



雨生红球藻中BKT蛋白结构功能 与促进虾青素积累调控

中国农业科学院都市农业研究所

汇报人：张欣悦

2025.04.27



雨生红球藻优势

天然虾青素的最佳来源

the best source of natural astaxanthin

雨生红球藻是目前已知天然虾青素含量最高的微藻。
其虾青素含量可达干重的**5-7%**，远高于其他天然来源（如酵母和甲壳类动物）。

虾青素的结构优势

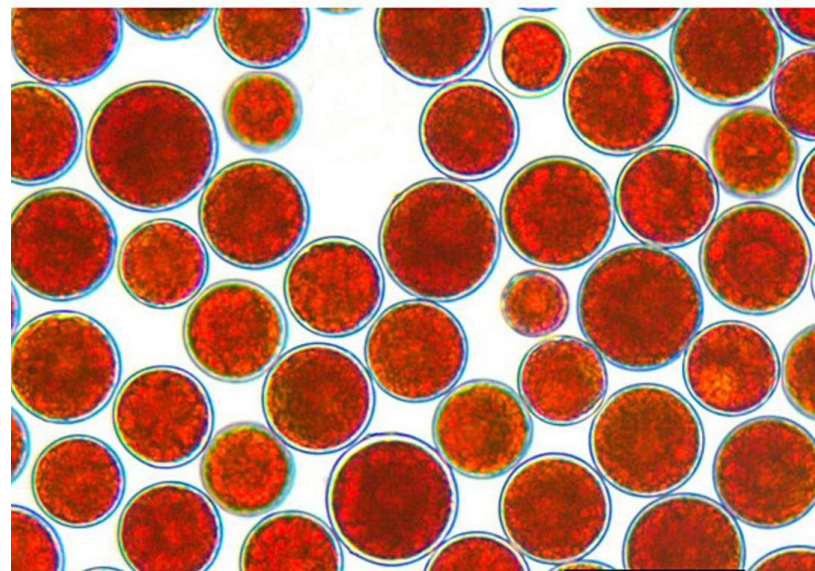
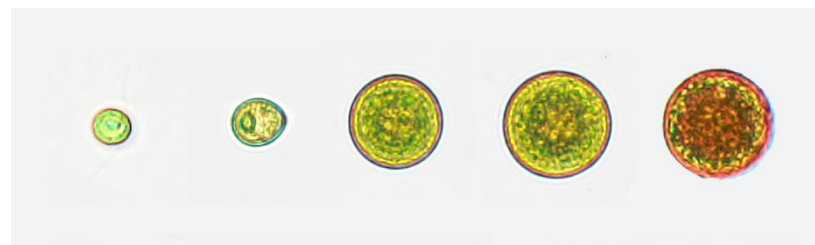
structural advantages of astaxanthin

雨生红球藻产生的虾青素主要为全反式结构（3S,3'S），具有**更强**的生物活性和**稳定性**。
与化学合成的虾青素相比，天然虾青素更**安全**，更适合人类食用。

环境友好性

environmentally friendly

雨生红球藻能够通过光合作用固定二氧化碳，具有**碳中和**技术潜力。



虾青素重要性

强效抗氧化剂

powerful antioxidant

虾青素是一种酮类胡萝卜素，具有**极强的抗氧化能力**，能够清除自由基，保护细胞免受氧化损伤。

其抗氧化能力是维生素E的550倍， β -胡萝卜素的10倍。

健康益处

health benefits

抗炎、抗癌、增强免疫力、保护心血管健康、改善视力等。

在**预防和治疗慢性疾病**（如糖尿病、阿尔茨海默病）方面具有潜在应用价值。

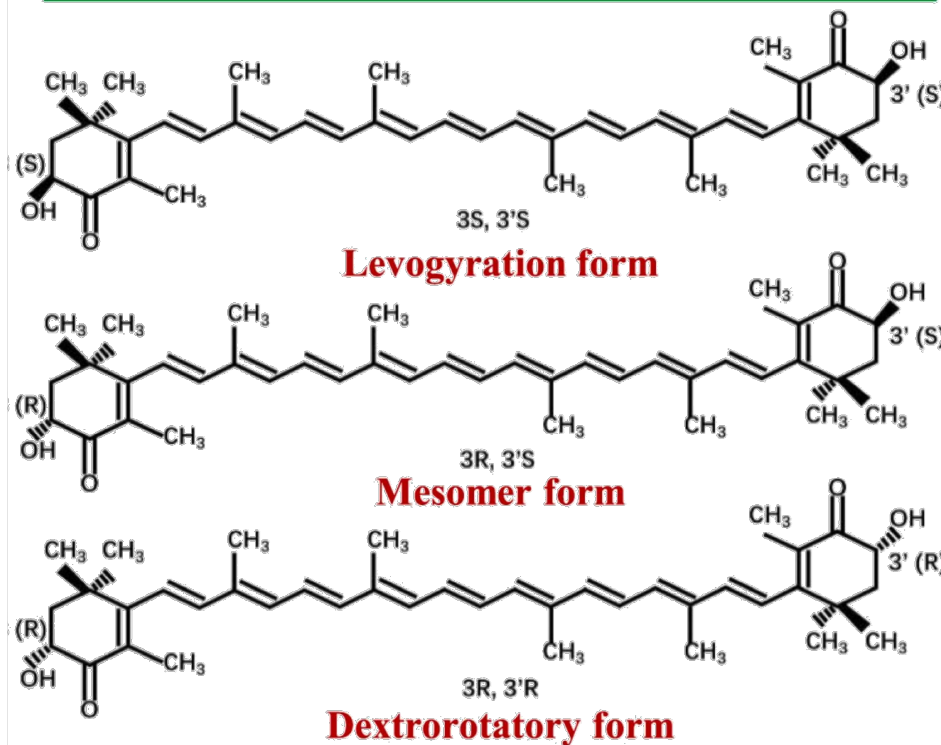
工业应用

industrial applications

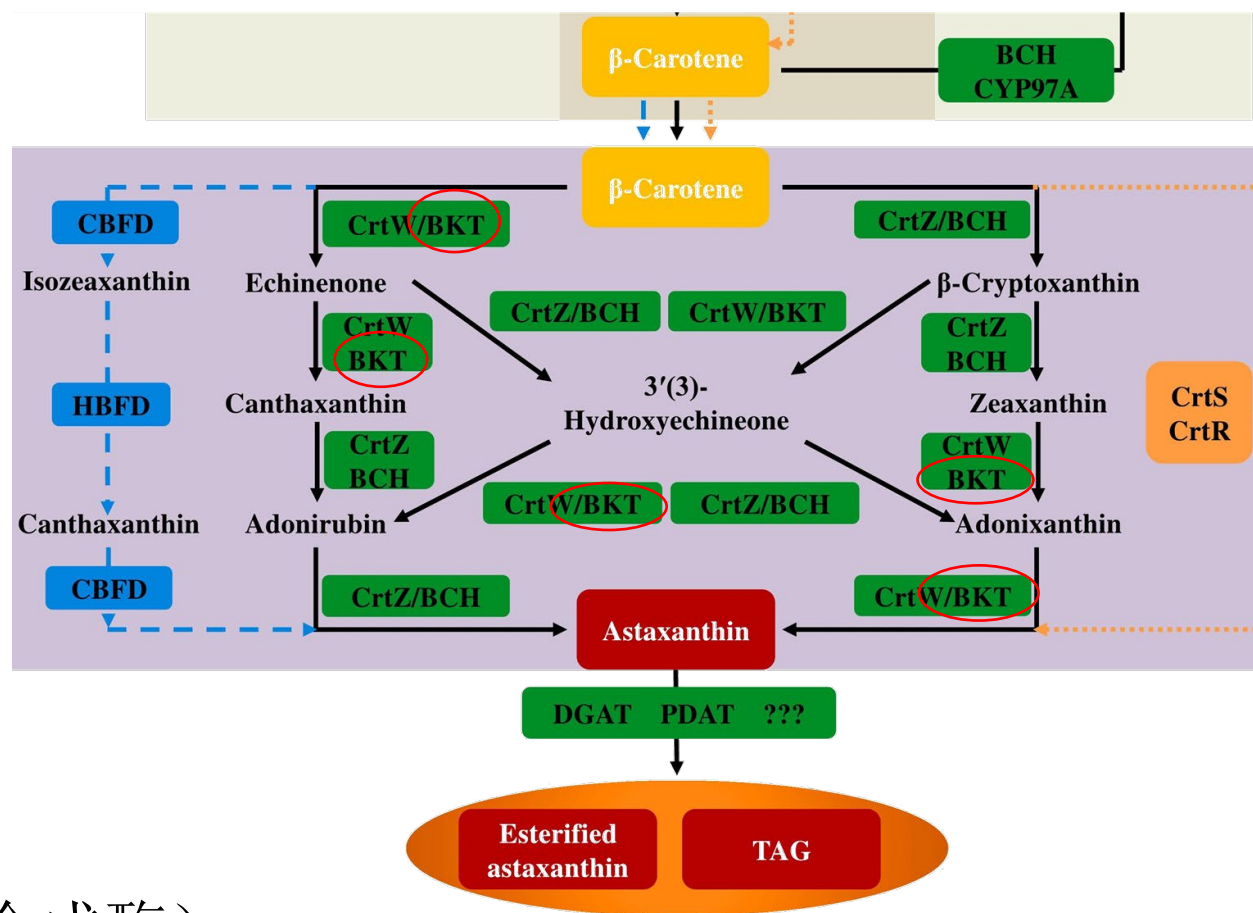
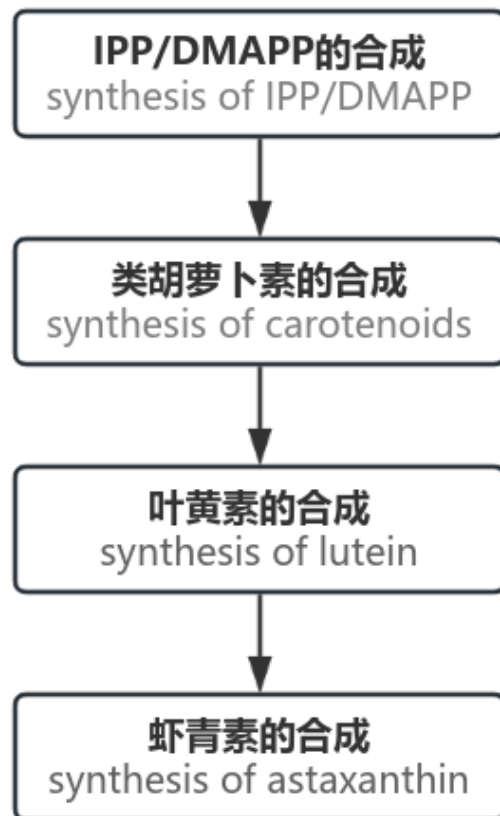
广泛应用于**食品、保健品、化妆品、医药和水产养殖**等领域。

在水产养殖中，虾青素被用作饲料添加剂，以提高鱼虾的色泽和健康水平。

Optical isomer of AXT



雨生红球藻中虾青素合成途径概述



关键限速酶之一：BKT（ β -胡萝卜素合成酶）

#2nd letter GC 54.65%
#3rd letter GC 52.10%

#Codon	AA	Fraction	Frequency	Number
GCA	A	0.364	36.036	24
GCC	A	0.242	24.024	16
GCG	A	0.106	10.511	7
GCT	A	0.288	28.529	19
TGC	C	0.483	21.021	14
TGT	C	0.517	22.523	15
GAC	D	0.464	19.520	13
GAT	D	0.536	22.523	15
GAA	E	0.476	15.015	10
GAG	E	0.524	16.517	11
TTC	F	0.571	6.006	4
TTT	F	0.429	4.505	3
GGA	G	0.123	10.511	7
GGC	G	0.404	34.535	23
GGG	G	0.228	19.520	13
GGT	G	0.246	21.021	14
CAC	H	0.553	31.532	21
CAT	H	0.447	25.526	17

ATA	I	0.375	9.009	6
ATC	I	0.313	7.508	5
ATT	I	0.313	7.508	5
AAA	K	0.385	7.508	5
AAG	K	0.615	12.012	8
CTA	L	0.075	6.006	4
CTC	L	0.094	7.508	5
CTG	L	0.321	25.526	17
CTT	L	0.283	22.523	15
TTA	L	0.038	3.003	2
TTG	L	0.189	15.015	10
ATG	M	1.000	22.523	15
AAC	N	1.000	4.505	3
AAT	N	0.000	0.000	0
CCA	P	0.512	33.033	22
CCC	P	0.209	13.514	9
CCG	P	0.070	4.505	3
CCT	P	0.209	13.514	9
CAA	Q	0.314	24.024	16
CAG	Q	0.686	52.553	35
AGA	R	0.167	12.012	8
AGG	R	0.313	22.523	15
CGA	R	0.083	6.006	4
CGC	R	0.125	9.009	6

CGG	R	0.167	12.012	8
CGT	R	0.146	10.511	7
AGC	S	0.408	30.030	20
AGT	S	0.224	16.517	11
TCA	S	0.224	16.517	11
TCC	S	0.102	7.508	5
TCG	S	0.041	3.003	2
TCT	S	0.000	0.000	0
ACA	T	0.353	27.027	18
ACC	T	0.275	21.021	14
ACG	T	0.137	10.511	7
ACT	T	0.235	18.018	12
GTA	V	0.378	21.021	14
GTC	V	0.162	9.009	6
GTG	V	0.243	13.514	9
GTT	V	0.216	12.012	8
TGG	W	1.000	15.015	10
TAC	Y	0.333	4.505	3
TAT	Y	0.667	9.009	6
TAA	*	0.045	1.502	1
TAG	*	0.455	15.015	10
TGA	*	0.500	16.517	11

Number of amino acids: 276

Molecular weight: 30853.81
Theoretical pI: 7.26

Amino acid composition: CSV format

Ala (A)	32	11.6%
Arg (R)	10	3.6%
Asn (N)	6	2.2%
Asp (D)	10	3.6%
Cys (C)	3	1.1%
Gln (Q)	8	2.9%
Glu (E)	7	2.5%
Gly (G)	17	6.2%
His (H)	14	5.1%
Ile (I)	12	4.3%
Leu (L)	33	12.0%
Lys (K)	7	2.5%
Met (M)	12	4.3%
Phe (F)	18	6.5%
Pro (P)	18	6.5%
Ser (S)	22	8.0%
Thr (T)	15	5.4%
Trp (W)	11	4.0%
Tyr (Y)	8	2.9%
Val (V)	13	4.7%
Pyl (O)	0	0.0%
Sec (U)	0	0.0%

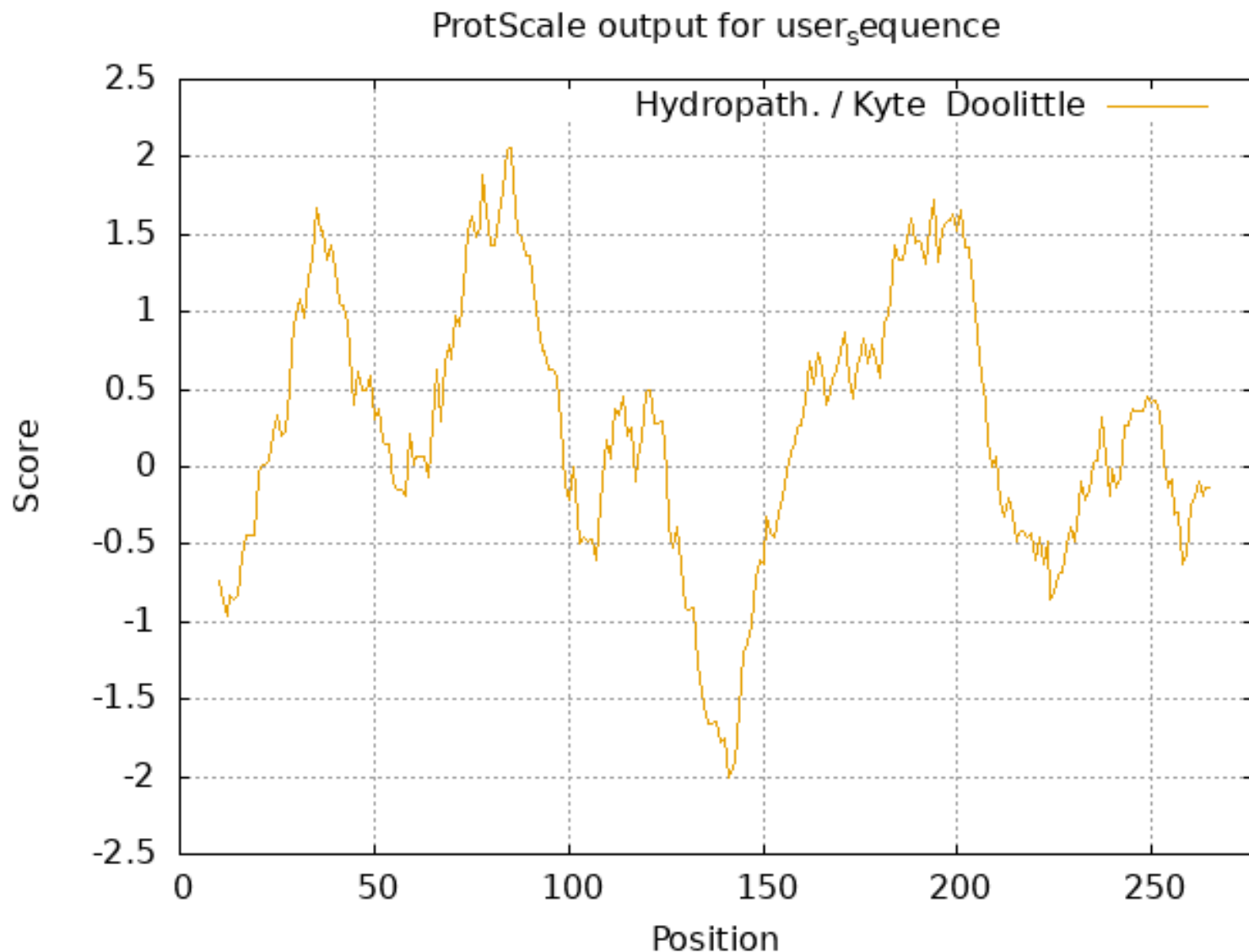
(B)	0	0.0%
(Z)	0	0.0%
(X)	0	0.0%

Total number of negatively charged residues (Asp + Glu): 17
Total number of positively charged residues (Arg + Lys): 17

Instability index:
The instability index (II) is computed to be 48.84
This classifies the protein as unstable.

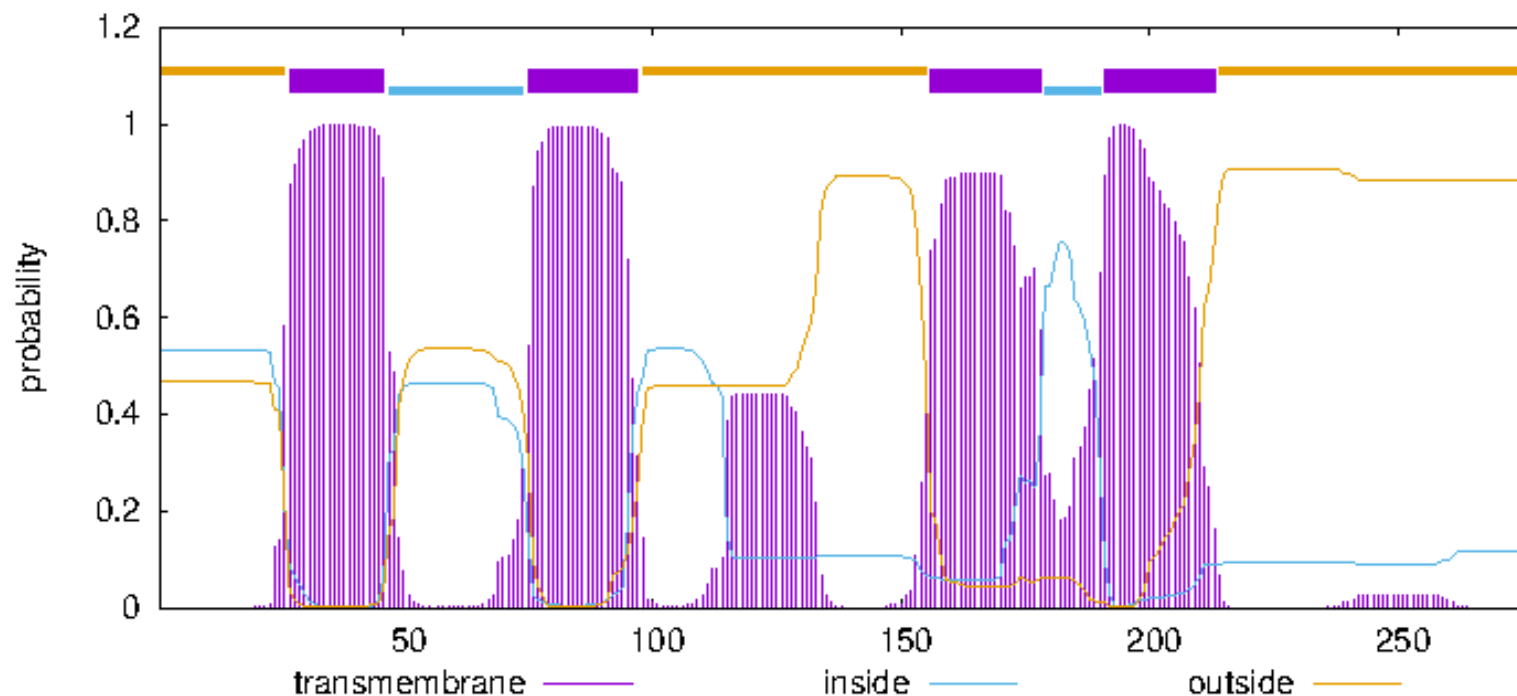
Aliphatic index: 88.84
Grand average of hydropathicity (GRAVY):0.227

Aliphatic Index (脂肪族指数) = 88.84 → 高温稳定性强
Leu (12.0%)、Ala (11.6%) 含量较高→ 表明该蛋白可能疏水性较强，与膜结合或膜嵌入功能有关
不稳定系数：48.84(该蛋白不稳定)
平均亲水性：0.227 (弱疏水蛋白，可能含局部疏水结构域)



纵坐标代表亲水性和疏水性系数，
横坐标代表氨基酸序列。
三个明显的疏水峰（得分 >1），
可能存在三个关键的疏水区域。

TMHMM posterior probabilities for tr|Q8LJQ2|Q8LJQ2_HAELA



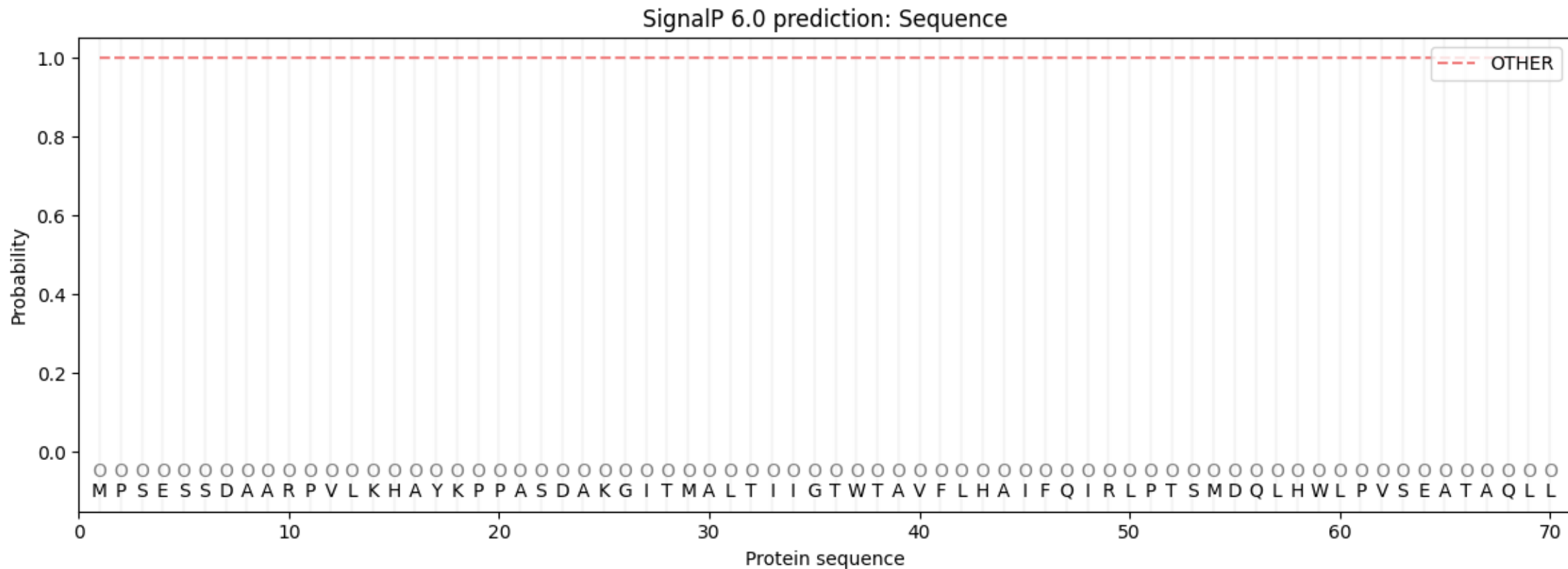
WEBSEQUENCE Length: 276
WEBSEQUENCE Number of predicted TMHs: 4
WEBSEQUENCE Exp number of AAs in TMHs: 93.5007600000001
WEBSEQUENCE Exp number, first 60 AAs: 21.61425
WEBSEQUENCE Total prob of N-in: 0.53332
WEBSEQUENCE POSSIBLE N-term signal sequence

典型的膜蛋白，
具有4个跨膜区，
有可能存在 N端信号肽。

(TMHMM)

±	TYPE	ID	POSITION(S)	DESCRIPTION	
+	Transmembrane		27-46	Helical	Automatic Annotation Tools Add
+	Transmembrane		66-90	Helical	Automatic Annotation Tools Add
+	Transmembrane		155-177	Helical	Automatic Annotation Tools Add
+	Transmembrane		189-209	Helical	Automatic Annotation Tools Add

(UniProt)



信号肽数量为0，为非经典分泌蛋白，
膜结合特性可能直接参与底物（ β -胡萝卜素）的摄取或修饰。

通过SOPMA对该多肽进行二级结构分析

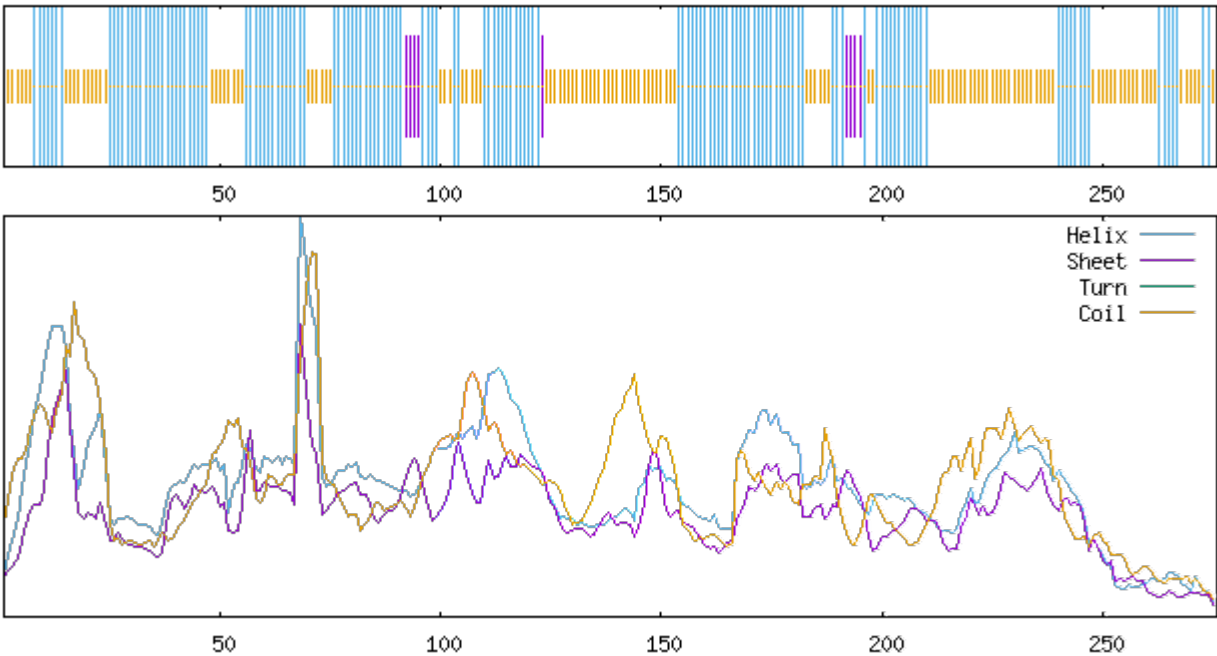
10 20 30 40 50 60 70

MPSESSDAARPVLKHAYKPPASDAKGITMALTIIGTWTAFLHAIFQIRLPTSMQDLHWLPVSEATAQLL
ccccccchhhhhhccccccccchhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhccccchhhhhhhhhhhhh
GGSSSLHIAAVFIVLEFLYTGLFITTHDAMHGTLALNRQLNDLLGNICISLYAFDYSMHWEHNHTG
ccccchhhhhhhhhhhhhheeehhhhccchccccchhhhhhhhhhhhecccccccccccccccc
EVGKDPDFHKGNPGLVPWFASFMSYMSLWQFARLAWWAVVMQTLGAPMANLLVFMAAAPILSAFRLFYF
ccccccccccccchhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhccccchhhheeehccchhhhhhhhh
GTYLPHKPEPGPAAGSQVMSWFRAKTSEASDVMSFLTCYHFDLFAPWWQLPHCRRLSGRGLVPALA
hccccccccccccccccccccccccchhhhhhhhhccccccccccccchhhhhccccchhc

Sequence length : 276

SOPMA :

Alpha helix	(Hh) :	139 is	50.36%
3 ₁₀ helix	(Gg) :	0 is	0.00%
Pi helix	(Ii) :	0 is	0.00%
Beta bridge	(Bb) :	0 is	0.00%
Extended strand	(Ee) :	9 is	3.26%
Beta turn	(Tt) :	0 is	0.00%
Bend region	(Ss) :	0 is	0.00%
Random coil	(Cc) :	128 is	46.38%
Ambiguous states (?)	:	0 is	0.00%
Other states	:	0 is	0.00%



Parameters :

Window width : 17

Similarity threshold : 8

Number of states : 3

α-螺旋 (Alpha helix, Hh) : 占比 50.36%，是主要结构，表明该蛋白可能具有稳定的螺旋区域，可能参与形成蛋白质的核心结构或功能域（如DNA结合、跨膜区等）。

无规卷曲 (Random coil, CC) : 占比 46.38%，比例较高，蛋白存在较多柔性区域，可能参与动态功能（如信号传导、蛋白相互作用）。

延伸链 (Extended strand, Ee) : 仅占 3.26%，β-折叠结构极少，说明该蛋白可能不依赖β-折叠形成稳定结构。 (SOPMA)

研究背景

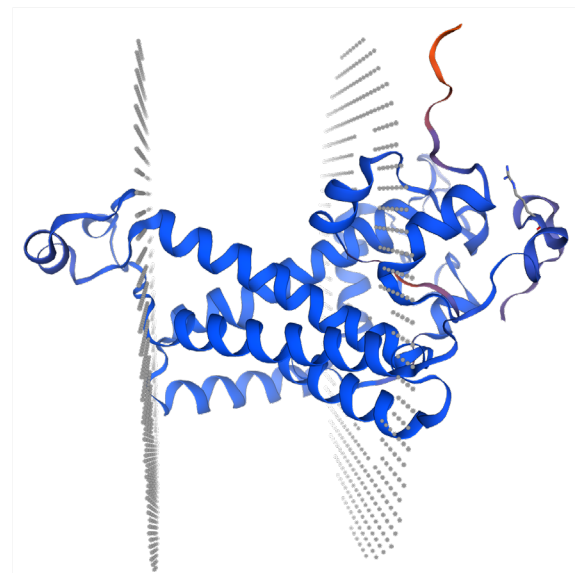
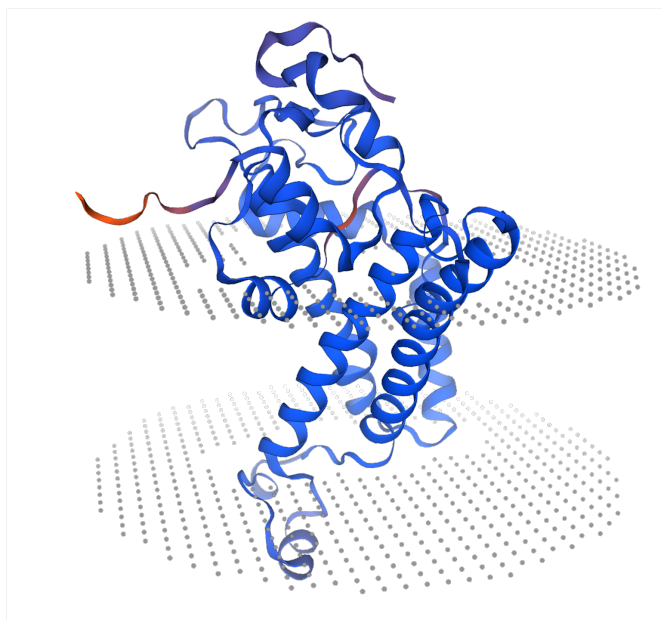
理化性质

蛋白结构

保守分析

系统进化

综合分析



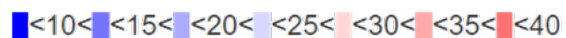
具有跨膜片段

Score Schemes

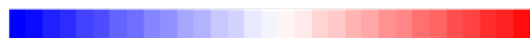
SOA
(Solvent
Accessibility)

Low SOA -> High SOA

B-factor



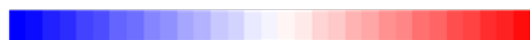
Low disorder -> High Disorder

B-factor
range

Low disorder -> High Disorder.

Range is between the minimum and maximum B-factor values present in the structure.

Entropy



Low Entropy -> High Entropy;

High Conservation -> Low Conservation

(SWISS-MODEL)

DISCOVERED MOTIFS

	Logo ?	E-value ?	Sites ?	Width ?	More ?	Submit/Download ?
1.		1.3e+000	3	6	↓	---->
2.		5.7e+001	2	7	↓	---->
3.		9.7e+001	2	6	↓	---->
Stopped because requested number of motifs (3) found.						

E值范围	显著性	生物学意义
E < 0.05	高度显著	极可能具有功能（如酶活性位点）
0.05 ≤ E < 1	较显著	可能功能相关，需实验验证
E ≥ 1	不显著	可能为随机匹配，需谨慎对待

Name	p-value	Motif Locations
tr Q8LJQ2 Q8LJQ2_HAELA	2.81e-14	

Motif	Symbol	Motif Consensus
1.		HKGEPG
2.		KPSEASD
3.		NICRRL

验证Motif 1的功能：构建H→A或C→S突变体，检测酶活性和虾青素积累变化。

研究调控作用：敲除/过表达含Motif 2-3的序列，观察转录水平是否影响BKT表达。

ConSurf Results for job:BKT



The conservation scale:



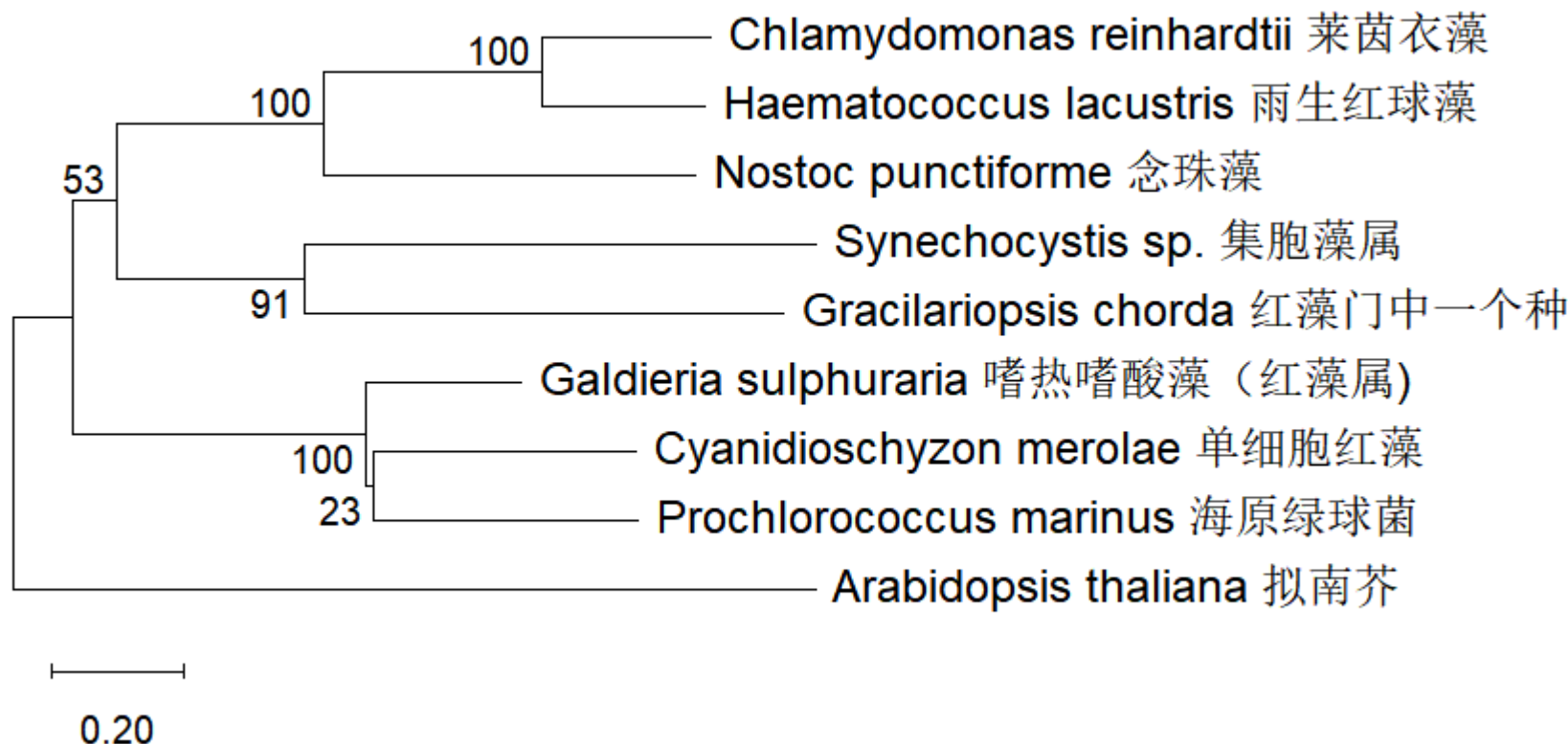
Variable Average Conserved

- e - An exposed residue according to the neural network algorithm.
- b - A buried residue according to the neural network algorithm.
- f - A predicted functional residue (highly conserved and exposed).
- s - A predicted structural residue (highly conserved and buried).
- x - Insufficient data - the calculation for this site was performed on less than 10% of the sequences.

BKT在不同物种中的相关信息

物种名	拉丁名	Accession	AA长度	是否人工审阅
雨生红球藻	Haematococcus lacustris	Q8LJQ2	276	×
莱茵衣藻	Chlamydomonas reinhardtii	Q4VKB4	444	√
念珠藻	Nostoc punctiforme	B2IZ40	253	×
集胞藻属	Synechocystis sp.	P20388	351	√
红藻门	Gracilariopsis chorda	A0A2V3J653	386	×
嗜热嗜酸菌	Galdieria sulphuraria	M2XEP7	260	×
单细胞红藻	Cyanidioschyzon merolae	Q85G65	259	×
海原绿球菌	Prochlorococcus marinus	A9BDK4	341	×
拟南芥	Arabidopsis thaliana	A0A1I9LSQ0	215	×

BKT在不同物种的系统发生树



	Species/Abbrv	
单细胞红藻	1. sp Q4VKB4 BKT CHLRE	M G P G I Q P T S A R P C S R T K H S R F A L L A A A L T A R R V K Q F T K Q F R S R R M A E D I L K L W R Q R Y H L P R E D S D K R T L R E R V H L Y R P P R S D L G G I A V A V T V I A L W A T L F V Y G L W F V K L P ----- W A L K V G E T -
	2. tr Q85G65 Q85G65 CYAM1	----- M N S L L F F L S V S L T L V S L I G Y V M H M P L S V C F V F N -----
	3. sp P20388 DESA SYN73	----- M T A I I P P L T P T V T P S N P D R P I A D L K L Q D I I K T L P K E C F E K K A S K A W A S V L I T L G A I A V G Y L G I I Y L P -----
	4. tr A0A1I9LSQ0 A0A1I9LSQ0 ARATH	----- M Y V I T G G I G I E Y S N P T L A S A I G N I V F -----
嗜热嗜酸菌	5. tr B2IZ40 B2IZ40 NOSPF	----- M I Q L E Q P L S H Q A K L T P V L R S K S Q F K G L F I A I V I V S A W V I S L S L L L S L D I S K -----
	6. tr M2XEP7 M2XEP7 GALSU	----- M F C S I V S Y L Y F K ----- I N I Y A C F I I N -----
雨生红球藻	7. tr A0A2V3J653 A0A2V3J653 9FLOR	----- M A P S A D H Y P V P T H S S A P N K R T T L K D L N V Y G D V A V A P S S V V P L E E I P T L A E I K R H I P A H C F R P S L A R S I Y Y V I R D L V P L S S L Y A A Y L T H G -----
	8. tr A9BDK4 A9BDK4 PROM4	----- M I Q I L D V A Q A K E V S E K S Q S F A F W Q K V I K D Y L D P P --- D S I N P T V A L F L G G Y I A F L T I W Q W Y E G D W P L P V L ---
	9. tr Q8LJQ2 Q8LJQ2 HAEA	----- M P E S S D - A A R P V L K H A Y K P P A S D A K G I T M A L T I I G T W T A V F L H A I F Q I R L P T S M D Q L H W L P V S E A T A -----

(MEGA)

优化方向	具体策略	理论依据
提升蛋白结构稳定性	定点突变，参考嗜热藻BKT的保守疏水位点；重点突变区域集中在跨膜区和催化核心	进化树和比对结果显示，嗜热嗜酸物种BKT在高温稳定，序列中疏水性氨基酸比例更高，特别是在膜区
优化膜结合能力	优化跨膜区氨基酸，增加V、L、I等疏水残基比例	跨膜稳定直接影响底物结合效率
提升基因表达水平	高GC密码子替换为低GC同义密码子等等	GC-rich区域可能导致核糖体暂停或脱落
增加底物供应	共表达β-胡萝卜素合成通路中的PSY、BCH等关键基因	虾青素合成路径为β-胡萝卜素经BKT催化生成，底物充足是提高产率的必要条件



请大家批评指正！