

松材线虫细胞色素 P450 基因家族及药物胁迫表达谱分析

姬党成, 金奕亨, 郝昕, 熊忠平*

(西南林业大学, 林学院, 云南昆明 650224)

摘 要:【目的】本研究旨在松材线虫 (*Bursaphelenchus xylophilus*) 的全蛋白序列中鉴定细胞色素 P450 基因家族成员 (Cytochrome P450, CYP450), 并初步预测其蛋白质的理化性质和结构功能。最后通过药物胁迫下的表达情况, 识别关键上调基因并通过对上调基因对应的蛋白质进行分子对接。为基于 CYP450 酶的靶标药物研究提供参考。【方法】利用 HMMER 软件构建模式线虫的 CYP450 隐马尔可夫模型 (HMM), 并应用该模型对松材线虫全蛋白序列进行比对搜索, 以识别 CYP450 候选序列。随后, 通过 ExPASy、WoLF PSORT、SOPMA、Swiss-Model、MAFFT、MEME、CD-Search 和 TBtools 等软件和在线工具对候选序列进行筛选和清洗, 最终确定松材线虫 CYP450 基因家族成员并分析了这些基因家族成员的基因结构、亚细胞定位、染色体定位、蛋白质序列特征、理化性质、二级结构和三级结构。通过 MAFFT 和 IQtree 软件构建了松材线虫 CYP450 蛋白家族成员的系统发育树。基于这些信息, 本研究提取并分析了多个药物转录组数据, 构建了松材线虫 CYP450 家族的药物胁迫表达谱, 并筛选出关键上调基因。利用 AlphaFold 2 对这些基因表达的蛋白质进行折叠预测, 并结合 Autodock vina 软件进行分子对接, 以确定其结合位点。【结果】通过 HMM 搜索和保守结构域分析, 共鉴定出 50 个松材线虫 CYP450 基因家族成员 (*Bx-cyp-1* 至 *Bx-cyp-50*)。这些家族蛋白成员均为亲水性, 长度在 434 至 1410 个氨基酸残基之间, 相对分子质量在 49.41 kD 至 160.89 kD 之间, 理论等电点为 5.30 至 9.32, 且多数成员富含酸性氨基酸。亚细胞定位分析显示, 20 个家族成员位于内质网, 其次是线粒体、细胞质膜、细胞质基质和细胞骨架, 分别有 12 个、12 个、5 个和 1 个。二级结构分析表明, α -螺旋是家族蛋白质的主要组成部分, 占比在 38.87%至 50.49%之间, 而无规则卷曲占比在 30.41%至 41.54%, 为次要部分。 β -折叠和 β -转角的占比分别为 8.21%至 19.54%和 3.37%至 8.23%。染色体定位和系统发育分析表明, 松材线虫细胞色素 P450 家族分为 CYP II、CYP III和 CYP IV三个亚家族, 其中 CYP II亚家族成员最多, 共有 38 个。这些基因在染色体上不均匀分布, 显示出一定程度的基因复制。在甲维盐、鱼藤酮和左旋咪唑的胁迫下, 基因 *Bx-cyp-41* 显著上调, 而在鱼藤酮和左旋咪唑胁迫下, 基因 *Bx-cyp-44* 也表现出显著上调。分子对接分析显示, 除了左旋咪唑外, 其他分子与蛋白质的结合能均低于-7 kcal/mol, 显示出良好的亲和力。尽管不同蛋白质均能与分子形成作用力, 但 *Bx-CYP-44* 蛋白与左旋咪唑的分子对接时未形成氢键作用力。【结论】本研究通过生物信息学分析, 对松材线虫细胞色素 P450 基因家族的结构与功能进行了初步预测, 并通过基因表达模式分析验证了这些基因作为松材线虫体内重要的解毒酶。特别是 *Bx-cyp-41* 和 *Bx-cyp-44* 基因, 被认为是关键的解毒基因。这些发现为基于细胞色素 P450 蛋白的生物活性杀线剂研究提供了重要的参考。

关键词: 松材线虫; 细胞色素 P450; 基因家族分析; 基因表达分析