

番茄潜叶蛾感觉神经元膜蛋白 *SNMP* 基因的鉴定及特性分析

付淑慧, 王雪波, 于佳宁, 赵 哲, 赵婉清, 史晓晶, 张 鹤*

忻州师范学院生物系, 山西忻州 034000

摘 要: 为探究感觉神经元膜蛋白 (sensory neuron membrane protein, SNMP) 在番茄潜叶蛾 (*Tuta absoluta* Meyrick) 中的功能, 本研究利用 BLAST 和 HMMER 方法在番茄潜叶蛾基因组中鉴定 *SNMP* 基因, 通过 RT-PCR 扩增获得该基因的 cDNA 序列, 运用生物信息学方法进行基因结构、理化性质、空间结构和进化关系等分析, 并通过 qRT-PCR 技术检测 *SNMP* 基因在番茄潜叶蛾不同组织中的表达模式。结果显示: 在番茄潜叶蛾中共鉴定到 2 个 *SNMP* 基因 (*TabSNMP1* 和 *TabSNMP2*), 其基因序列长度分别为 47 817、41 859 bp, 开放阅读框长度分别为 1572、1560 bp, 分别编码 523、519 个氨基酸; 预测的蛋白质分子量分别为 58.64、57.94 kDa, 等电点分别为 7.54、6.72。空间结构分析表明, 这 2 个蛋白质均含有 2 个跨膜结构域和 1 个大的胞外环状结构。系统发育树显示, *TabSNMP1* 与亚洲玉米螟 (*Ostrinia furnacalis*) *OfurSNMP1* 和二化螟 (*Chilo suppressalis*) *CsupSNMP1* 亲缘关系较近, 而 *TabSNMP2* 与棉红铃虫 (*Pectinophora gossypiella*) *PgosSNMP2* 亲缘关系最近。组织表达谱结果表明, *TabSNMP1* 和 *TabSNMP2* 在雌雄虫触角中高表达, 且雄虫触角中的表达量显著高于雌虫触角, 表明二者可能与雄虫识别性信息素有关。本研究结果为番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因功能的深入研究提供重要的理论依据。

关键词: 番茄潜叶蛾; 感觉神经元膜蛋白; 基因克隆; 生物信息学分析; 组织表达谱

中图分类号: Q966; S433 文献标志码: A

Identification and Characteristic Analysis of the *SNMP* Genes in *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)

FU Shuhui, WANG Xuebo, YU Jianing, ZHAO Zhe, ZHAO Wanqing, SHI Xiaojing, ZHANG He*

Department of Biology, Xinzhou Normal University, Xinzhou, Shanxi 034000, China

Abstract: To investigate the function of the sensory neuron membrane protein (SNMP) in the tomato leafminer *Tuta absoluta*, the *SNMP* genes were identified at the whole genome level using BLAST and HMMER homology search approaches. Full-length cDNA sequences of *TabSNMPs* were obtained by RT-PCR, followed by comprehensive bioinformatics analyses to characterize the gene structures, physicochemical properties, spatial structures, and phylogenetic relationships. Furthermore, the expression patterns of *TabSNMPs* in different tissues were detected by qRT-PCR. The results showed that there were two *SNMP* genes in *T. absoluta*, namely *TabSNMP1* and *TabSNMP2*. The gene sequence lengths were 47 817 bp and 41 859 bp, respectively, with open reading frames (ORFs) of 1572 bp and 1560 bp, encoding 523 and 519 amino acids, respectively. The predicted protein molecular weights were 58.64 kDa and 57.94 kDa, and the isoelectric point were 7.54 and 6.72, respectively. The structural modeling indicated that both proteins contained two transmembrane regions and a large extracellular loop. The phylogenetic tree suggested that *TabSNMP1* clustered with *Ostrinia furnacalis* *OfurSNMP1* and *Chilo suppressalis* *CsupSNMP1*, while *TabSNMP2* formed a clade with *Pectinophora gossypiella* *PgosSNMP2*. Tissue expression profiles showed that *TabSNMP1* and *TabSNMP2* were highly expressed in the antennae of both sexes, with significantly higher expression in male antennae, suggesting the involvement in male-specific sex pheromone recognition. Our findings would provide a theoretical basis for further

收稿日期 2025-03-14; 接受日期 2025-04-18

基金项目 山西省基础研究计划资助项目 (No. 202303021212301, No. 202103021223365); 山西省高等学校科技创新项目 (No. 2022L468)。

作者简介 付淑慧 (1991—), 女, 博士, 研究方向: 昆虫化学生态学。*通信作者 (Corresponding author): 张 鹤 (ZHANG He), E-mail: zhhe1205@163.com。

study of the *SNMP* genes function in *T. absoluta*.

Keywords: *Tuta absoluta* Meyrick; sensory neuron membrane protein; gene cloning; bioinformatics analysis; tissue expression profiles

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.08.003

番茄潜叶蛾 (*Tuta absoluta* Meyrick), 属鳞翅目 (Lepidoptera) 麦蛾科 (Gelechiidae), 是一种极具破坏力的世界性入侵害虫。该昆虫原产于南美洲, 现已扩散至欧洲、亚洲、非洲和美洲等的 100 多个国家和地区^[1-2], 对全球番茄产业造成巨大的经济损失, 严重时可导致番茄减产 80%~100%^[3-4]。我国于 2017 年 8 月在新疆伊犁首次发现番茄潜叶蛾, 随后在云南、贵州、四川、广西、重庆、湖北、湖南、山西等多地相继监测到该害虫的发生和危害^[5-6]。当前, 番茄潜叶蛾呈现持续扩散和局部暴发的态势, 对我国番茄产业的安全和发展构成了严重威胁^[2, 7]。因此, 探索高效安全的番茄潜叶蛾防治方法和策略尤为紧迫。

昆虫主要依赖灵敏的嗅觉系统寻找寄主植物、产卵地点、配偶以及躲避天敌^[8]。番茄潜叶蛾通过嗅觉辨别寄主植物挥发物和非寄主植物挥发物从而定位寄主植物和产卵地点^[9-11]; 雄蛾依赖嗅觉识别性信息素主要成分(3E, 8Z, 11Z)-十四碳三烯乙酸酯和次要成分(3E, 8Z)-十四碳烯醇乙酸酯进行求偶和交配^[12-14]。因此, 识别这些特异性的信息化学物质对番茄潜叶蛾的生存、繁殖和扩散起着至关重要的作用。参与昆虫嗅觉识别的蛋白质主要包括气味结合蛋白 (odorant binding protein, OBP)、化学感受蛋白 (chemosensory protein, CSP)、气味受体 (odorant receptor, OR)、离子型受体 (ionotropic receptor, IR) 以及感觉神经元膜蛋白 (sensory neuron membrane protein, SNMP) 等^[15-17]。研究昆虫嗅觉相关蛋白的功能及识别机制, 有助于开发针对性的引诱剂或趋避剂, 为入侵害虫的监测和防治提供新策略。

SNMP 位于昆虫嗅觉感觉神经元 (olfactory sensory neurons, OSNs) 膜上, 是一种双跨膜蛋白质, 在多肽链的 N 端和 C 端分别具有 1 个跨膜区域, 在分子进化上与脊椎动物 CD36 基因家族同源^[18-20]。已有研究表明, SNMP 在昆虫识别气味物质的过程中发挥着重要的作用。DmelSNMP1 是黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster* Meigen) 感受性信息素顺-11-醋酸乙烯酯必不可少的蛋白质, 如果 SNMP1 缺失将会导致信号激活和终止的延

迟^[21-23]。另外, 在家蚕 (*Bombyx mori* Linnaeus)^[24]、棉铃虫 (*Helicoverpa armigera* Hübner)^[25] 和红棕象甲 (*Rhynchophorus ferrugineus* Olivier)^[26] 等昆虫中也发现了类似的实验结果, 证明了 SNMP 在昆虫嗅觉识别中的关键作用。然而, 目前尚未见国内外关于番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因的研究报道。

本研究基于番茄潜叶蛾基因组数据, 通过 BLAST 同源比对和隐马尔可夫模型 HMMER 分析对番茄潜叶蛾中的 *SNMP* 基因家族进行鉴定, 利用 RT-PCR 技术扩增其 cDNA 序列进行验证, 并使用生物信息学方法分析其基因结构、理化性质、空间结构以及系统进化关系, 最后采用 qRT-PCR 检测 *SNMP* 基因在不同组织中的表达模式, 为进一步研究番茄潜叶蛾 *SNMP* 的功能提供理论参考, 也为基于嗅觉干扰的新型害虫防治技术的研发提供潜在分子靶标。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试昆虫 本试验所用虫源于 2022 年 5 月采自山西省忻州市忻府区番茄大棚, 随后在忻州师范学院生物系养虫室内使用 50 cm × 50 cm × 50 cm 的养虫笼进行继代饲养。笼内放置新鲜番茄苗, 供幼虫取食和成虫产卵, 并根据叶片受损程度及时更换寄主植物。饲养条件为: 温度 (25±1)℃, 相对湿度 60%~75%、光周期 14 L : 10 D。选取羽化 3 d 的番茄潜叶蛾雌雄成虫, 将其置于解剖镜下, 分别剪取触角 (200 只)、头 (无触角, 50 只)、胸 (30 只)、腹 (20 只)、足 (50 只) 和翅 (100 只), 然后立即浸入液氮中速冻, 以便用于后续试验。每个组织样品均重复采样 3 次。

1.1.2 主要试剂 RNAiso Easy 总 RNA 提取试剂盒、Ex Taq DNA 聚合酶、DNA Ligation Kit Ver.2.1 DNA 连接试剂盒、克隆载体 T-Vector pMD™19 (Simple) 和 *E. coli* DH5α Competent Cells 大肠杆菌感受态细胞、荧光定量 PCR 试剂盒 TB Green Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) 和反转录试剂盒 PrimeScript reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) 购自 TaKaRa 公司; M-MuLV

第一链 cDNA 合成试剂盒、DL2000、SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒和琼脂糖购自生工生物工程（上海）股份有限公司；其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因的鉴定与克隆验证 从 NCBI 数据库（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_027580185.1/）下载番茄潜叶蛾的基因组数据、氨基酸序列和注释信息（登录号：ASM2758018v1）。选取已报道的黑腹果蝇、棉铃虫、家蚕、小菜蛾（*Plutella xylostella* Linnaeus）、甜菜夜蛾（*Spodoptera exigua* Hübner）、二化螟（*Chilo suppressalis* Walker）和双委夜蛾（*Athetis dissimilis* Hampson）的 *SNMP* 氨基酸序列作为参考序列，使用 BLAST 方法在番茄潜叶蛾氨基酸数据库中进行同源比对，设定阈值为 $E \leq 10^{-5}$ ，筛选出候选基因。同时，从 Pfam（<http://pfam.xfam.org/>）数据库下载 *SNMP* 的隐马尔可夫模型（PF01130），使用 HMMER 软件搜索番茄潜叶蛾蛋白质数据库中的 *SNMP* 序列（ $P < 0.001$ ）。将上述 2 种方法得到的 *SNMP* 序列合并，去除重复和冗余序列后，提交至 CDD 和 SMART 数据库，根据蛋白质结构域信息初步判定为 *SNMP* 基因，最后通过 RT-PCR 方法验证。

选取羽化 3 d 的番茄潜叶蛾雌、雄成虫各 10 头，在液氮中充分研磨，按照 RNAiso Easy 试剂盒说明书提取总 RNA，然后通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白测定仪分别检测总 RNA 的完整性和浓度，确保 RNA 质量合格。使用 M-MuLV 试剂盒将检验合格的 RNA 反转录为 cDNA。利用 Primer Premier 5.0 软件设计番茄潜叶蛾 *TabsSNMPs* 基因的特异性引物（表 1），进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为：cDNA 模板 2 μ L，上下游引物各 2 μ L（10 μ mol/L），Ex Taq DNA 聚合酶混合液 25 μ L，ddH₂O 补至 50 μ L。PCR 反应条件为：94 $^{\circ}$ C 5 min；94 $^{\circ}$ C 30 s，58 $^{\circ}$ C（*TabsSNMP1*）或 53 $^{\circ}$ C（*TabsSNMP2*）1 min，72 $^{\circ}$ C 90 s，35 个循环；72 $^{\circ}$ C 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测，胶回收的片段与 T-Vector pMDTM19（Simple）载体连接，然后转化至 DH5 α 感受态中，挑取阳性克隆培养过夜，送至生工生物工程（上海）股份有限公司进行测序。

1.2.2 生物信息学分析 通过番茄潜叶蛾基因组注释文件获得 *SNMP* 的基因结构信息，利用 Gene Structure Display Server 2.0（<https://gsds.gao-lab.org/>）在线软件绘制 *SNMP* 的基因结构图；利用

表 1 番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因的 PCR 引物
Tab. 1 Primers for *SNMP* genes of *Tuta absoluta*

引物名称 Primer name	引物序列（5'-3'） Primer sequences (5'-3')	退火温度 Temperature/ $^{\circ}$ C	用途 Purposes
TabsSNMP1-F	ATGCTGCTACCGAA GCATCTG	58	PCR
TabsSNMP1-R	TTACATGGTGACCTT GGTAGGC		
TabsSNMP2-F	ATGATAGGGAAGCA AAGTCG	53	
TabsSNMP2-R	TCAGTGAACCTTTATT AGCACTGTTA		
TabsSNMP1-qF	GAAGCTCCACCAAG TCTGCT	60	qRT-PCR
TabsSNMP1-qR	GACGTTCTTGACCC CTCGTT		
TabsSNMP2-qF	GGTTGTACTGAAGG GCGTGA	60	
TabsSNMP2-qR	AGGGAATGTGAATG GGCCAG		
RPS13-qF	AGTTGCCCAAGTCA GATT	60	
RPS13-qR	TTCCAAGTGCTTCCT CAT		

SignalP 5.0（<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-5.0/>）在线软件分析信号肽；利用 ExPASy ProtParam（<https://web.expasy.org/protparam/>）在线软件预测蛋白质的相对分子量、理论等电点、不稳定指数和总平均疏水性；使用 blast-CD-Search（<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>）在线软件搜索蛋白质的保守结构域；通过 MEME（<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>）在线软件寻找蛋白质的保守基序；采用 WOLFPSORT（<https://wolfpsort.hgc.jp/>）在线软件对蛋白质的亚细胞定位进行分析；采用 TMHMM 2.0（<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>）在线软件预测蛋白质的跨膜区域；利用 NetOGlyc 1.0（<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetNGlyc-1.0>）在线软件进行蛋白质的 N-连接的糖基化位点预测；使用 YinOYang 1.2 Server（<https://services.healthtech.dtu.dk/services/YinOYang-1.2/>）在线软件进行蛋白质的 O-连接的糖基化位点预测；采用 NetPhos 3.1（<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetPhos-3.1>）在线软件预测蛋白质的磷酸化位点；采用 SOPMA（https://npsa.lion.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=NPSA/npsa_sopma.html）在线软件预测蛋白质的二级结构；通过 trRosetta（<https://yanglab.qd.sdu.edu.cn/trRosetta/>）

setta/) 在线软件模拟蛋白质的三级结构；采用 MEGA 7.0 软件的最大似然法对蛋白质的氨基酸序列进行 1000 次重复分析，构建系统进化树。

1.2.3 表达谱分析 使用 RNAiso Easy 试剂盒分别提取番茄潜叶蛾雌雄成虫不同组织（触角、无触角的头、胸、腹、足和翅）的总 RNA，通过 PrimeScript reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)试剂反转录合成 cDNA。荧光定量 PCR 反应体系为 20 μ L，其中 cDNA 2 μ L，TB Green qPCR 预混液 10 μ L，上游引物 0.4 μ L，下游引物 0.4 μ L，ddH₂O 7.2 μ L。反应条件为：95 $^{\circ}$ C 预变性 1 min；95 $^{\circ}$ C 变性 10 s，60 $^{\circ}$ C 退火 30 s，共 40 个循环。每个样品进行 3 次生物学重复，每次生物学重复进行 3 次技术重复。番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因在不同组织中的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算，使用 SPSS17.0 软件中单因素方差分析（one-way analysis of variance, ANOVA）中的 Tukey’s honest significant difference(HSD)进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因家族成员鉴定及基因结构分析

经 BLAST 比对和 HMMER 搜索，在番茄潜叶蛾基因组中共鉴定到 2 个 *SNMP* 基因，并通过 RT-PCR 方法，成功获得了这 2 个基因的 cDNA

序列，分别命名为 *TabsSNMP1* 和 *TabsSNMP2*。将 *TabsSNMPs* 的 cDNA 序列与其基因序列比对，利用 GSDS 网站绘制番茄潜叶蛾 *SNMPs* 的结构图谱（图 1）。结果显示，*TabsSNMP1* 基因全长 47 817 bp，含有 10 个内含子，内含子碱基数显著多于外显子碱基数；*TabsSNMP2* 基因全长 41 859 bp，含有 9 个内含子，其内含子碱基数同样多于外显子碱基数。



图 1 番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因的结构
Fig. 1 Structures of *SNMP* genes of *Tuta absoluta*

2.2 番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因的理化性质

番茄潜叶蛾 *TabsSNMP1* 基因的 CDS 区长度为 1572 bp，编码 523 个氨基酸，蛋白质分子量为 58.64 kDa，等电点为 7.54；*TabsSNMP2* CDS 区长度为 1560 bp，编码 519 个氨基酸，蛋白质分子量为 57.94 kDa，等电点为 6.72。*TabsSNMP1* 不稳定系数为 27.56，小于 40，为稳定蛋白质；*TabsSNMP2* 不稳定系数为 42.77，大于 40，为不稳定蛋白质。*TabsSNMP1* 和 *TabsSNMP2* 总平均疏水性均为负值，为亲水性蛋白质，氨基酸序列中存在 8 个半胱氨酸残基（Cys），氨基端均无信号肽（表 2）。

表 2 番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因的理化性质
Tab. 2 Physical and chemical properties of *SNMP* genes of *Tuta absoluta*

基因名称 Gene name	开放阅读框 ORF/bp	氨基酸数量 Number of amino acids	分子量 Molecular weight/kDa	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	总平均疏水性 Grand average of hydropathicity
<i>TabsSNMP1</i>	1572	523	58.64	7.54	27.56	-0.111
<i>TabsSNMP2</i>	1560	519	57.94	6.72	42.77	-0.036

2.3 番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因的保守结构域和保守基序

使用 blast-CD-Search 对番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因的保守结构域进行分析，结果显示，2 个 *TabsSNMP* 均具有 CD36 superfamily 结构域，该结构域在各种信号转导途径中发挥作用。进一步通过 MEME 软件分析其保守基序，发现这 2 个 *TabsSNMP* 均具有 8 个保守的基序（图 2）。这些基序的排列顺序呈现出规律性，均为 Motif 1-7-8-2-5-3-4-6，其中 motif 1 和 motif 7 所包含的氨基酸数量最多。

2.4 番茄潜叶蛾 *SNMP* 的亚细胞定位预测

亚细胞定位结果显示 *TabsSNMP1* 分布范围较广，主要集中分布于细胞质膜，在微粒体、线粒体、过氧化物酶体、内质网、溶酶体和胞外也有少量分布；*TabsSNMP2* 主要分布于细胞质膜，内质网和溶酶体中少量分布。

2.5 番茄潜叶蛾 *SNMP* 修饰位点预测

TabsSNMP1 有 35 个潜在的磷酸化位点（表 3），其中丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸磷酸化位点分别为 16 个、13 个和 6 个；*TabsSNMP2* 有 43 个潜在的磷酸化位点，其中丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸磷酸

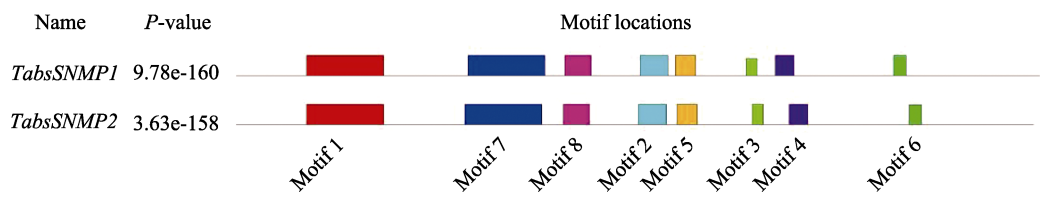


图 2 番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因的保守基序

Fig. 2 Conserved motifs of *SNMP* genes of *Tuta absoluta*

表 3 番茄潜叶蛾 *SNMP* 修饰位点数目

Tab. 3 Numbers of modification sites of *SNMP* from *Tuta absoluta*

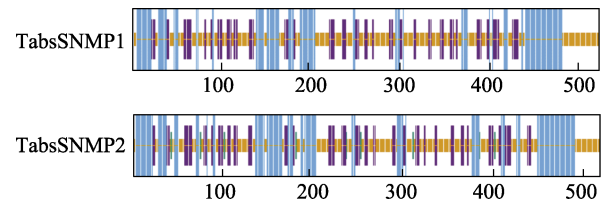
名称 Name	磷酸化位点 Phosphorylation sites				糖基化位点 Glycosylation sites			
					N-连接的糖基化位点 N-linked glycosylation sites		O-连接的糖基化位点 O-linked glycosylation sites	
	丝氨酸 Serine	苏氨酸 Threonine	酪氨酸 Tyrosine		天冬酰胺 Asparagine		丝氨酸 Serine	苏氨酸 Threonine
TabSNMP1	16	13	6		3		1	2
TabSNMP2	27	11	5		5		3	1

化位点分别为 27 个、11 个和 5 个。

TabSNMPs 均存在 N-连接和 O-连接的糖基化位点（表 3）。TabSNMP1 有 3 个 N-连接的糖基化位点（Asn67、Asn229 和 Asn440）和 3 个 O-连接的糖基化位点（Thr238、Ser487 和 Thr522）；TabSNMP2 有 5 个 N-连接的糖基化位点（Asn67、Asn104、Asn166、Asn228 和 Asn271）和 4 个 O-连接的糖基化位点（Ser20、Ser323、Thr405 和 Ser514）。

2.6 番茄潜叶蛾 *SNMP* 的二级结构预测

二级结构预测结果显示（图 3），TabSNMP1 的 149 个氨基酸构成 α -螺旋，占比 28.49%，111 个氨基酸构成 β -折叠，占比 21.22%，263 个氨基酸构成无规则卷曲，占比 50.29%；TabSNMP2 的 162 个氨基酸构成 α -螺旋，占比 31.21%，112 个氨基酸构成 β -折叠，占比 21.58%，229 个氨基酸构成无规则卷曲，占比 44.12%。由此可见，番茄潜叶蛾 *SNMP* 的二级结构主要由无规则卷曲构成， α -螺旋和 β -折叠贯穿其中。



蓝色为 α -螺旋，紫色为 β -折叠，橙色为无规则卷曲。
Blue is α -helix, purple is β -sheet and orange is random coil.

图 3 番茄潜叶蛾 *SNMP* 的二级结构

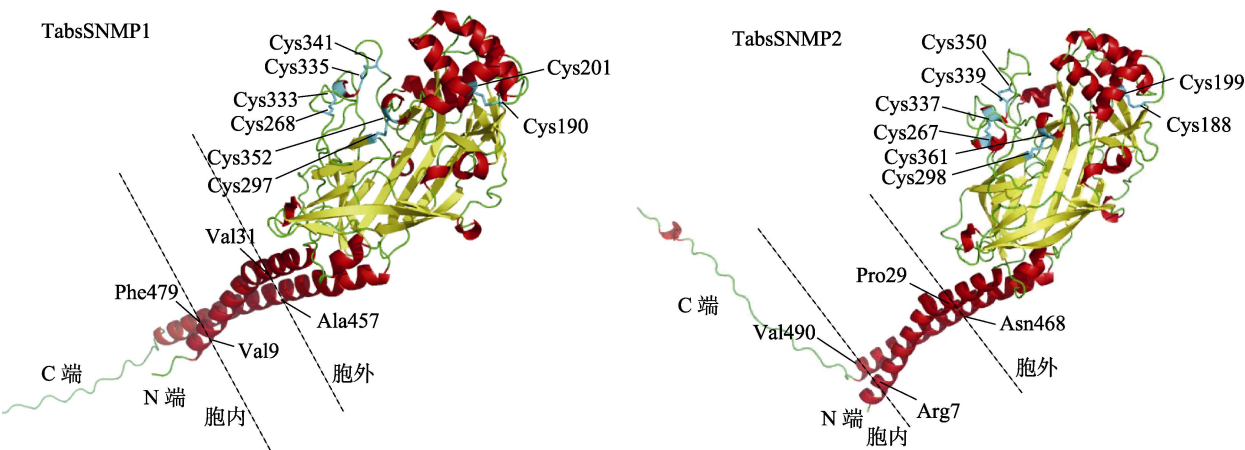
Fig. 3 Secondary structures of *SNMP* from *Tuta absoluta*

2.7 番茄潜叶蛾 *SNMP* 的三级结构预测分析

三级结构预测显示，番茄潜叶蛾 TabSNMP1 和 TabSNMP2 在 N 端和 C 端均含有 1 个由 α -螺旋构成的跨膜区域（N 端和 C 端均分布于细胞膜内侧）以及 1 个大的胞外环结构，表明这 2 个 *SNMPs* 都属于跨膜蛋白质（图 4）。TabSNMP1 第 9-31 位氨基酸为 N 端跨膜区域，第 32~456 位氨基酸构成胞外环结构，第 457~479 位氨基酸为 C 端跨膜区域；TabSNMP2 第 7~29 位氨基酸为 N 端跨膜区域，第 30~467 位氨基酸为胞外环结构，第 468~490 位氨基酸为 C 端跨膜区域。2 个 *SNMP* 蛋白的胞外环结构主要是由 β -折叠形成的桶状核心区 and 少量位于核心区外围的 α -螺旋构成。此外，每个 TabSNMP 的胞外环结构中存在 8 个保守的半胱氨酸残基，这些半胱氨酸残基两两之间形成 4 对二硫键，维持蛋白质的结构及其稳定性。

2.8 番茄潜叶蛾 *SNMP* 系统进化分析

使用 MEGA 7.0 软件对番茄潜叶蛾 TabSNMPs 的氨基酸序列与已报道的其他鳞翅目昆虫 *SNMPs* 氨基酸序列构建系统发育树，结果显示，所有选取的鳞翅目昆虫 *SNMPs* 均被分成 2 个不同的大分支，番茄潜叶蛾 TabSNMP1 和 TabSNMP2 分别位于这 2 个大分支上（图 5）。其中，TabSNMP1 与亚洲玉米螟（*Ostrinia furnacalis* Guenée）OfurSNMP1 和二化螟 CsupSNMP1 在进化树上聚为一个分支，TabSNMP2 与棉红铃虫（*Pectinophora gossypiella* Saunders）PgosSNMP2 聚为同一分支，说明彼此亲缘关系最近。



红色为 α -螺旋，黄色为 β -折叠，绿色为无规则卷曲。
Red represents α -helix, yellow is β -sheet, and green is random coil.

图 4 番茄潜叶蛾 *SNMP* 的三级结构

Fig. 4 Tertiary structures of SNMP from *Tuta absoluta*

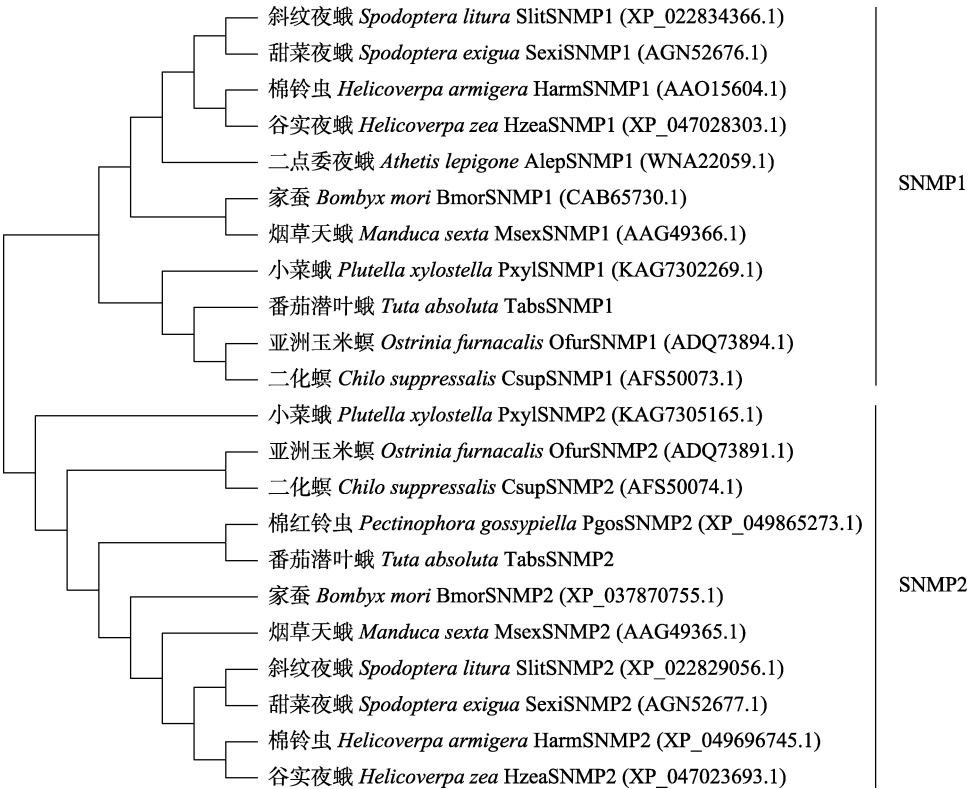


图 5 番茄潜叶蛾 *TabSNMPs* 与其他鳞翅目昆虫 *SNMPs* 氨基酸序列的系统进化树

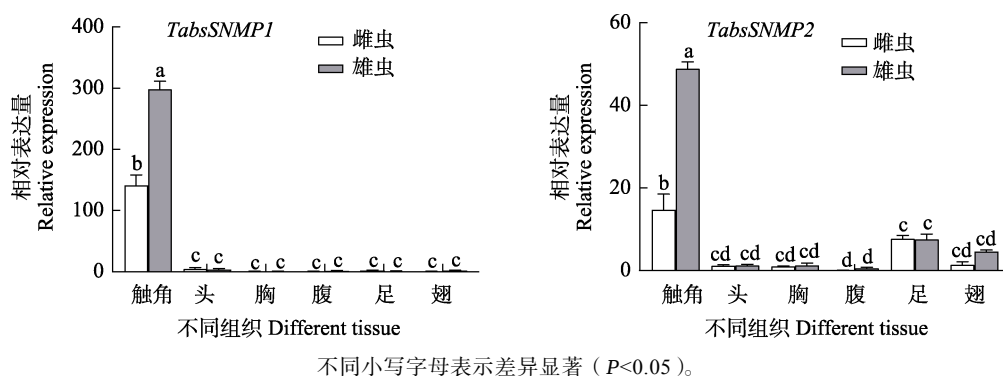
Fig. 5 Phylogenetic tree of amino acid sequences of *SNMPs* from *Tuta absoluta* and other Lepidoptera insects

2.9 番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因组织表达谱特征

荧光定量结果显示，番茄潜叶蛾 *TabSNMP1* 和 *TabSNMP2* 在雌雄成虫的触角中表达量最高，雄虫触角中的表达量显著高于雌虫触角（图 6）。除触角外，*TabSNMP1* 在其他组织中几乎不表达。*TabSNMP2* 除在触角中表达量高外，在足和翅中也有少量表达。

3 讨论

本研究从番茄潜叶蛾基因组中鉴定到 2 个 *SNMP* 基因，通过 RT-PCR 技术获得其完整开放阅读框，并利用生物信息学软件对其基因结构、理化性质及空间结构等进行分析。结果显示，番茄潜叶蛾 *TabSNMPs* 在氨基酸水平上与其它昆虫 *SNMPs* 具有较高的同源性，序列中均存在 8



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 6 番茄潜叶蛾 *SNMP* 基因在不同组织中的表达水平

Fig. 6 Expression levels of *SNMP* genes in different tissues of *Tuta absoluta*

个保守的半胱氨酸残基,其 N 端和 C 端各含有 1 个跨膜结构域,二者由 1 个大的胞外环结构连接,均符合昆虫 CD36 基因家族的典型特征^[27-28]。

蛋白质从合成到功能实现需经历复杂的生化过程,起始于 mRNA 翻译成多肽链,然后折叠形成特定的空间结构,最终转运至功能执行部位,在此过程中,糖基化和磷酸化等翻译后修饰对蛋白质功能至关重要^[29-30]。本研究发现,番茄潜叶蛾 *TabSNMPs* 均具有糖基化修饰位点和磷酸化位点。其中,糖基化可能通过修饰特定氨基酸协助 *SNMP* 识别亲脂性气味分子,而磷酸化位点可能作为“分子开关”,通过可逆修饰调控蛋白质的活性,从而完成嗅觉信号转导^[31-32]。此外, *TabSNMPs* 的糖基化位点和磷酸化位点集中分布在胞外环结构区域,这为 *SNMP* 嗅觉感受功能的实现提供了结构基础。

蛋白质的三维空间结构和位置对其功能起决定性的作用。番茄潜叶蛾 *TabSNMPs* 二级结构主要由无规则卷曲构成,其次为 α -螺旋和 β -折叠;三级结构更为直观地显示这 2 个蛋白质由无规则卷曲、 α -螺旋和 β -折叠形成跨膜蛋白质,这与已报道的双委夜蛾和杜仲梦尼夜蛾 (*Orthosia songi* Chen et Zhang) 等昆虫 *SNMPs* 结构类似^[28, 33],均符合 CD36 基因家族的空间结构特征。 *TabSNMPs* 的 N 端和 C 端跨膜区域是由 α -螺旋组成,胞外环结构主要由大量反向平行的 β -折叠和少量 α -螺旋组成,该区域是 *SNMP* 的功能核心区,能够捕获细胞外的气味分子,进而传递给气味受体。亚细胞定位结果显示, *TabSNMP1* 和 *TabSNMP2* 主要分布于细胞质膜上,揭示其可能作为跨膜受体直接参与外界信息物质的识别与信

号转导。

已有研究表明昆虫 *SNMP* 基因家族仅有 *SNMP1* 和 *SNMP2* 两个成员。但近期研究发现,鳞翅目中存在第 3 个成员 *SNMP3*^[24];而在鞘翅目中,基于进化树、序列特征和基因结构, *SNMPs* 甚至可以划分为 4 个亚家族^[34]。这表明不同昆虫中 *SNMPs* 的数量和功能可能不同。本研究仅在番茄潜叶蛾中鉴定到 2 个 *SNMP* 基因,即进化树显示的 *SNMP1* 和 *SNMP2* 两个分支,推测 *SNMP3* 可能在该物种中缺失或者低表达。鳞翅目昆虫的 3 个 *SNMP* 成员具有功能分化: *SNMP1* 主要分布在雌雄虫触角,具有识别信息素的功能^[21, 35]; *SNMP2* 广泛分布于各组织,通过清除信息物质维持嗅觉敏感性^[36-37]; *SNMP3* 则可能参与昆虫对病原菌的免疫反应^[24]。本研究发现, *TabSNMP1* 和 *TabSNMP2* 在番茄潜叶蛾嗅觉器官触角中大量表达。根据基因功能与表达部位密切相关的原则,这 2 个基因可能在成虫嗅觉感受中发挥作用。值得注意的是, *TabSNMP1* 和 *TabSNMP2* 在雄虫触角中的表达量显著高于雌虫,这与小地老虎 *Agrotis ipsilon* Rottemberg^[38]、稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* Guenee^[39] 和双委夜蛾^[33] *SNMP1-2* 的表达模式相似。鉴于小地老虎 *AipsSNMP1-2* 定位在对性信息素敏感的毛形感器中^[38],故而推测番茄潜叶蛾 *TabSNMPs* 可能特异性参与性信息素的感知。

综上,本研究鉴定到番茄潜叶蛾 2 个 *SNMP* 基因,并系统分析了其基因特征、结构特征、进化关系及组织表达特征,揭示了二者在嗅觉信号转导中的潜在作用,为后续功能研究和害虫防控策略的开发提供理论依据。

参考文献

- [1] 冼晓青, 张桂芬, 刘万学, 万方浩. 世界性害虫番茄潜叶蛾入侵我国的风险分析[J]. 植物保护学报, 2019, 46(1): 49-55.
XIAN X Q, ZHANG G F, LIU W X, WAN F H. Risk assessment of the invasion of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) into China[J]. Journal of Plant Protection, 2019, 46(1): 49-55. (in Chinese)
- [2] 陆永跃. 警惕番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* (Meyrick)在我国持续扩散入侵[J]. 环境昆虫学报, 2021, 43(2): 526-528.
LU Y Y. Warning of the continued spread and invasion of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick), in China[J]. Journal of Environmental Entomology, 2021, 43(2): 526-528. (in Chinese)
- [3] 张桂芬, 刘万学, 万方浩, 冼晓青, 张毅波, 郭建洋. 世界毁灭性检疫害虫番茄潜叶蛾的生物生态学及危害与控制[J]. 生物安全学报, 2018, 27(3): 155-163.
ZHANG G F, LIU W X, WAN F H, XIAN X Q, ZHANG Y B, GUO J Y. Bioecology, damage and management of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), a worldwide quarantine pest[J]. Journal of Biosafety, 2018, 27(3): 155-163. (in Chinese)
- [4] DESNEUX N, WAJNBERG E, WYCKHUYS K A G, BURGIO G, ARPAIA S, NARVÁEZ-VASQUEZ C A, GONZÁLEZ-CABRERA J, RUESCAS D C, TABONE E, FRANDON J, PIZZOL J, PONCET C, CABELLO T, URBANEJA A. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control[J]. Journal of Pest Science, 2010, 83: 197-215.
- [5] 庾琴, 郭晓君, 封云涛, 杜恩强, 刘新, 张润祥, 郝赤. 6种杀虫剂对南美番茄潜叶蛾的毒力及田间防效[J]. 生物安全学报, 2022, 31(4): 345-350.
YU Q, GUO X J, FENG Y T, DU E Q, LIU X, ZHANG R X, HAO C. Toxicity of six insecticides on *Tuta absoluta* (Meyrick) and control efficacy in field trials[J]. Journal of Biosafety, 2022, 31(4): 345-350. (in Chinese)
- [6] 周忠林, 廖钢, 朱宇, 向婷婷, 王双艳, 李冬桂, 陈亚平, 桂富荣, 孙仲享. 番茄潜叶蛾在我国西南地区的发生危害及向中部与华南地区扩散前沿的摸查[J]. 环境昆虫学报, 2025, 47(1): 33-39.
ZHOU Z L, LIAO G, ZHU Y, XIANG T T, WANG S Y, LI D G, CHEN Y P, GUI F R, SUN Z X. The occurrence of *Tuta absoluta* in southwest China and its spreading front to central and South China[J]. Journal of Environmental Entomology, 2025, 47(1): 33-39. (in Chinese)
- [7] 胡珊珊, 谢丹, ISMOILOV K, 王明慧, 韩鹏. 上行效应与下行效应在番茄潜叶蛾防控中的应用[J]. 植物保护学报, 2024, 51(1): 1-11.
HU S S, XIE D, ISMOILOV K, WANG M H, HAN P. Integrated management of tomato leaf miner *Tuta absoluta* via bottom-up and top-down effects[J]. Journal of Plant Protection, 2024, 51(1): 1-11. (in Chinese)
- [8] 罗娟, 马云峰, 何银银, 吴旺芝, 代正梅, 张亚楠, 贺鹏. 鳞翅目昆虫外周神经嗅觉感受分子机制的研究进展[J]. 应用昆虫学报, 2023, 60(3): 641-659.
LUO J, MA Y F, HE Y Y, WU W Z, DAI Z M, ZHANG Y N, HE P. Progress in molecular mechanism of olfaction at peripheral level in Lepidoptera insects[J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2023, 60(3): 641-659. (in Chinese)
- [9] SUBRAMANI V, DAMODARAM P K J, KRISHNEGOWDA G R, PAREPALLY S K, KEMPRAJ V, THIMMAPPA R, SEETHARAMAIAH S K, VADDI S, BOREGOWDA L H. Volatile chemical signals underlying the host plant preferences of *Tuta absoluta*[J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2021, 169(11): 997-1007.
- [10] CHEN L M, LI X W, ZHANG J M, HE T J, HUANG J, ZHANG Z J, WANG Y Y, HAFEEZ M, ZHOU S X, REN X Y, HOU Y M, LU Y B. Comprehensive metabolome and volatilome analyses in eggplant and tomato reveal their differential responses to *Tuta absoluta* infestation[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 757230.
- [11] 易松望, 李晓维, 陈利民, 王金超, 吴俊伟, 付开赞, 郭文超, 吕要斌. 番茄潜叶蛾食物源引诱剂筛选及效果评估[J]. 昆虫学报, 2024, 67(12): 1-13.
YI S W, LI X W, CHEN L M, WANG J C, WU J W, FU K Y, GUO W C, LYU Y B. Screening and attractive effectiveness evaluation of food-derived attractants for *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)[J]. Acta Entomologica Sinica, 2024, 67(12): 1-13. (in Chinese)
- [12] 张桂芬, 张毅波, 刘万学, 韩力, 冼晓青, 万方浩, 付文君, 王俊, 刘慧, 王玉生, 胡卿, 潘红伟, 蒋智林. 4种性信息素产品对新发南美番茄潜叶蛾引诱效果研究[J]. 植物保护, 2020, 46(5): 303-308, 320.
ZHANG G F, ZHANG Y B, LIU W X, HAN L, XIAN X Q, WAN F H, FU W J, WANG J, LIU H, WANG Y S, HU Q, PAN H W, JIANG Z L. Evaluation of trapping efficacy of four sources of sex pheromone lures on the South American tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick), a newly invaded alien insect pest in China[J]. Journal of Plant Protection, 2020, 46(5): 303-308, 320. (in Chinese)
- [13] 李晓维, 易松望, 陈利民, 程江辉, 周书行, 吕要斌. 番茄潜叶蛾行为调控技术研究进展[J]. 昆虫学报, 2023, 66(6): 835-848.
LI X W, YI S W, CHEN L M, CHENG J H, ZHOU S X, LYU Y B. Research progress of behavioral manipulation

- techniques of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)[J]. Acta Entomologica Sinica, 2023, 66(6): 835-848. (in Chinese)
- [14] 梁永轩, 王绮静, 郭建洋, 王玉生, 张毅波, 杨念婉, 张桂芬, 周琼, 刘万学. 番茄潜叶蛾性信息素的研究和应用进展[J]. 昆虫学报, 2023, 66(6): 849-858.
- LIANG Y X, WANG Q J, GUO J Y, WANG Y S, ZHANG Y B, YANG N W, ZHANG G F, ZHOU Q, LIU W X. Advances in research and application of sex pheromones of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)[J]. Acta Entomologica Sinica, 2023, 66(6): 849-858. (in Chinese)
- [15] LEAL W S. Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes[J]. Annual Review of Entomology, 2013, 58(1): 373-391.
- [16] PELOSI P, IOVINELLA I, FELICOLI A, DANI F R. Soluble proteins of chemical communication: an overview across arthropods[J]. Frontiers in Physiology, 2014, 5: 320.
- [17] WHEELWRIGHT M, WHITTLE C R, RIABININA O. Olfactory systems across mosquito species[J]. Cell and Tissue Research, 2021, 383(1): 75-90.
- [18] ROGERS M E, STEINBRECHT R A, VOGT R G. Expression of SNMP-1 in olfactory neurons and sensilla of male and female antennae of the silkworm *Antheraea polyphemus*[J]. Cell and Tissue Research, 2001, 303(3): 433-446.
- [19] NICHOLS Z, VOGT R G. The SNMP/CD36 gene family in Diptera, Hymenoptera and Coleoptera: *Drosophila melanogaster*, *D. pseudoobscura*, *Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti*, *Apis mellifera*, and *Tribolium castaneum*[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2008, 38(4): 398-415.
- [20] VOGT R G, MILLER N E, LITVACK R, FANDINO R A, SPARKS J, STAPLES J, FRIEDMAN R, DICKENS J C. The insect SNMP gene family[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2009, 39(7): 448-456.
- [21] BENTON R, VANNICE K S, VOSSHALL L B. An essential role for a CD36-related receptor in pheromone detection in *Drosophila*[J]. Nature, 2007, 450(7167): 289-293.
- [22] JIN X, HA T S, SMITH D P. SNMP is a signaling component required for pheromone sensitivity in *Drosophila*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008, 105(31): 10996-11001.
- [23] LI Z Z, NI J F D, HUANG J, MONTELL C. Requirement for *Drosophila* SNMP1 for rapid activation and termination of pheromone induced activity[J]. PLoS Genetics, 2014, 10(9): e1004600.
- [24] ZHANG H J, XU W, CHEN Q M, SUN L N, ANDERSON A, XIA Q Y, PAPANICOLAOU A. A phylogenomics approach to characterizing sensory neuron membrane proteins (SNMPs) in Lepidoptera[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2020, 118: 103313.
- [25] XU W, ZHANG H J, LIAO Y L, PAPANICOLAOU A. Characterization of sensory neuron membrane proteins (SNMPs) in cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Insect Science, 2021, 28(3): 769-779.
- [26] JOHNY J, NIHAD M, ALHARBI H A, ALSALEH M A, ANTONY B. Silencing sensory neuron membrane protein RferSNMPu1 impairs pheromone detection in the invasive Asian Palm Weevil[J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 16541.
- [27] YANG H Y, NING S Y, SUN X, CHEN C, LIU L X, FENG J N. Identification and characterization of two sensory neuron membrane proteins from onion maggot (Diptera: Anthomyiidae)[J]. Journal of Economic Entomology, 2020, 113(1): 418-426.
- [28] 黄星瑞, 杨洁, 邹洁, 文玺, 胡传豪, 张佑祥, 黄兴龙. 杜仲梦尼夜蛾 CD36 家族同源基因克隆与组织分布研究[J]. 林业科学研究, 2023, 36(5): 72-82.
- HUANG X R, YANG J, ZOU J, WEN X, HU C H, ZHANG Y X, HUANG X L. Cloning and tissue distribution of homologous genes of CD36 family in *Orthosia songi* Chen et Zhang (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Forest Research, 2023, 36(5): 72-82. (in Chinese)
- [29] 杜亚丽, 王树杰, 赵慧婷, 潘建芳, 杨爽, 郭丽娜, 徐凯, 姜玉锁. 中华蜜蜂气味受体基因 *AcerOR113* 的克隆与时空表达分析[J]. 昆虫学报, 2017, 60(5): 533-543.
- DU Y L, WANG S J, ZHAO H T, PAN J F, YANG S, GUO L N, XU K, JIANG Y S. Cloning and temporal-spatial expression profiling of the odorant receptor gene *AcerOR113* in the Chinese honeybee, *Apis cerana cerana*[J]. Acta Entomologica Sinica, 2017, 60(5): 533-543. (in Chinese)
- [30] 郑小菊, 刘长松, 王凤山. 糖基化修饰对蛋白质和肽性质的影响及修饰方法[J]. 生命的化学, 2024, 44(7): 1291-1297.
- ZHENG X J, LIU C S, WANG F S. The effects of glycosylation modification on protein and peptide properties and modification methods[J]. Chemistry of Life, 2024, 44(7): 1291-1297. (in Chinese)
- [31] 梁前进, 王鹏程, 白燕荣. 蛋白质磷酸化修饰研究进展[J]. 科技导报, 2012, 30(31): 75-81.
- LIANG Q J, WANG P C, BAI Y R. Summarization on the progress in protein phosphorylation[J]. Science and Technology Review, 2012, 30(31): 75-81. (in Chinese)
- [32] 刘媛, 翟睿, 吴帆, 楚占营, 赵洋, 戴新华, 方向, 俞晓平. 磷酸化蛋白质的定量与化学计量分析方法的研究进展[J]. 分析化学, 2024, 52(5): 609-623.
- LIU Y, ZHAI R, WU F, CHU Z Y, ZHAO Y, DAI X H,

- FANG X, YU X P. Advances in quantification and site stoichiometry analysis methods for phosphorylated proteins[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2024, 52(5): 609-623. (in Chinese)
- [33] 宋智煜, 陈双臣, 白小军, 董钧锋, 宋月芹. 双委夜蛾感觉神经元膜蛋白编码基因鉴定及组织表达谱分析[J]. 四川动物, 2021, 40(2): 121-129.
- SONG Z Y, CHEN S C, BAI X J, DONG J F, SONG Y Q. Cloning and expression pattern of the sensory neuron membrane protein-encoding genes of *Athetis dissimilis*[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2021, 40(2): 121-129. (in Chinese)
- [34] ZHAO Y J, LI G C, ZHU J Y, LIU N Y. Genome-based analysis reveals a novel SNMP group of the Coleoptera and chemosensory receptors in *Rhaphuma horsfieldi*[J]. Genomics, 2020, 112(4): 2713-2728.
- [35] PREGITZER P, GRESCHISTA M, BREER H, KRIEGER J. The sensory neurone membrane protein SNMP1 contributes to the sensitivity of a pheromone detection system[J]. Insect Molecular Biology, 2014, 23(6): 733-742.
- [36] CASSAU S, KRIEGER J. The role of SNMPs in insect olfaction[J]. Cell and Tissue Research, 2021, 383(1): 21-33.
- [37] CASSAU S, KRIEGER J. Evidence for a role of SNMP2 and antennal support cells in sensillum lymph clearance processes of moth pheromone-responsive sensilla[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2024, 164: 104046.
- [38] GU S H, YANG R N, GUO M B, WANG G R, WU K M, GUO Y Y, ZHOU J J, ZHANG Y J. Molecular identification and differential expression of sensory neuron membrane proteins in the antennae of the black cutworm moth *Agrotis ipsilon*[J]. Journal of Insect Physiology, 2013, 59(4): 430-443.
- [39] LIU S, ZHANG Y R, ZHOU W W, LIANG Q M, YUAN X, CHENG J A, ZHU Z R, GONG Z J. Identification and characterization of two sensory neuron membrane proteins from *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae)[J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 2013, 82(1): 29-42.