



中国农业科学院

CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

KTI蛋白在马铃薯Y病毒属侵染中的功能分析

姓 名: 邢萍萍

研究 所: 植物保护研究所

研究方向: 植物与病毒互作

汇报日期: 2025.4.27



Part 1

背景



马铃薯Y病毒科病毒严重威胁我国农业生产和粮食安全!

马铃薯Y病毒科病毒



大豆花叶病毒



马铃薯Y病毒



芜菁花叶病毒



李痘病毒

- **分布范围广**: 广泛分布于北美洲、欧洲、南非、亚洲、澳大利亚等世界各地
- **病毒种类多**: 12个属249种病毒, 约占植物RNA病毒的30%
- **危害作物多**: 仅其代表属马铃薯Y病毒属就可侵染茄科、苋科、藜科、菊科和豆科等超过500种植植物
- **传播方式多样**: 生物介体、嫁接、机械摩擦传播



- 特征:** TuMV是正单链RNA病毒, TuMV病毒粒子呈长线型结构, 由大量外壳蛋白包被着一条正链RNA基因组构成
- 编码策略:** TuMV基因组全长约10 kb, 只含有一个开放阅读框 (Open Reading Frame, ORF) 。翻译后产生一个**多聚蛋白体**。



	名称	切割蛋白	蛋白酶切割位点
P1	蛋白酶	P1	HKIVHF/S
HC-Pro	蛋白酶		KHYRVG/G
P3	非结构蛋白, 不保守		KA ^V HQ/E
6K1	6K蛋白		PTVYHQ/T
CI	解旋酶		EA ^V HQ/N
6K2	膜蛋白		EP ^V THE/A
Nla-VPg	帽子		VP ^V DHE/S
Nla-Pro	蛋白酶		TAVYAQ/T
Nlb	复制酶		AC ^V YHQ/A
CP	外壳蛋白		

科学问题: 是否存在蛋白酶抑制剂可抑制TuMV编码蛋白酶的切割功能?

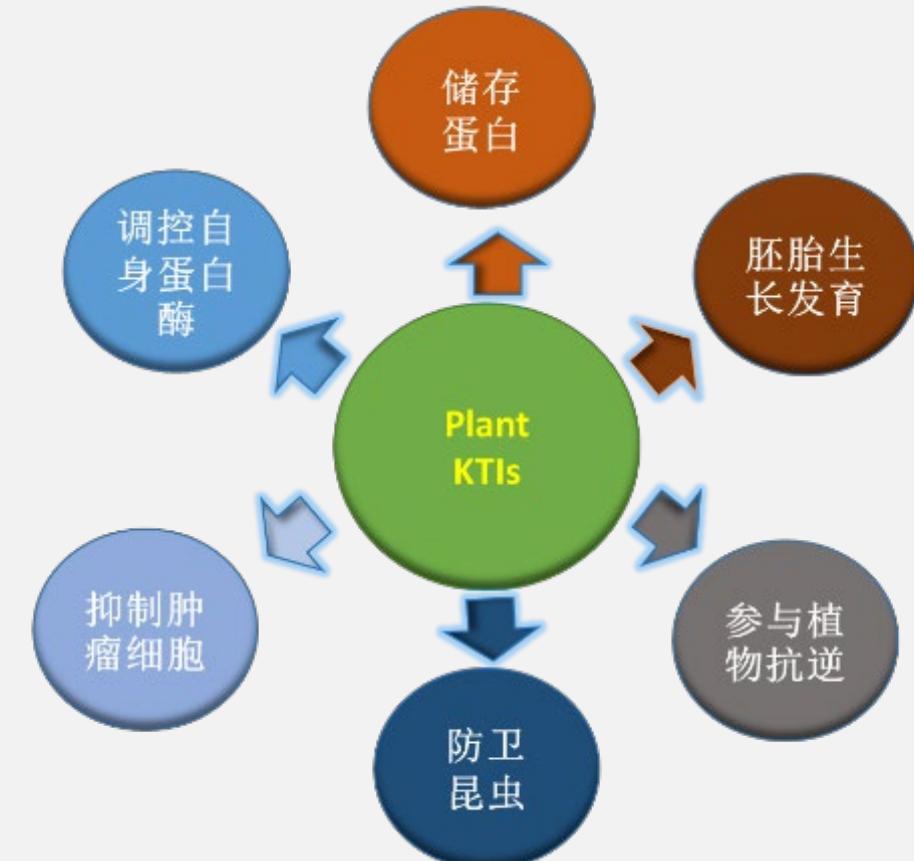


SPI Name	Role and Function	Biotechnology Application
Kunitz trypsin inhibitors (AtKTI4, AtKTI5)	Inhibitory activity against serine and cysteine protease; effect on mite performance (fecundity and mortality)	Protection against spider mite
AtSerpin1	Inhibition of digestive protease activity; inhibition of larval growth; inhibition of RD21 activity	Protection against insect disease
Kunitz type protease inhibitor (AtWSCP)	Inhibition of cysteine RD21 activity; controlling cell death	Protection against herbivore attack
Potato type 1 inhibitors	Differential expression pattern after wounding and nematode infection	Protection against nematodes
Bowman-Birk-type inhibitor	Arrest fungal invasion; inhibition of fungal growth	Protection against fungal disease
Serine protease inhibitor (BWI-1a)	Inhibition of spore germination, mycelial growth, bacterial growth and survival of insects	Protection against insect, fungal and bacterial disease



1945年, Kunitz (KUNITZ 1945)在大豆中发现了一种具有抑制胰蛋白酶能力的蛋白酶抑制剂, 这种具有类似功能的PI被命名为胰蛋白酶抑制剂 (Kunitz type inhibitors, KTI) 并一直被研究至今。

KTIs能抑制丝氨酸、半胱氨酸和天冬氨酸蛋白酶的活性, KTIs活性位点保守氨基酸残基通常是精氨酸 (Arg) 和赖氨酸 (Lys), 点突变后对蛋白酶切割活性的抑制效率显著降低。

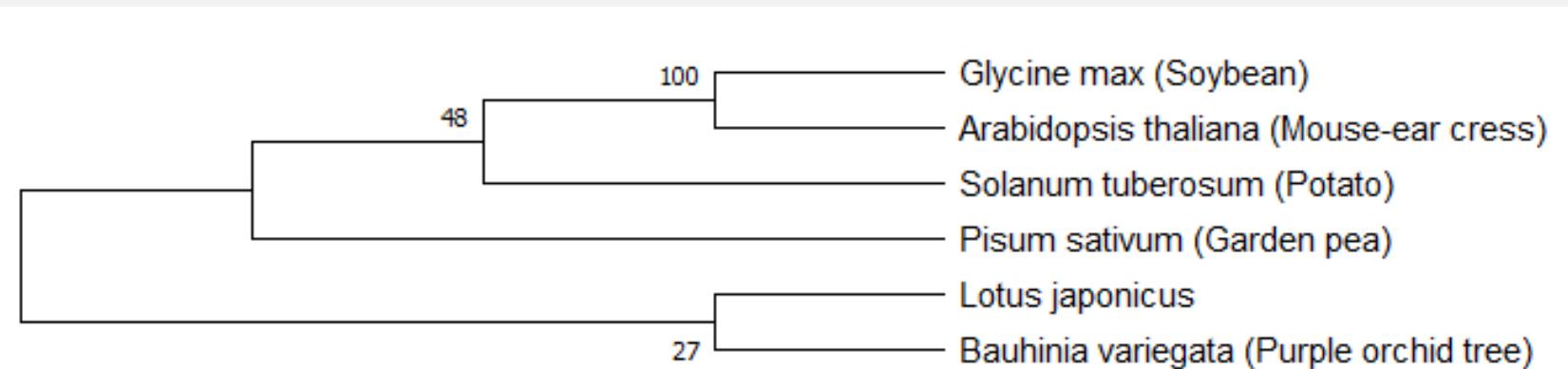




Part 2

序列分析

为深入了解KTI的功能，选择了多个物种中的KTIs用 mega 进行进化树分析，通过构建进化树系统比较些物种KTIs之间的进化关系，发现KTI在不同物种中的进化关系十分相似，这一结果为我们提供了关于NbKTI1进化历程的线索，同时暗示了**KTI在不同物种中可能共享相似的演化途径**。





本研究选择KTI家族的KTI 1，在Uniport选择模式植物拟南芥的序列。

<input type="checkbox"/> Q39091	 KTI1_ARATH	Kunitz trypsin inhibitor 1 [...]	KTI1, DR4, At1g73330, T9L24.45	Arabidopsis thaliana (Mouse-ear cress)	209 AA
---------------------------------	--	----------------------------------	-----------------------------------	--	--------

```
>sp|Q39091|KTI1_ARATH Kunitz trypsin inhibitor 1 OS=Arabidopsis thaliana OX=3702 GN=KTI1 PE=2 SV=1
MKATISITIIFLVVALAAPSLARPDNHVEDSVGRLLRPGQTYHIVPANPETGGGIFSNSE
EICPLDIFQSNPPLDLGLPIKFKSELWFVKEMNSITIEFEAPNWFLCPKESKGWRVVYSE
EKKSLIISTGGSSNPSGFQIHRVDGGAYKIVYCTNISTTCAVNKGIFTDISGARRLALT
SDEALLVKFQKAATPKADLTKLRMFPFY
```

从ExPasy protparam获得KTI1蛋白获得理化数据



中国农业科学院
CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

Molecular weight: 23112.67

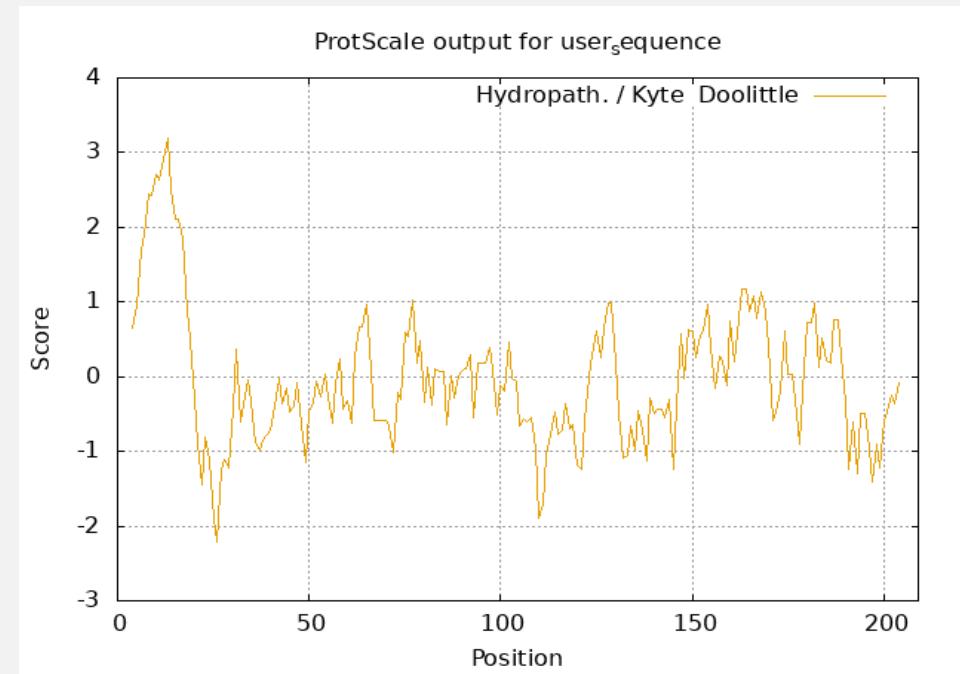
Theoretical pI: 8.31

Instability index:

The instability index (II) is computed to be 44.55
This classifies the protein as unstable.

Estimated half-life:

The N-terminal of the sequence considered is M (Met).
The estimated half-life is: 30 hours (mammalian reticulocytes, in vitro).
 >20 hours (yeast, in vivo).
 >10 hours (Escherichia coli, in vivo).



Extinction coefficients:

Extinction coefficients are in units of $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$, at 280 nm measured in water.

Ext. coefficient 24200

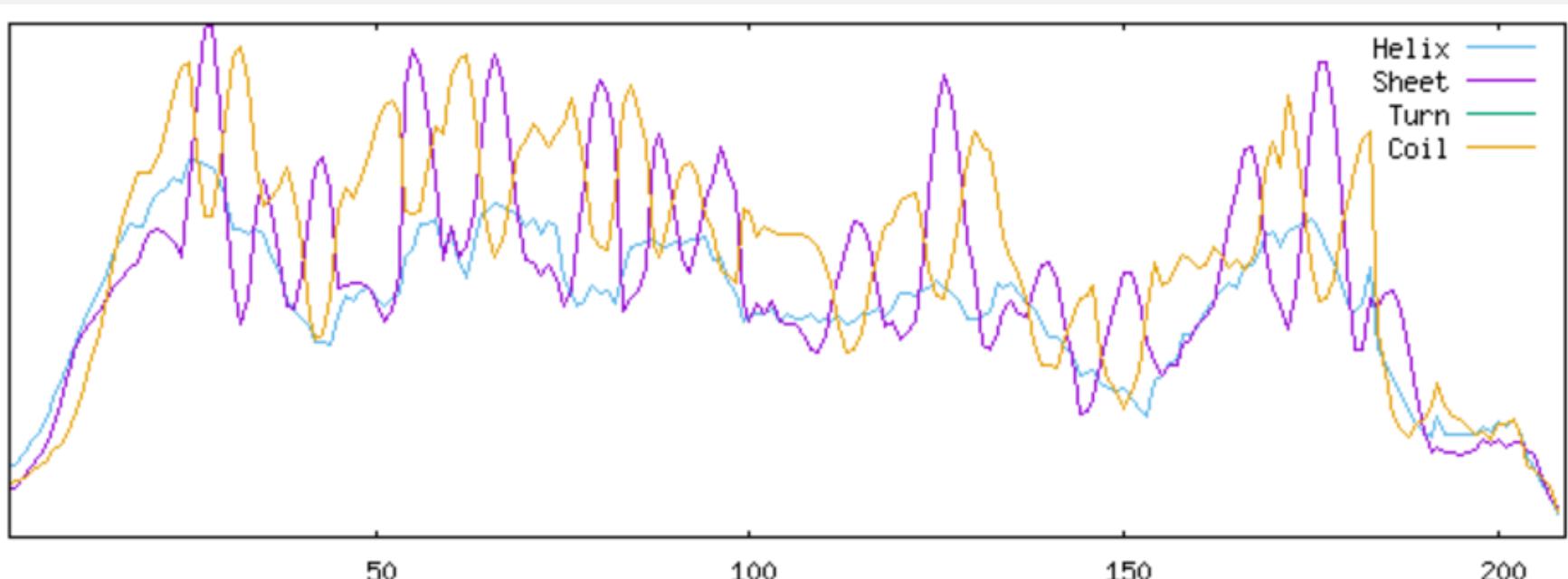
Abs 0.1% (=1 g/l) 1.047, assuming all pairs of Cys residues form cystines

SOPMA 预测KTI1蛋白二级结构



中国农业科学院
CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

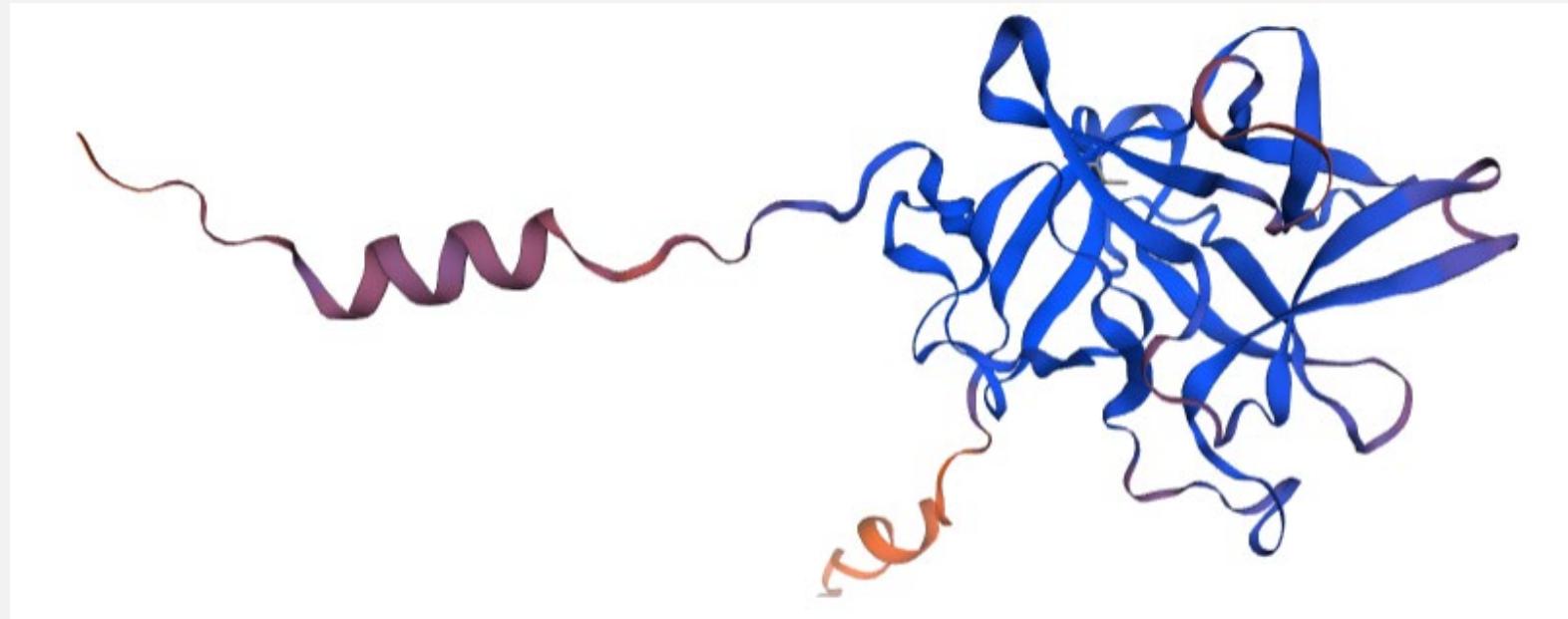
Alpha helix	(Hh) :	23	is	11.00%
β_10 helix	(Gg) :	0	is	0.00%
Pi helix	(Ii) :	0	is	0.00%
Beta bridge	(Bb) :	0	is	0.00%
Extended strand	(Ee) :	68	is	32.54%
Beta turn	(Tt) :	0	is	0.00%
Bend region	(Ss) :	0	is	0.00%
Random coil	(Cc) :	118	is	56.46%
Ambiguous states (?)	:	0	is	0.00%
Other states	:	0	is	0.00%



用SWISS-MODEL 预测KT1I蛋白三级结构



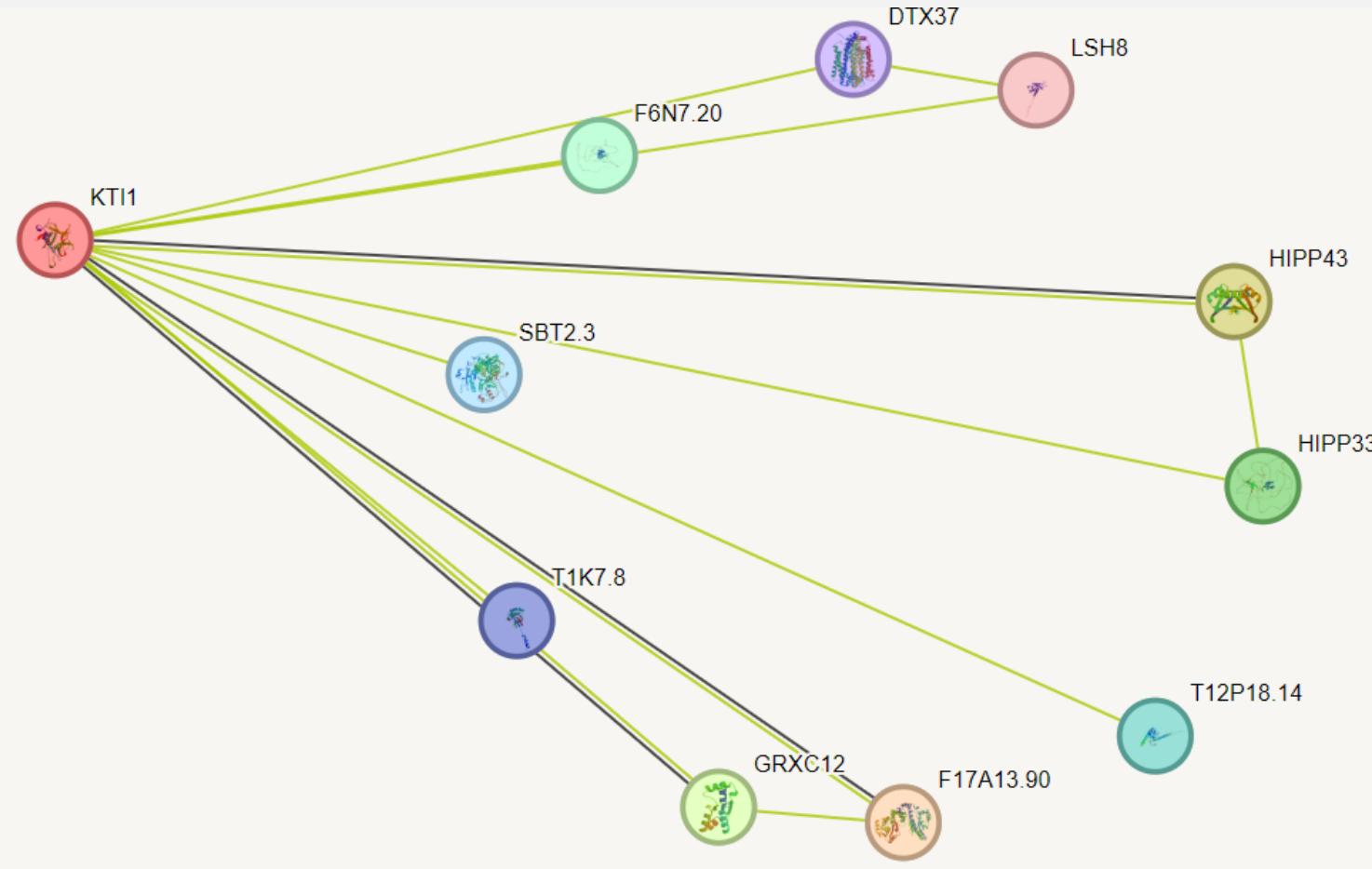
中国农业科学院
CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES



用STRING预测与KTI蛋白互作的蛋白



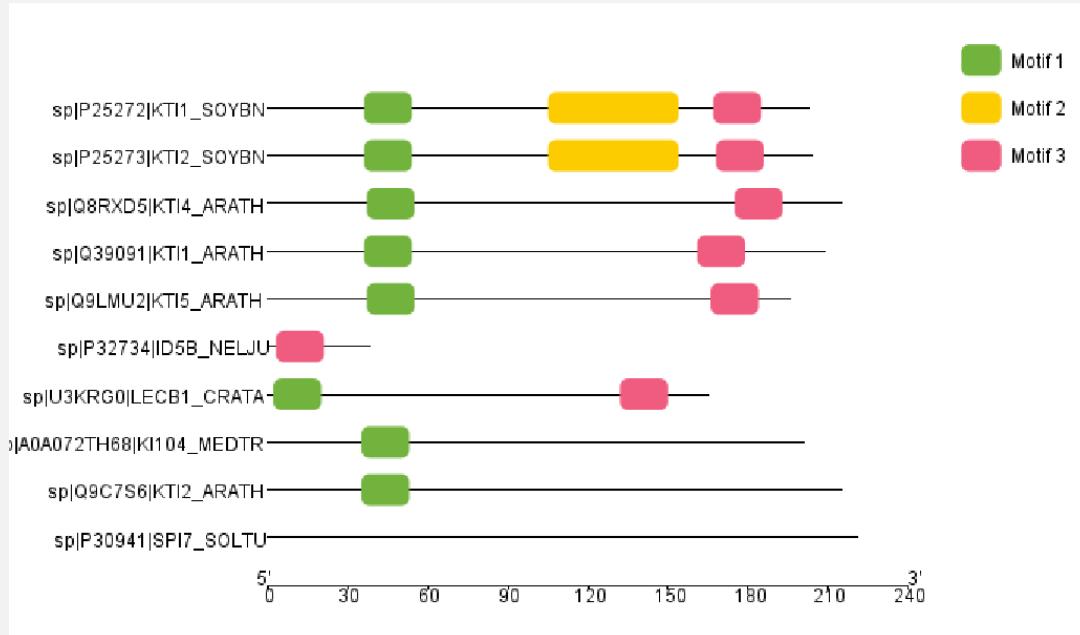
中国农业科学院
CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES



选取10个KTI蛋白序列用 tb tools进行motif预测分析



中国农业科学院
CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES



DISCOVERED MOTIFS

	Logo <small>?</small>	E-value <small>?</small>	Sites <small>?</small>	Width <small>?</small>	More <small>?</small>	Submit/Download <small>?</small>
1.		1.0e-018	7	19	↓	→
2.		2.7e-017	2	50	↓	→
3.		3.3e-017	6	19	↓	→

Stopped because requested number of motifs (3) found.



Part 3

下一步计划



一、

为探究Kunitz蛋白酶抑制剂家族基因KTI对TuMV侵染的响应机制，计划分析对照（Mock，空载体）和TuMV接种后7天的本氏烟系统叶片的转录组数据，看TuMV侵染是否会显著上调KTI家族基因的表达。

二、

将这些基因与拟南芥Kunitz型蛋白酶抑制剂AtKTI1进行进化树分析，选择与AtKTI1进化关系最接近的基因并命名为NbKTI1



中国农业科学院

CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

敬请老师和同学批评指正

