

汪宇,孙浩,朱家颖,等. 云南切梢小蠹气味结合蛋白的分子对接[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):132-134.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.044

云南切梢小蠹气味结合蛋白的分子对接

汪宇¹,孙浩²,朱家颖¹,赵宁¹,杨斌¹

(1. 西南林业大学/云南省森林灾害预警与控制重点实验室,云南昆明 650224; 2. 西南林业大学理学院,云南昆明 650224)

摘要:为研究云南切梢小蠹(*Tomicus yunnanensis*)气味结合蛋白(odorant binding proteins,OBPs)参与其嗅觉识别过程的机理,基于气味结合蛋白、绿叶挥发性物质的三维结构,采用分子对接方法对云南切梢小蠹 OBP 与 3 个绿叶挥发性物质可能的结合方式和结合能力进行模拟,结果表明,(*E*)-2-己烯醇较其他 2 个小分子而言更容易与云南切梢小蠹 OBP 结合,形成稳定的氢键。(*E*)-2-己烯醇与 TyunOBP2 结合能最低,更容易与 TyunOBP2 结合,TyunOBP2 与小分子物质的结合,可能通过占有该蛋白与寄主气味结合的空间或者通过改变 TyunOBP2 三维结构,导致 TyunOBP2 难以识别寄主松树散发的的气味。

关键词:气味结合蛋白;分子对接;三维结构;云南切梢小蠹;嗅觉识别;挥发性物质

中图分类号:S433.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)05-0132-03

以计算机为工具,通过理论模拟来指导辅助新型干扰剂分子的设计,可以避免研发干扰剂的盲目性并缩短干扰剂开发周期^[1]。例如,受体的三维结构通常用于解释配体和受体的相互作用机制、生物化学反应过程、分子生物学数据以及设计合理的新型抑制剂等^[2]。蛋白质-小分子的分子对接是在已知的三维结构下,观察它们之间是否可以结合并预测复合物的结合模式,把配体小分子放在受体活性位点区间,然后按照几何互补、能量互补以及化学环境互补原则来评价配体与受体之间的关系,寻找两者之间的最佳结合模式^[3]。不少植食性昆虫都通过嗅觉识别来感受植物释放的挥发性物质。参与嗅觉最重要的蛋白质包括气味结合蛋白(OBP)、化学感受蛋白(CSP)、嗅觉受体(OR)、味觉受体(GR)^[3-4]。气味物质与昆虫气味结合蛋白(OBP)结合是云南切梢小蠹(*Tomicus yunnanensis*)识别气味物质的基础,也是引发昆虫生理反应、行为反应的首要条件。云南切梢小蠹是我国西南地区云南松的重要害虫,专化性较强。自然条件下,云南切梢小蠹以云南松为寄主,搜寻寄主过程中,不可避免会遇上各类非寄主植物。研究表明,非寄主阔叶树种植物散发的绿叶气味物质能干扰小蠹虫识别寄主植物的能力,成为搜寻寄主的障碍^[5-6]。本研究选用已经克隆获得的云南切梢小蠹气味结合蛋白 TyunOBP2 为对象^[3],将 TyunOBP2 与绿叶挥发性物质进行分子对接,获得其复合物结构模型,通过配体与受体之间相互作用能和结构分析给出气味结合蛋白与绿叶挥发性物质的具体结合方式,阐明其干扰机制,旨在为利用非寄主植物的次生代谢产物调控云南切梢小蠹提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

云南切梢小蠹 TyunOBP2 基因序列来源于 GenBank (登录号:YN-2E01NAXM0001_B03.seq)。所用同源模建的结构与配体小分子的晶体数据都由分子绘图 GaussView 软件生成优化。

1.2 方法

AutoDock 是半柔性配体整体分子自动对接程序,允许小分子构象发生变化^[7]。进行配体取向及构象搜索时,采用模拟退火、遗传算法来寻找最优结合取向和构象,用半经验自由能计算方法来评价受体、配体之间的匹配情况。采用绿叶挥发性物质:(*E*)-2-己烯醛、(*E*)-2-己烯醇、(*Z*)-3-己烯醇与模建气味蛋白进行对接,讨论其与受体的相互作用。

应用 Autodock tool 对蛋白质及小分子结构进行编辑,并转换成 pdbqt 格式,应用 Autodock tool 进行刚性对接,将 GridBox 大小设置为 60 点 × 60 点 × 60 点,格点间距 0.037 5 nm,即空间大小为 2.25 nm × 2.25 nm × 2.25 nm。将此晶格的中心位于预测得到的蛋白质活性中心附近,运用 Lamarckian 遗传算法 LGA,将能量搜索与遗传算法相结合,以半经验势能函数作为自由能打分函数,对小分子构象及位置进行全局搜索,利用评分网格以及对接参数(Population 为 150,Maximun_num_evals 设置为 2 500 000)进行分子对接,并进行评分,计算小分子与生物大分子的结合强度(结合自由能)^[8]。应用均方根偏差(RMSD,表示预测构象对实际构象的偏差)对对接结果进行评价分析。

2 结果与分析

2.1 结合自由能

在 Autodock4 进行循环搜寻对接构象后,以能量绝对值打分较高的前提下,选取均方根偏差较小的构象进行研究分析,从对接计算得到的聚类构象以及(*E*)-2-己烯醛、(*E*)-2-己烯醇、(*Z*)-3-己烯醇对接的结合能对比结果

收稿日期:2015-01-18

基金项目:国家自然科学基金(编号:31260179);国家林业公益性行业科研专项(编号:201004067)。

作者简介:汪宇(1989—),男,江苏扬州人,硕士研究生,从事昆虫生理生化与分子生物学研究。E-mail:feihanhai@sina.com。

通信作者:杨斌,博士,教授,从事森林灾害生态控制及森林植物与有害生物互作关系研究。E-mail:yangbin48053@163.com。

可以看出,3 个受体中对接的残基不同直接导致配体在受体中的构象不同(图 1),受体中的氧原子与(E)-2-己烯醇的羧基氢形成的氢键能量和表 1 中的相互作用势能要低于另外

2 个小分子结合的势能,表明气味结合蛋白分子对(E)-2-己烯醇具有更高的亲和力。

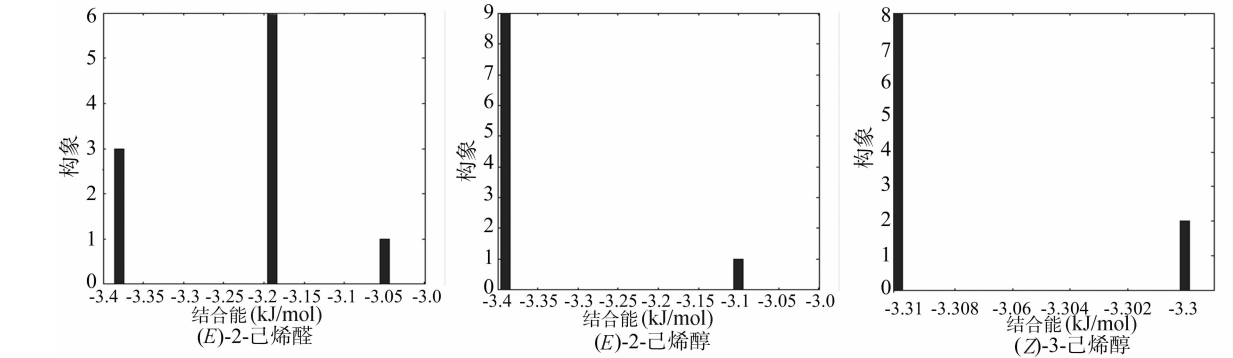

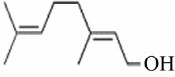



图1 3 种绿叶挥发物的结合能聚类

表 1 小分子与受体对接的结合能对比结果		
配体分子	平面结构	结合能 (kJ/mol)
(E)-2-己烯醛		-3.38
(E)-2-己烯醇		-3.39
(Z)-3-己烯醇		-3.31

2.2 结合模式

从图 2 可以看出,云南切梢小蠹 OBP 活性位点位于蛋白质表面上的凹槽中,周围分布 OBP 的重要功能残基。在多种作用力的参与下,化合物(E)-2-己烯醛、(E)-2-己烯醇、(Z)-3-己烯醇牢固地结合在活性位点。从口袋结合模式看,与其他 2 个小分子相比,(E)-2-己烯醇较深入地进入了 OBP 的活性口袋,这是由于(E)-2-己烯醇较容易形成稳定的氢键,以利于其深入口袋(图 3、图 4)。

3 结论与讨论

(E)-2-己烯醛、(E)-2-己烯醇、(Z)-3-己烯醇是

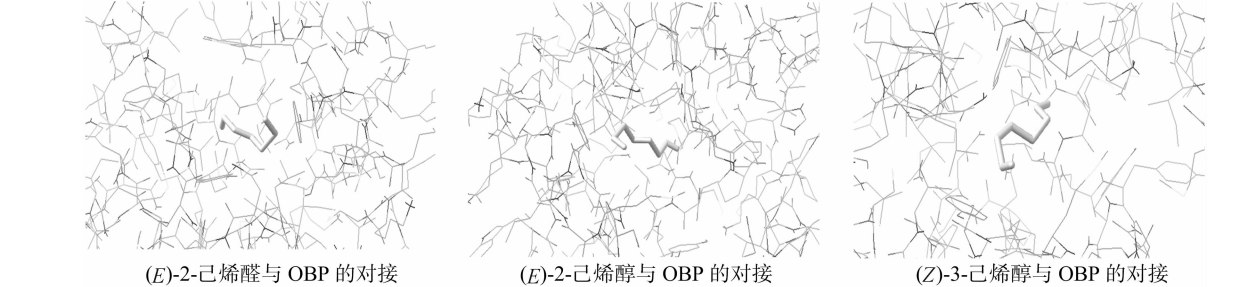


图2 3 种绿叶挥发物与云南切梢小蠹 OBP 活性位点的结合模式

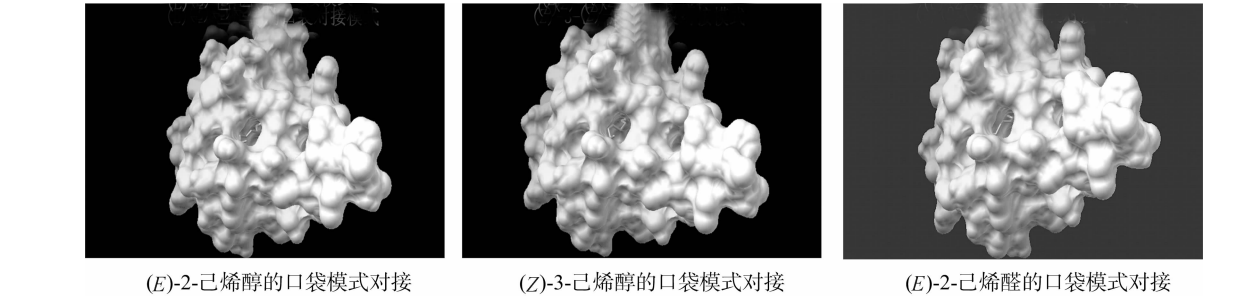
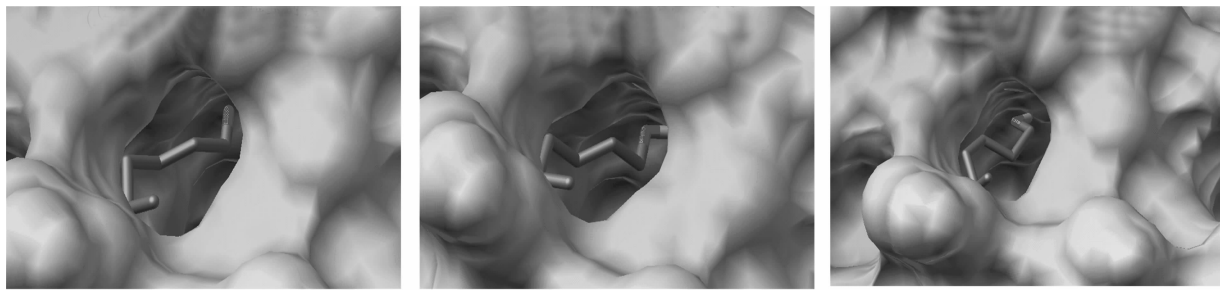


图3 3 种绿叶挥发物与云南切梢小蠹 OBP 活性口袋的结合模式

非寄主植物阔叶树的主要挥发性物质,是 6 个碳的绿叶挥发性物质。当这 3 种绿叶挥发性物质与寄主植物的气味相混合时,会对小蠹虫选择产生干扰^[9-10]。本研究结果表明,(E)-2-己烯醇较其他 2 个小分子而言,更容易与云南切梢小蠹 OBP 结合,形成稳定的氢键。从化学结构来看,

(E)-2-己烯醇中的糖取代基、羧基较多,更容易形成氢键;(E)-2-己烯醛、(Z)-3-己烯醇中的羧基相对较少,形成的氢键较少,导致 3 种绿叶挥发性物质的结合能各不相同。王大伟等认为,48 h 后,经(E)-2-己烯醇处理后留在松梢外的云南切梢小蠹数量最多,(E)-2-己烯醇处理对云南切



(E)-2-己烯醛的口袋模式对接

(E)-2-己烯醇的口袋模式对接

(Z)-3-己烯醇的口袋模式对接

图4 3种绿叶挥发物与云南切梢小蠹 OBP 活性口袋的结合模式(局部)

梢小蠹影响最大^[10]。本研究结果表明,(E)-2-己烯醇与 TyunOBP2 结合能最低,更容易与 TyunOBP2 结合, TyunOBP2 与小分子物质的结合,可能通过占有该蛋白与寄主气味结合的空间或者通过改变 TyunOBP2 三维结构,导致 TyunOBP2 难以识别寄主松树散发的气味。从对接的结合模式图来看,小分子与受体分子表面的作用也是决定其活性的重要因素之一,(E)-2-己烯醇和 OBP 之间可能存在疏水作用力、范德华力,导致其结合能较低^[11];因此,加强小分子的疏水性或者形成氢键能力均有可能增强化合物的抑制活性^[12]。本研究选用云南切梢小蠹 1 个已知的气味结合蛋白作为对象,计算并模拟 TyunOBP2 与 3 个绿叶气味物质的分子对接,计算结果与前人试验结果一致,说明利用同源建模和分子对接方法模拟气味物质与气味结合蛋白结合有一定的可靠性。实际上,昆虫在进化过程中发展多个气味结合蛋白识别多种气味物质,云南切梢小蠹也有多个气味结合蛋白^[3],是否还存在比 TyunOBP2 更容易与小分子绿叶气味物质结合的其他气味结合蛋白还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 贾亚翔,崔古贞,张青叶,等. 肺炎链球菌 *HMGS* 基因克隆及同源建模[J]. 山东医药,2010,50(1):82-83.
- [2] 王建国,马 宁,王宝雷,等. *N*-[2-(4-甲基)嘧啶基]-*N'*-2-硝基苯磺酰脲的合成、晶体结构、生物活性及其与酵母 AHAS 的分子对接[J]. 有机化学,2006,26(5):648-652.
- [3] Jy Z, Zhao N, Yang B. Global transcriptome profiling of the pine shoot

beetle, *Tomicus yunnanensis* [J]. International Journal of Genomics, 2012,7(2):32291-32301.

- [4] Yue F, Yang B. Olfactory responses of *Tomicus yunnanensis* to different non-host plants [J]. Plant Diseases and Pests, 2011,2(3):27-30.
- [5] de Groot P, Macdonald L M. Green leaf volatiles inhibit response of red pine cone beetle *Conophthorus resinosae* (Coleoptera: Scolytidae) to a sex pheromone [J]. Naturwissenschaften, 1999,86(2):81-85.
- [6] 岳 锋,杨 斌. 不同非寄主植物对云南切梢小蠹嗅觉行为的影响[J]. 广东农业科学,2011,38(3):65-67.
- [7] 陈凯先,蒋华良,稽汝运. 计算机辅助药物设计——原理、方法及运用[M]. 上海:上海科学技术出版社,2000:259-281.
- [8] 李 琼,陈沛全,陈 兰,等. 酵母 AHAS 酶与磺酰脲类抑制剂作用模型的分子对接研究[J]. 高等学校化学学报,2007,28(8):1552-1555.
- [9] Dicke M, van Loon J J. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context [J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2000,97(3):237-249.
- [10] 王大伟,赵 宁,泽桑梓,等. 三种绿叶挥发性物质对云南切梢小蠹寄主定位行为的干扰作用[J]. 昆虫学报,2013,56(5):570-574.
- [11] 郁彩虹,张耀东,高裙裙,等. 分子对接和荧光光谱法研究鞣皮素与 β -葡萄糖苷酶的相互作用[J]. 光谱学与光谱分析,2011,31(8):2151-2155.
- [12] 杜志云,汤志恺,卢宇靖,等. 姜黄素类似物与酪氨酸酶相互作用的分子对接研究及应用[J]. 计算机与应用化学,2011,28(5):531-534.

(上接第 48 页)

- [9] 唐颜苹,王小媚,何 薇,等. 大肠杆菌感受态细胞保存条件的研究[J]. 华中农业大学学报,2008,27(6):745-748.
- [10] 奥斯伯,金斯顿,塞德曼,等. 精编分子生物学实验指南[M]. 马学军,跃 龙,译. 4 版. 北京:科学出版社,2005.
- [11] 杨 坤,巩振辉,李大伟,等. 大肠杆菌高效感受态细胞的制备及快捷转化体系的建立[J]. 北方园艺,2010(14):127-130.
- [12] 罗 婵,汤刚彬,谢体三,等. 感受态细胞制备与保存方法的比较研究[J]. 生物技术,2005,15(1):52-54.
- [13] 罗 锋,余 腾,范丽梅. 感受态细胞制备和质粒转化冰浴时间对大肠埃希菌转化效率的影响[J]. 江汉大学学报:自然科学版,2011,39(3):82-85.
- [14] 梁建庆,叶志华,江秀梅,等. 转化条件对质粒 DNA 转化大肠杆菌的影响[J]. 微生物学杂志,2004,24(4):15-17.
- [15] 刘进元. 分子生物学实验指导[M]. 北京:清华大学出版社,

2002:22-29.

- [16] 王友如. CaCl_2 浓度对感受态细胞转化效率的影响[J]. 湖北师范学院学报:自然科学版,2006,26(3):30-32.
- [17] 梅运军,陈向东,谢志雄,等. Ca^{2+} 对诱导大肠杆菌摄取外源 DNA 的影响[J]. 武汉大学学报:理学版,2012(4):354-358.
- [18] 恒明辉,关艳丽,陈 飞. 大肠埃希菌 DH5 α 感受态细胞转化率变化的研究[J]. 微生物学杂志,2013,33(1):63-65.
- [19] 张岚岚,徐春燕,徐昌杰. 大肠杆菌感受态细胞转化功能的影响因素[J]. 细胞生物学杂志,2004,26(4):429-432.
- [20] 陈 飞,吴红艳,恒明辉,等. Tetramycin 抗性基因克隆及生物活性的测定[J]. 微生物学杂志,2012,32(1):17-22.
- [21] Mandel M, Higa A. Calcium-dependent bacteriophage dna infection[J]. Journal of Molecular Biology, 1970,53(1):159-162.