

脱镁叶绿酸钠靶向结合忽视拟盘多毛孢 PnCHS1 的作用方式研究

杨璟^{1,*} 张琦¹ 罗念¹

(贵州大学 林学院 550025)

摘要:【目的】研究脱镁叶绿酸钠(sodium pheophorbide a, SPA)对忽视拟盘多毛孢(*Pestalotiopsis neglecta*, *Pn*)菌丝细胞壁几丁质合成的影响,探讨脱镁叶绿酸钠与忽视拟盘多毛孢 PnCHS1 的分子对接模式,明确脱镁叶绿酸钠靶向结合 PnCHS1/2 的作用方式。【方法】利用 Ekm-Morgari 法测单氨基糖含量间接测量未经光活化的 SPA 处理对 *Pn* 细胞壁中几丁质含量的影响,对几丁质合成酶编码基因 *PnCHS1* 进行原核表达,荧光定量 PCR 分析 SPA 处理对 *PnCHS1/2* 基因相对表达的影响,通过 AutoDock Vina 1.1.2 对受体蛋白与配体小分子进行分子对接,给亲和能打分,最后采用分子动力学模拟分析 PnCHS1/2 蛋白与 SPA 分子间相互作用。【结果】不同浓度 SPA 处理均显著降低了 *Pn* 细胞壁中几丁质含量($P<0.05$),且呈现浓度依赖型;通过基因克隆与原核表达,获得 *PnCHS1* 基因 CDS 全长 2745 bp,编码 914 个氨基酸,蛋白质相对含量为 101.8 kDa;基于 AMBER 力场的结合能预测算法,预测得配体与受体间的结合能为-10.0 kcal/mol, PnCHS1 蛋白的 Arg543 残基的侧链胍基 N-H 与小分子的羧羟基形成了两根氢键,键长分别为 3.2 Å 和 3.0Å, Thr528 残基的侧链羟基与小分子的酮基 O 形成了键长为 3.2 Å 的氢键,配体结合于蛋白质的内部空腔,且自由能较低,表明配体和受体形成了较稳定的复合物;在分子动力学模拟的 100 ns 过程中,SPA 分子与 PnCHS1 蛋白之间的结合较为紧密,始终未出现脱离蛋白的现象,保持于蛋白的结合空腔内振动,与蛋白质间形成至少 1 根的氢键,结合比较紧密。【结论】SPA 以细胞壁生物合成关键酶几丁质合酶蛋白 PnCHS1/2 为潜在靶标,表明 SPA 可能存在对 *Pn* 细胞壁合成的非光依赖性抑菌作用机制。研究结果可为 SPA 的进一步开发应用提供新的理论依据。

关键词: 脱镁叶绿酸钠; 几丁质合酶; 忽视拟盘多毛孢; 分子对接模拟; 靶标