



中国农业科学院植物保护研究所

Institute of Plant Protection(IPP), Chinese Academy of Agricultural Sciences(CAAS)



5-烯醇式丙酮酰莽草酸-3-磷酸合成酶 (EPSPS) 的序列结构与功能分析

Sequence, Structure and Function Analysis of 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate Synthase (EPSPS)

汇报人：兰宇宁

小组成员：李金辉 李志玲 白琳芝

Contents

- 背景

- EPSPS序列分析

- EPSPS结构分析

- EPSPS功能分析



中国农业科学院植物保护研究所

Institute of Plant Protection(IPP),Chinese Academy of Agricultural Sciences(CAAS)



Part 1

背景

背景



- 杂草
- 杂草抗药性与耐受性
- 5-烯醇式丙酮酰莽草酸-3-磷酸合成酶 (EPSPS)
- 草甘膦





杂草

杂草是指能够在人类试图维持某种植被状态的生境中不断自然延续其种族，并影响到这种人工植被状态维持的一类植物。

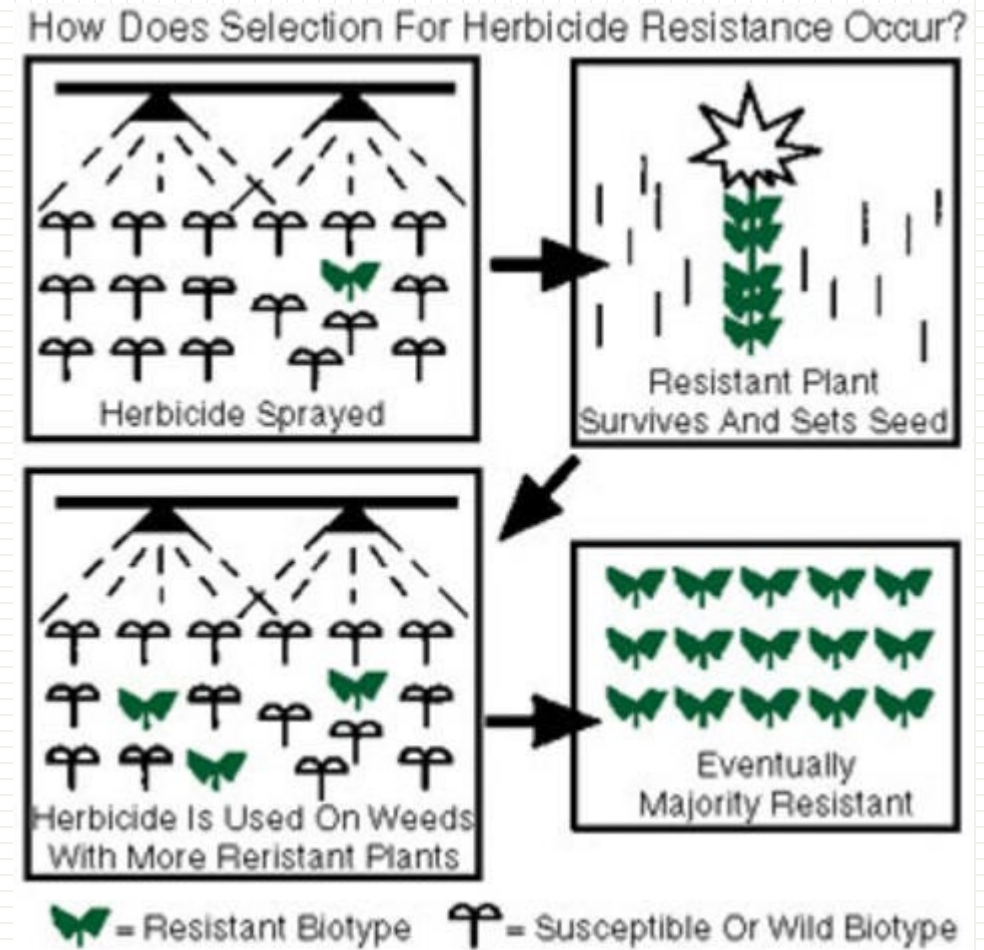




杂草抗药性与耐受性

杂草抗药性是指是指植物**种群**在暴露于通常对野生型致命的除草剂剂量后生存和繁殖的遗传能力。在植物中，抗性可能是自然产生的，也可能是通过基因工程或通过组织培养或诱变产生的变体选择等技术诱导的。

杂草耐受性是指一个植物**物种**在除草剂处理后生存和繁殖的固有**能力**。这意味着没有选择或遗传操作使植物具有耐性。

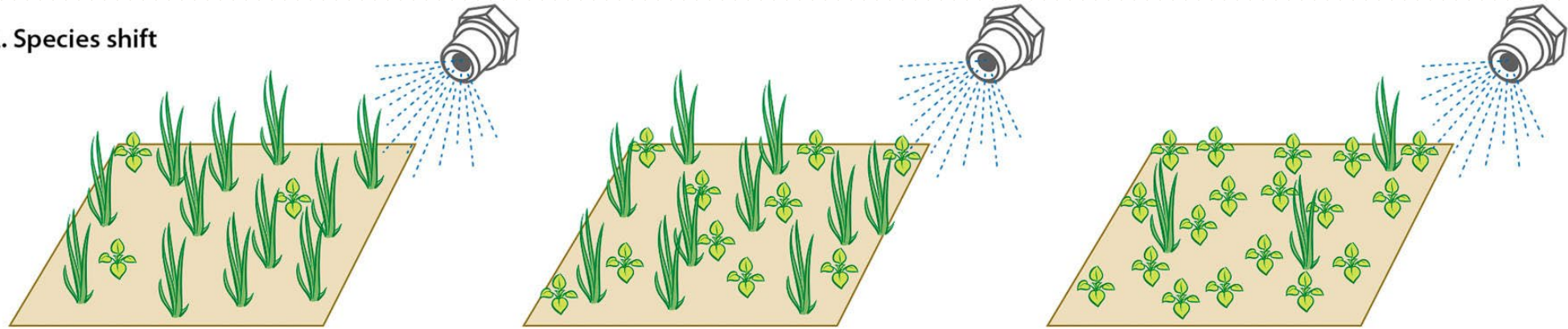


J. Gunsolus.

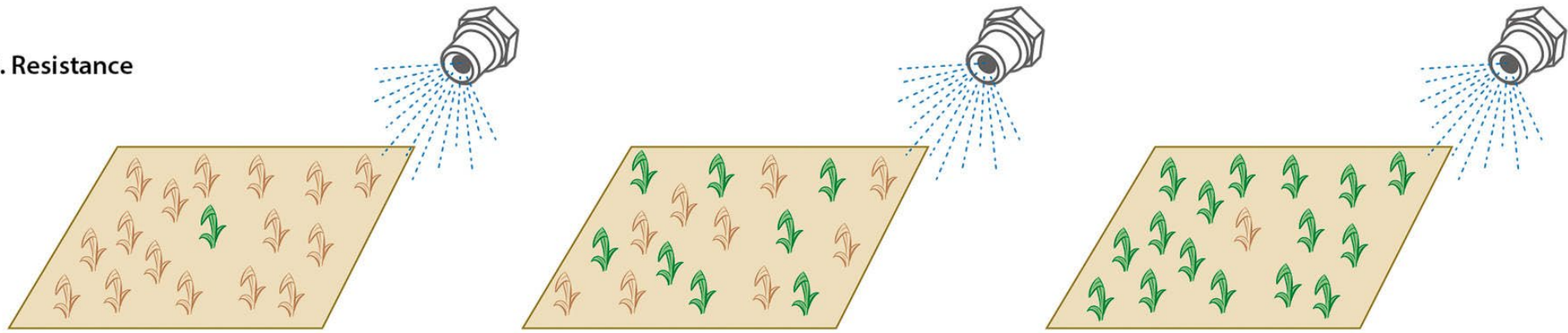


杂草抗药性与耐受性

A. Species shift



B. Resistance



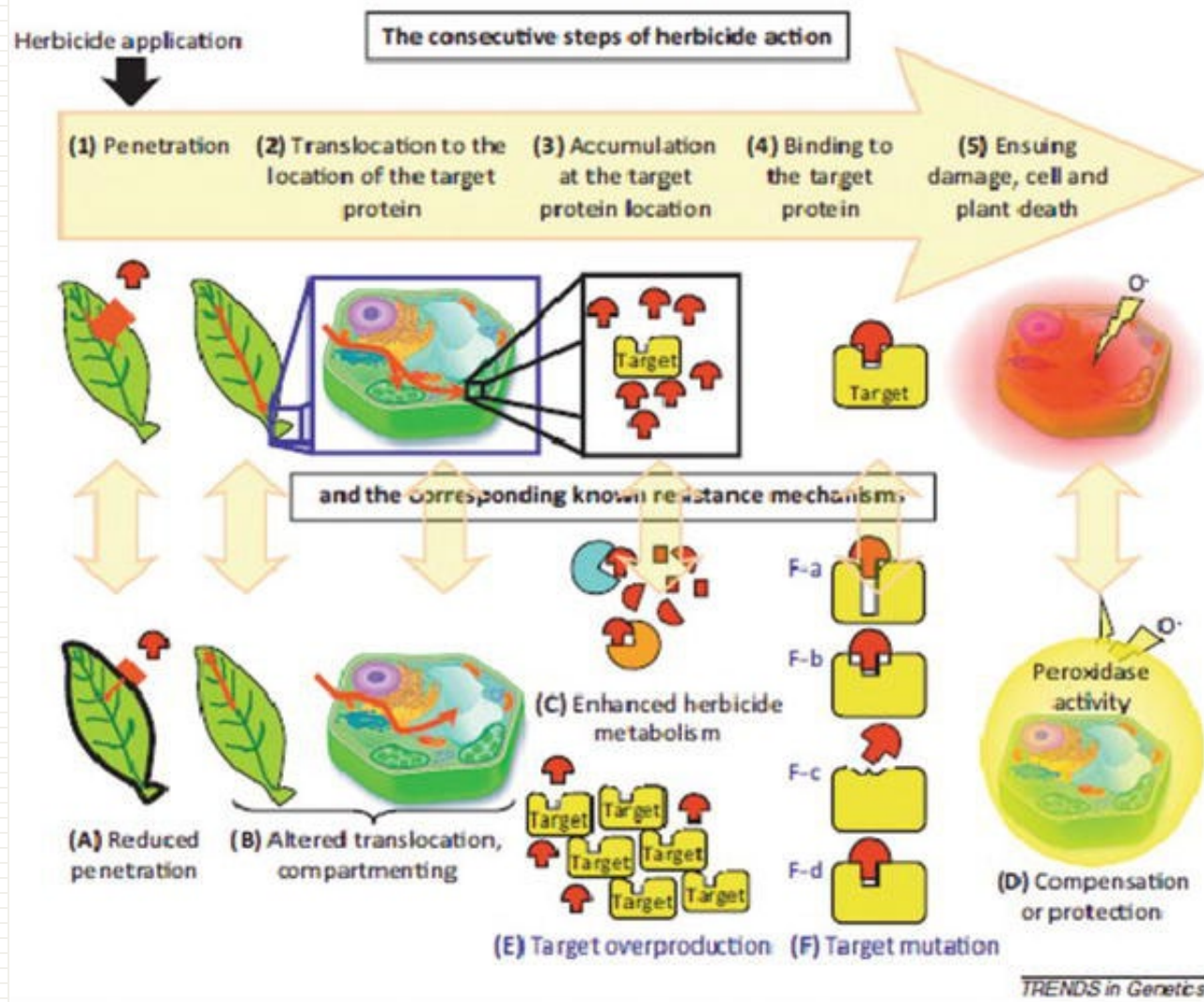
Initial population

Population after years of selection pressure

Hanson B, et al. Calif Agr 68(4):142-152.



杂草抗药性与耐受性

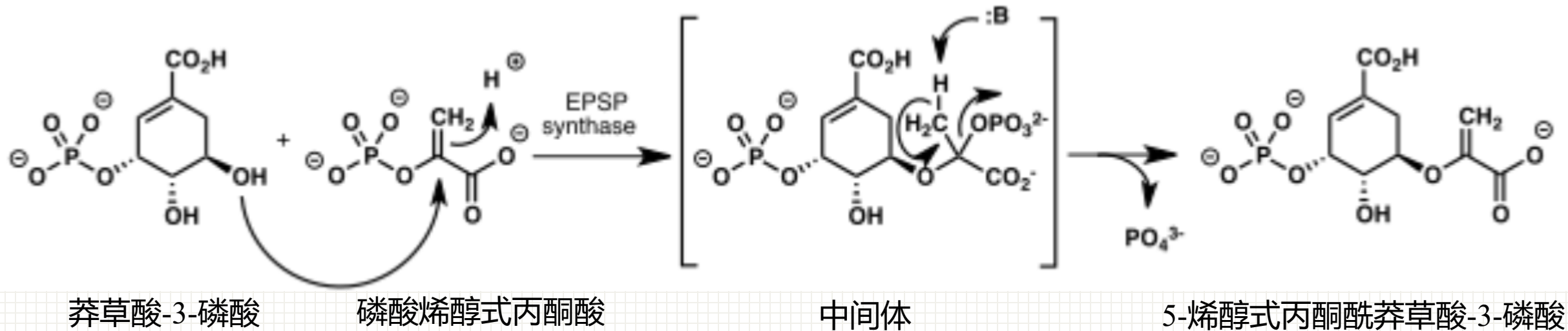


Vrbničanin, S., Pavlović, D., & Božić, D. (2011). *Weed Resistance to Herbicides*.



5-烯醇式丙酮酰莽草酸-3-磷酸合成酶 (EPSPS)

5-烯醇式丙酮酰莽草酸-3-磷酸合成酶 (EPSPS) 是微生物 (细菌、真菌) 和高等植物中特有的主要的氨基酸合成酶。

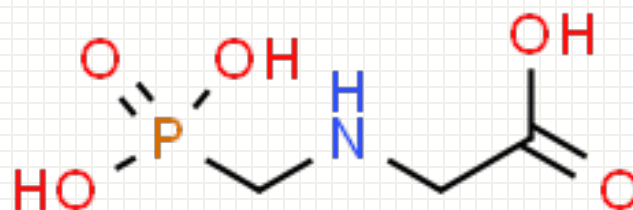


EPSPS催化的反应

草甘膦



草甘膦（IUPAC名称: N-(phosphonomethyl)glycine）是一种广谱灭生性除草剂。它是一种有机磷化合物（膦酸盐），通过抑制植物5-烯醇式丙酮酰莽草酸-3-磷酸合成酶（EPSPS）发挥作用。它的除草效果是由孟山都公司在1970年发现的。





中国农业科学院植物保护研究所

Institute of Plant Protection(IPP), Chinese Academy of Agricultural Sciences(CAAS)



Part 2

EPSPS序列分析

EPSPS序列分析



UniProtKB - P05466 (AROA_ARATH)

Display

[Help video](#)

[BLAST](#)

[Align](#)

[Format](#)

[Add to basket](#)

[History](#)

蛋白质序列

Entry

[Publications](#)

[Feature viewer](#)

[Feature table](#)

Protein | **3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase, chloroplastic**

Gene | **At2g45300**

Organism | *Arabidopsis thaliana* (Mouse-ear cress)

Status | Reviewed - Annotation score: ●●●○○○ - Experimental evidence at protein levelⁱ

Arabidopsis thaliana gene for 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSP)

GenBank: X06613.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

核酸序列

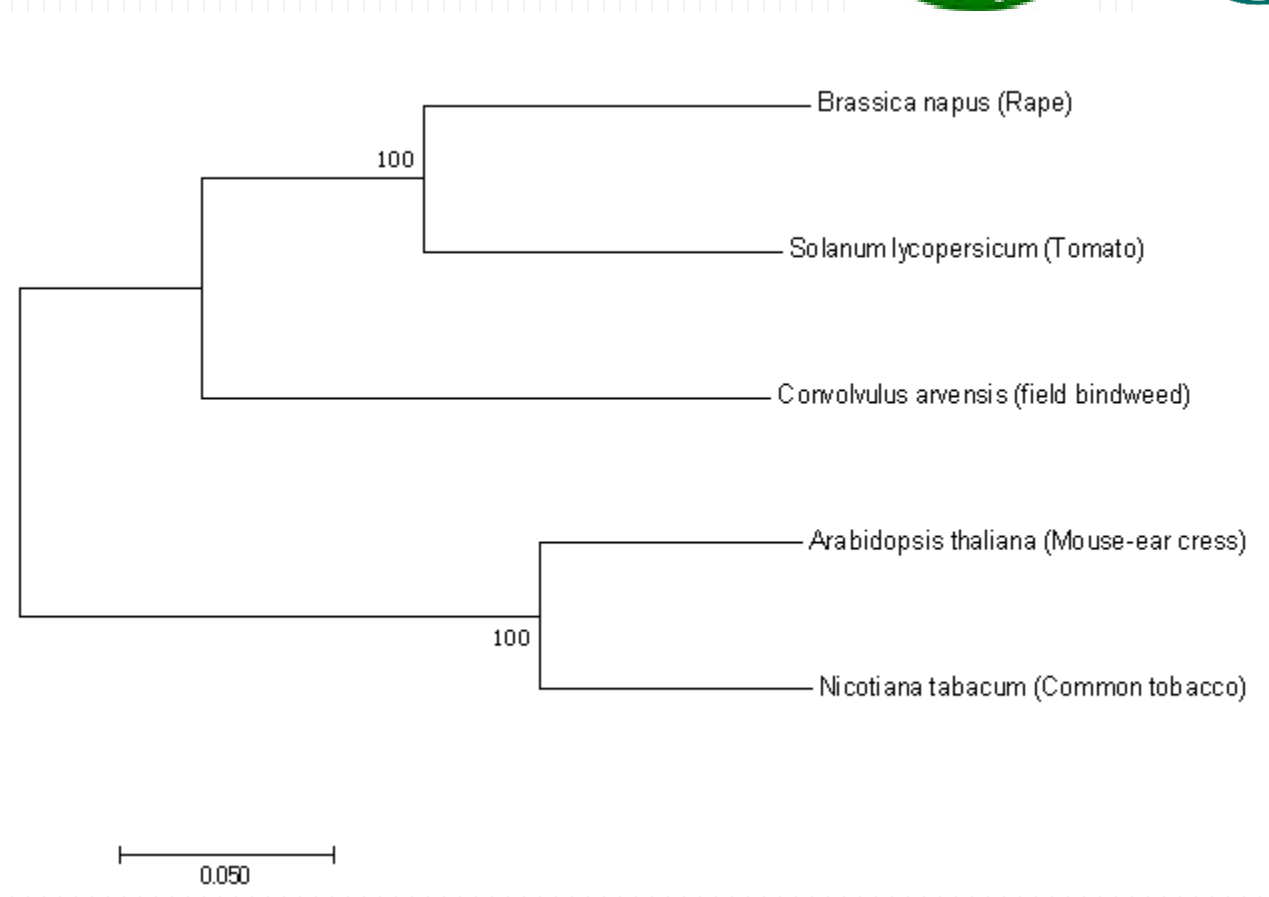
[Go to:](#)

LOCUS X06613 2763 bp DNA linear PLN 14-NOV-2006
DEFINITION Arabidopsis thaliana gene for 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSP).
ACCESSION X06613
VERSION X06613.1
KEYWORDS 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase.
SOURCE Arabidopsis thaliana (thale cress)
ORGANISM [Arabidopsis thaliana](#)



系统发育树构建

根据报道旋花科植物田旋花 (*Convolvulus arvensis* L.) 对草甘膦具有耐受性。选择模式生物拟南芥 (*A. thaliana*)，十字花科植物油菜 (*B. napus*)，茄科植物番茄 (*S. lycopersicum*)、烟草 (*N. tabacum*)，运用邻接法构建系统发育树。



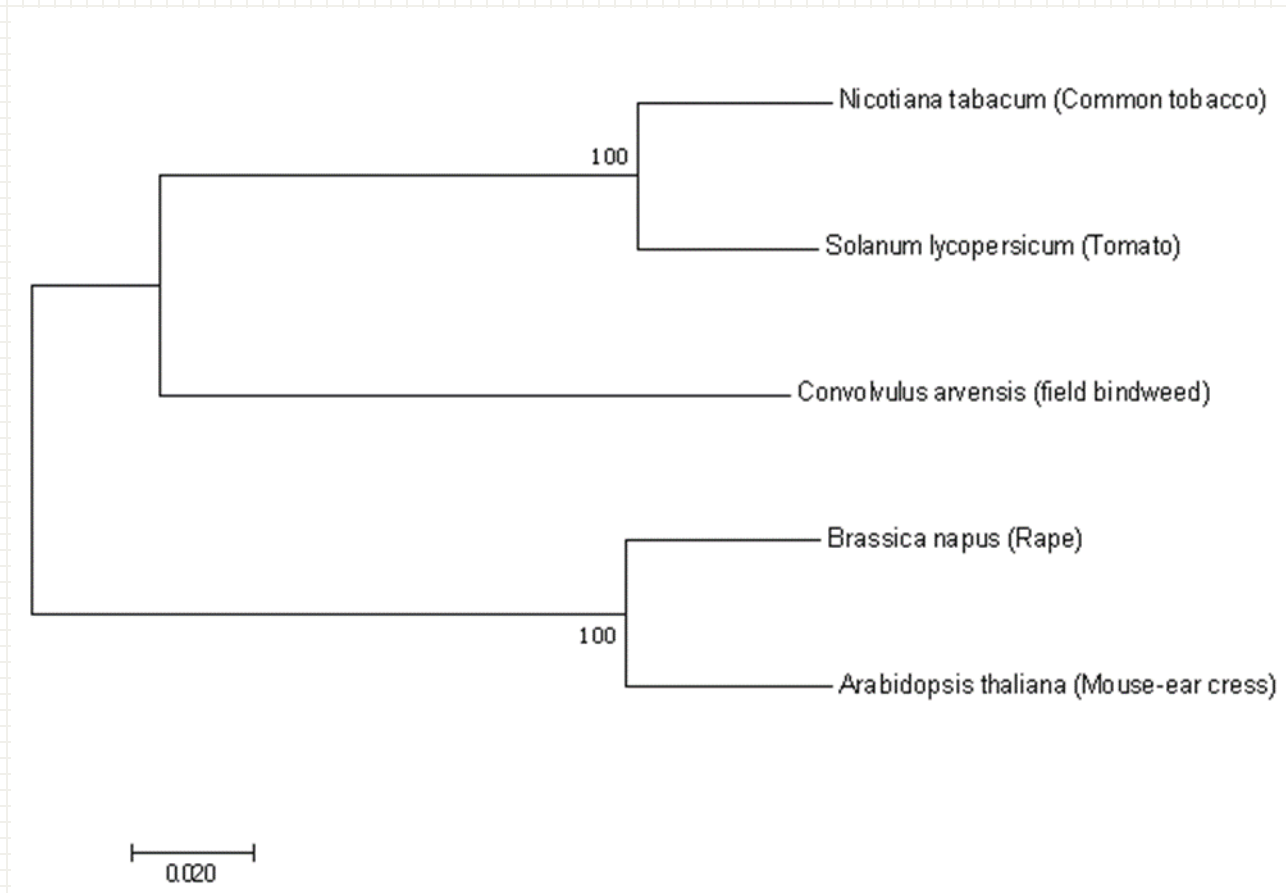
根据核酸序列建树

系统发育树构建



物种名	拉丁学名	NCBI登录号	CDS
Rape	<i>Brassica napus</i>	X51475.1	278..604,826..1070,1148..1301,1671..1885,1961..2078,2435..2645,2723..2784,2866..3084
Tomato	<i>Solanum lycopersicum</i>	M21071.1	190..1752
Field bindweed	<i>Convolvulus arvensis</i>	EU698030.1	1..1563
Mouse-ear cress	<i>Arabidopsis thaliana</i>	X06613.1	379..717,805..1049,1135..1288,1523..1737,1819..1936,2076..2286,2362..2423,2510..2728
Common tobacco	<i>Nicotiana tabacum</i>	M61904.1	119..1675

系统发育树构建



根据蛋白质序列建树

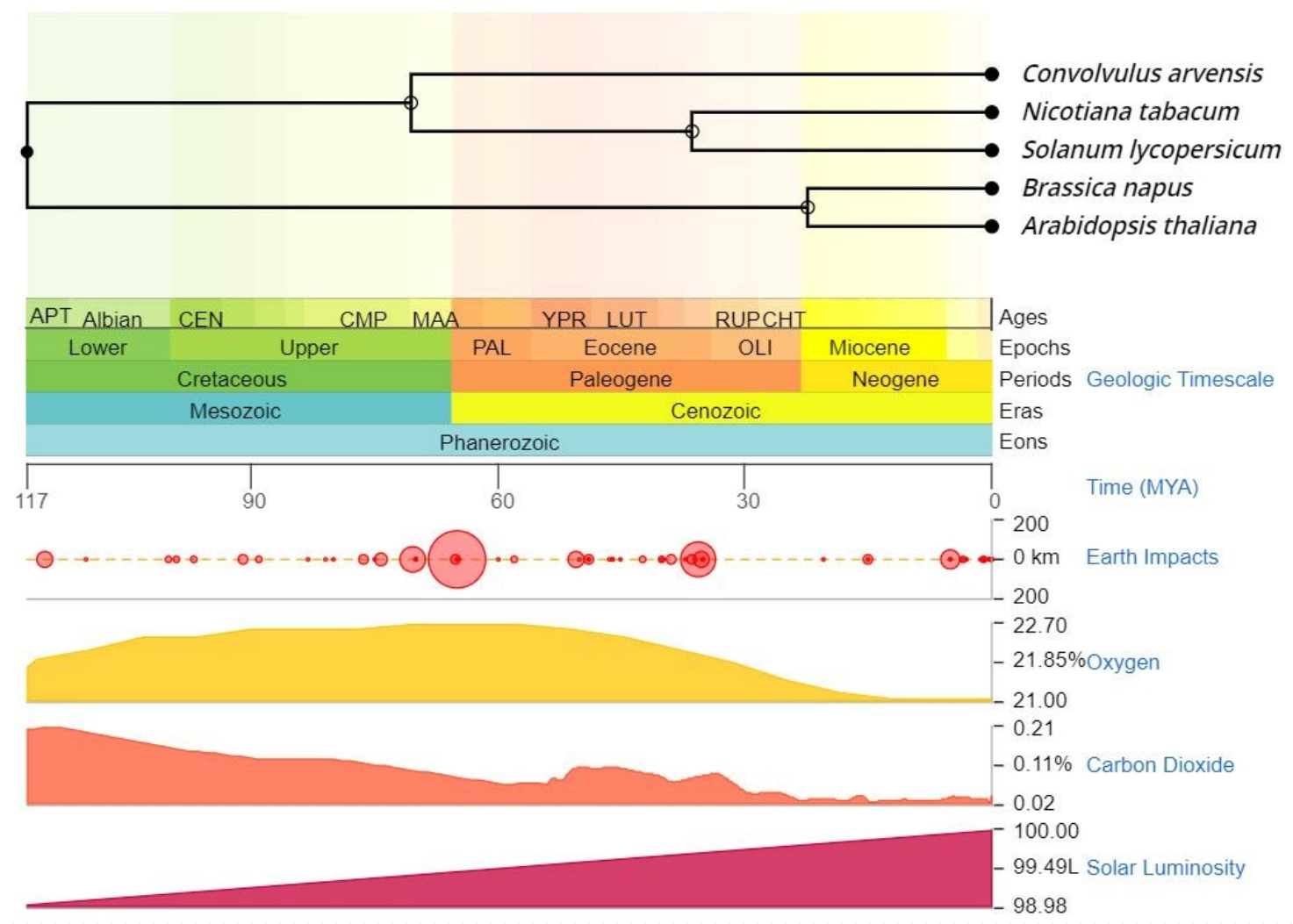
系统发育树构建



物种名	拉丁学名	UiProt登录号	序列长度
Rape	<i>Brassica napus</i>	P17688	516
Tomato	<i>Solanum lycopersicum</i>	P10748	520
Field bindweed	<i>Convolvulus arvensis</i>	B3GGJ9	520
Mouse-ear cress	<i>Arabidopsis thaliana</i>	P05466	520
Common tobacco	<i>Nicotiana tabacum</i>	P23981	518



系统发育树构建





中国农业科学院植物保护研究所

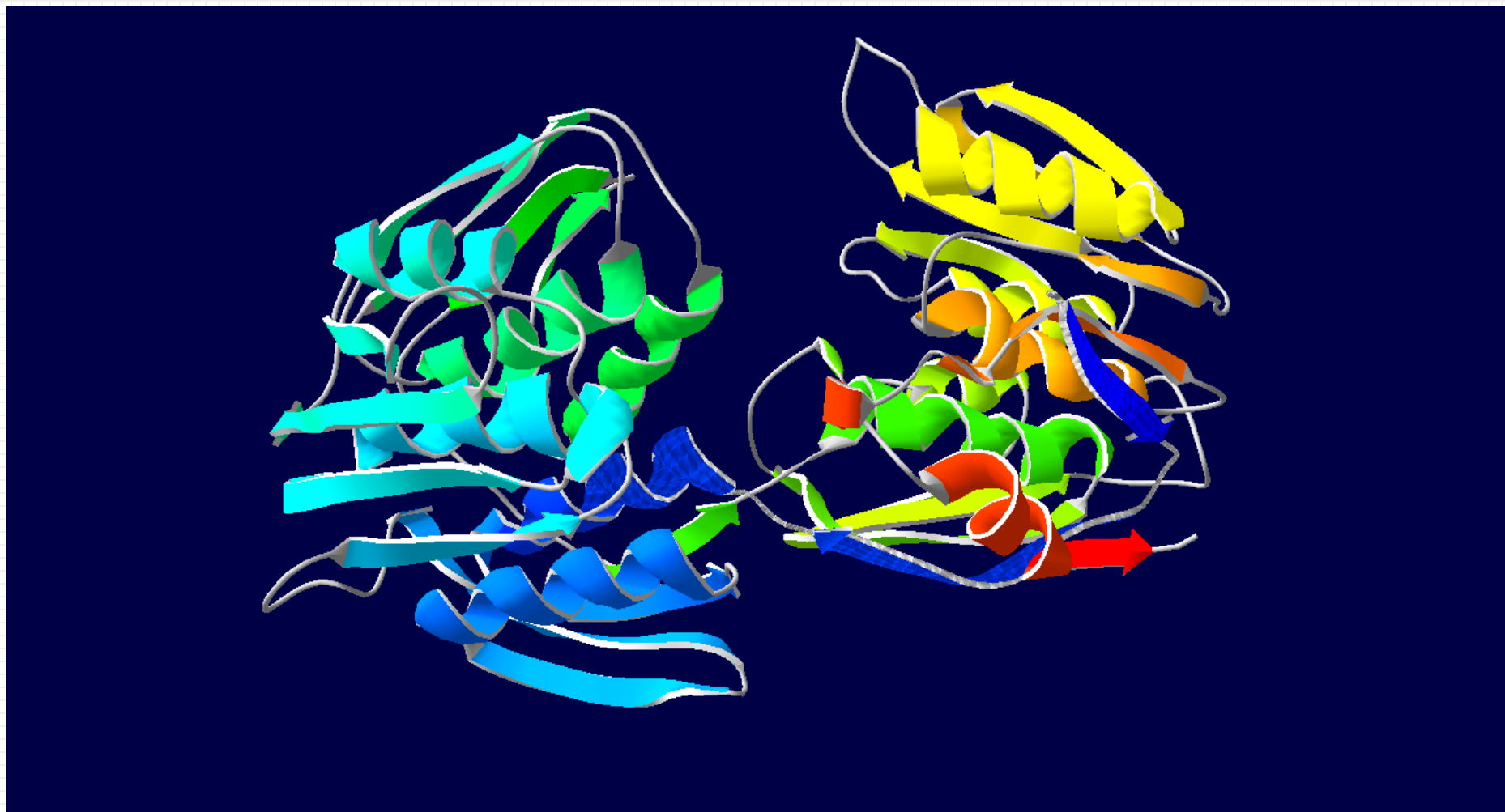
Institute of Plant Protection(IPP), Chinese Academy of Agricultural Sciences(CAAS)



Part 3

EPSPS结构分析

EPSPS结构分析



EPSPS结构分析



美国孟山都公司在几种天然抗草甘膦的细菌(根癌农杆菌CP4、无色杆菌LBAA、假单胞菌PG2982等)中发现了抗草甘膦的EPSP合酶。这类EPSP合酶与以往克隆的酶氨基酸序列差异很大,相似性低于50%,被划分为EPSP合酶家族II(ClassII)。EPSP合酶家族II成员间的氨基酸相似性较高,均表现出了对草甘膦的高抗性和对底物(PEP)的高亲和性,其中来源于根农杆菌CP4的EPSP合酶已被应用于商品化抗草甘膦转基因大豆中。



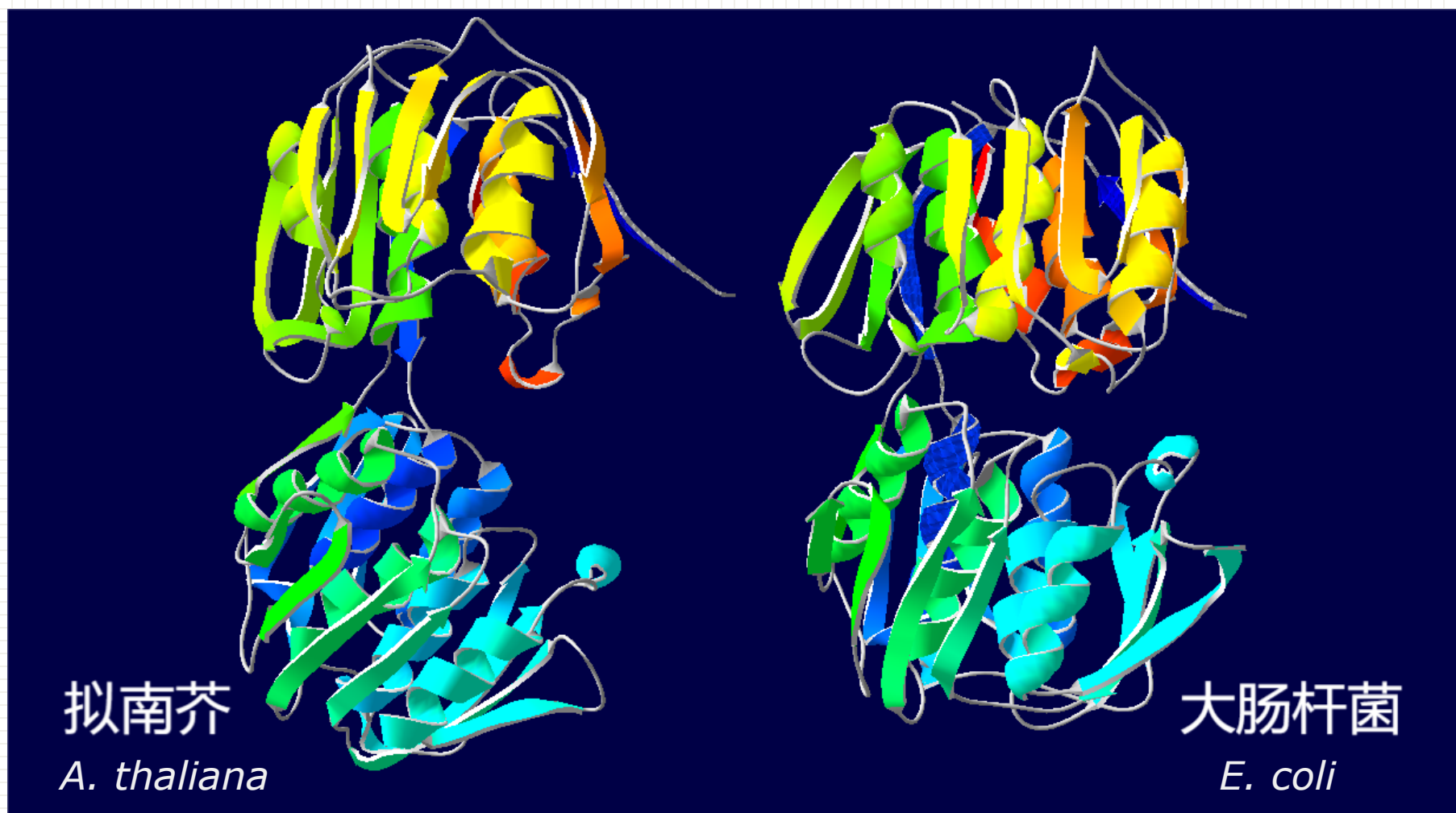
Needle双序列比对



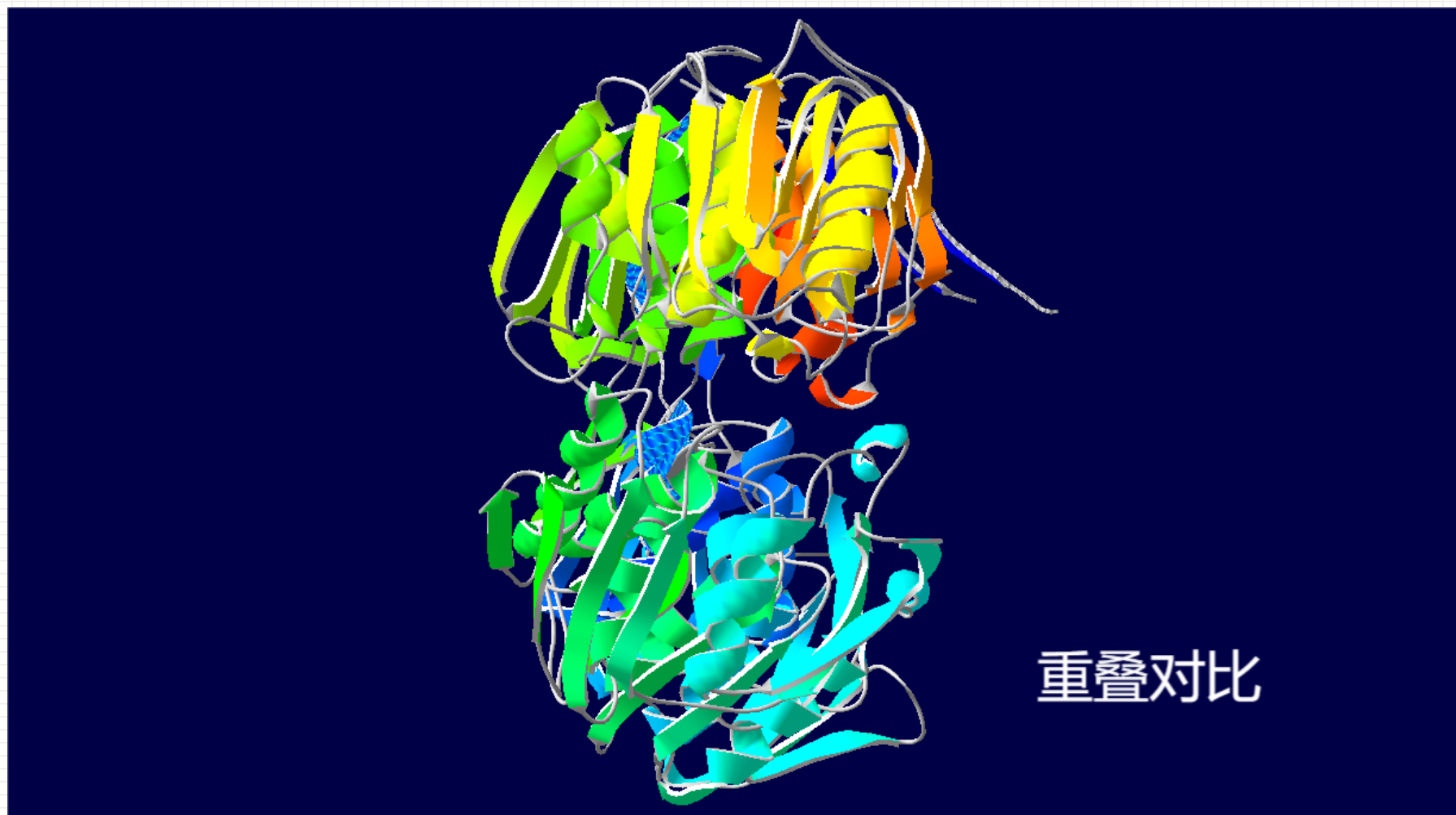
```
#####
# Program: needle
# Rundate: Wed 11 May 2022 16:58:24
# Commandline: needle
#   -auto
#   -stdout
#   -asequence emboss_needle-I20220511-171304-0924-25184874-plm.asequence
#   -bsequence emboss_needle-I20220511-171304-0924-25184874-plm.bsequence
#   -datafile EDNAFULL
#   -gapopen 10.0
#   -gapextend 0.5
#   -endopen 10.0
#   -endextend 0.5
#   -aformat3 pair
#   -snucleotide1
#   -snucleotide2
# Align_format: pair
# Report_file: stdout
#####

#=====
#
# Aligned_sequences: 2
# 1: Arabidopsis
# 2: E. coli
# Matrix: EDNAFULL
# Gap_penalty: 10.0
# Extend_penalty: 0.5
#
# Length: 1718
# Identity:   837/1718 (48.7%)
# Similarity: 837/1718 (48.7%)
# Gaps:      589/1718 (34.3%)
# Score: 1903.0
#
#
#=====
```

重叠比对



重叠比对





中国农业科学院植物保护研究所

Institute of Plant Protection(IPP), Chinese Academy of Agricultural Sciences(CAAS)



Part 4

EPSPS功能分析

EPSPS功能分析



以拟南芥 (*A. thaliana*) 为例，登录号：P05466
EPSPS含有9个结合位点，其中有两个活性位点，分别位于407、435位，质子受体和质子供体。莽草酸-3-磷酸与其结合位点有3个，磷酸烯醇式丙酮酸的结合位点有4个。

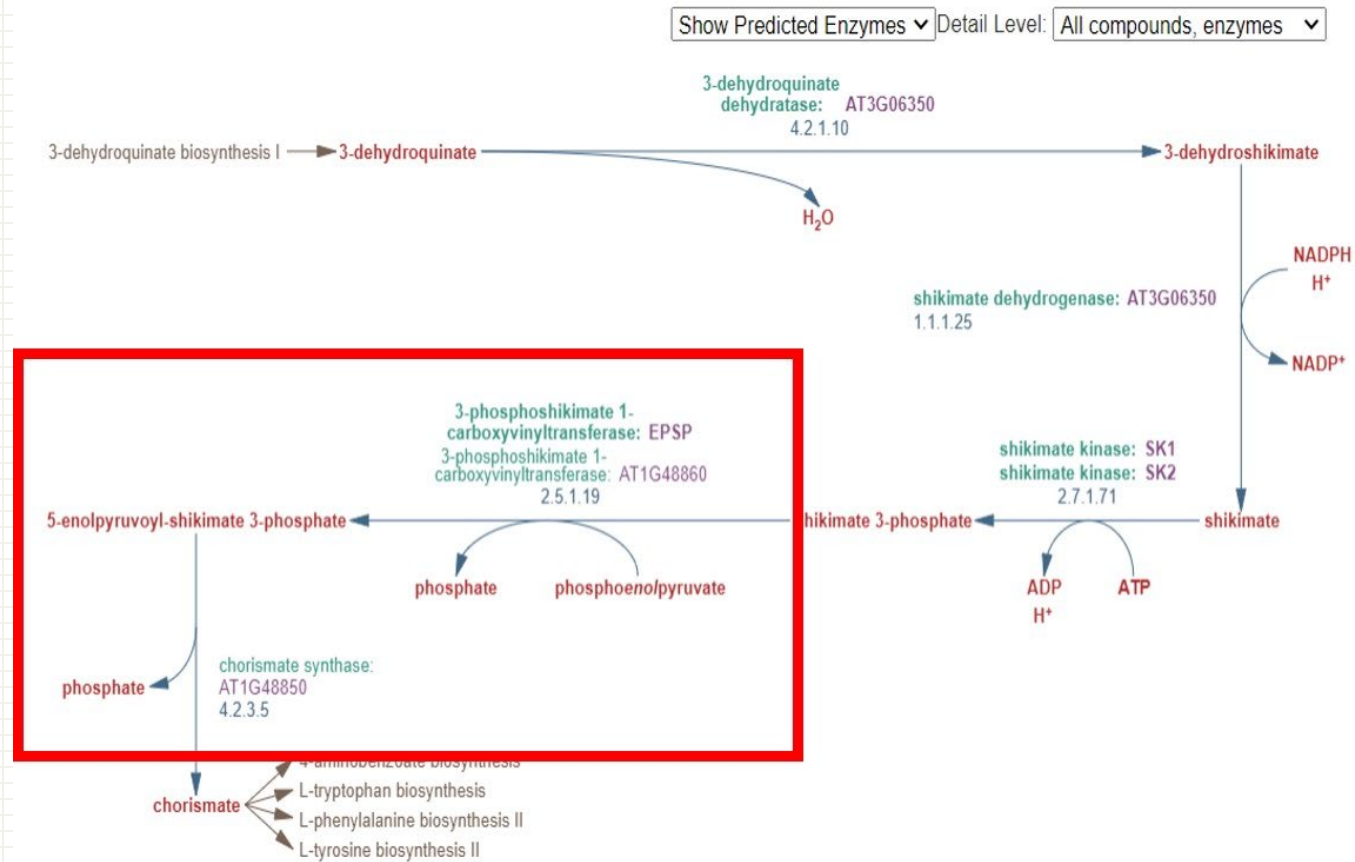
Sites

Feature key	Position(s)	Description
Binding site ⁱ	104	Shikimate-3-phosphate By similarity
Binding site ⁱ	207	Phosphoenolpyruvate By similarity
Binding site ⁱ	282	Shikimate-3-phosphate By similarity
Active site ⁱ	407	Proton acceptor By similarity
Binding site ⁱ	434	Shikimate-3-phosphate By similarity
Active site ⁱ	435	Proton donor By similarity
Binding site ⁱ	438	Phosphoenolpyruvate By similarity
Binding site ⁱ	480	Phosphoenolpyruvate By similarity
Binding site ⁱ	505	Phosphoenolpyruvate By similarity

BIOCY分析

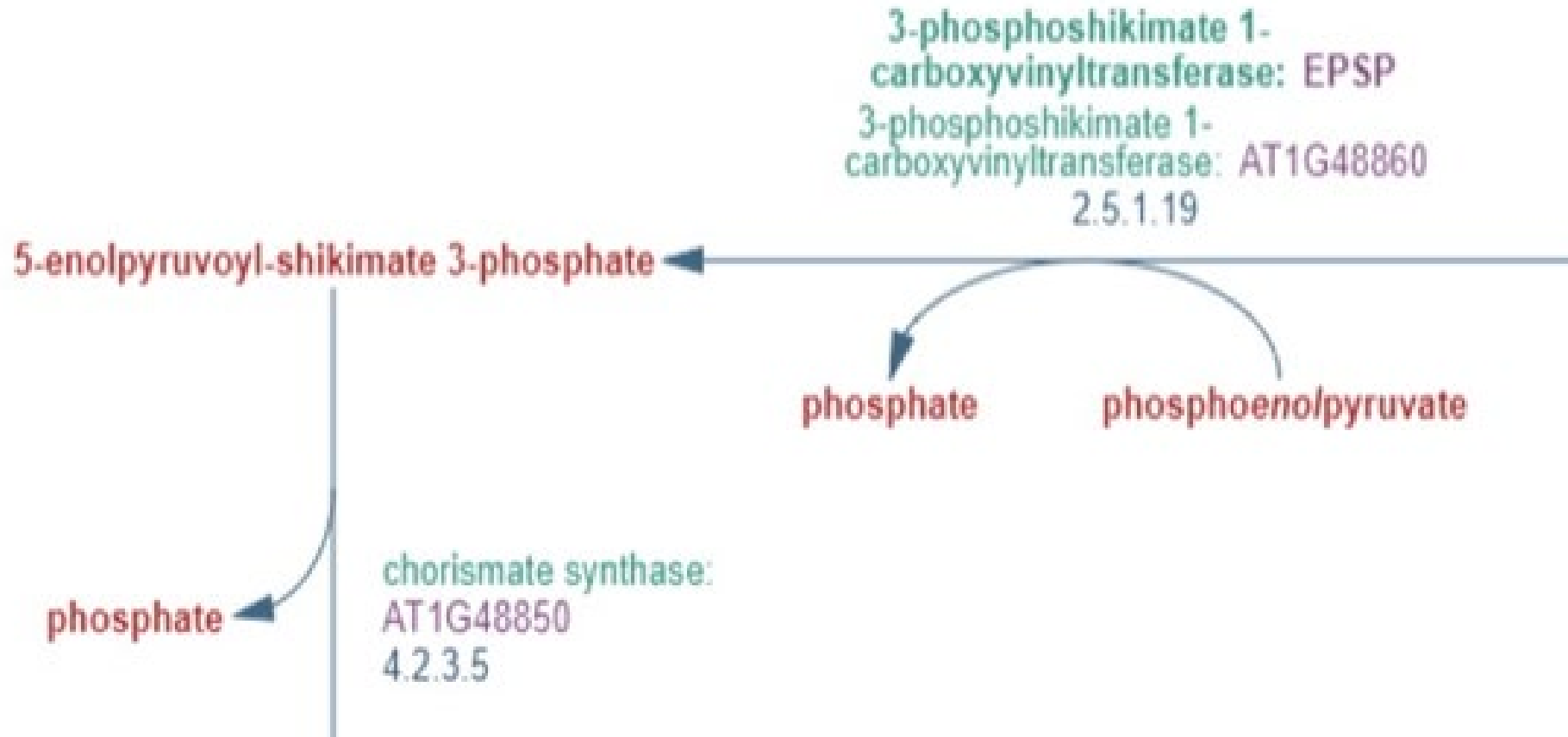


Arabidopsis thaliana col Pathway: chorismate biosynthesis from 3-dehydroquinate





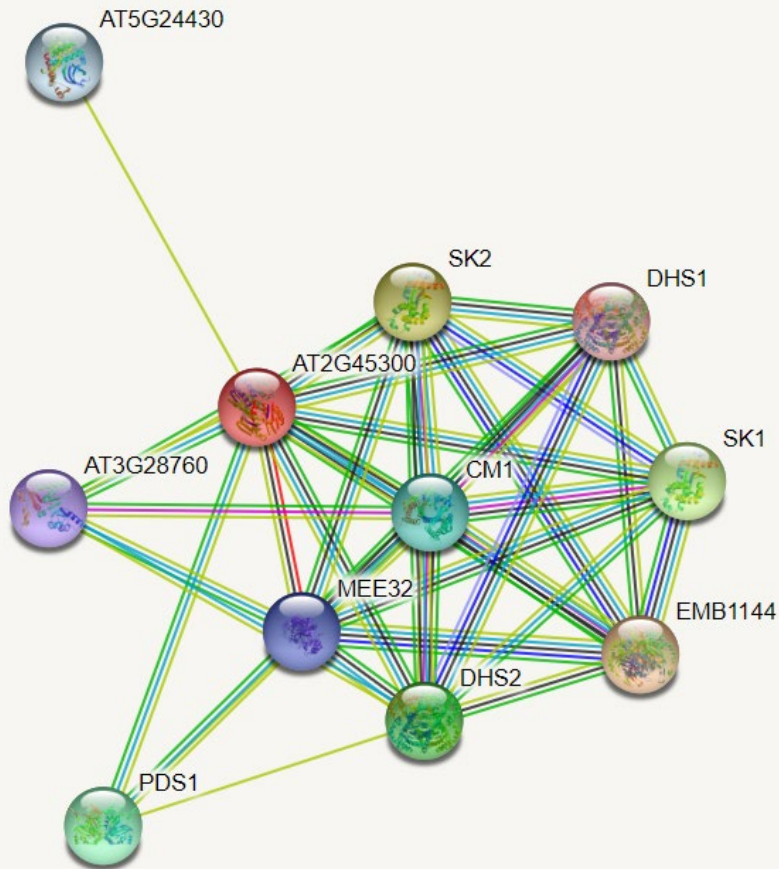
BIOCY分析



在BIOCY 中，搜索EPSPS参与的途径，可看出详细的反应物的产物。



Interaction STRING



Known Interactions

- from curated databases
- experimentally determined

Predicted Interactions

- gene neighborhood
- gene fusions
- gene co-occurrence

Others

- textmining
- co-expression
- protein homology

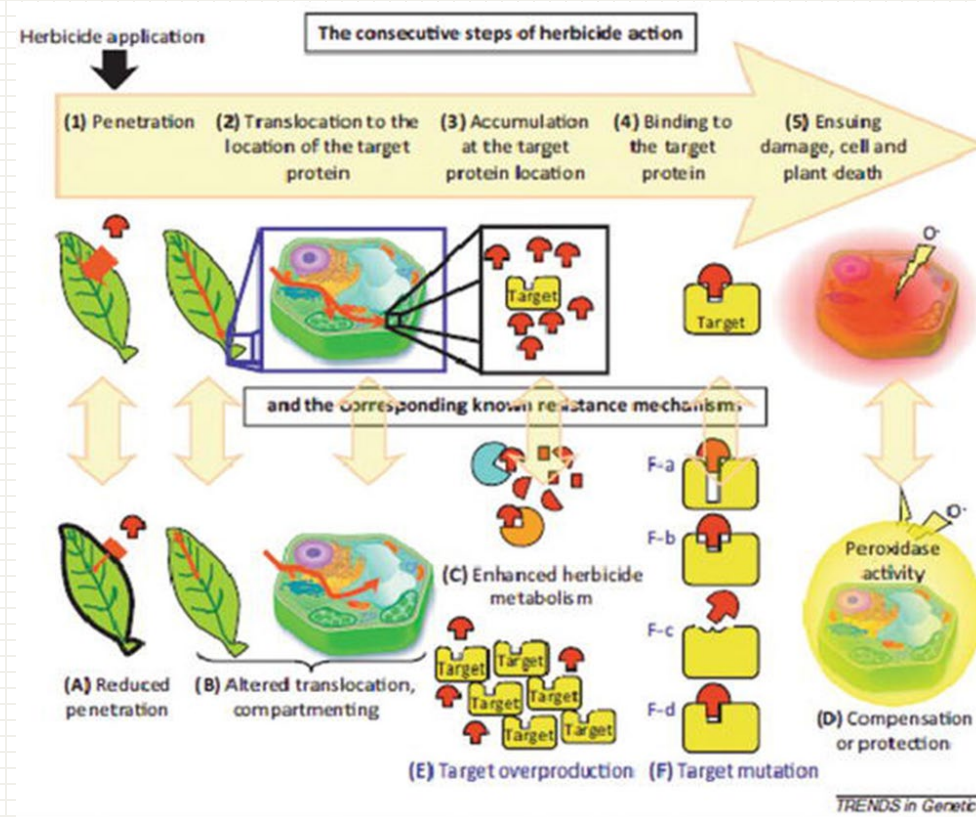
如图所示，为EPSPS与其他蛋白之间的相互作用网络图，节点内的有该蛋白的3D结构。红色为EPSPS，查询蛋白。节点之间的连线表示两个蛋白之间存在作用关系，可不止一条。并表示两者有实际上的连接。如，AT5G24430(左上)是钙依赖性蛋白激酶 (CDPK) 家族蛋白，扮演着信号传导的角色。

展望



杂草的多组学数据有待完善与补充

结合右图，关于杂草抗药性产生的机理需要从多个方面多个角度，结合课上所学工具进一步分析



Vrbničanin, S., Pavlović, D., & Božić, D. (2011). *Weed Resistance to Herbicides*.

参考文献



1. 强胜. 杂草学 第2版[M]. 中国农业出版社, 2009.
2. Herbicide Resistance and Herbicide Tolerance Definitions. WSSA. May, 1, 2022.
<https://wssa.net/wssa/weed/resistance/herbicide-resistance-and-herbicide-tolerance-definitions/>
3. Jeff Gunsolus. Herbicide-resistant weeds. University of Minnesota Extension. May, 1, 2022.
<https://extension.umn.edu/herbicide-resistance-management/herbicide-resistant-weeds>
4. Hanson B, Wright S, Sosnoskie L, Fischer A, Jasieniuk M, Roncoroni J, Hembree K, Orloff S, Shrestha A, Al-Khatib K. 2014. MAINTAINING LONG-TERM MANAGEMENT: Herbicide-resistant weeds challenge some signature cropping systems. Calif Agr 68(4):142-152.
5. Vrbničanin, S., Pavlović, D., & Božić, D. Herbicide Resistance in Weeds and Crops. IntechOpen. 2017.



请老师同学们批评指正