挥发物的分子对接结果

Table 1 Molecular docking of ZcofGOBP1 of *Zeuzera coffeae* to volatile compounds of *Eucommia ulmoides*

挥发性化合物 Volatile compounds (CAS)	结合能 (kJ/mol) Binding energy (kJ/mol)	氢键 Hydrogen	共价键 Covalent bond	范德华力 van der Waals
植醇 Phytol (150-86-7)	- 7.68	Ser56	Val8, Phe12, Phe33, Phe36, Ile52, Leu61, Met68, Ile94, Val114, Phe118,	Thr9, Trp37, Leu62, Met90, Ile111, Ala115
11,14,17-三烯酸甲酯 Methyl cis-11,14,17-eicosatrienoate (55682-88-7)	- 7.51	/	Leu61, Ile94	Val8, Thr9, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Thr73, Phe76, Met90, Ile111, Val114, Ala115, Phe118
大马烯酮 Damascenone (23726-93-4)	- 7.39	/	Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Met90, Ala115, Phe118	Val8, Thr9, Ile52, Ile94, Val114
软脂酸乙酯 Ethyl palmitate (628-97-7)	- 7.36	Trp37	Met5, Val8, Phe36, Met90, Ile111, Val114	Thr9, Phe33, Ile52, Leu62, Ile94, Ala115, Phe118
十八酸甲酯 Methyl stearate (112-61-8)	- 7.08	Thr9	Ile111	Met5, Val8, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, HIS66, ARG67, Met68, Phe76, Met90, GLU98, ARG110, Val114, Ala115, Phe118
α -环柠檬醛 α -Cyclocitral (432-24-6)	- 5.91	/	Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Phe118	Met5, Val8, Thr9, Ile52, Met90, Ala115
芳樟醇 Linalool (78-70-6)	- 5.67	Thr9	Met5, Val8, Ala115, Phe118	Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met90, Ile94, Val114
反-11-十四烯-1-醇 E-11-tetradecenol (35153-18-5)	- 5.63	Thr9	Ile94, Val114	Met5, Val8, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met90, Ala115, Phe118
罗勒烯 Ocimene (13877-91-3)	- 5.5	/	Met5, Val8, Phe12, Phe33, Phe36, Ile52, Phe76, Ala115, Phe118	Thr9, Trp37, Met90
2-异丙基-5-甲基-1-己醇 Tetrahydrolavandulol (2051-33-4)	- 5.36	Thr9	Met5, Val8, Phe12P, Phe33P, Phe36, Ile52, Ala115, Phe118	Trp37, Phe76, Met90
橙花醇 Nerol (106-25-2)	- 5.19	Thr9	Phe12, Ile52, Ile94, Val114, Ala115, Phe118	Met5, Phe33, Phe36, Trp37, Ile111
十二醛 Lauraldehyde (112-54-9)	- 5.07	/	Met5, Val8, Phe12	Thr9, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met90, Ile94, Ile111, Val114, Ala115, Phe118
软脂酸 Palmitic acid (21096)	- 5.04	Ser56	Phe12	Met5, Val8, Thr9, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Leu61, Leu62, Met68, Phe76Met90, Ile94, Ile111, Ala115, Phe118
2-丙基-1-庚醇 2-Propyl-1-heptanol (10042-59-8)	- 5.02	Thr9	Val8, Phe12, Ile94, Phe118	Met5, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met90, Ala115
2-癸烯-1-醇 trans-2-decen-1-ol (18409-18-2)	- 4.64	Thr9	Ile94Val114Phe118	Met5, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Ile111, Ala115
3-呋喃甲基醋酸酯 3-Furylmethyl acetate (30614-67-6)	- 4.23	/	Met5, Val8	Thr9, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met90, Ala115, Phe118
庚醛 Heptaldehyde (111-71-7)	- 3.73	/	Met5, Val8	Thr9, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met90, Phe118
2-己烯醛 Hex-2-enal (505-57-7)	- 3.63	/	Met5, Val8, Phe36	Thr9, Phe12, Phe33, Trp37, Ile52, Met90, Ala115, Phe118
反-3-己烯-1-醇 Trans-3-hexen-1-ol (928-97-2)	- 3.57	Thr9	Phe36, Ile52, Ala115, Phe118	Met5, Phe12, Phe33
呋喃甲醇 Furfuryl alcohol (98-00-0)	- 3.39	Thr9	Val8, Phe12	Phe33, Phe36, Trp37, Met90, Phe118

表 2 咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBP2 与杜仲挥发物的分子对接结果

Table 2 Molecular docking of ZcofGOBP2 of *Zeuzera coffeae* to volatile compounds of *Eucommia ulmoides*

挥发性化合物 Volatile compounds (CAS)	结合能 (kJ/mol) Binding energy (kJ/mol)	氢键 Hydrogen	共价键 Covalent bond	范德华力 van der Waals
软脂酸乙酯 Ethyl palmitate (628-97-7)	- 7.62	/	Val111, Val114	Val8, Thr9, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met62, TYR76, Met90, Ile94, Ala115, Phe118
大马烯酮 Damascenone (23726-93-4)	- 7.35	/	Val8, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Met90, Ile94, Ala115, Phe118	Thr9, Ile52, Met73, Val114
11,14,17-三烯酸甲酯 Methyl cis-11,14,17-eicosatrienoate (55682-88-7)	- 7.26	/	Phe12, Leu61, Met73, TYR76	Met5, Val8, Thr9, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met90, Ile94, Val111, Val114, Ala115, Phe118
十八酸甲酯 Methyl stearate (112-61-8)	- 7.19	/	Val8, Phe12, TYR76	Thr9, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Leu61, Met62, Met90, Ile94, Val111, Val114, Ala115, Phe118
植醇 Phytol (150-86-7)	- 7.09	/	Val8, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Ile94, Val111, Val114, Ala115	Met5, Thr9, Ser56, Leu61, Met62, Met73, TYR76, Met90, Phe118
α -环柠檬醛 α -Cyclocitral (432-24-6)	- 5.95	Trp37	Met5, Val8, Phe12, Phe36, Met90, Ile94, Phe118	Thr9, Phe33, Trp37, TYR76
反-11-十四烯-1-醇 E-11-tetradecenol (35153-18-5)	- 5.9	Thr9	Met5, Val8, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met90, Ala115, Phe118	Ile94, Val114
芳樟醇 Linalool (78-70-6)	- 5.86	Thr9	Phe12, Phe33, Phe36, Leu61, Met73, TYR76, Met90	Met5, Val8, Trp37, Phe118
2-异丙基-5-甲基-1-己醇 Tetrahydrolavandulol (2051-33-4)	- 5.52	Thr9	Met5, Val8, Phe12, Phe36, Phe33, Trp37, TYR76, Met90, Ile52, Ala115, Phe118	
罗勒烯 Ocimene (13877-91-3)	- 5.51	/	Met5, Val8, Phe12, Phe33, Ile52, Ala115, Phe118	Thr9, Phe36, Trp37, Met90
橙花醇 Nerol (106-25-2)	- 5.47	Thr9	Phe12, Ile52, Ile94, Val111, Val114, Ala115, Phe118	Phe33, Phe36
软脂酸 Palmitic acid (57-10-3)	- 5.37	Thr9	Phe12, Met62, Ile94	Met5, Val8, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Ser56, Ile68, Met73, TYR76, Met90, Val111, Val114, Ala115, Phe118
2-丙基-1-庚醇 2-Propyl-1-heptanol (10042-59-8)	- 5.2	Thr9	Met5, Val8, Ala115, Phe118	Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met90
十二醛 Lauraldehyde (112-54-9)	- 5.19	/	Val8, Phe12, Met73, TYR76	Met5, Thr9, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Leu61, Met90, Ile94, Val114, Ala115, Phe118
2-癸烯-1-醇 trans-2-decen-1-ol (18409-18-2)	- 5.03	Thr9	Val111, Val114	Met5, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met62, Ile94, Ala115, Phe118
3-呋喃甲基醋酸酯 3-Furylmethylacetate (30614-67-6)	- 4.17	/	Val8	Thr9, Phe12, Phe33, Phe36, Trp37, Ile52, Met90, Ala115, Phe118
反-3-己烯-1-醇 trans-3-hexen-1-ol (928-97-2)	- 3.83	Thr9	Val8, Phe12, Met73, TYR76	Met5, Phe33, Phe36, Trp37, Leu61, Met90, Phe118
庚醛 Heptaldehyde (111-71-7)	- 3.82	Trp37	Phe12, Leu61, Met73, TYR76	Met5, Val8, Thr9, Phe33, Phe36, Met90, Phe118
2-己烯醛 Hex-2-enal (505-57-7)	- 3.69	Trp37	Val8, Phe12, Leu61, Met73, TYR76	Thr9, Phe33, Phe36, Met90, Phe118
2-呋喃甲醇 Furfuryl alcohol (98-00-0)	- 3.51	Thr9	Val8, Phe12	Phe33, Phe36, Trp37, TYR76, Met90, Phe118

软脂酸乙酯 (- 7.36 kJ/mol) 和十八酸甲酯 (- 7.08 kJ/mol); Thr9、Ser56 和 Trp37 参与 ZcofGOBP1 与配体间氢键的形成, 18 个氨基酸残基参与了 ZcofGOBP1 与配体间共价键作用, 23 个氨基酸残基参与了 ZcofGOBP1 与配体间的范德华力。ZcofGOBP2 也与植醇等 5 种挥发物亲和性最高, 但结合能高低略有差异, 由低到高依次为软脂酸乙酯 (- 7.62 kJ/mol)、大马烯酮 (- 7.35 kJ/mol)、11,14,17-三烯酸甲酯 (- 7.26 kJ/mol)、十八酸甲酯 (- 7.19 kJ/mol)、植醇 (- 7.09 kJ/mol)。ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 与庚醛、2-己烯醛、反-3-己烯-1-醇和 2-呋喃甲醇 4 种亲和性较低, 结合能均高于 - 4 kJ/mol。Trp37 和 Thr9 参与了 ZcofGOBP2 与配体间氢键的形成, 8 个氨基酸残基参与了 ZcofGOBP2 与配体间共价键作用, 20 个氨基酸残基参与了 ZcofGOBP2 与配体间的范德华力。

2.3 ZcofGOBPs 与 11,14,17-三烯酸甲酯和软脂酸乙酯的结合特性

为揭示 ZcofGOBPs 与长链有机化合物的结合特性, 我们比较了 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 的氨基酸残基与长链脂类化合物 11,14,17-三烯酸甲酯和软脂酸乙酯相互作用。在打分最高的分子对接结果中, 11,14,17-三烯酸甲酯在 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 底物结合空腔中发生了大幅度的弯曲; 软脂酸在 ZcofGOBP1 底物结合空腔中生成了大幅度的弯曲, 但在 ZcofGOBP2 底物结合空腔中伸展为直链 (图 3)。ZcofGOBP1 与 11,14,17-三烯酸甲酯的相互作用包括共价键和范德华力, 氨基酸残基 (Leu61 和 Ile94) 参与了共价键的形成, 14 个氨基酸残基 (Val8、Thr9、Phe12、Phe33、Phe36、Trp37、Ile52、Thr73、Phe76、Met90、Ile111、Val114、Ala115 和 Phe118) 参与了 ZcofGOBP1 和 11,14,17-三烯酸甲酯之间的范德华力作用 (图 3: A, A', A'')。ZcofGOBP2 与 11,14,17-三烯酸甲酯之间的相互作用也包括共价键和范德华力, 4 个氨基酸残基 (Phe12、Leu61、Met73 和 Tyr76) 参与了共价键的形成, 13 个氨基酸残基 (Met5、Val8、Thr9、Phe33、Phe36、Trp37、Ile52、Met90、Ile94、Val111、

Val114、Ala115 和 Phe118) 与范德华力作用有关 (图 3: B, B', B'')。ZcofGOBP1 与软脂酸乙酯的相互作用包括氢键、共价键和范德华力, 氨基酸残基 Trp37 参与了氢键的形成, 6 个氨基酸残基 (Met5、Val8、Phe36、Met90、Ile111 和 Val114) 参与了共价键的形成, 7 个氨基酸残基 (Thr9、Phe33、Ile52、Leu62、Ile94、Ala115 和 Phe118) 与范德华力的形成有关 (图 3: C, C', C'')。ZcofGOBP2 与软脂酸乙酯的相互作用包括共价键和范德华力, 未发现氢键; 2 个氨基酸残基 (Val111 和 Val114) 参与了共价键的形成; 12 个氨基酸残基 (Val8、Thr9、Phe33、Phe36、Trp37、Ile52、Met62、Tyr76、Met90、Ile94、Ala115 和 Phe118) 与范德华力作用有关 (图 3: D, D', D'')。

2.4 ZcofGOBPs 与植醇和大马烯酮的结合特性

为揭示 ZcofGOBPs 与包含侧链和碳环的有机化合物的结合特性, 我们分析了 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 的氨基酸残基与富含侧链的植醇和包含碳环的大马烯酮之间的结合特征。在 ZcofGOBP1 与植醇分子对接结果中, ZcofGOBP1 的 SER56 参与了氢键的形成, 并以 10 个氨基酸残基 (Val8、Phe12、Phe33、Phe36、Ile52、Leu61、Met68、Ile94、Val11 和 Phe118) 形成共价键, 以 6 个氨基酸残基 (Thr9、Trp37、Leu62、Met90、Ile111 和 Ala115) 产生范德华力作用 (图 4: A, A', A'')。ZcofGOBP2 与植醇之间未发现氢键, 10 个氨基酸残基 (Val8、Phe12、Phe33、Phe36、Trp37、Ile52、Ile94、Val111、Val114 和 Ala115) 参与了共价键的形成, 9 个氨基酸残基 (Met5、Thr9、SER56、Leu61、Met62、Met73、Tyr76、Met90 和 Phe118) 与范德华力作用有关 (图 4: B, B', B'')。ZcofGOBP1 和大马烯酮的分子对接未发现氢键, ZcofGOBP1 以 7 个氨基酸残基 (Phe12、Phe33、Phe36、Trp37、Met90、Ala115 和 Phe118) 与大马烯酮形成共价键, 以 5 个氨基酸残基 (Val8、Thr9、Ile52、Ile94 和 Val114) 产生范德华力作用 (图 4: C, C', C'')。ZcofGOBP2 与大马烯酮之间也没有形成氢键, 9 个氨基酸残基 (Val8、Phe12、Phe33、Phe36、Trp37、Met90、Ile94、Ala115 和 Phe118) 参与了共价键的形成,

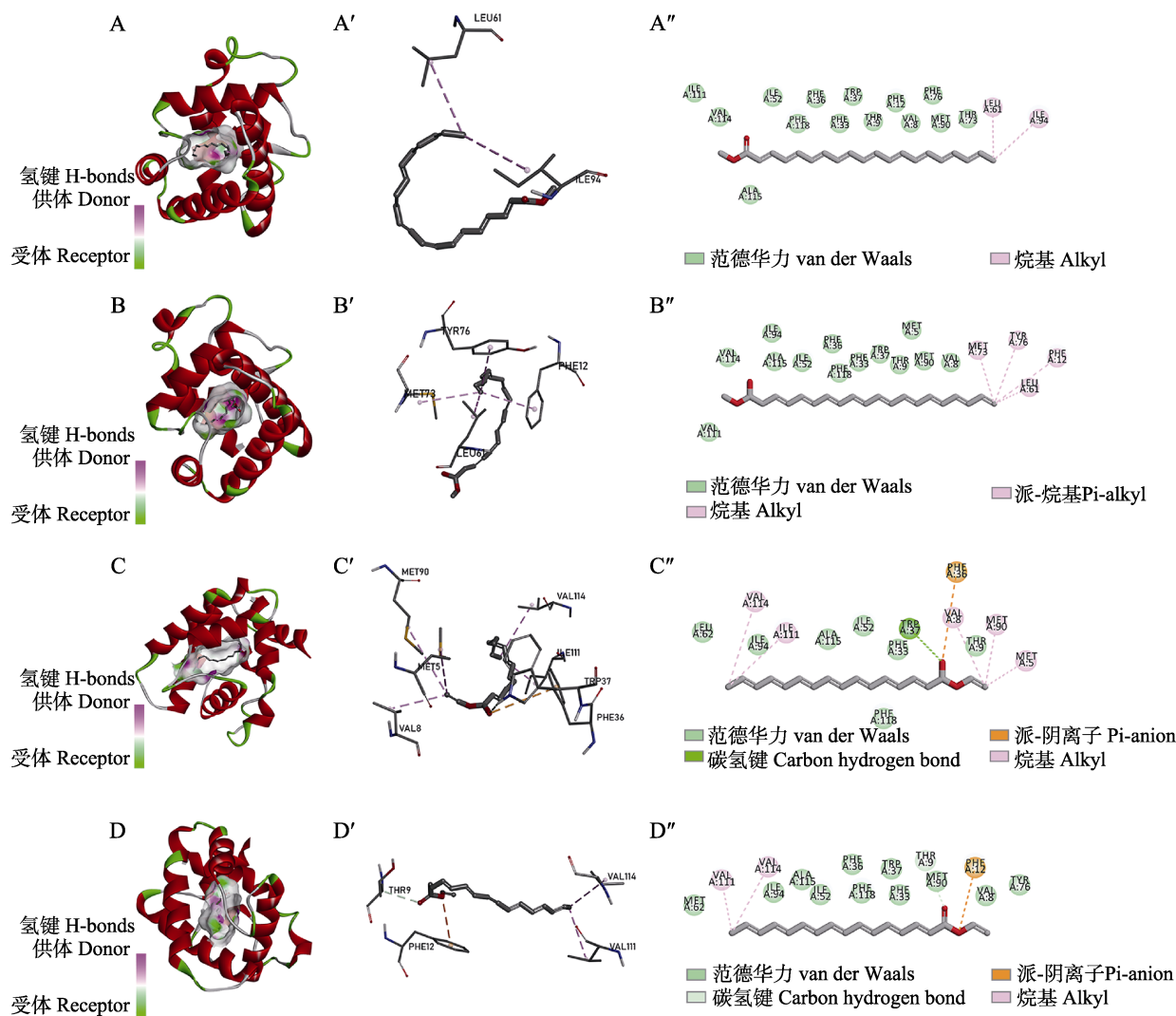


图 3 咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBPs 与 11,14,17-三烯酸甲酯和软脂酸乙酯分子对接展示

Fig. 3 Molecular docking of ZcofGOBPs of *Zeuzera coffeae* with methyl *cis*-11,14,17-eicosatrienoate and ethyl palmitate

A. ZcofGOBP1 与 11,14,17-三烯酸甲酯分子对接; A'. 11,14,17-三烯酸甲酯与 ZcofGOBP1 氨基酸残基相互作用三维展示; A''. 11,14,17-三烯酸甲酯与 ZcofGOBP1 氨基酸残基相互作用二维展示; B. ZcofGOBP2 与 11,14,17-三烯酸甲酯分子对接; B'. 11,14,17-三烯酸甲酯与 ZcofGOBP2 氨基酸残基相互作用三维展示; B''. 11,14,17-三烯酸甲酯与 ZcofGOBP2 氨基酸残基相互作用二维展示; C. ZcofGOBP1 与软脂酸乙酯分子对接; C'. 软脂酸乙酯与 ZcofGOBP1 氨基酸残基相互作用三维展示; C''. 软脂酸乙酯与 ZcofGOBP1 氨基酸残基相互作用二维展示; D. ZcofGOBP2 与软脂酸乙酯分子对接; D'. 软脂酸乙酯与 ZcofGOBP2 氨基酸残基相互作用三维展示; D''. 软脂酸乙酯与 ZcofGOBP2 氨基酸残基相互作用二维展示。范德华力、碳氢键和派-阴离子属于静电力作用; 烷基和派-烷基属于疏水作用; 派-阴离子为静电力和疏水混合作用。

A. Molecular docking of ZcofGOBP1 with methyl *cis*-11,14,17-eicosatrienoate; A'. Three-dimensional display of the interaction of methyl *cis*-11,14,17-eicosatrienoate with ZcofGOBP1 residues; A''. Two-dimensional display of the interaction of methyl *cis*-11,14,17-eicosatrienoate with ZcofGOBP1 residues; B. Molecular docking of ZcofGOBP2 with methyl *cis*-11,14,17-eicosatrienoate; B'. Three-dimensional display of the interaction of methyl *cis*-11,14,17-eicosatrienoate with ZcofGOBP2 residues; B''. Two-dimensional display of the interaction of methyl *cis*-11,14,17-eicosatrienoate with ZcofGOBP2 residues; C. Molecular docking of ZcofGOBP1 with ethyl palmitate; C'. Three-dimensional display of the interaction of ethyl palmitate with ZcofGOBP1 residues; C''. Two-dimensional display of the interaction of ethyl palmitate with ZcofGOBP1 residues; D. Molecular docking of ZcofGOBP2 with ethyl palmitate; D'. Three-dimensional display of the interaction of ethyl palmitate with ZcofGOBP2 residues; D''. Two-dimensional display of the interaction of ethyl palmitate with ZcofGOBP2 residues. The van der Waals, carbon hydrogen bond and pi-action belong to electrostatic interaction; alkyl and pi-alkyl belong to hydrophobic interaction; pi-action is mixed.

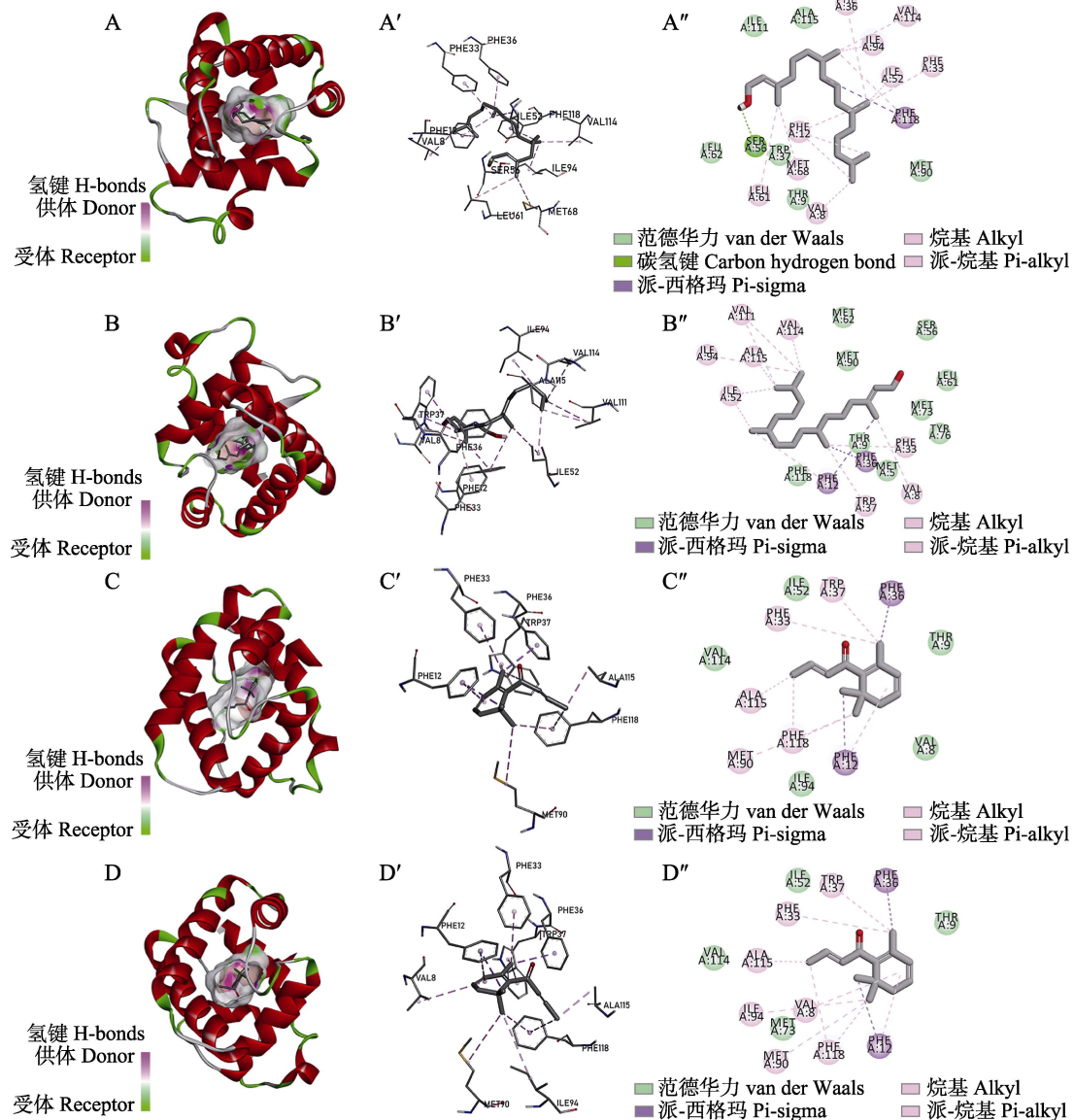


图 4 咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBPs 与植醇和大马烯酮分子对接展示

Fig. 4 Molecular docking of ZcofGOBPs of *Zeuzera coffeae* with phytol and damascenone

A. ZcofGOBP1 与植醇分子对接; A'. 植醇与 ZcofGOBP1 氨基酸残基相互作用三维展示; A". 植醇与 ZcofGOBP1 氨基酸残基相互作用二维展示; B. ZcofGOBP2 与植醇分子对接; B'. 植醇与 ZcofGOBP2 氨基酸残基相互作用三维展示; B". 植醇与 ZcofGOBP2 氨基酸残基相互作用二维展示; C. ZcofGOBP1 与大马烯酮分子对接; C'. 大马烯酮与 ZcofGOBP1 氨基酸残基相互作用三维展示; C". 大马烯酮与 ZcofGOBP1 氨基酸残基相互作用二维展示; D. ZcofGOBP2 与大马烯酮分子对接; D'. 大马烯酮与 ZcofGOBP2 氨基酸残基相互作用三维展示; D". 大马烯酮与 ZcofGOBP2 氨基酸残基相互作用二维展示。范德华力和碳氢键属于静电力作用; 烷基、派-烷基和派-西格玛属于疏水作用。

A. Molecular docking of ZcofGOBP1 with phytol; A'. Three-dimensional display of the interaction of phytol with ZcofGOBP1 residues; A". Two-dimensional display of the interaction of phytol with ZcofGOBP1 residues; B. Molecular docking of ZcofGOBP2 with phytol; B'. Three-dimensional display of the interaction of phytol with ZcofGOBP2 residues; B". Two-dimensional display of the interaction of phytol with ZcofGOBP2 residues; C. Molecular docking of ZcofGOBP1 with damascenone; C'. Three-dimensional display of the interaction of damascenone with ZcofGOBP1 residues; C". Two-dimensional display of the interaction of damascenone with ZcofGOBP1 residues; D. Molecular docking of ZcofGOBP2 with damascenone; D'. Three-dimensional display of the interaction of damascenone with ZcofGOBP2 residues; D". Two-dimensional display of the interaction of damascenone with ZcofGOBP2 residues. The van der Waals and carbon hydrogen bond belong to electrostatic interaction; alkyl, pi-alkyl and pi-sigma are hydrophobic interaction.

4 个氨基酸残基 (Thr9、Ile52、Met73 和 Val114) 参与了范德华力作用 (图 4: D, D', D'')。

3 结论与讨论

在昆虫感知气味挥发物的嗅觉过程中, 到达嗅觉感受器的气味分子由 OBPs 等特异性结合和转运到嗅觉神经元树突, 探究昆虫 OBPs 与气味分子的结合特性可以为揭示昆虫对寄主植物的嗅觉识别提供数据 (Renou and Anton, 2020; Tang *et al.*, 2023)。随着生物信息学的发展, 蛋白三维结构模拟和分子对接越来越广泛的用于昆虫 OBPs 与配体的结合性能分析 (Zhuang *et al.*, 2014; Okoli *et al.*, 2021)。本研究从广食性钻蛀害虫咖啡豹蠹蛾中鉴定得到 2 个 GOBPs 基因 (ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2)。这 2 个基因编码的蛋白包含 6 个 α -螺旋和 6 个保守的半胱氨酸残基; 保守半胱氨酸残基形成的 3 个二硫键将 α -螺旋约束为特定的空间结构, 形成了一个开口位于蛋白表面的配体结合空腔。分子对接发现, ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 与杜仲挥发性物质植醇、11,14,17-三烯酸甲酯、大马烯酮、软脂酸乙酯和十八酸甲酯亲和性较高; 进一步分析发现 ZcofGOBP1 与这些挥发性物质的相互作用主要包括氢键、共价键、范德华力, ZcofGOBP2 与这些挥发性物质的相互作用主要包括共价键和范德华力; 与 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 结合能较低的杜仲挥发性物质可作为候选的咖啡豹蠹蛾嗅觉行为调节物质, 用于后续的咖啡豹蠹蛾嗅觉行为研究。

昆虫 OBPs 主体由 6-8 个 α 螺旋构成, 内部或者二聚体之间的空腔能够结合气味化合物分子 (Tsitsanou *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2016)。华北鳃金龟 *Holotrichia oblita* HoblOBP1 通过内部的空腔结合苯甲酸己酯, 氢键和范德华力在二者的结合中发挥了重要作用, 参与氢键形成的 Tyr111 和参与范德华力的 Met48 和 Ile80 是决定 HoblOBP1 配体结合特性的关键氨基酸残基 (Zhuang *et al.*, 2014)。对绿盲蝽 *Apolygus lucorum* AlucOBP22 配体结合特性的研究也发现, 氨基酸残基 Leu5、Ile40、Met41、Val44 和

Met45 在配体结合中与氢键的形成有关, 定点突变将 Leu5 或 Ile40 替换为丙氨酸会大幅降低 AlucOBP22 对寄主植物挥发物石竹烯的结合能力 (Liu *et al.*, 2019)。在苹果小吉丁 *Agrilus mali* AmalOBP8 对甲酸香叶酯的结合中, 位于空腔的氨基酸残基 Trp106、Tyr105、Tyr46 和 Gly34 参与了蛋白与配体间的相互作用, 分别贡献了 - 2.84、- 2.37、- 2.11 和 - 2.11 kJ/mol 结合能; 氨基酸残基 Trp106 未参与配体结合空腔的形成, 但该残基与配体之间形成的氢键在 AmalOBP8 对甲酸香叶酯的结合中发挥了重要作用 (Li *et al.*, 2021)。我们的研究发现, 咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 与多种杜仲挥发物亲和性较高, 众多氨基酸残基参与了它们与杜仲挥发物之间的相互作用; 以 ZcofGOBP1 对植醇的结合为例, 它们的相互作用包括氢键、共价键和范德华力, 共有 16 个氨基酸残基参与了这些的相互作用。综上, 临近和位于 OBPs 配体结合空腔表面的氨基酸残基在昆虫 OBPs 与气味化合物的结合中发挥了重要作用, 这些氨基酸残基与气味分子间的相互作用可能决定了 OBPs 结合配体的种类和结合特性。

OBPs 结合的气味挥发物种类与昆虫对寄主的嗅觉识别关系密切 (罗娟等, 2023)。在麦长管蚜 *Sitobion avenae* 上的研究发现, SaveOBP10 在该虫对寄主挥发物和趋避剂的嗅觉识别中发挥了重要作用, 降低 SaveOBP10 基因的表达水平可以改变麦长管蚜对寄主植物和趋避剂的行为反应 (Ullah *et al.*, 2022)。对东亚飞蝗 *Locusta migratoria* OBP1 的研究发现, RNA 干扰敲低 OBP1 基因表达显著降低该虫对顺-3-己烯基乙酸酯等 5 种玉米挥发物的嗅觉电位反应, 进一步的取食行为试验证实, 下调 OBP1 基因表达会显著降低 4 龄若虫对玉米叶片的取食量 (Li *et al.*, 2016)。鉴于 OBPs 在昆虫寄主识别中的作用, Leal 等 (2008) 提出通过检测 OBPs 与寄主挥发物的结合特性来筛选调节昆虫嗅觉行为的活性物质。Hu 等 (2019) 分析了白背飞虱 *Sogatella furcifera* 4 个 OBPs 与水稻挥发物的结合特性, 结合 RNA 干扰和嗅觉行为试验筛选得到多个对

白背飞虱有引诱或驱避作用的气味化合物。Zhou 等 (2022) 研究了红脉穗螟 *Tirathaba rufivena* TrufOBP4 对寄主植物 19 种挥发性化合物的结合特性, 筛选得到 4 种能够高效诱捕该虫的气味化合物, 为开展基于该虫嗅觉功能的害虫防治手段提供了材料。本研究发现咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 与不同杜仲挥发物的结合性能存在差异, 它们与植醇等 5 种挥发物的亲和性较高 (结合能低于 -7 kJ/mol), 与 2-呋喃甲醇等多种挥发物的亲和性较低 (结合能高于 -4 kJ/mol), 这些结果表明 ZcofGOBPs 可能参与了咖啡豹蠹蛾对杜仲的嗅觉识别, 植醇等与 ZcofOBPs 亲和性较高的挥发物可能作为候选的气味化合物用于咖啡豹蠹蛾对杜仲的嗅觉识别研究。

研究昆虫 OBPs 对气味挥发物的结合特性不仅有助于揭示昆虫的嗅觉功能, 还可能为培育新的抗虫作物品种提供数据。Ali 等 (2022) 在对马铃薯植株挥发物的研究中发现, 与栽培品种马铃薯相比, 野生型马铃薯释放的挥发物中对蚜虫有引诱作用的化合物含量较少, 但对害虫有趋避作用的化合物种类丰富, 且含量较高; 野生型马铃薯可以作为育种材料用于改良马铃薯栽培品种的挥发物成分和抗虫性能。Zhan 等 (2021) 通过远缘杂交获得了抗麦长管蚜的小麦新品种, 该品种在杂交过程中获得的 *OtLIS* 基因能够促进芳樟醇的合成, 该化合物作为蚜虫趋避剂降低了麦长管蚜对该小麦品种的为害。最近的一项研究还展示了转基因技术改变植物气味在害虫防治中的应用前景, 二化螟 *Chilo suppressalis* 信息素合成途径中的 3 个关键酶基因被转入非寄主植物烟草, 转基因烟草成功合成了二化螟信息素成分 (Z)-11-十六碳烯醇和 (Z)-11-十六烯醛, 这两种化合物与二化螟雄蛾对雌蛾的嗅觉识别有关, 它们的异源释放可能干扰二化螟雄蛾与雌蛾的交配行为 (Xia *et al.*, 2022)。

综上, 咖啡豹蠹蛾 ZcofGOBP1 和 ZcofGOBP2 具有开口位于蛋白表面的配体结合空腔; ZcofGOBP1 与植醇和 11,14,17-三烯酸甲酯等 5 种挥发物结合能较低, ZcofGOBP2 与软脂酸乙

酯和大马烯酮等 5 种挥发物结合能较低; 氨基酸残基与化合物间的相互作用在 ZcofGOBPs 对气味化合物的特异性结合中发挥了关键作用。但是 ZcofGOBPs 和杜仲气味化合物在咖啡豹蠹蛾对寄主嗅觉识别过程中的具体作用仍有待蛋白功能试验和昆虫行为试验验证。

参考文献 (References)

- Ali J, Sobhy IS, Bruce TJ, 2022. Wild potato ancestors as potential sources of resistance to the aphid *Myzus persicae*. *Pest Management Science*, 78(9): 3931–3938.
- Brito NF, Moreira MF, Melo ACA, 2016. A look inside odorant-binding proteins in insect chemoreception. *Journal of Insect Physiology*, 95: 51–65.
- Carrasco D, Larsson MC, Anderson P, 2015. Insect host plant selection in complex environments. *Current Opinion in Insect Science*, 8: 1–7.
- Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S, 2021. AutoDock Vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and python bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 61(8): 3891–3898.
- Feng RY, Guo LZ, Liang EY, Guan HY, 2000. Bionomics and control of *Zeuzera coffeae* Nietner. *Plant Protection*, 26(4): 12–14. [冯荣扬, 郭良珍, 梁恩义, 关海允, 2000. 咖啡豹蠹蛾生物学特性及其防治. 植物保护, 26(4): 12–14.]
- Gong J, Ni SF, Lu F, Luo RF, Liu C, Wang ZF, Li WH, 2010. Analysis of volatile oil from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaf by GC-MS. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 38(17): 8998–8999. [巩江, 倪士峰, 路锋, 骆蓉芳, 刘翠, 王仲孚, 李文华, 2010. 杜仲叶挥发物质气相色谱-质谱研究. 安徽农业科学, 38(17): 8998–8999.]
- Hu K, Liu S, Qiu L, Li YZ, 2019. Three odorant-binding proteins are involved in the behavioral response of *Sogatella furcifera* to rice plant volatiles. *PeerJ*, 7: e6576.
- Jia ZR, Zhu XY, Li B, Lu CS, Zhen HS, 2013. Chemical components of volatile oil in *Eucommia ulmoides* leaf from different habitats by GC-MS. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 19(19): 118–122. [贾智若, 朱小勇, 李兵, 卢澄生, 甄汉深, 2013. 不同产地杜仲叶挥发油成分的 GC-MS 分析. 中国实验方剂学杂志, 19(19): 118–122.]
- Leal WS, 2013. Odorant reception in insects: Roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. *Annual Review of Entomology*, 58: 373–391.

- Leal WS, Barbosa RM, Xu W, Ishida Y, Syed Z, Latte N, Chen AM, Morgan TI, Cornel AJ, Furtado A, 2008. Reverse and conventional chemical ecology approaches for the development of oviposition attractants for *Culex* mosquitoes. *PLoS ONE*, 3(8): e3045.
- Li CF, Yang F, Li L, Fang QH, 2022. Effect of epoxy content on properties of isoprene rubber/epoxidized *Eucommia ulmoides* gum blend. *Polymer Materials Science & Engineering*, 38(5): 50–57. [李超凡, 杨凤, 李龙, 方庆红, 2022. 环氧对异戊橡胶/环氧化杜仲胶并用胶性能的影响. *高分子材料科学与工程*, 38(5): 50–57.]
- Li DX, Li CB, Liu DG, 2021. Analyses of structural dynamics revealed flexible binding mechanism for the *Agrilus mali* odorant binding protein 8 towards plant volatiles. *Pest Management Science*, 77(4): 1642–1653.
- Li J, Zhang L, Wang XQ, 2016. An odorant-binding protein involved in perception of host plant odorants in locust *Locusta migratoria*. *Archives of Insect Biochemistry & Physiology*, 91(4): 221–229.
- Li Y, Zhao DG, 2010. Determination and comparison on chemical constituents of essential oil from *Eucommia ulmoides* Oliv. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 25(10): 1641–1644. [李岩, 赵德刚, 2010. 杜仲挥发性成分测定及差异性研究. *中华中医药杂志*, 25(10): 1641–1644.]
- Liggri PGV, Pérez-Garrido A, Tsitsanou KE, Dileep KV, Michaelakis A, Papachristos DP, Pérez-Sánchez H, Zographos SE, 2023. 2D finger-printing and molecular docking studies identified potent mosquito repellents targeting odorant binding protein 1. *Insect Biochemistry & Molecular Biology*, 157: 103961.
- Lin J, Jiang HM, Lu JQ, 2018. Analysis of volatile components of bark and leaves of *Eucommia ulmoides* by HS-SPME-GC-MS. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 46(10): 165–166, 199. [林杰, 江汉美, 卢金清, 2018. HS-SPME-GC-MS 法分析杜仲和杜仲叶中挥发性成分. *安徽农业科学*, 46(10): 165–166, 199.]
- Liu HW, Duan HX, Wang Q, Xiao Y, Wang Q, Xiao Q, Sun L, Zhang YJ, 2019. Key amino residues determining binding activities of the odorant binding protein AlucOBP22 to two host plant terpenoids of *Apolygus lucorum*. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 67(21): 5949–5956.
- Liu XQ, Jiang HB, Fan JY, Liu TY, Meng LW, Liu Y, Yu HZ, Dou W, Wang JJ, 2021. An odorant-binding protein of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, participates in the response of host plant volatiles. *Pest Management Science*, 77(7): 3068–3079.
- Luo J, Ma YF, He YY, Wu WZ, Dai ZM, Zhang YN, He P, 2023. Progress in molecular mechanism of olfaction at peripheral level in Lepidoptera insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 60(3): 641–659. [罗娟, 马云峰, 何银银, 吴旺芝, 代正梅, 张亚楠, 贺鹏, 2023. 鳞翅目昆虫外周神经嗅觉感受分子机制的研究进展. *应用昆虫学报*, 60(3): 641–659.]
- Masui N, Agathokleous E, Tani A, Matsuura H, Koike T, 2022. Plant-insect communication in urban forests: Similarities of plant volatile compositions among tree species (host vs. non-host trees) for alder leaf beetle *Agelastica coerulea*. *Environmental Research*, 204(Pt A): 111996.
- Neto MFA, Campos JM, Cerqueira APM, de Lima LR, Da Costa GV, Ramos RDS, Junior JTM, Santos CBR, Leite FHA, 2022. Hierarchical virtual screening and binding free energy prediction of potential modulators of *Aedes aegypti* odorant-binding protein 1. *Molecules*, 27(20): 6777.
- Okoli BJ, Ladan Z, Mtunzi F, Hosea YC, 2021. *Vitex negundo* L. essential oil: Odorant binding protein efficiency using molecular docking approach and studies of the mosquito repellent. *Insects*, 12(12): 1061.
- Renou M, Anton S, 2020. Insect olfactory communication in a complex and changing world. *Current Opinion in Insect Science*, 42: 1–7.
- Shen JM, Hu LM, Dai JQ, Chen BH, Zhong GH, Zhou XH, 2019. Mutations in pheromone-binding protein3 contribute to pheromone response variations in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Pest Management Science*, 75(7): 2034–2042.
- Tang HY, Xie JX, Liu JT, Khashaveh A, Liu XX, Yi CQ, Zhao DY, He L, Sun Y, Zhang YJ, 2023. Odorant-binding protein *HvarOBP5* in ladybird *Hippodamia variegata* regulates the perception of semiochemicals from preys and habitat plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(2): 1067–1076.
- Tsitsanou KE, Drakou CE, Thireou T, Gruber AV, Kythreoti G, Azem A, Fessas D, Eliopoulos E, Iatrou K, Zographos SE, 2013. Crystal and solution studies of the "Plus-C" odorant-binding protein 48 from *Anopheles gambiae*: Control of binding specificity through three-dimensional domain swapping. *Journal of Biological Chemistry*, 288(46): 33427–33438.
- Ullah RMK, Waris MI, Qureshi SR, Rasool F, Duan SG, Zaka SM, Atiq MN, Wang MQ, 2022. Silencing of an odorant binding protein (SaveOBP10) involved in the behavioural shift of the wheat aphid *Sitobion avenae* (Fabricius). *Insect Molecular Biology*, 31(5): 568–584.
- Venthur H, Machuca J, Godoy R, Palma-Millanao R, Zhou JJ, Larama G, Bardehle L, Quiroz A, Ceballos R, Mutis A, 2019.

- Structural investigation of selective binding dynamics for the pheromone-binding protein 1 of the grapevine moth, *Lobesia botrana*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 101(3): e21557.
- Wechsler SP, Bhandawat V, 2023. Behavioral algorithms and neural mechanisms underlying odor-modulated locomotion in insects. *Journal of Experimental Biology*, 226(1): jeb200261.
- Xia YH, Ding BJ, Dong SL, Wang HL, Hofvander P, Löfstedt C, 2022. Release of moth pheromone compounds from *Nicotiana benthamiana* upon transient expression of heterologous biosynthetic genes. *BMC Biology*, 20(1): 80.
- Zhan YD, Zhao L, Zhao XJ, Liu JH, Francis F, Liu Y, 2021. Terpene synthase gene *OtLIS* confers wheat resistance to *Sitobion avenae* by regulating linalool emission. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(46): 13734–13743.
- Zhang YN, Zhang XC, Zhu R, Yao WC, Xu JW, Wang M, Ren JY, Xu CZ, Huang ZR, Zhang XW, Yu W, Liao HX, Yuan XH, Wu XM, 2021. Computational and experimental approaches to decipher the binding mechanism of general odorant-binding protein 2 from *Athetis lepigone* to chlorpyrifos and phoxim. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(1): 88–100.
- Zhang Z, Long H, Zeng L, Li T, Li L, 2022. Establishment of fingerprint and chemical pattern recognition of *Eucommia ulmoides* male flowers from different cultivation areas. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 53(22): 7207–7213. [张智, 龙华, 曾罗, 李韬, 李鹏, 2022. 不同产地杜仲雄花指纹图谱的建立及其化学模式识别研究. *中草药*, 53(22): 7207–7213.]
- Zheng ZC, Li DZ, Zhou AM, Yi SC, Liu H, Wang MQ, 2016. Predicted structure of a Minus-C OBP from *Batocera horsfieldi* (Hope) suggests an intermediate structure in evolution of OBPs. *Scientific Reports*, 6: 33981.
- Zhou X, Wang Z, Cui GC, Du ZM, Qian YL, Yang SM, Liu MH, Guo JX, 2022. Binding properties of odorant-binding protein 4 of *Tirathaba rufivena* to *Areca catechu* volatiles. *Plants*, 11(2): 167.
- Zhou YL, Zhang ST, Liu XY, Qin HC, Wu RX, Li FS, 1996. Advances and prospects of the comprehensive exploitation of *Eucommia ulmoides*. *Journal of Northwest Forestry University*, 1996(2): 64–68, 79. [周云龙, 张声堂, 刘湘银, 覃汉初, 吴仁铤, 李发声, 1996. 杜仲梦尼夜蛾生物学特性及防治研究. *西北林学院学报*, 1996(2): 64–68, 79.]
- Zhuang X, Wang Q, Wang B, Zhong T, Cao Y, Li K, 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.