

## 双向电泳技术在昆虫研究中的应用\*

胡文霞,陈斌,王林玲,冯国忠

(重庆师范大学昆虫与分子生物学研究所,重庆高校生物活性物质工程研究中心,  
重庆高校动物生物学重点实验室,重庆400047)

**摘要** 随着生命科学进入后基因组学研究时代,蛋白质组学成为其研究热点。双向电泳技术(Two-dimensional electrophoresis, 2-DE)凭借其高灵敏度、高分辨率以及能将数千种蛋白质同时分离等优点,成为蛋白质组学的核心技术之一,在生命科学研究中发挥着不可替代的作用。近年来,随着黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)、家蚕(*Bombyx mori*)、意大利蜜蜂(*Apis mellifera*)和冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*)等昆虫基因组测序的基本完成,昆虫的蛋白质组学研究也迅速展开。本文就双向电泳技术在昆虫遗传学、发育生物学、亚细胞器、免疫学、毒理学、行为学以及媒介学上的研究进展进行了综述。总结前人的研究结果认为,昆虫突变、发育、抗性、行为等变化与蛋白质的差异表达或蛋白亚型的变化密切相关,并鉴定了相关的蛋白质。这一研究为全面阐明昆虫的生长发育、生理生化等特性具有重要意义,也对转录水平的研究提供了很好的补充。如何提高双向电泳技术的准确性和重复性,使其在昆虫学上的研究更广泛、更深入是未来研究的重点。

**关键词** 双向电泳;昆虫;蛋白质组学

中图分类号:Q969

文献标识码:A

文章编号:1672-6693(2011)01-0018-05

基因是遗传信息的载体,而生命活动的执行者却是基因的表达产物——蛋白质。基因组是静态的,而蛋白质组是动态的。蛋白质有其自身特有的活动规律,如蛋白质的修饰加工、转运定位、结构形成、代谢等,无法从基因组水平上的研究获知。蛋白质组学已成为后基因组学时代研究的热点。

蛋白质组学采用大规模、高通量、高灵敏度的技术手段,从整体水平上研究基因组所表达的所有蛋白质在不同时间与空间的表达谱和功能谱,更全面更系统地揭示生命活动的本质。双向电泳(Two-dimensional electrophoresis, 2-DE)凭借其高分辨率、高灵敏度以及能将数千种蛋白质同时分离与展示的特点成为蛋白质组学研究的关键核心技术之一<sup>[1]</sup>。虽然近年来诸多新兴技术蓬勃发展,如多维液相色谱-质谱联用、同位素标记-亲和色谱-质谱技术、生物芯片等,但到目前为止,双向电泳技术仍然在生物学前沿研究中起着不可替代的作用。已有文献<sup>[2-3]</sup>对该技术评价颇高,研究者认为双向电泳作为经典的生化与分子生物学技术,仍在不断地发展和完善。研究者也曾想用新技术来取代该技术,但要对细胞

生命活动有全面、深刻的认识,其他技术在分辨率和灵敏度上与双向电泳尚有一定的差距。目前,双向电泳技术与质谱鉴定连用是蛋白质组学的有效研究方法模式。

自从2001年国际人类蛋白质组提出了人类蛋白质组计划后,人类蛋白质组研究突飞猛进,已经鉴定了许多具有重要生理功能和与重大疾病相关的蛋白质,带来了许多重大的理论突破,同时也给新药的开发带来了诱人的前景。然而,昆虫的蛋白质组研究相对迟缓,随着黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)<sup>[4]</sup>、家蚕(*Bombyx mori*)<sup>[5]</sup>、意大利蜜蜂(*Apis mellifera*)<sup>[6]</sup>和冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*)<sup>[7]</sup>等昆虫基因组测序的基本完成,昆虫蛋白质组学的研究进入到一个崭新的发展阶段。

### 1 在昆虫遗传学上的应用

在突变体研究上,通过双向电泳技术分离、质谱鉴定等蛋白质组学方法对差异蛋白进行检测鉴定,为研究突变背后的生化过程提供有价值的信息。脆性X综合征是由于脆性X智力低下蛋白(FMRP)缺

\* 收稿日期 2010-07-31 修回日期 2010-09-12

资助项目 国家自然科学基金(No. 30870340);重庆市教委科学技术研究项目(No. KJ100620)

作者简介 胡文霞,女,硕士研究生,研究方向为昆虫分子生物学,通讯作者 陈斌, E-mail: c\_bin@hotmail.com

失引起的一种遗传性疾病。在果蝇中已建立脆性 X 综合征的模型,果蝇中人类 *fmr1* 同源基因 *dfmr1* 突变与人类的脆性 X 综合征症状非常类似<sup>[8-9]</sup>。张永清<sup>[10]</sup>等通过双向电泳技术果蝇突变体(*dfmr1* 基因缺失)进行研究,质谱结果发现该突变体中苯丙氨酸羟化酶与 GTP 水解酶介导了多巴胺和 5-羟色胺的合成途径,且活性明显上调,而且神经化学分析发现在突变体大脑中多巴胺和 5-羟色胺含量也明显增高。这一研究结果对人类精神疾病的研究提供了可能的解释。靳远祥<sup>[11-12]</sup>等采用双向电泳分别对家蚕正常及 Ng 突变体雌蛾性附腺分泌部组织的蛋白质进行分离,银染得到的电泳图谱,分离约 700 个蛋白点。发现有 4 个和 2 个蛋白分别只在正常和 Ng 突变体中特异表达。此外,约有 29 种蛋白在正常性附腺分泌部组织中的表达水平明显高于 Ng 突变,而约有 15 种蛋白在 Ng 突变体的分泌部组织中表达水平较高。进一步对这些差异蛋白进行鉴定和功能分析,发现肌动蛋白 A3 只在化蛹后期正常的雌性附腺组织特异表达。这些差异可能与 Ng 突变的形成和导致这种突变体的性附腺不能正常分泌粘性蛋白的性状有关。

## 2 在昆虫发育生物学上的应用

果蝇是发育生物学研究中非常重要的模式生物。腹沟的形成是果蝇原肠胚时期一个关键的形态发生事件。Gong<sup>[13]</sup>等采用荧光差异电泳(DIGE)方法对腹侧与单侧胚胎进行比较分析,超过 55 个蛋白被鉴定在表达量或是亚型上发生了变化。令人奇怪的是,这些差异的蛋白质大多数在原肠胚形成前表现良好,只有少数蛋白质随着原肠胚形成,表达量发生了改变,表明腹部细胞是细胞形变的根本,而且还在腹部和侧面胚胎存在 3 种蛋白酶体亚基的差异。家蚕催青期胚胎发育是蚕体内一系列生理生化反应的体现,是控制胚胎发育的基因有序表达的结果。钟伯雄、颜新培<sup>[14-16]</sup>等以连续发育的家蚕胚胎为材料,采用双向电泳技术,从蛋白质水平对催青期各个时期的胚胎蛋白质进行分离,发现不同胚胎发育时期之间的蛋白质图谱相互间存在差异,点青期和转青期两个胚胎出现的特异蛋白斑点数在整个催青期胚胎中为最多。与催青前期胚胎出现的特异蛋白斑点变化规律相似,这些特异蛋白斑点大多也是在随后邻近的胚胎发育中消失,推测可能与相应胚胎的形体特征发育有关。对胚胎发育过程中蛋白质变化的分析,为从分子水平上阐明家蚕胚胎发育的机理

提供了切入点。

## 3 在昆虫亚细胞器研究上的应用

目前,利用 2-DE 技术来研究昆虫不同组织、器官及亚细胞水平的蛋白质组已有很多报道。亚细胞蛋白质组学,即针对胞内不同区域及结构功能单位进行蛋白质组学研究<sup>[17]</sup>。2007 年 Li 等<sup>[18]</sup>对滞育的肉蝇(*Sarcophaga crassipalpis*)蛹脑部蛋白利用双向电泳技术,分离得到大约 440 个蛋白点,并对其中 18 个蛋白点进行质谱鉴定。发现其中热激蛋白类(热激蛋白 70 和小分子热激蛋白)在滞育的家蝇脑部发生了显著的上调;磷酸烯醇丙酮酸合成酶(Phosphoenol pyruvate synthase),脂肪酸结合蛋白(Fatty acid binding protein),核酸内切酶(Endonuclease)在滞育的脑部中发生了显著的下调反应。这一结果与早期从分子水平得到的 mRNA 编码的 hsp 在滞育期脑部表达一致。并且认为这种在滞育上调的热激蛋白具有抗寒性和抑制其发育的双重功效。这也给了一个启示,对于从转录水平研究昆虫滞育来讲,利用双向电泳技术从蛋白水平来研究将是对它一个很好的补充。柞蚕(*Antheraea pernyi*)是一种典型的野蚕,其丝腺能够合成和分泌丝蛋白。2009 年徐淑荣<sup>[19]</sup>对柞蚕五龄幼虫的后部丝腺采用双向电泳技术进行分离,发现 23 个蛋白上调。进一步质谱鉴定和数据比对,其中 7 个蛋白涉及转录、翻译和代谢的调控。黑森瘦蚊(*Mayetiola destructor*)是全世界最具破坏性的小麦害虫,它的幼虫通过唾液腺分泌来控制宿主的生长和代谢。2008 年陈明顺等<sup>[20]</sup>分别从转录和蛋白质上对黑森瘦蚊幼虫的唾液腺进行了研究,蛋白质组学分析结果显示,很高比例的蛋白质直接或间接地参与了蛋白的合成,结合高比例的分泌蛋白转录子可以得出黑森瘦蚊幼虫的唾液腺确实是宿主注射蛋白质的专门组织。但 64 个蛋白未能鉴定,在唾液腺中缺乏分泌蛋白的累积,推测很可能是有些分泌蛋白在合成开始即被分泌。

## 4 在昆虫免疫学上的应用

糖蛋白在昆虫生理学中发挥重要作用。近年来,针对糖蛋白的研究,特别是一些与疾病和免疫有关的糖蛋白研究已成热点,为认识一些疾病的分子机理奠定了理论基础,并为通过基因工程手段治疗这些疾病提供了作用靶标。王楚桃<sup>[21]</sup>以感染金龟子绿僵菌的东亚飞蝗(*Locusta migratoria*)血淋巴为

研究对象,首次用高通量、高分辨率的双向电泳技术在感病昆虫血淋巴中筛选出了 13 个差异表达糖蛋白点。通过对差异糖蛋白肽质量指纹图谱和肽段 *de novo* 测序分析,鉴定出了其中的 3 个蛋白,分析推测了这 3 个糖蛋白可能与昆虫的免疫反应有关。

## 5 在昆虫毒理学上的应用

在昆虫毒理研究上,通过双向电泳技术对蛋白进行分离鉴定,是寻找抗性相关蛋白的重要途径。Sharma<sup>[22]</sup>等采用差异蛋白质学方法,利用双向电泳技术分离经氨基甲酸盐处理后的褐飞虱(*Nilaparvata lugens*),比较分析后发现,有 22 个蛋白表达水平发生了变化,其中 10 个呈现上调表达,8 个下调表达和 4 个特异表达。经氨基酸序列分析及数据库检索,这些蛋白分别为丝氨酸蛋白激酶、副肌球蛋白、Hsp90、ATP 酶等,这些蛋白的差异表达反映了经杀虫剂处理后整个细胞结构和新陈代谢的改变。昆虫对拟除虫菊酯类毒素的抗性研究一直使用的是传统生物化学和分子方法。Jin 等<sup>[23]</sup>采用蛋白质组学方法对经拟除虫菊酯类毒素处理不同时间的桔小实蝇(*Bactrocera dorsalis*)幼体进行研究,结果发现很多蛋白在调控水平上发生了改变。在 15 个蛋白中,9 个蛋白只在经拟除虫菊酯类毒素处理后表达,其余 6 个显示出差异表达。经质谱和肽指纹图谱分析比对,发现抗性反应与上调的甘油三磷酸脱氢酶(Glycerol-3-phosphate dehydrogenase)和下调的 ATP-ADP 逆向转运蛋白有关联。它表明增强代谢和能量确实能抵抗拟除虫菊酯类毒素。这一结果为进一步研究昆虫抗化学杀虫剂的反应提供依据。Park 等<sup>[24]</sup>采用蛋白质组学方法,用双向电泳技术对谷蠹(*Rhyzopertha dominica*)成虫的磷化氢敏感(RD2)和耐株(CRD343)进行了分离。结果发现,15 个蛋白下调表达,而 6 个只在耐磷化氢株(CRD343)中表达。经质谱鉴定,下调的蛋白质鉴定为精氨酸激酶,二氢脱氢酶,甘油三磷酸脱氢酶等,二氢脱氢酶参与三羧酸循环途径,而甘油三磷酸脱氢酶和磷酸丙糖异构酶参与糖酵解过程。鉴定的上调蛋白是谷氨酸消旋酶,卵黄蛋白等。总结发现,磷化氢影响糖酵解和三羧酸循环,并且烯醇化酶的诱导可能恢复这种功能紊乱。

## 6 在昆虫行为学上的应用

蜜蜂是一种重要的经济动物,同时它也是研究社会行为和学习记忆导航行为的模式生物。2006

年随着蜜蜂基因组测序的完成,对其蛋白质组学研究也随之展开。蜜蜂的蕈形体(Mushroom body)是蜜蜂等昆虫原脑的中心部分,也是神经细胞及其神经纤维的聚集中心,对蜜蜂的社会行为起到重要的作用。Uno 等<sup>[25]</sup>对蜜蜂脑部的蕈形体和视叶通过双向电泳技术分离,图谱比较显示分别有 5 个和 3 个蛋白在蕈形体或视叶里选择性表达,其中在蕈形体选择表达的蛋白 2 个经质谱得到鉴定,为 cAMP 依赖性蛋白激酶(cAMP-dependent protein kinase, PKA)和保幼激素二醇激酶(Juvenile hormone diolkinase),在视叶里 1 个得到鉴定为 3-磷酸甘油醛脱氢酶(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase),且原位杂交显示保幼激素二醇激酶上调表达,而 3-磷酸甘油醛脱氢酶下调表达,这种差异表达可能为研究蜜蜂的社会行为提供有利线索。紫外灯光放射紫外线(320 ~ 400 nm),已被全球广泛用于诱杀害虫。Meng<sup>[26]</sup>以在紫外灯下照射 1h 的 3 龄棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)为研究对象,采用双向电泳技术分离,超过 1 200 个蛋白点被重复检测,其中 12 个蛋白表达量上调,21 个下调表达,质谱鉴定得到 29 个差异表达的蛋白质,这些蛋白质涉及信号转导,蛋白合成,代谢及细胞结构等功能。这也是首次分析趋光性昆虫在紫外光照射下的差异蛋白表达,这项研究为研究昆虫在紫外灯照射应急反应的适应机制带来了新的解释。

## 7 在媒介昆虫的应用

昆虫往往是某些微生物的寄主,利用蛋白质组学研究寄主昆虫与病原体间相互关系,可为植物病害治理及人畜疾病预防与治疗提供基础。蚊子蛋白质组学研究成为人们寻找和追踪疟疾和其他病原菌传播的重要方法。媒介昆虫中研究最多的是恶性疟原虫的寄主冈比亚按蚊。Lefevre<sup>[27]</sup>等采用差异荧光双向电泳对被疟疾感染的冈比亚按蚊和未被感染的蚊子的头部蛋白组进行分离,被感染的蚊子头部有 12 个蛋白在表达水平上发生了变化,质谱结果显示这些差异蛋白与代谢、突触、分子伴侣、信号传导及细胞骨架相关,同时也鉴定了一些表达量上调和下调的蛋白质。这些差异蛋白的发现揭示了其行为修饰的内在分子机制,也为疟原虫与按蚊相互作用的研究提供了新的见解。蚊子在吸食人血、传播疾病的时候,唾液腺在这过程中起了关键的作用,在唾液腺中合成的蛋白对寄生物疟原虫的生活史非常重要<sup>[28]</sup>。2005 年, Kalume<sup>[29]</sup>等应用蛋白质组学方法

对蚊子的唾液腺进行了研究,发现在 69 个鉴定出的蛋白中有 57 个是新蛋白,生物信息学分析表明其中许多蛋白已经有了 cDNA 片段的序列,唾液腺蛋白质组工作作为研究按蚊与疟原虫的防治提供了新的研究思路。Valenzuela<sup>[30]</sup>等利用蛋白质组学方法,分离鉴定一些沙蝇(*Lutzomyia longipalpis*)唾液腺分泌蛋白,其中有的与利氏曼原虫(*Leishmania chagasi*)寄生人体密切相关。这些可以作为利氏曼原虫病的诊断标记,也应用于疫苗开发。

## 8 展望

双向电泳以其高分辨率、简单、快速等优点在蛋白质组学研究领域得到普遍应用。但是样品制备、电泳和蛋白质检测等方面仍然存在着问题。目前出现的差异凝胶电泳技术(DIGE)较之传统的双向电泳在很大程度上得到改进,极大地提高了结果的准确性、可靠性和重复性。相信随着技术的进一步提高,其在蛋白质组学研究中将发挥更大的作用。

昆虫种类繁多、生境复杂、生活史多变,在陆生动物中占有特殊的地位,对其深入地研究不仅具有重大科学意义且在生产实践中具有很高的实用价值。目前,昆虫的体壁、围食膜和卵壳的蛋白质还难以充分提取;昆虫在发育过程中存在变态现象,这大大增加了其蛋白质数据库建立的工作量,且昆虫种类极多,难以建立包含众多种类昆虫的蛋白质数据库,利用双向电泳技术完善该项工作对阐明昆虫生长发育、生理生化性质、代谢调控等方面将发挥重大作用。

### 参考文献:

- [1] 钱小红,贺福初. 蛋白质组学 理论与方法[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [2] Rabitloud T. Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: old, old fashioned, but it still climbs up the mountains[J]. Proteomics 2002 2(2): 3-10.
- [3] Fey J S, Larsen P M. 2D or not 2D[J]. Current Opinion Chemical Biology 2001 5(1): 26-33.
- [4] Myers E W, Sutton G G, Delcher A L, et al. A whole-genome assembly of drosophila[J]. Science, 2000, 287(5461): 2196-2204.
- [5] Xia Q, Zhou Z, Lu C, et al. A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*)[J]. Science, 2004 306(5703): 1937-1940.
- [6] Honeybee Genome Sequencing Consortium. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*[J]. Nature 2006 444(7114): 931-949.
- [7] Holt R A, Subramanian G M, Halpern A, et al. The genome sequence of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*[J]. Science 2002 298(5591): 129-149.
- [8] Morales J, Hiesinger P R, Schroeder A J, et al. Drosophila fragile X protein, DFXR, regulates neuronal morphology and function in the brain[J]. Neuron 2002 34(6): 961-972.
- [9] Zhang Y Q, Bailey A M, Matthies H J, et al. Drosophila fragile X-related gene regulates the MAP1B homolog futsch to control synaptic structure and function[J]. Cell 2001, 107(5): 591-603.
- [10] Zhangy Q, Friedman D B, Wang Z, et al. Protein expression profiling of the drosophila fragile X mutant brain reveals up-regulation of monoamine synthesis[J]. Mol Cell Proteomics 2005 4(3): 278-290.
- [11] 靳远祥,徐孟奎,陈玉银,等. 家蚕雌性附腺及其 Ng 突变体的蛋白质组差异研究[J]. 生物化学与生物物理进展 2004 31(7): 622-627.
- [12] 靳远祥,徐孟奎,陈玉银,等. 家蚕雌性附腺及其 Ng 突变体的蛋白质组双向电泳图谱分析[J]. 生物工程学报 2004 20(4): 590-594.
- [13] Gong L, Puri M, Unlü M, et al. Drosophila ventral furrow morphogenesis: a proteomic analysis[J]. Development, 2004 131(3): 643-656.
- [14] 钟伯雄,陈金娥,颜新培,等. 家蚕催青后期胚胎蛋白质双向电泳图谱分析[J]. 昆虫学报, 2005, 48(4): 637-642.
- [15] 颜新培,钟伯雄,曹家树,等. 家蚕催青期胚胎蛋白质图谱的建立[J]. 蚕业科学 2004(1): 28-33.
- [16] 颜新培,钟伯雄,徐孟奎,等. 家蚕催青前期胚胎蛋白质双向电泳图谱分析[J]. 昆虫学报, 2005, 48(2): 295-300.
- [17] Jung E, Heller M, Schieltz D M, et al. Proteomics meets cell biology: the establishment of subcellular proteomes[J]. Electrophoresis 2000 21(16): 3369-3377.
- [18] Li A Q, Popova-butler A, Dean D H, et al. Proteomics of the flesh fly brain reveals an abundance of upregulated heat shock proteins during pupal diapause[J]. Journal of Insect Physiology 2007 53(4): 385-391.
- [19] Xu S R, Liu D M, Li W L. Upregulated proteins associated with fibroin synthesis in posterior silk glands of *Antheraea pernyi* fifth instar larvae[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics 2009 4(2): 105-110.
- [20] Chen M S, Zhao H X, Zhu Y C, et al. Analysis of transcripts and proteins expressed in the salivary glands of hessian fly (*Mayetiola destructor*) larvae[J]. Journal of Insect Physiology 2008 54(1): 1-16.
- [21] Wang C T, Caoy Q, Wang Z K, et al. Differentially-ex-

pressed glycoproteins in *Locusta migratoria* hemolymph infected with metarhizium anisopliae[ J ]. Journal of Invertebrate Pathology 2007 96( 3 ) 230-236.

- [ 22 ] Sharma R , Komatsu S , Noda H. Proteomic analysis of brown plant hopper :application to the study of carbamate toxicity[ J ]. Insect Biochemistry and Molecular Biology , 2004 34( 5 ) :425-432.
- [ 23 ] Jin T , Zeng L , Lu Y X , et al. Identification of resistance-responsive proteins in larvae of *Bactrocera dorsalis*( Henedel ) for pyrethroid toxicity by a proteomic approach[ J ]. Pesticide Biochemistry and Physiology 2010 96( 1 ) :1-7.
- [ 24 ] Park B S , Lee B H , Kim T W , et al. Proteomic evaluation of adults of *Rhyzopertha dominica* resistant to phosphine [ J ]. Environmental Toxicology and Pharmacology , 2008 , 25 ( 1 ) :121-126.
- [ 25 ] Uno Y , Fujiyuki T , Morioka M , et al. Identification of proteins whose expression is up- or down-regulated in the mushroom bodies in the honeybee brain using proteomics [ J ]. FEBS Letter 2007 581 ( 1 ) 97-101.
- [ 26 ] Meng J Y , Zhang C Y , Lei C L. A proteomic analysis of *Helicoverpa armigera* adults after exposure to UV light irradiation[ J ]. Journal of Insect Physiology 2010 56( 4 ) :405-411.
- [ 27 ] Lefevre T , Thomas F , Schwartz A , et al. Malaria plasmodium agent induces alteration in the head proteome of their anopheles mosquito host[ J ]. Proteomics , 2007 , 7( 11 ) : 1908-1 915.
- [ 28 ] 邹勇 , 侯勇 , 刘鸿丽 , 等. 蛋白质组学方法在昆虫蛋白质研究中的应用[ J ]. 蚕学通讯 2007 27( 2 ) 21-27.
- [ 29 ] Kalume D E , Okulate M , Zhong J , et al. A proteomic analysis of salivary gland s of female anopheles gambiae mosquito[ J ]. Proteomics 2005 5( 14 ) 3765-3777.
- [ 30 ] Valenzuela J G , Garfield M , Rowton E D , et al. Identification of the most abundant secreted proteins from the salivary glands of the sand fly lutzomyia longipalpis , vector of *Leishmania chagas*[ J ]. Journal of Experimental Biology , 2004 207 ( 21 ) 3717-3729.

## Animal Sciences

### The Application of Two-dimensional Electrophoresis Technology in Entomological Research

HU Wen-xia , CHEN Bin , WANG Lin-ling , FENG Guo-zhong

( Institute of Entomology and Molecular Biology , Chongqing Engineering Research Center of Bioactive Substances , Chongqing Key Laboratory of Animal Biology , Chongqing Normal University , Chongqing 400047 , China )

**Abstract :** As life sciences into post-genome era , proteomics is becoming the new research hot spot. Two-dimensional electrophoresis technology , which has the advantages of high sensitivity , high resolution and simultaneously resolving thousands of proteins in one separation procedure , as a core technology of proteomics in life sciences , is playing an irreplaceably important role. In recent years , with the full genome sequence of model insects had been determined , such insects as *Drosophila melanogaster* , *Bombyx mori* , *Apis mellifera* and *Anopheles gambiae* , the study of insect proteomics was developed quickly. This paper reviewed the current application of two-dimensional electrophoresis in entomological research , including those in insect genetics , developmental biology , subcellular organelles , immunology , toxicology , behavior and vector entomology. We can find from results that the change of insect on mutant , development , resistance , behavior is closely related with the different expression of the proteins or the change of protein hypotype , and identified the related proteins. This research on insect play an important part in revealing the comprehensive grow and development , physiological and biochemical characteristics and so on. Meanwhile , it is also provided a very good complement for the transcription level's research. How to improve the accuracy and repeatability of two-dimensional electrophoresis technology , to study the insects more extensive and in-depth will be the focus of future research.

**Key words :** two-dimensional electrophoresis ; insect ; proteomics