

烟碱乙酰胆碱受体序列的比较统计分析: 受体的分子识别从头法研究

王岩丽, 李忠, 钱旭红*

上海市化学生物学重点实验室, 华东理工大学药学院, 上海 200237

* 联系人, E-mail: xhqian@ecust.edu.cn

国家重点基础研究发展计划(2010CB126100)、国家高技术研究发展计划(2011AA10A207)、国家科技攻关计划(2011BAE06B01)、上海市重点学科建设(B507)和中央高校基本科研业务费专项资金资助

烟碱乙酰胆碱受体(nAChRs)不仅是医药研究领域的重要靶标,也是目前农业领域中广泛使用的新烟碱类杀虫剂(neonicotinoids)的作用靶标.新烟碱杀虫剂能选择性地作用于昆虫,而对脊椎动物毒性较低.这种不同种属受体对小分子的识别差异一直是新药研究的重点.同时,如何提高新烟碱杀虫剂对害虫的选择性,降低对哺乳动物的毒性,也是农药研究的热点.传统的研究种属间受体小分子识别差异的方法多依赖于生物化学实验及结构生物学实验结果,有一定的局限性.相比生物化学及结构生物学实验,基因组测序研究能够快速提供大量的序列信息.对nAChRs而言,目前已知的结构信息包括肌肉型nAChR自由态晶体结构(PDB ID: 2BG9)和乙酰胆碱结合蛋白(AChBP)与烟碱及新烟碱杀虫剂的复合物晶体结构等.由于昆虫的nAChR全部为神经型,与2BG9的差别较大,且2BG9结构是无底物结合时的受体自由态结构;同时作为一种变构受体,nAChR与配体结合前后的结构差异较大,致使晶体结构手段无法有效地提供受体与小分子选择性识别的相关信息.同时,由于AChBP与nAChRs序列同源性较低,并且人们对昆虫的nAChR的亚基组合方式仍不甚了解,使得基于结构的不同种属的nAChR小分子识别研究开展困难.

本文对大量脊椎动物及节肢动物的nAChR序列进行了种属间比较分析,研究了两类nAChRs口袋位点区的残基属性(物理化学性质)的种间差异,采用Fisher精确检验(Fisher's exact test)法计算了其差异的显著性.我们认为这些具有显著性差异的残基位点应与种间的受体选择性分子识别密切相关.研究结果显示,nAChR主链的92,94,95,147,183,184,186和189位点,辅链中的34,55~57,106,110,112,160,161和163位点,其种属间差异性最为显著.在此基础上,将这些残基位点标记在已有的AChBP晶体结构中,发现其中与配体结合区最近,能够直接与配体结合的残基为主链的186,189位点以及辅链的34,55~57,106和112位点(图1).通过观察这些位点的残基属性,我们发现主链的186,189位点在脊椎动物中是疏水性的,而在节肢动物中是呈负电性的;

辅链的34,56,57,112位点在脊椎动物中是疏水性的,而在节肢动物中是亲水性的;辅链55位点在脊椎动物中是正电性的,而在节肢动物中是亲水性的.可以看出,nAChR的口袋环境从脊椎动物到节肢动物呈现出从负电性到正电性、从疏水性到亲水性的变化方式.计算结果显示,选择性作用于脊椎动物nAChRs的小分子均可在生理pH下质子化为带正电的亲水性化合物,而选择性作用于节肢动物nAChRs的小分子,均为疏水性强且带有1个负电基团的化合物.本文基于不同种属的nAChRs序列信息,通过对不同位点的统计分析,研究得到与实验结果吻合与小分子性质相匹配的受体-小分子选择性识别关键因素,为基于受体序列信息的分子识别研究提供了一种新的更为简洁的研究思路,并在nAChRs体系中验证了其可行性.

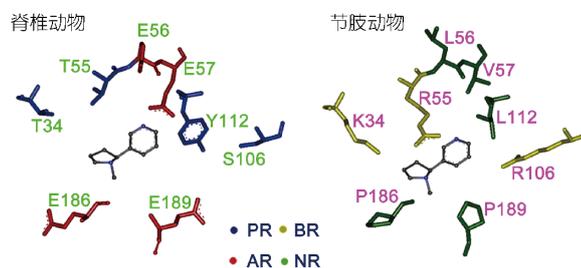


图1 AChBP上显示的具有显著种属间差异性的残基位点

全文见: Wang Y L, Li Z, Qian X H. Comparative and statistical analysis of nAChR sequences: An *ab initio* approach to the origin of molecular discrimination. Chin Sci Bull, 2012, 57: 479-486, doi: 10.1007/s11434-011-4778-3