

TRIM5蛋白的结构和功能分析

G15小组

孙 超：82101112443

张 越：82101114015

李晓芳：82101112441

范朋举：82101112462

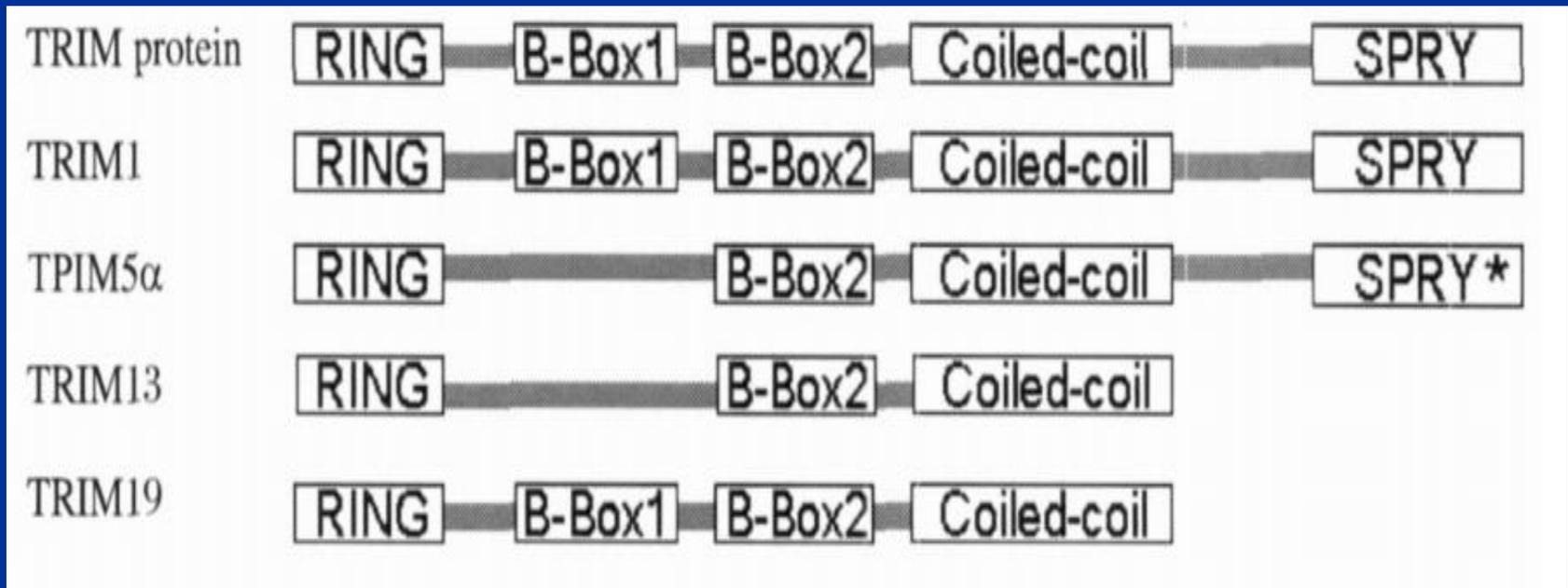
■ 一、简介

■ 二、人TRIM5蛋白的分析

■ 三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

一、简介

■ TRIM (Tripartite motif protein) 家族蛋白, 又称为三重基序蛋白, 它们均含有 RING、B box 和 Coiled Coil 三个结构域。



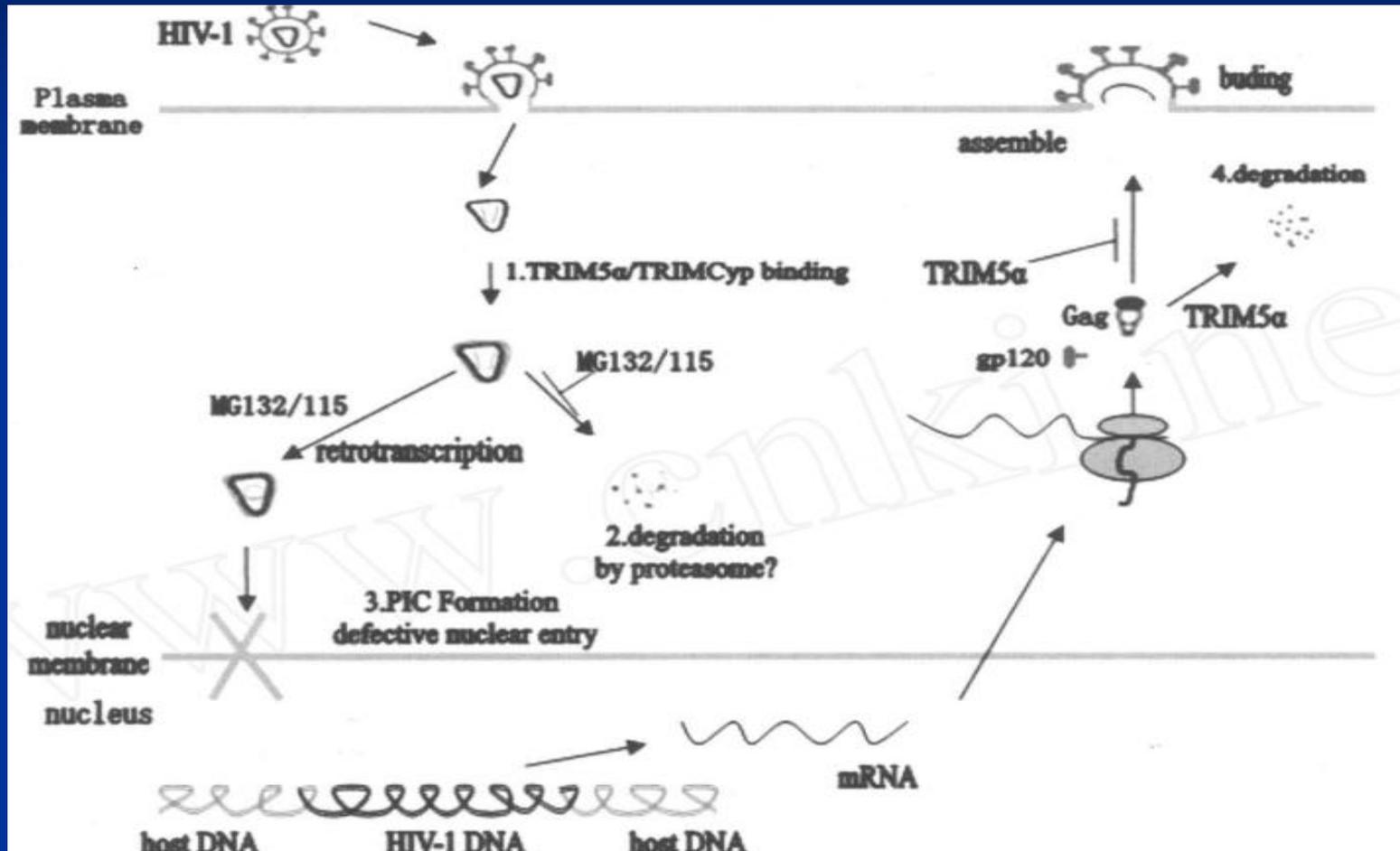
TRIM 家族及其蛋白结构域示意图

一、简介

- TRIM 家族蛋白广泛分布于各种哺乳动物细胞中, 具有众多功能, 与细胞的分裂、生长、分化和成熟都有密切关系。

TRIM 家族成员之一 TRIM5 是哺乳动物细胞中一种重要的限制因子, 它们以一种物种依赖的方式限制包括 HIV-1 (Human immunodeficiency virus type 1) 在内的多种逆转录病毒复制。

一、简介



TRIM5 限制 HIV—1 复制机制

一、简介

- TRIM5有如此重要的作用，我们将运用生物信息学软件，对它的一级结构，二级结构，三级结构等进行分析，从它的结构分析上推断它的可能的生物学功能。将有利于更加深入的了解。TRIM5 限制 HIV-1 的机制,对基于 TRIM5 分子的生物治疗方案、药物开发和疫苗设计提供重要的科学依据，以及对建立更为理想的非人灵长类动物 HIV/ AIDS模型也具有十分重要的意义。

二、人TRIM5蛋白的分析

2.1 人TRIM5蛋白的理化性质分析（使用ProtParam）

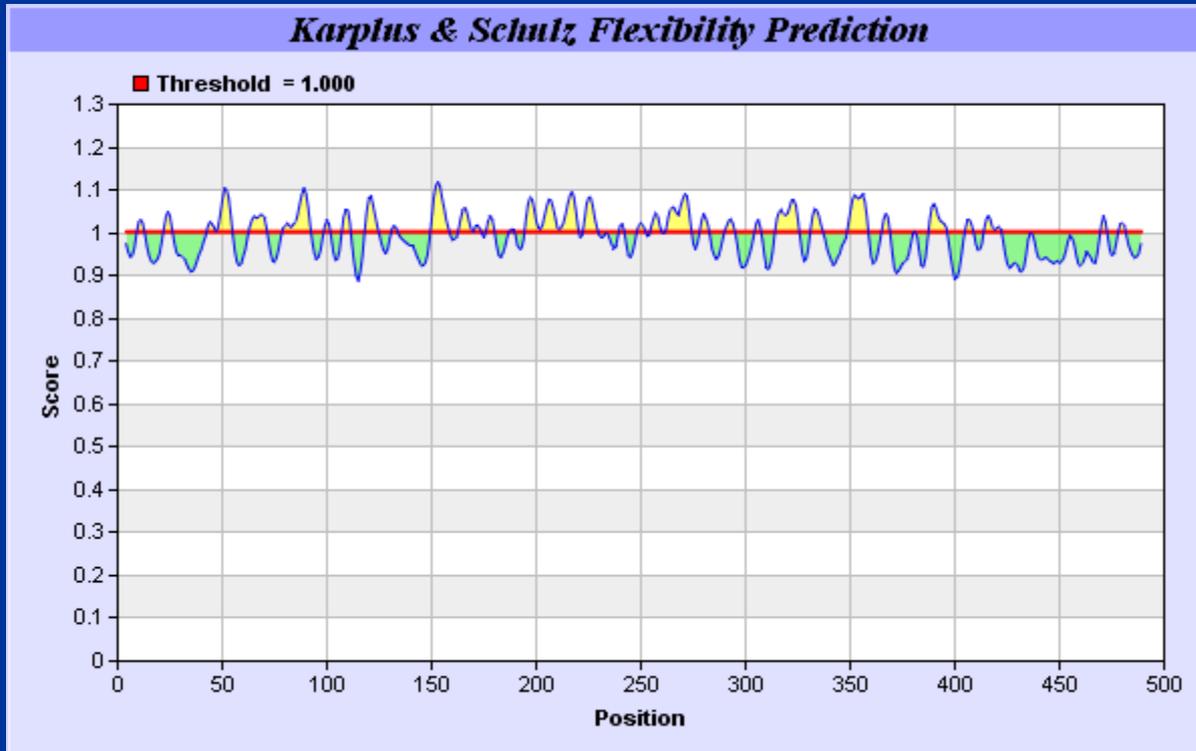
序列长度: **493aa** 等电点: **5.73**

| 氨基酸 | 比列 | 氨基酸 | 比列 | 氨基酸 | 比列 | 氨基酸 | 比列 |
|---------|------|----------------|-------------|----------------|-------------|----------------|-------------|
| Ala (A) | 4.3% | Gln (Q) | 5.9% | Leu (L) | 8.9% | Ser (S) | 7.3% |
| Arg (R) | 5.1% | Glu (E) | 9.3% | Lys (K) | 6.3% | Thr (T) | 4.9% |
| Asn (N) | 4.3% | Gly (G) | 4.9% | Met (M) | 1.6% | Trp (W) | 1.4% |
| Asp (D) | 4.3% | His (H) | 2.6% | Phe (F) | 4.1% | Tyr (Y) | 2.8% |
| Cys (C) | 4.3% | Ile (I) | 5.3% | Pro (P) | 4.7% | Val (V) | 7.9% |

二、人TRIM5蛋白的分析

柔韧性:

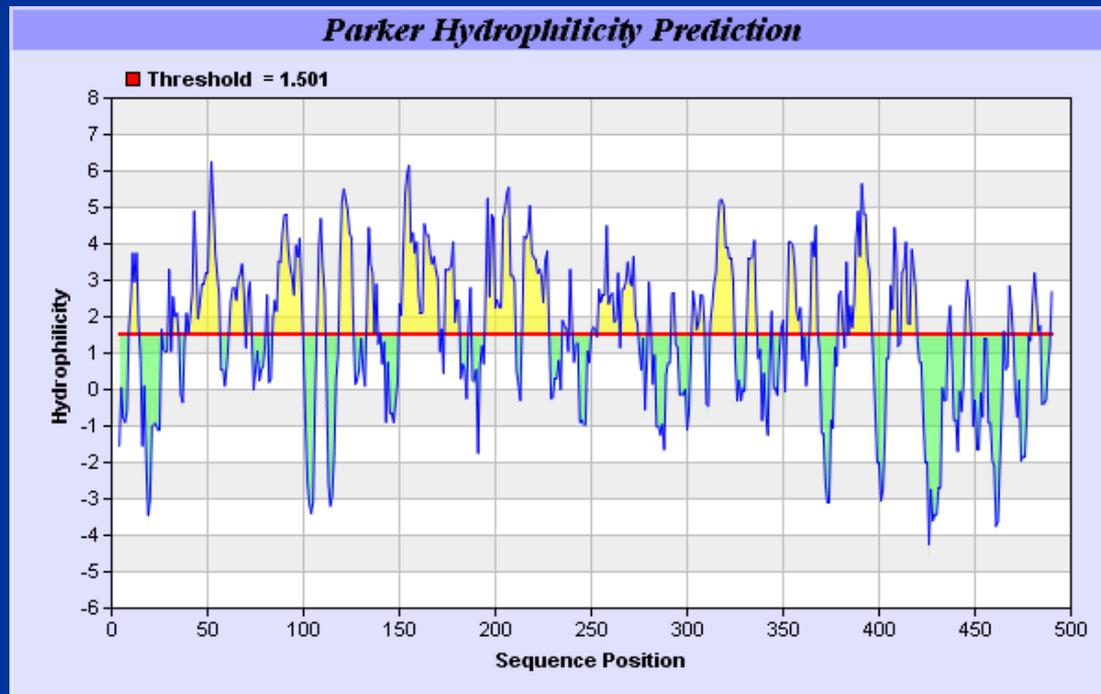
柔韧性参数是肽骨架自由伸展卷曲的程度，一定的柔韧性有利于与其它蛋白结合在下图中（横轴为E蛋白氨基酸区段，纵轴为柔韧度值）中，高于阈值基线1.0的氨基酸区段具有较好的柔韧性。



二、人TRIM5蛋白的分析

亲水性:

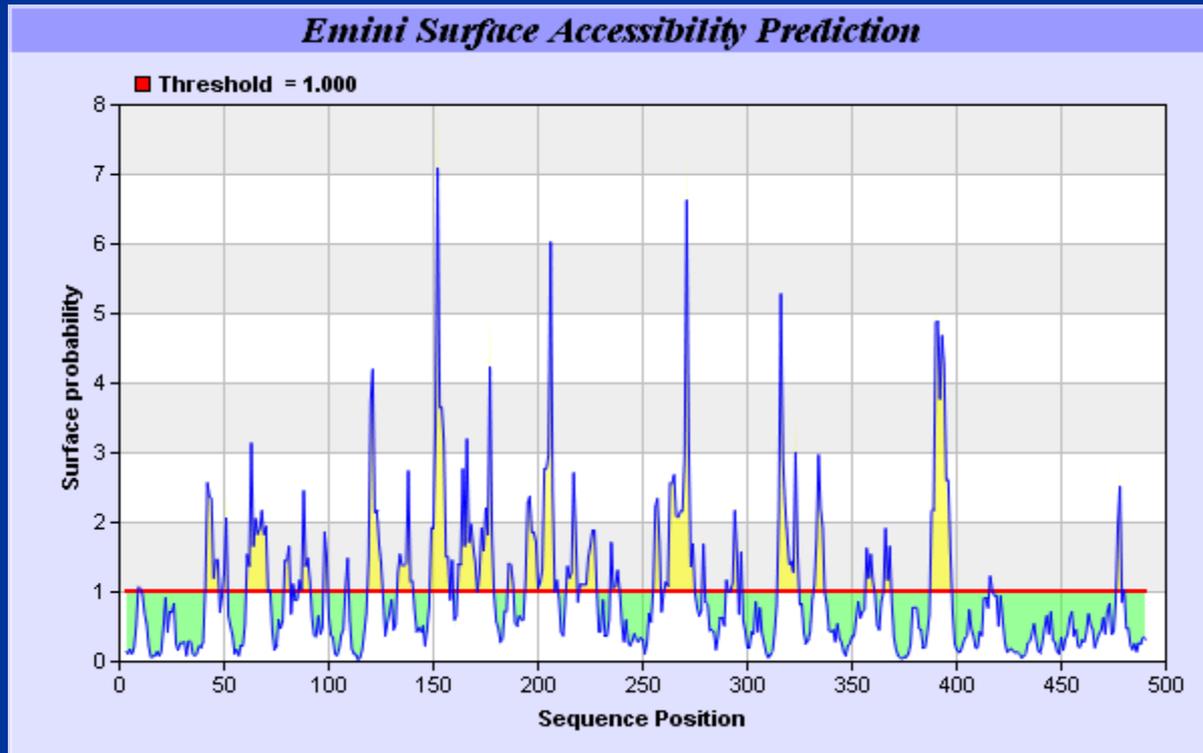
蛋白质抗原的氨基酸残基可分为亲水性残基和疏水性残基两大类。在体内，疏水性残基一般埋在蛋白质内部，而亲水性残基位于表面。



二、人TRIM5蛋白的分析

可及性参数:

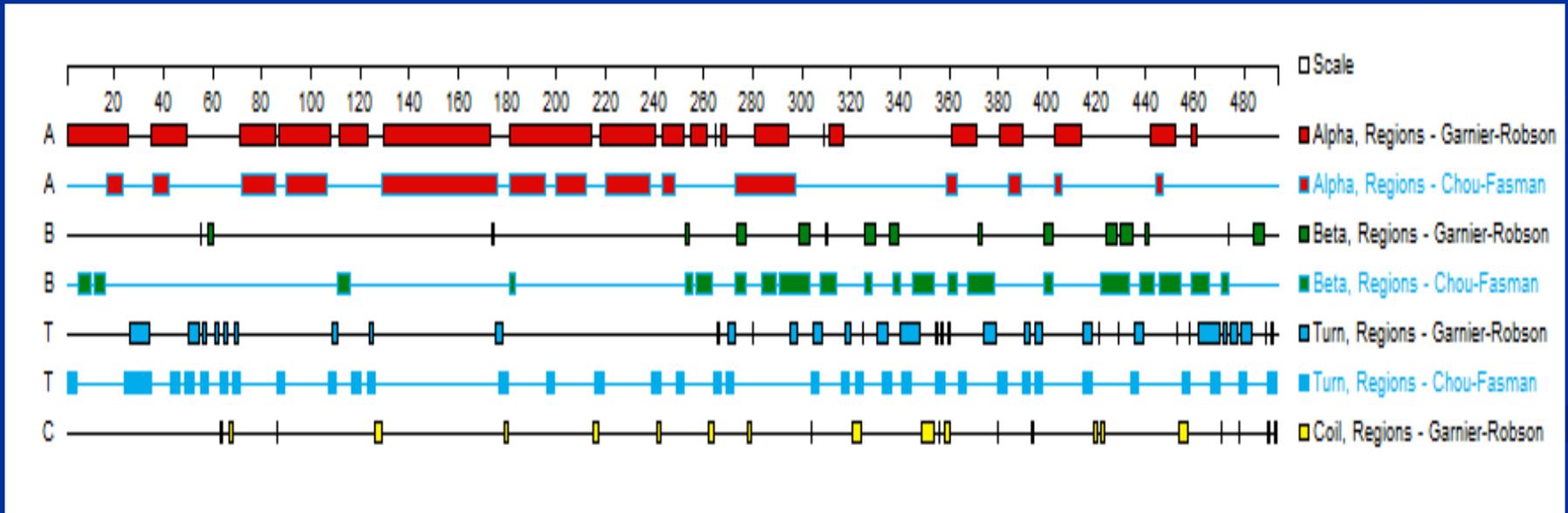
是指蛋白质抗原中氨基酸残基被溶剂分子接触的可能性，反映了蛋白质抗原内外各层残基的分布情况。



二、人TRIM5蛋白的分析

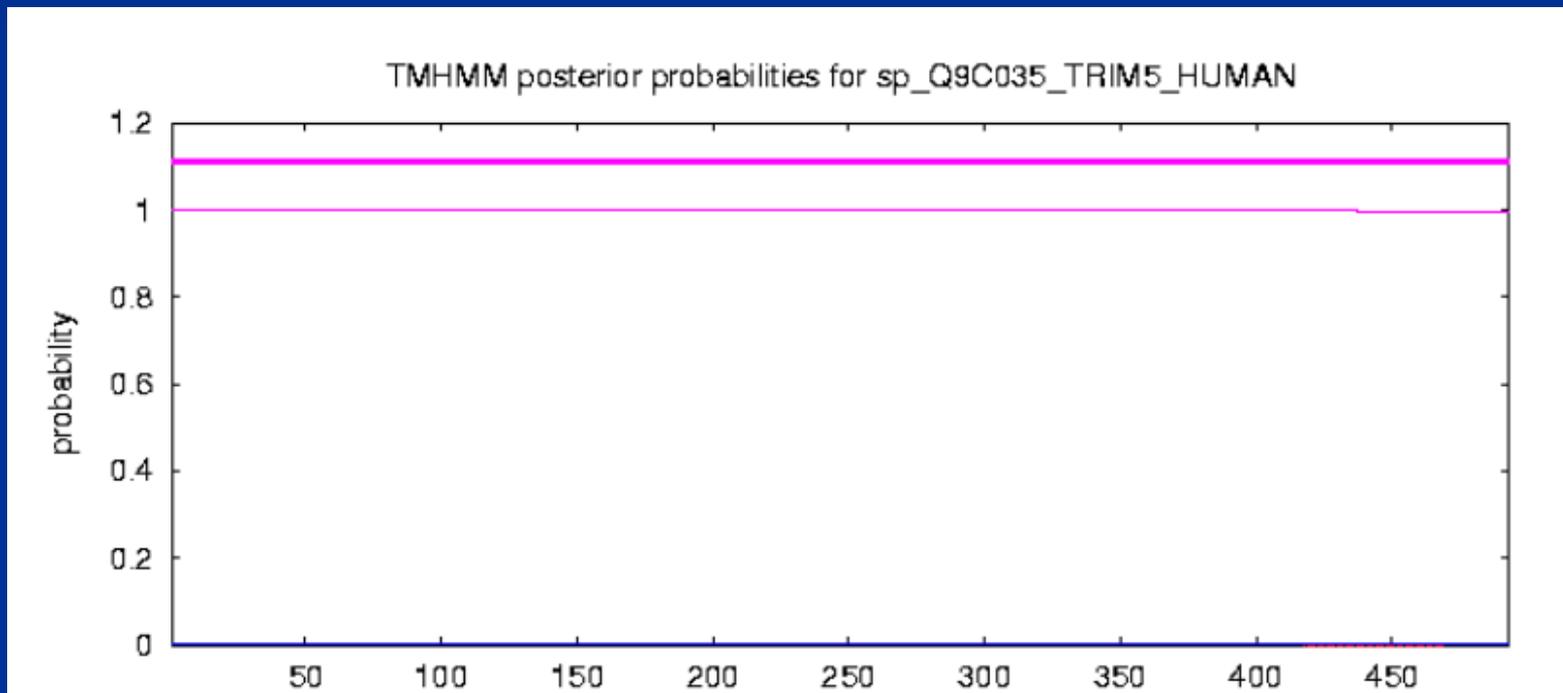
2.2 TRIM5蛋白的二级结构预测

(使用Protean软件的Chou-Fasman和Garnier-Robson方法分析TRIM5的 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和Coil卷曲所在区段)



二、人TRIM5蛋白的分析

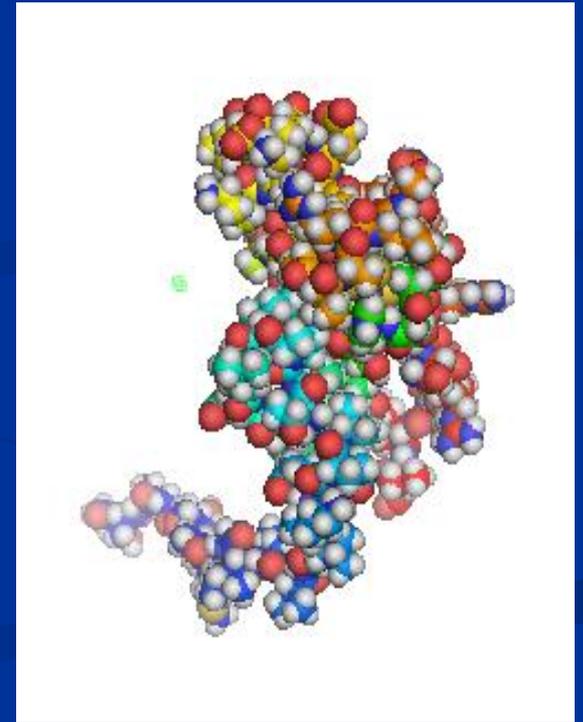
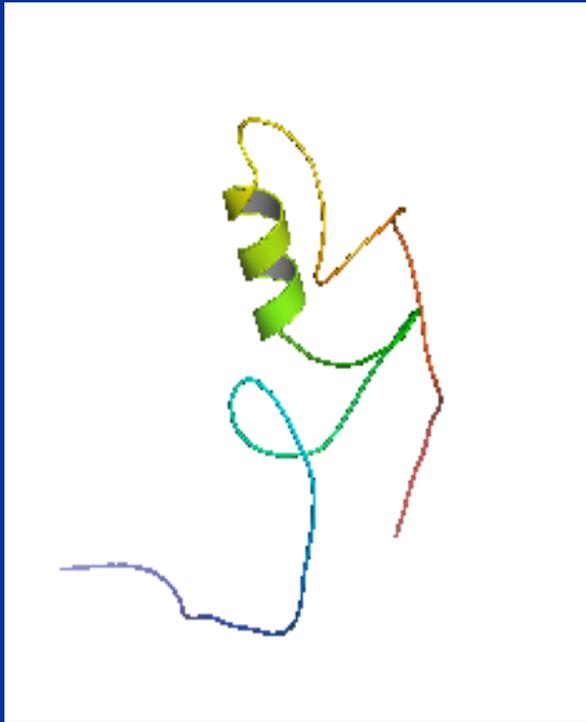
跨膜螺旋预测 (TMHMM软件)



说明无跨膜螺旋

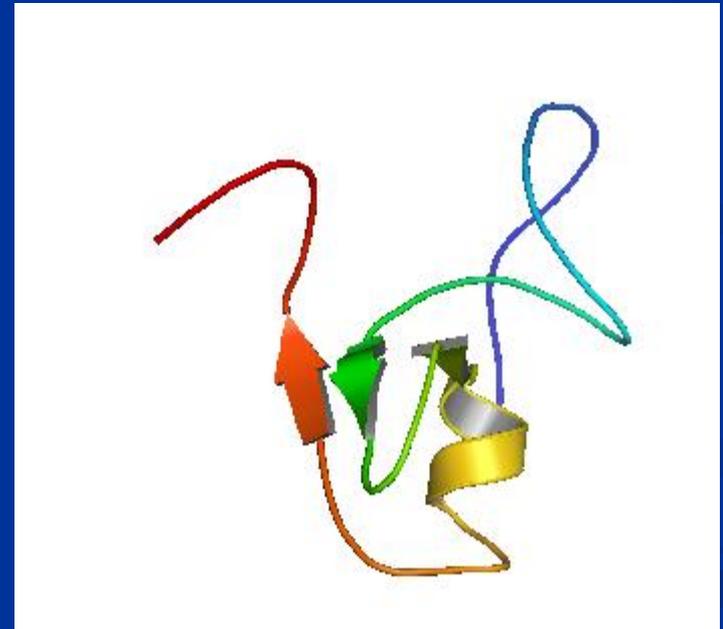
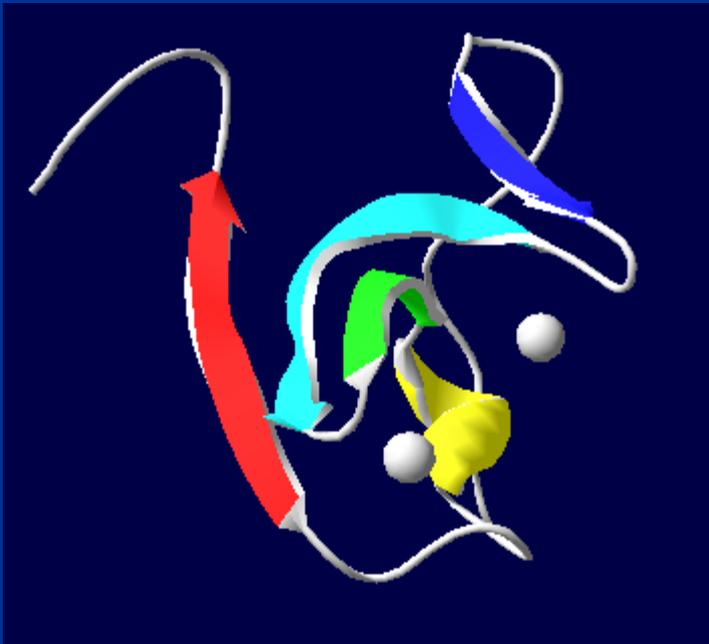
二、人TRIM5蛋白的分析

2.3人TRIM5蛋白的三级结构-RING finger (pdbviewer)



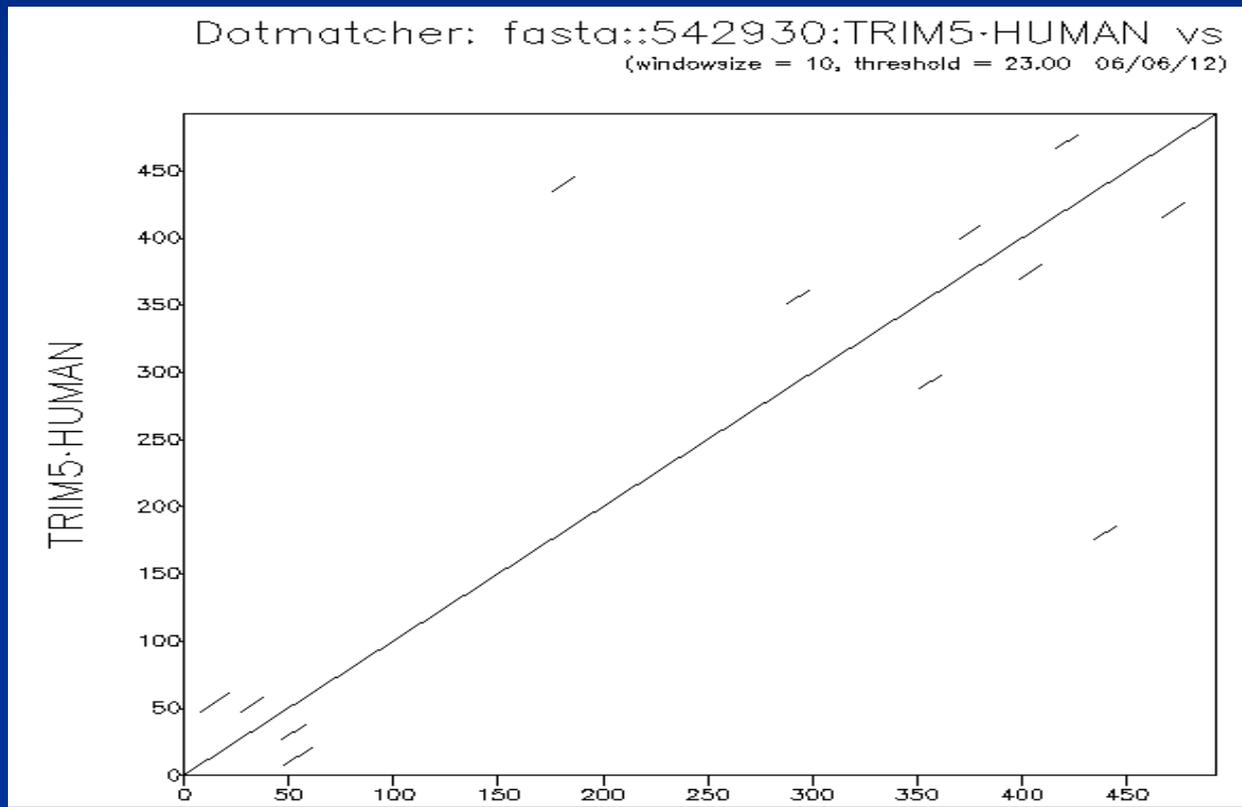
二、人TRIM5蛋白的分析

2.3 人TRIM5蛋白的三级结构2YRG— B-box (pdbviewer)



三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

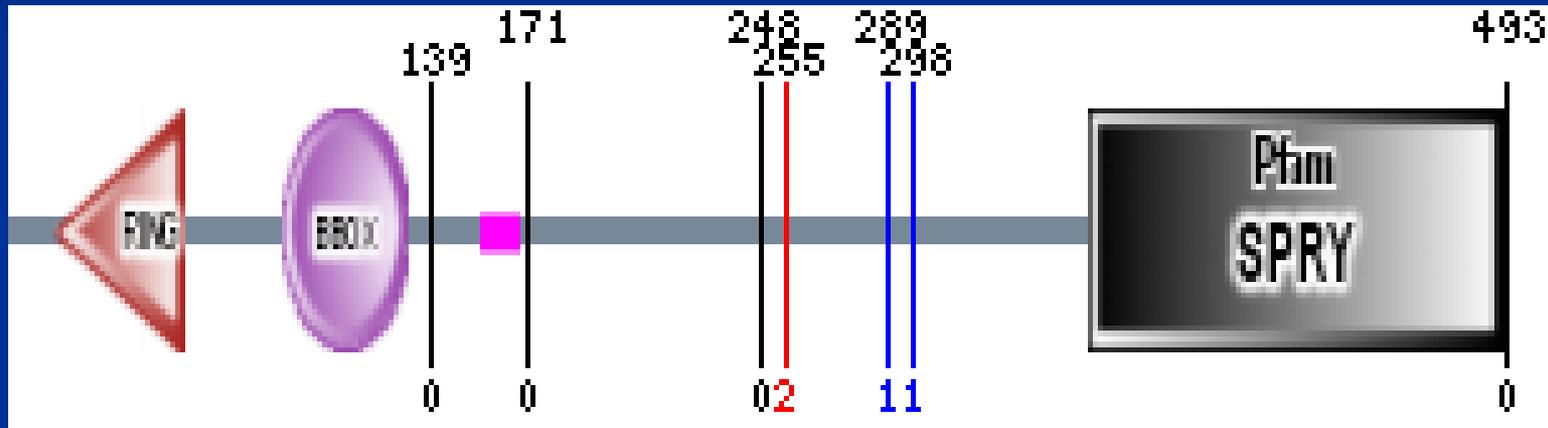
3.1 人TRIM5 蛋白重复序列预测（使用Dotmatcher）：



由上图可以看出，人TRIM5蛋白在50---70位、350---370、380---400、430---450、460---480位左右存在重复序列。

三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

3.2 人TRIM5蛋白的保守区预测（使用Smart）

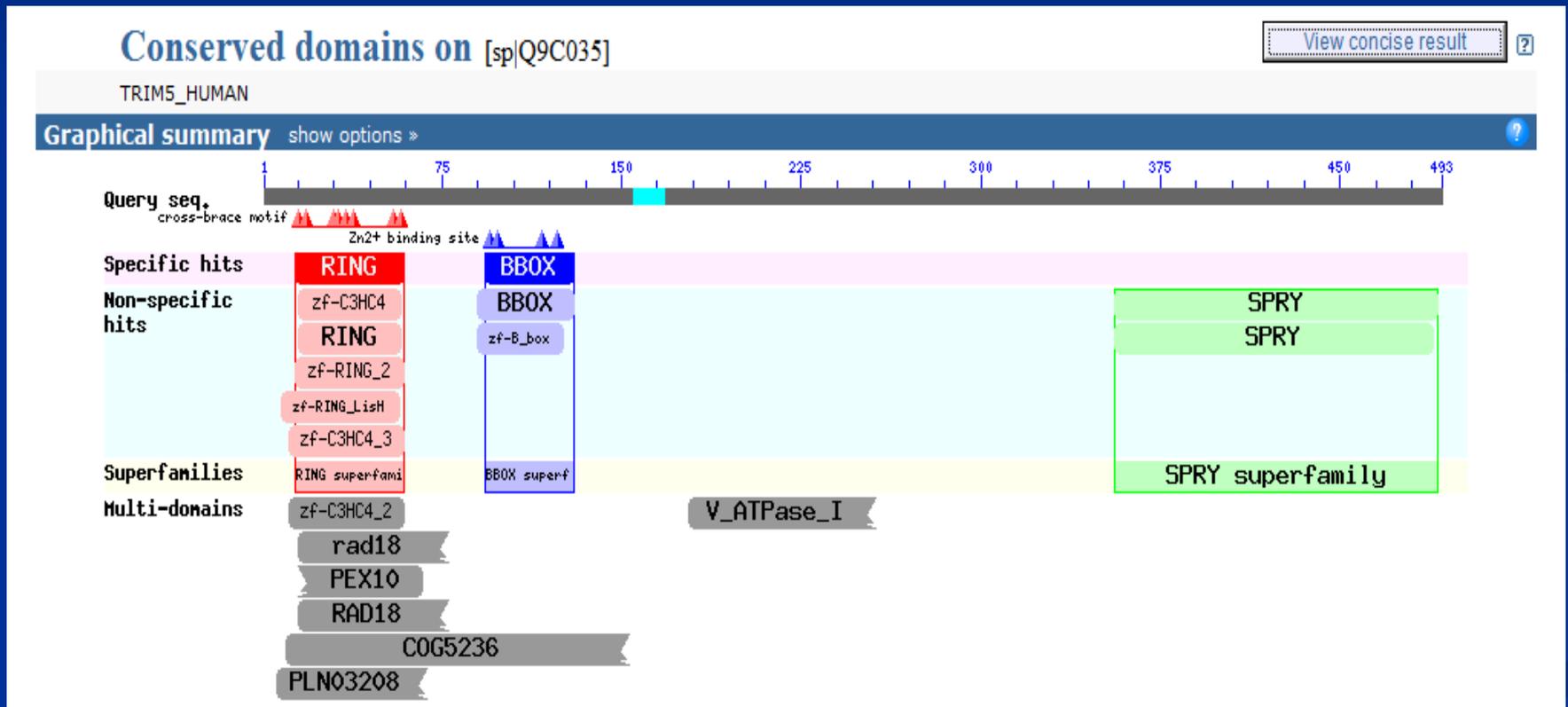


Confidently predicted domains, repeats, motifs and features:

| Name | Begin | End | E-value |
|----------------|-------|-----|----------|
| RING | 15 | 58 | 8.16e-10 |
| BBOX | 90 | 131 | 3.66e-12 |
| low complexity | 155 | 168 | - |
| Pfam:SPRY | 356 | 492 | 1.80e-15 |

三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

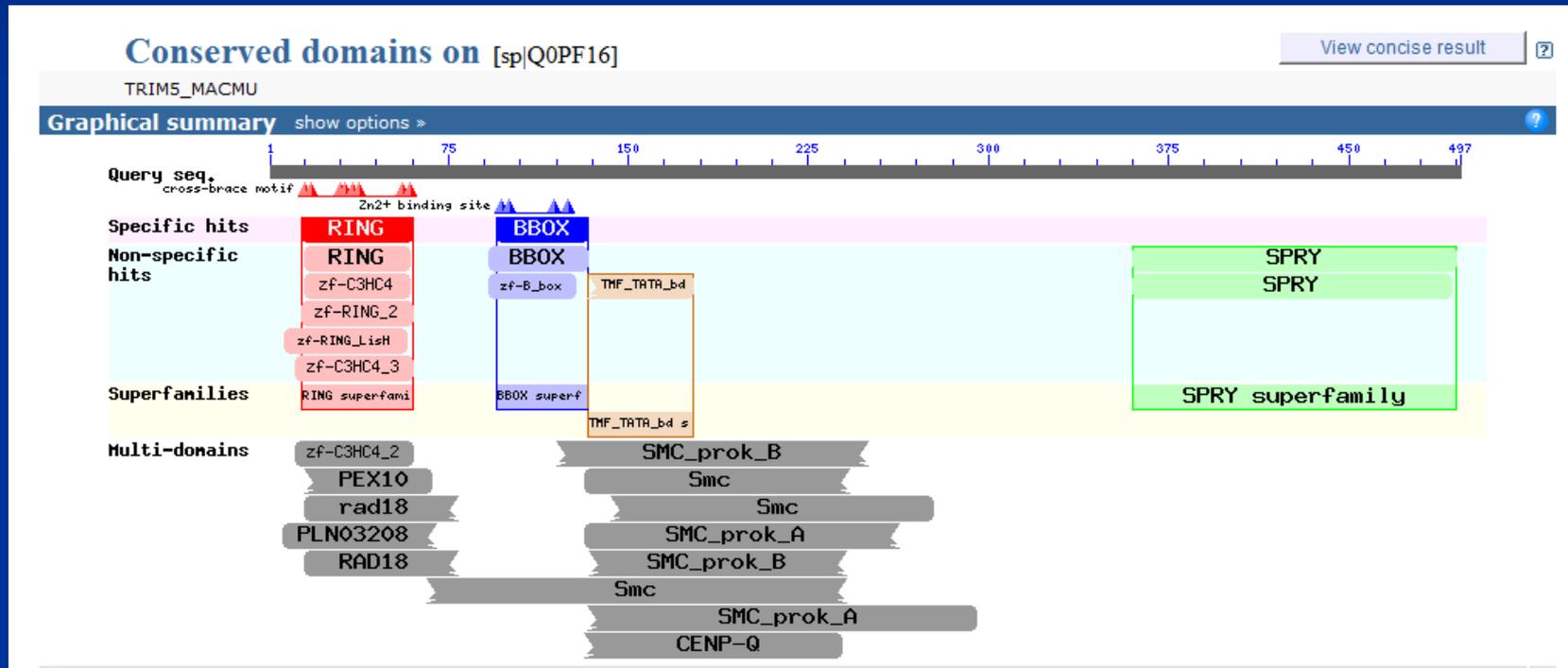
3.2 人与恒河猴TRIM5蛋白的保守区预测（使用CDD）



- 由上图可以看出人TRIM5主要包括4个保守区，包括ring、B-box、V_ATPase_1、SPRY。

3.不同物种TRIM5 蛋白的分析

3.2 人与恒河猴TRIM5蛋白的保守区预测（使用CDD）



- 由上图可以看出，恒河猴TRIM5主要包括4个保守区域，包括ring、B-box、TMF_TATA_bd、SPRY。
- 人与恒河猴的保守区域大体相同。

三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

3.3 TRIM5 蛋白的主要保守区功能分析

- RING: 如果被破坏可以部分消除TRIM5对HIV的限制作用。
- B-BOX: 若被破坏, TRIM5对HIV的限制作用完全消除。B-BOX可与HIV产生的Gag蛋白结合, 并促进其降解, 从而抑制HIV病毒颗粒的产生。
- SPRY: 可能与信号的识别有关, 具体功能未知。

三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

3.4 不同物种TRIM5蛋白的保守区预测（使用MEME）

| Name | Start | p-value | Sites |
|------------------------|-------|----------|--|
| sp Q2YEN0 TRIM5_MACNE | 89 | 1.63e-86 | KLREVKLSPE EGQKVDHCAHGEKLLLFCEDSKVICWLCERSQEHARGHHTFLMEEVAQEYHVKLQTALEMLRQKQQEAE KLEADIREEK |
| sp Q587N6 TRIM5_MACFA | 89 | 1.63e-86 | KLREVKLSPE EGQKVDHCAHGEKLLLFCEDSKVICWLCERSQEHARGHHTFLMEEVAQEYHVKLQTALEMLRQKQQEAE KLEADIREEK |
| sp Q587N7 TRIM5_CHLAE | 89 | 1.63e-86 | KLREVKLSPE EGQKVDHCAHGEKLLLFCEDSKVICWLCERSQEHARGHHTFLMEEVAQEYHVKLQTALEMLRQKQQEAE KLEADIREEK |
| sp Q0PF16 TRIM5_MACMU | 89 | 1.63e-86 | KLREVKLSPE EGQKVDHCAHGEKLLLFCEDSKVICWLCERSQEHARGHHTFLMEEVAQEYHVKLQTALEMLRQKQQEAE KLEADIREEK |
| sp Q9C035 TRIM5_HUMAN | 87 | 3.00e-85 | EKLREVKLSP EGQKVDHCAHGEKLLLFCEDEGKVICWLCERSQEHARGHHTFLTEEVAREYQVKLQAALEMLRQKQQEAE ELEADIREEK |
| sp Q5C8T6 TRIM5_GORGO | 87 | 5.69e-85 | EKLREVKLSP EGQKVDHCAHGEKLLLFCEDEGKVICWLCERSQEHARGHHTFLTEEVAQECQVKLQAALEMLRQKQQEAE ELEADIREEK |
| sp Q5D7J1 TRIM5_PANTR | 87 | 1.23e-83 | EKLREVKLSP EGQKVDHCAHGEKLLLFCEDEGKVICWLCERSQEHARGHHTFLTEEVAREYQVKLQAALEMLRQKQQEAE ELEADIREEK |
| sp Q5C8T8 TRIM5_PONAB | 87 | 1.43e-83 | EKLREVKLSP EGQKVDHCAHGEKLLLFCKEDGKVICWLCERSQEHARGHHTFLTEEVAQKYQVKLQAALEMLRQKQQEAE ELEADIREEK |
| tr A7YM64 A7YM64_RABIT | 88 | 1.27e-75 | KINEIKLSSE EGQKQEHCAHGEKLLLFCKEDGKVICWLCERSQEHARGHHTFLMEEVAQEYQEKLSALNNLMTKQEEAE KLKAGIQQEI |
| tr Q6AYT1 Q6AYT1_RAT | 88 | 4.16e-60 | RLKEFKSSPE EEPKVLSCARHGEKQLFCKKDDMMFICWLCERSQEHARGHTVFLIEEVVQYKQEKLQALQKLMADKKEFE NWKDDLQKER |
| sp P15533 TR30A_MOUSE | 88 | 2.42e-59 | RLKGFKSIPE EEPKVNICAQHGEKLRFLFCRKDDMMVICWLCERSQEHARGHTALIEEVDQEYKEKLQALWKLKMKKAKICD EWQDDLQLQR |
| tr F1RLV7 F1RLV7_PIG | 89 | 4.80e-58 | RLRKVSLSP VEQKGNLVCVHHEEKLLFFCKEDGKVICWICERSQQHCDHQTFLVEEVAQEYQKKLQDALERLQEEQKEAE KLEAQVREEV |
| sp Q7YRV4 RO52_BOVIN | 84 | 1.55e-49 | NLRKISQGAKE SPHGELCVVHREKIHFLFCEEDGKALCWVCSQSQRDRDHPMVFIEEAAQEYQEKLQVALNKLRRHKQELAE KLELDIAMKK |

- 不同物种，RING保守区氨基酸序列，大约在50位到150位。而且，可以看出不同物种的保守性很强。

三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

3.4不同物种TRIM5蛋白的保守区预测（使用MEME）

| Name | Start | p -value | Sites  |
|------------------------|-------|------------|--|
| sp Q587N6 TRIM5_MACFA | 222 | 8.71e-110 | LKSLTKSETK MVQQTQYVRELISDLEHRLQGSMMELLQGVGGIIKRIENMTLKKPKTFHKNQRRVFRAPDLKGMMLDMFRELTDARRYWVDV |
| sp Q587N7 TRIM5_CHLAE | 222 | 1.14e-108 | LKSLTKSETE MVQQTQYVRELISDLEHRLQGSMMELLQGVGGIIKRVENMTLKKPKTFHKNQRRVFRAPDLKGMMLDMFRELTDVRRYWVDV |
| sp Q2YEN0 TRIM5_MACNE | 222 | 3.53e-107 | LKSLTKSETK MVQQTQYVRELISDLEHRLQGSMMELLQGVGGIIKRIENMTLKKPKTFHKNQRRVFRAPDLKGMMLDMFRELTDVRRCWVDV |
| sp Q0PF16 TRIM5_MACMU | 222 | 2.40e-103 | LKSLTKSETE MVQQTQYVRELISELEHRLQGSMDLLQGVGGIIKRIENMTLKKPKTFHKNQRRVFRAPDLKGMMLDMFRELTDARRYWVDV |
| sp Q9C035 TRIM5_HUMAN | 220 | 4.40e-103 | LKSLTNSETE MVQQTQSLRELISDLEHRLQGSVMELLQGVGGVIKRTEENVTLKKPKETFPKNQRRVFRAPDLKGMLEVFRELTDVRRYWVDV |
| sp Q5C8T6 TRIM5_GORGO | 220 | 8.00e-103 | LKRLTKSETE MVQQTQSVRELISDLEHRLQGSVMELLQGVGGVIKRTEENVTLKKPKETFPKNRRRVFRAPDLKGMLEVFRELTDVRRYWVDV |
| sp Q5D7J1 TRIM5_PANTR | 220 | 1.45e-102 | LKSLTKSETE MVQQTQSVRELISDLEHRLQGSVMELLQGVGGVIKRTEENVTLKKPKETFPKNQRRVFRAPDLKGMLEVFRELTDVRRYWVDV |
| sp Q5C8T8 TRIM5_PONAB | 220 | 1.16e-99 | LKSLTKSETE MVQQTQSVRELISDVEHRLQGSVMELLQGVGGIIKRMQNVTLKKPKETFPKNQRRVFRAPNLKGMLEVFRELTDVRRYWVDV |
| tr F1RLV7 F1RLV7_PIG | 222 | 4.04e-70 | LSDLADSKDE LAQQTQLVGELISEVERRLLGSKLEMLQDVNDILKRSETLTLKKPKAFPKQRRVFRAPDLREILCVFNKLTDVRRYWVAV |
| tr Q6AYT1 Q6AYT1_RAT | 221 | 2.54e-64 | MSSLEESENE YSQQSKLLGDLILDVEHQLOCSATEMLQGVNTIKRSHTFSMRKPPTIPKEQRRVFRAPDLQGMLOVLQEVTEAQRWVQV |
| tr A7YM64 A7YM64_RABIT | 221 | 3.94e-59 | LKSMEESKHE LIQQSQVIQNHISDLENCLQRPTIEMLDVNDIIRTEFTTLKKPKTFPEKERKSFQIHLELKRMTMQMFQDLRHAQRWVAV |
| sp P15533 TR30A_MOUSE | 221 | 1.01e-56 | MEKLEESENE LEDQTELVRDLISDVEHHLELSTLEMLQGANCVLRRSQSLSLQQPQTPVQKRKRTFQAPDLKGMLOVYQGLMDIQQYWVAV |

- 不同物种，**B-BOX**保守区氨基酸序列，大约在**220**位到**300**位。而且，可以看出不同物种的保守性很强。

三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

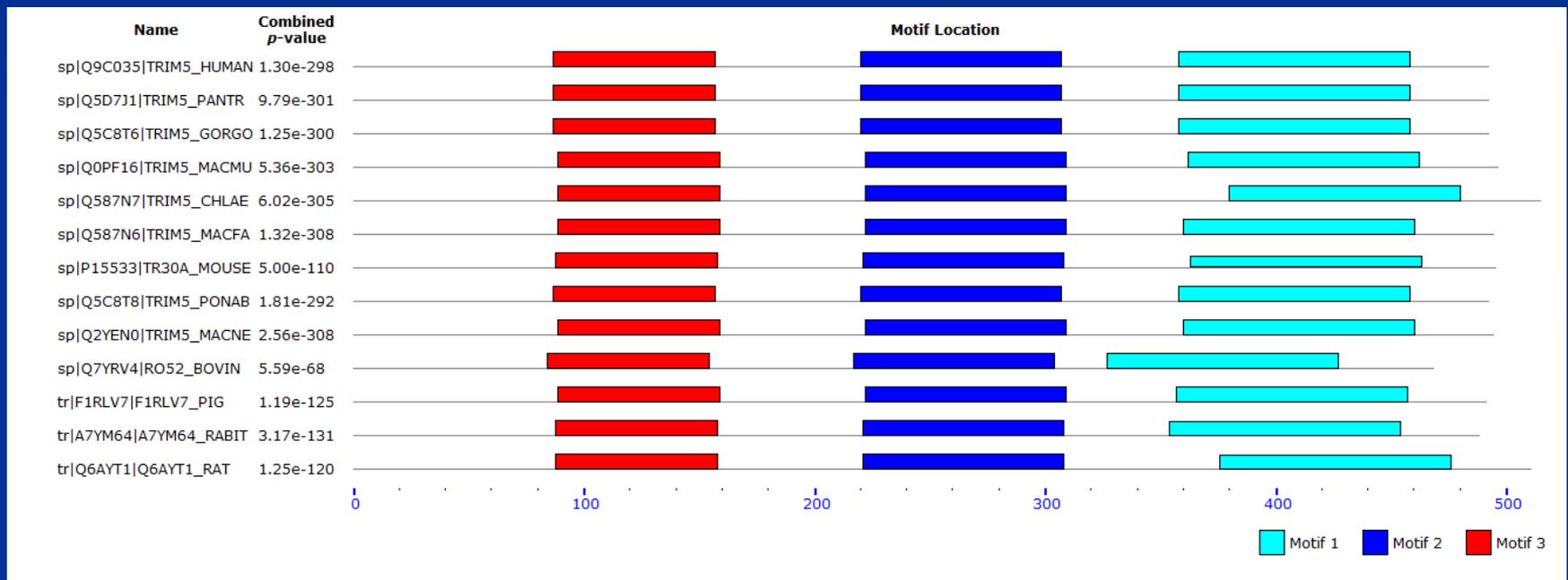
3.4 不同物种TRIM5蛋白的保守区预测（使用MEME）

| Name | Start | p-value | Sites ? |
|-----------------------|-------|-----------|---|
| sp Q2YEN0 TRIM5_MACNE | 360 | 2.48e-129 | LGSQSITSGK HYWEVDVSKKSAWILGVCAGFQPDAMYNIEQENYQPKYGYWVIGLQEGVKYSVFDGSSHTPFAPFIVPLSVIICPDRVGVFVD |
| sp Q5D7J1 TRIM5_PANTR | 358 | 3.27e-129 | LGSQSITSGK HYWEVDVSKKSAWILGVCAGFQPDAMCNIKKNENYQPKYGYWVIGLEEGVKCSAFQDGSFHTPSAPFIVPLSVIICPDRVGVFLD |
| sp Q0PF16 TRIM5_MACMU | 362 | 7.80e-128 | LGSQSITSGK HYWEVDVSKKSAWILGVCAGFQSDAMYNIEQENYQPKYGYWVIGLQEGVKYSVFDGSSHTPFAPFIVPLSVIICPDRVGVFVD |
| sp Q5C8T6 TRIM5_GORGO | 358 | 1.63e-127 | LGSQSITSGK HYWEVDVSKKSAWILGVCAGFQPDATCNIKKNENYQPKYGYWVIGLEEGVKCSAFQDGSFHTPSAPFIVPLSVIICPDRVGVFLD |
| sp Q587N6 TRIM5_MACFA | 360 | 5.17e-127 | LGSQSITSGK HYWEVDVSKKSAWILGVCAGFQSDAMCNIKKNENYQPKYGYWVIGLQEGVKYSVFDGSLHTPFAPFIVPLSVIICPDRVGVFVD |
| sp Q9C035 TRIM5_HUMAN | 358 | 5.93e-125 | LGSQSITSGK HYWEVDVSKKTAWILGVCAGFQPDAMCNIKKNENYQPKYGYWVIGLEEGVKCSAFQDSSFHTPSVPPFIVPLSVIICPDRVGVFLD |
| sp Q587N7 TRIM5_CHLAE | 380 | 1.60e-124 | LGSQSITSGK HYWEVDVSKKSAWILGVCAGFQPDATYNIEQENYQPKYGYWVIGLQEGDKYSVFDGSSHTPFAPFIVPLSVIICPDRVGVFVD |
| sp Q5C8T8 TRIM5_PONAB | 358 | 6.88e-124 | LGSQSITSGK HYWEVNVSKKSAWILGVCAGFQPDAMYNIEQENYQPKYGYWVIGLEEGVKCSAFQDGSFHTPSAPFIVPLSVIICPDRVGVFLD |

- 不同物种，**SPRY**保守区氨基酸序列，大约在**360**位到**460**位。而且，可以看出不同物种的保守性很强。

三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

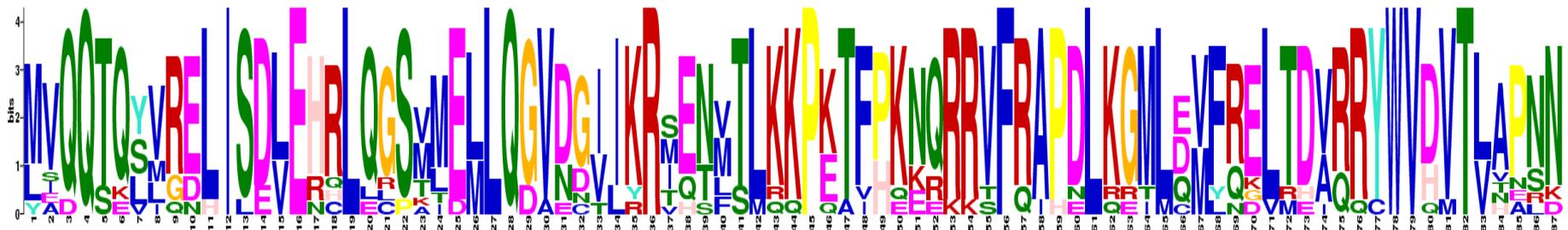
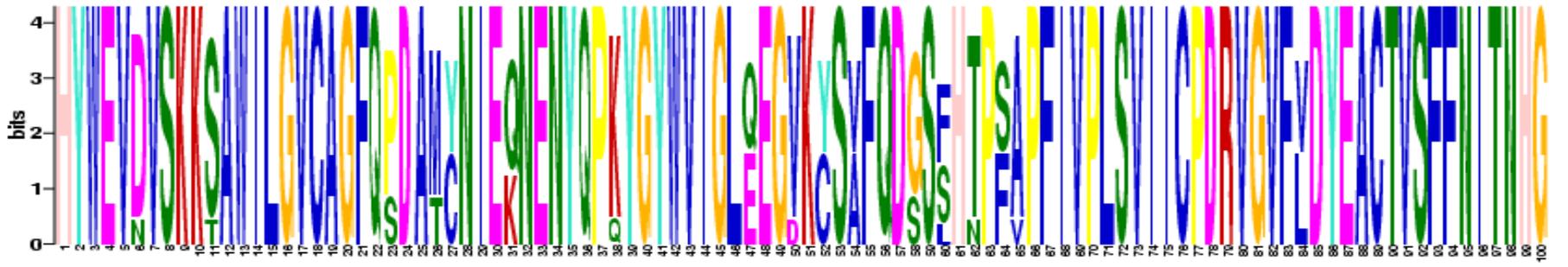
3.4 不同物种TRIM5蛋白的保守区预测（使用MEME）



图中显示：不同物种三个保守区在染色体上的位置。

三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

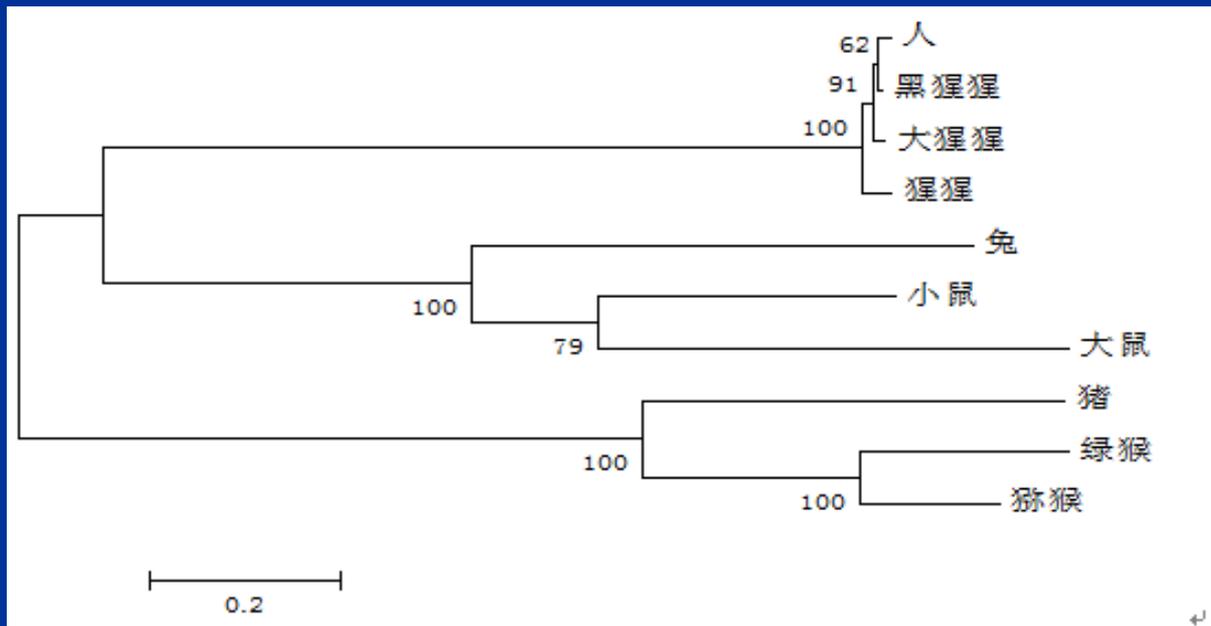
3.5 不同物种TRIM5蛋白的保守区1log₀



三、不同物种TRIM5 蛋白的分析

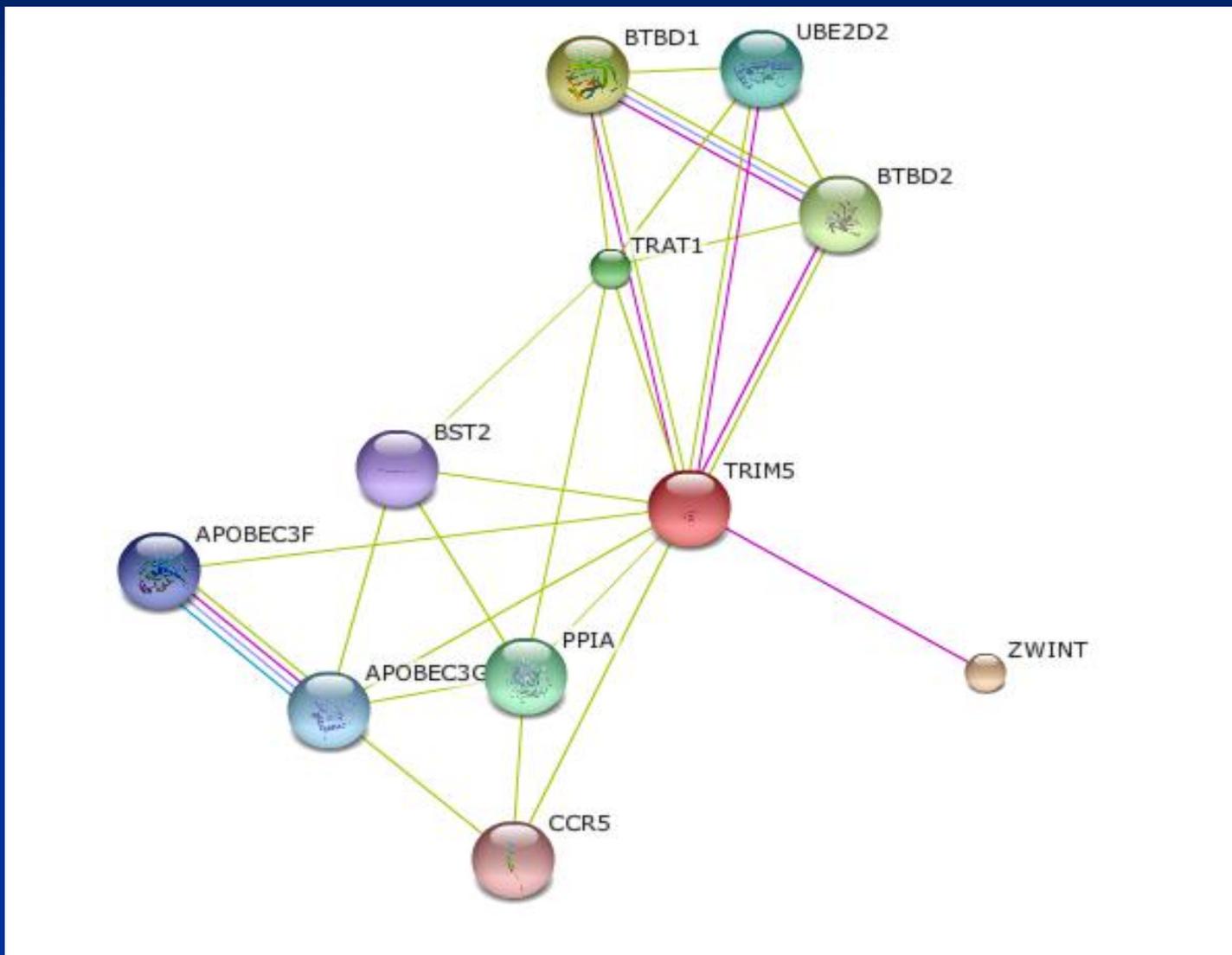
- 用以上三种方法（Smart、CDD、MEME）预测的TRIM5的保守区，位置一致、且与重复序列位置一致，说明预测结果准确。
- 通过对不同物种TRIM5保守结构域的预测分析，表明了不同物种来源的TRIM5蛋白结构和功能的保守型，说明TRIM5蛋白在不同的物种中可能通过相同的信号通路，抑制HIV的逆转录。
- 因此，通过对保守结构域的序列及空间分析，可以更深入研究该蛋白的抑制作用。

人与亲缘关系很近的黑猩猩、大猩猩和猩猩TRIM5基因序列的同源性在93%以上，与同属于灵长目的猕猴(恒河猴)、绿猴的同源性分别为87.6%和87.0%，而与亲缘关系较远的兔、小鼠和大鼠的同源性仅分别为58.3%、50.9%和40.6%。可见亲缘关系较近动物的TRIM5基因序列的同源性非常高，而亲缘关系较远的序列差异较大。目前尚未发现亲缘关系较远而TRIM5基因序列同源性较高的动物，因此可以推测TRIM5基因基因所介导的抗病毒作用是动物在长期进化中形成的。

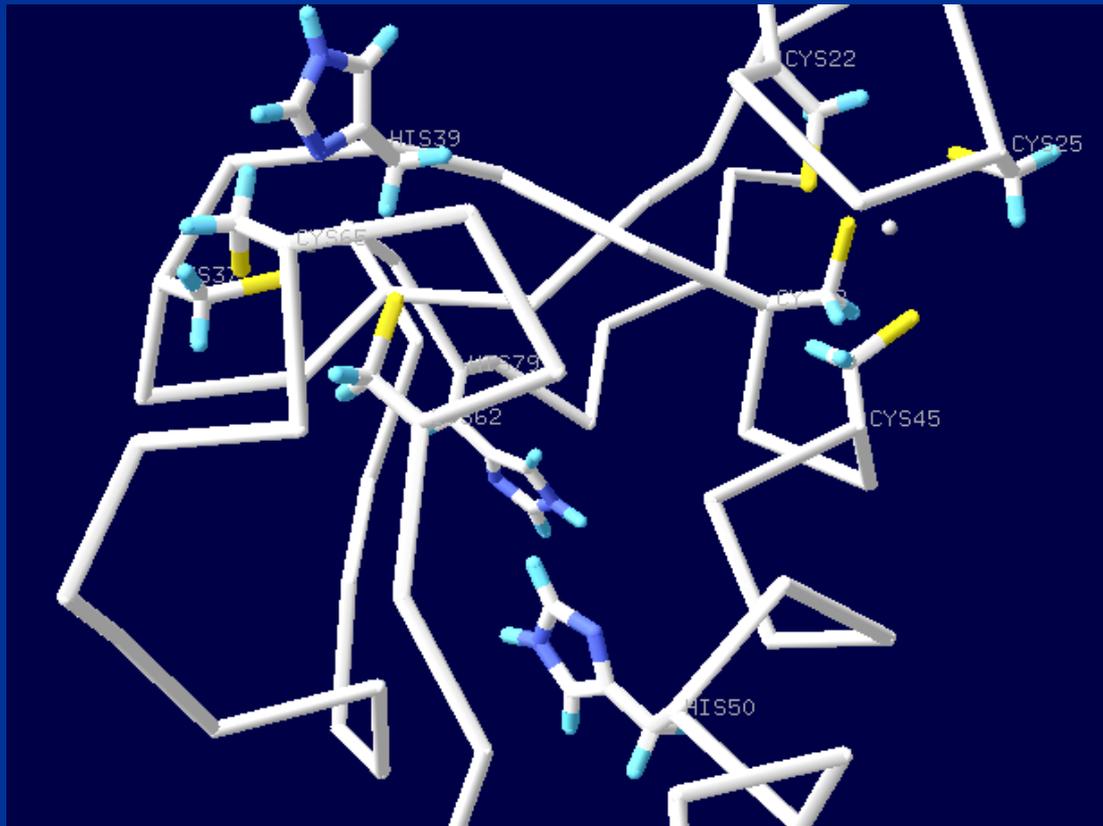


构建系统发育树（使用mega）

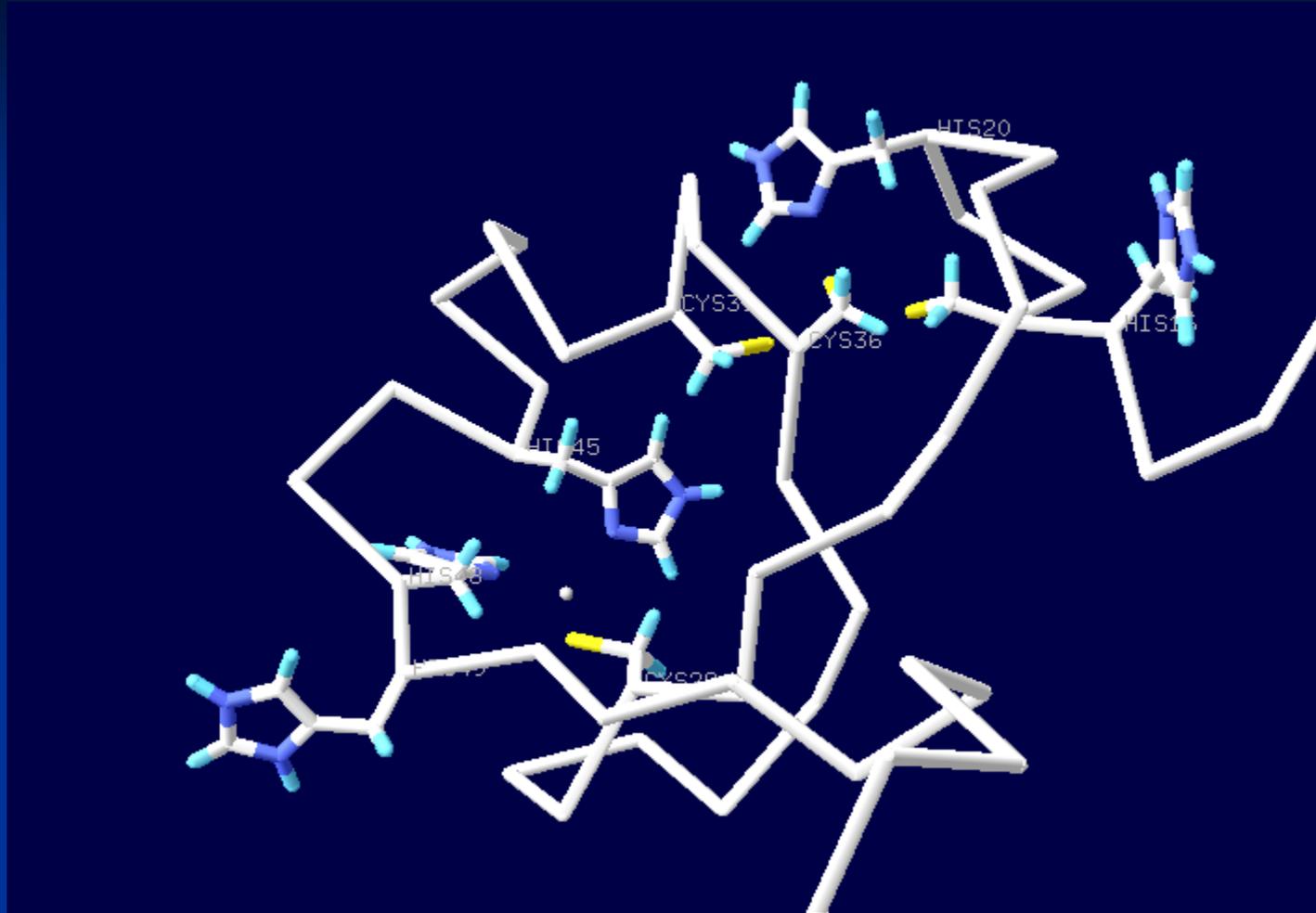
在进化程度越高等的生物中，TRIM家族成员也越多见，这种现象说明TRIM家族是一个快速进化的家族。（smart 软件）



除了少数家族基因在蛋白水平上具有较高的同源性外，大多数成员之间的同源性都比较低，只有形成RING和B-box骨架的半胱氨酸和组氨酸，以及形成卷曲螺旋结构域的疏水性氨基酸比较保守。在基本骨架保持不变的同时，保守的氨基酸之间的序列却迅速发生着进化，从而具备新的特性，发挥新的生理功能。有趣的是在原核生物中没有发现RING结构域，这与原核生物没有泛素化系统是一致的。在原核生物中没有发现B-box，在病毒和真菌中也没有发现，推测B-box是多细胞生物的一个特征。



RING 上架的半胱氨酸和组氨酸
(pdbviewer)



B-box骨架的半胱氨酸和组氨酸（pdbviewer）

总结

- ◆ TRIM 5与细胞的分裂、生长、分化和成熟都有密切关系。TRIM 家族成员之一 TRIM5是哺乳动物细胞中一种重要的限制因子,它们以一种物种依赖的方式限制包括在内的多种逆转录病毒复制。
- ◆ TRIM5 限制 HIV-1 的机制,对基于 TRIM5 分子的生物治疗方案、药物开发和疫苗设计提供重要的科学依据,以及对建立更为理想的非人灵长类动物 HIV/ AIDS模型也具有十分重要的意义。
- ◆ 到目前为止, TRIM 5限制H IV-1 的机制已越来越清楚,。但是, 仍然有许多问题有待解决。

致谢

- 感谢罗老师一个学期来的认真授课，精心指导，使我们受益匪浅。
- 感谢我们小组成员的默契配合，积极合作，协作完成我们的作业。
- 祝罗老师工作顺利，各位同学学习进步！