

大黄鱼蛋白中 α -葡萄糖苷酶抑制肽的虚拟筛选*

陈曦雅, 邵志远, 潘月新, 和七一, 余晓东

(重庆师范大学 生命科学学院 教育部活性物质生物技术工程研究中心 重庆市生物活性物质工程研究中心, 重庆 401331)

摘要:为鉴定大黄鱼蛋白序列中潜在的 α -葡萄糖苷酶抑制肽, 首先通过模拟胃肠道消化大黄鱼蛋白, 并利用 Peptideranker、Toxinpred、AllerTop、Innovagen 等多种生物信息学工具, 对胃肠道消化酶虚拟酶解大黄鱼膜突蛋白和伴肌动蛋白后得到的 894 个肽序列片段进行筛选, 并鉴定出 26 个无毒、无致敏性且水溶性良好的多肽; 随后利用 AutoDock SailVina 软件对这些多肽作进一步筛选。结果显示: PPDVPEF、PDF、PPDY 等 3 个多肽与 α -葡萄糖苷酶的结合能力优于阳性对照多肽 AGGFR; 这 3 个多肽能够稳定地结合在 α -葡萄糖苷酶受体的活性位点, 并形成可靠的氢键连接。上述结果确认了 PPDVPEF、PDF 和 PPDY 存在于大黄鱼蛋白序列中, 并具备潜在的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 为进一步研究和制备大黄鱼蛋白中的 α -葡萄糖苷酶抑制肽提供了理论依据。

关键词: 大黄鱼蛋白; α -葡萄糖苷酶抑制肽; 虚拟筛选; 分子对接

中图分类号: Q74; Q956

文献标志码: A

文章编号: 1672-6693(2024)06-0062-07

糖尿病是一种因胰岛素分泌不足或胰岛素敏感性降低而导致餐后高血糖水平的代谢性疾病^[1]。据全球糖尿病联盟报道的数据显示, 截至 2021 年全球约有 5.37 亿人患有糖尿病^[2]。糖尿病可引起多个器官和组织的严重损伤、功能障碍和衰竭, 并伴随进行性代谢并发症, 如神经病变、视网膜病变^[3]和肾脏疾病^[4]等。糖尿病主要分为 2 类, 即 I 型糖尿病和 II 型糖尿病。其中 II 型糖尿病患者人数约为患病总人数的 80%; 对 II 型糖尿病的药物治疗主要是增加胰岛素作用或抑制碳水化合物消化酶, 例如使用糖苷酶抑制剂来降低血糖浓度^[5]。总之, 血糖控制是糖尿病治疗的关键步骤。

α -葡萄糖苷酶主要分布于小肠粘膜上皮细胞中, 是参与碳水化合物代谢的主要消化酶; 它能裂解碳水化合物中的糖苷键以释放葡萄糖^[6], 之后葡萄糖被小肠粘膜上皮细胞吸收并进入血液, 引起餐后血糖水平升高。 α -葡萄糖苷酶抑制剂能够竞争性抑制小肠中 α -葡萄糖苷酶的活性, 从而延缓或抑制葡萄糖在小肠内的吸收并有效降低血糖浓度^[7]。目前, 最常用的口服抗糖尿病药物之一是阿卡波糖, 它通过抑制 α -葡萄糖苷酶的活性来控制体内的血糖水平, 但长期使用可能会产生较严重的副作用^[8]。因此, 越来越多的研究者开始关注从天然物质中寻找 α -葡萄糖苷酶的抑制剂, 以改善人工合成药物所带来的不良反应^[9]。由于生物活性肽安全性高、副作用小且易于吸收, 因此近些年来天然食物源的生物活性肽成为相关研究的热点^[10]。

传统的多肽分离纯化方法如超滤、大孔树脂吸附、凝胶色谱、反向高效液相色谱、离子交换层析等主要基于肽分子大小、电荷、极性、溶解度和其他物理、化学性质来逐步筛选多肽, 中间过程复杂且耗时较多^[11]。随着科学技术的发展, 通过计算机辅助设计、在线数据和虚拟筛选结合体外、体内实验的方法从食品中开发新的生物活性肽, 可以降低人力成本、缩短开发周期并提高生物活性肽鉴定的成功率^[12]。

大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 主要分布于西北太平洋地区, 在中国则主要分布于黄海南部和东海, 是中国沿海地区的主要海洋经济鱼类^[13]。近些年来, 不少研究报道了从大黄鱼中分离出纯化的生物活性肽, 如抗氧化肽^[14]、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制肽^[15]等, 但至今关于大黄鱼中 α -葡萄糖苷酶的抑制肽的研究鲜有报道。因此, 本研究通过模拟胃肠道消化大黄鱼蛋白, 利用生物信息学在线服务器, 筛选大黄鱼蛋白中可能存在的 α -葡萄糖苷酶抑制肽, 为进一步研究和制备大黄鱼蛋白中的 α -葡萄糖苷酶抑制肽提供理论依据。

* 收稿日期: 2024-05-05 修回日期: 2024-06-17 网络出版时间: 2024-12-25T16:22

资助项目: 国家自然科学基金面上项目 (No. 3227030453); 重庆市林业改革发展基金项目 (No. Yu-lin-ke-tui-2019-2)

第一作者简介: 陈曦雅, 男, 研究方向为生物化学与分子生物学, E-mail: 2987451870@qq.com; 通信作者: 余晓东, 男, 教授, 博士, E-mail: yxd@cqnu.edu.cn

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/50.1165.n.20241225.1019.018>

1 材料和方法

1.1 大黄鱼蛋白序列的选择

膜突蛋白是细胞膜与细胞骨架的连接蛋白,在内皮细胞、平滑肌细胞中的含量最丰富^[16]。伴肌动蛋白是一种巨大的肌动蛋白,是肌节细丝的组成部分^[17]。大黄鱼的膜突蛋白(GenBank 登录号:KKF16686.1)^[18]和伴肌动蛋白(GenBank 登录号:KKF11904.1)^[19]序列已经成功用于虚拟酶解制备 ACE 抑制肽的研究中。因此,选择大黄鱼的上述 2 种蛋白序列用于后续的研究。

1.2 生物信息学在线分析工具

本研究所用的生物信息学在线分析工具为 BIOPEP-UWM 数据库(<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>)、生物活性肽预测服务器 Peptideranker(<http://distilldeep.ucd.ie/PeptideRanker/>)、肽毒性预测服务器 ToxinPred(<https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/>)、肽致敏性预测服务器 AllerTop(<https://www.ddg-pharmfac.net/AllerTOP/>)、肽性质计算器 Innovagen(<http://www.innovagen.com/proteomics-tools>)和 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)。

1.3 方法

1.3.1 大黄鱼蛋白生物活性肽前体评价

利用 BIOPEP-UWM 数据库中的“Profiles of potential biological activity”程序对大黄鱼膜突蛋白序列和伴肌动蛋白序列作为抑制肽前体进行评价,然后,基于以下公式计算蛋白质序列中具有给定生物活性肽片段的出现频率(A):

$$A = a/N,$$

其中: a 表示蛋白质序列中具有给定生物活性的片段的数量, N 表示蛋白质中氨基酸残基的数量。

1.3.2 大黄鱼蛋白的虚拟酶解

利用 BIOPEP-UWN 数据库中“Enzymes action”程序,从中选择胃蛋白酶(EC 3.4.23.1)、胰蛋白酶(EC 3.4.21.4)和糜蛋白酶(EC 3.4.21.1)共 3 种胃肠道消化酶对大黄鱼膜突蛋白和伴肌动蛋白的序列进行虚拟酶解,获得潜在生物活性肽片段。

1.3.3 活性肽的虚拟筛选

如图 1 所示,通过使用生物活性肽预测服务器 Peptideranker 预测虚拟酶解得到的所有肽段的生物活性,在肽毒性预测服务器 ToxinPred 中对具备生物活性的多肽进行潜在毒性分析,并使用肽致敏性预测服务器 Allertop 预测多肽的致敏性,然后在肽性质计算器 Innovagen 对多肽的水溶性进行计算。

1.3.4 潜在 α -葡萄糖苷酶抑制肽筛选

使用 ChemDraw Professional 17.0 软件绘制虚拟筛选得到的潜在抑制肽的 2D 结构,并在 Chem3D 17.0 软件中将多肽转化为 3D 结构,并将多肽结构本身的能量最小化。从蛋白质数据库 PDB(<https://www.rcsb.org/>)下载的 α -葡萄糖苷酶的 3D 结构(PDB ID:2QMJ)。使用 Pymol 3.0 软件去除 α -葡萄糖苷酶的 3D 结构中的水分子和自身结合的共晶配体阿卡波糖,加入氢原子。使用 Autodock SailVina 软件进行多肽和 α -葡萄糖苷酶的分子对接,6 个对接坐标中 center_x 值为-21.6、center_y 值为-6.8、center_z 值为-4.9、size_x 值为19.2、size_y 值为17.0、size_z 值为27.4。以多肽 AGGFR 为阳性对照,将与 α -葡萄糖苷酶对接结合能小于或等于阳性对照与该酶对接结合能的多肽确定为潜在的 α -葡萄糖苷酶抑制肽。



图 1 大黄鱼蛋白中 α -葡萄糖苷酶抑制肽的虚拟筛选步骤

Fig. 1 Virtual screening procedure of α -glucosidase inhibitory peptide in *L. crocea* protein

2 结果与分析

2.1 大黄鱼蛋白生物活性肽前体评价和虚拟酶解结果

为了探究大黄鱼蛋白作为生物活性肽前体的潜力,参考 Liang 等人^[20]的研究方法,选取大黄鱼膜突蛋白和

伴肌动蛋白的序列,利用 BIOPEP-UWM 数据库测定它们的 A 值。表 1 展示了在大黄鱼蛋白中发现的多种已知生物活性肽片段的潜在生物活性,其中主要包括 ACE 抑制活性、二肽基肽酶-4(DPP-Ⅳ)抑制活性、 α -葡萄糖苷酶抑制活性等。在膜突蛋白以及在伴肌动蛋白序列中, α -葡萄糖苷酶抑制活性的 A 值远高于抗菌活性、抗炎活性、抗凝血活性的 A 值,说明大黄鱼蛋白可以作为 α -葡萄糖苷酶抑制肽的潜在来源。因此,本研究选用大黄鱼蛋白序列,在 BIOPEP-UWM 数据库内对大黄鱼膜突蛋白和伴肌动蛋白的序列进行虚拟酶解,从前者获得 242 个多肽片段,从后者获得 652 个多肽片段,然后将这 894 个多肽片段用于进一步的研究。

表 1 大黄鱼蛋白生物活性肽前体评价
Tab. 1 Evaluation of protein bioactive peptide precursors of *L. crocea*

蛋白质名称	氨基酸残基数量/个	潜在生物活性概况
膜突蛋白	1 679	血管紧张素转化酶(ACE)抑制活性(0.387 7),抗氧化活性(0.075 6),二肽基肽酶-4(DPP-Ⅳ)抑制活性(0.137 0),二肽基肽酶-3(DPP-Ⅲ)抑制活性(0.069 1),肾素抑制活性(0.022 0), α -葡萄糖苷酶抑制活性(0.027 4),神经肽抑制活性(0.016 1),抗遗忘综合征活性(0.009 5), α -淀粉酶抑制活性(0.000 6),抗菌活性(0.004 8),抗凝血活性(0.010 1),免疫刺激活性(0.003 6),抗炎活性(0.004 8)
伴肌动蛋白	6 173	ACE 抑制活性(0.414 5),抗氧化活性(0.088 6),DPP-Ⅳ抑制活性(0.637 8),肾素抑制活性(0.023 5), α -葡萄糖苷酶抑制活性(0.025 6),神经肽抑制活性(0.019 3),抗菌活性(0.002 4),抗凝血活性(0.001 1),免疫刺激活性(0.000 5),抗炎活性(0.004 7)

注:括号内数值为蛋白质序列中具有给定生物活性肽片段的出现频率(A 值)。

2.2 生物活性肽虚拟筛选结果

生物活性肽预测服务器 Peptideranker 可以基于不同生物活性肽的功能特征预测不同多肽的生物活性,它可以快速有效地筛选出大量未被报道的生物活性肽;在给出的预测结果中,生物活性得分大于等于 0.5 的多肽被认为可能具有较高生物活性^[21];利用这一在线分析工具,在本研究虚拟酶解得到的 894 个多肽片段中共筛选出 131 个未被报道的生物活性评分大于或等于 0.5 的多肽。运用肽毒性预测服务器 ToxinPred 预测这 131 个多肽是否有毒,结果显示它们均为无毒。肽致敏性预测服务器 AllerTOP 可以基于蛋白质的物理化学性质预测过敏原;通过该工具的分析,上述 131 个多肽中分别有 66 和 65 个多肽被预测为可能具有和不具有致敏性。多肽的溶解度关系到多肽的生物利用度,具备良好溶解度是多肽在生物体内有效发挥作用的重要因素^[22]。运用肽性质计算器 Innovagen 对上述 65 个可能不具有致敏性多肽的水溶性进行预测,发现有 26 个多肽被预测为具备较好的水溶性。因此,通过对生物活性、毒性、致敏性和水溶性的筛选和比较,本研究共筛选出 26 个生物活性得分大于等于 0.5、无毒、无致敏性和水溶性较好的多肽(表 2),这些多肽已具备作为潜在 α -葡萄糖苷酶抑制肽的条件。

2.3 α -葡萄糖苷酶抑制肽的筛选结果

使用 AutoDock SailVina 软件对上一步筛选出的 26 个生物活性肽与 α -葡萄糖苷酶进行分子对接,以便最终筛选出潜在 α -葡萄糖苷酶抑制肽。分子对接结合能是评判分子间相互作用强弱的指标,它的数值越小表示多肽与 α -葡萄糖苷酶的结合效果越好、对 α -葡萄糖苷酶的抑制潜力越强。阳性对照多肽 AGGFR 分离自小麦(*Triticum aestivum*)胚芽,具有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,它的半抑制浓度为 $(8.66 \pm 0.33) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[12]。如表 2 所示,在 26 个生物活性肽中,只有 3 个多肽即 PDF、PPDY 和 PPDVPEF 与 α -葡萄糖苷酶的对接结合能比 AGGFR 与 α -葡萄糖苷酶的对接结合能更小或相等,推测这 3 个多肽具有潜在的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。利用 Pymol 软件分析对接结果,发现 PDF、PPDY 和 PPDVPEF 都能够嵌入 α -葡萄糖苷酶的活性口袋中(图 2),推测这些多肽可通过占据活性位点来阻断活性口袋的入口,进而抑制了酶活性。

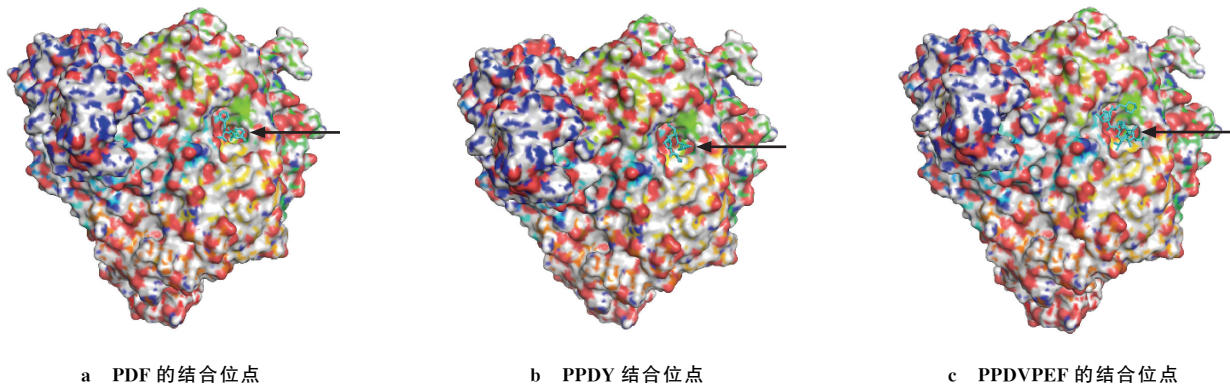
2.4 α -葡萄糖糖苷酶抑制肽与 α -葡萄糖苷酶的相互作用分析

PDF、PPDY 和 PPDVPEF 与 α -葡萄糖苷酶的活性口袋中的结合情况如图 3 所示。在 PDF 和 α -葡萄糖苷酶之间,有 3 个氨基酸残基 Thr205、Met444 和 Asp542 通过氢键相连接;PDF 还与 Asp366、Asp327、Asp443 和 Lys480 共 4 个氨基酸残基形成了离子键(图 3a)。PPDY 与 α -葡萄糖苷酶的结合在 2 个氨基酸残基即 Asp327 和 Ser448 位点形成了氢键,并与 Asp542 和 Asp443 形成了离子键(图 3b)。PPDVPEF 与 α -葡萄糖苷酶的结合形成了更多的氢键,即在 Arg202、Asp474、Thr205、Gln603 和 Asp542 这 5 个氨基酸残基之间形成了 6 个氢键,同时还与 Trp406 和 Phe450 形成了离子键(图 3c)。除了氢键和离子键之外,这 3 个潜在 α -葡萄糖苷酶抑制肽与

α -葡萄糖苷酶之间还存在很多疏水作用力。总之,上述分子间相互作用使得 3 个潜在 α -葡萄糖苷酶抑制肽紧密地结合到 α -葡萄糖苷酶的活性中心,对后者的活性具有潜在抑制作用。

表 2 虚拟筛选结果和分子对接
Tab. 2 Virtual screening results and molecular docking

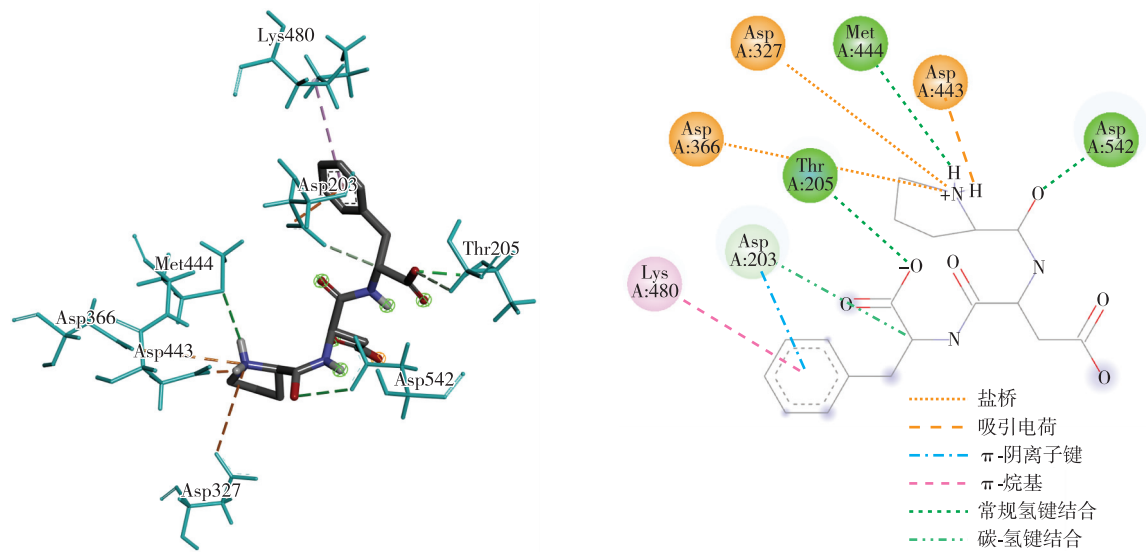
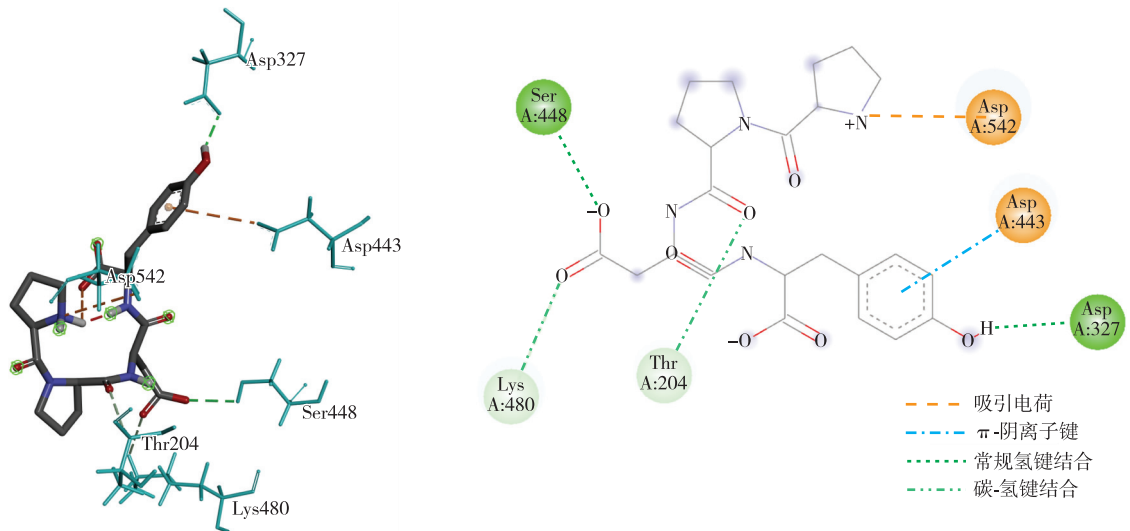
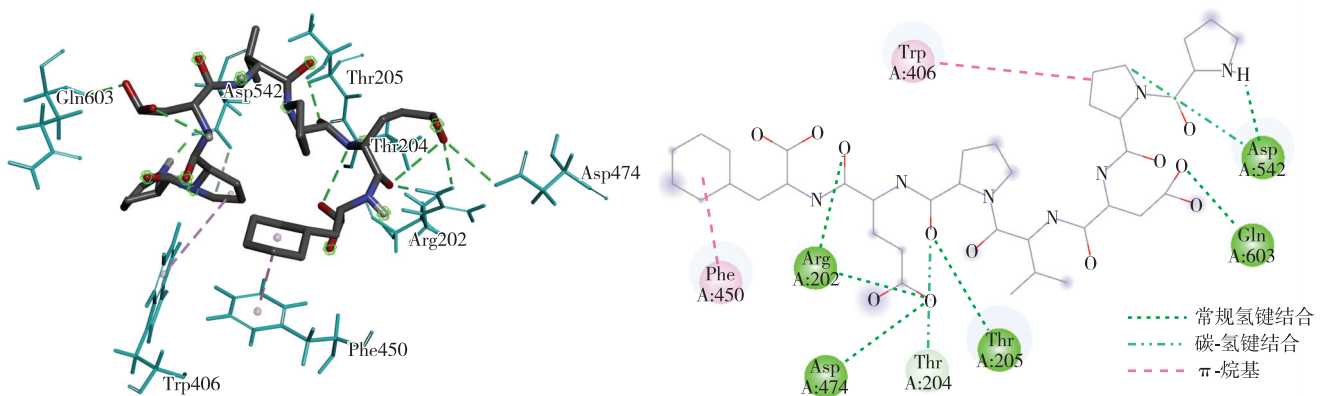
多肽名称	Peptideranker 生物活性预测	ToxinPred 毒性预测	AllerTOP 致敏性预测	Innovagen 水溶性预测	对接结合能/ (kcal · mol ⁻¹)
PPDVPEF	0.706 445	无毒	无致敏性	水溶性好	-9.8
PDF	0.934 107	无毒	无致敏性	水溶性好	-8.0
PPDY	0.740 311	无毒	无致敏性	水溶性好	-7.9
PEF	0.723 457	无毒	无致敏性	水溶性好	-7.8
APDF	0.893 685	无毒	无致敏性	水溶性好	-7.7
DSPSSW	0.564 297	无毒	无致敏性	水溶性好	-7.2
EGF	0.694 701	无毒	无致敏性	水溶性好	-7.2
PPDAVL	0.558 535	无毒	无致敏性	水溶性好	-7.2
VDF	0.514 704	无毒	无致敏性	水溶性好	-7.1
PADSPEF	0.644 260	无毒	无致敏性	水溶性好	-7.0
SGSGGPGGDTL	0.551 215	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.8
ECF	0.799 232	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.7
PPDAPEL	0.610 266	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.7
CASCR	0.637 123	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.6
SIPDR	0.519 530	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.6
DSF	0.725 605	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.5
EF	0.598 976	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.5
CQDM	0.628 884	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.4
PPDVPEL	0.521 138	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.4
IPADM	0.606 491	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.3
AGR	0.548 993	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.2
GDL	0.546 664	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.2
PGK	0.517 877	无毒	无致敏性	水溶性好	-6.1
ADM	0.520 796	无毒	无致敏性	水溶性好	-5.8
CN	0.634 230	无毒	无致敏性	水溶性好	-5.8
SM	0.628 268	无毒	无致敏性	水溶性好	-4.8
AGGFR(阳性对照)					-7.9



注:黑色箭头所指位置即为 3 个潜在抑制肽(箭头所指的青色部分)与 α -葡萄糖苷酶的结合位点。

图 2 3 个潜在抑制肽的结合情况

Fig. 2 The binding of three potential inhibitory peptides

a PDF 与 α -葡萄糖苷酶(PDB ID:2QMJ)的相互作用b PPDY 与 α -葡萄糖苷酶(PDB ID:2QMJ)的相互作用c PPDVPEF 与 α -葡萄糖苷酶(PDB ID:2QMJ)的相互作用图 3 PDF、PPDY 和 PPDVPEF 与 α -葡萄糖苷酶的相互作用Fig. 3 Interaction of PDF, PPDY, and PPDVPEF with α -glucosidase

3 讨论

本研究利用生物信息学方法探究了大黄鱼蛋白作为生物活性肽前体的可能,并运用在线数据库和生物信息

学在线服务器,从理论上对虚拟酶解大黄鱼蛋白后产生的多肽片段进行预测和评估。通过对多肽片段的生物活性、毒性、致敏性、水溶性的预测以及与 α -葡萄糖苷酶分子对接情况的分析,最终得到了3个具备 α -葡萄糖苷酶潜在抑制活性的多肽:PDF、PPDY和PPDVPEF。这3个多肽在分子对接中都能稳定地结合到 α -葡萄糖苷酶的活性位点,并且与后者的对接结合能都低于或等于阳性对照多肽AGGFR与后者的对接结合能。在和 α -葡萄糖苷酶的相互作用中,这些多肽均通过氢键、离子键和其他疏水作用力与 α -葡萄糖苷酶有着较为紧密的相互作用。总之,本研究结果表明大黄鱼蛋白可能是 α -葡萄糖苷酶抑制肽的潜在来源之一,这为大黄鱼的进一步深入利用提供了理论基础,也为从动物蛋白中寻找 α -葡萄糖苷酶的潜在抑制肽提供了一种可行的方法。当然,本研究结果还需与体外实验相结合,以便进一步验证相关多肽对于 α -葡萄糖苷酶的抑制作用。

参考文献:

- [1] 张丽雯,阮梅花,刘加兰,等. 糖尿病领域研发态势分析[J]. 遗传,2022,44(10):824-839.
ZHANG L W, RUAN M H, LIU J L, et al. Progress on research and development in diabetes mellitus[J]. Journal of Hereditas (Beijing), 2022, 44(10): 824-839.
- [2] SUN H, SAEEDI P, KARURANGA S, et al. IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2022, 183: 109119.
- [3] DEHDASHTIAN E, MEHRZADI S, YOUSEFI B, et al. Diabetic retinopathy pathogenesis and the ameliorating effects of melatonin; involvement of autophagy, inflammation and oxidative stress[J]. Life Sciences, 2018, 193: 20-33.
- [4] 王娴,刘霞明,陈曼玉,等. 基于机器学习对2型糖尿病肾病预测模型的构建及验证[J]. 天津医药, 2024, 52(7): 775-780.
WANG X, LIU X M, CHEN M Y, et al. Construction and verification of prediction model of type 2 diabetic nephropathy based on machine learning[J]. Tianjin Medical Journal, 2024, 52(7): 775-780.
- [5] GLOSTER T M, DAVIES G J. Glycosidase inhibition: assessing mimicry of the transition state[J]. Organic and Biomolecular Chemistry, 2010, 8(2): 305-320.
- [6] PONNUSAMY S, HALDAR S, MULANI F, et al. Gedunin and azadiradione: human pancreatic α -amylase inhibiting limonoids from neem (*Azadirachta indica*) as anti-diabetic agents[J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0140113.
- [7] ZHOU M, REN G Y, ZHANG B, et al. Screening and identification of a novel antidiabetic peptide from collagen hydrolysates of Chinese giant salamander skin: network pharmacology, inhibition kinetics and protection of IR-HepG2 cells[J]. Food and Function, 2022, 13(6): 3329-3342.
- [8] MI S Y, LIU J, LIU X J, et al. Inhibitory effects of myricetrin and dihydromyricetin toward α -glucosidase and pancreatic lipase with molecular docking analyses and their interaction[J]. Journal of Food Quality, 2021(1): 9943537.
- [9] Di STEFANO E, OLIVIERO T, UDENIGWE C C. Functional significance and structure-activity relationship of food-derived α -glucosidase inhibitors[J]. Current Opinion in Food Science, 2018, 20: 7-12.
- [10] ZHANG M K, ZHU L, ZHANG H, et al. Identification of novel dipeptidyl peptidase-4 inhibitory peptides from pea proteins; a combined in silico and in vitro study[J]. Food Bioscience, 2023, 56: 103374.
- [11] ARUMUGAM V, VENKATESAN M, RAMACHANDRAN S, et al. Bioactive peptides from marine ascidians and future drug development: a review[J]. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 2018, 24(1): 13-18.
- [12] LIU W W, LI H Y, WEN Y Y, et al. Molecular mechanism for the α -glucosidase inhibitory effect of wheat germ peptides[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(50): 15231-15239.
- [13] 徐鹏,柯巧珍,苏永全,等. 大黄鱼种质资源保护与利用现状及建议[J]. 水产学报, 2022, 46(4): 674-682.
XU P, KE Q Z, SU Y Q, et al. Protection and utilization status and prospect of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) germplasm resources[J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(4): 674-682.
- [14] CHI C F, HU F Y, WANG B, et al. Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolyzate of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*) muscle[J]. Food Chemistry, 2015, 168: 662-667.
- [15] 李雅思. 大黄鱼ACE抑制肽的制备及其抑制机制初探[D]. 南昌: 南昌大学, 2022.
LI Y S. Preparation of large yellow croaker ACE inhibitory peptide and its inhibitory mechanism study[D]. Nanchang: Nanchang University, 2022.
- [16] LANKES W T, FURTHMAYR H. Moesin: a member of the protein 4.1-talin-ezrin family of proteins[J]. Proceedings of the National Academic Sciences of the United States of America, 1991, 88(19): 8297-8301.
- [17] YUEN M, OTTENHEIJM C A C. Nebulin: big protein with big responsibilities[J]. Journal of Muscle Research and Cell

- Motility, 2020, 41(1):103-124.
- [18] 纪慧卓, 陈嘉钰, 李欣, 等. 大黄鱼蛋白源 ACE 抑制三肽的虚拟筛选、体外活性验证及分子机制[J]. 食品工业科技, 2021, 42(6):125-129.
- JI H Z, CHEN J Y, LI X, et al. Screening, *in vitro* activity and molecular mechanism of ACE inhibitory tripeptides from *Larimichthys crocea* protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(6):125-129.
- [19] YU Z, WU S, ZHAO W, et al. Virtual screening and molecular docking for exploring ACE inhibitory peptides in *Larimichthys crocea* nebulin protein[J]. International Food Research Journal, 2019, 26(5):1417-1426.
- [20] LIANG F Q, SHI Y M, SHI J Y, et al. A novel angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide IAF (Ile-Ala-Phe) from pumpkin seed proteins; *in silico* screening, inhibitory activity, and molecular mechanisms[J]. European Food Research and Technology, 2021, 247(9):2227-2237.
- [21] MOONEY C, HASLAM N J, POLLASTRI G, et al. Towards the improved discovery and design of functional peptides: common features of diverse classes permit generalized prediction of bioactivity[J]. PloS One, 2012, 7(10):e45012.
- [22] GIANFRANCESCHI G L, GIANFRANCESCHI G, QUASSINTI L, et al. Biochemical requirements of bioactive peptides for nutraceutical efficacy[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 47:252-263.

Molecular Biology and Bioinformatics

The Virtual Screening of α -Glucosidase Inhibitory Peptides in *Larimichthys crocea* Protein

CHEN Xiya, TAI Zhiyuan, PAN Yuexin, HE Qiyi, YU Xiaodong

(Chongqing Engineering Research Center of Bioactive Substance, Ministry of Education Engineering Research Center of Active Substance and Biotechnology, College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: To identify potential α -glucosidase inhibitory peptides within the protein sequence of *Larimichthys crocea*, the protein was initially simulated to undergo digestion by gastric and intestinal enzymes. Subsequently, 894 peptide sequences were screened and identified through the utilization of various bioinformatics tools, such as Peptideranker, Toxinpred, AllerTop, and Innovagen. Among these sequences, 26 peptides were determined to be non-toxic, non-allergenic, and water-soluble. These peptides were further screened using the AutoDock SailVina software. The outcomes indicated that the binding ability of PPDVPEF, PDF, and PPDY to α -glucosidase surpassed that of the positive control peptide AGGFR. These three peptides could stably bind to the active site of the α -glucosidase receptor and form reliable hydrogen bonds. These results affirm that PPDVPEF, PDF, and PPDY exist in the protein sequence of *L. crocea* and possess potential α -glucosidase inhibitory activity, thereby providing a theoretical foundation for further research and the preparation of α -glucosidase inhibitory peptides from the *L. crocea* protein.

Keywords: *Larimichthys crocea* protein; α -glucosidase inhibitory peptide; virtual screening; molecular docking

(责任编辑 方 兴)