



B

B

C



1 (C R1)

H L^{*1}, J¹, F, M z H, H, F H

Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection & Quarantine, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, PR China
Jinhua Academy of Agricultural Science, Jinhua 321000, PR China
College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, PR China

ARTICLE INFO

Article history:

26 F 2017
A 13 M 2017
A 14 M 2017

Keywords:

Apis cerana
C
N
B
F

ABSTRACT

A
H, fl
fl, *Apis cerana*, fl
fl
> 0, fl
C (CD)
C R1 50%
fi
OB%
fi
C R1
D fi
C R1
C R1
A, C R1
M
4,
α- C R1
C R1 fl β- H
C R1 2.53 /
OBR,
Frankliniella occidentalis 9, Bemisia to
fi
M, C R1

Schistocerca gregaria 11, *Carausius morosus*
Camponotus japonicus 14

* C
E-mail address: @126. (H. L).

N

15 . A

16 ,

(AO) LD₅₀

72 69.68 / 17 .

18 .

19,20 .

CSP8

Bombyx mori,
Bemisia tabaci,

21 , CSP1

Plutella xylostella,

22 , CSP2

CSP1

23 .

24 . I

β-

A. *cerana* 25 . A

26–28 ,

30 .

A. *cerana*,

2. Materials and methods

2.1. Chemicals and reagents

I (>97%) () ()

F .1(A)) β- (>98%) ()

(A) 1.0 × 10⁻³ L⁻¹

4 °C . M (18.2 MΩ, M)

2.2. Preparation of recombinant CSP1 protein

CSP1 fi -RC 29 . CSP1

MD18- E -32 (+) BL21 (DE3)

C R1 .A

1 L⁻¹ R G,

fi fi

N²⁺-N A

72 4 °C

fi

C R1

1 μ L⁻¹,

R B (H 7.4)

C R1

B .

-20 °C

2.3. Multiple fluorescence spectra of CSP1 protein with imidacloprid

(1) F F

fi F-5301

(z , J R). fi

281 5

290–500 C R1

1 μ L⁻¹ R B (H 7.4),

1 L⁻¹ C R1

fi

284 K, 294 K, F

(2) fi (F) F Δλ (λ

λ) = 15 60 C R1

(3) C R1

(z , J R). 1800

C R1

190–400

2.4. Circular dichroism (CD) spectra

C R1

CD

200–250

1: 0, 1: 0.5 1: 4,

CD

ELCON3

30 .

2.5. Molecular docking analysis

z

31 .

C R1

Mamestra brassicae

(1 8) 32

C R M A6 (RDB 3D

I -MODEL 33 .

NCBI (: 638014). B M

CI D (M 4.2 () ,

C R1

M D O z

M D 34 .

2.6. Functional inhibition of CSP1 by imidacloprid

1 μ L⁻¹ C R1

10 L⁻¹ β-

fi

2.3-(1)

C R1
C R1/ 10 (1:0, 1:1, 1:5, 1:9, 1:13 μ L⁻¹) A F . 2(B C), fl fl
L⁻¹ β- β- C R1 fl
C R1

3. Results and discussion

3.1. Expression of recombinant CSP1 protein and fluorescence quenching spectra

E -32 (+)/C R1
BL21 (DE3) E. coli. A IR G, fi
N²⁺-N A C R1 D -PAGE 37, 38,
RB . fi 39,
F . 1, L 1. 2 C R1
1 L⁻¹ IR G. L 3 fi C R1
28 KD, 95%. C R1
C R1 F . 2(A), fi C R1
I 332 C R1
fi C R1

C R1.

3.2. Synchronous fluorescence spectra

I fi ()
C R1 Δλ = 15 60 fi
B fi
35 . I

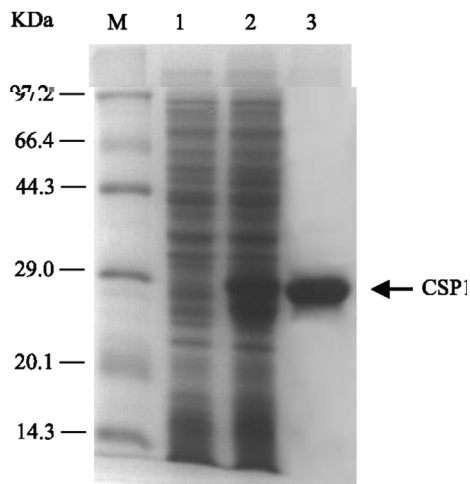


Fig. 1. SDS-PAGE of induced and purified recombinant CSP1 protein. M

L 1. 2
E 32-C R1
1 L⁻¹ IR G, L 3 fi C R1
fi

I F . 2(C), 36 . I
(F . 2(B)). C R1
37, 38,
39,

3.3. Fluorescence quenching mechanism

F 40 . D
fi 41 . D
42 :
$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q] \quad (1)$$

F_0 fi ; F fi
fi Q ; K_q fi
τ₀ = 10⁻⁸ ; K_{sv} 43 . fi . A
284 294 K
F . 3(A) 1, K_{sv}
44 .

45 . A F . 3(B),
C R1 (1 μ L⁻¹),
C R1
A R2 A. cerana 46 ,

3.4. Thermodynamic analysis

I 47 .

$$\Delta G = -RT \ln K = \Delta H - T\Delta S \quad (2)$$

$$\Delta H = \frac{RT_1T_2 \ln(K_{0,2}/K_{0,1})}{T_2 - T_1} \quad (3)$$

$$\Delta S = (\Delta H - \Delta G)/T \quad (4)$$

$\Delta G, \Delta H, \Delta S$ G $\Delta H < 0, \Delta S < 0,$

$\Delta H > 0, \Delta S > 0,$
 $\Delta H < 0, \Delta S > 0,$

C R1
 1. $\Delta G < 0,$ C R1

$\Delta H > 0, \Delta S > 0,$

46, A R2



3.5. Circular dichroism (CD) spectra

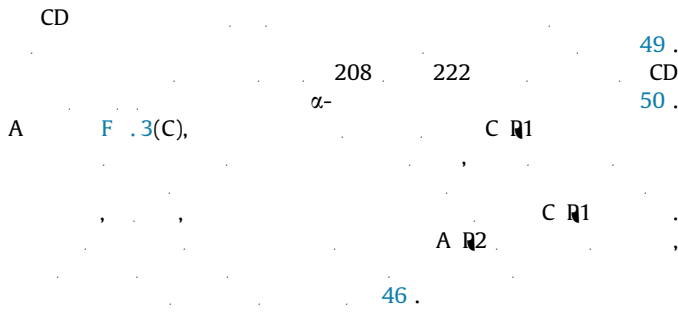
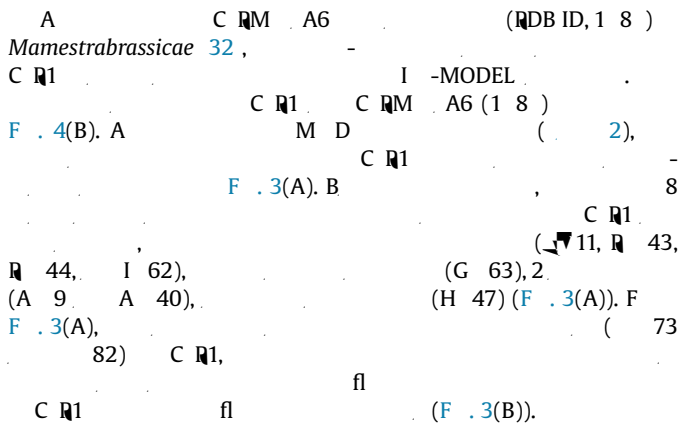


Table 2

I	C R1	
	N	E
R	44	-24.1035
G	63	-16.0482
A	9	-9.4608
R	43	-9.3838
A	40	-8.6277
H	47	-7.3377
I	62	-6.9446
∇	11	-4.0133

3.6. Molecular docking



3.7. Functional inhibition of CSP1 by imidacloprid

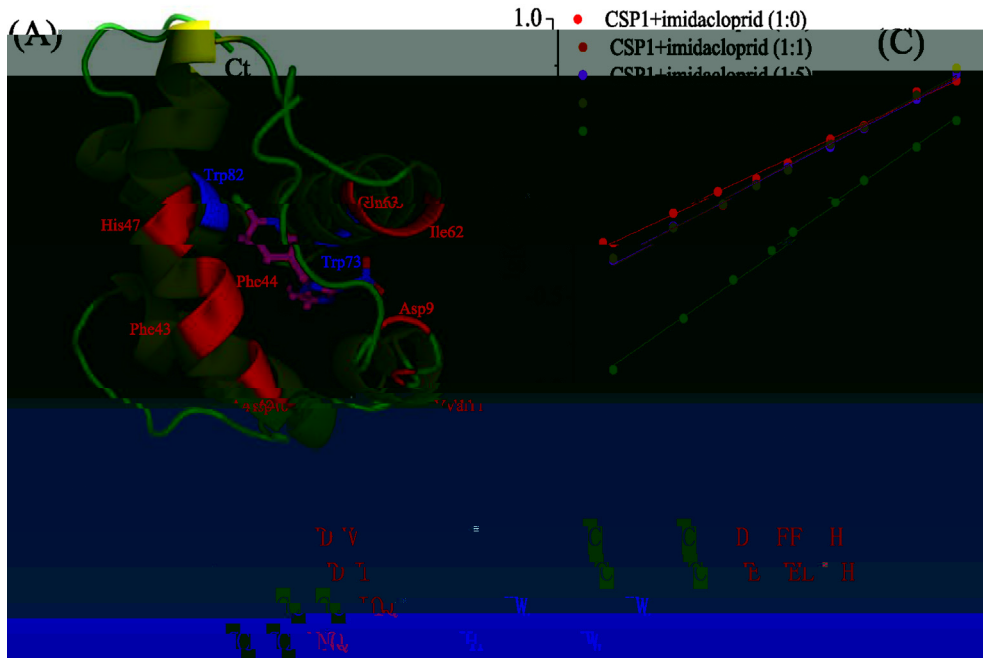
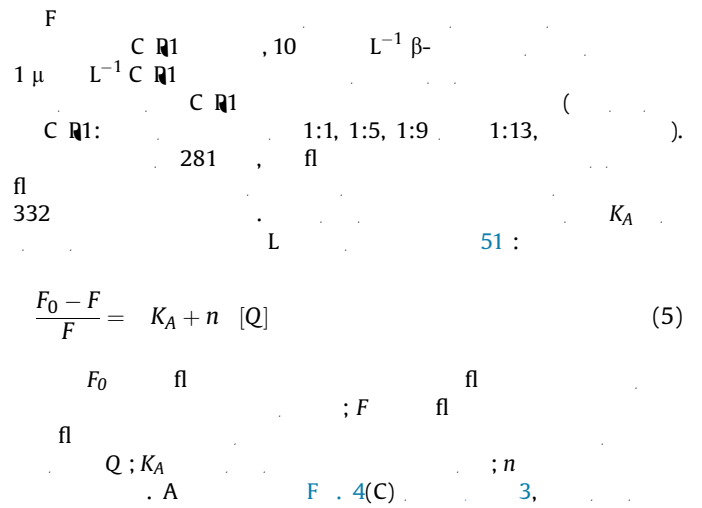


Fig. 4. Molecular docking of CSP1 with imidacloprid (A) and the Double-Log plots of the fluorescence of the mixture of CSP1 and imidacloprid quenching by β-ionone (C). (A). 1 (B). A (C). 1 (D). V (E). D (F). FF (G). H (I). TEL (J). H (K). W (L). W (M). W (N). W (O). W (P). W (Q). W (R). W (S). W (T). W (U). W (V). W (W). W (X). W (Y). W (Z). W (AA). W (AB). W (AC). W (AD). W (AE). W (AF). W (AG). W (AH). W (AI). W (AJ). W (AK). W (AL). W (AM). W (AN). W (AO). W (AP). W (AQ). W (AR). W (AS). W (AT). W (AU). W (AV). W (AW). W (AX). W (AY). W (AZ). W (BA). W (BB). W (BC). W (BD). W (BE). W (BF). W (BG). W (BH). W (BI). W (BJ). W (BK). W (BL). W (BM). W (BN). W (BO). W (BP). W (BQ). W (BR). W (BS). W (BT). W (BU). W (BV). W (BW). W (BX). W (BY). W (BZ). W (CA). W (CB). W (CC). W (CD). W (CE). W (CF). W (CG). W (CH). W (CI). W (CJ). W (CK). W (CL). W (CM). W (CN). W (CO). W (CP). W (CQ). W (CR). W (CS). W (CT). W (CU). W (CV). W (CW). W (CX). W (CY). W (CZ). W (DA). W (DB). W (DC). W (DD). W (DE). W (DF). W (DG). W (DH). W (DI). W (DJ). W (DK). W (DL). W (DM). W (DN). W (DO). W (DP). W (DQ). W (DR). W (DS). W (DT). W (DU). W (DV). W (DW). W (DX). W (DY). W (DZ). W (EA). W (EB). W (EC). W (ED). W (EE). W (EF). W (EG). W (EH). W (EI). W (EJ). W (EK). W (EL). W (EM). W (EN). W (EO). W (EP). W (EQ). W (ER). W (ES). W (ET). W (EU). W (EV). W (EW). W (EX). W (EY). W (EZ). W (FA). W (FB). W (FC). W (FD). W (FE). W (FF). W (FG). W (FH). W (FI). W (FJ). W (FK). W (FL). W (FM). W (FN). W (FO). W (FP). W (FQ). W (FR). W (FS). W (FT). W (FU). W (FV). W (FW). W (FX). W (FY). W (FZ). W (GA). W (GB). W (GC). W (GD). W (GE). W (GF). W (GG). W (GH). W (GI). W (GJ). W (GK). W (GL). W (GM). W (GN). W (GO). W (GP). W (GQ). W (GR). W (GS). W (GT). W (GU). W (GV). W (GW). W (GX). W (GY). W (GZ). W (HA). W (HB). W (HC). W (HD). W (HE). W (HF). W (HG). W (HH). W (HI). W (HJ). W (HK). W (HL). W (HM). W (HN). W (HO). W (HP). W (HQ). W (HR). W (HS). W (HT). W (HU). W (HV). W (HW). W (HX). W (HY). W (HZ). W (IA). W (IB). W (IC). W (ID). W (IE). W (IF). W (IG). W (IH). W (II). W (IJ). W (IK). W (IL). W (IM). W (IN). W (IO). W (IP). W (IQ). W (IR). W (IS). W (IT). W (IU). W (IV). W (IW). W (IX). W (IY). W (IZ). W (JA). W (JB). W (JC). W (JD). W (JE). W (JF). W (JG). W (JH). W (JI). W (JJ). W (JK). W (JL). W (JM). W (JN). W (JO). W (JP). W (JQ). W (JR). W (JS). W (JT). W (JU). W (JV). W (JW). W (JX). W (JY). W (JZ). W (KA). W (KB). W (KC). W (KD). W (KE). W (KF). W (KG). W (KH). W (KI). W (KJ). W (KK). W (KL). W (KM). W (KN). W (KO). W (KP). W (KQ). W (KR). W (KS). W (KT). W (KU). W (KV). W (KW). W (KX). W (KY). W (KZ). W (LA). W (LB). W (LC). W (LD). W (LE). W (LF). W (LG). W (LH). W (LI). W (LJ). W (LK). W (LL). W (LM). W (LN). W (LO). W (LP). W (LQ). W (LR). W (LS). W (LT). W (LU). W (LV). W (LW). W (LX). W (LY). W (LZ). W (MA). W (MB). W (MC). W (MD). W (ME). W (MF). W (MG). W (MH). W (MI). W (MJ). W (MK). W (ML). W (MN). W (MO). W (MP). W (MQ). W (MR). W (MS). W (MT). W (MU). W (MV). W (MW). W (MX). W (MY). W (MZ). W (NA). W (NB). W (NC). W (ND). W (NE). W (NF). W (NG). W (NH). W (NI). W (NJ). W (NK). W (NL). W (NM). W (NO). W (NP). W (NQ). W (NR). W (NS). W (NT). W (NU). W (NV). W (NW). W (NX). W (NY). W (NZ). W (OA). W (OB). W (OC). W (OD). W (OE). W (OF). W (OG). W (OH). W (OI). W (OJ). W (OK). W (OL). W (OM). W (ON). W (OO). W (OP). W (OQ). W (OR). W (OS). W (OT). W (OU). W (OV). W (OW). W (OX). W (OY). W (OZ). W (PA). W (PB). W (PC). W (PD). W (PE). W (PF). W (PG). W (PH). W (PI). W (PJ). W (PK). W (PL). W (PM). W (PN). W (PO). W (PP). W (PQ). W (PR). W (PS). W (PT). W (PU). W (PV). W (PW). W (PX). W (PY). W (PZ). W (QA). W (QB). W (QC). W (QD). W (QE). W (QF). W (QG). W (QH). W (QI). W (QJ). W (QK). W (QL). W (QM). W (QN). W (QO). W (QP). W (QQ). W (QR). W (QS). W (QT). W (QU). W (QV). W (QW). W (QX). W (QY). W (QZ). W (RA). W (RB). W (RC). W (RD). W (RE). W (RF). W (RG). W (RH). W (RI). W (RJ). W (RK). W (RL). W (RM). W (RN). W (RO). W (RP). W (RQ). W (RR). W (RS). W (RT). W (RU). W (RV). W (RW). W (RX). W (RY). W (RZ). W (SA). W (SB). W (SC). W (SD). W (SE). W (SF). W (SG). W (SH). W (SI). W (SJ). W (SK). W (SL). W (SM). W (SN). W (SO). W (SP). W (SQ). W (SR). W (SS). W (ST). W (SU). W (SV). W (SW). W (SX). W (SY). W (SZ). W (TA). W (TB). W (TC). W (TD). W (TE). W (TF). W (TG). W (TH). W (TI). W (TJ). W (TK). W (TL). W (TM). W (TN). W (TO). W (TP). W (TQ). W (TR). W (TS). W (TT). W (TU). W (TV). W (TW). W (TX). W (TY). W (TZ). W (UA). W (UB). W (UC). W (UD). W (UE). W (UF). W (UG). W (UH). W (UI). W (UJ). W (UK). W (UL). W (UM). W (UN). W (UO). W (UP). W (UQ). W (UR). W (US). W (UT). W (UU). W (UV). W (UW). W (UX). W (UY). W (UZ). W (VA). W (VB). W (VC). W (VD). W (VE). W (VF). W (VG). W (VH). W (VI). W (VJ). W (VK). W (VL). W (VM). W (VN). W (VO). W (VP). W (VQ). W (VR). W (VS). W (VT). W (VU). W (VV). W (VW). W (VX). W (VY). W (VZ). W (WA). W (WB). W (WC). W (WD). W (WE). W (WF). W (WG). W (WH). W (WI). W (WJ). W (WK). W (WL). W (WM). W (WN). W (WO). W (WP). W (WQ). W (WR). W (WS). W (WT). W (WU). W (WV). W (WW). W (WX). W (WY). W (WZ). W (XA). W (XB). W (XC). W (XD). W (XE). W (XF). W (XG). W (XH). W (XI). W (XJ). W (XK). W (XL). W (XM). W (XN). W (XO). W (XP). W (XQ). W (XR). W (XS). W (XT). W (XU). W (XV). W (XW). W (XX). W (XY). W (XZ). W (YA). W (YB). W (YC). W (YD). W (YE). W (YF). W (YG). W (YH). W (YI). W (YJ). W (YK). W (YL). W (YM). W (YN). W (YO). W (YP). W (YQ). W (YR). W (YS). W (YT). W (YU). W (YV). W (YW). W (YX). W (YY). W (YZ). W (ZA). W (ZB). W (ZC). W (ZD). W (ZE). W (ZF). W (ZG). W (ZH). W (ZI). W (ZJ). W (ZK). W (ZL). W (ZM). W (ZN). W (ZO). W (ZP). W (ZQ). W (ZR). W (ZS). W (ZT). W (ZU). W (ZV). W (ZW). W (ZX). W (ZY). W (ZZ).

. K_A (1: 0) β

26 E.-C. Z., C. B. B 194–195 (2016) 11–19.
 H.-C. C., C. I.

27 M. O 7 (2012) 49472.
 M., G.A., E, J. E. B . 216 (2013)
 1799–1807.

28 K., C., D., L., J.C.N., I
 9 (2014) 102725.

29 H.L.L., C., N., J.K.G., H., M
 1 (Acer-CSP1)
 C, *Apis cerana cerana* (H : A), A
 E . 53 (2010) 962–968.

30 N., E
 CON IN, ELCON, CD
 , A . B . 287 (2000)
 252–260.

31 J. H., L., D. R., H.O.J., H., C., J.M., M., G.,
 K
 I, J. B . M . 50 (2012) 694–700.

32 C., A. L., B.M. H., A. J., M. G
 M., C. C., M
 , R . N . A .
 . . . A. 100 (2003) 5069–5074.

33 J. K., N. G., M.C. R., I -MODEL:
 , N . 31 (2003) 3381–3385.

34 M.H. C., M D
 J. M . C . 49 (2006) 3315–3321.

35 G., J. R., J. G., J. M . . 881
 (2008) 132–138.

36 J., B., R., C., M
 J. 80 (2001) 2093–2109.

37 H.L.L., L., C., N., H., J.K.L., M
 E .
 (*Apis cerana*), I . J. B . M . 56 (2013) 114–121.

38 C., F., H., J., L., H.L.L., B
 HOB . A R 1
Apis cerana, I . J. B . M . 72 (2015) 430–436.

39 H. L., F., J., K., C., H., F. H., C