هُوَ الحَکیم

پنجمین همایش بین‌المللی و سیزدهمین همایش ملی

بیوتکنولوژی ایران

5th Interational &
13th National Biotechnology Congress

۱۶-۱۸ مهر ماه ۱۴۰۲ - مرکز همایش‌های بین‌المللی دانشگاه شهید بهشتی

پنجمین همایش بین المللی و سیزدهمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران
۱۶ لغایت ۱۸ مهر ماه ۱۴۰۲ – مرکز همایش‌های دانشگاه شهید بهشتی

کتابچه مقالات

biotech13-08900588

زیست‌فناوری سامانه‌ها، بیوانفورماتیک و زیست‌شناسی مصنوعی

بررسی in silico تاثیرپذیری آنزیم DEP A بر روی مایکوتوکسین نیوالنول

In silico investigation of the effectiveness of DEP A enzyme on nivalenol mycotoxin

جوادمنش علی

زهرا موسوی[۱]، الناز کرباسچیان[۲] و علی جوادمنش[۳و۴*]

[۱] دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

[۳] دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

[۴]گروه تحقیقاتی بیوتکنولوژی صنعتی، پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

javadmanesh@um.ac.ir

چکیده

نیوالنول (NIV) یکی از رایج ترین مایکوتوکسین ها در کنار دی‌اکسی‌نیوالنول (DON) است که با روش‌های رایج نظیر جاذب‌های معدنی و آلی به طور کامل قابل کنترل نیست. از این رو روش‌های مبتنی بر آنزیم‌ها جهت سم‌زدایی این نوع مایکوتوکسین ها پیشنهاد می‌شود که قبل از بررسی های آزمایشگاهی نیازمند مطالعات بیوانفورماتیک می باشد. هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی قدرت اتصال آنزیم DEP A با NIV از طریق داکینگ مولکولی می‌باشد. از سرور آنلاین H-DOCK جهت بررسی داکینگ مولکولی استفاده شد. نتایج مربوط به داکینگ مولکولی نشان داد که آنزیم DEP-A با انرژی اتصال نسبتا قوی ۱۵۷/۶۸- به سوبسترا متصل شده‌اند. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که آنزیم مورد مطالعه قادر به اتصال به NIV در جایگاه مناسب بوده که نشان می‌دهد این آنزیم می‌تواند در غیر فعال سازی این سم موثر واقع شوند. اگرچه مطالعات آزمایشگاهی به منظور تایید این نتایج مورد نیاز خواهد بود.

کلمات کلیدی: داکینگ مولکولی، مایکوتوکسین، DEPA، نیوالنول

مقدمه

امروزه موضوع سلامت و امنیت غذایی در دنیا بسیار اهمیت دارد که دراین میان بحث آلودگی تولیدات زراعی به مایکوتوکسین‌ها مطرح است. مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه سمی تولید شده توسط قارچ‌های رشته‌ای می‌باشند که ترکیباتی غیر قابل رویت، بی‌مزه و غالبا پایدار بوده که عملیات مختلفی از جمله پلت و اکسترود کردن در صنعت خوراک دام و طیور (کمتر از ۱۵۰ درجه‌ی

سانتی‌گراد) تاثیر چندانی بر میزان کاهش سمیت بسیاری از این سموم ندارد. ساختار شیمیایی مایکوتوکسین‌ها بسیار متنوع است (آیکو و مهتا، ۲۰۱۵).

امروزه حدود ۴۰۰ نوع مایکوتوکسین شناسایی شده است که به طور کلی به شش دسته تقسیم می‌شوند: آفلاتوکسین، فومننسین، زیرالنون، اکراتوکسین‌ها، پاتولین و تریکوتسن. تریکوتسن‌ها (TCs) یکی از مهم‌ترین دسته‌های مایکوتوکسین‌ها هستند که شامل دو گروه غیر ماکروسایسیلیک و ماکروسایسیلیک می‌باشند. میزان سمیت گروه غیر ماکروسایسیلیک بیشتر از دسته‌ی ماکروسایسیلیک است. مایکوتوکسین‌های غیر ماکروسایسیلیک به دو دسته تقسیم می‌شوند: ۱- تریکوتسن‌های A مانند T-2، HT-2 و دی‌استوکسی‌اسکریپنول (DAS). ۲- تریکوتسن‌های B مانند دئوکسی نیوالنول (DON, Vomitoxin)، نیوالنول (NIV)، استیل‌داکسی‌نیوالنول و فوزاونون ایکس (FUS-X). این مایکوتوکسین موجب تهوع، اسهال، زخم و ضایعات دستگاه گوارش، کاهش بهره وری مواد خوراکی و از دست دادن وزن در حیوانات می‌شود. در میان اعضاء خانواده‌ی تریکوتسن‌ها، دی اکسی نیوالنول (DON) در کنار نیوالنول (NIV) بیشترین ترکیب آلوده کننده دانه های غلات در سرتاسر جهان شناخته می شود؛ که موجب بروز مشکلات وسیعی در صنعت دام و طیور شده است (بنت و کلیش، ۲۰۰۳). یکی از راه‌های مقابله با DON و NIV استفاده از آنزیم‌ها است که می‌توانند با تغییرشکل زیستی توکسین‌ها اثر خود را اعمال کنند و سم را به ترکیباتی با سمیت بسیار کم تبدیل کنند. مطالعات نشان دادند آنزیم DEP A قادر به تغییر شکل زیستی DON و کاهش سمیت آن بوده در حالیکه مطالعه ای بر روی NIV صورت نگرفته است (موسوی و همکاران، ۲۰۲۳). امروزه با توجه به گسترش تکنولوژی و روش‌های آزمایشگاهی و همچنین هزینه‌های بالای آن‌ها، استفاده از روش‌های محاسباتی مانند داکینگ مولکولی برای تخمین فعالیت مولکول‌های مختلف به عنوان کاندیدای دارویی پیش از سنتز آن‌ها، فرآیند کشف داروهای جدید را تسریع و موجب کاهش هزینه‌ها می‌شود (موسوی و همکاران، ۲۰۲۳). لذا، هدف کلی از این مطالعه بررسی بیوانفورماتیک تاثیر DEP A بر روی مایکوتوکسین NIV در شرایط *in silico* می باشد.

مواد و روش‌ها

ساختار آنزیم DEP-A از مطالعه قبلی موسوی و همکاران (۲۰۲۳) تهیه شد. ساختار مربوط به NIV به فرمت SDF از پایگاه داده Pubchem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/) تهیه شد و از طریق نرم افزار Open babel به فرمت PDB تبدیل شد. برهم کنش بین آنزیم DEP-A با NIV از طریق نرم افزار آنلاین H-DOCK انجام شد که در آن آنزیم به‌عنوان رسپتور و مایکوتوکسین به‌عنوان لیگاند در نظر گرفته شدند. ساختارهای مناسب بر اساس کمترین انرژی اتصال و جهت‌یابی صحیح به‌وسیله‌ی نرم‌افزارهای Pymol و PDBsum (http://www.ebi.ac.uk) به‌منظور مشاهده‌ی پیوندهای هیدروژنی، پس از داکینگ مولکولی مورد ارزیابی واقع گردیدند.

نتایج و بحث

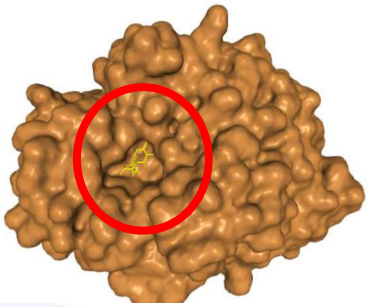
در مطالعه‌ی حاضر انرژی اتصال و امتیاز اطمینان بین DEP A با NIV در جدول (۱) گزارش شده است. امتیاز اطمینان در اتصال DEP A+NIV ۵۷/ بود. نتایج مربوط به داکینگ مولکولی آنزیم DEP A با NIV نشانگر این موضوع است که این آنزیم در موقعیت مناسب در اتصال با هر دو مایکوتوکسین ذکر شده قرار دارد (جدول ۴-۱). همانطور که قابل مشاهده است اتصال کربن ۳

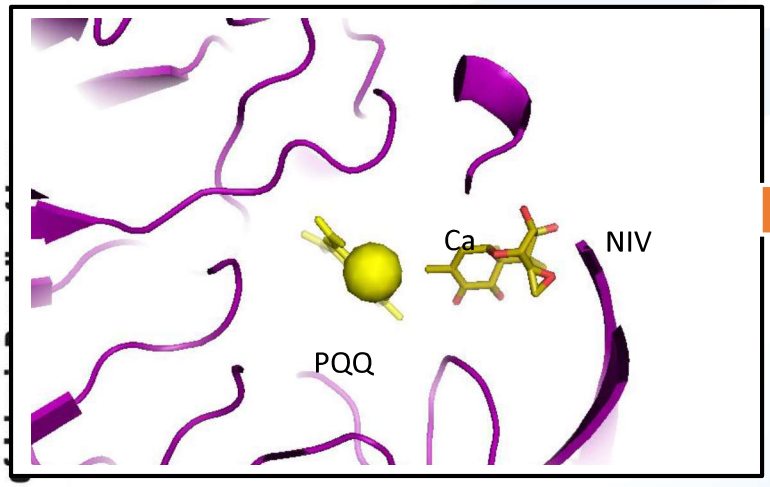
پنجمین همایش بین المللی و سیزدهمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران
۱۶ لغایت ۱۸ مهرماه ۱۴۰۲ – مرکز همایش‌های دانشگاه شهید بهشتی

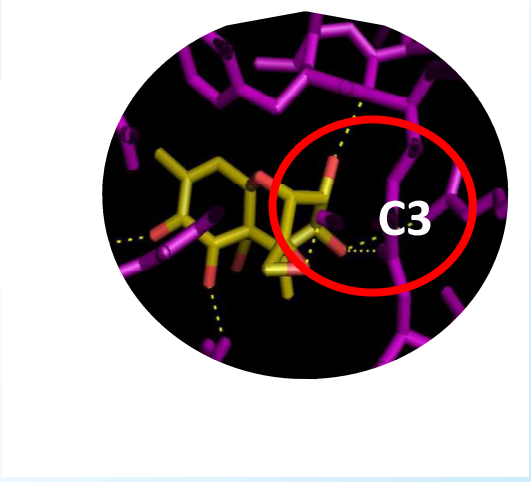
مایکوتوکسین NIV به آنزیم DEP A از طریق ایجاد دو پیوند هیدروژنی TYR439 و THR456 با طول به ترتیب ۲/۵۰ و ۲/۷۹ صورت گرفته است. در مطالعه‌ی حاضر PQQ (کوفکتور آنزیم DEP A)، اسیدآمینه‌های GLN 198، ASP311، TYR454، PHE412، LEU413، VAL453 و LEU441 عمدتاً برهمکنش‌های آبگریز با NIV داشتند (شکل ۱).

جدول ۱. پیوندهای هیدروژنی درگیر در داکینگ مولکولی DEP A و DEP B با DON و حدواسط آن

امتیاز اطمینان	انرژی اتصال	اسید امینه های درگیر	طول پیوند (آنگستروم)	تعداد پیوند
		DEP A+ NIV		
		پیوندهای هیدروژنی		
۰/۵۷	-۱۵۷/۶۸	TYR439	۵۰/۲	۱
		THR456	۲/۷۹	۱
		پیوندهای هیدروفوبیک		
		PQQ، GLN198، PHE412، ASP311، TYR454، LEU413، VAL453 و LEU441		







شکل ۱. نتایج مربوط به داکینگ مولکولی آنزیم DEP A با NIV توسط سرور آنلاین H DOCK
(نقطه چین ها پیوندهای هیدروژنی را نشان می‌دهند و C3 موقعیت کربن شماره ی ۳ از ساختار DON را به عنوان جایگاه فعال این مایکوتوکسین نشان می‌دهد).

نشان داده شد که گروه هیدروکسیل در C3 مربوط به سمیت DON نزدیک به PQQ و Ca^{2+} قرار دارد، در حالی که دو گروه هیدروکسیل نامرتبط دیگر نسبتاً با فاصله هستند؛ که با این واقعیت مطابقت دارد که فقط گروه هیدروکسیل در موقعیت C3 تبدیل می‌شود و قابلیت اطمینان نتایج اتصال را افزایش می‌دهد که در مطالعه ی حاضر نیز نتایج مشابه بود. از آنجایی که DON دارای جرم مولکولی زیاد و ساختار چند حلقه‌ای است، برهمکنش‌های دیگر نظیر هیدروفوبیک با DEP A برای تسهیل اتصال مورد نیاز است. در مطالعه‌ی یانگ و همکاران (۲۰۲۲)، اسیدآمینه‌های درگیر در پیوند هیدروفوبیک شامل Leu، Asp و Phe بود که هم راستا با مطالعه‌ی حاضر می‌باشد و Phe جز اسیدآمینه‌ی مشترک مطالعه‌ی حاضر با یانگ و همکاران بود. همچنین؛ فرهانا و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که آنزیم‌های خانواده‌ی دهیدروژناز دارای جایگاه فعال شامل اسیدآمینه‌هایی همچون His، Asp، Thrو Argبوده که نقش مهمی را در فعالیت کاتالیتیکی این آنزیم ها بازی می‌کنند. در مطالعه‌ی حاضر نیز Asp و Thr نیز در اتصالات مربوط به جایگاه فعال دخیل بودند. یانگ و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که Tyr192 و Phe 553 نزدیک به DON اما دور از PQQ هستند و جهش در این دو آمینواسید منجر به کاهش فعالیت آنزیم شد؛ به ویژه Tyr 192، که با تغییر این آمینواسید توانایی اکسیداسیون DON توسط آنزیم از بین رفت که نشان می‌دهد این دو اسیدآمینه احتمالاً در تعامل با DON بوده و به فعالیت DEP A کمک می‌کنند. در مطالعه‌ی حاضر نیز NIV به دو اسیدآمینه‌ی TYR و PHE در محدوده‌ی نزدیک به نواحی گزارش شده پیوند برقرار کرده است. موسوی و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کرد که داکینگ آنزیم DEP A با 15ADON در موقعیت مناسب در اتصال با مایکوتوکسین قرار دارد. نتایج نشان داد که اتصال کربن ۳ مایکوتوکسین 15ADON به آنزیم DEP A از طریق ایجاد دو پیوند با Phe 412 و PQQ (کوفکتور آنزیم DEP A) با انرژی‌های اتصال به ترتیب ۳/۳ و ۲/۴ صورت گرفته است. آمینواسیدهای Asp 311، Val 453، Leu 131، Gln 198، TYR 454، Phe 412، Leu 556 و PQQ عمدتاً برهمکنش های آبگریز با 15ADON ایجاد کردند که این نتایج بسیار نزدیک به مطالعه ی حاضر بود.

منابع

1. Aiko, V., & Mehta, A. (2015). Occurrence, detection and detoxification of mycotoxins. Journal of biosciences, 40, 943-954.
2. Bennett, J. W., & Klich, M. (2003). Clinical microbiology reviews. Mycotoxins, 16(1), 497-516.
3. Farhana, A., & Lappin, S. L. (2022). Biochemistry, lactate dehydrogenase. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
4. Mousavi, Z., Sekhavati, M. H., Farzaneh, M., & Javadmanesh, A. (2023). Investigating of the binding energy of DEP-A and DEP-B enzymes with DON mycotoxin chemotype by molecular docking. Veterinary Research & Biological Products.
5. Yang, H., Yan, R., Li, Y., Lu, Z., Bie, X., Zhao, H., ... & Chen, M. (2022). Structure–Function Analysis of a Quinone-Dependent Dehydrogenase Capable of Deoxynivalenol Detoxification. Journal of Agricultural and Food Chemistry.

پنجمین همایش بین المللی و سیزدهمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران
۱۶ لغایت ۱۸ مهر ماه ۱۴۰۲ – مرکز همایش‌های دانشگاه شهید بهشتی

In silico investigation of the effectiveness of DEP A enzyme on nivalenol mycotoxin

Zahra Mousavi[1], Elnaz Karbaschian[2], Ali Javadmanesh[3,4*]

[1]PhD student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

[2]MSc student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

[3] Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

[4]Industrial Biotechnology Research Group, Biotechnology Research Institute, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

javadmanesh@um.ac.ir

Abstract

Nivalenol (NIV) is one of the most common mycotoxins, along with dioxynivalenol (DON), which cannot be completely controlled by common methods such as inorganic and organic adsorbents. Therefore, enzyme-based methods are suggested for detoxification of this type of mycotoxins, which require bioinformatics studies before laboratory tests. The purpose of this study is to investigate the binding strength of DEP A enzyme with NIV through molecular docking. H-DOCK online server was used to check molecular docking. The results of molecular docking showed that DEP-A enzyme was bound to the substrate with a relatively strong binding energy of -157.68. Finally, it can be concluded that the studied enzyme was able to bind to NIV at the right place, which shows that these enzymes can be effective in deactivating this toxin. However, laboratory studies will be needed to confirm these results.

Keywords: molecular docking, mycotoxin, DEPA, nivalenol