

龟纹瓢虫卵黄蛋白的分子特性及发生动态

李 恺, 张天澍, 张丽莉, 王 斌, 王 群

(华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

摘要: 研究了龟纹瓢虫 *Propylea japonica* (Thunberg) 卵黄蛋白的基本特性以及卵黄发生过程中卵黄蛋白的动态变化。PAGE 和 SDS-PAGE 实验表明, 龟纹瓢虫卵黄蛋白分子量为 294.81 ± 40.70 kD, 并由分子量分别为 144.68 ± 0.03 kD 和 51.23 ± 0.27 kD 的两种亚基组成。对卵黄蛋白的氨基酸组成和含量分析发现, 其必需氨基酸总量占 57.48%, 略高于非必需氨基酸, 其中谷氨酸(Glu)含量最高, 为 15.26%; 色氨酸(Trp)和蛋氨酸(Met)含量较低, 分别为 0.50% 和 0.11%。采用间接竞争 ELISA 法, 系统测定了龟纹瓢虫成虫期脂肪体、血淋巴和卵巢中卵黄蛋白的动态变化, 结果表明: 脂肪体是卵黄原蛋白合成的场所, 卵黄原蛋白的合成始于羽化后第 2 天; 脂肪体、血淋巴和卵巢中卵黄原蛋白的滴度在羽化后第 4 天开始迅速上升, 至成虫期的第 8 天左右达到高峰期。

关键词: 龟纹瓢虫; 卵黄蛋白; 性质; 卵黄发生

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2007)10-0975-06

Molecular characterization and dynamic analysis on vitellin of *Propylea japonica* (Thunberg) (Coleoptera: Coccinellidae)

LI Kai, ZHANG Tian-Shu, ZHANG Li-Li, WANG Bin, WANG Qun (School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: The characteristics of vitellin and its content in vitellogenesis were studied in *Propylea japonica* (Thunberg). The characterization of vitellin was carried out by PAGE and SDS-PAGE. The results indicated that vitellin had a molecular weight of approximately 294.81 ± 40.70 kD and was composed of two subunits, whose molecular weights were 144.68 ± 0.03 kD and 51.23 ± 0.27 kD respectively. The content of essential amino acid was 57.48%, which was little higher than that of non-essential amino acid. The amino acid with the highest content in vitellin was Glu, its content was 15.26%; while contents of Trp and Met were very low, only 0.50% and 0.11%, respectively. Using indirect ELISA, the contents of vitellin in the fat body, haemolymph and ovary of *P. japonica* were detected. The results suggested that the vitellogenin was synthesized in fat body at the 2nd day after eclosion. The contents of vitellogenin in fat body, haemolymph and ovary increased quickly on the 4th day after eclosion and reached the peak stage approximately on the 8th day in adult stage.

Key words: *Propylea japonica*; vitellin; properties; vitellogenesis

卵黄蛋白(vitellin, Vt)是一类在一定发育阶段先由特定组织(如脂肪体)合成其前体物质卵黄原蛋白(vitellogenin, Vg),后经血淋巴转运至卵巢加工沉积而成的雌性特异性蛋白(female special protein, FSP)。由于卵黄蛋白可为正在发育的胚胎提供氨基酸、脂肪、糖、维生素等营养和功能性物质(张士瑾等, 2002),对胚胎发育具有重要的影响,故卵黄蛋白已

成为胚胎发育研究中的一个热点。就昆虫而言,目前已针对飞蝗 *Locusta migratoria*、蜚蠊 *Leucophaea maderae*、天蚕蛾 *Platysamia cecropia*、蓖麻蚕 *Philosamia cynthia ricini*、埃及伊蚊 *Aedes aegypti*、七星瓢虫 *Coccinella septempunctata*、天蚕 *Antheraea yamamai*、大褐蝉 *Graptosaltria nigrofuscata* 等的卵黄原蛋白或卵黄蛋白的基本特性进行了较为详细的研

究(Gellissen *et al.*, 1976; Kunkel and Pan, 1976; Chino, 1977; Chen *et al.*, 1978; Engelmann, 1979; Hamish and White, 1982; 龚和等, 1982; 叶恭银等, 1998; Lee *et al.*, 2000)。在卵黄发生的研究上, Chen等(1978)对飞蝗的研究发现, 在保幼激素的调控下 V_g 随着卵巢的周期性发育而波动; 龚和等(1980)应用免疫扩散技术研究了七星瓢虫卵黄蛋白的发生; Adams 和 Filip(1983)对家蝇 *Musca domestica* 的研究表明, 血淋巴中 V_g 在羽化后 24 h 或卵巢发育第四阶段(即刚进入卵黄发生期)开始出现, 并且其含量随着卵巢的成熟发生变化; 叶恭银等(1999)对天蚕卵黄蛋白的合成、转运与沉积进行了探讨; 陶淑霞等(2004)对大草蛉 *Chrysopa septempunctata* 卵黄蛋白的形成与沉积进行了研究。龟纹瓢虫 *Propylea japonica* (Thunberg) 作为我国重要的天敌昆虫之一, 沈志成等(1990, 1992)已对其卵黄蛋白的亚基组成、卵黄蛋白在龟纹瓢虫体内和卵巢中的动态变化进行了研究, 但对其卵黄蛋白分子量、氨基酸组成及其卵黄蛋白在脂肪体和血淋巴中动态变化的研究尚属空白。本研究采用聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)和 SDS-聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳(SDS-PAGE)等方法 and 间接竞争酶联免疫吸附反应(ELISA)技术对龟纹瓢虫成熟卵中卵黄蛋白的基本特性以及卵黄蛋白的发生进行探讨, 旨在为深入开展龟纹瓢虫的人工饲养提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

龟纹瓢虫采自上海市浦东郊区棉田, 实验室内用棉蚜 *Aphis gossypii* Glover 饲养至其产卵, 收集所产卵, 部分用蒸馏水洗净, 滤纸吸干后 -70°C 保存, 用于卵黄蛋白的分离提纯; 剩余部分在 $22^{\circ}\text{C} \sim 24^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 70% ~ 80%、光周期 16L:8D 的条件下孵化并配对饲养, 供研究其卵黄发生使用。

1.2 分子量和氨基酸测定方法

1.2.1 卵黄蛋白及其抗体的制备: 根据龚和等(1982)方法, 从刚产下的龟纹瓢虫卵中提取卵黄蛋白, 并用 PAGE 鉴定纯度。将提纯的卵黄蛋白用多点注射法免疫雄兔, 制备兔抗卵黄蛋白血清, -70°C 保存备用。

1.2.2 卵黄蛋白分子量及其亚基组成的测定: 利用 PAGE 技术, 根据分子量对数和已知蛋白在不同浓度凝胶中相对迁移率的比值确定卵黄蛋白的分子

量(龚和等, 1982)。具体方法如下: 浓缩胶浓度均为 3%, 分离胶浓度则分别采用 5%、7.5% 和 10% 三个浓度梯度; 取样品 $10 \mu\text{L}$, 加入等体积样品缓冲液, 混匀后上样; 浓缩胶恒压 60 V, 分离胶恒压 120 V, 至溴酚蓝迁移到分离胶底部时停止电泳, 考马斯亮蓝 R-250 染色 15 min, 脱色液脱色, 多次更换脱色液直至凝胶底色透明。电泳结果扫描保存。标准蛋白为 Amersham Biosciences 公司生产的高分子量标准蛋白质, 蛋白质名称和分子量依次为甲状腺球蛋白(669 kD)、铁蛋白(440 kD)、过氧化氢(232 kD)、乳酸脱氢酶(140 kD)和牛血清白蛋白(66 kD)。实验重复 3 次。

采用 SDS-PAGE 技术, 用已知蛋白的分子量对数和相对迁移率确定卵黄蛋白的亚基组成和各亚基的分子量(龚和等, 1982)。具体方法如下: 浓缩胶浓度为 3%, 分离胶为 5%; 将样品和标准分子量蛋白质与等体积的样品缓冲液混匀, 沸水加热 10 min 后上样, 其余操作同 PAGE。采用的标准蛋白为大连宝生物工程有限公司生产的次高分子量标准蛋白, 名称及分子量分别为猪肌球蛋白(200 kD)、 β 半乳糖苷酶(116 kD)、磷酸酶 K(97.2 kD)、牛血清白蛋白(66 kD)和卵清蛋白(44.3 kD)。实验重复 3 次。

1.2.3 氨基酸组成和含量分析: 取适量卵黄磷蛋白样品于 5.6 mol/L HCl 中消化 24 h 后加蒸馏水蒸干, 再用 0.02 mol/L HCl 溶解后, 以 Biochrom20 氨基酸自动分析仪分析测定其氨基酸组分及含量。

1.3 血淋巴、脂肪体和卵巢样品的收集及卵黄(原)蛋白含量的测定

1.3.1 动态取样: 羽化后即开始取样, 每 2 天取 1 次, 每次 3 个重复, 每个重复取样虫数 4 ~ 5 头。(1) 血淋巴样品的收集方法: 剪断成虫后足基部, 用 $1 \mu\text{L}$ 定量毛细管吸取溢出的血淋巴, 吸满后, 将血淋巴放入 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4)。(2) 脂肪体和卵巢样品的收集方法: 取龟纹瓢虫成虫, 用生理盐水(0.9% NaCl)将虫体洗净, 用滤纸吸干, 然后解剖取出脂肪体和卵巢, 加入 PBS 匀浆, $10\ 000 \text{ r/min}$ 离心 20 min, 取上清液待测。

1.3.2 卵黄(原)蛋白含量的测定: 采用间接竞争酶联免疫吸附反应法(ELISA 法), 具体方法如下: 用 0.05 mol/L, pH 9.6 的包被缓冲液倍比稀释经纯化的卵黄蛋白, 不同浓度卵黄蛋白稀释液纵向包被(每孔 $100 \mu\text{L}$)。其中 4 孔未包被, 作为非特异性吸附对照。包被板放于湿盒中 4°C 孵育过夜。弃包被液后加入 1% 的 BSA 室温下继续孵育 1 h 以封阻抗

体的非特异性结合(每孔 100 μL);弃 BSA 液,用 PBST 洗涤 3 次。将不同稀释浓度的抗血清($1:5 \times 10^3 \sim 1:4 \times 10^4$)横向加入板孔内(每孔 100 μL),再将酶标板放于湿盒中室温下孵育 2 h,然后用 PBST 洗 3 次。将山羊抗兔 IgG-HRP 用 PBST 以 1:5 000 稀释,加入各孔中(每孔 100 μL)室温下孵育 1 h,倾去山羊抗兔 IgG-HRP, PBST 洗 5 次,每次 5 min。在各孔中加入底物显色液(每孔 100 μL),轻轻摇晃,室温孵育 10 min 后每孔加入 50 μL 终止液,读数。用纯化的卵黄(原)蛋白制作标准曲线,并通过倍比稀释法使所测样品的含量位于标准曲线的线性段,由标准曲线计算卵黄(原)蛋白含量。

2 结果与分析

2.1 卵黄蛋白的分子量及其亚基组成

卵黄蛋白在 5%、7.5% 和 10% 三种凝胶中的相对迁移率分别为 0.28、0.13 和 0.05,根据分子量对数和已知蛋白在不同浓度凝胶中的相对迁移率的比值作图(图 1),计算出卵黄蛋白的分子量为 294.81 ± 40.70 kD。

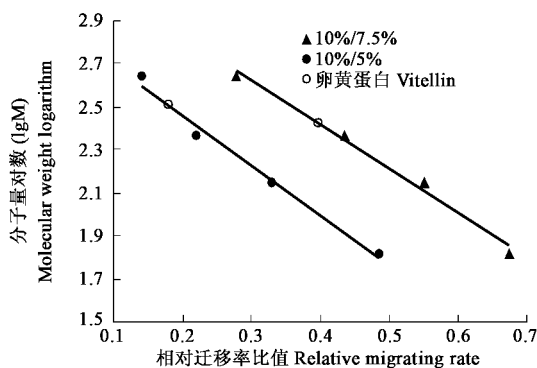


图 1 龟纹瓢虫卵黄蛋白分子量测定

Fig. 1 Molecular weight estimation of vitellin from *Propylea japonica*

卵黄蛋白经 SDS-PAGE 后,显示 2 条明显的条带(图 2)表明该蛋白由两种亚基组成;将已知蛋白的分子量对数和相对迁移率作图(图 3),计算出两种亚基的分子量分别为 144.68 ± 0.03 kD 和 51.23 ± 0.27 kD。

2.2 卵黄蛋白的氨基酸组成和含量

卵黄蛋白的氨基酸组成和含量见表 1。从表中可见,卵黄蛋白氨基酸组成的特点是:必需氨基酸总量(57.48%)高于非必需氨基酸总量(42.52%)。其中谷氨酸(Glu)含量最高,为 15.26%,其余依次为亮氨酸(Leu) > 天门冬氨酸(Asp) > 赖氨酸(Lys) >

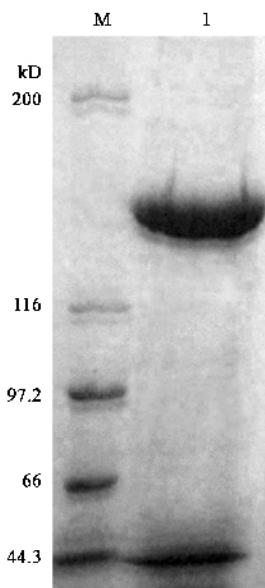


图 2 龟纹瓢虫卵黄蛋白 7.5% SDS-PAGE

Fig. 2 SDS-PAGE of purified vitellin from *Propylea japonica*

M: 蛋白质分子量标准 Protein molecular weight marker; 1: 卵黄蛋白 Vitellin.

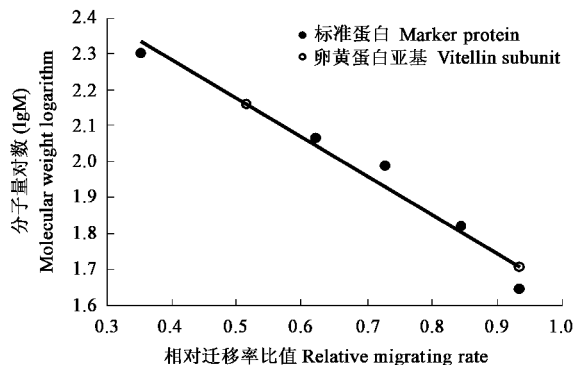


图 3 龟纹瓢虫卵黄蛋白亚基组成及分子量测定

Fig. 3 Subunits and molecular weight estimation of vitellin from *Propylea japonica*

酪氨酸(Tyr) > 丝氨酸(Ser) > 精氨酸(Arg) > 苯丙氨酸(Phe) > 色氨酸(Trp) > 蛋氨酸(Met),其中色氨酸(Trp)和蛋氨酸(Met)含量较低,仅为 0.50% 和 0.11%;半胱氨酸(Cys)因在实验中完全水解而无法检测。

2.3 卵黄发生过程中卵黄蛋白含量的动态变化

2.3.1 龟纹瓢虫脂肪体中卵黄原蛋白含量的变化:

从图 4(A)可见,刚羽化的成虫脂肪体中未检测到卵黄原蛋白,第 2 天卵黄原蛋白含量达到 2.22 mg/mL,在随后的几天内卵黄原蛋白含量直线上升,到第 6 天达到 77.43 mg/mL,在羽化后 6~14 天内卵黄原蛋白的含量维持在最高水平,之后稍有回落,但仍保持

较高水平。

表 1 卵黄蛋白的氨基酸组成和含量

Table 1 Amino acid composition and content of vitellin from *Propylea japonica*

必需氨基酸 Essential amino acid	百分含量(%) Percentage of amino acid	非必需氨基酸 Non-essential amino acid	百分含量(%) Percentage of amino acid
苏氨酸 Thr	4.89	天门冬氨酸 Asp	9.65
丝氨酸 Ser	6.77	谷氨酸 Glu	15.26
缬氨酸 Val	5.70	甘氨酸 Gly	3.11
蛋氨酸 Met	0.11	丙氨酸 Ala	3.53
异亮氨酸 Ile	5.88	酪氨酸 Tyr	7.00
亮氨酸 Leu	9.76	色氨酸 Trp	0.50
苯丙氨酸 Phe	6.40	脯氨酸 Pro	3.48
组氨酸 His	2.26		
赖氨酸 Lys	9.00		
精氨酸 Arg	6.71		
总和 Total	57.48	总和 Total	42.52

2.3.2 龟纹瓢虫血淋巴中卵黄原蛋白含量的变化：由图 4(B)可见，在刚羽化的龟纹瓢虫血淋巴中亦未检测到卵黄原蛋白，第 2 天卵黄原蛋白含量较低，仅为 0.05 mg/mL，随后卵黄原蛋白含量开始上升，第 4 天后直线上升，至第 8 天达到最大值，含量为 35.44 mg/mL，之后有所回落并保持较高水平。

2.3.3 龟纹瓢虫卵巢中卵黄蛋白含量的变化：由图 4(C)可见，在刚羽化的雌虫中检测不到卵黄蛋白，第 2 天卵黄蛋白的含量较低为 8.15 mg/mL，随后立即进入快速上升期，至第 6 天含量达到 196.82 mg/mL，第 8 天时达到最大值，含量为 214.91 mg/mL，之后略有回落，但其含量仍保持较高水平。

3 讨论

3.1 卵黄蛋白的基本特性

蛋白质的分子量及其亚基组成是该蛋白的基本属性，也是进一步了解其功能的基础。在昆虫中，目前已知的卵黄蛋白分子量范围在 210 ~ 625 kD 之间 (Izumi *et al.*, 1994)，如埃及伊蚊为 360 kD，飞蝗为 550 kD，褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 约为 314 kD，七星瓢虫在 280 ~ 300 kD 之间 (Chen *et al.*, 1978；龚和等, 1982；Harnish *et al.*, 1982；戴华国和衣维贤, 2006)。本研究证实，龟纹瓢虫卵黄蛋白在自然状态下分子量约为 294 kD，与七星瓢虫卵黄蛋白的分子量较为接近。

昆虫卵黄蛋白通常具有 1 ~ 3 个亚基组成，根据亚基的组成及其分子量大小可分为三种类型：第一

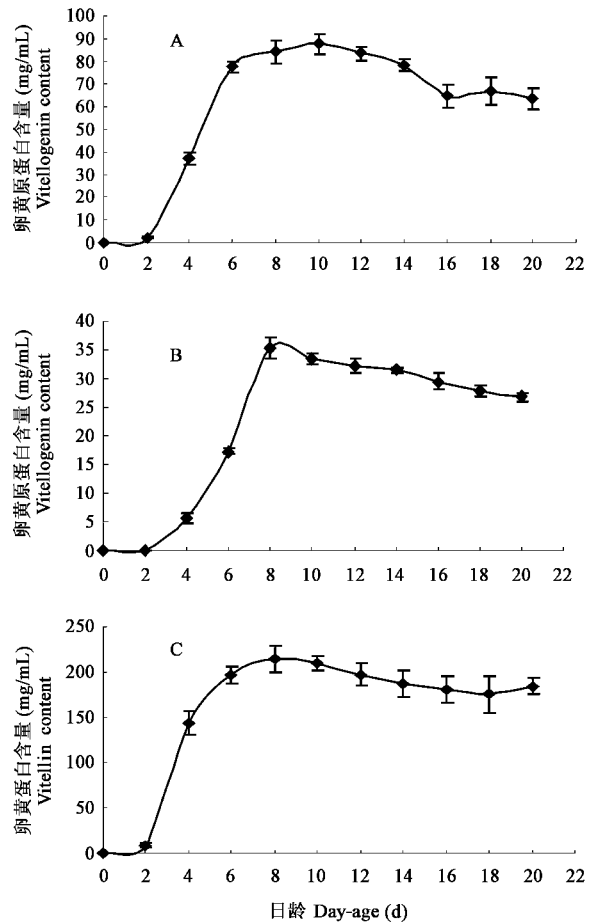


图 4 龟纹瓢虫脂肪体(A)血淋巴(B)中卵黄原蛋白及卵巢中卵黄蛋白(C)的含量

Fig. 4 Changes in contents of vitellogenin in the fat body (A) and haemolymph (B) and vitellin in ovary (C) of *Propylea japonica*

类是具有大小两种亚基基因的原昆虫及现有的大多数昆虫；第二类是编码小亚基的基因丢失或失去了表达活性，而只有编码大亚基的基因具转录活性，因此形成的卵黄蛋白仅有大亚基组成，如埃及伊蚊只含有一种大亚基 (Harnish *et al.*, 1982)；第三类是编码大亚基的基因丢失或失去表达活性，而只有编码小亚基的基因具转录活性，这类昆虫通常可以产生 3 个分子量很接近的小亚基，如黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的卵黄蛋白就由 3 个小亚基组成，分别为 44 kD、45 kD 和 46 kD (Harnish and White, 1982)。本研究通过 SDS-PAGE 分析发现，龟纹瓢虫的卵黄蛋白有两种分子量大小不同的亚基组成，其分子量分别为 144.68 kD 和 51.23 kD，因此该蛋白为一个由大、小亚基组成的多聚体，与上述的第一类卵黄蛋白相似。

本实验测定龟纹瓢虫卵黄蛋白氨基酸的组成，

并根据忻介六和苏德明(1979)对昆虫十种常见必需氨基酸的界定将其分为两大类:必需氨基酸和非必需氨基酸,通过对所测结果的分析以及与已报道种类的比较发现,龟纹瓢虫卵黄蛋白的氨基酸组成和含量与亲缘关系较近的七星瓢虫(龚和等,1980)十分相似,而与亲缘关系较远的德国蜚蠊和飞蝗(Kunkel and Pan,1976)差别较大。

从上述的结果不难发现,虽然不同的物种其卵黄蛋白的分子量以及氨基酸组成存在差异,但龟纹瓢虫卵黄蛋白的分子量大小以及氨基酸组成,均与其亲缘关系较近的物种有较大的相似性,这是否与亲缘关系的远近有关,尚需进一步深入研究。

3.2 卵黄蛋白含量的测定

随着科学技术的发展,卵黄蛋白定量测定的方法也不断地更新。最初研究者通常采用免疫扩散、火箭免疫电泳等方法对卵黄蛋白的含量进行测定,如龚和等(1980)应用免疫扩散技术研究了七星瓢虫卵黄蛋白的发生,Bradley等(1995)运用火箭免疫电泳法研究了 *Carausius morosus* 的卵黄发生,叶恭银等(1999)用火箭免疫电泳测定了天蚕卵黄原蛋白在脂肪体、血淋巴和卵巢中的动态变化,彭宇等(2000)亦采用该方法测定了真水狼蛛 *Pirata piraticus* 胚胎发育过程中卵黄蛋白的变化。但这些方法特别是免疫扩散法,灵敏度不高,且不宜大量样品的检测(于长明等,1998)。虽然 Dumas 等早在 1982 年建立了 ELISA 竞争法测定过蜚蠊 *Nauphoeta cinerea* 卵黄蛋白含量,但其实验未采用酶标板进行,而且其抗原用碱性磷酸酶标记,显色底物复杂,增加了工作量,不适合大量样品的快速测定。近年来,随着研究进一步完善,ELISA 竞争法逐渐应用到昆虫卵黄蛋白的定量测定上,如于长明等(1998)建立了 ELISA 直接法测定德国小蠊 *Blattella germanica* 卵黄蛋白含量的方法;陈建新等(2002)运用该法测定了蝗虫微孢子虫 *Nosema locustae* 对东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* 卵黄原蛋白含量的影响;Adams 等(2002)运用灵敏度更高的间接竞争 ELISA 方法检测了蜡象 *Perillus bioculatus* 卵黄蛋白的含量。本实验首次在龟纹瓢虫中运用间接竞争 ELISA 方法和酶标板对其卵黄蛋白进行了检测,实验结果证实,该方法具有较高的灵敏度,且适于大量样品的测定。

3.3 卵黄蛋白的合成场所及转运途径

卵黄蛋白的合成场所以及转运途径也是研究者关心的一个焦点。有关脂肪体离体培养的研究表明,大多数昆虫卵黄蛋白都是由其体内脂肪体合成

(龚和等,1980;Raikhel and Dhadialla,1992;叶恭银等,1999;陶淑霞等,2004),但有些昆虫如双翅目,其卵巢也具有合成卵黄蛋白的能力,甚至有些种类如厩螫蝇 *Stomoxys calcitrans* 的卵黄蛋白完全由卵巢合成(Chen *et al.*,1987)。此外,脂肪体合成的卵黄原蛋白通常被分泌到血淋巴,再经血淋巴转运至卵巢,并通过卵巢上的卵黄蛋白受体逆浓度梯度选择性地被摄取进入卵巢。本研究发现在龟纹瓢虫羽化后第 2 天就能在脂肪体中检测到卵黄原蛋白,且随着时间的推移,其含量急剧增加。这一结果表明,龟纹瓢虫卵黄原蛋白与大多数昆虫一样也是由脂肪体合成的。而血淋巴中同样较高的卵黄原蛋白含量以及血淋巴中卵黄原蛋白达到峰值的时间则晚于脂肪体,表明脂肪体合成的卵黄原蛋白同样是通过血淋巴转运的。此外,羽化后第 2 天,在卵巢中即已能检测到较高含量的卵黄蛋白,这是否说明龟纹瓢虫卵巢也与七星瓢虫(龚和等,1980)同样具有合成卵黄原蛋白的能力,尚有待进一步验证。

参 考 文 献 (References)

- Adams TS, Filipi PA, 1983. Vitellin and vitellogenin concentrations during oogenesis in the first gonotrophic cycle of the housefly, *Musca domestica*. *J. Insect Physiol.*, 29: 723–733.
- Adams TS, Filipi PA, Yi SX, 2002. Effect of age, diet, diapause and juvenile hormone on oogenesis and the amount of vitellogenin and vitellin in the twospotted stink bug, *Perillus bioculatus* (Heteroptera: Pentatomidae). *J. Insect Physiol.*, 48: 477–486.
- Bradley JT, Masetti M, Cecchetti A, Giorgi F, 1995. Vitellogenesis in the allatectomized stick insect *Carausius morosus* (Br.) (Phasmatodea: Lonchodinae). *Comp. Biochem. Physiol.*, 110(1): 255–266.
- Chen AC, Kim HR, Mayer RT, 1987. Vitellogenesis in stablefly *Stomoxys calcitrans*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 88B: 897–903.
- Chen JX, Shen J, Song DL, Zhang L, Yan YH, 2002. Effect of *Nosema locustae* on the content of vitellogenin of *Locusta migratoria manilensis*. *Acta Entomol. Sin.*, 45(2): 170–174. [陈建新, 沈杰, 宋敦伦, 张龙, 严毓骅, 2002. 蝗虫微孢子虫对东亚飞蝗卵黄原蛋白含量的影响. *昆虫学报*, 45(2): 170–174]
- Chen TT, Strahlendorf PW, Wyatt GR, 1978. Vitellin and vitellogenin from locust (*Locusta migratoria*): properties and post-translational modification in the fat body. *J. Biol. Chem.*, 253: 441–445.
- Chino H, 1977. Further characterization of lepidopteran vitellogenin from hemolymph and mature eggs. *Insect Biochem.*, 7: 125–131.
- Dai HG, Yi WX, 2006. Separation and characterization of vitellin of *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae). *Acta Entomol. Sin.*, 49(1): 29–33. [戴华国, 衣维贤, 2006. 褐飞虱卵黄蛋白的分离及其生化特性. *昆虫学报*, 49(1): 29–33]
- Engelmann F, 1979. Insect vitellogenin: identification, biosynthesis and role in vitellogenesis. *Ann. Rev. Entomol.*, 14: 49–108.

- Gellissen G, Wajc E, Cohen E, Emmerich H, Applebaum SW, Flossdorf J, 1976. Purification and properties of oocyte vitellin from the migratory locust. *J. Comp. Physiol. B*, 108:287-301.
- Gong H, Zhai QH, Wei DY, Zhang JZ, 1980. On the vitellogenesis of *Coccinella septempunctata* L.: the occurrence of vitellogenin as influenced by artificial diet. *Acta Entomol. Sin.*, 23(3):252-259. [龚和, 翟启慧, 魏定义, 张建中, 1980. 七星瓢虫的卵黄发生: 卵黄原蛋白的发生和取食代饲料的影响. 昆虫学报, 23(3):252-259]
- Gong H, Zhang JZ, Zhai QH, 1982. Characteristics of the yolk protein of *Coccinella septempunctata* L. *Acta Entomol. Sin.*, 25(1):9-15. [龚和, 张建中, 翟启慧, 1982. 七星瓢虫卵黄蛋白的理化性质. 昆虫学报, 25(1):9-15]
- Hamish DG, White BN, 1982. An evolutionary model for the insect vitellins. *Journal of Molecular Evolution*, 18(6):405-413.
- Hamish DG, Wyatt GR, White BN, 1982. Insect vitellins: identification of primary products of translation. *J. Exp. Zool.*, 220:11-19.
- Izumi S, Yano K, Yamamoto Y, Susumu Y, 1994. Yolk proteins from insect eggs: structure, biosynthesis and programmed degradation during embryogenesis. *J. Insect Physiol.*, 40:735-746.
- Kunkel JG, Pan ML, 1976. Selectivity of yolk protein uptake-comparison of vitellogenins of two insects. *J. Insect Physiol.*, 22:809-818.
- Lee JM, Nishimori Y, Hatakeyama M, Bae TW, Oishi K, 2000. Vitellogenin of the cicada *Graptopsaltria nigrofuscata* (Homoptera): analysis of its primary structure. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30:1-7.
- Peng Y, Hu C, Zhao JZ, 2000. Studies on vitellin of water wolf spider *Pirata piraticus*. *Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.)*, 26(1):69-74. [彭宇, 胡萃, 赵敬钊, 2000. 真水狼蛛 *Pirata piraticus* 卵黄蛋白的研究. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 26(1):69-74]
- Raikhel AS, Dhadialla TS, 1992. Accumulation of yolk proteins in insect oocytes. *Ann. Rev. Entomol.*, 37:217-251.
- Shen ZC, Hu C, Gong H, 1990. The immunological homology and subunits of the vitellins of several coccinellids. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 16(4):352-356. [沈志成, 胡萃, 龚和, 1990. 几种瓢虫的卵黄蛋白抗原同源性及其亚基结构的研究. 浙江农业大学学报, 16(4):352-356]
- Shen ZC, Hu C, Gong H, 1992. Effect of feeding artificial diet on vitellogenesis of *Propylea japonica* and *Harmonia axyridis*. *Acta Entomol. Sin.*, 35(3):273-278. [沈志成, 胡萃, 龚和, 1992. 取食雄蜂蛹粉对龟纹瓢虫和异色瓢虫卵黄发生的影响. 昆虫学报, 35(3):273-278]
- Tao SX, Zhang F, Li CD, 2004. Dynamic analysis on the vitellogenesis of *Chrysopa septempunctata*. *Journal of Jilin Agricultural University*, 26(3):260-262. [陶淑霞, 张帆, 李成德, 2004. 大草蛉卵黄发生的动态分析. 吉林农业大学学报, 26(3):260-262]
- Xin JL, Su DM, 1979. Artificial Diet of Insect, Mite and Spider. Beijing: Science Press. 3-7. [忻介六, 苏德明, 1979. 昆虫、螨类、蜘蛛的人工饲料. 北京: 科学出版社. 3-7]
- Ye GY, Hu C, Gong H, 1998. Characteristics of the yolk protein of *Antheraea yamamai*. *Acta Sericologica Sin.*, 24(4):248-249. [叶恭银, 胡萃, 龚和, 1998. 天蚕卵黄蛋白的主要理化性质. 蚕业科学, 24(4):248-249]
- Ye GY, Hu C, Hong J, Gong H, 1999. Synthesis, transport and accumulation of vitellogenin in the Japanese oak silkworm, *Antheraea yamamai* (Lepidoptera: Saturniidae). *Acta Entomol. Sin.*, 42(3):225-233. [叶恭银, 胡萃, 洪健, 龚和, 1999. 天蚕卵黄原蛋白的合成、运转与沉积. 昆虫学报, 42(3):225-233]
- Yu CM, Li CW, Liu Q, 1998. Development of an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for measurement of vitellin content in *Blattella germanica*. *Acta Parasitol. Med. Entomol. Sin.*, 5(4):246-252. [于长明, 李成文, 刘泉, 1998. ELISA 测定德国小蠊卵黄蛋白含量方法的建立. 寄生虫与医学昆虫学报, 5(4):246-252]
- Zhang SC, Sun XT, Li HY, 2002. Review on vitellogenin. *Marine Sciences*, 26(7):32-35. [张士瑞, 孙旭彤, 李红岩, 2002. 卵黄原蛋白研究及其进展. 海洋科学, 26(7):32-35]

(责任编辑: 黄玲巧)