

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2020.04.007

文章编号:2095-6002(2020)04-0054-09

引用格式:步营,何玮,王飞,等.基于分子对接技术从虾夷扇贝中筛选抗 SARS-CoV-2 活性肽研究[J].食品科学技术学报,2020,38(4):54-62.



BU Ying, HE Wei, WANG Fei, et al. Screening research of Anti-SARS-CoV-2 peptides from *Mizuhopecten yessoensis* based on molecular docking[J]. Journal of Food Science and Technology, 2020,38(4):54-62.

基于分子对接技术从虾夷扇贝中筛选抗 SARS-CoV-2 活性肽研究

步营¹, 何玮¹, 王飞^{1,2}, 朱文慧^{1,*}, 李学鹏¹,
仪淑敏¹, 徐永霞¹, 励建荣^{1,*}

(1.渤海大学食品科学与工程学院/生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心/
国家鱼糜及鱼糜制品加工技术研发分中心,辽宁锦州 121013;

2.大连工业大学海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心,辽宁大连 116034)

摘要:为从食品原料中筛选具有抗 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)能力的生物活性肽段,选用虾夷扇贝肌球蛋白为目标序列,利用计算机对虾夷扇贝肌球蛋白进行模拟酶解,对酶解所得的肽段进行毒性和生物活性预测。选取活性评分超过 0.5 且无毒性的肽段,以 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白和 COVID-19 Mpro 水解酶为靶标进行分子对接,鉴定其病毒抗性。结果表明:肽段 CSNAIPEL 可以与 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白上的 GLN42 和 GLU329 两个关键氨基酸结合,LibDock Score 为 136.03;肽段 LPIY 不仅能与 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白上的 ASP38 和 TYR491 氨基酸结合,还能够与 COVID-19 Mpro 上的 THR24、THR25 和 THR26 氨基酸结合,LibDock Score 分别为 142.85 和 168.04;肽段 QRPR 与 COVID-19 Mpro 水解酶晶体上的 THR24、THR25 和 THR26 氨基酸结合,LibDock Score 为 154.93。研究表明,肽段 CSNAIPEL、LPIY 和 QRPR 三者表现出较好的抗 SARS-CoV-2 能力。本研究旨在为抗新型冠状病毒功能食品的研发提供新的思路。

关键词:分子模拟;模拟酶解;SARS-CoV-2;虚拟筛选;分子对接;抗新型冠状病毒肽段

中图分类号:TS254.1;Q518

文献标志码:A

2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染的肺炎(COVID-19)严重威胁着全球公共卫生安全,截至 2020 年 7 月 1 日,全球累计 COVID-19 确诊病例已超 1 059 万,累计死亡病例超过 51 万^[1]。我国海洋生物活性物质资源丰富,利用计算机模拟从水产原料中筛选具有抗 SARS-CoV-2 能力的生物活性的肽段,可为研发相应的海洋功能食品提供新的发展方向。

SARS-CoV-2 属于 β 型冠状病毒,与人类严重急性呼吸综合征相关冠状病毒(SARS-CoV)具有 79% 的序列相似性,序列同源性较高^[2];与其他冠状病毒相似,表现为包膜包被的单股正链 RNA 病毒。SARS-CoV-2 由刺突蛋白(S)、包膜蛋白(E)、膜蛋白(M)和核衣壳蛋白(N)四种主要结构蛋白构成^[3]。构成病毒刺突的 S 蛋白,在病毒侵袭宿主细胞的过程中发挥着至关重要的作用,S 蛋白在结构上分为

收稿日期:2020-06-08;修回日期:2020-07-02。

基金项目:“十三五”国家重点研发计划项目(2018YFD0400603);辽宁兴辽英才项目(XLYC1807133)。

第一作者:步营,男,工程师,硕士,主要从事水产品加工及贮藏方面的研究。

*通信作者:朱文慧,女,副教授,博士,主要从事水产品加工及贮藏方面的研究;

励建荣,男,教授,博士,主要从事水产品加工与质量安全控制方面的研究。

S1 和 S2 两个亚基,其中 S1 亚基中具有受体集合域(RBD)核心部位,与 SARS-CoV 的 RBD 核心部位高度一致^[2,4]。不仅如此,对 SARS-CoV-2 的构象研究表明,许多单克隆抗体^[5-7]也能够如同针对 SARS-CoV 一样以 S 蛋白的 RBD 作为关键靶标,并与血管紧张素转化酶 2(ACE2)相互作用进入呼吸道上皮细胞^[8],达到抑制病毒侵染的目的。另外,经过测量,SARS-CoV-2 的 RBD 不仅可以与人 ACE2 发生强力结合,其亲和力和 SARS-CoV 的 S 蛋白与人 ACE2 之间的亲和力相当^[9],而且 SARS-CoV-2/ACE2 结合蛋白与 SARS-CoV/ACE2 的原结构构象相比并未发生太大改变^[10]。因此推测,SARS-CoV-2 的感染和传播所依靠的受体和机制与 SARS-CoV 相差无几。除此之外,主蛋白酶(Mpro)作为冠状病毒在宿主细胞内通过转录翻译复制病毒时是必不可少s的关键酶^[11],以 Mpro 为靶标进行模拟筛选,也为研发抗 SARS-CoV-2 的功能性食品提供了新的思路。

分子模拟作为强大的科学研究工具,可通过模拟、计算和分析分子系统及其相互作用来研究实验现象或指导新实验的发展。分子对接的广泛利用可以清晰地了解活性肽和受体蛋白的对接位点及二者之间存在的相互作用力,从而分辨出肽段的生物活性和有效性。国内外研究团队在利用分子模拟进行 SARS-CoV-2 的防治药物研究方面做出颇多成果^[12-16],但多数是在已知药物成分中进行筛选,未见有从食品原料中提取活性肽进行模拟研究的报道。虾夷扇贝(*Mizuhopecten yessoensis*)是一种重要的海洋经济贝类,同时具有较大的药用和保健价值。据报道,虾夷扇贝肌球蛋白的酶解肽段具有较好的潜在生物活性,部分还表现出优良的抗血管紧张素转化酶活性^[17]。经蛋白基因库查询可知,虾夷扇贝肌球蛋白的蛋白序列明确且易得可供我们进行虚拟筛选。

本研究拟通过计算机模拟,从水产动物虾夷扇贝肌球蛋白中筛选出具有抗 SARS-CoV-2 潜在活性的小分子功能肽段,希望为抗 SARS-CoV-2 功能食品的开发与应用提供一定的理论参考。

1 实验方法

1.1 模拟水解虾夷扇贝肌球蛋白

利用 ExPASy PeptideCutter(http://web.expasy.org/peptide_cutter)软件对虾夷扇贝的肌球蛋白序列

(GenBank: BAB40711.1)进行模拟酶解,预测肌球蛋白被蛋白酶或化学物质裂解的潜在裂解位点,并在其上映射可能的切割位点和切割位点位置表。采用胃蛋白酶(pH 值 1.3)、低特异性胰凝乳蛋白酶(C 端指[FYWML],而非 P 之前)和胰蛋白酶^[17]对肌球蛋白进行模拟水解,整理水解所得肽段,以备后续研究。

1.2 肽段的活性和毒性预测

采用 Peptide Ranker(<http://distilldeep.ucd.ie/PeptideRanker/>)服务器预测生物活性肽的生物活性并对肽进行分类,当预测的肽段分数超过 0.5,则表明肽段具有潜在生物活性。在蛋白数据库 BIOPEP-UWM(<http://www.uwm.edu.pl/biochemia/index.php/pl/biopep>)中搜索预测分数超过 0.5,即具有潜在活性的肽段序列,根据搜索结果选择蛋白库内未知的肽段进行毒性预测,采用 ToxinPred(<http://www.imtech.res.in/raghava/toxinpred/>)程序预测所选肽段毒性。

1.3 受体蛋白晶体的选择

选择的受体蛋白晶体为 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白^[18-19]和 COVID-19 Mpro 水解酶^[20]的高分辨率晶体结构,可从 RCSB PDB 数据库(<http://www.rcsb.org>)中获得,PDB 蛋白库编号分别为 2AJF 和 6LU7。

1.4 分子对接

采用 Discovery Studio(v17.2.016349)软件进行分子对接。首先使用 DS/Macromoleculars 根据肽段氨基酸序列构建肽段的三维结构,在构建好选定肽段的初始结构后,对肽段结构进行最小化优化,随后进行受体准备。小分子肽段处理结束后,将 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白的三维结构导入软件中,选择 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白晶体结构中的 A 链和 E 链作为受体,二者分别代表着 ACE2 和 SARS-CoV-S 蛋白结构。去除蛋白晶体结构周围存在的水分子和配体集团,做“Prepare Protein”处理,COVID-19 Mpro 水解酶蛋白晶体的三维结构与 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白晶体处理方式相同。参考沈亮亮等^[21]的研究,选择 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白晶体结构中 A 链上的 ASP38、GLU42、GLN325 和 GLU329 以及 E 链上的 TYR436 和 TYR491 共 6 个关键氨基酸定义为 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白分子对接的活性口袋,选择 COVID-19 Mpro 水解酶蛋白晶体上的 THR24、THR25、THR26、LEU27、ASN28

和 ASN119 共 6 个关键氨基酸定义为 COVID-19 Mpro 水解酶蛋白分子对接的活性口袋。将小分子肽段分别与 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白上确定的活性结合口袋、COVID-19 Mpro 水解酶蛋白上确定的活性结合口袋进行 LibDock 半柔性分子对接,选择构象参数为“BEST”,其余参数仍为默认值。对接成功的肽段结果按照 LibDock Score 分值高低降序排列,分析肽段与两种蛋白活性口袋中关键氨基酸形成的相互作用力,从而筛选出具有潜在 COVID-19/ACE2 结合阻断能力和 COVID-19 Mpro 水解酶抑制能力的肽段。

2 结果与讨论

2.1 虾夷扇贝肌球蛋白模拟酶解及酶解肽段潜在活性、毒性预测

经模拟酶解后 1 945 个氨基酸的肌球蛋白序列被酶解为 415 条肽段,将所有肽段进行 Peptide Ranker 预测,选择预测分数大于 0.5 的共 28 条肽段序列,序列位置及评分如表 1。对表中 28 条具有潜在生物活性的肽段进行 BIOPEP-UWM 蛋白库搜索,肽段已知生物活性如表 2。表 2 中,肽段 GM、GR、GY、GI、NCW 和 VAF 具有不同程度的 ACE 抑制活性,NW、QW、GY、IM、NM 和 GI 具有 DPP IV 抑制活性;除此之外,三肽 ADF 具有抗氧化活性,四肽 QR-PR 能够进行免疫调节,其余肽段并未在活性蛋白库中搜索到明确的生物活性。在此基础上,对 28 条肽段序列进行毒性预测。表 3 预测结果表明,28 条肽段均无毒性,可以用于后续抑制剂研究。

2.2 SARS-CoV-S/ACE2 蛋白受体与肽段的分子对接

以 SARS-CoV-S/ACE2 蛋白为对接受体,从而选择能够与复合蛋白构象关键氨基酸结合形成氢键的肽段,达到筛选 COVID-19/ACE2 结合阻断肽的目的。

图 1 为 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白 A 链和 E 链的三维结构图,根据已知关键氨基酸所选择的结合口袋空间坐标为 11.825 486、-2.174 257、70.748 771,半径 13.051 520。28 条肽段与 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白对接结果汇总如表 4。表 4 中,28 条肽段均能进入复合蛋白结合口袋并与受体上的氨基酸结合,其中 17 条肽段能够与蛋白受体上的关键氨基酸形成氢键。图 2 为活性肽段与 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白对接 2D 示意图。由图 2(a)、图 2(b)可见,肽

表 1 具有潜在生物活性的模拟酶解肽段

Tab. 1 Peptides with potential biological activity generated from *Mizuhopecten yessoensis* myosin digested *in silico*

肽段序列	位置	Peptide Ranker 评分
GM	f 514 - 515	0.953 2
NW	f 437 - 436, f 825 - 826	0.934 1
QW	f 827 - 828	0.928 5
GR	f 851 - 852, f 1780 - 1781	0.766 3
AM	f 1756 - 1757	0.745 5
GY	f 793 - 794, f 1474 - 1475	0.741 6
IM	f 909 - 910	0.697 0
HM	f 358 - 359, f 492 - 493	0.678 0
QM	f 288 - 289, f 518 - 519, f 749 - 750, f 855 - 856	0.671 0
NM	f 1333 - 1334	0.604 7
RR	f 1529 - 1530	0.565 5
GI	f 529 - 530	0.521 6
NCW	f 35 - 37	0.965 1
ADF	f 914 - 916	0.806 2
EGF	f 43 - 45	0.694 7
GGH	f 938 - 940	0.675 2
VAF	f 385 - 387	0.559 6
ADM	f 1337 - 1339	0.520 8
DPDF	f 10 - 13	0.874 6
QPGL	f 682 - 685	0.742 2
TCGM	f 111 - 114	0.716 5
LPIY	f 132 - 135	0.592 0
QRPR	f 368 - 371	0.560 4
NPPK	f 81 - 84	0.523 4
GFPSR	f 594 - 598	0.862 8
SITGW	f 1415 - 1420	0.669 1
APNAIPTG	f 732 - 739	0.664 3
CSNAIPEL	f 296 - 303	0.525 3

段 AM 和 QPGL 除了能与关键氨基酸 TYR491 形成氢键外,还能以疏水相互作用力与之结合,LibDock Score 打分为 103.22、86.64;而肽段 CSNAIPEL 可以与 A 链上的 GLN42 和 E 链上的 GLU329 两个关键氨基酸形成氢键(见图 2(c)),肽段 LibDock Score 打分 136.03;肽段 LPIY 既能与受体蛋白 E 链上的 TYR491 作用形成氢键,也能够以静电作用与 A 链上的 ASP38 产生相互作用(见图 2(d)),LibDock

表2 BIOPEP-UWM 蛋白库已知生物活性肽
Tab.2 Known bioactive peptides in BIOPEP-UWM protein database

肽段序列	已知生物活性	EC ₅₀ / ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
GM	血管紧张素转换酶抑制剂(ACE 抑制剂)	1 400.00
NW	二肽基肽酶 IV 抑制剂(DPP IV 抑制剂)	0.00
QW	二肽基肽酶 IV 抑制剂(DPP IV 抑制剂)	0.00
GR	血管紧张素转换酶抑制剂(ACE 抑制剂)	3 200.00
GY	血管紧张素转换酶抑制剂(ACE 抑制剂)	210.00
	二肽基肽酶 IV 抑制剂(DPP IV 抑制剂)	0.00
IM	二肽基肽酶 IV 抑制剂(DPP IV 抑制剂)	0.00
NM	二肽基肽酶 IV 抑制剂(DPP IV 抑制剂)	0.00
GI	血管紧张素转换酶抑制剂(ACE 抑制剂)	1 200.00
	二肽基肽酶 IV 抑制剂(DPP IV 抑制剂)	0.00
NCW	血管紧张素转换酶抑制剂(ACE 抑制剂)	35.50
ADF	抗氧化	0.00
VAF	血管紧张素转换酶抑制剂(ACE 抑制剂)	35.80
QRPR	免疫调节	0.00

表3 选择肽段的模拟毒性预测

Tab.3 Simulated toxicity prediction of selected peptides *in silico*

肽段序列	毒性	变异位点	肽段序列	毒性	变异位点
GM	无毒	无	EGF	无毒	无
NW	无毒	无	GGH	无毒	无
QW	无毒	无	VAF	无毒	无
GR	无毒	无	ADM	无毒	无
AM	无毒	无	DPDF	无毒	无
GY	无毒	无	QPGL	无毒	无
IM	无毒	无	TCGM	无毒	无
HM	无毒	无	LPIY	无毒	无
QM	无毒	无	QRPR	无毒	无
NM	无毒	无	NPPK	无毒	无
RR	无毒	无	GFPSR	无毒	无
GI	无毒	无	SITGW	无毒	无
NCW	无毒	无	APNAIPTG	无毒	无
ADF	无毒	无	CSNAIPEL	无毒	无

Score 为 142.85。与其他能够与关键氨基酸形成氢键的肽段相比,CSNAIPEL 和 LPIY 肽段能够与更多关键氨基酸发生相互作用,因此可以预测二者与 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白结合更加紧密,具有更大阻断 COVID-19/ACE2 蛋白受体结合的潜力。除

此之外,虽然肽段 HM、IM、NM、GM 也可以与两个关键氨基酸以静电作用、疏水作用等方式发生相互作用,但它们并未与关键氨基酸形成氢键,结合强度较弱,因此阻断结合潜力相对较弱,不适合进行进一步研究。

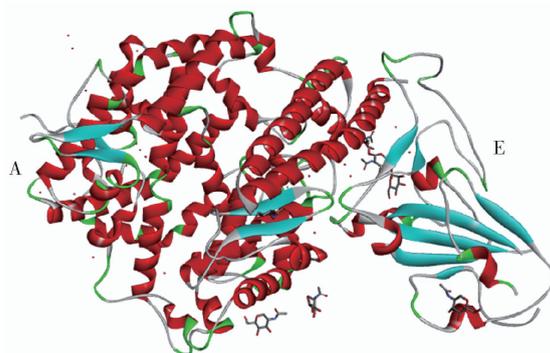


图1 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白 A 链和 E 链的三维结构

Fig.1 3D structure of SARS-CoV-S/ACE2 complex protein A and E chain

2.3 COVID-19 Mpro 水解酶蛋白受体与肽段的分子对接

选用的 COVID-19 Mpro 水解酶高分辨率晶体结构如图 3,根据已知关键氨基酸定义的结合口袋空间坐标为 $-9.063\ 889, 24.552\ 533, 65.154\ 444$,半径 $11.788\ 826$,对接结果汇总如表 5。表 5 显示,28 条肽段虽均能进入结合口袋并与受体上的氨基酸结合,但仅有 10 条肽段能够与蛋白受体上的关键氨基酸形成氢键。肽段 QRPR、QPGL、LPIY 和 SITGW 都能与关键氨基酸 THR24、THR25 和 THR26 形成氢键(见图 4),LibDock Score 打分为 154.93、131.36、168.04 和 150.46;与此同时除 SITGW 之外的 3 条肽段还能与 LEU27 产生相互作用,与受体蛋白产生强烈的结合,表现出较强的 Mpro 水解酶抑制活性;肽段 QRPR 能够与关键氨基酸形成最多的氢键,与 COVID-19 Mpro 构象结合能力最紧密,从而预测出其为最有潜力的 COVID-19 Mpro 的水解酶抑制肽。

3 结论

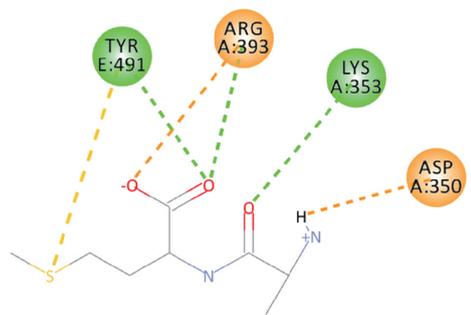
本研究以 SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 所具有的相似作用机制为基础,通过计算机模拟和分子对接筛选虾夷扇贝肌球蛋白中的小分子抗新冠病毒活性肽段。通过模拟酶解虾夷扇贝肌球蛋白,从中筛选

表4 28条肽段与SARS-CoV-S/ACE2复合蛋白对接结果评分与氢键作用氨基酸

Tab.4 LibDock Score of docking results and hydrogen bonding amino acids of 28 peptides and SARS-CoV-S/ACE2 complex protein

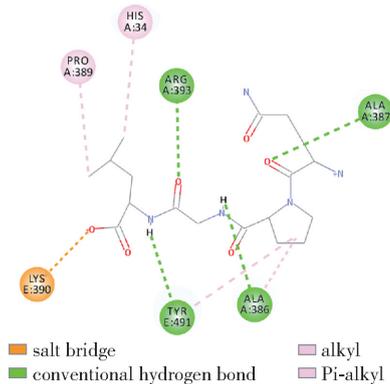
肽段序列	LibDock Score	氢键作用氨基酸	肽段序列	LibDock Score	氢键作用氨基酸
SITGW	143.56	GLU35, ASP38, LYS68, ASP480	TCGM	110.92	HIS34, TYR440, TYR481
LPIY	142.85	HIS34, GLU37, LYS390, ASP393, ASP480, TYR481, TYR491	QW	109.66	HIS34, GLU37, ALA387, GLN388, LYS390, TYR440, TYR491
CSNAIPEL	136.03	GLN42, ASN49, ASN64, GLU329, SER432	ADM	107.30	HIS34, GLU37, LYS390, TYR440, TYR481, TYR491
NCW	135.19	ASP350, GLU354, ALA387, ASP392, ARG393, TYR491	NW	104.47	HIS34, TYR440, ASP480
DPDF	132.39	LYS353, GLY354, ALA386, ALA387, ASP392, ARG393, TYR491	HM	103.84	HIS34, GLU35, TYR440, ASP480
GFPSR	132.23	HIS34, TYR440, ASP480	QPGL	103.22	ALA386, ALA387, ARG393, TYR491
APNAIPTG	132.14	ALA386, ALA387, ASP392, ARG393, TYR440, TYR491	QM	102.94	GLY352, LYS353, GLY354, TYR491
RR	130.37	LYS353, GLY354, PHE390, TYR491	GY	100.16	LYS353, ASP480, TYR481, GLY482, TYR491
EGF	129.08	GLY352, LYS353, GLY354	GR	98.99	HIS34, TYR440, ASP480, TYR481, GLY482, TYR491
QRPR	127.90	ASN33, HIS34, ALA387, TYR440, ASP480, TYR481, TYR491	IM	87.31	HIS34, TYR440, ASN479, ASP480, TYR481
NPPK	120.54	ASP30, ASN33, GLU37, LYS353, ALA387, TYR481, TYR491	AM	86.64	LYS353, TYR491
ADF	113.67	ARG393, GLY490	NM	86.23	HIS34, TYR440, ASP480
VAF	113.34	GLU37, ALA387, GLUN388, LYS390, TYR440, TYR491	GM	84.17	ASP350, GLY352, ARG393
GGH	111.60	ASP350, GLY352, PHE390, ARG393	GI	81.05	HIS34, TYR440, ASP480

划线的标注为受体中的关键氨基酸。

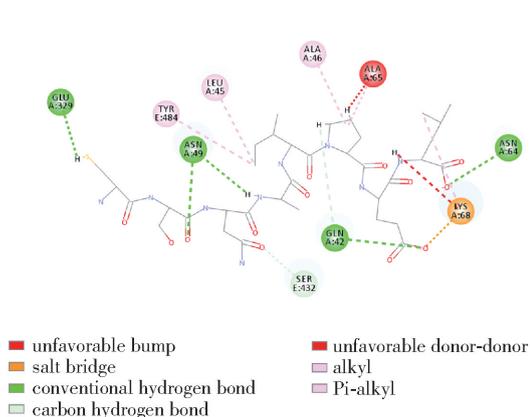


■ salt bridge ■ conventional hydrogen bond
■ attractive charge ■ Pi-sulfur

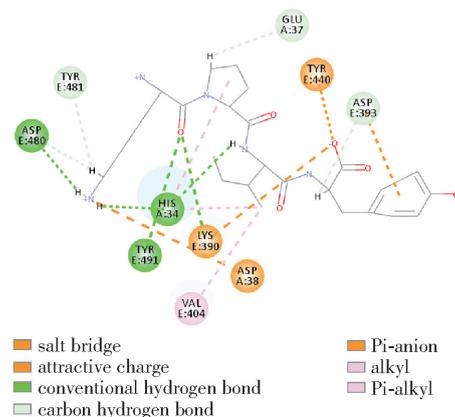
(a) 肽段AM与SARS-CoV-S/ACE2复合蛋白对接



(b) 肽段QPGL与SARS-CoV-S/ACE2复合蛋白对接



(c) 肽段CSNAIPEL与SARS-CoV-S/ACE2复合蛋白对接



(d) 肽段LPIY与SARS-CoV-S/ACE2复合蛋白对接

图2 活性肽段与SARS-CoV-S/ACE2复合蛋白对接2D示意图

Fig.2 2D diagrams of interaction between bioactive peptides with SARS-CoV-S/ACE2 complex protein

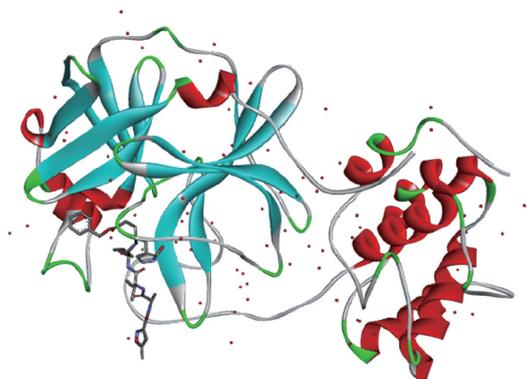


图3 COVID-19 Mpro 水解酶晶体三维结构

Fig. 3 3D structure of COVID-19 Mpro hydrolase

出具有潜在活性的 28 条肽段进行肽段和受体蛋白

的分子对接模拟。分子对接结果表明, 肽段 CSNAIPEL 和 LPIY 能够通过 与 SARS-CoV-S/ACE2 复合蛋白中的关键氨基酸形成最多相互作用而表现出较好的病毒结合阻断作用; 同时肽段 QRPR、QPEL、LPIY 和 SITGW 能够起到较好的 COVID-19 Mpro 水解酶抑制作用, 其中 QRPR 与 COVID-19 Mpro 水解酶的关键氨基酸形成的相互作用数最多, 结合能力最为稳定, 相应的对水解酶的抑制能力最为理想。值得一提的是, 肽段 LPIY 除了具有 SARS-CoV-S/ACE2 阻断能力, 也显示出不俗的 COVID-19 Mpro 水解酶抑制能力, 这也为后期研发出有助于提高人体抗感染能力和免疫能力双重作用的抗 SARS-CoV-2 病毒功能食品提供了可能性。

表5 28 条肽段与 COVID-19 Mpro 水解酶对接结果评分与氢键作用氨基酸

Tab. 5 LibDock Score of docking results and hydrogen bonding amino acids of 28 peptides and COVID-19 Mpro hydrolase

肽段序列	LibDock Score	氢键作用氨基酸	肽段序列	LibDock Score	氢键作用氨基酸
LPIY	168.04	<u>THR24</u> , <u>THR25</u> , <u>THR26</u> , <u>THR45</u> , <u>MET49</u> , <u>TYR54</u> , <u>GLY143</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS164</u> , <u>ASP187</u> , <u>GLN189</u>	VAF	123.64	<u>HIS41</u> , <u>TYR54</u> , <u>GLY143</u> , <u>HIS164</u>
GFPSR	166.72	<u>THR26</u> , <u>HIS41</u> , <u>CYS44</u> , <u>LEU141</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS164</u>	GGH	123.37	<u>HIS41</u> , <u>CYS44</u> , <u>MET49</u> , <u>TYR54</u> , <u>LEU141</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>GLN189</u>
APNAIPTG	159.16	<u>THR26</u> , <u>HIS41</u> , <u>MET49</u> , <u>TYR54</u> , <u>ASN142</u> , <u>GLN189</u>	ADM	122.35	<u>THR26</u> , <u>HIS41</u> , <u>SER144</u> , <u>HIS164</u>
DPDF	155.95	<u>THR25</u> , <u>HIS41</u> , <u>THR45</u> , <u>SER46</u> , <u>MET49</u> , <u>TYR54</u> , <u>GLY143</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS164</u>	TCGM	117.67	<u>LEU141</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>ARG188</u> , <u>GLN189</u>
CSNAIPEL	155.72	<u>THR24</u> , <u>THR26</u> , <u>GLN69</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>GLN189</u>	NW	116.77	<u>PHE140</u> , <u>LEU141</u> , <u>ASN142</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS164</u> , <u>GLU166</u>
QRPR	154.93	<u>THR24</u> , <u>THR25</u> , <u>THR26</u> , <u>CYS44</u> , <u>THR45</u> , <u>MET49</u> , <u>TYR54</u> , <u>ASN142</u> , <u>CYS145</u>	HM	108.95	<u>MET49</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>ASP187</u> , <u>GLN189</u>
SITGW	150.46	<u>THR24</u> , <u>THR25</u> , <u>THR26</u> , <u>CYS44</u> , <u>THR45</u> , <u>SER46</u> , <u>ASN142</u> , <u>GLY143</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS164</u>	QM	106.95	<u>MET49</u> , <u>TYR54</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS164</u> , <u>GLN189</u>
NPPK	134.32	<u>THR24</u> , <u>THR26</u> , <u>MET49</u> , <u>TYR54</u> , <u>LEU141</u> , <u>ASN142</u> , <u>GLY143</u> , <u>HIS164</u> , <u>ASP187</u>	GY	96.70	<u>TYR54</u> , <u>LEU141</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS163</u> , <u>HIS164</u>
EGF	133.99	<u>TYR54</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS164</u> , <u>GLN189</u>	NM	96.18	<u>HIS41</u> , <u>SER144</u> , <u>HIS164</u> , <u>ASP187</u>
QPGL	131.36	<u>THR24</u> , <u>THR25</u> , <u>THR26</u> , <u>HIS41</u> , <u>THR45</u> , <u>TYR54</u>	GR	95.36	<u>LEU141</u> , <u>SER144</u> , <u>HIS163</u> , <u>HIS164</u>
NCW	128.30	<u>TYR54</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS164</u> , <u>ASP187</u> , <u>ARG188</u>	IM	92.38	<u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS164</u> , <u>HIS189</u>
QW	126.85	<u>TYR54</u> , <u>SER144</u> , <u>CYS145</u> , <u>HIS164</u> , <u>GLN189</u>	GM	82.69	<u>HIS164</u> , <u>ASP187</u> , <u>ARG188</u> , <u>GLN189</u>
ADF	125.35	<u>HIS41</u> , <u>GLY143</u> , <u>CYS145</u>	AM	80.99	<u>TYR54</u> , <u>HIS164</u> , <u>ASP187</u>
RR	125.34	<u>HIS41</u> , <u>MET49</u> , <u>LEU141</u> , <u>SER144</u> , <u>HIS163</u> , <u>HIS164</u> , <u>GLN189</u>	GI	79.78	<u>MET49</u> , <u>TYR54</u> , <u>ASP187</u>

划线的标注为受体中的关键氨基酸。

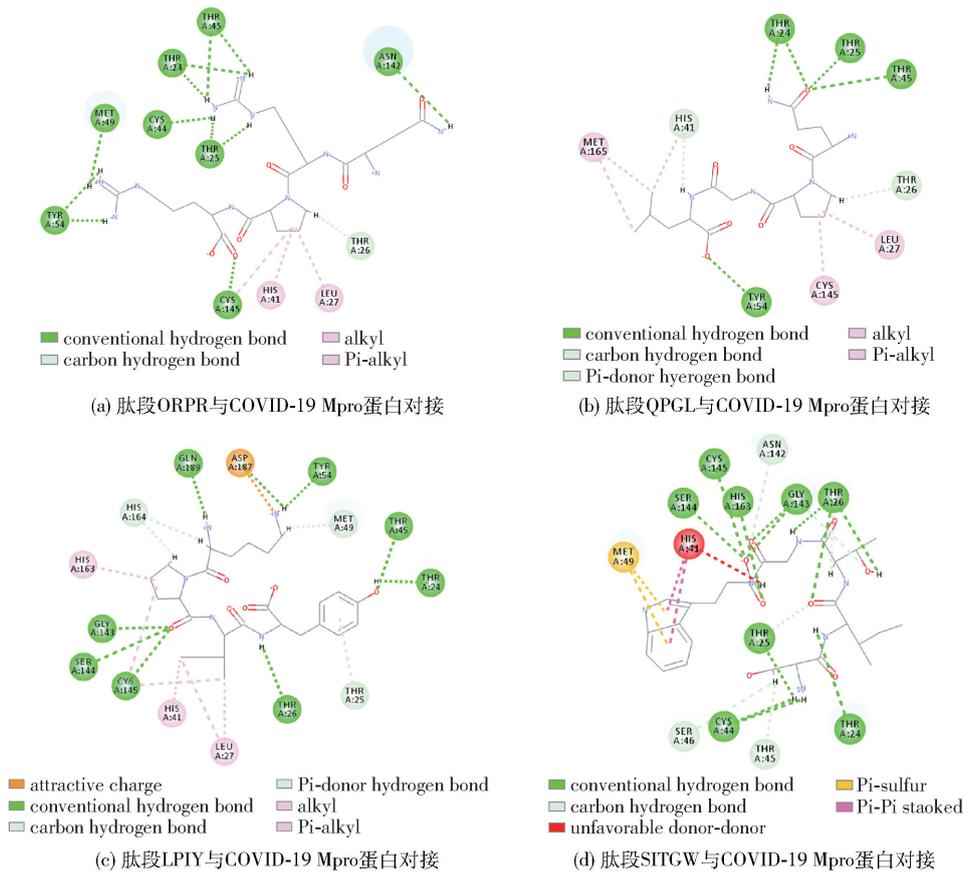


图4 活性肽段与 COVID-19 Mpro 蛋白对接 2D 示意图

Fig. 4 2D diagrams of interaction between bioactive peptides with COVID-19 Mpro protein

参考文献:

- [1] 新华网. 世卫组织: 中国以外新冠确诊病例达 10272430 例 [EB/OL]. [2020-07-02]. http://www.xinhuanet.com/2020-07/02/c_1126184998.htm. XinhuaNet. WHO: The number of confirmed COVID-19 cases outside China has reached 1,027,243 [EB/OL]. [2020-07-02]. http://www.xinhuanet.com/2020-07/02/c_1126184998.htm.
- [2] LU R, ZHAO X, LI J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding [J]. *Lancet*, 2020, 395(10224): 565-574.
- [3] 李建辉, 麻婧, 康文, 等. 新型冠状病毒 2019-nCoV 的病毒学特征、传播途径及抵抗力 [J]. *临床医学研究与实践*, 2020, 5(s1): 3-5.
- [4] LI J H, MA J, KANG W, et al. Virological characteristics, transmission route and resistance of the novel coronavirus 2019-nCoV [J]. *Clinical Research and Practice*, 2020, 5(s1): 3-5.
- [5] ZHU Z, CHAKRABORTI S, HE Y, et al. Potent cross-reactive neutralization of SARS coronavirus isolates by human monoclonal antibodies [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(29): 12123-12128.
- [6] MEULEN J T, BAKKER A B, BRINK E N V D, et al. Human monoclonal antibody as prophylaxis for SARS coronavirus infection in ferrets [J]. *Lancet*, 2004, 363(9427): 2139-2141.
- [7] MEULEN J T, BRINK E N V D, POON L L, et al. Human monoclonal antibody combination against SARS coronavirus: synergy and coverage of escape mutants [J]. *PLoS Medicine*, 2006, 3(7): e237.
- [8] GALLAGHER T M, BUCHMEIER M J. Coronavirus spike proteins in viral entry and pathogenesis [J]. *Virology*, 2001, 279(2): 371-374.
- [9] WALLS A C, XIONG X, PARK Y J, et al. Unexpected receptor functional mimicry elucidates activation of coronavirus fusion [J]. *Cell*, 2019, 176(5): 1026-1039.
- [10] XU X T, CHEN P, WANG J F, et al. Evolution of the

- novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission[J]. *Science China Life Sciences*, 2020, 63(3): 457–460.
- [11] LI Y, ZHANG J Y, WANG N, et al. The rapetic drugs targeting 2019-nCoV main protease by high-throughput screening[J/OL]. *bioRxiv*, 2020. [2020-06-08]. <https://doi.org/10.1101/2020.01.28.922922>.
- [12] 莫立乾, 郑萍. 新型冠状病毒肺炎治疗药物: 磷酸氯喹[J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40(4): 586–594. MO L Q, ZHENG P. Chloroquine phosphate: the rapetic drug for COVID-19[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2020, 40(4): 586–594.
- [13] 孙逊, 陶嘉磊, 许少菊, 等. 基于网络药理学探究化湿败毒方治疗新型冠状病毒肺炎的分子机制[J/OL]. *中药材*, 2020. [2020-06-08]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1286.R.20200430.1759.006.html>. SUN X, TAO J L, XU S J, et al. The molecular mechanism of treating COVID-19 with Huashi Baidu formula based on network pharmacology [J/OL]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2020. [2020-06-08]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1286.R.20200430.1759.006.html>.
- [14] 邓燕君, 刘博文, 贺桢翔, 等. 基于网络药理学和分子对接法探索藿香正气口服液预防新型冠状病毒肺炎(COVID-19)活性化合物研究[J]. *中草药*, 2020, 51(5): 1113–1122. DENG Y J, LIU B W, HE Z X, et al. Study on active compounds from Huoxiang Zhengqi oral liquid for prevention of coronavirus disease 2019 (COVID-19) based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2020, 51(5): 1113–1122.
- [15] 马婧, 霍晓乾, 陈茜, 等. 基于 Mpro 和 PLP 筛选潜在抗新型冠状病毒中药研究[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(6): 1219–1224. MA J, HUO X Q, CHEN Q, et al. Study on screening Chinese traditional medicine against SARS-CoV-2 based on Mpro and PLP[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45(6): 1219–1224.
- [16] 宗阳, 丁美林, 贾可可, 等. 基于网络药理学和分子对接法探寻达原饮治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)活性化合物的研究[J]. *中草药*, 2020, 51(4): 836–844. ZONG Y, DING M L, JIA K K, et al. Exploring the active compounds of Da-Yuan-Yin in treatment of novel coronavirus (2019-nCoV) pneumonia based on network pharmacology and molecular docking method[J]. *Traditional and Herbal Drugs*, 2020, 51(4): 836–844.
- [17] YU Z P, WU S J, ZHAO W Z, et al. Identification and the molecular mechanism of a novel myosin-derived ACE inhibitory peptide [J]. *Food & Function*, 2018, 9(1): 364–370.
- [18] TIAN X L, LI C, HUANG A L, et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 382–385.
- [19] LEI C H, FU W Y, QIAN K W, et al. Potent neutralization of 2019 novel coronavirus by recombinant ACE2-Ig [J/OL]. *bioRxiv*, 2020. [2020-06-08]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.01.929976v2>.
- [20] LIU X, WANG X J. Potential inhibitors for 2019-nCoV coronavirus M protease from clinically approved medicines [J/OL]. *bioRxiv*, 2020. [2020-06-08]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.29.924100v1>.
- [21] 沈亮亮, 李勇, 周明, 等. 基于分子对接技术筛选抗严重急性呼吸综合征冠状病毒2中药小分子化合物[J]. *中国新药杂志*, 2020, 29(7): 773–781. SHEN L L, LI Y, ZHOU M, et al. Screening of anti-SARS-CoV-2 small molecular compounds from traditional Chinese medicine based on molecular docking[J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2020, 29(7): 773–781.

Screening Research of Anti-SARS-CoV-2 Peptides from *Mizuhopecten yessoensis* Based on Molecular Docking

BU Ying¹, HE Wei¹, WANG Fei^{1,2}, ZHU Wenhui^{1,*}, LI Xuepeng¹,
YI Shumin¹, XU Yongxia¹, LI Jianrong^{1,*}

(1. College of Food Science and Technology, Bohai University/National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products/National R&D Branch Center of Surimi and Surimi Products Processing, Jinzhou 121013, China;
2. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: In order to screen bioactive peptides against SARS-CoV-2 from food raw materials,

Mizuhopecten yessoensis myosin was selected as the target sequence, which was enzymatically digested *in silico*, and then the toxicity and bioactivity of the peptides were predicted. The non-toxicity peptides with activity scores exceeding 0.5 were selected, and SARS-CoV-S/ACE2 complex protein and COVID-19 Mpro hydrolase were selected as targets for molecular docking to identify their viral resistance. The molecular docking results showed that the peptide CSNAIPEL could bind to the two key amino acids GLN42 and GLU329 on the SARS-CoV-S/ACE2 complex protein, and the LibDock Score was 136.03. LPIY could not only combine with ASP38 and TYR491 on the SARS-CoV-S/ACE2 complex protein, but also potentially combine with THR24, THR25 and THR26 on COVID-19 Mpro, and the LibDock Score was 142.85 and 168.04 respectively. QRPR combined with THR24, THR25 and THR26 on the COVID-19 Mpro hydrolase crystal, and the LibDock Score was 154.93. In summary, peptides CSNAIPEL, LPIY and QRPR exhibited well anti-SARS-CoV-2 capability. This study could provide novel ideas for the development of new function foods of anti-SARS-CoV-2 in the future.

Keywords: molecular simulation; simulated enzymatic hydrolysis; SARS-CoV-2; virtual screening; molecular docking; anti-SARS-CoV-2 peptides

(责任编辑:叶红波)

(上接第36页)

Effect of Cutting Direction on Nutritional Quality and Volatile Flavor Substances of Fresh-Cut Purple Cabbage

WANG Dan, LU Rongrong, MA Yue, ZHU Li, WANG Yubin, ZHAO Xiaoyan*

(Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science/Beijing Key Laboratory of Agricultural Products of Fruits and Vegetables Preservation and Processing/Key Laboratory of Vegetable Postharvest Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100097, China)

Abstract: In order to study the effects of different cutting direction on the quality of purple cabbages, the apparent color, browning degree, contents of soluble solids, phenolic compounds and anthocyanins, and flavor profiles of freshly transverse or longitudinal cutting purple cabbages before and after storage were compared. After storage for 9 days, the results showed that L^* and a^* of fresh cut purple cabbages were decreased, b^* and browning index were increased, the soluble solids content was decreased by 0.27 – 0.33 Brix, and contents of total phenol and anthocyanins were increased by 2.69 – 2.78 mg/g and 0.06 – 0.11 mg/g, respectively. Longitudinal cutting could slow down the browning and maintain the phenolic compounds such as catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid and quinic acid. In addition, the nitrogen oxides in purple cabbage was increased after storage analyzed by electronic nose and volatile matter, and allyl isothiocyanate in transverse cutting samples was increased than that in longitudinal cutting samples, which led to undesirable odor production. In conclusion, longitudinal cutting could efficiently slow down the surface browning and maintain the phenolic substances and flavor quality of purple cabbages. The results could provide theoretical references for improving the quality and extending the shelf life of fresh-cut purple cabbage.

Keywords: cutting direction; purple cabbage; phenolic compounds; anthocyanins; volatile compounds

(责任编辑:叶红波)