

V 型质子泵对白色念珠菌生理及毒力作用的研究进展

龙胜兰¹, 王峥^{*1}, 杨德琴^{*1,2,3}

1 重庆医科大学 重庆医科大学附属口腔医院, 重庆 401147

2 复旦大学附属口腔医院 上海市口腔医院 牙体牙髓科, 上海 200000

3 复旦大学 上海市颅颌面发育与疾病重点实验室, 上海 200000

龙胜兰, 王峥, 杨德琴. V 型质子泵对白色念珠菌生理及毒力作用的研究进展[J]. 微生物学通报, 2025, 52(7): 2960-2971.

LONG Shenglan, WANG Zheng, YANG Deqin. Research progress in the effects of V-ATPases on the physiology and virulence of *Candida albicans*[J]. Microbiology China, 2025, 52(7): 2960-2971.

摘要:白色念珠菌(*Candida albicans*)是人类最常见的机会性真菌病原体,当宿主防御系统受损时,白色念珠菌可以在人体组织中广泛地侵袭性生长,引起皮肤、黏膜的浅表感染甚至全身的侵袭性感染。近年来经典抗真菌药物更新缓慢、毒副作用较大、耐药现象愈发严重,抗真菌药物的发展进入瓶颈期,亟须寻找新的抗真菌药物靶点。白色念珠菌 V 型质子泵 V-ATPase 是白色念珠菌维持菌丝形成、自噬诱导和侵袭的重要结构,抑制 V-ATPase 可大大降低白色念珠菌的毒力。目前以 V-ATPase 作为抗白色念珠菌感染潜在靶点的研究正在深入开展。本文将围绕近年来 V-ATPase 在白色念珠菌中的作用,以及 V-ATPase 特异性抑制剂相关的研究进展作一综述。

关键词:白色念珠菌; V 型质子泵; V 型质子泵 c 环

资助项目: 国家自然科学基金(32270888, 82301055)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32270888, 82301055).

*Corresponding authors. E-mail: YANG Deqin, yangdeqin@hospital.cqmu.edu.cn; WANG Zheng, wangzheng@hospital.cqmu.edu.cn

Received: 2024-10-23; Accepted: 2024-12-06; Published online: 2025-01-09

Research progress in the effects of V-ATPases on the physiology and virulence of *Candida albicans*

LONG Shenglan¹, WANG Zheng^{*1}, YANG Deqin^{*1,2,3}

1 Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Medical University, Chongqing 401147, China

2 Department of Endodontics, Shanghai Stomatological Hospital, School of Stomatology, Fudan University, Shanghai 200000, China

3 Shanghai Key Laboratory of Craniomaxillofacial Development and Diseases, Fudan University, Shanghai 200000, China

Abstract: *Candida albicans* is the most common opportunistic fungal pathogen in humans. When the host defense system is compromised, *C. albicans* can widely invade and grow in the human tissue, causing superficial infections of the skin and mucous membranes and even systemic infections. In recent years, the progress in classic antifungal drugs has been slow due to the serious toxic side effects and increasingly severe drug resistance. The development of antifungal drugs has entered a bottleneck stage, and there is an urgent need to find new antifungal drug targets. The vacuolar proton-translocating ATPases (V-ATPases) of *C. albicans* are essential for hyphal formation, autophagy induction, and invasion. Inhibiting V-ATPases can greatly reduce the virulence of *C. albicans*. At present, researchers are exploring the feasibility of using V-ATPases as candidate targets for inhibiting *C. albicans* infection. This article reviews the research progress in the roles of V-ATPases in *C. albicans* and the specific inhibitors of V-ATPases.

Keywords: *Candida albicans*; vacuolar proton-translocating ATPase (V-ATPase); V-ATPase c-ring

念珠菌可引起皮肤、黏膜的浅表感染甚至全身的侵袭性感染，影响全球数百万人，尤其是癌症、器官移植、艾滋病感染等宿主防御系统受损人群^[1]。每年约有 70–250 万例全身感染，10–50 万患者死亡，侵袭性念珠菌病的相关死亡率可达 40%–75%，引起了医学界的广泛关注；白色念珠菌(*Candida albicans*)是人体最常见的真菌病原体，在侵袭性念珠菌病中由白色念珠菌所引起的感染占 40%–80%左右；世界卫生组织将其列为 4 种最高优先级真菌病原体之一^[2–4]。然而近年来经典抗真菌药物更新缓慢、毒副作用较大、耐药现象愈发严重，抗真菌药物的发展进入瓶颈期，亟须寻找新的有效靶标和干预治疗位点^[5–6]。

V 型质子泵(vacuolar proton-translocating ATPase, V-ATPase, 液泡质子转运 ATP 酶)存在于整个真核生物中，位于细胞膜或细胞内腔室，如高尔基体、内体、溶酶体/液泡、分泌囊泡或质膜。在细胞内，V-ATPase 通过水解 ATP 释放能量，驱动质子逆浓度梯度跨膜转运，产生和维持细胞器腔酸化，以及产生的质子梯度为其他代谢物的运输提供能量，并在蛋白质运输中起关键作用，其中包括分泌和内吞作用^[7–8]。此外，V-ATPase 也存在于一些动物特殊组织质膜中，其将质子泵入细胞外空间，对骨重塑、精子成熟和维持血液 pH 至关重要^[9–10]。大量的研究报道 V-ATPase 在调控白色念珠菌生长、抵御氧化应激、形态转换等致病性方面均具有重大

作用^[8,11]。本文综述 V-ATPase 在白色念珠菌中的研究进展,有利于理解 V-ATPase 对于白色念珠菌生理及毒力的重要性,同时为新型抗真菌药物的研发提供新的思路。

1 V-ATPase 的结构与机制

1.1 V-ATPase 的结构与功能

V-ATPase 由膜嵌入 V_0 结构域和外围 V_1 结构域组成。 V_1 结构域由 ABCDEFGH 八个亚基组成,分别由基因 *TFP1*、*VMA2*、*VMA5*、*VMA8*、*VMA4*、*VMA7*、*VMA10* 和 *VMA13* 编码, V_1 结构域对于分解 ATP 至关重要,为逆浓度梯度转运 H^+ 提供能量; V_0 结构域由 a、d、e、c、c' 和 c'' 6 个亚基组成,分别由基因 *VPH1*/*STV1*、*VMA3*、*VMA11*、*VMA16*、*VMA6* 和 *C1_10750C_A* 编码,其为运输 H^+ 提供通道^[7]。在白色念珠菌中,除了 V_0 结构域中的 a 亚基由基因 *VPH1* 和 *STV1* 编码外(*VPH1* 定位液泡, *STV1* 定位高尔

基体),其他亚基均由单个基因编码,表 1 总结了 V-ATPase 每个亚基被破坏后突变体的表型^[12]。在 V_1 结构域中, A、B 亚基形成 A_3B_3 六聚体,每对 A、B 亚基都包含一个 ATP 结合位点,当水解 ATP 时,其构象发生变化,诱导中心的转子轴(D、F 和 d 亚基)和 V_0 结构域的 c 环旋转; E、G 亚基异源二聚体组成 3 个外围杆,将 A_3B_3 六聚体与 C、H 亚基和 a 亚基的 N 末端相连,起定子的作用; V_0 结构域中的 c、c'、c'' 在膜的磷脂双分子层中共同围成一个环状结构(称蛋白脂质环或 c 环), c 环每个亚基在其外部 α 螺旋上具有保守的谷氨酸残基;嵌入膜中的 a 亚基 C 末端有 2 个偏移的半通道;主动输运时,细胞质中的质子通过 a 亚基和 c 环之间的胞质半通道进入 V_0 结构域,依次中和 c 环各个亚基上的保守谷氨酸残基,然后通过 a 亚基的管腔半通道离开 V_0 结构域进入细胞器囊腔(图 1);通过这种方式, V_1 结构域的 ATP 水解与 V_0 结构

表 1 编码白色念珠菌 V 型质子泵的亚基基因及突变体表型

Table 1 Genes encoding the subunits of V-ATPases and their null mutant phenotypes in *Candida albicans*

V 型质子泵结构域 Domains of V-ATPase	亚基 Subunit	编码基因 Encoding gene	突变体的表型 Phenotypes of null mutant		
			液泡酸化 Vacuolar acidification	菌丝发育 Hypal development	系统性感染的毒力 Virulence in systematic infection
V_1	A	<i>TFP1</i>	缺陷 Defect	缺陷 Defect	无毒 Avirulent
	B	<i>VMA2</i>	缺陷 Defect	缺陷 Defect	无毒 Avirulent
	C	<i>VMA5</i>	缺陷 Defect	缺陷 Defect	无毒 Avirulent
	D	<i>VMA8</i>	—	—	—
	E	<i>VMA4</i>	缺陷 Defect	缺陷 Defect	无毒 Avirulent
	F	<i>VMA7</i>	缺陷 Defect	部分缺陷 Partial defect	无毒 Avirulent
	G	<i>VMA10</i>	缺陷 Defect	缺陷 Defect	无毒 Avirulent
	H	<i>VMA13</i>	—	—	—
V_0	a	<i>VPH1</i>	缺陷 Defect	部分缺陷 Partial defect	无毒 Avirulent
		<i>STV1</i>	正常 Unchanged	部分缺陷 Partial defect	有毒 Virulent
	c	<i>VMA3</i>	缺陷 Defect	缺陷 Defect	—
	c'	<i>VMA11</i>	—	缺陷 Defect	—
	c''	<i>VMA16</i>	—	—	—
	d	<i>VMA6</i>	缺陷 Defect	缺陷 Defect	有毒 Avirulent
	e	<i>C1_10750C_A</i>	—	—	—

—: 暂未查阅到相关文献报道。

—: No relevant literature has been found yet.

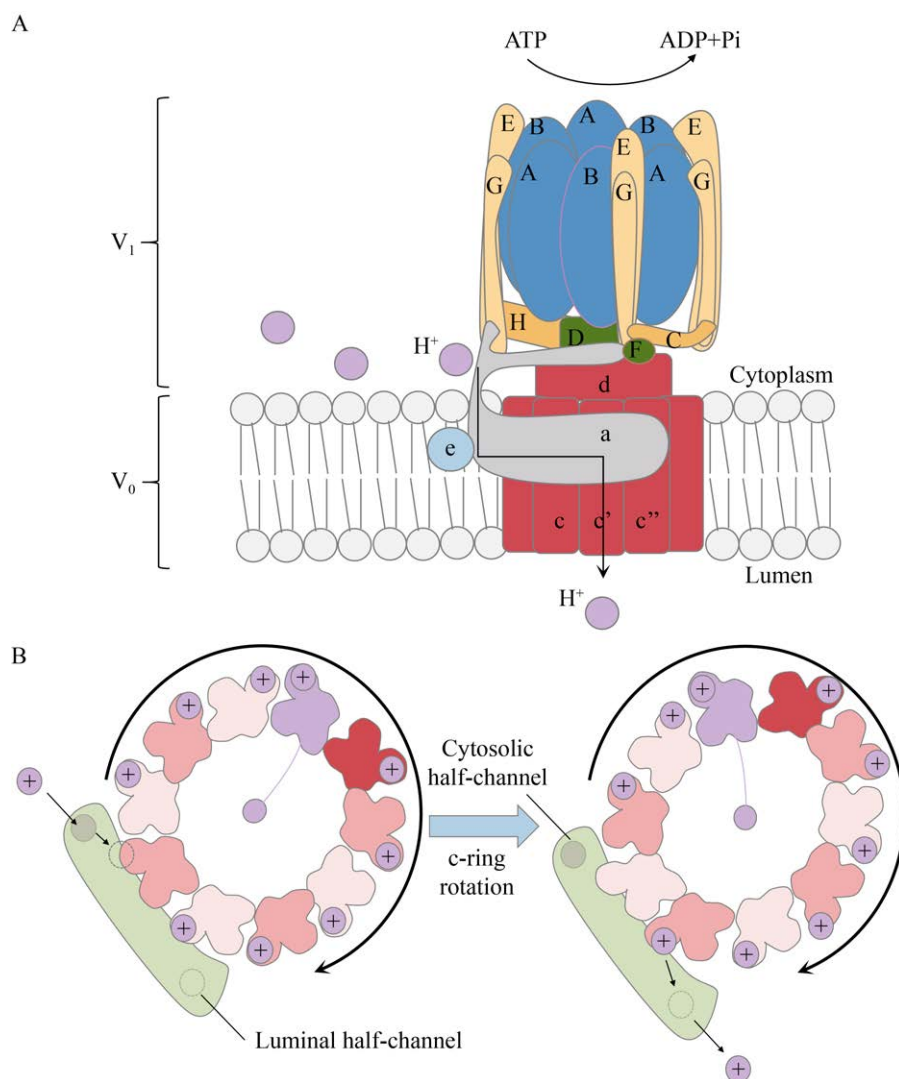


图1 白色念珠菌 V-ATPase 结构及机制模式图 A: V-ATPase 结构及旋转机制; B: 质子异位途径。
Figure 1 The structure and mechanism diagram of *Candida albicans*. A: Structure and rotary catalytic mechanism of V-ATPase; B: Proton translocation pathway.

域的质子传输过程相耦合,实现了各区域结构分工明确,高效利用 ATP 的目的^[13-15]。

1.2 V-ATPase 活性调控

V-ATPase 在细胞器和细胞稳态中至关重要,其活性受到严格调控,并与其他过程和信号通路相互关联。目前所涉及的具体细胞信号和分解的分子机制尚不清楚,但公认的其中一个主要的调控机制是 V₁ 结构域和 V₀ 结构域的可逆解离,一旦解离, V₁ 和 V₀ 结构域就会受到自抑制, V-ATPase 失活,不再水解 ATP 或转运质子^[14]。

V-ATPase 初始形成包括 V₁ 和 V₀ 结构域的组装和结合; V₁ 结构域在细胞质中组装,而 V₀ 结构域在内质网(ER)膜内组装,该过程需要组装因子 Vma12p、Vma21p 和 Vma22p;当 V₀ 结构域在内质网膜中组装后,就与 Vma21p 一起移动到高尔基体膜,在此与 V₁ 结构域结合形成完整的 V-ATPase; V-ATPase 随后因 a 亚基的异构体不同定位于液泡或停留在高尔基体中(VPH1 定位液泡, STV1 定位高尔基体)^[16-19]。在酵母中,可逆分解的主要触发因素是细胞外葡萄糖浓度

降低,而当葡萄糖水平恢复时, V_1 结构域与 V_0 结构域重新组装,恢复 V-ATPase 活性^[18]。RAVE 复合物介导 V_1 结构域和 V_0 结构域的重组,RAVE 复合物由 3 个亚基组成,分别为 Rav1、Rav2 和 Skp1 亚基;其中 Rav1 亚基作为支架结合自身 Rav2 亚基和 Skp1 亚基,以及 V_1 结构域的 E、G、C 亚基和 V_0 结构域的 α 亚基 N 末端;当葡萄糖浓度恢复时,RAVE 复合物催化 V_1 结构域到液泡膜并与 V_0 结构域重新组装^[16]。此外,其他因素,如 pH 值和渗透压力也会影响 V-ATPase 的组装水平^[16,20]。V-ATPase 在许多过程起到关键作用以及决定组装状态的许多信号(葡萄糖、pH 值和渗透压力)不同的机制聚合在一起调节 V-ATPase 的组装和拆卸以达到最佳的 V-ATPase 活性水平。

2 V-ATPase 调控白色念珠菌的生理与毒力

2.1 V-ATPase 调控白色念珠菌液泡酸化和菌丝发育

白色念珠菌在酵母和菌丝之间进行形态转换的能力是其发病机制的核心,酵母形态对黏膜定殖、血流传播、黏附内皮细胞和生物膜形成至关重要,菌丝有助于组织入侵、损伤细胞和躲避宿主杀伤等^[21-23]。白色念珠菌的菌丝可以直接刺破和杀死细胞,造成细胞损伤,同时还可以释放念珠菌素和多种蛋白酶,如天冬氨酸蛋白酶、脂肪酶,破坏细胞之间的交联和细胞的完整性^[24-25]。此外,白色念珠菌还可以刺激上皮细胞释放细胞因子、趋化因子,参与免疫炎症反应^[26-27]。

pH 值稳态对于白色念珠菌至关重要,它影响其毒力和酵母-菌丝形态转换。稳态依靠液泡上主要的质子泵 V-ATPase 来调控,通过水解 ATP 释放能量,驱动质子逆浓度梯度跨膜转运,产生并维持细胞器的 pH 梯度;此外,V-ATPase 还协同质膜质子转运蛋白 Pma1p 调节细胞外和细胞质 pH,以维持中性至碱性的细胞质和酸性的细

胞外环境,从而在细胞外、液泡和细胞质水平上通过 pH 值调控白色念珠菌的毒力^[28-29](图 2)。

(1) 细胞外 pH 值能够影响白色念珠菌的形态二相性,由于酵母优先在酸性环境条件下生长,因此增加细胞外 pH 值会触发菌丝生长,从而增加自身毒力;同时,由于胚芽管形成是菌丝形成的前提步骤,此过程需要细胞质碱化,合适的细胞质 pH 也有助于白色念珠菌菌丝形成^[30]。白色念珠菌能够感应环境 pH 值的变化,并主动改变环境 pH 以诱导菌丝形成增强自身毒力^[31]。

(2) 液泡 pH 值还参与调控白色念珠菌的多种生理学功能;液泡内为酸性,其内含有多种水解酶以及 V-ATPase 产生的质子梯度等均有利于细胞代谢物和离子的储存、蛋白质降解、细胞内膜运输和小分子的摄取等^[8]。V-ATPase 有助于白色念珠菌对宿主细胞的黏附和侵袭,由 V-ATPase 逆浓度梯度跨膜转运 H^+ 所产生的质子梯度是白色念珠菌分泌多种毒力相关蛋白(如天冬氨酸蛋白酶、脂肪酶、黏附酶和侵袭酶)的必需条件,这些毒力相关蛋白的激活、分泌等也都需要合适的液泡 pH 值;此外,自噬降解过程需要 V-ATPase 产生并维持酸性腔内环境,以激活负责降解各种货物的酶^[12]。

V-ATPase 的各个亚基对于 V-ATPase 的功能至关重要,缺一不可。任何一个编码 V-ATPase 亚基的基因缺失,都会影响白色念珠菌的菌丝发育、液泡酸化及毒力。研究报道,V-ATPase 中 C 亚基的编码基因 *VMA5* 缺失后,白色念珠菌生长受到抑制、液泡碱化及内吞功能受损、钙稳态紊乱并显著降低了抵御外界氧化应激的能力;此外,*VMA5* 的缺失导致自噬和菌丝发育缺陷,造成白色念珠菌毒力减弱^[32]。敲除 V-ATPase 中组装因子 Vph2 和 V_0 d 亚基的编码基因 *VPH2* 和 *VMA6*,导致白色念珠菌菌丝形成减弱;同时,接种上述敲除株的小鼠感染系统性念珠菌病的几率及严重程度均显著减弱^[33]。敲除 V-ATPase E 和 G 亚基的编码基因 *VMA4* 和 *VMA10* 后,白色念珠菌出现液泡形态

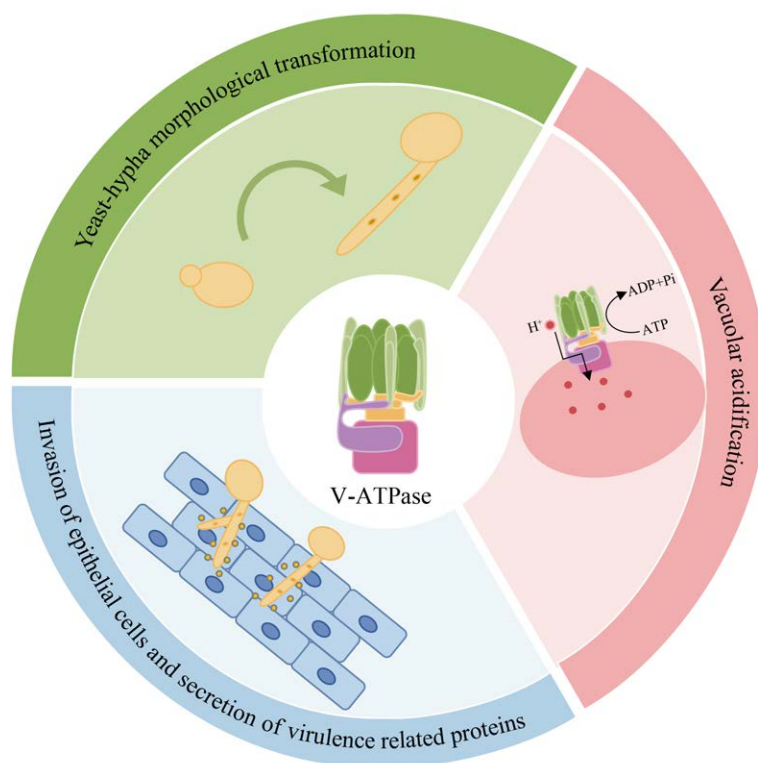


图 2 V-ATPase 调控白色念珠菌的毒力 V-ATPase 在白色念珠菌中的作用，包括菌丝发育、液泡酸化、侵入上皮细胞及释放相关毒力蛋白。

Figure 2 V-ATPase regulates the virulence of *Candida albicans*. The functions of V-ATPase in *Candida albicans* encompass hyphal development, vacuolar acidification, invasion of epithelial cells, and the release of associated virulence proteins.

及酸化异常，菌丝发育障碍，在系统性念珠菌感染的小鼠模型中表现为无毒，同时对氟康唑、特比萘芬和两性霉素 B 等抗真菌药物表现出敏感性^[34]。针对 V_0 c 亚基编码基因 *VMA3* 构建的条件突变菌株 *tetR-VMA3*，功能上与酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) *VMA3* 突变株相似，抑制 *VMA3* 能特异性阻止 V-ATPase 在液泡膜上的组装，降低 V-ATPase 活性，突变株出现液泡碱化、形态异常，显著影响白色念珠菌蛋白溶解酶的分泌及菌丝形成等关键毒力，同时，*VMA3* 的缺失导致对巨噬细胞的杀伤显著减弱^[35]。此外，研究显示在白色念珠菌中，*vma11p* 的缺乏导致白色念珠菌铁摄取出现严重缺陷，白色念珠菌无法在以血红蛋白为铁源的培养基中生长，影响白色念珠菌在宿主中的定殖^[36]。

2.2 V-ATPase 介导白色念珠菌细胞内信号转导

V-ATPase 在细胞内信号传导中发挥重要作用。Wnt 和 Notch 通路均依赖 V-ATPase 在多种生物体和细胞类型中完全激活，在这 2 种途径中，细胞表面受体的运输和加工都需要有活性且完整的 V-ATPase^[37-39]。此外，V-ATPase 对激活 mTORC1 和 AMPK 也至关重要，是细胞内合成代谢和分解代谢过程之间转换的重要组成部分^[40-42]。在白色念珠菌中，V-ATPase 感应环境中营养物质的变化，在葡萄糖浓度降低时，通过 Ras/cAMP/PKA 通路促进 V-ATPase 的可逆解离^[42]。此外，白色念珠菌中的 V-ATPase 组装对细胞外和细胞质 pH 都很敏感；研究发现细胞质 pH 升高以 V-ATPase 依赖的方式促进 PKA

活性, 这表明酵母中 PKA 和 V-ATPase 之间可能存在正反馈回路, 以响应葡萄糖升高^[41]。酵母在离子和碱胁迫下也会增加 V-ATPase 的组装, 而这些组装变化由信号脂质 PI(3,5) P2 水平控制^[17-18]。

钙是各种真核生物生长所必需的, 此外, Ca^{2+} 是一种普遍存在的信使, 参与各种发育信号和特定细胞反应之间的翻译^[43]。为了发挥其信号功能, 胞内 Ca^{2+} 浓度必须维持在 50–200 nmol/L 之间, 钙稳态的破坏会导致所有生物的生长缺陷甚至细胞死亡; 液泡是钙储存的主要细胞器, 约占细胞内 Ca^{2+} 总量的 90%, 主要通过 $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换器 Vcx1 和 p 型 Ca^{2+} ATPase Pmc1 发挥作用, 以维持最佳的细胞内钙水平; Pmc1 和 Vcx1 将 Ca^{2+} 隔离到液泡中, Vcx1 利用 V-ATPase 产生的 H^+ 梯度将 Ca^{2+} 转运到液泡中, 并将 H^+ 外排到细胞质中, 维持 Ca^{2+} 稳态^[43-44]。

综上所述, V-ATPase 对于白色念珠菌至关重要, 当 V-ATPase 受到药物性或遗传性抑制时, 白色念珠菌的生理和毒力方面都受到极大影响。

3 V-ATPase 抑制剂

3.1 巴弗洛霉素 A1

巴弗洛霉素 A1 是第一个被报道的相对特异性的 V-ATPase 抑制剂, 它是从链霉菌中分离得到的大环内酯类抗生素, 具有 16 元内酯环, 此外, 它也被广泛地用作经典的自噬抑制剂^[45]。研究表明, 巴弗洛霉素 A1 以浓度依赖性的方式抑制 V-ATPase 介导的质子易位, 纳摩尔浓度的巴弗洛霉素 A1 即可完全抑制 V-ATPase 的活性^[46]。V-ATPase 工作时, V_1 结构域的 ATP 水解触发 V_0 结构域的旋转, 促进质子通过 a 亚基和 c 环之间的空腔传输; 近年来, 学者通过冷冻电镜研究发现, 当 c 环旋转时, 巴弗洛霉素 A1 可以提供空间位阻, 阻止 a 亚基和 c 环之间的相互作用, 从而阻断质子移位^[45,47]。因此,

巴弗洛霉素 A1 特异性抑制 V-ATPase 的能力, 有望在抗真菌感染中发挥重要作用。

3.2 刀豆霉素 A

刀豆霉素 A 是一种结构类似于巴弗洛霉素 A1 的大环内酯类抗生素, 具有 18 元内酯环和 6 元半缩酮环^[48]。刀豆霉素 A 与 V_0 结构域的 c 亚基结合, 阻碍 V-ATPase 工作时 c 环旋转, 从而抑制其活性; 刀豆霉素 A 作用方式与巴弗洛霉素 A1 相似, 但比巴弗洛霉素 A1 抑制效果更好、特异性更强^[49]。尽管大环内酯类抗生素巴弗洛霉素 A1 和刀豆霉素 A 能够高效特异地抑制 V-ATPase, 但不会影响机体其他重要的 ATPase, 如胃壁细胞中负责维持胃酸分泌的 H^+/K^+ -ATPase^[48], 因此, 该类药物是未来抗真菌药物研发的重要研究方向。

3.3 archazolid A

archazolid A 是一种分离于黏细菌中的新型 V-ATPase 特异性抑制剂^[48]。有学者发现 archazolid A 可以和巴弗洛霉素 A1、刀豆霉素 A 竞争性地结合 V-ATPase V_0 结构域的 c 亚基, 表明其针对 V-ATPase 的作用机制和巴弗洛霉素 A1、刀豆霉素 A 类似^[48]。archazolid A 不仅可在低纳摩尔浓度下抑制白色念珠菌 V-ATPase, 还能够抑制乳腺等肿瘤细胞增殖^[50-51]。因此, archazolid A 有望对与真菌感染相关的肿瘤发挥重要的作用。巴弗洛霉素 A1、刀豆霉素 A、archazolid A 是 3 种主要 V-ATPase 抑制剂, 其分子结构如图 3 所示。

3.4 吡啶类化合物

吡啶类化合物是基于巴弗洛霉素 A1 和刀豆霉素 A 的结构设计出的合成抑制剂。研究发现, V-ATPase V_0 结构域 c 亚基突变能够同时降低对巴弗洛霉素 A1 和吡啶类化合物的敏感性, 提示吡啶类化合物与 V-ATPase 的结合位点和巴弗洛霉素 A1 重叠^[52]。在人体中, 吡啶类化合物还能特异性抑制破骨细胞 V-ATPase, 是一种具有抗骨质疏松潜力的新型骨吸收抑制剂^[53]。

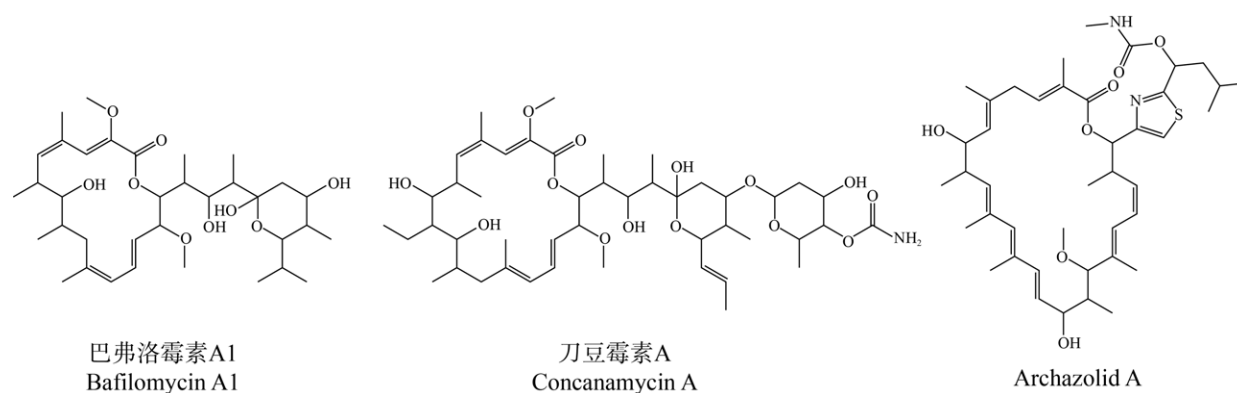


图 3 三种主要 V-ATPase 抑制剂的分子结构(KingDraw 绘制)

Figure 3 The molecular structures of three primary V-ATPase inhibitors (by KingDraw).

3.5 其他

其他类型的 V-ATPase c 环特异性抑制剂还包括豌豆白蛋白 1 亚基 b (PA1b) 和 apicularen。PA1b 是一种从豆科植物种子中提取的植物毒素, 同 V-ATPase 的结合位点与巴弗洛霉素 A1 重叠; PA1b 仅对昆虫 V-ATPase 表现出高度特异性, 对哺乳动物和真菌 V-ATPase 并无抑制作用^[54]。apicularen 是 benzolactone enamides 的一类, 从黏细菌中分离得出, 对 V-ATPase 具有很强的抑制作用, 半抑制率 IC_{50} 可以达到纳摩尔级别; 尽管 apicularen 可以特异性抑制哺乳动物细胞 V-ATPase, 但对真菌 V-ATPase 的抑制效果不明显^[55]。

4 V-ATPase V_0 c' 亚基作为抗真菌药物靶点的新方向

目前经典的抗真菌药物主要包括唑类、多烯类、烯丙胺类、棘白菌素类和氟胞嘧啶类。其中唑类药物主要抑制真菌细胞内质网中的麦角甾醇合成; 多烯类则通过与麦角甾醇结合破坏细胞膜结构, 促进胞内成分外渗, 导致细胞死亡; 烯丙胺类药物作用于参与麦角甾醇合成的角鲨烯-环氧化物酶; 棘白菌素类靶点为 β -(1,3)-D-葡聚糖合成酶, 能够抑制真菌细胞膜中的葡聚糖合成; 氟胞嘧啶类抗真菌机制为靶向胸苷酸合成酶, 从而干扰 DNA 合成^[6,56-58]。

但这些抗真菌药物大部分具有毒副作用大、耐药严重的现象, 抗真菌药物的发展已进入瓶颈期, 亟须找寻新的抗真菌药物靶点。本课题组在前期研究中构建了白色念珠菌 *VMA11* 敲除株, 研究发现当 *VMA11* 基因敲除后, 相较于白色念珠菌野生型, *vam11/vma11* 的生长速率受到显著抑制; 在 YPD 固体培养基中, *vam11/vma11* 生长受到抑制, 菌落大小较野生型也有不同程度的减小; 在 Spider 固体培养基上, 相较于野生型菌落形成明显的褶皱, *vam11/vma11* 菌落减小, 褶皱程度降低; 在菌丝诱导液体培养基中, 相较于白色念珠菌野生型, 在实验 3 h 后大部分细胞出现了酵母态向菌丝态细胞的转化, *vam11/vma11* 未见菌丝形成; 由此可见, *VMA11* 基因敲除后显著影响白色念珠菌的生长和菌丝发育; 此外, 相较于野生型菌株, *vam11/vma11* 在碱性环境中生长出现明显抑制; 扫描电镜发现, 相较于白色念珠菌野生型, 酵母态细胞椭圆形光滑饱满, 部分细胞可见菌丝形成, *vam11/vma11* 未见菌丝生成, 甚至细胞壁完整性受到破坏, 出现一系列异常形态改变, 如细胞皱缩、表面破裂及剥脱等^[59]。V-ATPase *VMA11* 基因对白色念珠菌的生长、菌丝发育及毒力等至关重要。*VMA11* 基因编码的 V_0 c' 亚基是真菌特异性的, 在哺乳动物中缺乏同源物, 是抗真菌治疗的潜在靶点。针对 V_0 c' 亚基开发

药物, 将有利于解决当前药物库不足的困境。

5 未来筛选 V-ATPase 特异性抑制剂的方法

研究报道在酿酒酵母 V-ATPase 抑制剂的高通量筛选中, 测量细胞质 pH 值可作为 V-ATPase 的功能替代物^[60]。可将 pH 敏感型荧光蛋白(pHluorin)作为白色念珠菌高通量筛选 V-ATPase 抑制剂时的筛选工具。目前现有的 pHluorin 结构不适合在白色念珠菌中直接应用, 创建一种针对白色念珠菌而优化的 pHluorin 结构(CapHluorin), 将使白色念珠菌细胞质 pH 的测量变得简单、经济和高效。

近年来计算机辅助药物设计(computer-aided drug design, CADD)成为药物研发领域的重要组成部分, 该方法的核心原理是利用化学和生物数据通过计算机算法来模拟和预测药物分子如何与其靶标相互作用, 从而进行合理的药物设计^[61]。相较于传统药物研发流程耗时且效率低下, CADD 可大幅缩短研发周期, 提高成功率; 基于结构的药物设计(structure-based drug design, SBDD)是 CADD 最广泛的分支之一, 其中最常用的方法包括基于结构的虚拟筛选和分子对接^[62]。根据靶标蛋白的三维结构信息, 基于结构的虚拟筛选通过评估化合物库中各配体分子与靶标的结合能力, 快速筛选出对特定靶标具有活性的化合物; 分子对接技术能够预测配体分子与靶蛋白结合时的方向、位置及评估配体分子与靶标之间的结合亲和力, 该技术通常与基于结构的虚拟筛选结合操作; 此外在 CADD 中, 分子对接技术常与分子动力学模拟相结合, 后者可用于进一步评估化合物与靶标蛋白结合的相互作用及该复合物体系的稳定性^[61-62]。未来我们可基于 V-ATPase V_0 c'亚基对化合物库进行虚拟筛选, 并采用分子对接和分子动力学模拟等方法进行深入研究得到对 V-ATPase V_0 c'亚基具有抑制活性的候选化合物。对这些候选化合物进行进一步的活性测试并评估其毒性和

安全性, 有助于实现其在临床上的应用。

6 问题与展望

V-ATPase 通过调控白色念珠菌细胞内外 pH 值以及影响细胞内信号转导, 对其生理和毒力至关重要, 其活性丧失也会影响菌丝生长和钙通道功能。目前, 随着人们对 V-ATPase 的基本结构和功能的认识不断深入, 特别是其中的 c 环作为 V-ATPase V_0 结构域的重要组成部分, 对跨膜转运 H^+ 至关重要, 其抑制会影响 V-ATPase 的活性, 降低白色念珠菌的生理功能和毒力。V-ATPase 作为抗白色念珠菌感染和抗真菌耐药性新靶点的观念日渐被研究者强调。其中, *VMA11* 基因编码的 V_0 c'亚基是真菌特异性的, 在哺乳动物中缺乏同源物, 是抗真菌治疗的潜在靶点。针对 c'亚基设计的真菌 V-ATPase 特异性抑制剂, 是未来的重要研究方向。

作者贡献声明

龙胜兰: 论文初稿撰写及修改、图片绘制; 王峥: 思路设计、修改写作及基金支持; 杨德琴: 思路设计、论文审阅及基金支持。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

- [1] KATSIPOULAKI M, STAPPERS MHT, MALAVIA-JONES D, BRUNKE S, HUBE B, GOW NAR. *Candida albicans* and *Candida glabrata*: global priority pathogens[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2024, 88(2): e0002123.
- [2] JENKS JD, CORNELLY OA, CHEN SCA, THOMPSON III GR, HOENIGL M. Breakthrough invasive fungal infections: Who is at risk?[J]. Mycoses, 2020, 63(10): 1021-1032.
- [3] 廖敏, 程磊, 周学东, 任彪. 白色念珠菌对口腔黏膜疾病恶性转化作用的研究进展[J]. 华西口腔医学杂志, 2020, 38(4): 431-437.
LIAO M, CHENG L, ZHOU XD, REN B. Research progress of *Candida albicans* on malignant transformation of oral mucosal diseases[J]. West China Journal of Stomatology, 2020, 38(4): 431-437 (in Chinese).

- [4] STOOPLER ET, VILLA A, BINDAKHIL M, OJEDA DÍAZ DL, SOLLECITO TP. Common oral conditions: a review[J]. JAMA, 2024, 331(12): 1045-1054.
- [5] LEE YJ, PUUMALA E, ROBBINS N, COWEN LE. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond[J]. Chemical Reviews, 2021, 121(6): 3390-3411.
- [6] DANESHNIYA F, de ALMEIDA JN Jr, ILKIT M, LOMBARDI L, PERRY AM, GAO M, NOBILE CJ, EGGER M, PERLIN DS, ZHAI B, HOHL TM, GABALDÓN T, COLOMBO AL, HOENIGL M, ARASTEHFAR A. Worldwide emergence of fluconazole-resistant *Candida parapsilosis*: current framework and future research roadmap[J]. The Lancet Microbe, 2023, 4(6): e470-e480.
- [7] VASANTHAKUMAR T, RUBINSTEIN JL. Structure and roles of V-type ATPases[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2020, 45(4): 295-307.
- [8] EATON AF, MERKULOVA M, BROWN D. The H⁺-ATPase (V-ATPase): from proton pump to signaling complex in health and disease[J]. American Journal of Physiology Cell Physiology, 2021, 320(3): C392-C414.
- [9] YANG DQ, FENG SM, CHEN W, ZHAO HB, PAULSON C, LI YP. V-ATPase subunit ATP6AP1 (Ac45) regulates osteoclast differentiation, extracellular acidification, lysosomal trafficking, and protease exocytosis in osteoclast-mediated bone resorption[J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2012, 27(8): 1695-1707.
- [10] WANG CC, JIANG WH, LEITZ J, YANG KL, ESQUIVIES L, WANG X, SHEN XT, HELD RG, ADAMS DJ, BASTA T, HAMPTON L, JIAN RQ, JIANG LH, STOWELL MHB, BAUMEISTER W, GUO Q, BRUNGER AT. Structure and topography of the synaptic V-ATPase-synaptophysin complex[J]. Nature, 2024, 631(8022): 899-904.
- [11] SANTOS-PEREIRA C, RODRIGUES LR, CÔRTE-REAL M. Emerging insights on the role of V-ATPase in human diseases: therapeutic challenges and opportunities[J]. Medicinal Research Reviews, 2021, 41(4): 1927-1964.
- [12] LV QZ, YAN L, JIANG YY. The importance of vacuolar ion homeostasis and trafficking in hyphal development and virulence in *Candida albicans*[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 779176.
- [13] WANG LF, WU D, ROBINSON CV, WU H, FU TM. Structures of a complete human V-ATPase reveal mechanisms of its assembly[J]. Molecular Cell, 2020, 80(3): 501-511.e3.
- [14] VASANTHAKUMAR T, KEON KA, BUELER SA, JASKOLKA MC, RUBINSTEIN JL. Coordinated conformational changes in the V1 complex during V-ATPase reversible dissociation[J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2022, 29(5): 430-439.
- [15] ZHOU L, SAZANOV LA. Structure and conformational plasticity of the intact *Thermus thermophilus* V/A-type ATPase[J]. Science, 2019, 365(6455): eaaw9144.
- [16] JASKOLKA MC, WINKLEY SR, KANE PM. RAVE and rabconnectin-3 complexes as signal dependent regulators of organelle acidification[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2021, 9: 698190.
- [17] COLLINS MP, FORGAC M. Regulation and function of V-ATPases in physiology and disease[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 2020, 1862(12): 183341.
- [18] JASKOLKA MC, KANE PM. Interaction between the yeast RAVE complex and Vph1-containing V₀ sectors is a central glucose-sensitive interaction required for V-ATPase reassembly[J]. Journal of Biological Chemistry, 2020, 295(8): 2259-2269.
- [19] WANG HL, BUELER SA, RUBINSTEIN JL. Structural basis of V-ATPase V₀ region assembly by Vma12p, 21p, and 22p[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2023, 120(6): e2217181120.
- [20] ZHANG C, FENG YL, BALUTOWSKI A, MINER GE, RIVERA-KOHR DA, HRABAK MR, SULLIVAN KD, GUO AN, CALDERIN JD, FRATTI RA. The interdependent transport of yeast vacuole Ca²⁺ and H⁺ and the role of phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate[J]. Journal of Biological Chemistry, 2022, 298(12): 102672.
- [21] D'ENFERT C, KAUNE AK, ALABAN LR, CHAKRABORTY S, COLE N, DELAVY M, KOSMALA D, MARSAUX B, FRÔIS-MARTINS R, MORELLI M, ROSATI D, VALENTINE M, XIE ZX, EMRITLOLL Y, WARN PA, BEQUET F, BOUGNOUX ME, BORNES S, GRESNIGT MS, HUBE B, et al. The impact of the fungus-host-microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: current knowledge and new perspectives[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2021, 45(3): fuaa060.
- [22] 赵欣宇, 国果, 苏佩佩, 杨隆兵, 朱丽娟, 田竺青, 付萍, 彭建. 家蝇抗菌肽 AMP-17 对白色念珠菌菌丝的抑制作用[J]. 微生物学通报, 2020, 47(3): 843-851.
- [23] ZHAO XY, GUO G, SU PP, YANG LB, ZHU LJ, TIAN ZQ, FU P, PENG J. Inhibitory effect of housefly antimicrobial peptide AMP-17 on hyphae of *Candida albicans*[J]. Microbiology China, 2020, 47(3): 843-851 (in Chinese).
- [24] LIANG SH, SIRCAIK S, DAINIS J, KAKADE P, PENUMUTCHU S, McDONOUGH LD, CHEN YH, FRAZER C, SCHILLE TB, ALLERT S, ELSHAFFEE O, HÄNEL M, MOGAVERO S, VAISHNAVA S, CADWELL K, BELENKY P, PEREZ JC, HUBE B, ENE IV, BENNETT RJ. The hyphal-specific toxin candidalysin promotes fungal gut commensalism[J]. Nature, 2024, 627(8004): 620-627.
- [25] LOPES JP, LIONAKIS MS. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*[J]. Virulence, 2022, 13(1): 89-121.
- [26] DORON I, MESKO M, LI X, KUSAKABE T, LEONARDI I, SHAW DG, FIERIS WD, LIN WY, BIALT-DECHELIE M, ROMÁN E, LONGMAN RS, PLA J, WILSON PC, ILIEV ID. Mycobiota-induced IgA antibodies regulate fungal commensalism in the gut and are dysregulated in Crohn's disease[J]. Nature Microbiology, 2021, 6(12): 1493-1504.
- [27] DING XH, KAMBARA H, GUO RX, KANNEGANTI A, ACOSTA-ZALDÍVAR M, LI JJ, LIU F, BEI T, QI WJ, XIE XM, HAN WL, LIU NN, ZHANG CL, ZHANG XY, YU HB, ZHAO L, MA FX, KÖHLER JR, LUO HR. Inflammasome-mediated GSDMD activation facilitates escape of *Candida albicans* from macrophages[J]. Nature Communications, 2021, 12: 6699.

- [27] UNGER L, SKOLUDA S, BACKMAN E, AMULIC B, PONCE-GARCIA FM, ETIABA CN, YELLAGUNDA S, KRÜGER R, von BERNUTH H, BYLUND J, HUBE B, NAGLIK JR, URBAN CF. *Candida albicans* induces neutrophil extracellular traps and leucotoxic hypercitrullination via candidalysin[J]. EMBO Reports, 2023, 24(11): e57571.
- [28] LIU Y, WANG RN, LIU JC, FAN MT, YE Z, HAO YM, XIE F, WANG T, JIANG YY, LIU NN, CUI XY, LV QZ, YAN L. The vacuolar fusion regulated by HOPS complex promotes hyphal initiation and penetration in *Candida albicans*[J]. Nature Communications, 2024, 15: 4131.
- [29] du TOIT A. Hyphae promote *Candida albicans* fitness and commensalism in the gut[J]. Nature Reviews Microbiology, 2024, 22(5): 258.
- [30] FERNANDES TR, MARISCAL M, SERRANO A, SEGORBE D, FERNÁNDEZ-ACERO T, MARTÍN H, TURRÀ D, Di PIETRO A. Cytosolic pH controls fungal MAPK signaling and pathogenicity[J]. mBio, 2023, 14(2): e0028523.
- [31] CHEN H, ZHOU XD, REN B, CHENG L. The regulation of hyphae growth in *Candida albicans*[J]. Virulence, 2020, 11(1): 337-348.
- [32] ZHANG K, JIA C, YU QL, XIAO CP, DONG YJ, ZHANG M, ZHANG D, ZHAO Q, ZHANG B, LI MC. Contribution of VMA5 to vacuolar function, stress response, ion homeostasis and autophagy in *Candida albicans*[J]. Future Microbiology, 2017, 12(13): 1147-1166.
- [33] JIA C, ZHANG K, ZHANG D, YU QL, ZHAO Q, XIAO CP, DONG YJ, CHU MP, LI MC. Roles of VPH2 and VMA6 in localization of V-ATPase subunits, cell wall functions and filamentous development in *Candida albicans*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2018, 114: 1-11.
- [34] KIM SW, PARK YK, JOO YJ, CHUN YJ, HWANG JY, BAEK JH, KIM J. Subunits of the vacuolar H⁺-ATPase complex, Vma4 and Vma10, are essential for virulence and represent potential drug targets in *Candida albicans*[J]. Fungal Biology, 2019, 123(10): 709-722.
- [35] RANE HS, BERNARDO SM, RAINES SM, BINDER JL, PARRA KJ, LEE SA. *Candida albicans* VMA3 is necessary for V-ATPase assembly and function and contributes to secretion and filamentation[J]. Eukaryotic Cell, 2013, 12(10): 1369-1382.
- [36] WEISSMAN Z, SHEMER R, CONIBEAR E, KORNITZER D. An endocytic mechanism for haemoglobin-iron acquisition in *Candida albicans*[J]. Molecular Microbiology, 2008, 69(1): 201-217.
- [37] XIONG L, GUO HH, PAN JX, REN X, LEE D, CHEN L, MEI L, XIONG WC. ATP6AP2, a regulator of LRP6/ β -catenin protein trafficking, promotes Wnt/ β -catenin signaling and bone formation in a cell type dependent manner[J]. Bone Research, 2024, 12: 33.
- [38] SHI QM, XUE C, ZENG YF, YUAN X, CHU QF, JIANG SW, WANG JZ, ZHANG YQ, ZHU DH, LI LJ. Notch signaling pathway in cancer: from mechanistic insights to targeted therapies[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2024, 9: 128.
- [39] JUNG YS, STRATTON SA, LEE SH, KIM MJ, JUN S, ZHANG J, ZHENG BY, CERVANTES CL, CHA JH, BARTON MC, PARK JI. TMEM9-v-ATPase activates Wnt/ β -catenin signaling via APC lysosomal degradation for liver regeneration and tumorigenesis[J]. Hepatology, 2021, 73(2): 776-794.
- [40] RATTI E, CHOWDHURY SR, SIEFERT NS, SCHNEIDER M, WITTMANN M, HELM D, PALM W. Direct control of lysosomal catabolic activity by mTORC1 through regulation of V-ATPase assembly[J]. Nature Communications, 2022, 13: 4848.
- [41] BANERJEE S, KANE PM. Regulation of V-ATPase activity and organelle pH by phosphatidylinositol phosphate lipids[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2020, 8: 510.
- [42] MA T, TIAN X, ZHANG BD, LI MQ, WANG Y, YANG CY, WU JF, WEI XY, QU Q, YU YX, LONG ST, FENG JW, LI C, ZHANG CX, XIE CC, WU YY, XU ZN, CHEN JJ, YU Y, HUANG X, et al. Low-dose metformin targets the lysosomal AMPK pathway through PEN2[J]. Nature, 2022, 603(7899): 159-165.
- [43] MA TY, DEPREZ MA, CALLEWAERT G, WINDERICKX J. Coordinated glucose-induced Ca²⁺ and pH responses in yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Cell Calcium, 2021, 100: 102479.
- [44] ROY A, KUMAR A, BARUAH D, TAMULI R. Calcium signaling is involved in diverse cellular processes in fungi[J]. Mycology, 2021, 12(1): 10-24.
- [45] WANG R, WANG J, HASSAN A, LEE CH, XIE XS, LI XC. Molecular basis of V-ATPase inhibition by bafilomycin A1[J]. Nature Communications, 2021, 12: 1782.
- [46] LIU XC, MENG L, LI X, LI DW, LIU QL, CHEN YM, LI XW, BU WH, SUN HC. Regulation of FN1 degradation by the p62/SQSTM1-dependent autophagy-lysosome pathway in HNSCC[J]. International Journal of Oral Science, 2020, 12: 34.
- [47] BYCHKOVA S, BYCHKOV M, DORDEVIC D, VÍTEŽOVÁ M, RITTMANN SKMR, KUSHKEVYCH I. Bafilomycin A1 molecular effect on ATPase activity of subcellular fraction of human colorectal cancer and rat liver[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(3): 1657.
- [48] KEON KA, BENLEKBIR S, KIRSCH SH, MÜLLER R, RUBINSTEIN JL. Cryo-EM of the yeast V₀ complex reveals distinct binding sites for macrolide V-ATPase inhibitors[J]. ACS Chemical Biology, 2022, 17(3): 619-628.
- [49] PAINTER MM, ZIMMERMAN GE, MERLINO MS, ROBERTSON AW, TERRY VH, REN XF, McLEOD MR, GOMEZ-RODRIGUEZ L, GARCIA KA, LEONARD JA, LEOPOLD KE, NEEVEL AJ, LUBOW J, OLSON E, PIECHOCKA-TROCHA A, COLLINS DR, TRIPATHI A, RAGHAVAN M, WALKER BD, HURLEY JH, et al. Concanamycin A counteracts HIV-1 Nef to enhance immune clearance of infected primary cells by cytotoxic T lymphocytes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020, 117(38): 23835-23846.
- [50] SCHEEFF S, RIVIÈRE S, RUIZ J, ABDELRAHMAN A, SCHULZ-FINCKE AC, KÖSE M, TIBURCY F, WIECZOREK H, GÜTSCHOW M, MÜLLER CE, MENCHE D. Synthesis of novel potent archazolid: pharmacology of an emerging class of anticancer

- drugs[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2020, 63(4): 1684-1698.
- [51] LENGAUER F, GEISSLINGER F, GABRIEL A, von SCHWARZENBERG K, VOLLMAR AM, BARTEL K. A metabolic shift toward glycolysis enables cancer cells to maintain survival upon concomitant glutamine deprivation and V-ATPase inhibition[J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1124678.
- [52] KUMAR P, LEE JH, LEE J. Diverse roles of microbial indole compounds in eukaryotic systems[J]. Biological Reviews, 2021, 96(6): 2522-2545.
- [53] SARDAR A, ANSARI A, GUPTA S, SINHA S, PANDEY S, RAI D, KUMAR M, BHATTA RS, TRIVEDI R, SASHIDHARA KV. Design, synthesis and biological evaluation of new quinazolinone-benzopyran-indole hybrid compounds promoting osteogenesis through BMP2 upregulation[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2022, 244: 114813.
- [54] DE-THIER JS, PYATI P, BELL J, READSHAW JJ, BROWN AP, FITCHES EC. Heterologous production of the insecticidal pea seed albumin PA1 protein by *Pichia pastoris* and protein engineering to potentiate aphicidal activity via fusion to snowdrop lectin *Galanthus nivalis* agglutinin; GNA[J]. Microbial Cell Factories, 2023, 22(1): 157.
- [55] NIEHS SP, DOSE B, RICHTER S, PIDOT SJ, DAHSE HM, STINEAR TP, HERTWECK C. Mining symbionts of a spider-transmitted fungus illuminates uncharted biosynthetic pathways to cytotoxic benzolactones[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2020, 59(20): 7766-7771.
- [56] 钱璟, 吴哲元, 郭晓奎, 刘畅. 耐药微生物和抗生素耐药基因与全健康[J]. 微生物学通报, 2022, 49(10): 4412-4424.
- QIAN J, WU ZY, GUO XK, LIU C. Antibiotic-resistant microbes, antibiotic resistance genes and One Health[J]. Microbiology China, 2022, 49(10): 4412-4424 (in Chinese).
- [57] NING YT, DAI RC, ZHANG L, XU YC, XIAO M. Copy number variants of ERG11: mechanism of azole resistance in *Candida parapsilosis*[J]. The Lancet Microbe, 2024, 5(1): e10.
- [58] GAO Y, CAO QY, XIAO YY, WU Y, DING L, HUANG H, LI YN, YANG JP, MENG LT. The progress and future of the treatment of *Candida albicans* infections based on nanotechnology[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 568.
- [59] 蒋倩. V 型质子泵调控白色念珠菌-变异链球菌生物膜致龋性及其机制研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2022.
- JIANG Q. Vacular proton pump regulates the cariogenicity of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* biofilm[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2022 (in Chinese).
- [60] CHAN CY, PRUDOM C, RAINES SM, CHARKHZARRIN S, MELMAN SD, de HARO LP, ALLEN C, LEE SA, SKLAR LA, PARRA KJ. Inhibitors of V-ATPase proton transport reveal uncoupling functions of tether linking cytosolic and membrane domains of V_0 subunit a (Vph1p)[J]. Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(13): 10236-10250.
- [61] 刘璐. 三类重要靶标蛋白抑制剂的虚拟筛选与设计[D]. 长春: 吉林大学, 2024.
- LIU L. Inhibitors virtual screening and designing for three important target proteins[D]. Changchun: Jilin University, 2024 (in Chinese).
- [62] 吴茜洳. 靶向 MAPK1 激酶小分子抑制剂的虚拟筛选与活性评价[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2024.
- WU QR. Virtual screening and activity identification of small molecule inhibitors targeting at MAPK1 kinase[D]. Nanning: Guangxi University of Chinese Medicine, 2024 (in Chinese).