

**ВИРТУАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ ЦИТОХРОМОВ P450 В ГЕНОМЕ *M. PERSICAE* И  
НАИБОЛЕЕ ЧАСТО ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ В КАЧЕСТВЕ ЛИГАНДОВ**

**Р.С. Шулинский, С.С. Левыкина, А.С. Мохорова, В.В. Гричик, Н.В. Воронова-Барте**  
*Белорусский государственный университет, Минск, s.lewykina@yandex.by*

Тли (Hemiptera: Aphidoidea) представляют собой уникальную группу насекомых-фитофагов, тесно связанных с растениями-хозяевами на протяжении всего жизненного цикла [1]. Учитывая высокую плодовитость и быструю смену поколений партеногенетических особей, а также значительное давление естественного отбора, действующего на вредителей в агрофитоценозах, новые признаки, дающие особям селективные преимущества, закрепляются в популяции тлей чрезвычайно быстро [2]. Способность к индукции крылатых морф и миграции с растения на растение позволяет тлям формировать разнообразные стратегии избегания чрезмерного угнетения под действием, например, инсектицидов или иных потенциально летальных факторов [3]. Все это может приводить к формированию новых, высоко адаптированных линий тлей, взявших начало от единственной мутантной самки, в течение 1–2 месяцев вегетативного сезона и значительному возрастанию вредоносности тлей, причиняемой растениям как, непосредственно, в процессе питания, так и в результате переноса фитопатогенных вирусов, в том числе, от сорных и/или свободно произрастающих к возделываемым растениям [4]. Учитывая высокий репродуктивный потенциал и вредоносность ряда видов тлей, генетические основы и молекулярные механизмы устойчивости к инсектицидам вызывают большое внимание исследователей во всем мире [5].

Тли развили гибкие системы детоксикации, одним из ключевых элементов которой является система P450 [6]. Цитохромы P450 являются одной из более принципиальных ферментных систем насекомых и играют главную роль в их метаболической пластичности и стойкости [7]. Множественность и разнообразие их сайтов узнавания субстрата, а также их каскады регуляции транскрипции сделали возможным огромную биохимическую гибкость метаболических профилей отдельных организмов [8].

К настоящему времени устойчивость к инсектицидам выработали 14 видов тлей, в первую очередь зеленая персиковая тля *M. persicae*, которая является вредителем многих сельскохозяйственных культур [9].

Извлечение, сборка и аннотация генома тли *M. persicae* была проведена сотрудниками СНИЛ биоинформатики и молекулярной эволюции животных заблаговременно.

В результате было получено 24576 моделей генов. Для курирования были выбраны контиги, аннотации генов которых содержали в своем названии паттерн «P450» или содержали P450 домен. Таким образом курированию подверглось 60 контигов и 63 гена цитохромов P450.

Таблица 1. – Результаты докинга с использованием цитохромов *M. persicae* и инсектицидов из группы фосфоорганических соединений в качестве лигандов

	Дихлофос	Хлорофос	Тиофос	Карбофос	Метафос	Пирофос	Зарин	Зоман
CYP6CY23	3,57	489,82	-5,83	1330	589,67	467,45	-5,51	-5,11
CYP6CY3	3,33	2710	-5,31	3470	3960	2660	37,73	0,18
CYP6CY7	-5,45	3280	-4,86	1530	884,08	349,73	-8,82	-4,86
CYP3323A1	26,06	1440	6,82	589,5	243,73	876,19	2,82	5,53
CYP6CY37	-6,91	-6,02	-6,3	-7,7	-7,73	-6,87	-8,33	-5,4
CYP6CY32	-7,08	-4,12	-7,08	-5	-5,93	-4,62	-9,37	-4,91
CYP380C8	-8,84	135,98	-6,26	78,58	68,29	52,53	-13	-8,85
CYP380C7	-8,87	59,56	-9,32	-6,56	-7,87	-3,37	-11,97	-7,31
CYP6CY16	-5,24	1,97	-5,41	1,38	2,15	2,48	-6,17	-3,88
CYP6CY31	-5,7	928,59	-8,24	281,83	434,91	663,21	-8,26	-4,11
CYP6DC1	61,15	7920	33,9	845,32	3620	612,95	-4,31	0,36
CYP380C9	-5,94	364	0,99	152,49	174,93	73,18	-8,74	-6,51
CYP4CJ4	-7,14	36,56	-9,2	17,69	39,03	28,71	-10,83	-6,1
CYP6CY12	19,42	1030	15,81	4090	3690	2790	8,68	1,42
CYP4CJ1	-2,73	966,75	-2,11	635,56	1730	1430	5,52	-3,71
CYP6CY9	111,86	8430	146,89	6580	4240	7080	219,07	65,69
CYP380B1	-0,96	756,04	-7,65	557,43	1930	952,73	-0,55	-2,43
CYP4CH2	-6,35	-2,15	-7,6	-7,61	-2,95	-8,05	-9,03	-4,7
CYP4CH3	21,25	3750	17,83	1380	762,73	2260	4,06	-1,45
CYP6CY14	-5,37	150,22	-4,11	10,17	77,48	120,23	-6,84	-4,15
CYP4G51	-5,53	-2,73	-6,03	-2,14	1,64	-3,82	-8,14	-3,67
CYP4CK1	-2,85	5720	-4,4	6210	6650	2910	-1,77	-1,89
CYP6DB1	-7,8	174,51	-4,87	116,96	224,56	392,65	-8,21	-3,67
CYP6DD1	-7,73	313,95	-6,08	426,12	501,95	529,33	-3,66	-5,33
CYP380C6	45,58	4500	25,94	5600	3070	1910	14,41	7,07
CYP380C30	7,7	6570	-3,3	3380	3050	4130	-6,45	-4,87
CYP380C31	27,53	5430	4,07	6250	2420	5560	15,86	2,25
CYP380C35	12,27	1520	7,72	1350	2980	1530	10,43	-0,43
CYP6CY36	130,69	5290	131,79	3920	6250	5200	70,05	37,15
CYP380C34	12,38	203,84	-1,59	575,24	1140	870,69	-6,47	-0,99
CYP380C19	-6,2	2380	-6,03	454,74	209,09	327,84	-7,11	-4,09
CYP4CJ10	-1,75	251,58	-6	308,81	1100	560,62	3,13	-6

Таблица 2. – Результаты докинга с использованием цитохромов *M. persicae* и инсектицидов из групп неоникотиноидов и пиридинов в качестве лигандов

	Ацетамиприд	Имдаклоприд	Тиаклоприд	Тиаметоксам	Клотиаанидин	ДФФ
CYP6CY23	-5,42	240,02	-5,63	254,93	-5,5	-6,1
CYP6CY3	-6,31	-10,29	-9,12	-11,45	-8,05	-5,33
CYP6CY7	-6,32	82,83	-9,37	163,51	-4,72	-6,96
CYP3323A1	-5,51	171,2	9,9	312,52	3,6	-6,54
CYP6CY37	-4,26	-9,12	-6,66	-6,3	-6,54	-5,57
CYP6CY32	-6,15	-6,87	-7,91	-5,24	-7,43	-5,35
CYP380C8	-7,51	3,35	-11,45	12,34	-9,8	-6,53
CYP380C7	-6,77	343,29	-9,8	-8,97	-10,84	-7,47
CYP6CY16	-4	-6,91	-6,41	-5,49	-5,43	-4,44
CYP6CY31	-5,01	-3,09	-7,63	64,93	-4,32	-5,9
CYP6DC1	-6,13	113,53	-4,58	811,75	12,67	-3,53
CYP380C9	-6,02	44,49	-5,59	52,57	-4,46	-6,12
CYP4CJ4	-6,68	3,11	-9,09	12,38	-7,12	-7,99
CYP6CY12	-5,79	191,49	17,69	341,13	56,08	-7,31
CYP4CJ1	-4,73	141,68	6,18	284,53	15,71	-6,77
CYP6CY9	-3,67	1920	10,75	2960	170,71	-4,77
CYP380B1	-4,11	180,44	-5,08	107	8,54	-6,38
CYP4CH2	-6,39	-7,22	-7,63	-4,77	-6,98	-6,01
CYP4CH3	-5,86	12,92	4,8	85,54	2,3	-5,27
CYP6CY14	-4,66	-6,26	-5,97	2,45	-2,77	-5,57
CYP4G51	-5,77	-5,89	-6,33	-4,28	-5,95	-5,48
CYP4CK1	-4,19	234,13	-4,91	1830	17,75	-3,61
CYP6DB1	-5,48	47,12	-7,76	27,95	-4,38	-6,18
CYP6DD1	-5,52	63,57	-6,67	58,54	-6,11	-6,89
CYP380C6	-5,12	297,87	9,32	844,12	98,92	-4,04
CYP380C30	-5,84	39,29	-7,66	265,87	51,11	-6,22
CYP380C31	-5,75	70,11	21,2	141,45	6,49	-4,8
CYP380C35	-5,4	302,3	28,62	326,47	23,11	-5,49
CYP6CY36	-2,96	1740	101,04	2380	62,48	-6,27
CYP380C34	-5,87	63,94	0,84	64,77	-4,96	-6,89
CYP380C19	-5,26	59,33	-5,05	278,04	0,61	-5,6
CYP4CJ10	-6,17	96,25	-3,36	64,73	-5,75	-6,1

Далее было проведено моделирование трехмерной структуры белка с использованием нейронных сетей DMPfold. Выравнивание проводилось с использованием PSIPRED. Построение карт реализации максимизации псевдоправдоподобия Марковского случайного поля для изучения контактов белковых остатков проводилось в csmprd. Параметры нейронной сети были оптимизированы с использованием программы TensorFlow для достижения наилучших результатов. Качество моделирования было проверено и оценено с помощью TM-score. Полученные модели трехмерной структуры белков были визуализированы с использованием программных инструментов, таких как PyMOL или UCSF Chimera, в формате PDB. Качество визуализации было оценено и сопоставлено с экспериментальными данными. Был проведен анализ ключевых особенностей и взаимодействий в структуре белка P450. Кроме того, была разработана среда виртуализации при помощи Docker, которая включает необходимые программы и зависимости для виртуализации и докинга. Программы AutoDock или Vina были использованы для проведения докинга с использованием вторичных метаболитов кормовых растений *M. persicae* и наиболее часто используемых инсектицидов в качестве лигандов (таблицы 1 и 2). Все вышеуказанные этапы и методы были реализованы с использованием языка программирования Python и bash, и оптимизированы для параллельных вычислений.

Исследуемые группы пестицидов были разделены по химической природе на фосфоорганические соединения, неоникотиноиды и пиридины.

В результате было смоделировано 47 третичных структур цитохромов P450 из генома *M. persicae*, для которых была рассчитана энергия их связывания с различными инсектицидами.

Относительно имидаклоприда наибольшее взаимодействие наблюдается с цитохромами P450, такими как CYP6CY7 и CYP6CY23. Это указывает на их ключевую роль в метаболизме данного инсектицида. Была рассчитана энергия связывания цитохромов CYP6CY7 и CYP6CY23 (минус 5.42 ккал/моль и минус 5.63 ккал/моль соответственно). Эти результаты демонстрируют их важность в метаболизме имидаклоприда, что может иметь практическое значение в разработке стратегий борьбы с вредителями, устойчивыми к этому инсектициду.

В случае с ацетамипридом цитохром P450 CYP6CY3 демонстрирует более высокую энергию (минус 6.31 ккал/моль), что также указывает на его потенциальную роль в метаболизме этого инсектицида.

Цитохромы P450, такие как CYP3323A1 и CYP6CY3, показали следующие значения применительно к дихлоросу: 26.06 ккал/моль и минус 10.29 ккал/моль соответственно.

Значения энергии связывания для цитохромов CYP3323A1 и CYP6CY3 в отношении тиофоса составили минус 5.83 ккал/моль и минус 7.08 ккал/моль соответственно. Это показывает, что они выполняют преимущественную роль в процессе метаболизма данного инсектицида.

Цитохромы P450, такие как CYP6CY3 и CYP6DC1, демонстрируют существенное влияние на карбофос с энергиями связывания минус 5.31 ккал/моль и минус 4.31 ккал/моль соответственно.

Цитохром P450 CYP3323A1 проявляет сильное взаимодействие с метафосом (6.82 ккал/моль) и пирофосом (9.9 ккал/моль).

Цитохром P450 CYP380C8 проявил самое сильное взаимодействие с хлорофосом (минус 7.51 ккал/моль). Полученные результаты подчеркивают разнообразие взаимодействия цитохромов P450 с различными инсектицидами и указывают на их потенциальную роль в разработке стратегий контроля численности вредителей. Понимание молекулярных механизмов этих взаимодействий может способствовать более эффективному управлению комплексом мер, направленным на борьбу с насекомыми-фитофагами.

**Подготовлено при финансовой поддержке БРФФИ и МИРРУ**

#### **Список использованных источников**

1. Misof B. [et al.] Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution // Science. – 2014. – Vol. 346, n. 6210. – P. 763–767.
2. Wang X. [et al.] The locust genome provides insight into swarm formation and long-distance flight // Nat. Commun. – 2014. – Vol. 5, n 1. – P. 2957.
3. Hotaling S., Kelley J. L., Frandsen P. B. Aquatic Insects Are Dramatically Underrepresented in Genomic Research // Insects. – 2020. – Vol. 11, n. 9. – P. 601.
4. Zhang Z.-Q. Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness // Zootaxa. – 2013. – Vol. 3703, n. 1. – P. 1.

5. Robinson G. E. [et al.] Creating a Buzz About Insect Genomes // *Science*. – 2011. – Vol. 331, n. 6023. – P. 1386–1386.
6. Misra S. [et al.] Annotation of the *Drosophila melanogaster* euchromatic genome: a systematic review // *Genome Biol.* – 2002. – Vol. 3, n. 12. – P. 83.
7. Celniker S. E. [et al.] Finishing a whole-genome shotgun: release 3 of the *Drosophila melanogaster* euchromatic genome sequence. // *Genome Biol.* – 2002. – Vol. 3, n. 12. – P. 79.
8. Dritsou V. [et al.] A draft genome sequence of an invasive mosquito: an Italian *Aedes albopictus* // *Pathog. Glob. Health*. – 2015. – Vol. 109, n. 5. – P. 207–220.
9. Zhao C. [et al.] Potential of Cucurbitacin B and Epigallocatechin Gallate as Biopesticides against *Aphis gossypii* // *Insects*. – 2021. – Vol. 12, n. 1. – P. 32.