

Na⁺/K⁺对大豆种皮多糖与黏蛋白复合物及肠道菌群的影响

张宁, 张阳洋, 宗亚琴, 宋虹, 黎金鑫, 杨立娜*

(渤海大学食品科学与工程学院 辽宁锦州 121013)

摘要 目的:探究肠道内环境的 Na⁺/K⁺对大豆种皮多糖(SHP)与肠道黏液相互作用的影响及其对肠道菌群多样性的影响。方法:通过分子对接和分子动力学模拟分析 Na⁺/K⁺处理后靶标蛋白与大豆种皮多糖结合的主要作用力及复合体稳定性。借助 16S rDNA 基因组学检测 Na⁺处理后 SHP 和黏蛋白对肠道菌群 OTU 与物种丰度的影响。结果:Na⁺/K⁺处理后 SHP 与黏蛋白结合的主要作用力为氢键。二者结合 100 ns 内,复合物结构的 RMSD 值、RMSF 值、Rg 值和氢键数量波动均较小。Na⁺处理后黏蛋白二级结构 β -折叠主要以反平行式存在,而 K⁺处理后黏蛋白二级结构 β -折叠主要以平行式存在。Na⁺处理后 SHP 与黏蛋白的结合自由能【(196.7±26.7)kJ/mol】和氨基酸残基贡献数量(18.18 kJ/mol)均大于 K⁺处理【分别为(158.5±26.7)kJ/mol 和 10.63 kJ/mol】。在 Na⁺存在的情况下,肠道菌群利用 SHP 作为底物增殖 8 h 时,多样性最高达 284 个 OTU,增加了多种纤维素降解菌丰度,降低了大肠埃氏菌属-志贺氏菌属的丰度,同时双歧杆菌属和乳杆菌属的丰度也降低。结论:Na⁺处理后 SHP 和黏蛋白结合能力和稳定性较高,影响肠道菌群的多样性与丰度,对膳食纤维的肠道调节功能有潜在影响。**关键词** 分子模拟;离子;多糖;黏蛋白;肠道菌群

文章编号 1009-7848(2026)01-0047-11 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2026.01.005

在消化系统中,人体消化道黏液对食物的消化、输送以及对黏膜表面的润滑保护起着重要作用^[1]。黏液是一层由脂类、盐类^[2]和蛋白质组成的凝胶状聚合物^[3],其主要组成成分是黏蛋白^[4]。黏蛋白是一种复杂的糖蛋白^[5],具有多个串联的丝氨酸和苏氨酸重复序列的蛋白质骨架^[6],共价连接低聚糖,然而其 N 端和 C 端几乎没有糖基化,主要富含半胱氨酸^[7],并通过二硫键进一步多聚化形成聚合物^[8]。肠黏液还与肠道菌群的定植^[9]、分布与繁殖密切相关^[10],进而影响营养物质的吸收效果^[11]。

营养成分在上消化道释放^[12],然后通过黏液层扩散到肠细胞才会被人体吸收^[13]。小颗粒和可溶性水胶体都可以自由地从管腔扩散,并有可能被肠黏液层捕获^[14]。研究表明,膳食多糖在肠内的消化吸收是一个动态的过程^[15],由肠道菌、酶与肠黏液相互作用共同控制^[16]。肠道菌群将膳食多糖降解为小碎片^[17],以调节肠道黏液的黏度和通透性^[18],并促进乳酸菌^[19]、双歧杆菌等益生菌增殖^[20],而其对肠道黏液的调节作用易受肠腔因素影响^[21]。

Na⁺/K⁺是维持肠上皮细胞渗透性及内环境稳态的重要因素^[22],可能会影响黏蛋白的羧基和硫酸酯基等负电荷区^[23],甚至影响黏蛋白疏水区^[24]。然而,高钠盐和钾盐对多糖与肠黏液中黏蛋白相互作用的影响还未知。

本文借助分子对接与分子动力学方法,探究肠腔内 Na⁺/K⁺对大豆种皮多糖与黏蛋白相互作用及复合体稳定性的影响。结合 16S rDNA 基因组学分析大豆种皮多糖和黏蛋白复合物对肠道菌群多样性和丰度的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大豆种皮,山东禹王实业有限公司;菊粉,北京新营养科技有限公司;QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit, QIA-GEN 公司;酵母提取物,英国 Oxoid 公司;胰蛋白酶、胰蛋白胨、猪胃黏蛋白、L-半胱氨酸、牛磺胆酸钠,上海源叶生物有限公司;草酸铵、硫酸、氯化钾、磷酸二氢钾、氯化钠、磷酸氢二钠、乙醇等试剂均为国产分析纯级试剂。

1.2 仪器与设备

RE-3000 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;JXFM110 锤式旋风磨,浙江农业仪器公司;DHG-9055A 电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限

收稿日期:2025-01-16

基金项目:辽宁省自然科学基金博士启动项目
(2025-BS-0819)

第一作者:张宁,男,硕士生

通信作者:杨立娜 E-mail: yangln16@bhu.edu.cn

公司;PHS-3C pH计,上海雷磁仪器厂;WD800G微波炉,广州格兰仕微波炉电器有限公司;THZ-D台式恒温振荡器,江苏太仓市实验设备厂。

1.3 分子对接

采用 AutoDock Vina 程序进行分子对接。靶标黏蛋白的结构来源于晶体结构数据库(PDB ID:6TM2),大豆种皮多糖(Soy hull polysaccharide, SHP)的分子结构由 ChemDraw 构建。大豆种皮多糖与黏蛋白的分子结构均通过 AutoDock-Tools 加 Gasteiger-Hückler 经验电荷、合并非极性氢,设置可旋转键。再通过 AutoDock Vina 程序分别在黏蛋白活性位点设置 $100 \text{ \AA} \times 100 \text{ \AA} \times 100 \text{ \AA}$ 的对接正方盒子,在正方盒子中对大豆种皮多糖分子进行构象搜索和能量优化,选择能量最低的构象作为大豆种皮多糖与黏蛋白最佳结合构象后计算终止。

1.4 分子动力学

采用 Amber18 程序进行平衡态分子动力学模拟。使用 Gaussian09 软件,对大豆种皮多糖分子进行结构优化并拟合大豆种皮多糖分子的原子电荷分布。分别选择 GAFF 力场和 FF14SB 力场描述大豆种皮多糖和黏蛋白的结构,将大豆种皮多糖-黏蛋白复合结构(由分子对接获得)浸入充满 TIP3P 水的八面体周期边界溶剂盒子中,添加 Na^+ 或 K^+ 使系统净电荷为 0,设置复合物表面到盒子的最小距离为 10 \AA 。随后开展 200 ps 的分子动力学模拟对体系进行升温。从 0 K 逐步加热到 298 K,额外进行 500 ps 的分子动力学模拟将系统稳定在 298 K 以平衡其体积,最后进行总计 100 ns 的分子动力学模拟。

1.4.1 轨迹分析 使用 AmberTools18 程序包中的 Cpptraj 模块开展轨迹分析,主要包括:整个轨迹的均方根偏移(Root mean square deviation, RMSD)、均方根波动(Root mean square fluctuation, RMSF)、回转半径(Radius of gyration, Rg),以及重要轨迹的氢键、蛋白质二级结构分析。

1.4.2 结合自由能计算 选择 MM/GBSA 方法计算复合物的结合自由能,评价大豆种皮多糖分子与靶标蛋白的结合能力。计算公式如下:

$$\begin{aligned} \Delta G_{\text{binding}} &= G_{\text{complex}} - (G_{\text{protein}} + G_{\text{ligand}}) \\ &= \Delta E_{\text{MM}} + \Delta G_{\text{solvation}} - T\Delta S \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &= \Delta E_{\text{MM}} + \Delta G_{\text{CB}} + \Delta G_{\text{SA}} - T\Delta S \\ &= \Delta E_{\text{vdw}} + \Delta E_{\text{ele}} + \Delta G_{\text{CB}} + \Delta G_{\text{SA}} - T\Delta S \end{aligned} \quad (1)$$

式中: $\Delta G_{\text{binding}}$ 为溶液中大豆种皮多糖分子与靶标蛋白的结合自由能; ΔE_{MM} 为真空气相中结合过程的分子力学项,包括范德华力贡献(ΔE_{vdw})和静电相互作用(ΔE_{ele}); ΔG_{CB} 为溶剂化自由能的极性溶剂贡献; ΔG_{SA} 为溶剂化自由能的非极性贡献; $-T\Delta S$ 为溶剂中结合过程的构象熵效应。大于 -0.2 kcal/mol (-0.84 kJ/mol) 的残基判定为对小分子结合有贡献。

1.5 大豆种皮多糖的制备

将大豆种皮粉碎过 60 目筛,按 1:10 料液比加入 1%乙醇,室温搅拌 30 min 后过滤,将滤渣 $65 \text{ }^\circ\text{C}$ 干燥。按 1:20 料液比加入干燥后的滤渣和 0.6 g/100 mL 的草酸铵溶液, $85 \text{ }^\circ\text{C}$, 480 W 条件下微波 35 min,冷却至室温后过滤,将滤液在 3500 r/min 离心 15 min,浓缩至原体积的 1/3,加入 2 倍体积的无水乙醇并不断搅拌。室温下静置 12 h,200 目纱布过滤, $65 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘干,粉碎,即得到大豆种皮多糖(Soy hull polysaccharide, SHP)。

1.6 肠道菌群的提取

取 2 g 3 名健康成年志愿者的粪便(至少近 3 个月未接受抗生素治疗)于 50 mL 离心管中,加入 20 mL PBS,涡旋振荡混匀,制成终质量浓度为 10 g/100 mL 的粪便浆液^[25]。

1.7 体外消化

模拟肠液基本组成:酵母提取物(2.25 g/L),蛋白胨(0.75 g/L),NaCl(12.5 g/L),牛磺胆酸钠(1.6 g/L),胰酶(0.9 g/L),黏蛋白(3 g/L)和 L-半胱氨酸(0.37 g/L),调节 pH 值至 7.0 ^[26]。将 1 g/100 mL SHP、 1 g/100 mL 粪便浆液和 1.5 g/100 mL 的 NaCl 溶液加入到模拟肠液中,置于厌氧培养箱中 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养,分别取培养 0, 4, 8, 12 h 的肠道菌群进行检测。

1.8 肠道菌群 16S rDNA V3-V4 区高通量测序及信息学分析

利用 QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit 试剂盒提取肠道菌群 DNA,以细菌总 DNA 为模板,用 V3-V4 区通用引物 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3');805R(5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')扩增。委托上海生工生物工程股份有

限公司完成 PCR 扩增、测序文库制备及测序工作。为获得样品物种多样性信息,使用 Usearch 软件对序列进行聚类。在 97%相似水平,将序列聚类为不同的操作分类单元(Operational taxonomic units, OTU),获取代表性序列,利用 RDP classifier 进行物种注释,并进行功能预测。

1.9 统计分析

采用 OriginPro 9.1 软件作图,IBM SPSS Statistics 19.0 软件进行 Anova 单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为显著性检验标准。

2 结果与分析

2.1 Na⁺和 K⁺处理后大豆种皮多糖与黏蛋白的分子对接

Na⁺处理后 SHP 的 RGI 区域主要结合于黏蛋白的 PRO400、GLY402、SER403、LEU542、ILE544、GLU545 和 ASN548 区域,如图 1 所示,主要作用力为氢键,其次为范德华力。K⁺处理后 SHP 主要结合于黏蛋白的 SER403、LYS524、LEU542、ASN543 区域,主要作用力为氢键,其次为范德华力。Na⁺处理后多糖与黏蛋白的氢键强度大于 K⁺。

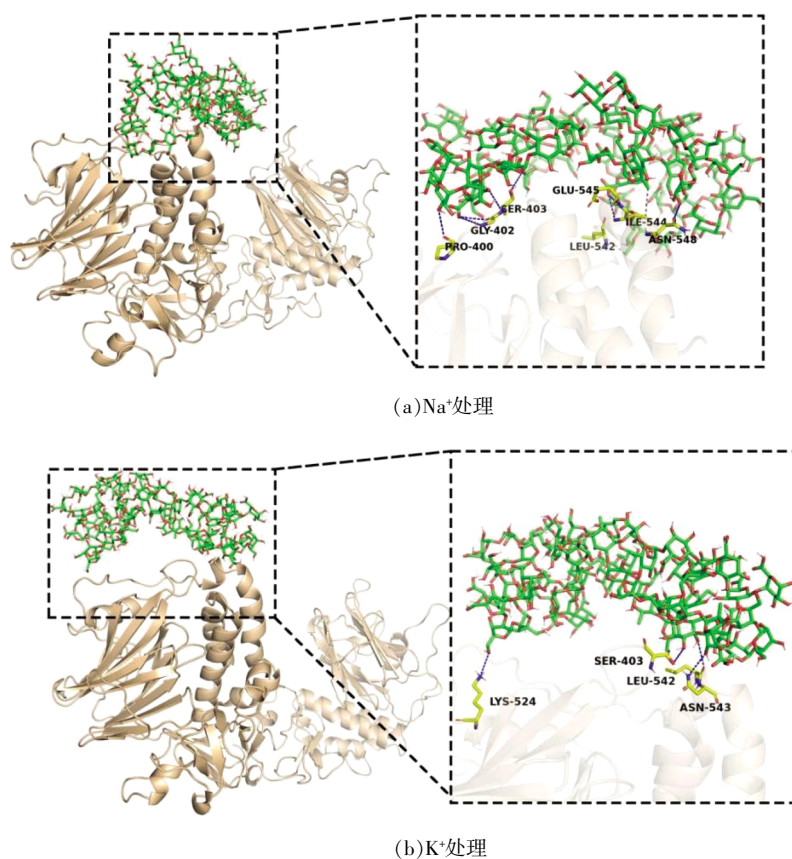


图 1 Na⁺和 K⁺处理后大豆种皮多糖-黏蛋白的对接体及作用位点

Fig.1 Docking complex and binding sites between soy hull polysaccharides and mucin after Na⁺ and K⁺ treatment

2.2 K⁺和 Na⁺处理后大豆种皮多糖与黏蛋白复合结构的分子动力学模拟

2.2.1 RMSD 值 RMSD 用于评估模拟过程中分子结构与初始结构的偏差^[27],高 RMSD 值反映复合物结构不稳定^[28]。如图 2 所示,在 0~100 ns 之间,Na⁺和 K⁺处理后黏蛋白结合口袋的 RMSD 值均在 1~3 Å 之间波动,表明结构十分稳定。Na⁺处

理后 SHP 分子和复合物结构的 RMSD 值在 0~100 ns 之间呈缓慢增加的趋势;K⁺处理后 SHP 分子和复合物结构的 RMSD 值在前 20 ns 时,呈上升的趋势,在 20~100 ns 后缓慢增加。而 SHP 分子和复合物结构的 RMSD 值均在小范围波动,始终保持在 0~15 Å 之间,表明 SHP 分子和复合物结构只是发生了轻微的变化,相对完整,RMSD 的平衡状

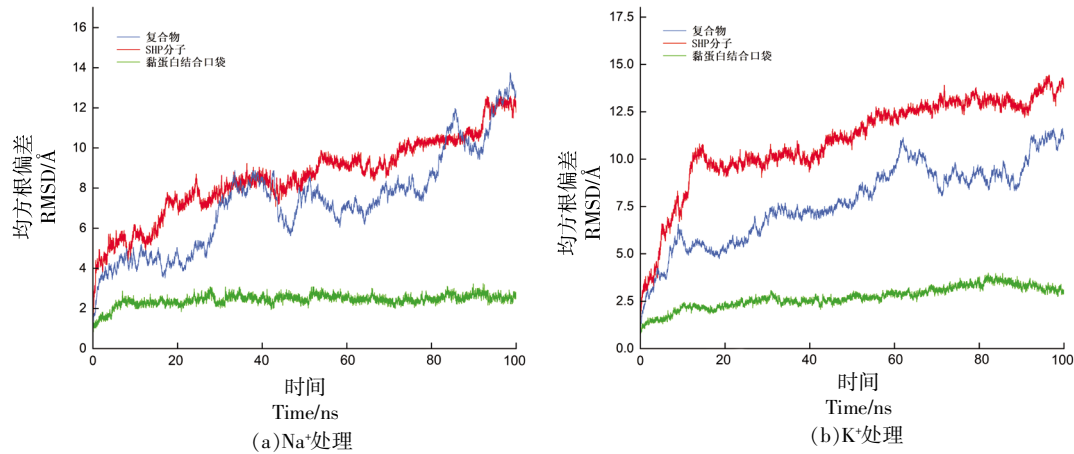


图2 Na⁺和K⁺处理后黏蛋白活性中心、大豆种皮多糖分子、复合物结构的RMSD值

Fig.2 RMSD values of the mucin active site, soy hull polysaccharide molecules, and the complex structure after Na⁺ and K⁺ treatment

态表明该体系的结合强度良好,Na⁺和K⁺未对复合物稳定性产生明显影响。

2.2.2 RMSF 值 RMSF表示在模拟过程中每个原子相对于其平均位置的涨落,它表征了分子结合区域的柔性和稳定性,RMSF值越大表示该区

域的柔性越高^[29]。由图3可以看出,Na⁺处理后SHP分子与黏蛋白作用的关键残基的RMSF值低于9 Å,K⁺处理后SHP分子与黏蛋白作用的关键残基的RMSF值低于8 Å。Na⁺和K⁺未对复合物空间结构产生明显影响。

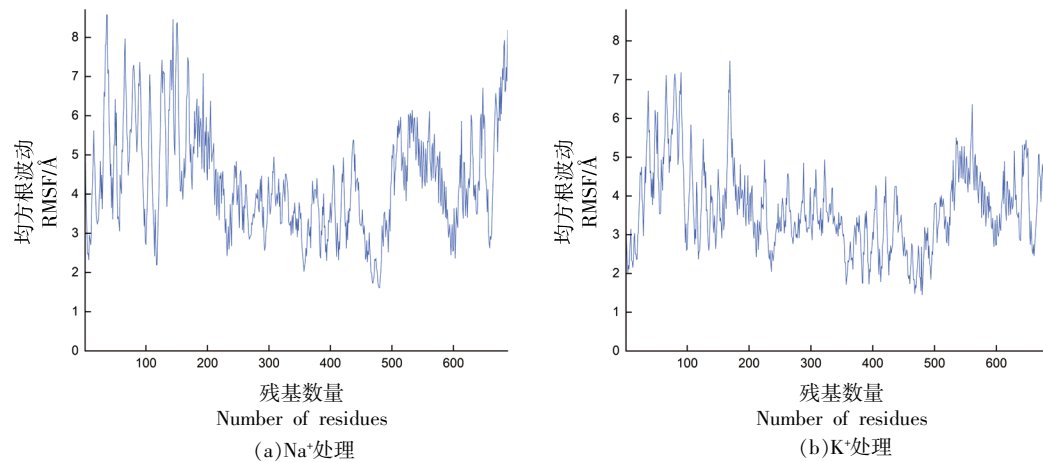


图3 Na⁺和K⁺处理后黏蛋白关键残基的RMSF值

Fig.3 RMSF values for critical mucin residues after Na⁺ and K⁺ treatment

2.2.3 R_g 值 R_g表示在模拟过程中分子结构的紧密性,R_g值越大结构越松散^[30]。由图4可以看出,在0~100 ns过程中,Na⁺处理后SHP和黏蛋白复合物结构R_g值波动下降,结构越紧密;K⁺处理后SHP和黏蛋白复合物结构R_g值波动上升,结构越松散。相较而言,Na⁺处理后SHP和黏蛋白复合物结构的稳定性稍高一些。

2.2.4 氢键 氢键作为多糖和黏蛋白主要作用力,其数量变化如图5所示,在Na⁺和K⁺处理后SHP和黏蛋白作为溶质所产生的氢键分别为402和398个,溶质和溶剂水之间产生的氢键分别为934和1110个,水桥间氢键分别为121和139个。在0~100 ns内只有溶质间氢键数量出现了轻微波动,说明Na⁺和K⁺对SHP和黏蛋白复合物体

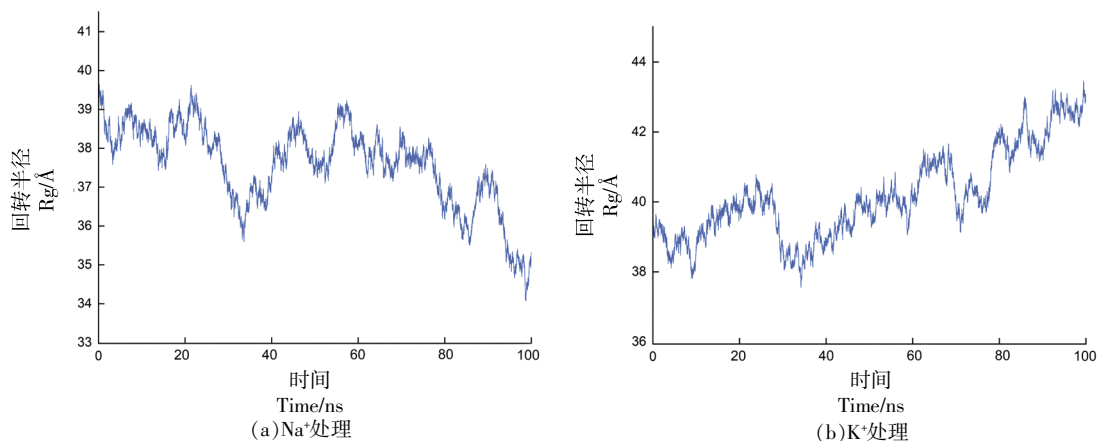


图 4 Na⁺和 K⁺处理后 SHP 和黏蛋白复合物结构的 Rg 值

Fig.4 Radius of gyration (Rg) values of the complex structure between SHP and mucin after Na⁺ and K⁺ treatment

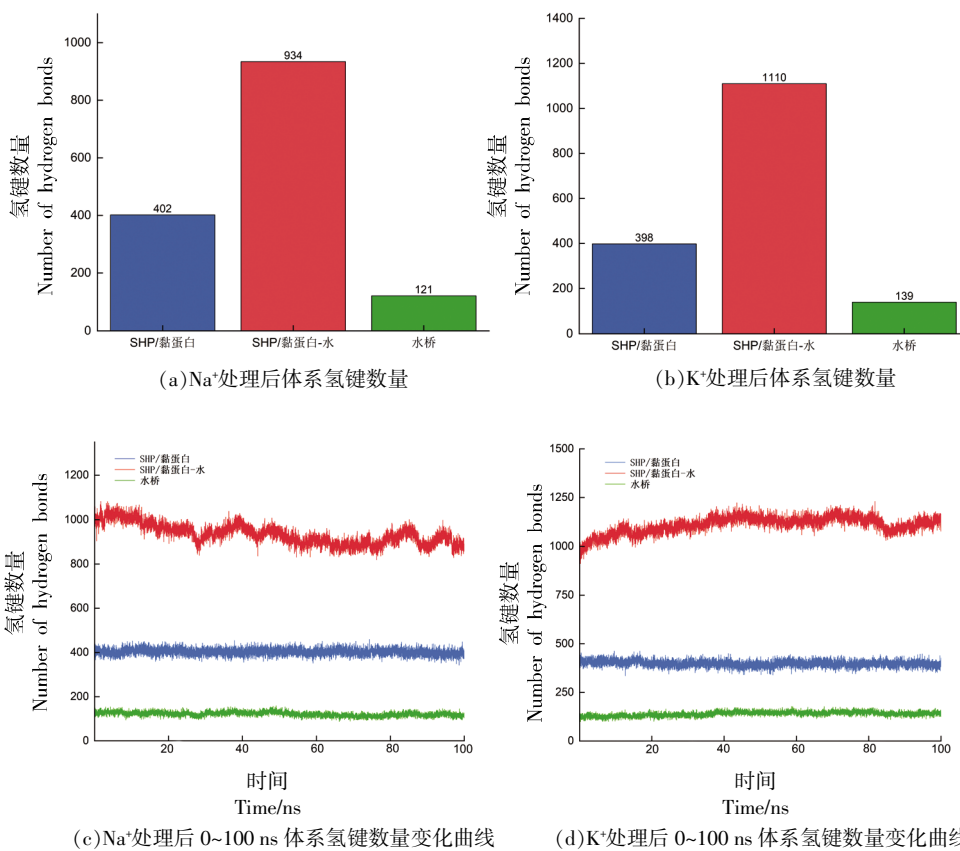


图 5 Na⁺和 K⁺处理后 SHP 和黏蛋白体系氢键变化

Fig.5 Variations in hydrogen bonds within the SHP and mucin system after Na⁺ and K⁺ treatment

系的结构稳定性影响没有区别。

2.2.5 黏蛋白二级结构 蛋白质二级结构种类主要包括 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角等,除此之外还含有 S 弯、 π 螺旋、 3_{10} 螺旋等类型^[31-32]。蛋白质各二

级结构类型也主要通过骨架上的羰基和酰胺基团之间形成的氢键维持^[33]。如图 6 所示,Na⁺处理后复合物中黏蛋白二级结构 β -折叠主要以反平行式存在,而 K⁺处理后复合物中黏蛋白二级结构 β -折

叠主要以平行式存在。有研究报道反平行式结构更为稳定^[34]。S弯、 β -转角、 π 螺旋、 α -螺旋、 3_{10} 螺旋

没有显著变化。 Na^+ 处理后多糖和黏蛋白复合物的稳定性更高。

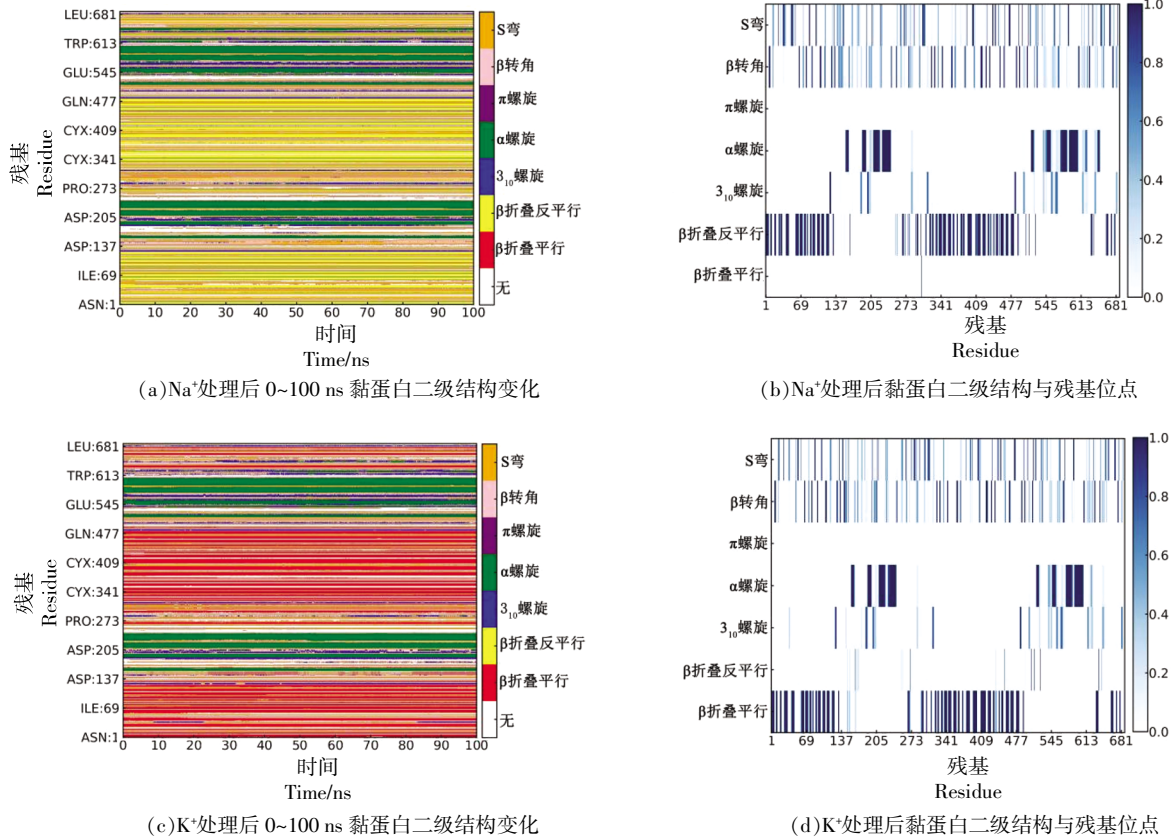


图 6 K^+ 和 Na^+ 处理后 100 ns 过程中黏蛋白二级结构变化及残基位点

Fig.6 Secondary structural changes and residue sites of mucin during 100 ns after K^+ and Na^+ treatment

2.2.6 结合能 为了进一步确定分子模拟过程中复合物的构象变化, 计算了 Na^+ 和 K^+ 处理后 SHP 和黏蛋白的结合自由能。如表 1 所示, 100 ns 的模拟过程中, Na^+ 处理后 SHP 和黏蛋白结合的范德华力、 ΔG_{GB} 、 ΔG_{SA} 和 $\Delta G_{\text{binding}}$ 的绝对值均大于 K^+ 处理

后 SHP 和黏蛋白的各项结合能。有研究表明, 结合自由能越大, 分子间亲和力越强, 集合越紧密^[35-36]。 Na^+ 处理后 SHP 和黏蛋白复合物的亲和力大于 K^+ 处理后 SHP 和黏蛋白的亲和力。

表 1 Na^+ 和 K^+ 处理后 SHP 分子与黏蛋白的结合自由能

Table 1 Binding free energy for the SHP-mucin complex after Na^+ and K^+ treatment

类型	$\Delta E_{\text{vdw}}/(\text{kJ/mol})$	$\Delta G_{\text{GB}}/(\text{kJ/mol})$	$\Delta G_{\text{SA}}/(\text{kJ/mol})$	$\Delta G_{\text{binding}}/(\text{kJ/mol})$
Na^+	-274.3 ± 36.9	107.3 ± 18.3	-29.7 ± 4.1	-196.7 ± 26.7
K^+	-236.3 ± 37.9	106.3 ± 18.6	-28.5 ± 4.4	-158.5 ± 26.7

不同类型结合能的黏蛋白关键氨基酸残基主要贡献度如表 2 所示。 Na^+ 处理后共有 13 个氨基酸残基做主要贡献, ILE544、GLU545、SER403 和 GLN588 居前 4 位, $|\Delta G_{\text{binding}}| > 1$ kJ/mol。 K^+ 处理后共

有 11 个氨基酸残基做主要贡献, LEU542、ILE544、TRP535、LEU533 居前 4 位, $|\Delta G_{\text{binding}}| > 1$ kJ/mol。

表 2 Na⁺和 K⁺处理后黏蛋白关键残基对 SHP 分子结合自由能的贡献Table 2 Contribution of critical mucin residues to SHP binding free energy after Na⁺/K⁺ treatment

类型	氨基酸残基	位点	$\Delta E_{vdw}/(\text{kJ/mol})$	$\Delta G_{\text{CH}}/(\text{kJ/mol})$	$\Delta G_{\text{SA}}/(\text{kJ/mol})$	$\Delta G_{\text{binding}}/(\text{kJ/mol})$
Na ⁺	PRO	400	-2.30	1.46	-0.33	-1.17
	CYX	401	-5.56	4.35	-0.84	-2.09
	SER	403	-15.40	12.34	-2.38	-5.45
	THR	404	-3.10	1.80	-0.21	-1.51
	LEU	542	-4.14	1.92	-0.63	-2.85
	ILE	544	-18.95	4.02	-3.26	-18.18
	GLU	545	-19.83	17.99	-2.93	-4.73
	SER	546	-1.80	-0.04	-0.00	-1.84
	ALA	547	-1.51	0.46	-0.08	-1.13
	ASN	548	-8.33	7.50	-1.46	-2.28
	TYR	549	-2.43	0.71	-0.17	-1.89
	GLN	588	-15.82	13.72	-2.13	-4.23
	ASN	589	-7.41	4.44	-1.17	-4.14
	K ⁺	SER	403	-9.58	9.99	-1.51
THR		404	-8.96	8.75	-1.26	-1.46
HIE		530	-14.56	15.27	-2.80	-2.09
LEU		533	-4.39	0.46	-0.96	-4.89
TRP		535	-7.11	3.10	-1.46	-5.48
LEU		542	-16.07	7.95	-2.51	-10.63
ASN		543	-6.40	4.98	-0.42	-1.84
ILE		544	-7.11	0.75	-1.05	-7.41
GLU		545	-9.33	7.66	7.66	7.66
SER		546	-0.67	-0.21	-0.00	-0.88
GLN	588	-4.73	3.77	-0.92	-1.88	

2.3 Na⁺处理后肠道菌群的多样性

由于 Na⁺处理后 SHP 和黏蛋白结合能力和稳定性较高,进一步探究了肠道菌群在 Na⁺存在的情况下利用 SHP 作为底物增殖时的多样性变化。如图 7 所示,0,4,8,12 h 肠道菌群的 OTU 分别为 258,252,284,240,在 8 h 时多样性最高。4 组共有 155 个 OTU,特有 OTU 分别为 43,26,31,21 个。从门水平分类来看,随着培养时间的延长拟杆菌门丰度呈上升趋势,变形菌门和放线菌门丰度呈下降趋势,厚壁菌门丰度没有明显变化。Wu 等^[37]研究发现辣椒红色素通过调节肠道菌群(增加拟杆菌门、双歧杆菌门和嗜黏蛋白阿克曼氏菌),能够显著减轻肥胖小鼠体质量并改善代谢健康。因此,Na⁺处理后 SHP 和黏蛋白结合物导致肠道菌群增殖,可能是由于底物中含有 SHP 和黏蛋白,促进了拟杆菌门增殖,导致 F/B 逐渐降低,有助于促进机体减少热量摄入和脂肪沉积。从属水平可以

发现,参与膳食纤维降解的拟杆菌属、瘤胃球菌属、副拟杆菌属的丰度均增加,具有抗炎作用的罗氏菌属丰度也出现上升,可能是因为 SHP 起到促进作用。肠道致病菌大肠埃氏菌属-志贺氏菌属丰度明显降低,而肠道益生菌双歧杆菌属、乳杆菌属的含量也有所降低。团队之前的研究发现微波辅助草酸提取的大豆种皮多糖可以促进拟杆菌门增加,对双歧杆菌和乳酸菌的生长具有促进作用^[38-39]。可能是因为 Na⁺抑制了肠道致病菌的增殖,同时也抑制了益生菌的增殖。

3 结论

本文以大豆种皮多糖与肠道黏液相互作用及肠道菌群多样性为研究对象,通过分子对接、分子动力学模拟和 16S rDNA 基因组学技术,探究肠道内环境 Na⁺/K⁺对大豆种皮多糖与黏蛋白相互作用及对肠道菌群多样性的影响。分子对接结果表

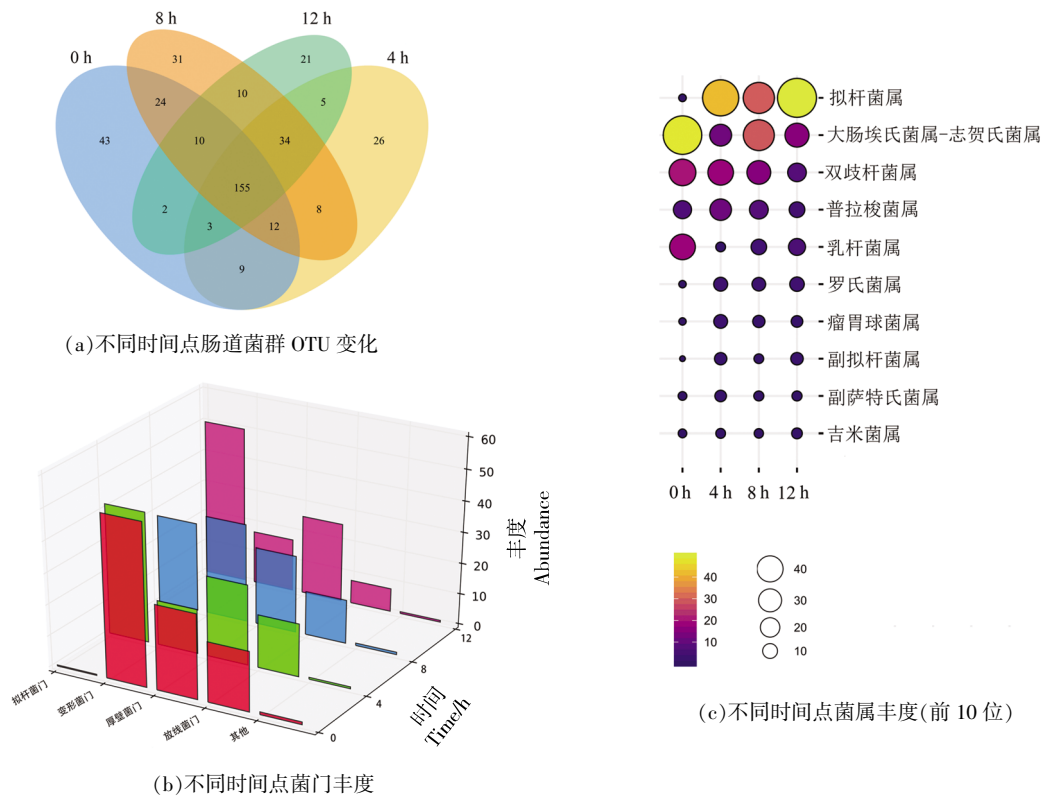


图 7 Na^+ 处理后 SHP 和黏蛋白对肠道菌群 OTU 与物种丰度变化的影响

Fig.7 Impact of SHP and mucin on gut microbiota OTUs and species abundance after Na^+ treatment

明: Na^+/K^+ 处理后,大豆种皮多糖与黏蛋白之间主要靠氢键相互连接。分子动力学模拟结果显示,在 100 ns 结合时间内,大豆种皮多糖-黏蛋白结合物结构的 RMSD 值、RSMF 值、 R_g 值和氢键数量仅出现小幅波动,表明结合物在结合时间内具有较高的结构稳定性和动态平衡。经过 Na^+ 处理后,黏蛋白的二级结构特征 β -折叠主要呈反平行构象;相比之下, K^+ 处理则导致黏蛋白的二级结构中 β -折叠主要以平行构象为主。且 Na^+ 处理后大豆种皮多糖与黏蛋白的结合自由能和氨基酸残基贡献数量均大于 K^+ 处理,进一步说明经过 Na^+/K^+ 处理后结合物的高稳定性,同时,也证明 Na^+ 处理形成了更稳定的结合物。最后,通过 16S rDNA 基因组学分析得出:在 Na^+ 环境条件下,肠道菌群以大豆种皮多糖为底物进行 8 h 增殖时,其多样性达到峰值(284 个 OTU),此过程中观察到多种纤维素降解菌的丰度显著增加,而大肠埃氏菌属-志贺氏菌属的丰度有所下降。同时,双歧杆菌属与乳杆菌属的丰度亦呈现降低趋势。综上, Na^+ 处理对大豆种

皮多糖与黏蛋白的结合特性及稳定性展现出显著的增强效应,并有效调控了肠道菌群的多样性与各类菌群的丰度分布,进而可能对膳食纤维的肠道调节功能产生潜在影响。

参 考 文 献

- [1] 周丁华,黎介寿,李宁,等. 人体消化道黏液流变学性能的研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2004(1): 72-73.
ZHOU D H, LI J S, LI N, et al. Study on viscosity property of gastrointestinal mucus[J]. Journal of Biomedical Engineering, 2004(1): 72-73.
- [2] 郭勋平. 槲皮素对气道黏液高分泌的作用及其机制研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2022.
WU X P. The effect and mechanism of quercetin on airway mucus hypersecretion [D]. Guiyang: Guizhou University, 2022.
- [3] 王华伟,赵浩天,蒋小芝,等. 肠黏液层构成及其与相关疾病关系[J]. 肠外与肠内营养, 2019, 26(1):

- 61-64.
- WANG H W, ZHAO H T, JIANG X Z, et al. The composition of intestinal mucous layer and its relationship with associated diseases [J]. *Parenteral & Enteral Nutrition*, 2019, 26(1): 61-64.
- [4] 韩凯宁. 大豆 7S 蛋白调控胃肠道功能的机制研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- HAN K N. The mechanisms of soybean 7S protein on gastrointestinal function regulation [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2021.
- [5] 张帅, 高媛, 杨杨, 等. 多糖的生物活性及其对胃肠道功能的影响 [J]. *中国食品学报*, 2024, 24(10): 438-448.
- ZHANG S, GAO Y, YANG Y, et al. Biological activity of polysaccharides and their effects on gastrointestinal function [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2024, 24(10): 438-448.
- [6] WANGER C E, WHEELER K M, RIBBECK K. Mucins and their role in shaping the functions of mucus barriers [J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2018, 34(1): 189-215.
- [7] BELL S L, XU G, KHATRI I A, et al. N-linked oligosaccharides play a role in disulphide-dependent dimerization of intestinal mucin Muc2 [J]. *Biochemical Journal*, 2003, 373(3): 893-900.
- [8] LIU L, TIAN C L, DONG B Q, et al. Models to evaluate the barrier properties of mucus during drug diffusion [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2021, 599: 120415.
- [9] 杨鑫. 山羊 *Akkermansia muciniphila* 的分离鉴定及其对肠道免疫的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2022.
- YANG X. Isolation and identification of *Akkermansia muciniphila* from goats and its effect on intestinal immunity [D]. Chongqing: Southwest University, 2022.
- [10] ZHANG Q P, WU Y Q, WANG J, et al. Accelerated dysbiosis of gut microbiota during aggravation of DSS-induced colitis by a butyrate-producing bacterium [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 27572.
- [11] 王增博, 刘铭洋, 刘飞, 等. 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对免疫抑制小鼠免疫功能及肠道菌群的影响 [J]. *食品科学*, 2024, 45(15): 103-111.
- WANG Z B, LIU M Y, LIU F, et al. Effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* XLTG11 on immune function and intestinal flora in cyclophosphamide-immunosuppressed mice [J]. *Food Science*, 2024, 45(15): 103-111.
- [12] 龙振昼, 聂青和. 潘氏细胞及其抗微生物肽与肠道黏膜免疫 [J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(3): 209-219.
- LONG Z Z, NIE Q H. Paneth cells and their antimicrobial peptides in intestinal mucosal immunity [J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2017, 25(3): 209-219.
- [13] JOHANSSON M E V, SJOVALL H, HANSSON G C. The gastrointestinal mucus system in health and disease [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2013, 10(6): 352-361.
- [14] LAI S K, WANG Y Y, HANES J. Mucus-penetrating nanoparticles for drug and gene delivery to mucosal tissues [J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2009, 61(2): 158-171.
- [15] 欧阳冬梅. 不同脱乙酰度魔芋葡甘聚糖的体外发酵代谢特性及对肠道菌群的影响 [D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
- OUYANG D M. *In vitro* metabolic characteristics of konjac glucomannan with different degrees of deacetylation and its effect on gut microbiota [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020.
- [16] YOSHIDA T, LAI T C, KWON G S, et al. pH- and ion-sensitive polymers for drug delivery [J]. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2013, 10(11): 1497-1513.
- [17] WARDMAN J F, BAINS R K, RAHFELD P, et al. Carbohydrate-active enzymes (CAZymes) in the gut microbiome [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2022, 20(9): 542-556.
- [18] BANSAL T, ALANIZ R C, WOOD T K, et al. The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107(1): 228-233.
- [19] SUCHODOLSKI J S. Intestinal microbiota of dogs and cats: A bigger world than we thought [J]. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 2011, 41(2): 261-272.
- [20] 张冠亚. 铁皮石斛多糖在模拟消化、酵解体系中的代谢特点及其改善肠道功能的研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2015.
- ZHANG G Y. Research on metabolic characteristics of *Dendrobium officinale* polysaccharides in simulat-

- ing digestion and fermentation system and its effect on the improvement of intestinal function[D]. Nanchang: Nanchang University, 2015.
- [21] 冯广鑫. 小麦醇溶蛋白肽的聚集行为及小肠黏液渗透性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2023.
- FENG G X. Study on the aggregation behavior and small intestinal mucus permeability of gliadin peptides[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2023.
- [22] 何继德, 高仁元, 孔程, 等. 肠道微生态促进肠道营养素吸收分子机制及临床意义[J]. 肠外与肠内营养, 2019, 26(3): 129-133.
- HE J D, GAO R Y, KONG C, et al. Molecular mechanisms and clinical implications of intestinal microbiota in promoting nutrient absorption[J]. Parenteral & Enteral Nutrition, 2019, 26(3): 129-133.
- [23] WANG L W, ZHOU Y R, WU M L, et al. Functional nanocarrier for drug and gene delivery via local administration in mucosal tissues [J]. Nanomedicine, 2018, 13(1): 69-88.
- [24] COLES J M, CHANG D P, ZAUSCHER S. Molecular mechanisms of aqueous boundary lubrication by mucinous glycoproteins[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2010, 15(6): 406-416.
- [25] 钱浩, 杨振亚, 刘丹丹, 等. 人肠道菌群对松果菊苷体外代谢转化的研究[J]. 华西药理学杂志, 2017, 32(6): 641-643.
- QIAN H, YANG Z Y, LIU D D, et al. Study on the metabolism of echinacoside by human intestinal bacteria *in vitro*[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017, 32(6): 641-643.
- [26] 张入玉, 易英如, 赵吉春, 等. 膳食纤维微胶囊在益生菌包埋中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(23): 324-331.
- ZHANG R Y, YI Y R, ZHAO J C, et al. Application of dietary fiber microcapsules in probiotic encapsulation: A review[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(23): 324-331.
- [27] 胡晓, 杨婷婷, 覃小丽, 等. 姜黄素和 γ -谷维素提高麦醇溶蛋白乳液的理化稳定性[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(11): 143-150.
- HU X, YANG T T, QIN X L, et al. Improved physicochemical stability of gliadin-coated emulsions in presence of curcumin and gamma oryzanol[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(11): 143-150.
- [28] WANG X, DENG Y J, ZHANG Y, et al. Screening and evaluation of novel α -glucosidase inhibitory peptides from ginkgo biloba seed cake based on molecular docking combined with molecular dynamics simulation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(27): 10326-10337.
- [29] 赵晨曦. EGCG类似物对乙酰胆碱酯酶和单胺氧化酶的抑制活性评价及分子模拟研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2018.
- ZHAO C X. EGCG derivatives as AChE and MAO inhibitors by experimental and molecular modeling study[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2018.
- [30] 王千新, 何鑫, 孙泽, 等. 人参皂苷 Rg3 复合水凝胶的制备及抗菌性能研究[J]. 人参研究, 2024, 36(5): 23-26.
- WANG Q X, HE X, SUN Z, et al. Preparation and antibacterial properties of ginsenoside Rg3 composite hydrogel[J]. Ginseng Research, 2024, 36(5): 23-26.
- [31] 王亚菲, 马子龙, 李军, 等. 黑果腺肋花楸多酚对鱼糜凝胶特性的影响[J]. 中国食品学报, 2024, 24(11): 269-278.
- WANG Y F, MA Z L, LI J, et al. Effect of polyphenols of *Aronia melanocarpa* on the gel properties of fish surimi[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(11): 269-278.
- [32] 张健. 响应不同碳源黑木耳纤维素降解基因筛选及功能研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2023.
- ZHANG J. Screening and functional study of cellulose degradation genes from *Auricularia heimuer* in response to different carbon sources[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2023.
- [33] ZHANG X Y, HUANG Y Y, MA R X, et al. Structural properties and antioxidant activities of soybean protein hydrolysates produced by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* cell envelope proteinase[J]. Food Chemistry, 2023, 410: 135392.
- [34] 王新月. 基于蛋白淀粉样纤维-多糖复合物的高内相乳液形成及其稳定 β -胡萝卜素的作用及机制研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
- WANG X Y. Formation of high internal phase emulsion based on protein amyloid fibrils-polysaccharide complexes and its function and mechanism of stabilizing β -carotene[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019.

- [35] 石欢, 王宇红, 孟盼, 等. 基于分子对接与分子动力学模拟的 NorA 抑制剂虚拟筛选[J]. 中南药学, 2024, 22(12): 3229–3234.
- SHI H, WANG Y H, MENG P, et al. Virtual screening of NorA inhibitors based on molecular docking and molecular dynamics simulation[J]. Central South Pharmacy, 2024, 22(12): 3229–3234.
- [36] GUVENCH O, MACKERELL A D. Computational evaluation of protein–small molecule binding[J]. Current Opinion in Structural Biology, 2009, 19(1): 56–61.
- [37] WU T, GAO Y F, HAO J Y, et al. Capsanthin extract prevents obesity, reduces serum TMAO levels and modulates the gut microbiota composition in high-fat-diet induced obese C57BL/6J mice[J]. Food Research International, 2020, 128: 108774.
- [38] 黄靖航, 杨立娜, 赵亚凡, 等. 大豆种皮多糖对模拟肠液流变特性和肠道菌群的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(12): 48–55.
- HUANG J H, YANG L N, ZHAO Y F, et al. Effects of soy hull polysaccharide on the rheological properties of simulated intestinal fluid and intestinal flora[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(12): 48–55.
- [39] YANG L N, ZHAO Y F, HUANG J H, et al. Insoluble dietary fiber from soy hulls regulates the gut microbiota *in vitro* and increases the abundance of bifidobacteriales and lactobacillales [J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 57(1): 152–162.

Effect of Na⁺/K⁺ on the Stability of Soy Hull Polysaccharides and Mucins and the Gut Microbiota

ZHANG Ning, ZHANG Yangyang, ZONG Yaqin, SONG Hong, LI Jinxin, YANG Lina*
(College of Food Science and Engineering, Bohai University, Jinzhou 121013, Liaoning)

Abstract Objective: To explore the effect of Na⁺/K⁺ in the intestinal environment on the interaction between soy hull polysaccharide (SHP) and intestinal mucus, and its effect on the diversity of intestinal flora. Methods: Molecular docking and molecular dynamics simulation were used to analyze the main binding force and complex stability of the target protein and soybean seed coat polysaccharide after Na⁺/K⁺ treatment. The effects of SHP and mucin on the changes of OTU and species abundance of intestinal flora after Na⁺ treatment was detected by 16S rDNA genomics. Results: The main force of SHP binding to mucin after Na⁺/K⁺ treatment was hydrogen bond. Within 100 ns, the RMSD value, RSMF value, Rg value and the number of hydrogen bonds of the complex structure fluctuated slightly. The secondary structure β -sheet of mucin mainly existed in anti-parallel mode after Na⁺ treatment, while the secondary structure β -sheet of mucin mainly existed in parallel mode after K⁺ treatment. The binding free energy [(196.7±26.7) kJ/mol] and the contribution of amino acid residues (18.18 kJ/mol) of SHP to mucin after Na⁺ treatment were greater than those after K⁺ treatment [(158.5±26.7) kJ/mol and 10.63 kJ/mol, respectively]. In the presence of Na⁺, the diversity of intestinal flora was up to 284 OTUs when SHP was used as a substrate for 8 h, and the abundance of various dietary fiber degrading bacteria was increased, and the abundance of *Escherichia coli*–*Shigella* was decreased. At the same time, the abundance of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* was also decreased. Conclusion: After Na⁺ treatment, the binding ability and stability of SHP and mucin are higher, and the diversity and abundance of intestinal flora are affected. Na⁺ treatment has a potential effect on the whole intestinal function of dietary fiber.

Keywords molecular simulation; ions; polysaccharide; mucin; intestinal flora