
棉铃虫的Cytochrome P450 6B2蛋白的序列，功能，结构的初步分析

The analysis of sequence, function and structure of Cytochrome P450 6B2 Protein from Cotton bollworm



杨庆杰



杨腾峰



姬雪娇



01

背景

02

序列分析

03

功能分析

04

三维结构分析

01

背景

- 棉铃虫
- 棉铃虫抗性
- 细胞色素P450家族

棉铃虫



棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*, Hubner)

在分类学上属鳞翅目夜蛾科棉铃虫属。其寄主植物涉及大豆、花生、棉花、水稻、番茄、烟草等多种经济作物、粮食作物，是一种世界性农业害虫，特别是棉花，西红柿和玉米。例如，在棉花上，一棵植物上的两到三个幼虫可以在15天之内摧毁所有的棉铃。在玉米上，它们消耗谷物。在西红柿上，它们入侵水果，阻止发育并导致掉落。

棉铃虫抗性

我国棉铃虫抗性过程

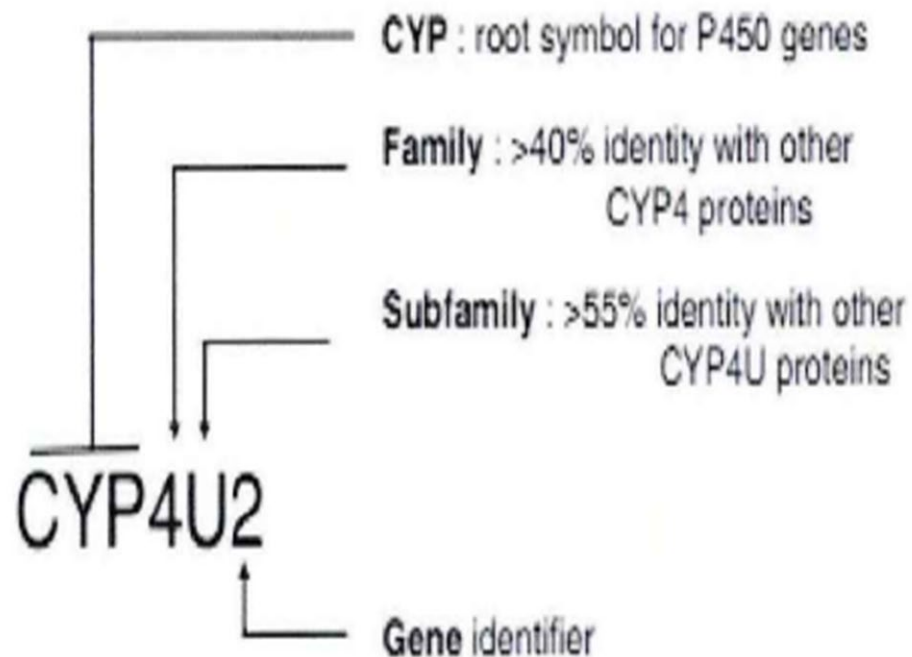
- 20世纪70年代，DDT产生抗性；
- 20世纪80年代，有机磷和氨基甲酸酯类产生抗性；
- 20世纪90年代，拟除虫菊酯类产生抗性；
- 21世纪以后，棉铃虫及如棉盲蝽、蚜虫刺吸式口器害虫的抗性治理。

机制

- 有机磷酸盐（1B）
靶位点耐药性不敏感的乙酰胆碱酯酶（AChE）
- 氨基甲酸酯（1A）
靶位点耐药性不敏感的乙酰胆碱酯酶（AChE）
- 拟除虫菊酯-除虫菊酯（3A）
代谢抗性（MFO，酯酶活性增强）；**细胞色素p450靶位点抗性**；
拟除虫菊酯类神经不敏感
- 苏云金芽孢杆菌及其产生的杀虫蛋白（11A）
代谢抗性（酯酶活性增强）
- 茚虫威（22A）
目标部位抗性代谢抗性

细胞色素P450家族

细胞色素P450是一类基因超家族，每种物种中都有几十到几百不等数量的P450基因，为区分每个基因，以CYP为词根表示P450超家族，用数字表示基因家族，同一基因家族的氨基酸序列同源性一般要>40%，再以大写英文字母表示基因亚家族，同一亚家族的P450氨基酸序列同源性一般要>55%，最后再用一个数字表示特定的某一个基因。

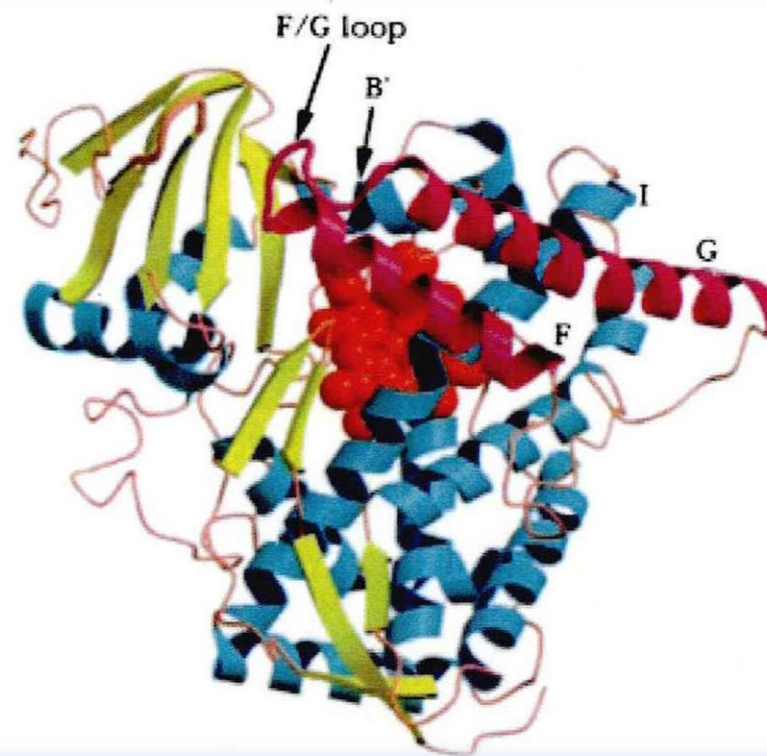


P450的功能多样性

- 底物：1000种，包括染料、农药、溶剂、致癌物、抗氧化剂、石油产品及其他药物等；
- 催化的化学反应类型：40种，包括环氧化反应、羟基化作用、脱烷基作用、氧化作用和脱硫作用等。
- 结构的可塑性：在P450的立级结构中，底物—血红素囊在结构上的可塑性。

细胞色素P450家族


参与重要中间产物生成的P450蛋白的结构是高度保守的，而参与化合物解毒代谢的P450蛋白结构不保守，可参与多种有结构差异的底物的水解。Poulos认为，通过F和G螺旋及F/G loop 形状的改变，形成开/关模型，使底物和产物分别进入和离开活性中心。



大芽孢杆菌中CYP102A1 蛋白结构示意图




P450 family	H.armigera in pyrethroid resistance
CYP4	4L5 4L11 4M4 4M6 4M7 4M10 4S1 4S2 4G8 4G9 4G10
CYP6	6AB9 6AE11 6AE12 6AE15 6AE16 6B2 6B6 6B7
CYP9	9A3 9A12 9A14 9A16 9A17 9A23
CYP321	321A1
CYP332	332A1
CYP337	337B1 337B3

Cytochrome P450 6B2介绍

Protein	Cytochrome P450 6B2
Gene	CYP6B2
Organism	<i>Helicoverpa armigera</i> (Cotton bollworm) (<i>Heliothis armigera</i>)
Status	 Reviewed - Annotation score: ●●●○○○ - Experimental evidence at transcript level ⁱ



02 序列分析

-  确认与目标蛋白质覆盖率和相似度较高的蛋白质
-  利用MEGA序列比对
-  MEGA构建系统发生树

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Cytochrome P450 6B2; AltName: Full=CYPVIB2 [Helicoverpa armigera]	Helicoverpa armi...	1045	1045	100%	0.0	100.00%	504	Q27664.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Cytochrome P450 6B6; AltName: Full=CYPVIB6 [Helicoverpa armigera]	Helicoverpa armi...	940	940	100%	0.0	87.30%	504	Q95031.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Cytochrome P450 6B7; AltName: Full=CYPVIB7 [Helicoverpa armigera]	Helicoverpa armi...	912	912	100%	0.0	84.52%	504	O61387.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Cytochrome P450 6B4; AltName: Full=CYP6B4v1/CYP6B4v2; AltName: Full=CYPVIB4 [Papilio glaucus]	Papilio glaucus	590	590	97%	0.0	56.07%	500	Q27902.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Cytochrome P450 6B1; AltName: Full=CYP6B1v1/CYP6B1v2/CYP6B1v3; AltName: Full=CYPVIB...	Papilio polyxenes	568	568	98%	0.0	54.20%	498	Q04552.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Cytochrome P450 6B5; AltName: Full=CYP6B5v1; AltName: Full=CYPVIB5 [Papilio glaucus]	Papilio glaucus	566	566	92%	0.0	56.41%	476	Q95036.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Cytochrome P450 6B3; AltName: Full=CYP6B3v1/CYP6B3v2; AltName: Full=CYPVIB3 [Papilio p...	Papilio polyxenes	537	537	98%	0.0	51.60%	498	Q27756.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Cytochrome P450 6a2; AltName: Full=CYPVIA2; AltName: Full=Cytochrome P450-B1 [Drosophila m...	Drosophila mela...	335	335	98%	1e-108	37.33%	506	P33270.2

<input checked="" type="checkbox"/>	Entry	Entry name		Protein names	Gene names	Organism	Length
<input checked="" type="checkbox"/>	Q95031	CP6B6_HELAM		Cytochrome P450 6B6, EC 1.14.14.1 (CYPVIB6)	CYP6B6	Helicoverpa armigera (Cotton bollworm) (Heliothis armigera)	504
<input checked="" type="checkbox"/>	Q27756	CP6B3_PAPPO		Cytochrome P450 6B3, EC 1.14.14.1 (CYP6B3v1/CYP6B3v2) (CYPVIB3)	CYP6B3	Papilio polyxenes (Black swallowtail butterfly)	498
<input checked="" type="checkbox"/>	Q04552	CP6B1_PAPPO		Cytochrome P450 6B1, EC 1.14.14.1 (CYP6B1v1/CYP6B1v2/CYP6B1v3) (CYPVIB1)	CYP6B1	Papilio polyxenes (Black swallowtail butterfly)	498
<input checked="" type="checkbox"/>	Q95036	CP6B5_PAPGL		Cytochrome P450 6B5, EC 1.14.14.1 (CYP6B5v1) (CYPVIB5)	CYP6B5	Papilio glaucus (Eastern tiger swallowtail butterfly) (Pterourus glaucus)	476
<input checked="" type="checkbox"/>	Q27902	CP6B4_PAPGL		Cytochrome P450 6B4, EC 1.14.14.1 (CYP6B4v1/CYP6B4v2) (CYPVIB4)	CYP6B4	Papilio glaucus (Eastern tiger swallowtail butterfly) (Pterourus glaucus)	500
<input checked="" type="checkbox"/>	O61387	CP6B7_HELAM		Cytochrome P450 6B7, EC 1.14.14.1 (CYPVIB7)	CYP6B7	Helicoverpa armigera (Cotton bollworm) (Heliothis armigera)	504

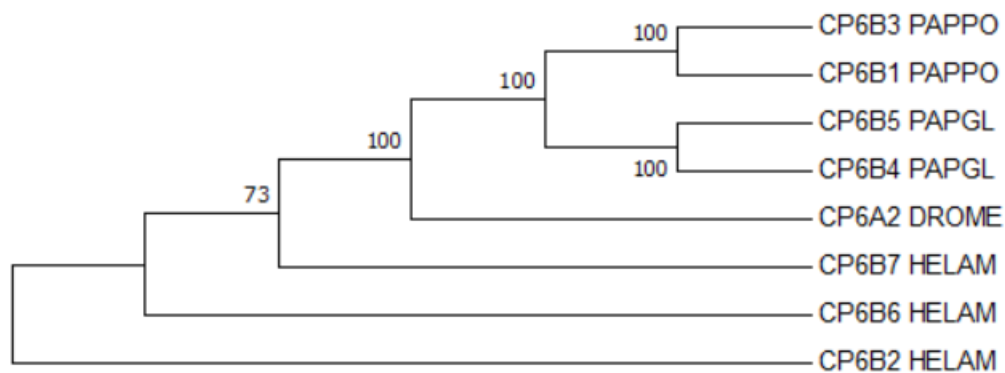


The screenshot displays the MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) software interface. The top window shows a multiple sequence alignment of 8 protein sequences: CP6B6 HELAM, CP6B3 PAPPO, CP6B1 PAPPO, CP6B5 PAPGL, CP6B4 PAPGL, CP6B7 HELAM, CP6A2 DROME, and CP6B2 HELAM. The alignment is shown in a grid format with amino acid single-letter codes. The bottom window shows a zoomed-in view of the same alignment, highlighting 392 variable positions in yellow. The interface includes a toolbar with various icons and a status bar at the bottom indicating the total length of the alignment (518 amino acid positions) and the number of conserved (114) and variable (392) positions.

Name	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518
1. CP6B6 HELAM	M	W	I	F	Y	F	P	A	V	I	S	V	L	I	V	S	L	Y	F	Y	F	T	R	T	F	N	Y	W	K	K	R	N	V	R	G	P	E	P	T	V	F	F	G	N	L	K	D	S	A	L	P	R	K	N	M	G	V	V	M																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
2. CP6B3 PAPPO	-	-	M	L	Y	V	I	T	L	V	T	V	L	A	G	L	L	H	Y	Y	F	T	R	N	F	D	Y	W	K	K	R	N	V	A	G	P	K	P	I	P	F	F	G	N	L	K	D	S	A	L	R	R	K	P	Q	V	M	V	Y																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
3. CP6B1 PAPPO	-	-	M	L	Y	L	L	A	L	V	T	V	L	A	G	L	L	H	Y	Y	F	T	R	T	F	N	Y	W	K	K	R	N	V	A	G	P	K	P	V	P	F	F	G	N	L	K	D	S	V	L	R	R	K	P	Q	V	M	V	Y																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
4. CP6B5 PAPGL	-	-	M	L	T	I	F	I	V	T	A	T	L	F	A	I	L	Y	L	Y	F	T	R	N	F	N	Y	W	K	D	R	N	V	V	G	P	E	P	T	V	F	F	G	N	I	M	E	S	V	I	R	R	K	H	L	I	M	I	Y																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
5. CP6B4 PAPGL	-	-	M	L	T	I	F	I	V	T	A	T	L	F	A	I	L	Y	F	Y	F	T	R	N	F	N	Y	W	K	D	R	N	V	V	G	P	E	P	T	V	F	F	G	N	I	M	E	S	V	I	R	R	K	H	L	I	M	I	Y																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
6. CP6B7 HELAM	M	W	V	L	Y	L	P	A	V	L	S	V	L	I	V	T	L	Y	L	Y	F	T	R	T	F	N	Y	W	K	K	R	N	V	R	G	P	E	P	T	V	F	F	G	N	L	K	D	S	T	L	R	K	K	N	I	G	I	V	M																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
7. CP6A2 DROME	-	-	M	F	V	L	I	Y	L	L	I	A	I	S	S	L	L	A	Y	L	Y	H	R	N	F	N	Y	W	N	R	R	G	V	P	H	D	A	P	H	P	L	Y	G	N	M	V	G	-	F	R	K	N	R	V	M	H	D	F	F																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
8. CP6B2 HELAM	M	W	I	F	Y	F	P	A	V	I	S	V	L	I	V	T	L	Y	F	Y	F	T	R	T	F	N	Y	W	K	K	R	N	V	R	G	P	E	P	V	V	F	F	G	N	L	K	D	S	A	L	R	K	K	N	M	G	V	V	M																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											

分析总长度为518个氨基酸位点，其中保守位点114个，不同位点392个。

利用临近法构建系统发生树；选用Bootstrap方式，Bootstrap value设置为为500，其他参数默认值。系统发生树如图所示：



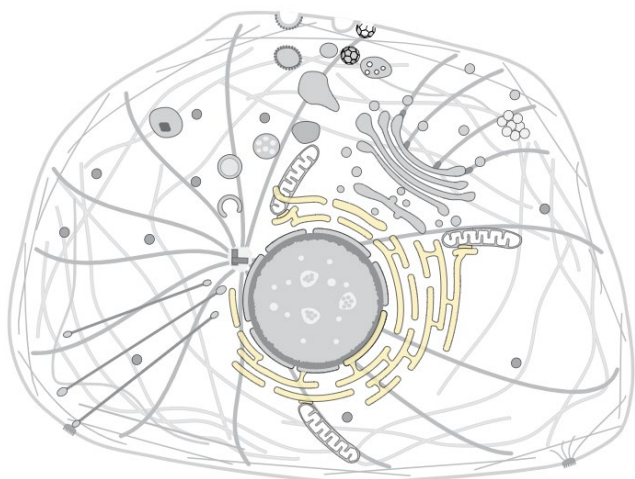
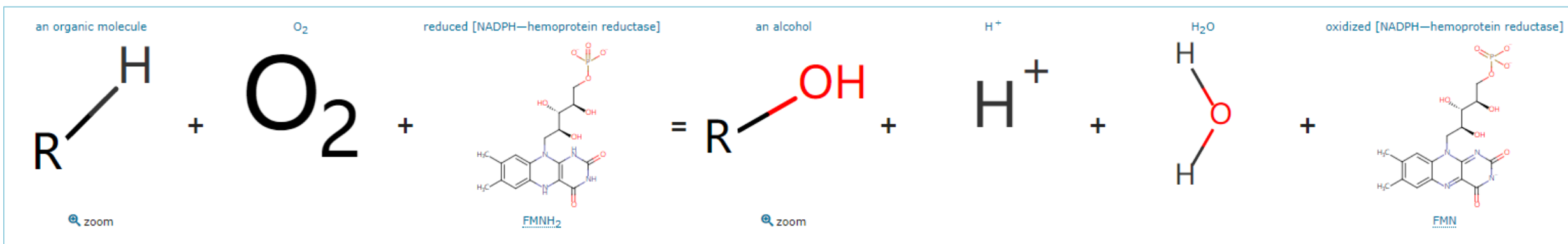
0.10



03 功能分析

本次功能分析主要是通过UniProt的功能注释以及亚细胞定位进行分析。

Cytochrome P450 6B2与铁原子结合形成细胞色素P450单加氧酶，催化以下反应：

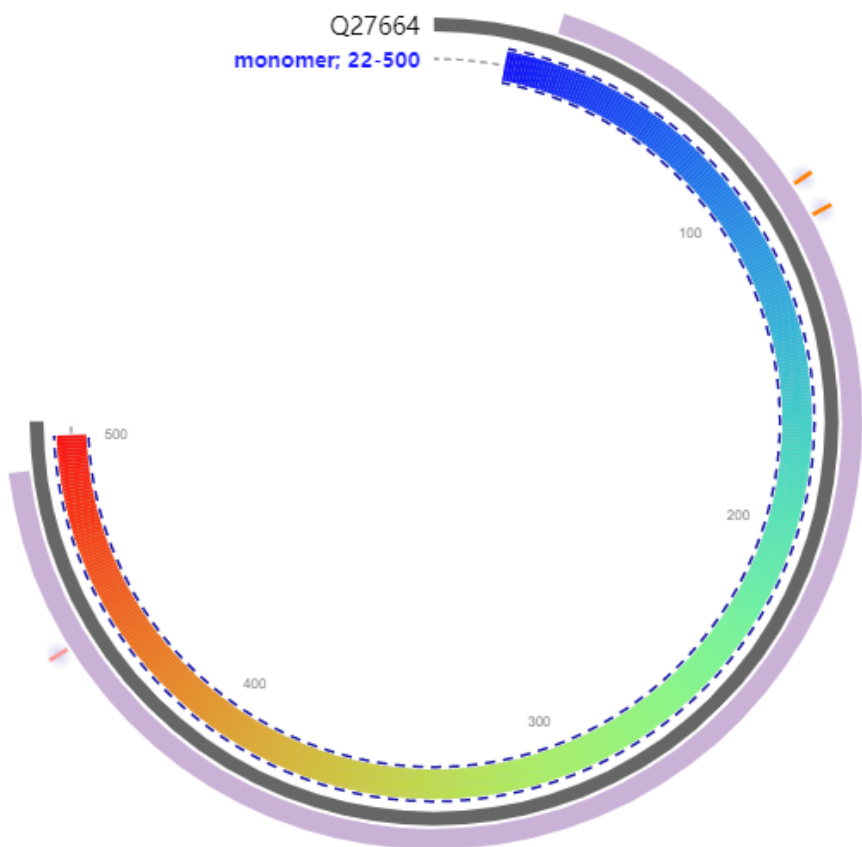


根据UniProt亚细胞定位注释，棉铃虫的Cytochrome P450 6B2主要分布在内质网外膜和微粒体外膜上。

04

三维结构分析

在PDB网站中没有Cytochrome P450 6B2的相关注释，因此我们用SWISS-MODEL对该蛋白质进行了结构预测，如下图所示：



Homology Model

Template: **5veu.3.A** "Human Cytochrome P450 3A5 (CYP3A5)" **P20815**




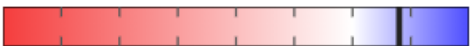

SMTL Version: 2020-07-29

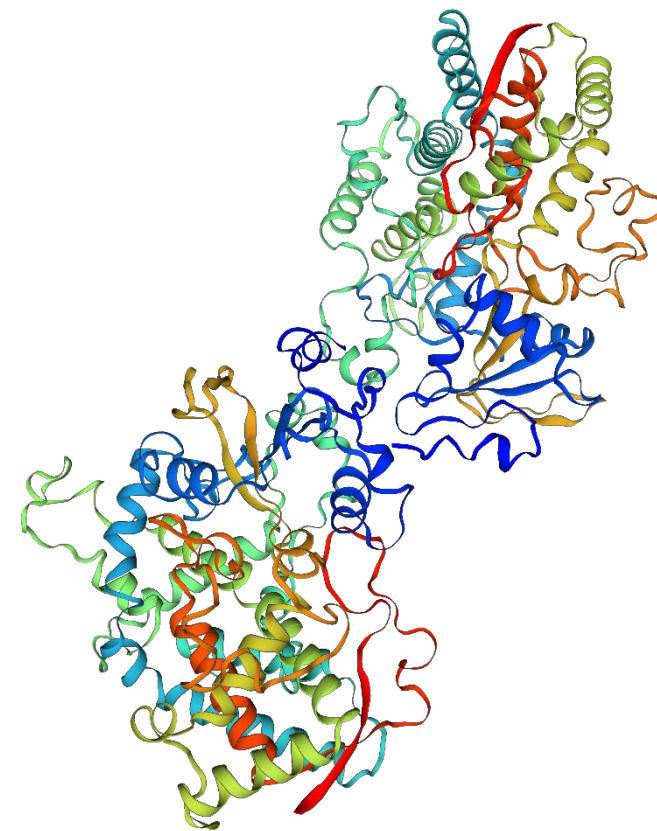
Seq Identity: 32.97%

Seq Similarity: 0.38

Coordinates: [↓](#)

Model Quality Estimate

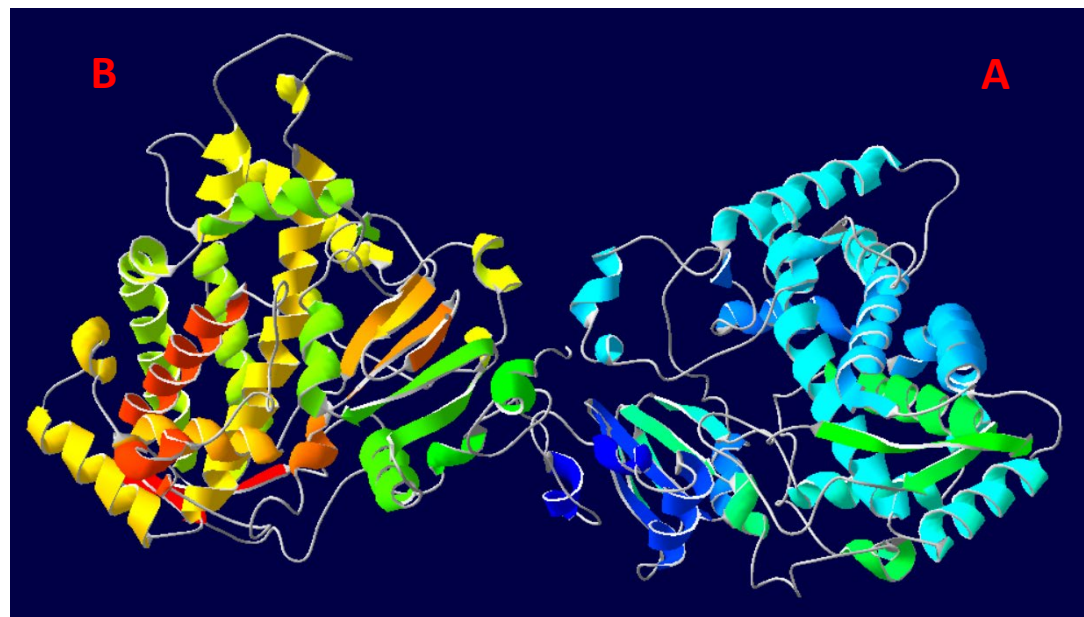
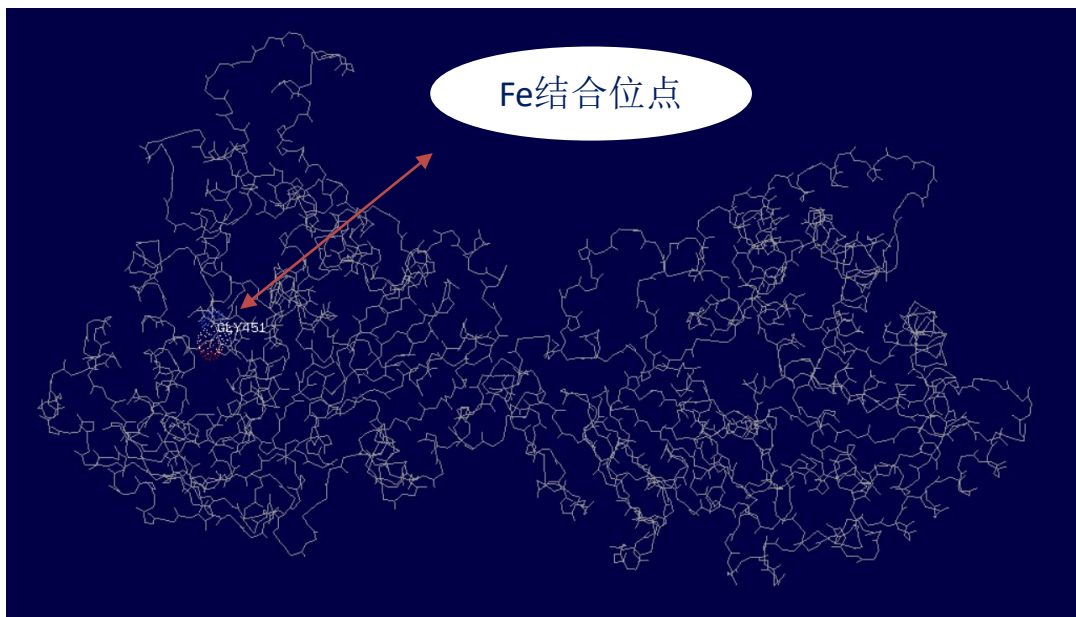
QMEAN		-3.76
C β		-2.01
All Atom		-1.28
solvation		0.80
torsion		-3.70



如右图所示Cytochrome P450 6B2在451位点处与铁原子结合，该位点为甘氨酸。


Sites		
Feature key	Position(s)	Description
Metal binding ¹	451	Iron (heme axial ligand) By similarity

在SWISS-MODLE中下载Cytochrome P450 6B2的PDB文件，在Swiss-PdbViewer中打开，设置一定参数后，如下图所示：



该蛋白共有2个结构域，其中A结构域22个 α 螺旋，8个 β 折叠；B结构域有21个 α 螺旋，11个 β 折叠；

利用Phyre2对该蛋白结构进行预测，如下图所示：



Model (left) based on template [c5t6qA](#)

Top template information

PDB header:oxidoreductase
Chain: A: **PDB Molecule:**cytochrome p450 4b1;
PDBTitle: structure of cytochrome p450 4b1 (cyp4b1) complexed with octane: an n-2 alkane and fatty acid omega-hydroxylase with a covalently bound heme

Confidence and coverage

Confidence:	100.0%	Coverage:	93%
-------------	---------------	-----------	------------

469 residues (93% of your sequence) have been modelled with 100.0% confidence by the single highest scoring template.

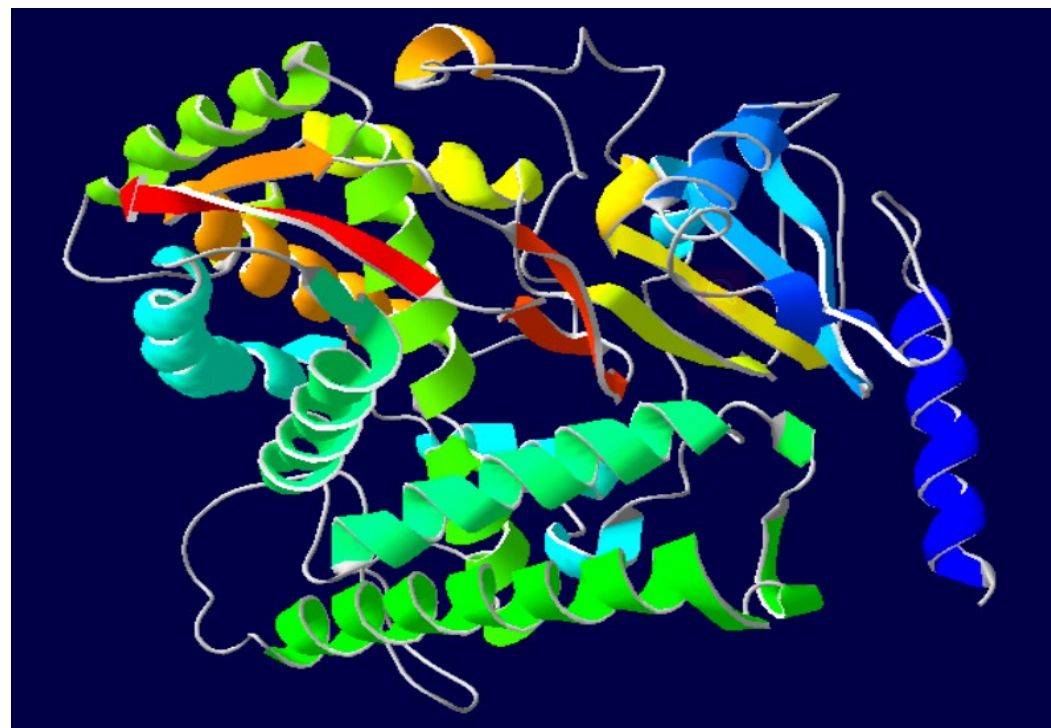
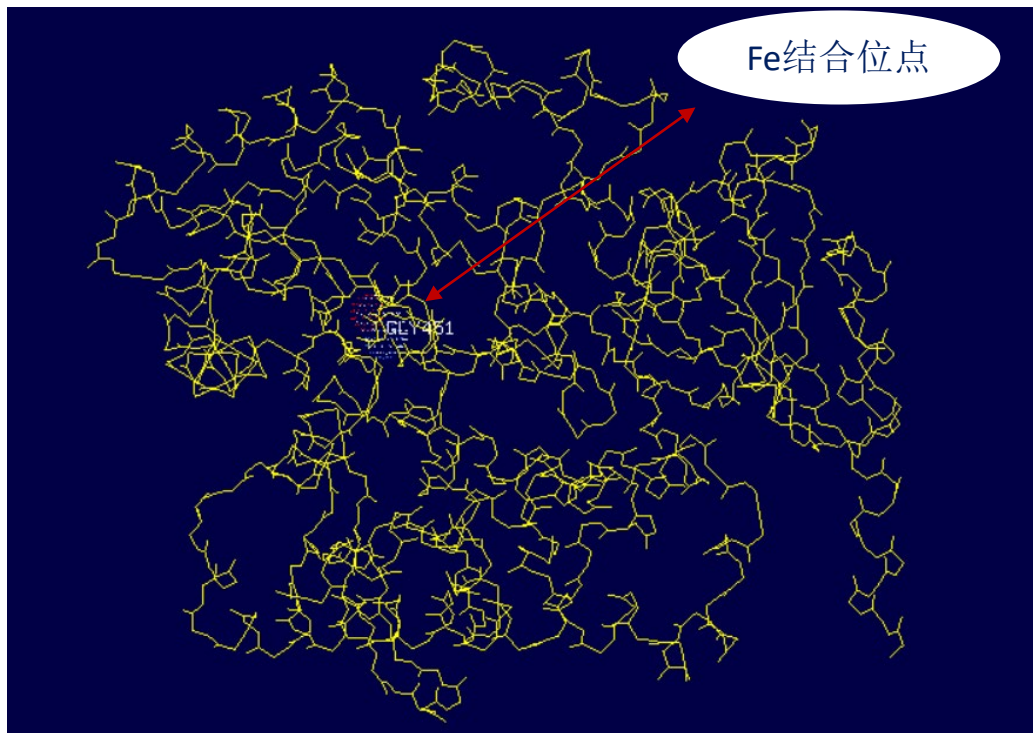
3D viewing

[Interactive 3D view in JSmol](#)

For other options to view your downloaded structure offline see the [FAQ](#)

Image coloured by rainbow N → C terminus
Model dimensions (Å): **X:69.634 Y:62.166 Z:56.609**

利用Swiss-PdbViewer对该蛋白预测结构进行分析，如下图所示：



一个结构域，其中有20个 α 螺旋，10个 β 折叠

Thanks for your listening!

