

一种玉米特异性转录因子 功能预测及分析

曹宇

2013-1-14

研究背景

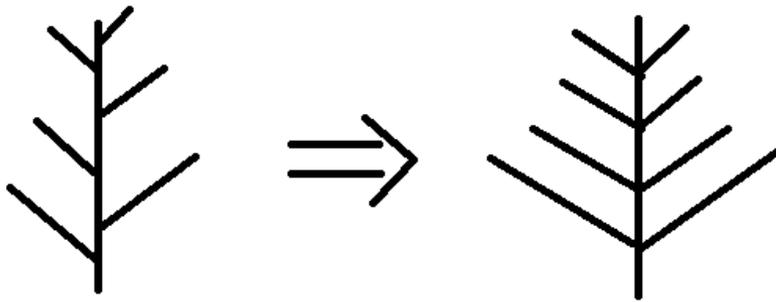
玉米种属特异性转录因子的定义：

与水稻同源蛋白相比，氨基酸序列（数据来源maizeGDB）相似程度低于60%的玉米转录因子可以归类为玉米特异性转录因子。

将克隆得到的转录因子，与激活肽/抑制肽融合，通过农杆菌感染玉米幼胚的方法获得转基因愈伤组织，并诱导成转基因苗。

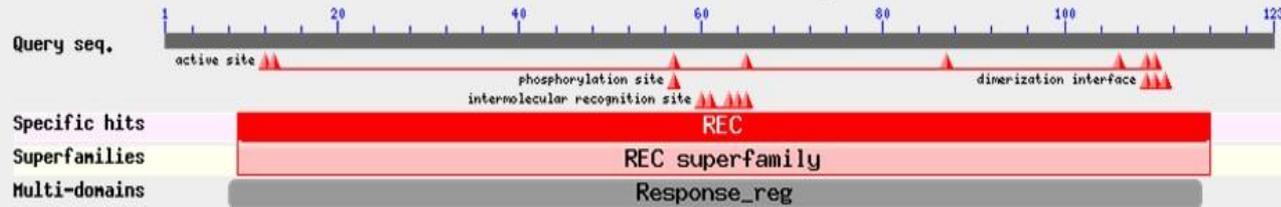
研究现状

- 观察发现基因号
GRMZM2G090264
(以下基因简称为**264**)
的苗，部分植株株型
有比较明显的改变。
(叶由互生变为对生)



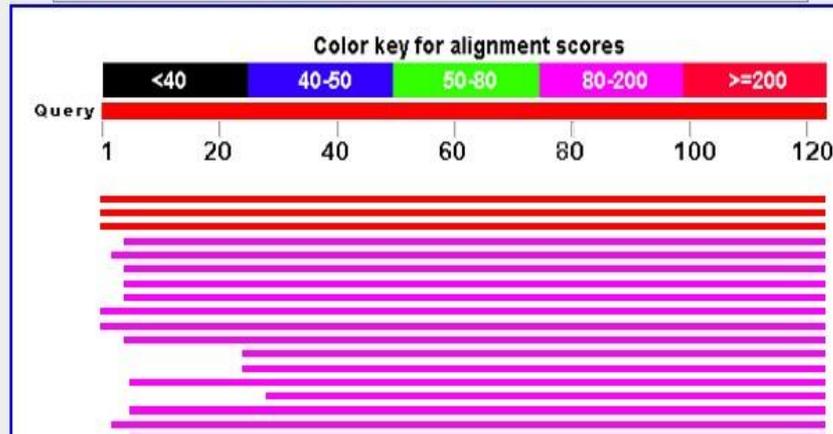
氨基酸序列比对

Putative conserved domains have been detected, click on the image below for detailed results.



Distribution of 100 Blast Hits on the Query Sequence

Mouse-over to show define and scores, click to show alignments



氨基酸序列分析

Alignments Download GenPept Graphics Distance tree of results Multiple alignment

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> TPA: hypothetical protein ZEAMMB73_704016 [Zea mays]	250	250	100%	2e-83	100%	DAA49231.1
<input checked="" type="checkbox"/> hypothetical protein SORBIDRAFT_02g028660 [Sorghum bicolor] >gb EER99112.1 hypothetical protein SORBIDRAFT_02g028660 [Sorghum bicol	236	236	100%	8e-78	91%	XP_002462591.1
<input type="checkbox"/> hypothetical protein SORBIDRAFT_07g015180 [Sorghum bicolor] >gb EES14894.1 hypothetical protein SORBIDRAFT_07g015180 [Sorghum bicol	217	217	100%	2e-70	85%	XP_002445399.1
<input checked="" type="checkbox"/> typeA response regulator 12 [Orza sativa Japonica Group] >tpd FAA00271.1 TPA: A-type response regulator [Orza sativa Japonica Group]	167	167	96%	1e-50	66%	BAE79358.1
<input checked="" type="checkbox"/> PREDICTED: two-component response regulator ARR8-like [Brachypodium distachyon]	164	164	98%	2e-49	64%	XP_003570898.1
<input checked="" type="checkbox"/> typeA response regulator 13 [Orza sativa Japonica Group]	163	163	96%	4e-49	65%	BAE79359.1
<input type="checkbox"/> putative response regulator [Orza sativa Japonica Group] >dbj BAD05296.1 putative response regulator [Orza sativa Japonica Group] >emb CAI7!	162	162	96%	5e-49	64%	BAC45098.1
<input type="checkbox"/> hypothetical protein Osl_29053 [Orza sativa Indica Group]	159	159	96%	5e-47	62%	EAZ06809.1
<input checked="" type="checkbox"/> response regulator [Zea mays] >gb AFW62037.1 response regulator [Zea mays]	154	154	100%	8e-46	63%	CAJ29968.1

氨基酸序列相似性比较高的物种有：高粱**91%**；水稻**66%**；二穗短柄草**64%**。初步判断此类蛋白为单子叶植物特有。

结构预测及分析

- 三维结构预测
- 结构域预测
- 活性区域的初步分析
- 功能的预测（文献）

结构预测

NCBI结构域预测结果：

264蛋白结构属于REC超家族。

REC超家族主要特征：

5股 α 螺旋与5股 β 折叠交替排列。其中包括：一个磷酸化位点（57位天冬氨酸）；一个蛋白互作区域（第4第5股 α 螺旋与第5个 β 折叠）；一个功能活性区（一个富含酸性氨基酸的“口袋”）

264蛋白质三维结构的预测



<http://www.fundp.ac.be/sciences/biologie/urbm/bioinfo/esypred/>

结构域预测

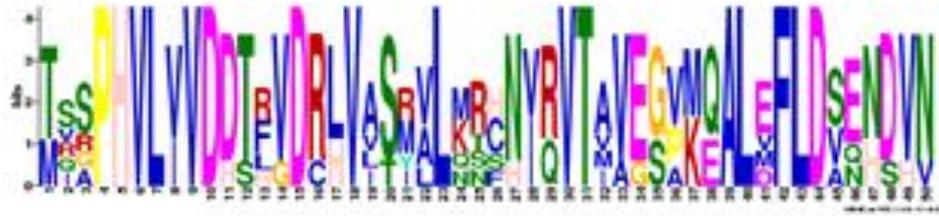
Motif 1

- 1.7e-131
- 6 sites



Motif 2

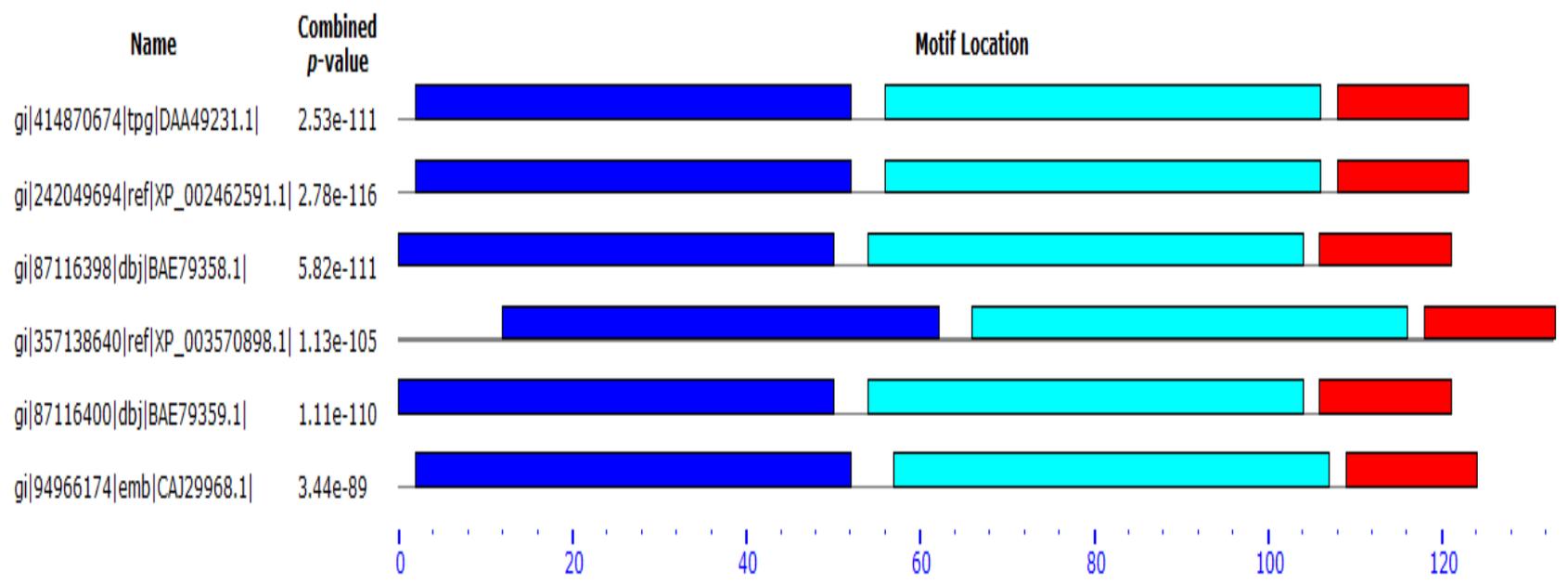
- 2.8e-084
- 6 sites



Motif 3

- 1.0e-018
- 6 sites





同源蛋白的文献

- Overexpression of a Type-A Response Regulator Alters Rice Morphology and Cytokinin Metabolism

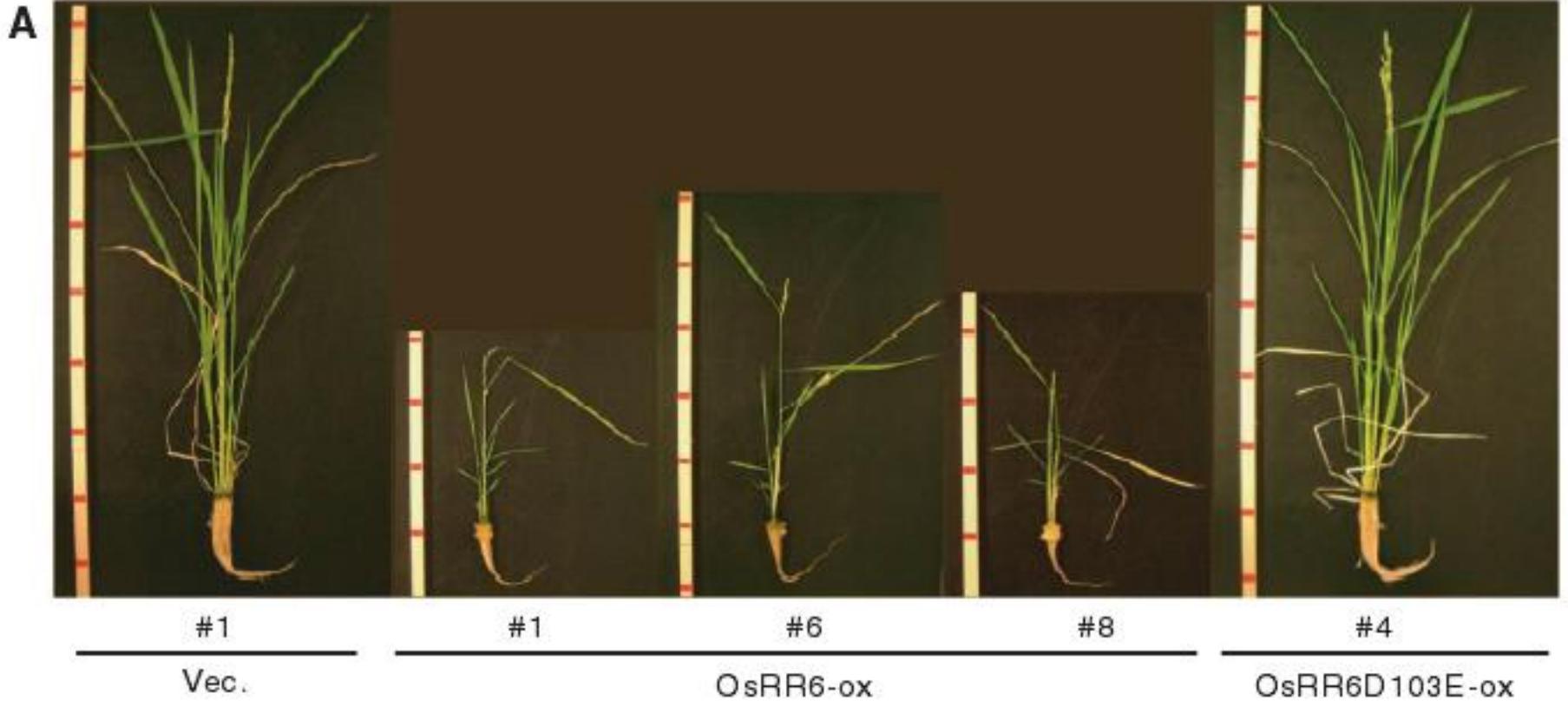
一个A型反应调节因子过表达对水稻形态学以及细胞分裂素（CK）的影响

Plant Cell Physiol.48(3):523–539(2007)

文献主要内容

- **GFP**核定位主要集中在细胞质中
- 通过农杆菌转化，将该基因过表达载体（水稻**actin**启动子）转入水稻中。发现对愈伤组织芽分化有抑制。转基因苗矮小，根系不发达，对花序有影响。
- 将基因中预测得到的磷酸化位点——**103位**的天冬氨酸突变为谷氨酸后，过表达植株的性状基本恢复到野生型状态。
- 主要与细胞分裂素的分解代谢相关。

文献内容

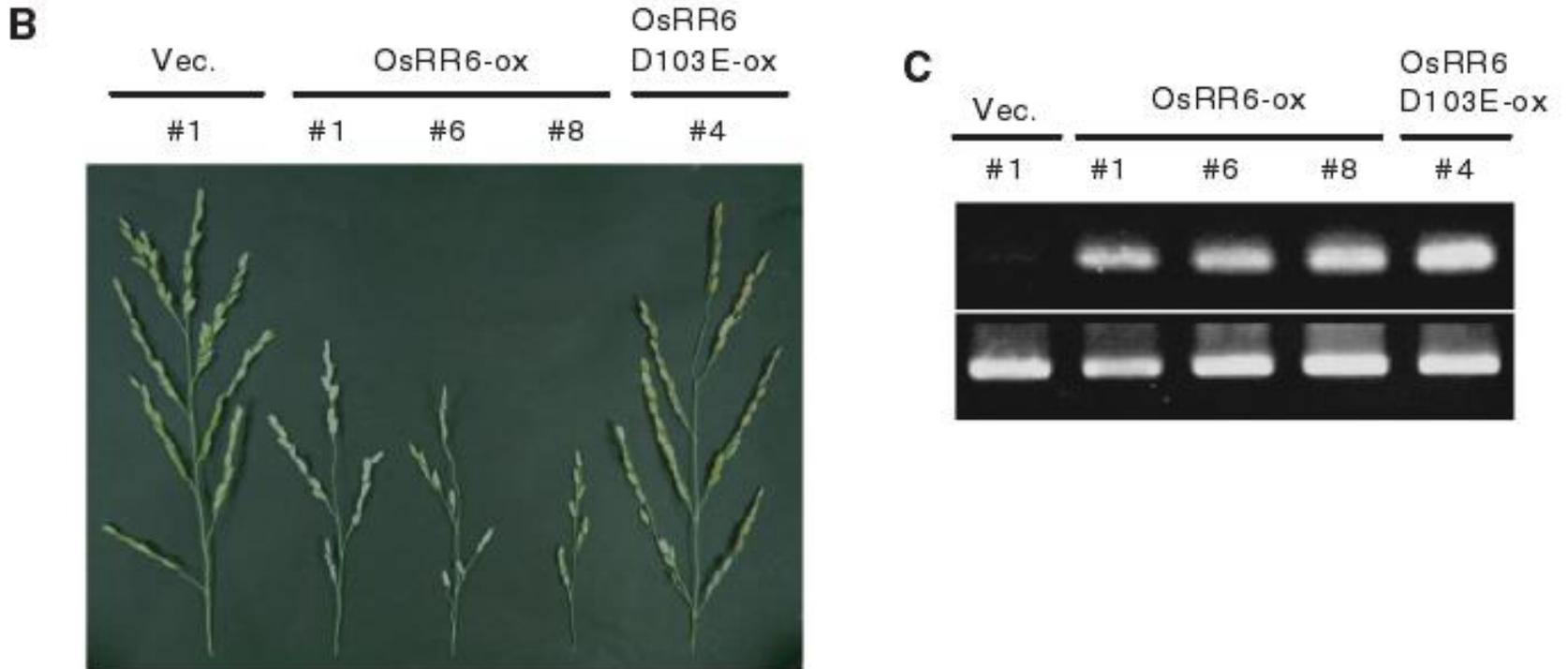


左：野生型

中：过表达植株

右：蛋白点突变植株

文献内容



对264蛋白的分析

- 很可能是一个信号应答因子
- 无DNA结合域，很可能不直接定位在细胞核；
- 受磷酸化调控，可能形成二聚体或与其他蛋白相互作用。

接下来的工作

- **GFP核定位；**
- **推测该蛋白所处代谢通路，用Qreal-timePCR验证；**
- **寻找与之互作的蛋白质以及受其调控的核苷酸序列（CHIP）**

谢谢