

白念珠菌*ERG3*基因功能研究

叶梓, 王瑞娜, 刘佳存, 杨诗云, 梁婵, 阎澜

Study on the functions of *ERG3* in *Candida albicans*

YE Zi, WANG Ruina, LIU Jiachen, YANG Shiyun, LIANG Chan, YAN Lan

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202505044>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

小檗碱与氟康唑合用抗氟康唑耐受白念珠菌的研究

Study on the effect of berberine combined with fluconazole on fluconazole-tolerant *Candida albicans* strains

药学实践与服务. 2025, 43(2): 87-91 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202409047

醋酸卡泊芬净单硬脂酸甘油酯纳米粒抗白色念珠菌感染的增效作用研究

Study on the synergistic antifungal effects of caspofungin acetate loaded glyceryl monostearate nanoparticle on *Candida albicans*

药学实践与服务. 2025, 43(3): 136-142, 150 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202310043

青藏高原肺结核合并念珠菌感染患者的病原菌分布特点及耐药率分析

Distribution characteristics and drug resistance rate of pathogenic bacteria in patients with pulmonary tuberculosis combined with *Candida* infection on the Tibetan plateau

药学实践与服务. 2024, 42(6): 260-262, 272 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202304014

新型Hsp90抑制剂的设计合成及其抗真菌和抗肿瘤活性研究

Design, synthesis and antifungal and antitumor activity research of novel Hsp90 inhibitors

药学实践与服务. 2025, 43(3): 124-135 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202501019

ANXA3基因及蛋白的研究进展

Research progress on ANXA3 gene and protein

药学实践与服务. 2025, 43(2): 47-50, 74 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202309023

负载骨髓间充质干细胞/白藜芦醇脂质体的水凝胶支架治疗创伤性脑损伤的研究

Hydrogel scaffolds loaded with bone marrow mesenchymal stem cells/resveratrol liposomes for traumatic brain injury treatment

药学实践与服务. 2025, 43(2): 67-74 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202406034



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

白念珠菌 *ERG3* 基因功能研究

叶 梓¹, 王瑞娜¹, 刘佳存², 杨诗沅¹, 梁 焯¹, 阎 澜¹ (1. 海军军医大学药理学系军特药研究中心/教育部真菌感染性疾病医药基础研究创新中心, 上海 200433; 2. 中国人民解放军 92880 部队医院, 浙江 舟山 316000)

[摘要] 目的 研究白念珠菌 *ERG3* 基因的生物学功能及其在抗真菌治疗中的潜在价值。方法 通过 CRISPR/Cas9 技术构建 *ERG3* 基因缺失菌, 结合气相色谱-质谱联用、微量液基稀释法、菌丝诱导和小鼠系统性感染模型等, 系统评估其甾醇代谢、药物敏感性、菌丝形成能力及致病性特征。结果 *ERG3* 基因缺失导致白念珠菌甾醇代谢紊乱, 表甾醇、14 α -甲基粪甾醇和麦角甾-7,22-二烯醇含量显著升高; *ERG3* 基因缺失菌对唑类药物及多烯类药物敏感性显著降低, 提示 *ERG3* 参与耐药性调节; *ERG3* 缺失虽抑制白念珠菌体外菌丝生长和生物被膜形成, 但在小鼠系统性真菌感染模型中未显著改变菌株致病力。结论 *ERG3* 基因是白念珠菌麦角甾醇合成通路的关键调控因子, 其缺失通过重塑甾醇代谢谱诱导多药耐药表型, 但致病性维持依赖其他代偿机制。该研究为靶向甾醇代谢的抗真菌药物研发及耐药性防控提供了关键理论依据。

[关键词] 白念珠菌; 甾醇生物合成通路; C-5 脱氢酶

[文章编号] 2097-2024(2025)09-0431-05 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202505044

Study on the functions of *ERG3* in *Candida albicans*

YE Zi¹, WANG Ruina¹, LIU Jiacun², YANG Shiyun¹, LIANG Chan¹, YAN Lan¹ (1. Military Special Drug Research Center, School of Pharmacy/Center for Basic Research and Innovation of Medicine and Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2. No.92880 Hospital of PLA, Zhoushan 316000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the biological functions of the *ERG3* gene in *Candida albicans* and its potential value in antifungal therapy. **Methods** The *ERG3* null mutant was constructed by the CRISPR/Cas9 technology. Gas chromatography-mass spectrometry, microbroth dilution method, hyphal induction and mouse systemic infection models were carried out to evaluate sterol metabolism, drug susceptibility, hyphal formation ability and pathogenicity in *C. albicans*. **Results** The disruption of the *ERG3* gene led to disordered sterol metabolism in *C. albicans* with a significant increased level of episterol, 14 α -methylfecosterol and ergosta-7,22-dienol. The *ERG3* null mutant exhibited significantly reduced susceptibility to antifungal azole and polyene drugs, which suggested that *ERG3* involve in regulating drug resistance. Although the disruption of *ERG3* inhibited hyphal growth and biofilm formation, it did not significantly alter the pathogenicity of the strain in a mouse model of systemic fungal infection. **Conclusion** The *ERG3* gene was a key regulator in the ergosterol synthesis pathway in *C. albicans*. Its deletion induced multi-drug resistance by reshaping sterol metabolism, while pathogenicity maintenance depended on compensatory mechanisms. This study provided critical insights for developing antifungal drugs targeting sterol metabolism and overcoming drug resistance.

[Key words] *Candida albicans*; sterol biosynthesis pathway; C-5 desaturase

在全球范围内, 侵袭性真菌感染的公共卫生问题日益严峻。白念珠菌(*Candida albicans*)是院内真菌感染的主要病原体之一, 在侵袭性念珠菌病中占比超过 50%^[1]。2022 年 10 月, 世界卫生组织(WHO)将白念珠菌列为威胁健康的最高等级的关

键优先级病原体之一^[2]。同时, 耐药性尤其是唑类耐药问题已成为全球重大挑战, 新型抗真菌药物及新靶点的研究显得尤为重要^[3-5]。

白念珠菌的甾醇生物合成通路通过合成麦角甾醇(ergosterol), 维持细胞膜完整性及调节膜流动性^[6,7]。该通路中 *ERG3* 基因编码的甾醇 C-5 脱氢酶(C-5 desaturase)催化甾醇前体转化为麦角甾醇合成的关键中间体, 最终合成麦角甾醇^[8], 其功能缺陷可引发甾醇代谢重编程或改变药物敏感性。本研究基于 CRISPR/Cas9 技术构建白念珠菌 *ERG3* 基因缺失菌, 通过甾醇代谢、药物敏感性、毒力和

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(82404708); 国家自然科学基金面上项目(82173867)

[作者简介] 叶 梓, 硕士研究生, 药师, 研究方向: 抗真菌新靶点发现, Email: 907808828@qq.com

[通信作者] 阎 澜, 教授, 博士生导师, 研究方向: 抗真菌药物及新靶点发现, Email: ylan20001228@sina.com

致病力等分析,旨在揭示 *ERG3* 基因缺失引发的甾醇代谢重塑规律,阐明其对唑类药物、多烯类药物敏感性、菌丝分化及致病力的调控作用,为克服真菌耐药提供潜在分子靶标。

1 仪器、材料和实验动物

1.1 仪器

气相色谱质谱联用仪(岛津 GCMS-QP2020 NX), TS-100 摇床(海门市其林贝尔仪器制造公司), TECAN 酶标分析仪(Thermo Scientific), SW-CJ-1FD 洁净工作台(苏净安泰空气技术有限公司), 96 Well Thermal Cycler PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司), EVOS 相差倒置显微镜(AMG 公司)。

1.2 材料

白念珠菌标准菌株 SC5314、质粒 pV1093 由 Aaron P. Mitchell 教授赠予;酵母浸膏、蛋白胨、胎牛血清(美国 Gibco), 酵母氮源基础(BBI), 胆固醇(Diamond); *D*-葡萄糖、酵母基因组 DNA 快速抽提试剂盒、50×TAE 缓冲液、核糖核酸酶 A 溶液购自生工生物, 石油醚(30~60℃)、环己烷、甲醇、三氯甲烷购自国药集团。

1.3 实验动物

ICR 小鼠(雌性, 6~8 周龄)购自雷根生物技术有限公司(实验动物生产许可证编号: SCXK 浙 2024-0004)。所有小鼠置于光照和黑暗 12 h 交替循环室, 室内环境为 18~25℃, 相对湿度为 30%~70%。在整个实验过程中小鼠可自由获取食物和水, 实验随机分组。所有动物实验均按照规定进行, 并均获得海军军医大学医学伦理委员会批准。

2 方法

2.1 *ERG3* 基因缺失菌的构建

使用质粒 pV1093 扩增 Cas9 片段及 sgRNA 表达片段。使用都柏林假丝酵母(*Candida dubliniensis*) *HIS1* 标记的质粒 pMH01/pMH02 构建缺失基因片段(两端包含目标基因开放阅读框上下游各 80 bp 的同源序列)。通过醋酸锂转化法将各片段导入白念珠菌 SC5314(*HIS1* 营养缺陷型)后, 采用菌落 PCR 及基因组 PCR 对阳性克隆进行验证。

2.2 甾醇提取及含量测定

过夜活化的白念珠菌在 100 ml SC 液体培养基中稀释至吸光度(A_{600})为 0.2, 30℃ 恒温摇床 200 r/min 培养 8 h。结束后离心, 弃上清液, PBS 洗 3 次后记录湿菌重量。加入 2.5 ml PBS 和 6 ml

皂化剂, 80℃ 水浴皂化 1 h, 冷却后加入 6 ml 石油醚萃取 3 次后合并萃取液, 65℃ 水浴挥干, 按每克湿菌重加 1 ml 环己烷溶解, 加入 5 μ l 4 mg/ml 胆固醇溶液作为内标, 送气相色谱-质谱联用(GC-MS)检测。

2.3 时间-生长曲线测定

过夜活化白念珠菌, 测量 A_{600} 后在 YPD 液体培养基中稀释至 A_{600} 为 0.4。稀释 1 000 倍后菌液加入 96 孔板中, 每孔 100 μ l。将 96 孔板置于酶标仪中, 设置程序参数为温度 30℃, 每间隔 1 h 测定 A_{600} 。依据测得的吸光度数据, 绘制时间-生长曲线, 依据测定 A_{600} 计算处于对数生长期的菌细胞倍增时间(TD), 计算公式为: $TD=t \times \lg 2 / \lg(N_t/N_0)$, 其中, N_t 为 t 时间的菌细胞数, N_0 为初始菌细胞数^[9]。

2.4 微量液基稀释法测定药物敏感性

将过夜培养的白念珠菌菌液离心收集, PBS 洗 3 次后用 RPMI 1640 培养基重悬, A_{600} 调至 0.4 并稀释 1 000 倍。在无菌 96 孔板第 1 列各孔中加入 100 μ l RPMI 1640 培养基。第 2 列加 200 μ l 菌液, 第 3~12 列各加 100 μ l 菌液。向第 2 列加预定浓度药物后从第 2~11 列依次倍比稀释。30℃ 培养, 于 24 h 测定各孔的 A_{600} 值, 并计算药物抑制 80% 菌株生长的最低抑菌浓度(MIC₈₀)。实验重复 3 次取平均值。

2.5 菌丝诱导

液体菌丝诱导实验: 将过夜活化的白念珠菌离心后用 PBS 洗 3 次, 测定菌液 A_{600} 。在 RPMI 1640 培养基中, 调整菌液浓度 A_{600} 为 0.4, 进一步稀释 500 倍, 在 12 孔板中每孔加入 1 ml 稀释后的菌液, 置于 37℃ 的恒温培养箱中培养 6 h, 拍照观察。

固体菌丝诱导实验: 将过夜活化的白念珠菌离心后用 PBS 洗 3 次, 测定菌液 A_{600} 。在 RPMI 1640 培养基中, 调整菌液浓度 A_{600} 为 0.1。吸取 1 μ l 菌液, 滴加在含有 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基平皿表面。待液滴挥发干后, 将平皿倒置于 37℃ 恒温培养箱中培养 5 d, 拍照观察。

2.6 生物被膜形成

将过夜活化的白念珠菌离心后用 PBS 洗 3 次, 重悬于 RPMI 1640 培养基调至 1×10^6 个/ml。在 96 孔板第 1 列加入 100 μ l RPMI 1640 培养基, 其余各孔加入 100 μ l 菌液, 37℃ 静置培养 90 min。弃培养基, PBS 洗 3 次, 每孔加入 100 μ l RPMI 1640 培养基。37℃ 继续培养 24 h。弃培养基, PBS 洗 3 次。避光加入稀释 100 倍的 CCK-8 溶液, 37℃ 避光孵育 1.5 h。每孔吸取 100 μ l 上清液至新的

96 孔板。用酶标仪测 490 nm 处 A 值并计算生物被膜生成率: 生物被膜生存率= A_{490} 实验组/ A_{490} 阳性组 $\times 100\%$ 。

2.7 真菌在小鼠体内致病力

将过夜活化的白念珠菌用 PBS 洗涤后重悬, 浓度调至 1×10^6 个/ml。每组 10 只小鼠, 每只小鼠尾静脉注射 0.2 ml 菌悬液, 连续观察 20 d, 记录其生存状况。

2.8 统计学方法

在本研究中, 所有实验数据均使用 GraphPad Prism 9.3.0 进行绘图, 使用 IBM SPSS Statistics 26.0 软件对数据进行统计分析。对于两独立样本

间的统计学差异分析, 采用 t 检验方法, 对于缺失菌生长曲线差异分析, 采用重测方差分析(Repeated Measures ANOVA), 对于小鼠生存率的统计学差异分析, 采用对数秩检验(Log-Rank)方法。以 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 构建获得 *ERG3* 基因缺失菌

本研究通过 CRISPR/Cas9 技术构建 *ERG3* 基因缺失菌, 通过基因组 PCR 验证, 菌落 4、5、6 为 *ERG3* 双等位基因缺失菌(*erg3* Δ/Δ), 如图 1 箭头所示。

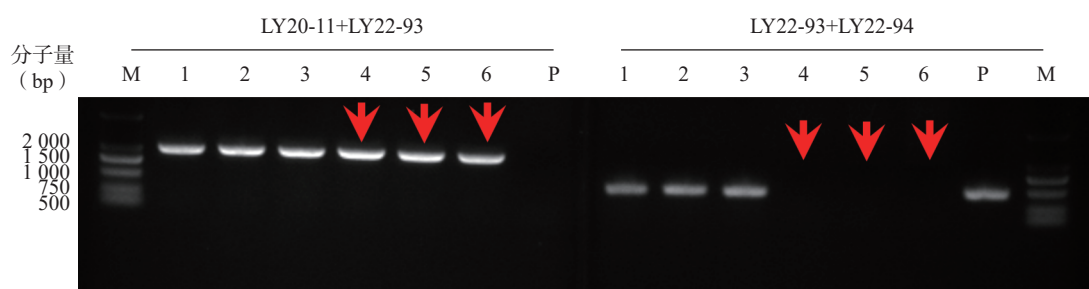


图 1 构建 *ERG3* 基因缺失菌

注: 红色箭头所指为正确菌落, M 为分子量标准, P 为亲本菌株。

3.2 *ERG3* 基因缺失菌的甾醇谱变化

在白念珠菌甾醇生物合成通路中, *ERG3* 基因编码的甾醇 C-5 脱氢酶位于该通路主路和旁路下游, 在主路和旁路中其底物分别为表甾醇(episterol)和 14 α -甲基粪甾醇(14 α -methylfecosterol), 见图 2A。本研究发现, 亲本菌 SC5314 的甾醇主要成分为麦角甾醇(占比 90.9%), 而在 *ERG3* 缺失菌中, 麦角甾醇-7,22-二烯醇(ergosta-7,22-dienol)、表甾醇、14 α -甲基粪甾醇分别占比 56.8%、24.9% 和 16.8%(图 2B)。该结果提示, 当白念珠菌 *ERG3* 基因缺失后, 麦角甾醇的合成受到显著影响, *ERG3* 编码产物 C-5 脱氢酶的底物表甾醇(占比 24.9%)和 14 α -甲基粪甾醇(占比 16.8%)都升高, 同时, 表甾醇下游因 Erg3 缺失无法正常产生麦角甾醇, 进而从旁路 Erg6 催化生成大量麦角甾醇-7,22-二烯醇(占比 56.8%), 与文献报道麦角甾醇生物合成通路的下游旁路一致, 进一步证明了此旁路的存在^[10]。

3.3 *ERG3* 基因缺失对白念珠菌生长无影响

为了研究 *ERG3* 基因对白念珠菌生长的影响, 本研究通过时间-生长曲线实验比较了 *ERG3* 缺失菌与 SC5314 的生长情况。结果显示, 野生型 SC5314 在 10~13 h 达到对数生长期, 倍增时间为 1.13 h, *ERG3* 缺失菌在 11~14 h 达到对数生长期,

倍增时间为 1.20 h, 两者没有统计学差异(图 3)。该结果提示, *ERG3* 基因缺失对白念珠菌生长没有显著影响。

3.4 *ERG3* 基因缺失菌的药物敏感性改变

甾醇生物合成通路中相关基因的缺失会影响真菌对各种抗真菌药物的敏感性。本研究通过微量液基稀释法检测发现, 氟康唑、伏立康唑、伊曲康唑、泊沙康唑对 *ERG3* 缺失菌的最低抑菌浓度(MIC₈₀)均高于 64 μ g/ml, 显著高于药物对野生型 SC5314 菌的 MIC₈₀ 值; 两性霉素 B 对 SC5314 MIC₈₀ 值为 1 μ g/ml, 对 *ERG3* 缺失菌为 2 μ g/ml; 卡泊芬净对野生菌和 *ERG3* 缺失菌的 MIC₈₀ 值一致(表 1)。该结果提示 *ERG3* 基因缺失可导致白念珠菌对唑类药物和多烯类药物的敏感性降低。

3.5 *ERG3* 缺失菌的菌丝、生物被膜形成受到抑制

本研究探究了 *ERG3* 缺失菌在液体和固体培养基中菌丝生长情况。结果显示, 在液体培养基中诱导 6 h, 野生型 SC5314 的菌丝细长且有分支, 随机测量 30 根菌丝, 其平均长度为 96 μ m, *ERG3* 缺失菌的菌丝生长严重受抑, 细胞几乎都呈现酵母态(图 4A); 在固体培养基诱导 120 h, SC5314 菌落直径为 9.1 mm, *ERG3* 缺失菌菌落四周无辐射状菌丝, 菌落直径也显著减少为 5.6 mm, 这与亲本菌

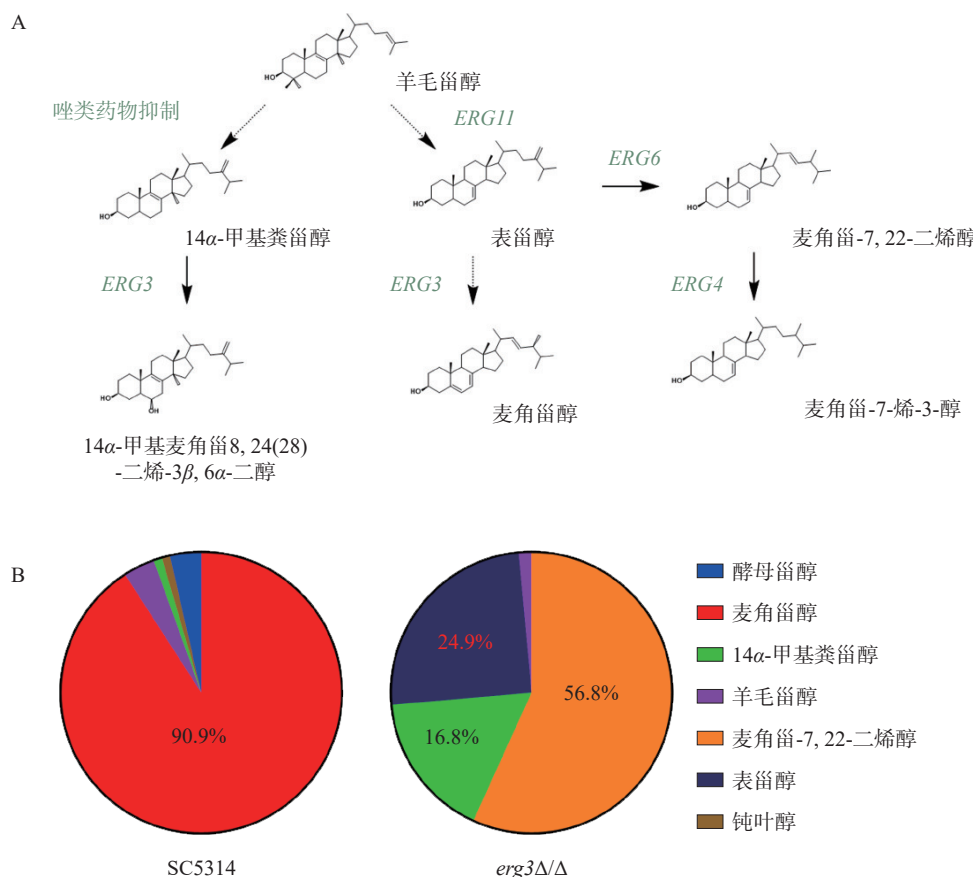


图2 *ERG3* 基因缺失菌的甾醇谱变化

A. *ERG3* 基因在白念珠菌甾醇生物合成通路中的位置^[11]。图中实线箭头表示一步反应,虚线箭头表示有多步反应;

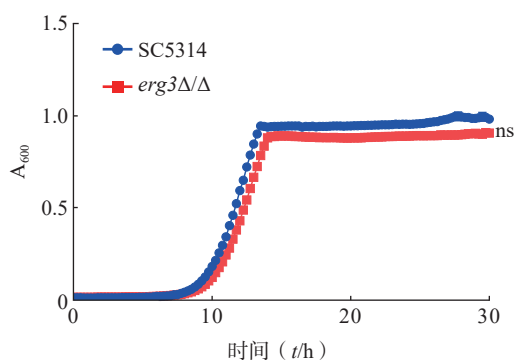
B.野生型菌 SC5314 及 *ERG3* 缺失菌中甾醇成分及比例

图3 SC5314 和 *ERG3* 缺失菌在 YPD 培养基中培养 30 h 生长情况

注: 重测方差分析 Repeated Measures ANOVA 用于统计分析。

SC5314 相比显著缺陷(图 4B)。在生物被膜形成实验中,与野生型 SC5314 相比,*ERG3* 缺失菌的生物被膜形成率为 78.2%,表明 *ERG3* 基因缺失后白念珠菌生物被膜形成受到一定程度抑制(图 4C)。以上结果表明 *ERG3* 基因缺失后,白念珠菌的菌丝生长和生物被膜形成受到了不同程度的抑制。

3.6 *ERG3* 缺失菌致病力不变

利用小鼠系统性真菌感染模型,继续探究 *ERG3* 基因缺失对白念珠菌致病力的影响。如图 5

表 1 微量液基稀释法检测 SC5314 和 *ERG3* 缺失菌对常见抗真菌药物的敏感性 (MIC₈₀, μg/ml)

抗真菌药物	SC5314	<i>erg3Δ/Δ</i>
氟康唑	0.5	>64
伏立康唑	≤0.125	>64
伊曲康唑	0.5	>64
咪康唑	≤0.125	4
泊沙康唑	≤0.125	>64
酮康唑	≤0.125	32
两性霉素B	1	2
卡泊芬净	≤0.031	≤0.031

所示,感染 *ERG3* 缺失菌的小鼠与感染 SC5314 的对照组小鼠均在第 4 天开始死亡,第 9 天全部死亡,表明 *ERG3* 基因缺失没有显著改变白念珠菌在宿主体内的致病力。

4 讨论

临床治疗侵袭性真菌感染的治疗药物主要有以下 3 类,通过特异性阻断真菌麦角甾醇生物合成途径的不同环节发挥作用:烯丙胺类(如特比奈芬)抑制 Erg1(角鲨烯单加氧酶);多烯类(如两性霉素 B)直接结合细胞膜麦角甾醇;唑类(如氟康唑)靶向

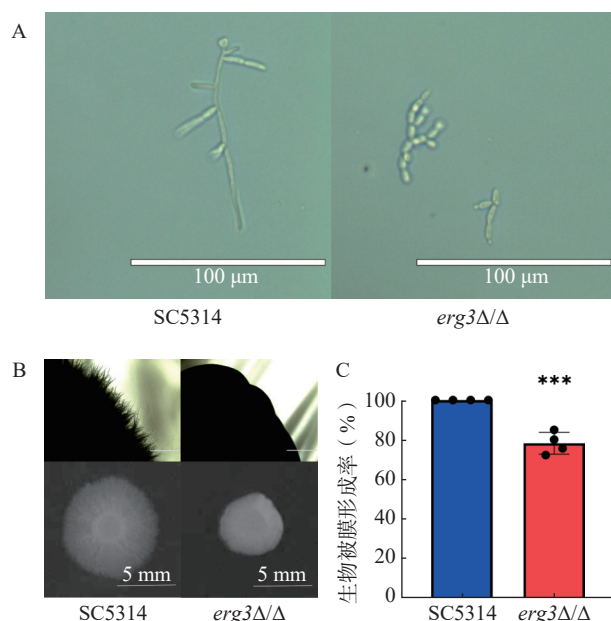


图4 SC5314 和 *ERG3* 缺失菌的菌丝形态和生物被膜形成情况

A.白念珠菌在液体 RPMI 1640 培养基 37 °C 培养 6 h, 标尺=100 μm; B.白念珠菌在固体 RPMI 1640 培养基 37 °C 培养 120 h, 标尺=1 000 mm(上), 标尺=5 mm(下); C.生物被膜形成率($n=4$, $\bar{x} \pm s$, t 检验用于数据分析)
*** $P<0.001$, 与 SC5314 组比较。

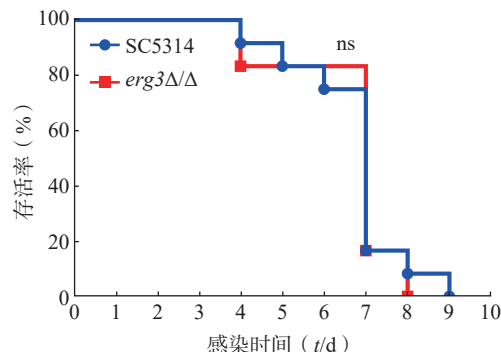


图5 系统性白念珠菌感染小鼠的存活率曲线 ($n=10$)
注: 对数秩(Mantel-Cox)检验用于统计分析。

抑制 *Erg11*(C-14 α -去甲基酶)。随着真菌耐药性问题日益严重, 研发针对麦角甾醇合成通路其他关键酶及调控机制的新药成为抗真菌药物研究的热点。本研究通过对白念珠菌甾醇合成通路 *ERG3* 基因进行敲除, 探究其对菌株甾醇代谢、生长、药物敏感性、菌丝及生物被膜形成、体内致病力的影响, 旨在为抗真菌新靶标的发现奠定基础。*ERG3* 基因的缺失并未显著影响白念珠菌的生长, 推测 *ERG3* 基因缺失后, 经下游旁路产生麦角甾-7,22-二烯醇, 减少了甾醇中间产物的积累以维持生长, 与文献报道一致^[12]。*ERG3* 基因敲除后, 降低了菌株对唑类及多烯类药物的敏感性, 推测因麦角甾醇合

成减少导致药物靶酶含量减少从而降低敏感性。同时, *ERG3* 基因缺失抑制菌丝及生物被膜形成, 但在小鼠系统性真菌感染模型中, *ERG3* 基因缺失对菌株致病力无显著影响, 有文献报道其小鼠肠道感染模型中为毒力必需基因, 推测在小鼠肠道感染模型中, *ERG3* 缺失菌菌丝形成能力减弱, 导致菌株在肠道内的定植能力、对肠道黏膜的侵袭能力以及引发炎症反应的能力下降^[13]。本研究发现 *ERG3* 基因缺失导致体外毒力减弱而体内致病力不变, 潜在机制可能是: ①*ERG3* 缺失导致表甾醇、14 α -甲基甾醇等异常甾醇富集, 虽改变膜流动性, 但可能通过膜脂质重构(如鞘脂类比例升高)维持膜功能; ②宿主体内环境下, *ERG3* 缺失菌可能通过膜重塑介导免疫逃逸; ③*ERG3* 缺失诱导抗氧化酶表达, 抵抗宿主巨噬细胞产生活性氧的攻击等等。

综上所述, 本研究为探究白念珠菌 *ERG3* 生物学功能提供实验依据。*ERG3* 是白念珠菌麦角甾醇合成通路的关键调控因子, 其缺失通过重塑甾醇代谢谱诱导多药耐药表型, 但致病性维持依赖其他代偿策略, 尚需要进一步开展机制研究。本研究为靶向甾醇代谢的抗真菌药物研发及耐药防控提供了理论依据。

【参考文献】

- [1] WISPLINGHOFF H, BISCHOFF T, TALLENT S M, et al. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24, 179 cases from a prospective nationwide surveillance study[J]. *Clin Infect Dis*, 2004, 39(3): 309-317.
- [2] World Health Organization. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action [R]. Geneva, 2022. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>.
- [3] PERLIN D S, RAUTEMAA-RICHARDSON R, ALASTRUEY-IZQUIERDO A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management[J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17(12): e383-e392.
- [4] CLANCY C J, HONG NGUYEN M. Diagnosing invasive candidiasis[J]. *J Clin Microbiol*, 2018, 56(5): e01909-17.
- [5] AL-GARAWI N A D, SUHAIL A, MERI M. Overview to candidiasis[J]. *Med Sci J Adv Res*, 2022, 3(1): 12-19.
- [6] REVIE N M, IYER K R, MAXSON M E, et al. Targeting fungal membrane homeostasis with imidazopyrazindoles impairs azole resistance and biofilm formation[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 3634.
- [7] DAUM G, WAGNER A, CZABANY T, et al. Dynamics of neutral lipid storage and mobilization in yeast[J]. *Biochimie*, 2007, 89(2): 243-248.
- [8] LV Q Z, YAN L, JIANG Y Y. The synthesis, regulation, and functions of sterols in *Candida albicans*: Well-known but still lots to learn[J]. *Virulence*, 2016, 7(6): 649-659.

(下转第 454 页)

总生物碱对 HepG2 细胞无抑制效果,证明生物碱含量的高低影响二者的抗癌活性。

莲子总提物组在浓度较高时对人肝癌细胞 HepG2 的增殖产生明显抑制,且抑制作用随浓度的提高而增强,除了生物碱类成分外,莲子与莲子心中均含有黄酮类成分^[24],推测黄酮类成分在一定浓度下也会抑制人肝癌细胞 HepG2 增殖。

本实验对比分析莲子和莲子心总生物碱类成分、含量的差异,以及两者对人肝癌细胞 HepG2 增殖的影响。其相关性分析初步揭示生物碱类成分是导致两者抗癌活性不同的关键物质基础,为阐释莲子和莲子心的性味功效提供科学依据,也为其进一步的临床应用提供参考。

【参考文献】

- [1] 刘静,陈莎,刘安. 荷叶和莲子心“同源异效”的物质基础分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(22): 131-139.
- [2] KIM N Y, YANG I J, KIM S, et al. *Lotus (Nelumbo nucifera)* seedpod extract inhibits cell proliferation and induces apoptosis in non-small cell lung cancer cells via downregulation of Ax1[J]. J Food Biochem, 2021, 45(2): e13601.
- [3] POORNIMA P, WENG C F, PADMA V V. Neferine, an alkaloid from *Lotus* seed embryo, inhibits human lung cancer cell growth by MAPK activation and cell cycle arrest[J]. Biofactors, 2014, 40(1): 121-131.
- [4] 孙婵. 莲子心化学成分及甲基莲心碱纯化工艺研究[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2016.
- [5] 吕晶,韩栋年,金磊,等. 莲子心化学成分研究[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(73): 100-101.
- [6] 赵秀玲,党亚丽. 莲子心化学成分及其提取、药理作用的研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(23): 329-336.
- [7] 岳改月,孙昭倩,王百龙,等. 海洋药材石首鱼的 TG-DSC 热分析研究[J]. 中国海洋药物, 2021, 40(1): 37-40.
- [8] 林文津,徐榕青,张亚敏,等. 正交试验法优选莲子心提取物制备工艺[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(6): 401-403.
- [9] 杨小青,宋金春,谢顺岚,等. 不同提取方法莲子心总生物碱抗氧化活性比较[J]. 中国医药导报, 2015, 12(18): 100-104.
- [10] 王征,张宁,王翠玲,等. 热者寒之细胞中药学初探[J]. 吉林中医药, 2015, 35(12): 1255-1259.
- [11] 赵文杰,范铭沁,姚方圆,等. 南葶苈子与白芥子寒热药性的细胞学方法评价[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(5): 2949-2952.
- [12] 隋峰,戴丽,李倩,等. TRPV1 通道介导的热生成是辛热(温)中药药性表征的重要模式[J]. 药学报, 2015, 50(7): 836-841.
- [13] 程薇薇,刘建利,张宁,等. 评价中药寒热药性的实验方法研究[J]. 中草药, 2010, 41(7): 1122-1126.
- [14] 冯霞,易若琨,孙鹏,等. 巴莲莲子生物碱提取物对人肝癌细胞 HepG2 的体外抗癌效果[J]. 食品科学, 2017, 38(19): 206-211.
- [15] 王晓颖,连赟芳,褚克丹,等. HPLC 测定建莲莲子心生物碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22): 117-120.
- [16] 林伟明,王子晨,吴文敬,等. 细胞学方法评价南美草药阿萨伊的寒热药性[J]. 世界中医药, 2018, 13(11): 2889-2895.
- [17] 王征,刘建利,王翠玲,等. 用两种细胞评价中药白薇寒热药性[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(4): 1383-1385.
- [18] 张宁,成程,李红民,等. 基于细胞学方法评价 5 种中药复方的寒热药性[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(3): 1081-1084.
- [19] 王亚男,窦德强. 细胞学方法评价 6 种中药的寒热药性[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(3): 558-560.
- [20] 马俊楠. 基于热分析技术的荷叶、蒲黄、藕节炒炭共性规律研究[D]. 太原: 山西中医学院, 2015.
- [21] 马俊楠,孟祥龙,薛非非,等. 热分析技术和 HPLC 法研究荷叶炒炭工艺[J]. 中成药, 2016, 38(3): 613-620.
- [22] 陈肖家,张庆文,季晖,等. 紫外分光光度法和高效液相色谱法测定淫羊藿总黄酮含量的比较研究[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(5): 625-630.
- [23] 杨超,田文月,陈国威,等. 莲子心生物碱提取分离、活性评价及制剂的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(9): 142-144.
- [24] 辛佳,孙恒,刘娟,等. 莲黄酮类化合物鉴定、功能与应用的研究进展[J]. 植物科学学报, 2023, 41(3): 400-410.

【收稿日期】 2024-07-30 【修回日期】 2024-12-04

【本文编辑】 费永和

(上接第 435 页)

- [9] F. M. 奥斯伯, R. 布伦特, R. E. 金斯顿, 等. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [10] MARTEL C M, PARKER J E, BADER O, et al. Identification and characterization of four azole-resistant *erg3* mutants of *Candida albicans*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(11): 4527-4533.
- [11] CHAU A S, GURNANI M, HAWKINSON R, et al. Inactivation of sterol Delta5, 6-desaturase attenuates virulence in *Candida albicans*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(9):

3646-3651.

- [12] LUNA-TAPIA A, WILLEMS H M E, PARKER J E, et al. Loss of Upc2p-inducible *ERG3* transcription is sufficient to confer niche-specific azole resistance without compromising *Candida albicans* pathogenicity[J]. mBio, 2018, 9(3): e00225-18.
- [13] HIRAYAMA T, MIYAZAKI T, SUMIYOSHI M, et al. *ERG3*-encoding sterol C5, 6-DESATURASE in *Candida albicans* is required for virulence in an enterically infected invasive candidiasis mouse model[J]. Pathogens, 2020, 10(1): 23.

【收稿日期】 2025-05-17 【修回日期】 2025-06-20

【本文编辑】 李睿旻