



秦鹏,杨阿丽,赵玉卉,韩融冰. 基于蛹虫草全基因组水平筛选外排虫草素的候选转运蛋白[J]. 中国农业大学学报,2025,30(11):183-194.
QIN Peng, YANG Ali, ZHAO Yuhui, HAN Rongbing. Genome-wide screening of candidate transporters responsible for Cordycepin efflux in *Cordyceps militaris* [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(11): 183-194.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2025.11.15

基于蛹虫草全基因组水平筛选外排虫草素的候选转运蛋白

秦 鹏 杨阿丽 赵玉卉 韩融冰

(甘肃省科学院 生物研究所/甘肃省微生物资源开发利用重点实验室,兰州 730030)

摘 要 为筛选介导外排虫草素的蛹虫草候选转运蛋白,本研究借助生信手段鉴定蛹虫草全基因组ABC转运蛋白,通过整合蛹虫草转录组数据、已验证研究结论和分子对接分析方法,挖掘显著正向关联虫草素积累水平的蛹虫草候选转运蛋白。结果表明:1)在蛹虫草全基因组水平共鉴定获得70个ABC转运蛋白,分布在ABCA(3个)、ABCB(12个)、ABCC(37个)、ABCD(2个)、ABCE(1个)、ABCF(5个)、ABCG(8个)、ABCI(1个)和YDR061W(1个)亚家族;2)整合3项蛹虫草转录组数据,筛选出96个与虫草素积累显著正相关的膜蛋白,将这些蛋白比对至酿酒酵母、构巢曲霉和米曲霉的全基因组蛋白,筛选相似性都大于30%的共有蛋白,并结合与智人(*Homo sapiens*)的ENT1/ENT2、白假丝酵母(*Candida albicans*)的CaCNT、布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)的TbAT1同源的蛋白,获得34个候选转运蛋白;3)通过构建蛋白三维结构模型并与虫草素进行分子对接,所有候选转运蛋白与虫草素的对接结合能都小于-5 kJ/mol,亚细胞定位预测显示,这些蛋白主要分布于质膜(27个)、液泡(3个)、内质网(2个)、过氧化物酶体(1个)和线粒体(1个)。综上,通过多策略生信分析,本研究在蛹虫草CM01全基因组蛋白中鉴定到70个ABC转运蛋白,筛选介导外排虫草素相关的34个候选转运蛋白,为转运蛋白主导的虫草素外排机理和代谢重编程研究奠定理论基础。

关键词 蛹虫草; 虫草素; 转运蛋白; 生物信息学; 分子对接

中图分类号 Q939.99

文章编号 1007-4333(2025)11-0183-12

文献标志码 A

Genome-wide screening of candidate transporters responsible for Cordycepin efflux in *Cordyceps militaris*

QIN Peng, YANG Ali, ZHAO Yuhui, HAN Rongbing

(Institute of Biology/Key Laboratory of Microbial Resources Exploitation and Application of Gansu Province, Gansu Academy of Sciences, Lanzhou 730030, China)

Abstract To screen candidate transporters involved in cordycepin efflux within *Cordyceps militaris*, the study employed bioinformatics approaches to analyze ATP-binding cassette (ABC) transporters across its genome. By integrating transcriptomic data, previously validated findings, and molecular docking analyses, transporters correlated with cordycepin accumulation were identified. The results showed that: 1) A total of 70 ABC transporters were identified at the genomic level, distributed in the ABCA (3), ABCB (12), ABCC (37), ABCD (2), ABCE (1), ABCF (5), ABCG (8), ABCI (1) and YDR061W (1) subfamilies. 2) Integrating transcriptome data of *C. militaris* from three projects, 96 membrane proteins significantly positively correlated with cordycepin accumulation were screened. These proteins were compared to the whole genome proteins of *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus nidulans*, and *Aspergillus oryzae*, and shared proteins with a similarity greater than 30% were screened. Across the entire genome of *C. militaris*, proteins homologous to ENT1/ENT2 of *Homo sapiens*,

收稿日期: 2025-03-24

基金项目: 甘肃省科学院优秀青年基金项目(2024YQ-07)

第一作者: 秦鹏(ORCID:0000-0002-4536-6271),副研究员,主要从事微生物资源开发利用研究,E-mail:kingkerberos@163.com

CaCNT of *Candida albicans*, and TbAT of *Trypanosoma brucei* were investigated and combined with the selected shared proteins to obtain 34 candidate transporter proteins. 3) By constructing a three-dimensional protein structure model and performing molecular docking analyses, the binding energies of all transporters to cordycepin were less than -5 kJ/mol. Subcellular localization predictions showed that these proteins were mainly distributed in the plasma membrane (27), vacuole (3), endoplasmic reticulum (2), peroxisome (1), and mitochondrion (1). In conclusion, through multi-strategy bioinformatics analysis, this study identified 70 ABC transporters in the whole genome of *C. militaris* CM01 and screened 34 candidate transporters potentially involved in cordycepin efflux in *C. militaris* CM01, laying the groundwork for future research on cordycepin transport mechanisms and metabolic reprogramming.

Keywords *Cordyceps militaris*; cordycepin; transporter; bioinformatics; molecular docking

蛹虫草(*Cordyceps militaris*)是虫草属模式真菌,其质控产物虫草素(即3'-脱氧腺苷,Cordycepin)具有抗癌、抗阿尔茨海默病等功效^[1],具有良好的应用潜力。然而,虫草素含量低的问题严重制约蛹虫草产业发展。内源活性产物的外排是真菌用以增强自身抗性,从而提高活性产物含量的核心策略,该过程主要依赖转运蛋白介导的运输途径。转运蛋白主导代谢重编程是提高真菌活性产物含量的重要技术手段,在代谢重编程工程中具有重要的应用价值,研究发现转运蛋白主导的代谢重编程手段能显著提高酿酒酵母的生产性能,使胞外茛菪碱和东茛菪碱产量分别提高114和7.2倍^[2],胞内的大麻二酚含量增加了5.69倍^[3],对胞内癸烷抗性提升了80倍^[4]。因此,筛选外排虫草素的蛹虫草转运蛋白具有重要的研究意义。

在蛹虫草的原位体系中,*cns3~1*依次负责腺苷到虫草素的从头合成,同一基因簇的*cns4*编码蛋白仅负责外排喷司他丁而非虫草素^[5],而ABC转运蛋白通路数量^[6]和相关基因表达水平^[7]随虫草素含量的提高而显著增加,提示蛹虫草ABC转运蛋白密切正向关联虫草素含量。ABC转运蛋白(ATP-binding cassette transporter)在真菌中广泛分布,是目前最大的转运蛋白家族,主导运输生物碱等活性产物。ABC转运蛋白包含跨膜运输结构域(TMD)和标志性的ATP驱动泵结构域(NBD),真核生物的绝大多数属于将底物由对侧运输到NBD测的外向型^[8-10]。依据不同物种的ABC转运蛋白结构域序列相对保守且功能相似的特征,按照HUGO(The human genome organization)系统将ABC转运蛋白划分为ABCA~ABCG、ABCI的8个亚家族和其他分类(YDR061W),每个亚家族具有特定的功能:ABCA成员主要运输脂质;ABCB成员运输重金

属、铁离子和活性产物;ABCC成员转运卵磷脂、胆酸和活性产物等;ABCD成员主要运输脂肪酸;ABCE和ABCF成员通常缺乏TMD,参与起始因子、转录因子、细胞周期等细胞调控活动;ABCG成员主要介导外源化合物、药物成分、毒素、磷脂、甾醇的转运,部分成员含有多药耐药性(PDR_CDR)结构域;ABCI成员通常只含有NBD,是蛋白复合体的亚基,参与调控mRNA;YDR061W成员未被归入HUGO亚家族,其功能尚不明确^[8,11]。

蛹虫草代谢组学研究发现:相比低产虫草素的蛹虫草菌,高产虫草素的蛹虫草菌丝体中代谢产物显著富集到ABC转运蛋白通路^[6-7],表明高产虫草素的蛹虫草菌更依赖ABC转运蛋白;在柞蚕蛹虫草的不同发育时期,子实体虫草素含量差异显著,ABC转运蛋白通路是不同发育时期子实体之间的主要差异代谢通路^[12],提示蛹虫草细胞内的虫草素积累过程耦合ABC转运蛋白通路。蛹虫草转录组学研究发现:ABC转运蛋白通路在高产虫草素的蛹虫草子实体样本中显著富集^[13],说明蛹虫草子实体的虫草素积累依赖ABC转运蛋白;CCM_04722编码蛋白G3JD22可能负责转运虫草素^[14]。异源体系的研究表明,酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)S288C^[15]、构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)^[5]、米曲霉(*Aspergillus oryzae*)RIB 40^[16]都能外排虫草素,说明与这3个物种同源的蛹虫草转运蛋白负责外排虫草素;智人(*Homo sapiens*)的ENT1/ENT2^[17]、白假丝酵母(*Candida albicans*)的CaCNT^[18]、布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)的TbAT1^[19]能介导虫草素的内向转运。目前为止,不仅国内外尚无基于全基因组水平筛选蛹虫草ABC转运蛋白的研究报道,而且外排虫草素的蛹虫草转运蛋白仍不明确。因此,筛选介导虫草素外排的蛹虫草转运蛋白对提高虫

草素积累水平有重要意义。本研究通过鉴定并分析蛹虫草全基因组ABC转运蛋白,以及基于蛹虫草转录组和已验证异源运输虫草素的生物信息学分析,在蛹虫草CM01全基因组水平上系统筛选参与外排虫草素相关的候选转运蛋白,为进一步研究蛹虫草内源性虫草素的外排机理提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

蛹虫草菌CM01,其在UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>)的全基因组蛋白Proteome ID为UP000001610。

1.2 筛选蛹虫草ABC转运蛋白

利用TBtools软件^[20]的HMM search工具,以Pfam数据库的PF00005(<https://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/pfam/PF00005/>)建立ABC转运蛋白保守结构域背景数据,比对($E < 1 \times 10^{-5}$)蛹虫草全基因组蛋白序列,同时借助Pfam^[21]、Smart^[22]、NCBI CDD^[23]在线系统,剔除不含注释信息和不含NBD结构域的序列后,获得蛹虫草的候选ABC转运蛋白。

1.3 鉴定蛹虫草ABC转运蛋白

采用InterPro数据库^[24]对蛹虫草的候选ABC转运蛋白进行HUGO^[25]系统分类。整合UniProt数据库中已鉴定(Reviewed)酵母、曲霉和智人ABC转运蛋白并导入TBtools软件,与蛹虫草的候选ABC转运蛋白进行多序列比对,以最大似然法(ML)构建系统发育树(Bootstrap值为5 000),利用ITOL在线系统^[26]进行可视化,据此验证蛹虫草ABC转运蛋白隶属的亚家族正确性。

1.4 ABC转运蛋白的理化性质、保守结构域和功能分析

检索Pfam和Smart数据库获得蛹虫草ABC转运蛋白的保守结构域,合并去重后利用TBtools软件可视化。分别借助ProtParam(<https://web.expasy.org/protparam/>)、ProComp(<http://www.softberry.com/>)在线平台及DeepTMHMM程序(<https://dtu.biolib.com/DeepTMHMM/>)分析蛹虫草ABC转运蛋白的理化性质、亚细胞定位和跨膜结构。

1.5 基于生信广泛筛选候选转运蛋白

从NCBI SRA数据库下载项目PRJNA883799(Xylose vs Glucose以及Xylose vs Arabinose)^[27]和

PRJNA900787(NAA-4000 vs NAA-0以及NAA-3000 vs NAA-0)^[13]中虫草素含量差异显著($P < 0.01$)的蛹虫草转录组原始测序数据,利用Galaxy平台(<https://usegalaxy.org/>)解析原始数据,与Zhang等^[14]研究数据(GYS60 vs *C. militaris*以及GYS60 vs GYS80)合并后,分别在每个研究中筛选与虫草素含量显著正相关且共有的上调差异表达基因并注释为蛹虫草CM01蛋白,通过DeepTMHMM程序获取其中的膜蛋白,分别比对到*S. cerevisiae*(UniProt ID: UP000002311)、*A. nidulans*(UniProt ID: UP000000560)、*A. oryzae*(UniProt ID: UP000006564)蛋白,选取相似性都大于30%(以下统称同源蛋白)的共有蛹虫草蛋白,然后在蛹虫草CM01全基因组蛋白中筛选与*H. sapiens*的ENT1(UniProt ID: Q99808)和ENT2(UniProt ID: Q14542)、*C. albicans*的CaCNT(UniProt ID: Q874I3)、*T. brucei*的TbAT1(UniProt ID: Q9Y0I0)的同源蛋白,与上一步的共有蛹虫草蛋白合并并去重后,作为候选转运蛋白。

1.6 构建候选转运蛋白结构模型

在UniProt数据库中获取已构建的候选转运蛋白3D结构模型,其他候选转运蛋白通过以下步骤构建:在UniProt数据库提取CmABCG5(即CNS4, UniProt ID: G3JF11, Gene name: CCM_04439)序列,分别利用Colab AlphaFold2^[28]、HelixFold-Single^[29]、I-TASSER^[30]、SWISS-MODEL程序构建CmABCG5结构模型,再依据QATEN程序^[31]和SAVES Ramachandran 拉氏构象(<https://saves.mbi.ucla.edu/>)评估的合理性筛选CmABCG5结构模型,据此优选方法构建候选转运蛋白3D结构模型。

1.7 分子对接探究候选转运蛋白外排虫草素的潜力

利用Discovery Studio 2019准备虫草素(PubChem CID: 6303)和候选转运蛋白的结构模型,包括加氢、去水和优化结构等;借助PrankWeb程序^[32]预测蛋白活性位点;在Dockey软件^[33]上搭建基于Auto Dock Vina 1.2.5的分子对接平台,以候选转运蛋白和虫草素的对接结合能为依据,探究候选转运蛋白外排虫草素的潜力,应用PyMOL软件进行可视化。

1.8 数据统计与分析

在Galaxy平台构建转录组原始数据分析流程: Fastp 1.0.1+Hisat2 2.2.1+FeatureCounts 2.0.8解

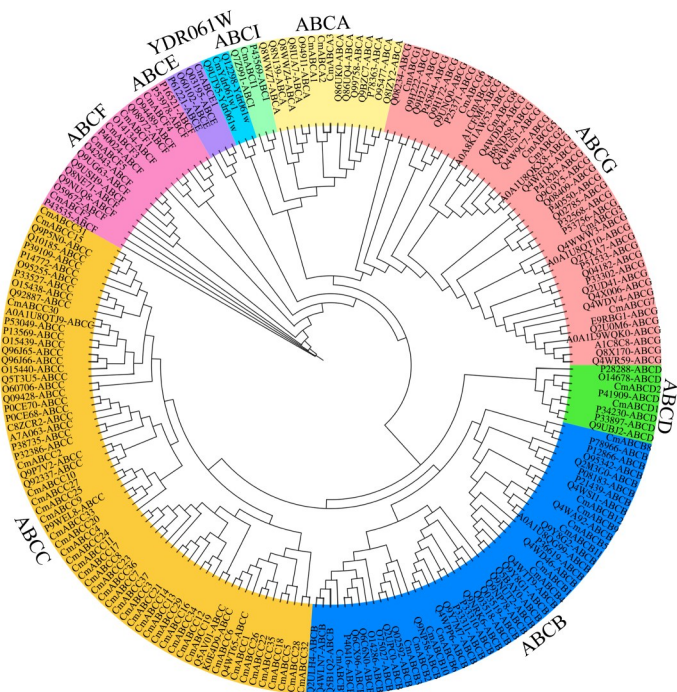
析获得基因 Counts;借助 DESeq2 程序并按照文献的标准($P<0.05$)筛选差异基因,其中 PRJNA883799 为 $\text{Log}_2\text{FC}>1$, PRJNA900787 为 $\text{FC}>1.5$ 。利用 Bioinformatics(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制火山图,Adobe Illustrator CS6(Adobe Systems Incorporated,美国)软件绘制图形。

2 结果与分析

2.1 蛹虫草 ABC 转运蛋白的鉴定与系统分类

从蛹虫草 CM01 基因组注释的 9 651 个蛋白中,

筛选出 70 个 ABC 转运蛋白,将这 70 个蛋白与已报道的 140 个 ABC 转运蛋白合并,构建系统发育树并统一命名。如图 1 所示,蛹虫草 ABC 转运蛋白分布于 ABCA(3)、ABCB(12)、ABCC(37)、ABCD(2)、ABCE(1)、ABCF(5)、ABCG(8)和 ABCI(1)共 8 个亚家族,以及 YDR061W(1),其中 ABCC、ABCB、ABCG 成员最多,分别占 52.8%、17.1% 和 11.4%。各亚家族成员与已知同源序列聚为同一分支,表明本研究对蛹虫草 ABC 转运蛋白的亚家族划分可靠。



已鉴定 ABC 转运蛋白的亚家族信息源自参考文献^[11,34]以及 UniProt 数据库中标注为“Reviewed”的蛋白信息,其编号以“UniProt ID-已鉴定 ABC 转运蛋白隶属亚家族”表示。

Subfamily classifications of identified proteins have been sourced from academic references and the UniProt database, formatted as "UniProt ID - Subfamily affiliation".

图 1 蛹虫草与已鉴定 ABC 转运蛋白系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of *C. militaris* and identified ABC transporters

2.2 蛹虫草 ABC 转运蛋白的保守结构域分析

同一亚家族成员含有保守结构域的种类与数量相近,如图 2 所示,蛹虫草 ABC 转运蛋白的结构类型分为全、3/4、半、1/4 分子,都含有特征性的 NBD 结构域(ABC_tran)。其中,ABCA 成员均为全分子,TMD 均为 ABC2_membrane3;ABCB 成员包括全分子和半分子,其 TMD 为 ABC_membrane;ABCC 成员涵盖全分子、3/4 分子、半分子,其 TMD 都为 ABC_membrane;ABCD 成员均为由 ABC_

membrane_2 构成的半分子;ABCE 和 ABCF 成员仅包含 ABC_tran,缺乏 TMD;ABCG 成员为由 ABC2_membrane 构成的全分子、半分子,其中 CmABCG3/7/8 在 N 端包含 NBD 结构域(ABC_tran_N),CmABCG2/3/5/7/8 含有 PDR_CDR,CmABCG2/3/5/7/8 可能增强蛹虫草对内源性毒素的抗性,研究证实 CmABCG5 负责外排蛹虫草子实体的内源性喷司他丁^[5];CmABCI 与 YDR061W 成员仅包含 ABC_tran 结构域。

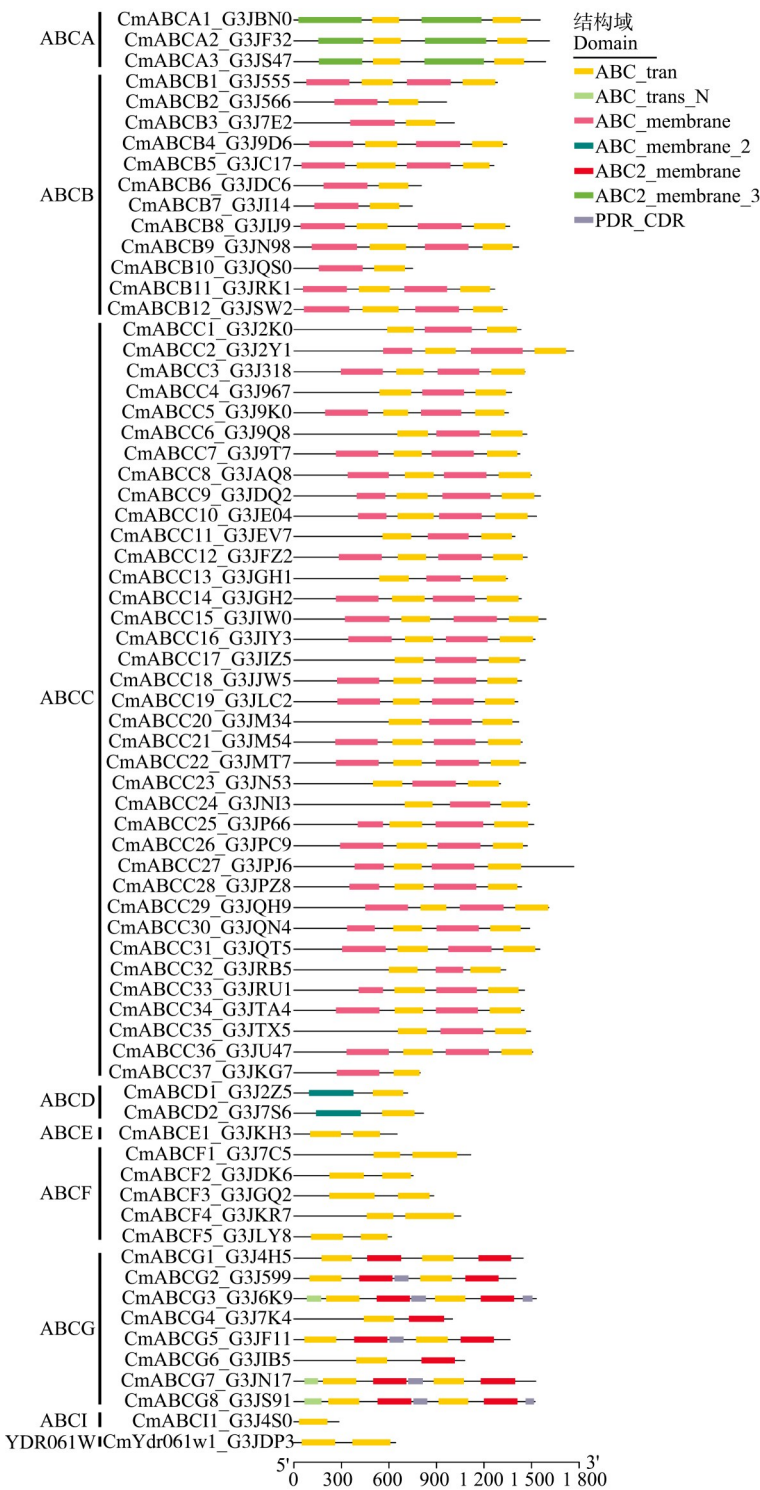


图 2 蝇虫草 ABC 转运蛋白的保守结构域

Fig. 2 Conserved domains of ABC transporters in *C. militaris*

2.3 蝇虫草 ABC 转运蛋白的理化性质分析

蝇虫草 ABC 转运蛋白的理化性质存在不同程度的差异(表 1):氨基酸长度 284~1 766 aa、分子量 30.87~194.60 ku、理论等电点 5.29~7.47、不稳定指数 28.62~49.83、脂肪系数 84.38~113.51、总平

均亲水性(GRAVY)−0.377~0.340, GRAVY>0 视为疏水,其中 51 个为疏水蛋白,占 72.9%。亚细胞定位结果显示:5 个位于细胞质,5 个位于内质网(其中 2 个为分泌型膜蛋白),7 个位于线粒体,2 个位于过氧化物酶体,39 个位于质膜,12 个位于液泡。

表1 蛹虫草ABC转运蛋白的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of ABC transporters in *C. militaris*

蛋白 Protein	Uniprot ID	长度 Length	分子量/ku MW	理论等电点 IP	不稳定指数 II	脂肪 系数 AI	总平均 亲水性 GRAVY	亚细胞 定位 SL	跨膜结构域 TS
CmABCA1	G3JBN0	1 554	169.130 96	8.68	38.04	99.85	0.176	V	TM
CmABCA2	G3JF32	1 612	175.731 02	8.37	37.48	104.21	0.213	V	TM
CmABCA3	G3JS47	1 588	170.84583	8.23	33.51	99.87	0.198	PM	TM
CmABCB1	G3J555	1 284	138.550 89	6.07	41.61	104.15	0.229	PM	TM
CmABCB2	G3J566	963	106.0365	6.18	35.46	95.42	0.007	PM	TM
CmABCB3	G3J7E2	1 012	114.02705	8.64	38.71	87.61	−0.207	V	TM
CmABCB4	G3J9D6	1 343	146.776 48	7.57	38.74	97.82	0.090	PM	TM
CmABCB5	G3JC17	1 262	138 509 84	6.65	35.19	93.73	0.054	PM	TM
CmABCB6	G3JDC6	804	87.738 32	9.46	43.47	91.43	−0.110	M	TM
CmABCB7	G3JII4	747	82.141 49	9.46	29.79	93.53	−0.044	M	TM
CmABCB8	G3JII9	1 362	146.677 64	8.66	45.48	95.30	0.131	PM	TM
CmABCB9	G3JN98	1 418	152.8163	5.92	37.27	100.75	0.173	PM	TM
CmABCB10	G3JQS0	749	80.565 2	9.47	39.81	89.79	−0.029	M	TM
CmABCB11	G3JRK1	1 268	138.829 46	5.66	38.16	99.78	0.176	PM	TM
CmABCB12	G3JSW2	1 346	143.594 64	6.06	38.15	100.19	0.182	PM	TM
CmABCC1	G3J2K0	1 434	154.640 37	6.57	41.48	107.93	0.231	PM	TM
CmABCC2	G3J2Y1	1 766	194.600 65	6.84	34.40	102.85	0.112	V	TM
CmABCC3	G3J318	1 459	161.734 84	6.79	47.12	105.89	0.245	PM	TM
CmABCC4	G3J967	1 374	152.002 83	8.79	38.49	103.41	0.114	ER	TM
CmABCC5	G3J9K0	1 353	147.938 48	7.40	43.07	107.22	0.275	PM	TM
CmABCC6	G3J9Q8	1 470	163.143 65	5.29	45.41	105.51	0.171	PM	TM
CmABCC7	G3J9T7	1 426	157.83912	6.84	43.45	107.91	0.203	PM	TM
CmABCC8	G3JAQ8	1 499	164.751 53	8.82	39.78	99.63	0.167	PM	TM
CmABCC9	G3JDQ2	1 556	171.675 67	6.43	34.50	102.46	0.068	PM	TM
CmABCC10	G3JE04	1 531	169.214 35	7.79	35.05	100.61	0.144	ER	TM
CmABCC11	G3JEV7	1 395	153.334 74	8.44	36.93	105.61	0.255	PM	TM
CmABCC12	G3JFZ2	1 472	161.006 40	9.22	38.83	108.91	0.265	V	TM
CmABCC13	G3JGH1	1 348	146 901.68	7.39	41.59	105.79	0.281	PM	TM
CmABCC14	G3JGH2	1 435	158.460 87	7.53	43.92	110.45	0.298	PM	TM
CmABCC15	G3JIW0	1 591	173.476 45	6.62	31.95	100.26	0.218	V	TM
CmABCC16	G3JIY3	1 522	164.738 97	9.14	49.83	102.77	0.147	PM	TM
CmABCC17	G3JIZ5	1 460	161.736 77	7.24	37.38	104.69	0.252	PM	TM
CmABCC18	G3JJW5	1 436	156.594 43	6.18	40.00	109.58	0.340	PM	TM
CmABCC19	G3JLC2	1 413	155.542 76	6.73	40.62	111.52	0.285	PM	TM
CmABCC20	G3JM34	1 419	155.194 95	9.10	45.89	104.32	0.152	ER	TM
CmABCC21	G3JM54	1 441	158.338 44	6.34	36.41	106.00	0.241	PM	TM
CmABCC22	G3JMT7	1 462	160.783 49	6.77	43.70	110.60	0.274	PM	TM
CmABCC23	G3JN53	1 304	143.964 39	6.52	44.73	102.45	0.190	V	TM

表 1（续）

蛋白 Protein	Uniprot ID	长度 Length	分子量/ku MW	理论等电点 IP	不稳定指数 II	脂肪 系数 AI	总平均 亲水性 GRAVY	亚细胞 定位 SL	跨膜结构域 TS
CmABCC24	G3JNI3	1 487	162.465 56	8.99	35.20	100.14	0.118	M	TM
CmABCC25	G3JP66	1 513	165.883 77	6.53	41.82	101.52	0.115	V	TM
CmABCC26	G3JPC9	1 473	161.158	6.58	36.21	108.34	0.297	V	TM
CmABCC27	G3JPJ6	1 766	193.834 93	8.54	38.08	100.75	0.122	V	TM
CmABCC28	G3JPZ8	1 436	156.505 41	6.46	39.56	112.06	0.304	V	TM
CmABCC29	G3JQH9	1 608	175.977 39	8.77	37.69	106.15	0.246	ER	SPTM
CmABCC30	G3JQN4	1 488	165.183 70	6.53	34.47	93.38	−0.085	PM	TM
CmABCC31	G3JQT5	1 552	172.508 52	8.59	38.57	97.69	0.013	V	TM
CmABCC32	G3JRB5	1 337	147.808 90	8.40	36.98	112.60	0.202	PM	TM
CmABCC33	G3JRU1	1 455	158.722 96	8.32	40.76	107.91	0.147	PM	TM
CmABCC34	G3JTA4	1 452	160.894 98	6.30	40.57	104.04	0.160	PM	TM
CmABCC35	G3JTX5	1 493	163.616 56	8.44	38.90	110.12	0.277	PM	TM
CmABCC36	G3JU47	1 507	167.232 81	8.14	39.07	103.73	0.184	PM	TM
CmABCC37	G3JKG7	797	86.993 46	9.11	40.04	113.51	0.320	M	TM
CmABCD1	G3J2Z5	718	81.144 52	9.20	37.40	98.87	−0.081	P	TM
CmABCD2	G3J7S6	817	91.643 85	9.19	32.60	90.92	−0.261	P	TM
CmABCE1	G3JKH3	651	73.050 79	6.09	34.07	91.06	−0.308	PM	GLOB
CmABCF1	G3J7C5	1 116	12.247 367	6.25	38.10	90.82	−0.291	C	GLOB
CmABCF2	G3JDK6	752	82.825 27	5.88	36.10	92.02	−0.263	C	GLOB
CmABCF3	G3JGQ2	882	96.893 69	7.37	47.22	95.73	−0.276	M	GLOB
CmABCF4	G3JKR7	1 053	11.733 050	5.78	33.30	89.05	−0.314	C	GLOB
CmABCF5	G3JLY8	616	68.319 85	6.43	35.14	85.50	−0.377	C	GLOB
CmABCG1	G3J4H5	1 446	159.387 18	8.32	42.73	92.41	0.018	PM	SPTM
CmABCG2	G3J599	1 401	154.943 19	6.31	33.25	87.72	0.007	PM	TM
CmABCG3	G3J6K9	1 530	169.909 19	6.17	39.04	86.02	−0.046	PM	TM
CmABCG4	G3J7K4	1 001	108.935 87	8.68	38.86	88.71	0.025	PM	TM
CmABCG5	G3JF11	1 364	151.877 23	6.90	28.62	88.80	−0.024	PM	TM
CmABCG6	G3JIB5	1 078	118.139 97	5.38	46.02	90.70	0.022	ER	SPTM
CmABCG7	G3JN17	1 526	170.716 29	6.53	38.07	85.27	−0.083	PM	TM
CmABCG8	G3JS91	1 522	168.909 55	6.74	36.03	84.38	−0.037	PM	TM
CmABCI1	G3J4S0	284	30.873 32	5.81	36.71	95.77	−0.072	C	GLOB
CmYdr06 1w1	G3JDP3	641	70.042 51	6.38	44.10	85.69	−0.243	M	GLOB

注：MW：分子量，IP：理论等电点，II：不稳定指数，AI：脂肪系数，GRAVY：总平均亲水性，SL：亚细胞定位，TS：跨膜结构域，V：液泡，PM：质膜，M：线粒体，ER：内质网，P：过氧化物酶体，G：细胞质，TM：质膜结构，SPTM：分泌性跨膜结构，GLOB：无跨膜结构域。

Note: MW: Molecular weight. IP: Theoretical isoelectric point. II: Instability index. AI: Aliphatic index. GRAVY: Grand Average of Hydropathicity index. SL: Subcellular localization. TS: Transmembrane structure. V: Vacuole. PM: Plasma Membrane. M: Mitochondria. ER: Endoplasmic reticulum. P: Peroxisome. G: Cytosol. TM: Transmembrane structure. SPTM: Secretory transmembrane structure. GLOB: Without transmembrane.

2.4 筛选外排虫草素的候选转运蛋白

在NCBI项目PRJNA883799和PRJNA900787中,Xylose组虫草素含量显著高于Glucose组和Arabinose组($P<0.01$),NAA-4000组和NAA-3000组虫草素含量显著高于NAA-0组($P<0.01$)。在研究PRJNA883799中,Xylose组相比Glucose组筛选获得949个上调表达基因(图3(a)),Xylose组与Arabinose组相比,820个基因上调(图3(b)),其中共有上调基因有432个。在PRJNA900787中,NAA-4000组相对于NAA-0组有150个基因上调(图3(c)),NAA-3000组与NAA-0组相比,筛选到

234个上调基因(图3(d)),其中共有上调基因有95个。利用Zhang等^[14]研究数据,GYS60组虫草素含量显著高于*C. militaris*组和GYS80组($P<0.01$),通过比较分析筛选获得22个共有上调基因。将上述共有上调基因对应的蛋白合并,预测跨膜结构后获得96个膜蛋白,将这些膜蛋白分别与酿酒酵母、构巢曲霉、米曲霉蛋白组进行BLASTP比对,分别获得同源蛋白64、81和78个,保留相似性均大于30%的同源蛋白,与已验证转运虫草素的ENT1、ENT2、CaCNT和TbAT1的*C. militaris* CM01同源蛋白合并去重,共得到34个候选转运蛋白。

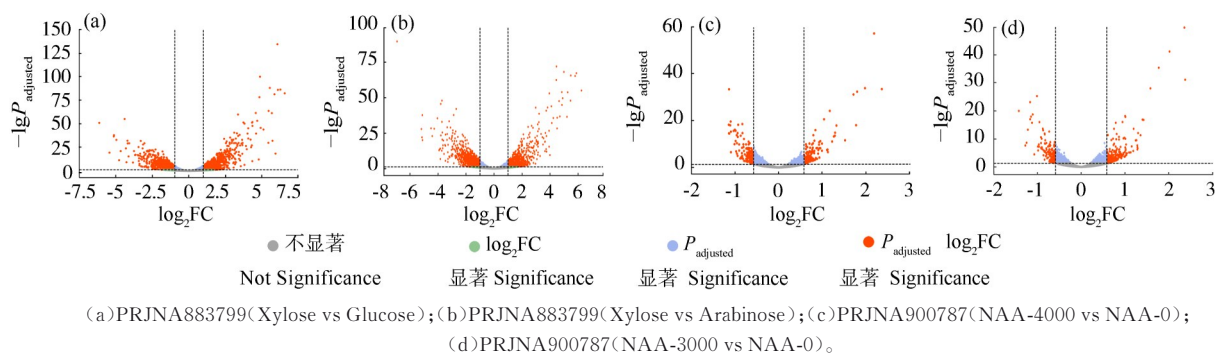


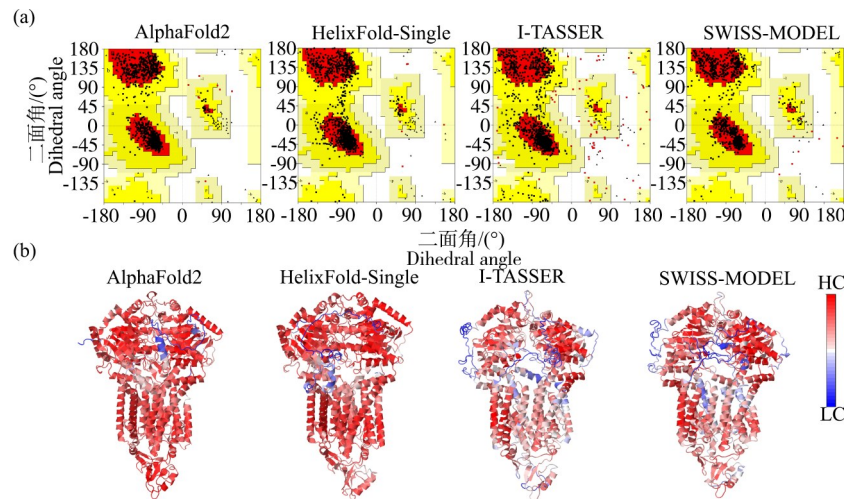
图3 筛选正向关联虫草素含量的蛹虫草差异基因

Fig. 3 Screening for differential genes in *C. militaris* associated with cordycepin content

2.5 构建蛋白结构模型

CmABCG5结构模型的定性评估(图4(a))显

示,AlphaFold2模型的落入最适区的氨基酸数量明显高于其他模型,图4(b)显示 AlphaFold2模型的高



HC代表高可信度,LC表示低可信度。

HC and LC represent high and low confidence, respectively.

(a)SAVES拉氏构象图;(b)QATEN程序评估模型。

(a) SAVES Ramachandran;(b) Model quality assessment using QATEN.

图4 定性评价 CmABCG5结构模型

Fig. 4 Qualitative assessment of CmABCG5 structure

可信度区域明显多于其他模型；定量评价结果（表 2）显示，落入最适区氨基酸比例最高的是 AlphaFold2 模型，落入最适和允许区氨基酸的比例达到 99.3%；QATEN 程序对模型的评估值 Global

Value 反映了模型结构合理性，Global Value 越高，模型结构越合理，AlphaFold2 结构模型的 Global Value 明显高于其他模型。因此，以 AlphaFold2 程序构建候选转运蛋白的结构模型。

表 2 定量评价 CmABCG5 结构模型

Table 2 Quantitative assessment of CmABCG5 structure

模型 Model	拉氏构象值/% Ramachandran	QGV
HelixFold-Single	87.6+11.9+0.3+0.3	0.662
AlphaFold2	93.6+5.8+0.5+0.2	0.692
I-TASSER	79.7+15.1+3.3+1.8	0.506
SWISS-MODEL	91.0+8.0+0.6+0.3	0.588

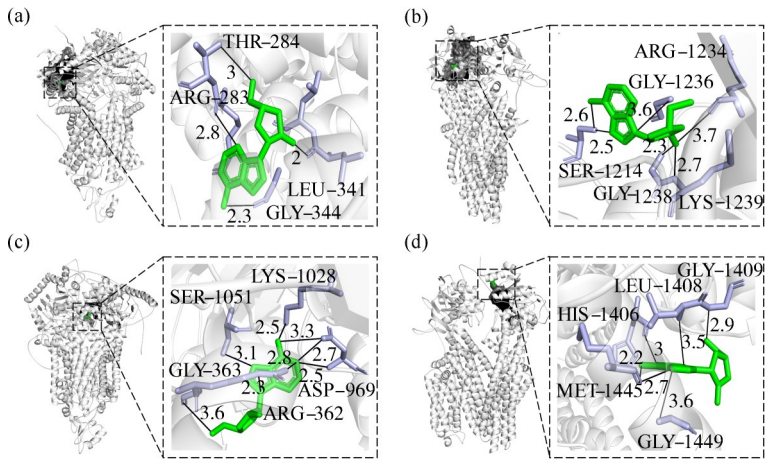
注：拉氏构象数据依次表示最适区、允许区、一般允许区和不允许区。QGV 表示 QATEN 程序输出的 global value。

Note: Ramachandran plot data are presented in the order of most favored, allowed, generously allowed, and disallowed regions. QGV represents global value assessed by QATEN program.

2.6 候选转运蛋白外排虫草素的潜力分析

氢键是形成稳定的蛋白-配体复合物的关键因素，选取与 *S. cerevisiae*、*A. nidulans*、*A. oryzae* 的蛋白都具有较高相似性的 CmABCG3、CmABCC28、CmABCG8、CmABCC22 对接虫草素。如图 5 所示，

CmABCG3 通过 4 条氢键结合虫草素，结合自由能 -5.68 kJ/mol ；CmABCC28-虫草素复合体有 6 条氢键，结合自由能 -6.24 kJ/mol ；CmABCG8 与虫草素形成 7 条氢键，结合自由能 -6.76 kJ/mol ；CmABCC22 与虫草素存在 6 条氢键，结合自由能 -6.11 kJ/mol 。



(a) CmABCG3-虫草素复合体，虚线框内黑色界面区域为 PrankWeb 预测的 CmABCG3 活性位点，下同；(b) CmABCC28-虫草素复合体；(c) CmABCG8-虫草素复合体；(d) CmABCC22-虫草素复合体。

(a) The CmABCG3-cordycepin complex. The black spherical interface within dashed box indicates the active site of CmABCG3 predicted by PrankWeb. The same below; (b) The CmABCC28-cordycepin complex; (c) The CmABCG8-cordycepin complex; (d) The CmABCC22-cordycepin complex.

图 5 候选转运蛋白与配体氢键作用

Fig. 5 Hydrogen-bond interaction of ligands and candidate transporters

将自建及 UniProt 获取的候选转运蛋白 3D 结构与虫草素进行分子对接，如表 3 所示，候选转运蛋白与

虫草素的对接结合能都小于 -5 kJ/mol ，说明候选转运蛋白都能与虫草素形成稳定复合体。依据 UniProt

功能注释,推测25个候选转运蛋白具备转运活性,其中 G3JAQ7、CmABCC27、CmABCG8、G3JKC3、G3JJ35、G3JPE8、G3JDP9、G3J891、CmABCC28、CmABCB11、CmABCC22与CmABCG3可能参与虫草素的外排。候选转运蛋白呈现明显的亚细胞膜定位特征,27个位于质膜,3个位于液泡,2个位于内质网,过氧化物酶体和线粒体各分布1个,提示这些细胞器与虫草素的运输和积累调控密切关联。

表3 候选转运蛋白预测功能及与虫草素的结合自由能
Table 3 Putative function of candidate transporters and their binding energy with cordycepin

UniProt ID	BE	推测功能 Putative function	UniProt ID	BE	推测功能 Putative function
G3JUH0	-7.47	Phospholipid transporter ^{PM}	G3JA70	-6.41	Na ⁺ transporter ^{PM}
G3J9L7	-7.40	UDP-galactose transporter ^{ER}	G3J891	-6.34	MFS multidrug transporter ^{PM}
G3J3I1	-7.22	Siderophore iron transporter ^{PM}	G3JNZ4	-6.24	Mitochondrial chaperone ^M
G3JAQ7	-7.06	Multidrug transporter ^{PM}	G3JPZ8	-6.24	CmABCC28 ^V
G3JPJ6	-7.00	CmABCC27 ^V	G3JCJ9	-6.22	Amino acid transporter ^{PM}
G3JL69	-6.97	Peptide transporter ^{PM}	G3J3R6	-6.21	Integral membrane protein ^{ER}
G3JFB5	-6.83	Nicotinic acid transporter ^{PM}	G3JF15	-6.20	Na ⁺ /Ca ²⁺ transporter ^{PM}
G3JSV1	-6.80	Amino-acid permease ^{PM}	G3JRK1	-6.18	CmABCB11 ^{PM}
G3JS91	-6.76	CmABCG8 ^{PM}	G3J808	-6.15	DUF1212 domain protein ^{PM}
G3JAN4	-6.72	Urea active transporter ^{PM}	G3JMT7	-6.11	CmABCC22 ^{PM}
G3JKC3	-6.70	Florfenicol exporter ^{PM}	G3JA17	-6.04	Membrane protein ^V
G3JJ35	-6.68	Multidrug transporter ^{PM}	G3JRI9	-5.98	Choline transporter ^{PM}
G3JBH3	-6.66	Sterol reductase ^{PM}	G3J5K5	-5.79	Cytochrome b5 reductase ^{PM}
G3JPE8	-6.61	Multidrug transporter ^{PM}	G3JFJ8	-5.78	Sugar transporter ^{PM}
G3JDP9	-6.60	Multidrug transporter ^{PM}	G3J6K9	-5.68	CmABCG3 ^{PM}
G3JS47	-6.53	CmABCA3 ^{PM}	G3J8Q9	-5.58	Vacuolar iron transporter ^P
G3JRL9	-6.53	Amino acid permease ^{PM}	G3JHL8	-5.45	RTA1 domain protein ^{PM}

注:BE代表结合自由能(kJ/mol)。推测功能右上角符号为候选转运蛋白的亚细胞定位标识,同表1。
Note: BE represents binding energy (kJ/mol). The symbols in the upper right corner indicate the predicted localization of the candidate transporters, as outlined in Table 1.

3 讨论

转运蛋白的功能取决于其一级结构和关联运输的保守结构域,同一家族成员具有标志性的保守结构域,其功能通常相似。多项研究利用代谢组学证实高产虫草素蛹虫草菌更依赖ABC转运蛋白通路,提示ABC转运蛋白可能参与虫草素的外排^[6,13]。本研究据此在蛹虫草全基因组水平鉴定获得70个ABC转运蛋白,在ABC超家族各亚家族中都有分布。蛹虫草拥有3个ABCA成员,而大多数酵母基因组中没有发现ABCA家族成员^[8],表明蛹虫草在ABC家族构成上具有物种特异性。ABCB、ABCC和ABCG亚家族成员通常参与活性

产物的运输,这3个亚家族成员数量占81.4%,仅ABCC成员占52.8%,体现蛹虫草活性产物的多样性特征。剩余的其他亚家族成员仅占蛹虫草ABC成员的7.1%。
蛹虫草菌CM01全基因组共编码9 651个蛋白,从中筛选介导外排虫草素的少量候选转运蛋白需要多种已验证结论为支撑,本研究利用多种策略筛选获得34个候选转运蛋白。已有研究证实当结合自由能小于-5 kJ/mol时,受体和配体能形成稳定复合体^[35]。通过分子对接分析,发现所有候选转运蛋白与虫草素的结合自由能都小于-5 kJ/mol,说明都能与虫草素形成稳定复合体,具有运输虫草素的潜力,尤其在酿酒酵母、构巢曲霉、米曲霉的全基因组中均有

较高相似性的候选转运蛋白 CmABCG3、CmABCC28、CmABCG8 和 CmABCC22 备受关注。

真菌主要通过外排胞内活性产物的方式避免自我细胞毒性,外排包括活性产物的胞内运输和跨质膜外排泵,其中形成亚细胞区隔是隔离胞内活性产物的有效手段。转运蛋白所在亚细胞信息能提供高水平积累的虫草素诱导特定细胞器参与虫草素运输相关的信息^[13-14],本研究预测发现质膜、液泡、内质网、过氧化物酶体、线粒体的转运蛋白与虫草素的运输密切相关,研究证实蛹虫草菌体内的脂滴借助其驻留蛋白 CNS2 和 CNS1 合成虫草素^[5],提示多种亚细胞结构可能共同参与虫草素的外排。内质网对细胞器的膜结构形成具有重要作用,如脂滴的单磷脂层膜系统与其部分驻留蛋白就源自内质网,据此推测内质网可能对虫草素的调控具有重要作用。目前主要有 2 种假说支持内质网介导运输活性物质:1)包裹活性物质的囊泡从内质网运输到高尔基体,再转运到质膜;2)活性物质通过紧邻质膜的内质网转运进入质膜^[9]。目前仍不清楚蛹虫草菌以何种途径和机制实现内源性虫草素的外排,候选转运蛋白与虫草素外排的关联性仍需要进一步验证。

4 结 论

本研究基于生物信息学方法,在蛹虫草 CM01 全基因组水平共鉴定到 70 个 ABC 转运蛋白,分布于 ABCA-ABCG、ABCI 和 YDR061W 亚家族。进一步基于转录组等多种分析手段,筛选出 34 个可能介导外排虫草素的候选转运蛋白,其亚细胞定位如下:质膜 27 个、液泡 3 个、内质网 2 个、过氧化物酶体 1 个、线粒体 1 个,推测其中 12 个蛋白(G3JAQ7、CmABCC27、CmABCG8、G3JKC3、G3JJ35、G3JPE8、G3JDP9、G3J891、CmABCC28、CmABCB11、CmABCC22 和 CmABCG3)具备转运活性化合物的功能,候选转运蛋白是否参与虫草素的转运有待进一步验证。

参考文献 References

[1] Zhong X, Gong S Q, Meng L H, Yao W F, Du K, Jiao L C, Ma G W, Liang J W, Wei B B, Jin X, Tong J H, Dong J R, Liu M Y, Gao M L, Jia H C, Jiang W J, Yu Z H, Wang Y Z, Sun X H, Wei M J, Liu M Y. Cordycepin modulates microglial M2 polarization coupled with mitochondrial metabolic reprogramming by targeting HKII and PDK2[J]. *Advanced Science*, 2024,

11(31): 2304687

[2] Srinivasan P, Smolke C D. Engineering cellular metabolite transport for biosynthesis of computationally predicted tropane alkaloid derivatives in yeast [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(25): e2104460118

[3] Qiu J, Hou K X, Li Q, Che J L, Li X W, Hou H P, Wang L Q, Liu J, Xue Q, Wang C X. Boosting the cannabidiol production in engineered *Saccharomyces cerevisiae* by harnessing the vacuolar transporter BPT1[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(38): 12055-12064

[4] Chen B B, Ling H, Chang M W. Transporter engineering for improved tolerance against alkane biofuels in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2013, 6(1): 21

[5] Xia Y L, Luo F F, Shang Y F, Chen P L, Lu Y Z, Wang C S. Fungal cordycepin biosynthesis is coupled with the production of the safeguard molecule pentostatin[J]. *Cell Chemical Biology*, 2017, 24(12): 1479-1489. e4

[6] 秦鹏, 路等学, 赵玉卉, 魏甲乾, 王治业. 虫草素产量不同的蛹虫草菌株代谢组差异[J]. 菌物学报, 2021, 40(5): 1039-1053

Qin P, Lu D X, Zhao Y H, Wei J Q, Wang Z Y. Differential metabolomic analyses of *Cordyceps militaris* strains with different capacity for cordycepin production[J]. *Mycosystema*, 2021, 40(5): 1039-1053 (in Chinese)

[7] 刘桂君, 乔宇琛, 周思静, 王平, 宋梅芳, 杨素玲, 顾海科, 侯莉. 基于代谢组学的蛹虫草菌株虫草素合成途径研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(7): 16-25

Liu G J, Qiao Y C, Zhou S J, Wang P, Song M F, Yang S L, Gu H K, Hou L. Biosynthesis pathway of cordycepin in *Cordyceps militaris* based on metabolomics[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2023, 49(7): 16-25 (in Chinese)

[8] Víglás J, Olejníková P. An update on ABC transporters of filamentous fungi – from physiological substrates to xenobiotics[J]. *Microbiological Research*, 2021, 246: 126684

[9] 李莉, 赵米贤, 王建华, 刘三震, 王国英, Schnables P. 植物表皮蜡质合成、运输及调控机制研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2023, 28(7): 1-19

Li L, Zhao M X, Wang J H, L S Z, Wang G Y, Schnables P. Research progress on genetic mechanisms of plant epidermal wax synthesis, transport and regulation[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2023, 28(7): 1-19 (in Chinese)

[10] 李涛, 屈小玉, 马小英, 刘威帆, 王猛虎, 马凤兰, 吴娜, 刘吉利. 基于转录组分析玉米幼苗对盐胁迫的响应[J]. 中国农业大学学报, 2025, 30(1): 38-54

Li T, Qu X Y, Ma X Y, Liu W F, Wan M H, Ma F L, Wu N, Liu J L. Transcriptome-based analysis of maize seedlings in response to salt stress[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(1): 38-54 (in Chinese)

[11] Dean M, Moitra K, Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily[J]. *Human Mutation*, 2022, 43(9): 1162-1182

[12] 李亚洁, 温志新, 孟楠, 李学军, 米锐, 都兴范. 柞蚕蛹培养蛹虫草不同时间后的代谢组分析[J]. 菌物学报, 2021, 40(5): 1023-1038

Li Y J, Wen Z X, Meng N, Li X J, Mi R, Du X F. Metabolomic analyses of tussah pupa-cultivated *Cordyceps militaris* at different growth stages[J]. *Mycosystema*, 2021, 40(5): 1023-1038 (in Chinese)

[13] Wang X, Li Y, Li X, Sun L, Feng Y, Sa F, Ge Y, Yang S, Liu Y, Li W, Cheng X. Transcriptome and metabolome profiling unveils the mechanisms of naphthalene acetic acid in promoting cordycepin synthesis in *Cordyceps militaris*[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 10: 1104446

[14] Zhang H C, Yang J, Luo S, Liu L Y, Yang G W, Gao B, Fan H T, Deng L N, Yang M. A novel complementary pathway of cordycepin biosynthesis in *Cordyceps militaris*[J]. *International Microbiology*, 2024, 27(4): 1009-1021

[15] 霍春红, 李鸿宇, 李倩, 王际辉, 李成, 王亮. 产虫草素酿酒酵母工程菌株的

- 构建与发酵优化[J]. 生物工程学报, 2021, 37(9): 3334-3347
- Huo C H, Li H Y, Li Q, Wang J H, Li C, Wang L. Construction and optimization of cordycepin-producing *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2021, 37(9): 3334-3347 (in Chinese)
- [16] 闫欢欢, 尚怡彤, 王丽红, 田学琴, 廖海艳, 曾斌, 胡志宏. 米曲霉异源表达合成虫草素[J]. 生物技术 通报, 2024, 40(6): 290-298
- Yan H H, Sang Y T, Wang L H, Tian X Q, Liao H Y, Zeng B, Hu Z H. Heterologous biosynthesis of cordycepin in *Aspergillus oryzae* [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(6): 290-298 (in Chinese)
- [17] Hawley S A, Ross F A, Russell F M, Atrih A, Lamont D J, Hardie D G. Mechanism of activation of AMPK by cordycepin[J]. *Cell Chemical Biology*, 2020, 27(2): 214-222. e4
- [18] Loewen S K, Ng A M L, Mohabir N N, Baldwin S A, Cass C E, Young J D. Functional characterization of a H⁺/nucleoside co-transporter (CaCNT) from *Candida albicans*, a fungal member of the concentrative nucleoside transporter (CNT) family of membrane proteins[J]. *Yeast*, 2003, 20(8): 661-675
- [19] Mäser P, Vogel D, Schmid C, Räs B, Kaminsky R. Identification and characterization of trypanocides by functional expression of an adenosine transporter from *Trypanosoma brucei* in yeast[J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2001, 79(2): 121-127
- [20] Chen C J, Wu Y, Li J W, Wang X, Zeng Z H, Xu J, Liu Y L, Feng J T, Chen H, He Y H, Xia R. TBtools-II: A "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining[J]. *Molecular Plant*, 2023, 16(11): 1733-1742
- [21] Paysan-Lafosse T, Andreeva A, Blum M, Chuguransky S R, Grego T, Pinto B L, Salazar G A, Bileschi M L, Llinares-López F, Meng-Papaxanthos L, Colwell L J, Grishin N V, Schaeffer R D, Clementel D, Tosatto S C E, Sonnhammer E, Wood V, Bateman A. The Pfam protein families database: Embracing AI/ML[J]. *Nucleic Acids Research*, 2025, 53(D1): D523-D534
- [22] Letunic I, Khedkar S, Bork P. SMART: Recent updates, new developments and status in 2020[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(D1): D458-D460
- [23] Lu S N, Wang J Y, Chitsaz F, Derbyshire M K, Geer R C, Gonzales N R, Gwadz M, Hurwitz D I, Marchler G H, Song J S, Thanki N, Yamashita R A, Yang M Z, Zhang D C, Zheng C J, Lanczycki C J, Marchler-Bauer A. CDD/SPARCLE: The conserved domain database in 2020[J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(D1): D265-D268
- [24] Blum M, Andreeva A, Florentino L C, Chuguransky S R, Grego T, Hobbs E, Pinto B L, Orr A, Paysan-Lafosse T, Ponamareva I, Salazar G A, Bordin N, Bork P, Bridge A, Colwell L, Gough J, Haft D H, Letunic I, Llinares-López F, Marchler-Bauer A, Meng-Papaxanthos L, Mi H, Natale D A, Orengo C A, Pandurangan A P, Piovesan D, Rivoire C, Sigrist C J A, Thanki N, Thibaud-Nissen F, Thomas P D, Tosatto S C E, Wu C H, Bateman A. InterPro: The protein sequence classification resource in 2025 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2025, 53(D1): D444-D456
- [25] Seal R L, Braschi B, Gray K, Jones T E M, Tweedie S, Haim-Vilmovsky L, Bruford E A. Genenames.org: The HGNC resources in 2023[J]. *Nucleic Acids Research*, 2023, 51(D1): D1003-D1009
- [26] Letunic I, Bork P. Interactive Tree of Life (iTOL) v6: Recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool[J]. *Nucleic Acids Research*, 2024, 52(W1): W78-W82
- [27] Long L, Liu Z, Wang Y, Lin Q, Ding S, Li C, Deng C. High-level production of cordycepin by the xylose-utilising *Cordyceps militaris* strain 147 in an optimised medium[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 388: 129742
- [28] Lyu J, Kapolka N, Gumpfer R, Alon A, Wang L, Jain M K, Barros-Alvarez X, Sakamoto K, Kim Y, DiBerto J, Kim K, Glenn I S, Tummino T A, Huang S J, Irwin J J, Tarkhanova O O, Moroz Y, Skiniotis G, Kruse A C, Shoichet B K, Roth B L. AlphaFold2 structures guide prospective ligand discovery[J]. *Science*, 2024, 384(6702): eadn6354
- [29] Fang X M, Wang F, Liu L H, He J Z, Lin D Y, Xiang Y F, Zhu K R, Zhang X N, Wu H, Li H, Song L. A method for multiple-sequence-alignment-free protein structure prediction using a protein language model [J]. *Nature Machine Intelligence*, 2023, 5(10): 1087-1096
- [30] Yang J Y, Yan R X, Roy A, Xu D, Poisson J, Zhang Y. The I-TASSER Suite: Protein structure and function prediction[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(1): 7-8
- [31] Zhang P D, Xia C Q, Shen H-B. High-accuracy protein model quality assessment using attention graph neural networks [J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2023, 24(2): bbac614
- [32] Jakubec D, Skoda P, Krivak R, Novotny M, Hoksza D. PrankWeb 3: Accelerated ligand-binding site predictions for experimental and modelled protein structures[J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(W1): W593-W597
- [33] Du L M, Geng C Y, Zeng Q L, Huang T, Tang J, Chu Y W, Zhao K L. Dockey: A modern integrated tool for large-scale molecular docking and virtual screening[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2023, 24(2): bbad047
- [34] Kovalchuk A, Driessen A J. Phylogenetic analysis of fungal ABC transporters [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 177
- [35] 刘春花, 付昌丽, 孙佳, 陆苑, 潘洁, 李勇军, 王永林, 黄勇, 潘卫东. 基于UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS联合网络药理学及分子对接探究白及治疗黄褐斑、胃肠道出血、肺癌和支气管-肺炎性病变的“异病同治”物质基础和作用机制[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(13): 3552-3565
- Liu C H, Fu C L, Sun J, Lu Y, Pan J, Li Y J, Wang Y L, Huang Y, Pan W D. Material basis and mechanism of *Bletillae Rhizoma* for melasma, gastrointestinal hemorrhage, lung cancer and bronchopulmonary inflammation as "homotherapy for heteropathy" based on UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS coupled with network pharmacology and molecular docking [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2024, 49(13): 3552-3565 (in Chinese)

责任编辑:秦梅



第一作者简介: 秦鹏,在读博士研究生,甘肃省科学院生物研究所副研究员,甘肃省科普专家。主要从事微生物资源开发利用研究。主持和参与国家及省部级科研项目10余项,以第一作者和通讯作者在国内国际杂志发表论文10余篇,授权国家发明专利2件。