

DOI:10.13350/j.cjpb.240510

• 论著 •

白纹伊蚊细胞色素 P450 CYP4H42v2 蛋白生物信息学分析

黄琳^{1,2}, 梁秋果¹, 杨天皓¹, 杨绚¹, 汤红日^{1,2}, 龚英¹, 刘晖², 莫兴泽^{1**}

(1. 黔南民族医学高等专科学校, 贵州都匀 558000; 2. 遵义医科大学病原生物学教研室)

【摘要】 **目的** 运用生物信息学方法预测分析白纹伊蚊细胞色素 CYP4H42v2 蛋白的结构与功能。 **方法** 基于白纹伊蚊基因组数据库筛选出 CYP4H42v2 基因并进行 PCR 验证; 利用在线软件 ExPasy 分析该基因编码的 CYP4H42v2 蛋白的理化性质和亲疏水性; 利用 HMMTOP version 2.0 和 SignalP 4.1 server 分别预测 CYP4H42v2 蛋白的跨膜结构域以及信号肽; 运用 NetPhos、NCBI-Conserved domains、SOPMA、SWISS-MODEL、IEDB 在线程序分别预测 CYP4H42v2 蛋白潜在的磷酸化位点、保守域结构、蛋白二级、三级结构及其抗原表位; 对其编码的氨基酸序列进行同源比对, 利用 MEGA X 软件构建系统进化树, 通过 STRING 数据库对其蛋白互作网络进行预测。 **结果** CYP4H42v2 基因全长 1 664 bp, 开放阅读框为 1 508 bp, 编码 502 个氨基酸; 无信号肽, 存在跨膜结构域, 为疏水性蛋白, 有潜在的磷酸化位点和保守域结构; CYP4H42v2 蛋白具有 α 螺旋、 β 折叠结构和互变异构酶活性; CYP4H42v2 蛋白具有 18 个抗原表位, 在 STRING 数据库共鉴定出 11 个相关基因以及 43 个互作关系。 **结论** 利用生物信息学方法预测分析白纹伊蚊 CYP4H42v2 基因, 发现其编码蛋白存在潜在抗原表位, 且具有多个磷酸化位点, 为 CYP4 基因在白纹伊蚊抗药性机制的研究中发挥的作用提供理论基础。

【关键词】 白纹伊蚊; CYP4; 序列分析; 功能蛋白

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)05-0544-06

[Journal of Pathogen Biology. 2024 May;19(5):544-549,554.]

Bioinformatics analysis of the Cytochrome P450 CYP4H42v2 protein in *Aedes albopictus*

HUANG Lin^{1,2}, LIANG Qiuguo¹, YANGTianhao¹, YANGXuan¹, GONGYing¹, LIU Hui², MO Xingze¹ (1. Qianman Medical College for Nationalities, Duyun 558000, Guozhou, China; Department of Parasitology, Zunyi Medical University)***

【Abstract】 **Objective** To predicted the structure and function of *Aedes albopictus* Cytochrome CYP4H42v2 protein by bioinformatics. **Methods** The CYP4H42v2 gene was screened from the *A. albopictus* genome database and subjected to confirm by using a PCR assay. ExPasy was used to analyze the physicochemical properties and hydrophobicity of the gene encoding the *A. albopictus* CYP4H42v2 protein. HMMTOP version 2.0 and SignalP 4.1 server were used to predict transmembrane domain and Signal peptide of the *A. albopictus* CYP4H42v2 protein. NetPhos, NCBI-Conserved Domains, SOPMA, Swiss-Model and IEDB Online program were used to predict the potential phosphorylation site, Conserved domain structure, protein structure and antigenic epitopes of the *A. albopictus* CYP4H42v2 protein. Homology analysis of the amino acid sequences was performed, and the phylogenetic tree was built by the MEGA X software. In addition, the protein-protein interaction network was deduced from the STRING database. **Results** The entire length of the *A. albopictus* CYP4H42v2 gene in italics is 1 664 bp, with an open reading frame of 1 508 bp, encoding 502 amino acids. *A. albopictus* CYP4H42v2 has no signal peptide but exists transmembranedomain, the protein is hydrophilic and has potential phosphorylation sites and conserved domain structure, α helix, β folding structure and tautomerase activity. The CYP4H42v2 protein has 18 antigenic epitopes, and a total of 11 related genes and 43 interaction relationships have been identified in the STRING database. **Conclusion** Bioinformatics predicts that the CYP4H42v2 gene of *A. albopictus* has potential antigenic epitope regions and multiple phosphorylation sites, providing a theoretical basis for the role of CYP4 in the resistance mechanism of *A. albopictus*.

【Key words】 *Aedes albopictus*; CYP4; sequence analysis; functional protein

* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 82060374); 贵州省卫生健康委科学技术基金项目(No. gzwkj2023-251, No. gzwkj2022-262); 黔南民族医学高等专科学校校级科研项目(No. QNYZ202031); 黔南民族医学高等专科学校大学生创新创业项目(No. QNYZ202205)。

** **【通讯作者】** 莫兴泽, E-mail: 1519876101@qq.com

【作者简介】 黄琳(1990-), 女, 贵州都匀人, 硕士, 主要研究方向: 寄生虫感染与免疫。E-mail: 1119102581@qq.com

白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)隶属于昆虫纲双翅目蚊科伊蚊属。其起源于东南亚,由于其适应能力极强,目前已广泛分布于全球的热带、亚热带和温带地区^[1]。白纹伊蚊通过吸食人畜血液传播登革热、黄热病和寨卡病毒病等多种疾病,是一种重要的病毒媒介^[2-3]。白纹伊蚊在我国分布广泛,近年来我国广东、云南、海南等省均暴发过由白纹伊蚊引发的登革热疫情,造成了严重的公共卫生问题。目前拟除虫菊酯类化学杀虫剂杀灭蚊虫在我国是控制蚊媒疾病的主要手段,特别是在处理应急、自然灾害时能起到很好的效果^[4]。然而,长期、大量化学杀虫剂的使用导致蚊虫对杀虫剂敏感性下降而产生抗药性,成为当前蚊媒病防控的重大难题^[5-7]。

近年来随着生物信息学和分子生物学技术的快速发展,CYP450基因不断被发现并证实与蚊虫的抗药性机制相关。在蚊虫抗性种群中CYP450基因显著过量表达,提示其可能发挥着代谢解毒作用,在蚊虫产生抗药性机制中发挥重要作用^[8-9]。根据报道细胞色素P450介导蚊虫代谢抗药性的酶系主要集中在CYP6、CYP9和CYP4家族,在具抗药性的昆虫体内CYP4、CYP6、CYP9家族的基因过量表达,表明CYP4家族在昆虫的解毒代谢中发挥着重要作用^[10-12]。基于蚊虫中CYP4的研究现状,本研究通过在线分析软件对白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白进行生物信息学分析预测其结构和功能,为进一步探索CYP4H42v2蛋白在白纹伊蚊抗药性机制中的作用提供理论基础。

材料与amp;方法

1 材料

利用NCBI白纹伊蚊基因组数据库,结合本研究前期实验数据分析,筛选出白纹伊蚊细胞色素CYP450 CYP4H42v2基因。白纹伊蚊CYP4H42v2基因序列(GenBank:KF029764.1)。

2 方法

2.1 白纹伊蚊CYP4H42v2基因鉴定 利用Primer 5.0软件设计特异性引物,F1:5'-GGGCTTCCTGAA CGAGAACA-3'; R1:5'-AGTCGGCATTAGCCTTG TCC-3',引物委托上海欧易生物医学科技有限公司合成。以白纹伊蚊cDNA为模板,F1、R1为引物,PCR扩增*Tcp-MIF*基因。反应体系为25 μ L;其中含Mix (Grenn) 12.5 μ L,cDNA 1 μ L,上、下游引物各1 μ L,加ddH₂O至25 μ L,反应程序:94 $^{\circ}$ C 3 min;94 $^{\circ}$ C 30 s;53~60 $^{\circ}$ C 30 s;72 $^{\circ}$ C 30 s;共40个循环;72 $^{\circ}$ C 4 min;4 $^{\circ}$ C保存。取5 μ L PCR产物在2%的琼脂糖凝胶进行电泳鉴定。

2.2 白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白的理化性质与亲疏

水性分析 应用在线工具 ExPASy-protscale(<https://web.expasy.org>)预测CYP4H42v2蛋白的氨基酸数目、分子量、氨基酸序列组成、等电点及不稳定指数等和亲疏水性进行预测分析。

2.3 白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白跨膜区、信号肽预测

利用在线工具 HMMTOP version 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/Services/TMHMM/>)预测白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白的跨膜结构域;利用SignalP 4.1 server在线程序预测分析CYP4H42v2蛋白的信号肽。

2.4 白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白磷酸化位点以及保守域结构分析

应用NetPhos3.1 server在线软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>)和NCBI-Conserved domains分别预测CYP4H42v2蛋白的磷酸化位点以及保守域结构。

2.5 白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白结构分析

通过SOPMA在线程序(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html)对白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白二级及三级结构进行分析预测,利用COILS预测CYP4H42v2蛋白卷曲螺旋域;运用SWISS-MODEL在线程序(<https://swissmodel.expasy.org/interactive/YePkXS/models/>)对白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白进行同源建模,利用Ramachandran plots评价其建模效果。

2.6 白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白抗原表位分析

利用在线程序IEDB(<http://www.iedb.org>)分析白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白的B细胞抗原表位。

2.7 白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白进化树的构建

利用NCBI网站在线工具BLAST(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)搜索白纹伊蚊CYP4H42v2氨基酸序列进行比对分析,根据多重序列比对结果,使用MEGA5.0软件中的NeighborJoining程序绘制白纹伊蚊CYP4H42v2的分子进化树。

2.8 白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白互作关系预测

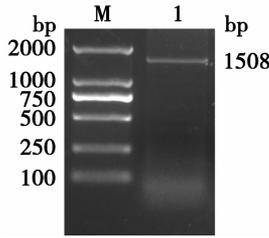
在PPI数据库STRING(<http://string-db.org>),以数据库中白纹伊蚊CYP4H42v2的PPI互作网络关系作为参考,选取交互作用评分>0.7的互作关系构建蛋白互作网络,进行PPI网络预测。基于蛋白同源比对的相似性选择数据库中的基因,最后根据注释基因组数据库中的同源基因来构建PPI网络,使用Cytoscape软件实现网络图的可视化。

结果

1 白纹伊蚊CYP4H42v2基因的鉴定

通过对前期的注释结果进行分析,筛选出白纹伊蚊CYP4H42v2基因序列。以白纹伊蚊cDNA为模

板, F1 和 R1 为引物, 进行 PCR 扩增, *CYP4H42v2* 目的基因片段 1 508 bp 的(图 1), 与预期结果一致。



M DNA 标志物 1 *CYP4H42v2* 基因

图 1 *Tep-MIF* 基因的 PCR 扩增

M DNA Marker 1 PCR production of *CYP4H42v2* gene

Fig. 1 PCR amplification of *CYP4H42v2* gene

2 白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 蛋白的理化性质及亲疏水性分析

分析结果显示白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 基因编码 502 个氨基酸, 相对分子质量约为 57.75 ku, 分子式为 $C_{2625}H_{4189}N_{697}O_{733}S_{16}$, 等电点为 9.02; 氨基酸组成成分分析, 亮氨酸 (Leu) 占 11.4%、异亮氨酸 (Ile) 占 8.2%、缬氨酸 (Val) 占 8.0%, 表明白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 蛋白主要由疏水性氨基酸组成。其余氨基酸占比均 $< 8\%$ 。*CYP4H42v2* 蛋白的不稳定系数为 27.79, 可认为是稳定性蛋白。其总平均亲水性为 -0.156, 为疏水性蛋白(图 2)。

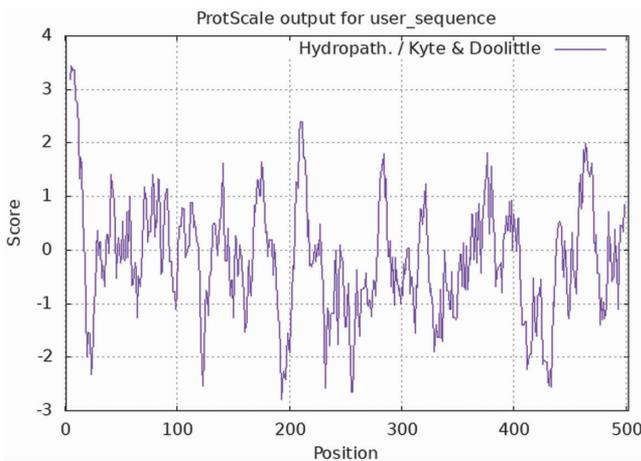


图 2 *CYP4H42v2* 蛋白亲水性分析

Fig. 2 Hydrophilicity analysis of *CYP4H42v2* protein

3 白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 蛋白跨膜结构域、信号肽分析

利用在线工具 HMMTOP version 2.0 预测白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 存在跨膜结构域(图 3), 2~19 位氨基酸处于跨膜结构区域, 1 位氨基酸在膜内侧, 20~502 位氨基酸均在膜外侧。利用 SignalP 5.0 server 在线程序预测分析 *CYP4H42v2* 蛋白的信号肽, 显示该蛋白无信号肽(图 4)。

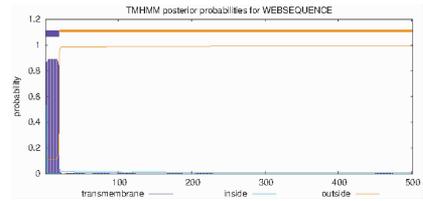


图 3 *CYP4H42v2* 蛋白跨膜结构域预测

Fig. 3 Transmembrane domain prediction of *CYP4H42v2* protein

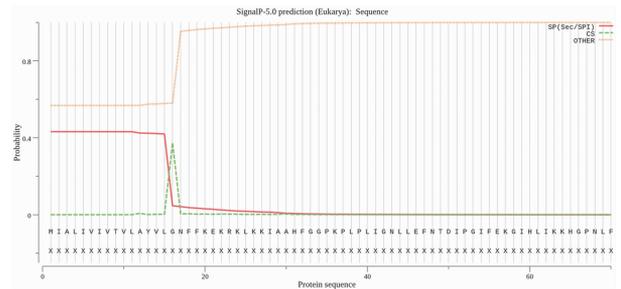


图 4 *CYP4H42v2* 蛋白信号肽分析

Fig. 4 Signal peptide analysis of *CYP4H42v2* protein

4 白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 蛋白磷酸化位点及保守结构域分析

利用 NetPhos3.1 server 在线软件分析显示, 当阈值为 0.5 时, *CYP4H42v2* 蛋白有 39 个潜在的磷酸化位点, 其中包括 14 个丝氨酸位点 (S) 位点, 分别位于第 100、108、117、118、178、183、206、215、294、315、369、426、431、468 位氨基酸; 8 个酪氨酸 (Y) 位点, 位于第 168、198、224、272、327、335、361、436 位氨基酸; 17 个苏氨酸 (T) 位点, 位于 9、85、97、104、130、132、151、182、187、261、304、312、314、352、382、398、484 位氨基酸(图 5)。经 NCBI-Conserved domains 工具分析 *CYP4H42v2* 蛋白含有一个 CYP4 结构域(图 6)。其保守结构域蛋白催化脂质代谢中脂肪酸末端碳的 ω -羟基化, 衍生物为二十烷类、前列腺素和白三烯, 在化学防御中起重要作用。

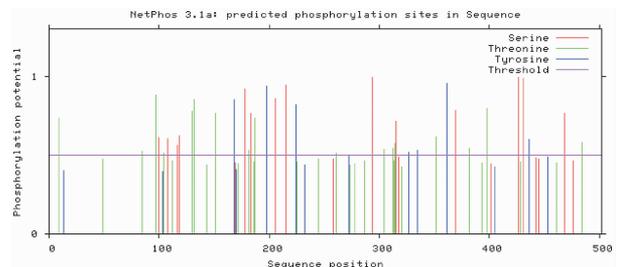


图 5 *CYP4H42v2* 蛋白磷酸化位点预测

Fig. 5 Prediction of phosphorylation site of *CYP4H42v2* protein

5 白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 蛋白二级结构预测

运用 SOPMA 对 *CYP4H42v2* 蛋白进行二级结构

预测,其中 α -螺旋(Hh)含量占46.61%, β 折叠(Ee)占13.55%, β -转角(Tt)占5.18%,无规则卷曲(Cc)占34.66%(图7)。

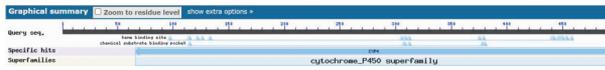


图6 CYP4H42v2 蛋白保守域分析
Fig. 6 Analysis of Conserved Domains of CYP4H42v2 Protein

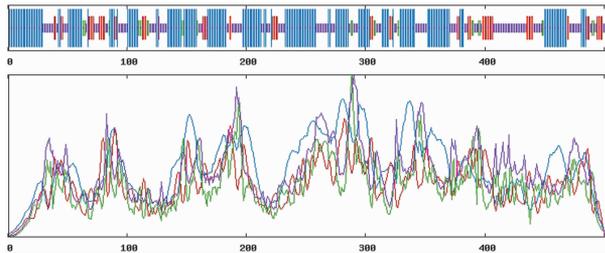


图7 CYP4H42v2 蛋白二级结构预测
Fig. 7 Prediction of the secondary structure of CYP4H42v2 protein

6 白纹伊蚊 CYP4H42v2 蛋白三级结构预测

利用 SWISS-MODEL 以 SMTL ID : A0A618T861.1.A 为模板对 CYP4H42v2 进行同源建模,序列一致性为 73.11%,覆盖度 0.98,模型 GMOE 评分为 0.92(图8)。Ramachandran 评价显示,在所建模型中 96.20%的氨基酸位于较佳区域(图9)。

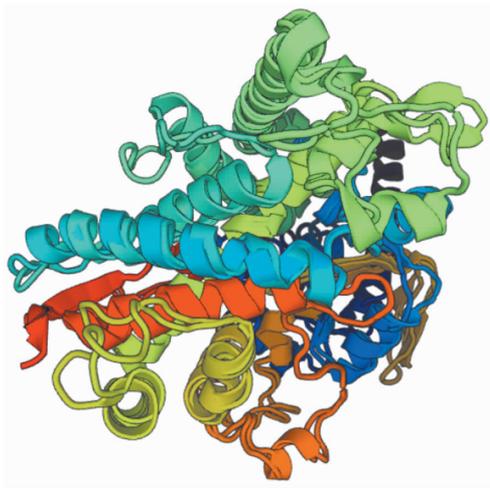


图8 CYP4H42v2 蛋白三级结构预测
Fig. 8 Prediction of the tertiary structure of CYP4H42v2 protein

7 白纹伊蚊细胞色素 P450 CYP4H42v2 酶蛋白抗原表位

利用在线程序 IEDB 分析白纹伊蚊细胞色素 P450 CYP4H42v2 蛋白的 B 细胞抗原表位。Emini 法预测 CYP4H42v2 蛋白氨基酸序列中表面可及性较高的区域为:19~26、95~100、121~127、190~203、230~237、251~260、271~276、297~302、325~338、407~417、424~435、475~483 位氨基酸(图10A);采用

Karplus & Schulz 法分析白纹伊蚊 CYP4H42v2 蛋白序列的可塑性,并未发现较强可塑性区域(图10B);运用 Kolaskar & Tongaonkar 法分析抗原性,结果表明白纹伊蚊 CYP4H42v2 蛋白序列的平均抗原指数为 1.030,抗原指数较高的区域为:4~17、37~44、58~64、78~85、88~95、99~105、112~117、134~145、166~174、176~182、205~217、223~230、280~287、320~333、362~382、437~442、459~474、484~489 位氨基酸(图10C)。采用 Parker 法预测 CYP4H42v2 蛋白的亲水性,结果发现 19~25、32~34、49~51、65~66、88~95、86~88、96~99、118~123、145~152、159~167、178~204、217~222、230~237、248~275、287~303、309~317、326~339、343~352、383~391、393~400、416~421、425~435、443~451、473~478、490~494 位氨基酸为较强亲水性区域(图10D)。结合二级结构的分析结果,白纹伊蚊 CYP4H42v2 蛋白共有 18 个优势 B 细胞抗原表位,其相应抗原表位的氨基酸序列见(表1)。

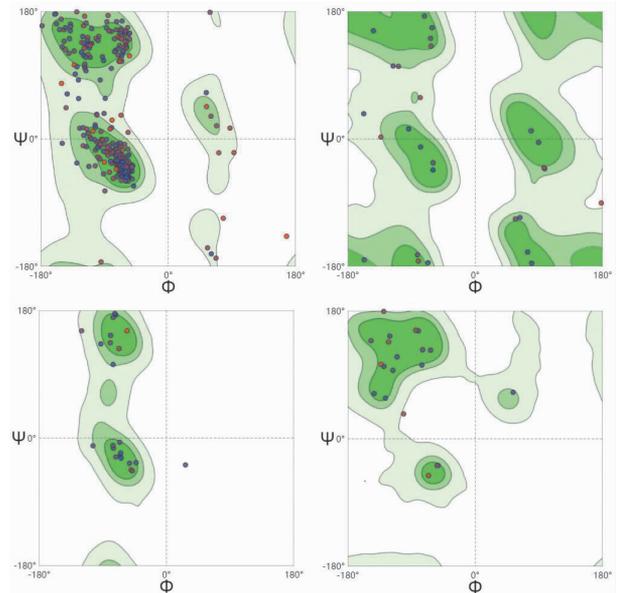


图9 Molprobit Ramachandran 评价 CYP4H42v2 三级结构模型
Fig. 9 Evaluation of Three-dimensional structure of CYP4H42v2 protein model

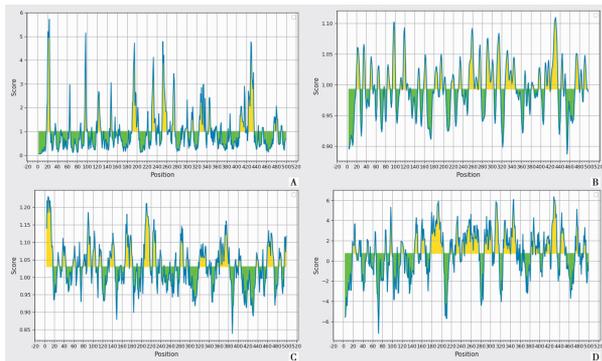
8 白纹伊蚊 CYP4H42v2 蛋白系统进化分析

利用 NCBI 的 BLAST 功能在线对 CYP4H42v2 蛋白序列进行比对,结果显示白纹伊蚊 CYP4H42v2 蛋白与埃及伊蚊(*Aedes aegypti*, A0A618T861)、致倦库蚊(*Culex quinquefasciatus*, B0WKR0)同源性较高分别为 73.1%、64.9%。与中华按蚊(*Anopheles sinensis*, A0A084VRS2)同源性为 62.3%、冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*, Q7PYB6)同源性为 62.5%。与斯氏按蚊(*Anopheles stephensi*, A0A182YJX2)同源性 61.9%,与同为双翅目腐生性昆虫黑水虻

(*Hermetia illucens*, A0A7R8Z0X6) 同源率为 42.5%。系统进化树结果显示,白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 基因与同为伊蚊属的埃及伊蚊亲缘关系较近(图 11)。

表 1 白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 蛋白 B 细胞抗原表位的氨基酸序列
Table 1 Amino acid sequence of B cell antigen epitope of *A. albopictus* *CYP4H42v2* protein

起始位点 Start site	终止位点 Termination site	多肽序列 Termination site	多肽长度 Length of peptide(AA)
4	17	LIVIVTVLAYVLGN	14
33	44	PLPLIGNL	8
58	64	GIHLIKK	7
78	85	NILILGDT	8
88	95	VEKVLLAK	8
99	105	KSLLYTF	7
112	117	TGLLLS	6
134	145	HFKILEQFVTVF	12
166	174	DVYSYVTLM	9
176	182	LDSVCET	7
205	217	MSVLFLLRVVSPL	13
223	230	IYTVVHPN	8
280	287	LDLLNVT	8
320	333	TLWHLAKYQDVQK	14
362	382	LDMVVKESLRLLIPPVPIIGRT	21
437	442	DFIPFS	6
459	474	KVTIHKLIASFVLP	16
484	489	TDLVIR	6



A 表面可及性预测 B 可塑性预测 C 抗原性预测 D 亲水性预测

图 10 *CYP4H42v2* 蛋白抗原表位预测

A Surface accessibility prediction B Plasticity prediction C Antigenicity prediction D Hydrophilicity prediction

Fig. 10 The epitope prediction of *CYP4H42v2* protein

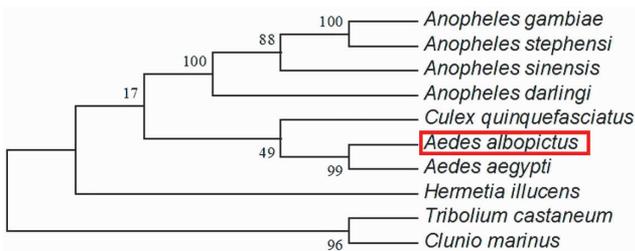
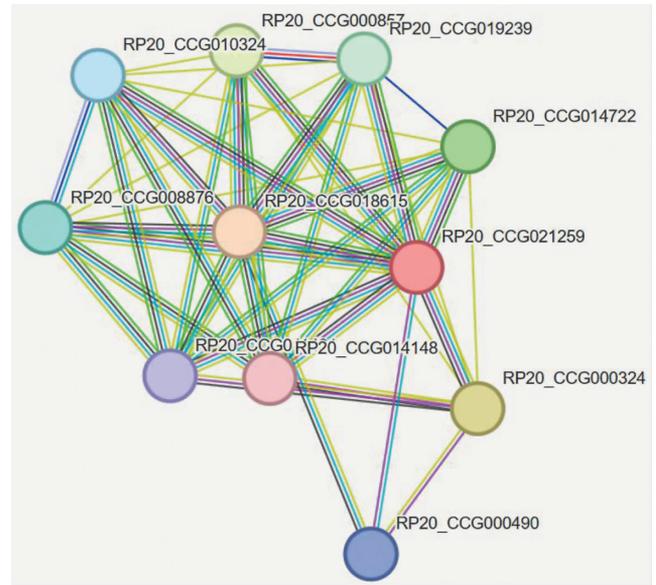


图 11 *CYP4H42v2* 蛋白系统进化树

Fig. 11 Phylogenetic tree of *CYP4H42v2* protein

9 蛋白质相互作用关系预测

本研究共鉴定了 43 个互作关系,包含 11 个基因(图 12);其中 4 个基因处在互作关系的中心位置,为关键基因。互作蛋白包括:含 amp 结合结构域的蛋白质、3beta 结构域蛋白、差向异构酶结构域蛋白、酰基载体蛋白、铁氧化还原蛋白、ABC 转运蛋白等。互作蛋白 GO(<http://geneontology.org/>) 功能分析发现 *CYP4H42v2* 蛋白主要参与了药物代谢、醚裂解反应、催化多种化合物氧化和还原反应等过程。



注:PPI 互作网络节点数为 11,互作关系数为 43,节点平均值为 7.82,预期互作关系数为 24,局部聚类系数为 0.815,PPI 互作网络 P 值为 3.76×10^{-4} 。

图 12 白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 蛋白预测互作网络

Note: In the protein-protein interaction network, the number of nodes is 11, the number of edges is 43, the mean node degree is 7.82, the expected number of edges is 24, the local clustering coefficient is 0.815, and the PPI enrichment P-value is 3.76×10^{-4} .

Fig. 12 Predicted protein-protein interaction network of the *CYP4H42v2*

讨论

细胞色素 P450 家族中 *CYP4* 是一种具有生物活性相关的代谢解毒酶,当蚊虫种群暴露于外源物时可以通过诱导 *CYP4* 的分泌来增加其对外源物的耐受性,表明蚊虫 *CYP4* 家族在杀虫剂抗性中发挥重要作用^[11-12]。

CYP4H42v2 基因全长 1 664 bp,开放阅读框为 1 508 bp,编码 502 个氨基酸;无信号肽,存在跨膜结构域。白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 蛋白主要由亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)、缬氨酸(Val)疏水性氨基酸组成,疏水性氨基酸在维持其蛋白质的三级结构方面发挥重要作用。白纹伊蚊 *CYP4H42v2* 蛋白具有潜在的磷酸化位点和保守域结构,推测其可能通过磷酸化修饰影响细胞间和细胞内的信号传导,催化内源和外源

性化合物的各种氧化反应,参与蚊虫的解毒代谢、氧化应激反应等。二级结构结果显示,CYP4H42v2 蛋白的 α 螺旋和 β 折叠占比例最高,在结构中能发挥稳定蛋白质和不易变形的特点^[13]。本研究在分析CYP4H42v2 B细胞抗原表位时,结合抗原性、可塑性及亲水性等多种方法综合分析,推测该蛋白具有18个较优的抗原表位。系统进化分析显示白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白与同为伊蚊属的埃及伊蚊同源性最高。PPI预测的互作关系显示,白纹伊蚊CYP4H42v2蛋白主要参与AMPK(AMP-activated protein kinase)、铁死亡等信号通路。其中AMPK信号通路是一种细胞内的信号通路,参与细胞代谢和生长的调节,与细胞的能量代谢密切相关,可为后续开展CYP4H42v2互作网络研究提供数据基础。

细胞色素P450家族4(CYP4)是一种具有生物活性相关的代谢酶,如在杀虫剂抗性中的作用,当昆虫种群暴露于外源物时可以通过诱导CYP4的分泌增加其对外源物的耐受性^[14]。Komagata等^[15]研究发现拟除虫菊酯抗性致倦库蚊体内存在多个P450s抗性基因,与原始群相比,其中CYP4H34和CYP9M10表达量显著提高,表明CYP4H34、CYP9M10参与了致倦库蚊在杀虫剂下的解毒作用。Yahouedo等^[16]通过qPCR对冈比亚按蚊转录水平进行分析,结果显示CYP6M2和CYP4G16在拟除虫菊酯类杀虫剂暴露后表达水平上调,同时后者可以调节表皮羟类物质的含量来改变表皮结构以延缓杀虫剂的吸收。汤红日^[17]研究发现冈田绕眼果蝇重组蛋白CYP4D46可以缓解高效氯氰菊酯对黑腹果蝇胚胎细胞的毒杀作用,在持续保持高效氯氰菊酯胁迫状态下,若冈田绕眼果蝇CYP4D46基因被沉默,冈田绕眼果蝇对高效氯氰菊酯敏感度升高、死亡率增加,进一步表明CYP4D46基因表达参与了冈田绕眼果蝇对高效氯氰菊酯的代谢解毒作用。

蚊虫的危害是我们目前面临的严峻问题,关于蚊虫数量的控制主要还是依赖化学杀虫剂,目前研究表明蚊虫产生抗药性的形势十分严峻,其中以细胞色素P450s酶介导的抗药性尤为重要^[18-20]。关于CYP50在杀虫剂抗药性中的确切分子和生理作用还没有完全阐述,以及在抗药中的实际作用和以CYP标记物为靶点的分子诊断的真正价值等实际问题还没有得到解决^[21-22]。生物信息学分析显示,CYP4H42v2为稳定性疏水性蛋白,含有磷酸化位点和CYP4结构域。CYP4H42v2蛋白主要参与AMPK、铁死亡信号通路,介导细胞能量代谢、脂质氧化应激和生长调节等作用。为后续实验中进一步探索蚊虫代谢解毒作用中新的分子靶标、关键上游调控基因、转录因子等奠定基础,同

时为CYP4介导蚊虫抗药性机制的研究提供相关的理论基础。

【参考文献】

- [1] Benelli G, Wilke AB, Beier JC, et al. Aedes albopictus (Asian Tiger Mosquito)[J]. Trends Parasitol, 2020, 36(11): 942-943.
- [2] Kindhauser MK, Allen T, Frank V, et al. Zika: the origin and spread of a mosquito-borne virus[J]. Bull World Health Organ, 2016, 94(9): 675-686C.
- [3] Lu X, Li X, Mo Z, et al. Chikungunya emergency in China: microevolution and genetic analysis for a local outbreak[J]. Virus Genes, 2014, 48(1): 15-22.
- [4] Li MT, Sun GQ, Yakob L, et al. The driving force for 2014 dengue outbreak in Guangdong, China[J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0166211.
- [5] Arain MS, Shakeel M, Elzaki MA, et al. Association of detoxification enzymes with butene-fipronil in larvae and adults of *Drosophila melanogaster*[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2018, 25(10): 10006-10013.
- [6] 马玉婷,魏娟,李相敢. 昆虫抗药性检测方法研究进展[J]. 生物技术进展, 2017, 7(4): 272-278, 353.
- [7] 惠圣铭,高菊芳. 基因扩增和昆虫抗药性[J]. 世界农药, 2012, 34(1): 17-20.
- [8] Li MT, Sun GQ, Yakob L, et al. The Driving Force for 2014 Dengue Outbreak in Guangdong, China[J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0166211.
- [9] Ran C, Cam B, Hobbs AA. Over-expression of cytochrome P450 CYP6B7 mRNA and pyrethroid resistance in Australian populations of *Helicoverpa armigera* Hubner [J]. Pesticide Science, 2015, 54(3): 195-202.
- [10] Hai JH, Jia RC, Yan G, et al. Roles of LsCYP4DE1 in wheat adaptation and ethiprole tolerance in *Laodelphax striatellus*[J]. Insect Biochem Mol Biol, 2018, 101: 14-23.
- [11] Elzaki M, Miah MA, Peng Y, et al. Deltamethrin is metabolized by CYP6FU1, a cytochrome P450 associated with pyrethroid resistance, in *Laodelphax striatellus*[J]. Pest Manag Sci, 2018, 74: 1265-1271.
- [12] Scharf ME, Parimi S, Meinke LJ, et al. Expression and induction of three family 4 cytochrome P450(CYP4) genes identified from insecticide-resistant and susceptible western corn rootworms, *Diabrotica virgifera* [J]. Insect Mol Biol, 2010, 10(2): 139-146.
- [13] 刘辉,米荣升,贾海燕,等. 刚地弓形虫表面抗原糖蛋白相关序列SRS47D的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 14(10): 1147-1154.
- [14] Avicor WS, Wajidi FM, Garj EA, et al. Insecticidal activity and expression of cytochrome P450 family 4 genes in *Aedes albopictus* after exposure to pyrethroid mosquito coils [J]. Protein J, 2014, 33(5): 457-464.
- [15] Komagata O, Kasai S, Tomita T. Overexpression of cytochrome p450 genes in pyrethroid resistant *Culex quin quefasciatus*[J]. Insect Biochem Mol Biol, 2010, 40(2): 146-152.

响^[14]。本次研究显示,乳酸杆菌、双歧杆菌、拟杆菌丰度与 TNF- α 、IL-6、IL-17 呈负相关,大肠埃希菌、肠球菌丰度与 TNF- α 、IL-6、IL-17 呈正相关。原发性肾小球疾病患者的肾小球滤过率较健康人群降低,多种有害代谢产物无法通过肾脏进行排泄,加剧了肠道菌群紊乱,而肠道菌群异常改变可激活机体炎症反应,对肾脏功能造成进一步的伤害。相关报道显示,肠道内有益菌群的降低是导致血清炎症指标上升的原因之一,通过补充益生菌,保持患者肠道微生态平衡,对延缓原发性肾小球疾病发展具有重要意义^[15]。

综上所述,原发性肾小球疾病患者主要为膜性肾病,肠道菌群与炎症因子水平较健康人群均发生变化,乳酸杆菌、双歧杆菌、拟杆菌丰度降低,大肠埃希菌、肠球菌丰度上升,血清 TNF- α 、IL-6、IL-17 显著升高。肠道菌群与炎症因子水平具有一定相关性,乳酸杆菌、双歧杆菌、拟杆菌丰度与 TNF- α 、IL-6、IL-17 呈负相关,大肠埃希菌、肠球菌丰度与 TNF- α 、IL-6、IL-17 呈正相关。通过调节患者菌群结构,保持患者肠道微生态平衡,可以在一定程度上调节具体炎症反应,延缓病情发展。

【参考文献】

[1] Jager KJ, Kovesdy C, Langham R, et al. A single number for advocacy and communication worldwide more than 850 million individuals have kidney diseases[J]. *Kidney Int*, 2019, 96(5): 1048-1050.

[2] Canney M, Induruwage D, Sahota A, et al. Socioeconomic position and incidence of glomerular diseases[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2020, 15(3): 367-374.

[3] Kiryluk K, Li Y, Sanna-Cherchi S, et al. Geographic differences in genetic susceptibility to IgAN nephropathy: GWAS replication study and geospatial risk analysis[J]. *PLoS Genet*, 2022, 86(6): 1002765-1002792.

[4] Mariani LH, Bomback AS, Canetta PA, et al. CureGN study

rationale, design, and methods: establishing a large prospective observational study of glomerular disease[J]. *Am J Kidney Dis*, 2019, 73(2): 218-229.

[5] Li N, Wang Y, Wei P, et al. Causal effects of specific gut microbiota on chronic kidney diseases and renal function—a two sample mendelian randomization study[J]. *Nutrients*, 2023, 15(2): 360.

[6] Kalavrizioti D, Gerolymos M, Rodi M, et al. T helper (Th) - cytokines in the urine of patients with primary glomerulonephritis treated with immunosuppressive drugs: Can they predict outcome? [J]. *Cytokine*, 2020, 76(2): 260-269.

[7] 王芳, 丁洁. 原发性 IgA 肾病诊治循证指南(2016)解读[J]. *中华儿科杂志*, 2017, 55(9): 652-653.

[8] 邹万忠. 肾活检病理学[M]. 北京: 北京大学出版社, 2018: 1-449.

[9] Ohkusa T, Ozaki Y, Satoh, et al. Long-term ingestion of lacto-sucrose increases *Bifidobacterium sp.* in human fecal flora[J]. *Digestion*, 1995, 56(5): 415-420.

[10] Rovin BH, Adler SG, Barratt J, et al. Executive summary of the KDIGO 2021 guideline for the management of glomerular diseases[J]. *Kidney Int*, 2021, 100(4): 753-759.

[11] 卢凡, 白亚玲, 袁颖颖, 等. 原发性肾小球疾病患者肠道菌群特征[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2023, 32(6): 528-533.

[12] Hayeeawaema F, Muangnil P, Jangsakul J, et al. A novel model of adenine-induced chronic kidney disease-associated gastrointestinal dysfunction in mice: The gut-kidney axis[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2023, 30(6): 103660.

[13] Cobianchi L, Fornoni A, Pileggi A, et al. Riboflavin inhibits IL-6 expression and p38 activation in islet cells[J]. *Cell Transplant*, 2018, 18(6): 559-566.

[14] 吴晶, 张君林, 汤琼, 等. 肠道菌群失调与原发性肾小球疾病患者炎症反应及体液免疫的相关性[J]. *中国病原生物学杂志*, 2022, 17(02): 220-223.

[15] Fernandez-Prado R, Esteras R, Perez-Gomez MV, et al. Nutrients turned into toxins: microbiota modulation of nutrient properties in chronic kidney disease[J]. *Nutrients*, 2020, 9(5): 489-495.

【收稿日期】 2024-12-16 【修回日期】 2024-03-03

(上接 549 页)

[16] Yahouedo GA, Chandre F, Rossignol M, et al. Contributions of cuticle permeability and enzyme detoxification to pyrethroid resistance in the major malaria vector *Anopheles gambiae* [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 11091.

[17] 汤红日. 高效氯氰菊酯胁迫下冈田绕眼果蝇 CYP450 基因筛选及功能分析[D]. 遵义医科大学, 2023.

[18] 王洋, 宋晓, 程鹏. 细胞色素 P450 介导的蚊虫抗药性研究进展[J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2019, 30(5): 589-592.

[19] 彭荟, 刘宏美. 细胞色素 P450 介导蚊虫代谢抗性及其防治应用的相关研究进展[J]. *中国热带医学*, 2022, 22(1): 79-83.

[20] 陈丽, 姜进勇, 澜沧江-湄公河流域埃及伊蚊电压门控钠离子通道击倒抗性基因研究进展[J]. *中国病原生物学杂志*, 2023, 18(3): 354-357, 363.

[21] 刘艳, 李梅, 邱星辉. 家蝇对氯菊酯抗性的分子机制研究[J]. *寄生虫与医学昆虫学报*, 2020, 27(2): 106-111.

[22] Hancock PA, Lynd A, Wiebe A, et al. Modelling extemporization trends in the frequency of genetic mutations conferring insecticide target site resistance in African mosquito malaria vector species [J]. *BMC Biol*, 2022, 20(1): 46.

【收稿日期】 2023-11-27 【修回日期】 2024-02-10