

5-烯醇式丙酮酰莽草酸-3-磷酸合酶 进化与功能结构研究

演讲人：陈荣荣

第八组：李雪峰、陈荣荣
高友菲、刘浩

主要内容

1. 除草剂草甘膦应用现状概述
2. 草甘膦作用原理与EPSP合酶
3. EPSP合酶进化树构建与分析
4. 不同类型的EPSP合酶功能结构分析

1. 除草剂草甘膦应用现状概述

- ◆草甘膦商品名为Roundup，广泛用于非耕地、免耕地中作物播前或播后处理，以及出苗后定向处理，是全世界使用量最大的品种之一。
- ◆草甘膦的理化性质稳定，具有高效、广谱、低毒、低残留、不破坏土壤环境、对大多数植物具有灭生性等其它除草剂所不可比拟的优点。

枯斯啦

喷药

2009.10.14

5天

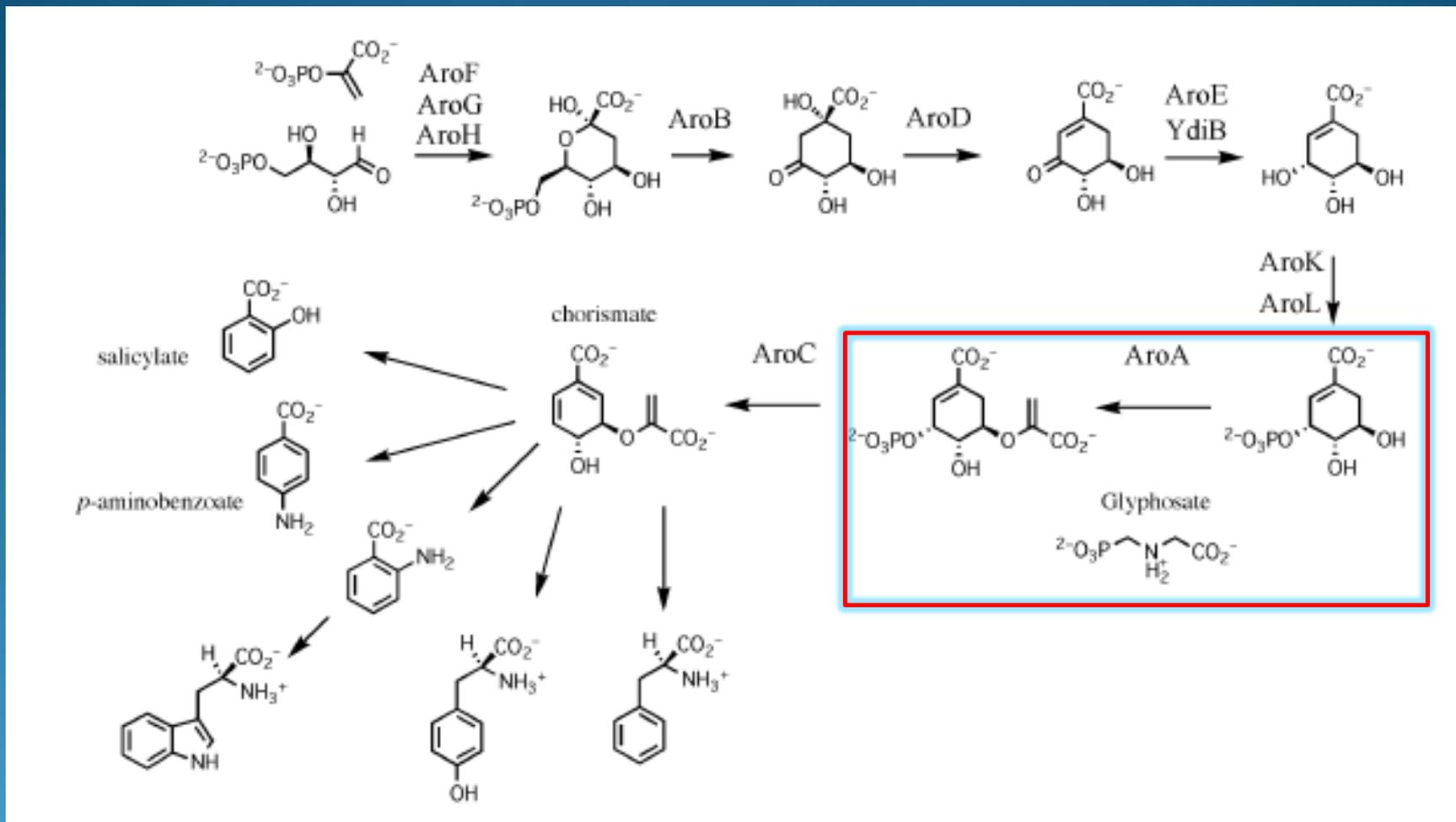
2009 10 14

1. 除草剂草甘膦应用现状概述

- ◆然而，草甘膦作为一种非选择性除草剂，对农作物同样有着杀死作用，这就限制了其使用范围和使用时间，大大地限制着除草剂的发展。
- ◆因此，如果能有草甘膦抗性或降解特性的农作物出现，既节省农业生产费用，又能极大地促进草甘膦工业的发展。



2.1 草甘膦作用原理与EPSP合酶

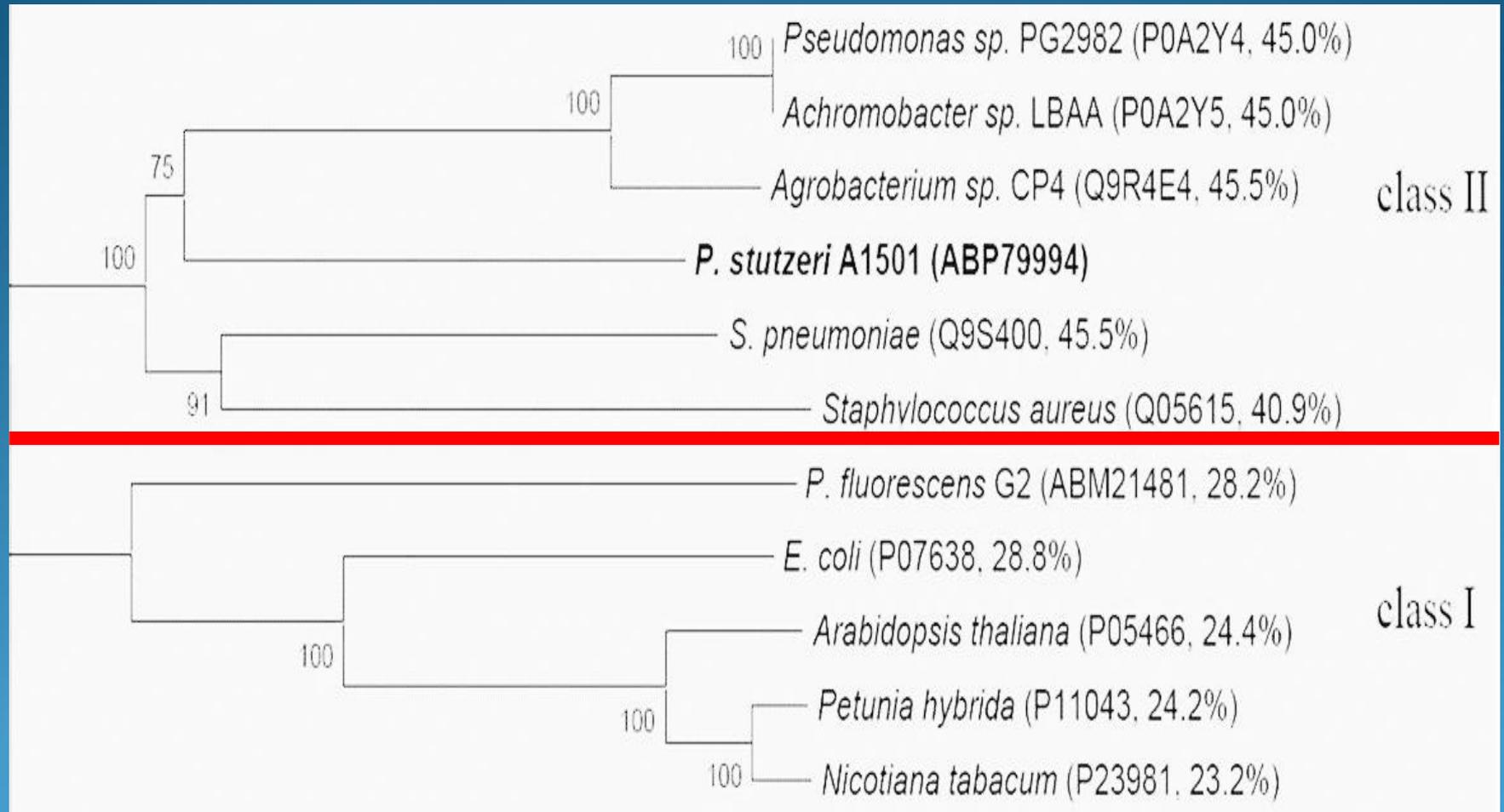


莽草酸途径，倒数第二步为EPSP合酶，是广谱灭生性除草剂草甘膦的唯一攻击对象。

EPSP合酶类型

- ◆ EPSP合酶分为I型和II型两种类型；
- ◆ I型对除草剂草甘膦敏感，大部分不适用于抗除草剂作物；
- ◆ II型通常都源于草甘膦耐受的微生物，有较高的底物PEP亲和性和催化效率，为耐受草甘膦转基因作物提供了新的作用模式。

3. EPSP合酶进化树构建与分析



4. 两种类型的EPSP合酶功能结构分析

EPSPS class I (*E. coli*)

EPSPS class II (*Agrobacterium* CP4)

4.1 I型与II型 一级结构对比分析

```
Escherichia      -----MESLTLQPIARVDGTINLPGSKSVSNRALLLAALAHGKTVLTNLLDSDDVRHML 54
Agrobacterium    MSHGASSRPARARKSSGLSGTVRI PGDKSISHRSFMFGGLASGETRITGLLEGEDVINTG 60
                  .. * : : :.***:..**.*:*:*:*:..** *:* :*.***:..** :

Escherichia      NALTALGVSYTLSADRTRCEIIGNGGPLHAEGALELFLGNAGTAMRPLAAALCLGSNDIV 114
Agrobacterium    KAMQAMGARIRKEGDTWIIDGVGNGLLAPEAPLD--FGNAATGCRLTMGLVGVYDFDST 118
                  **: *:* . ..* : :**** * .*.**: :***.*. * . : : . * .

Escherichia      LTGEPRMKERPIGHLVDALRLGGAKITYLEQENYPPLRLQGGFTGGNVDVDGSVSSQFLT 174
Agrobacterium    FIGDASLTKRPMGRVNLNPLREMGVQVKSEGDRLP-VILRGPKTPTPITYRVPMASAQVK 177
                  : *.. :.***:*:..** *.:.. : :. * : ** * : . :.* :.

Escherichia      ALLMTAPLAPEDTVIRIKGDLVSKPYIDITLNLTKTFGVEIENQHYQQFVVKGGQSYQSP 234
Agrobacterium    SAVLLAGLNTPGITTVIEPIMTRDHTEKMLQGFGANLTVETDADGVRTIRLEGRGKLTGQ 237
                  : : * * . . . *: :. . .: : : : ** : : : : :* . .

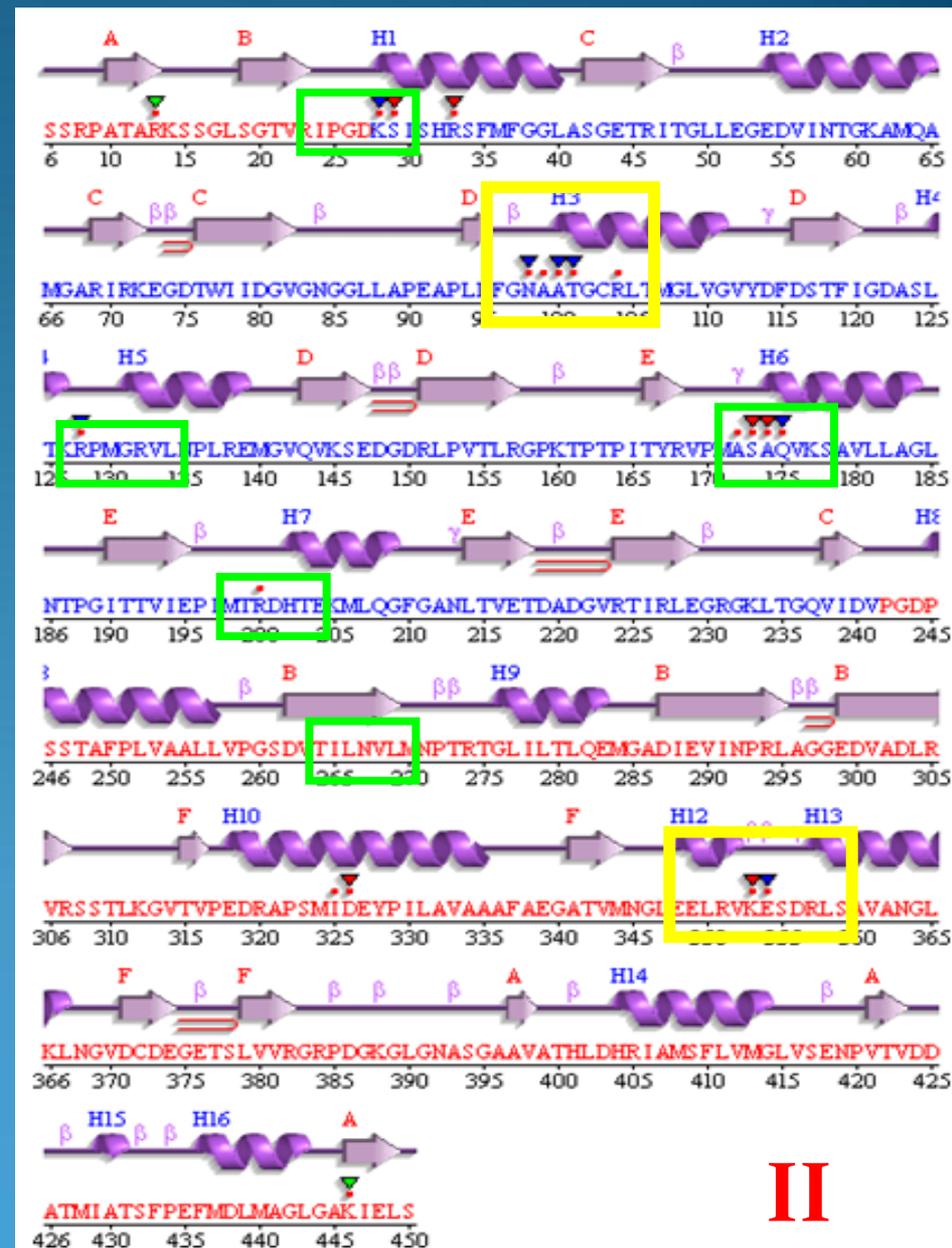
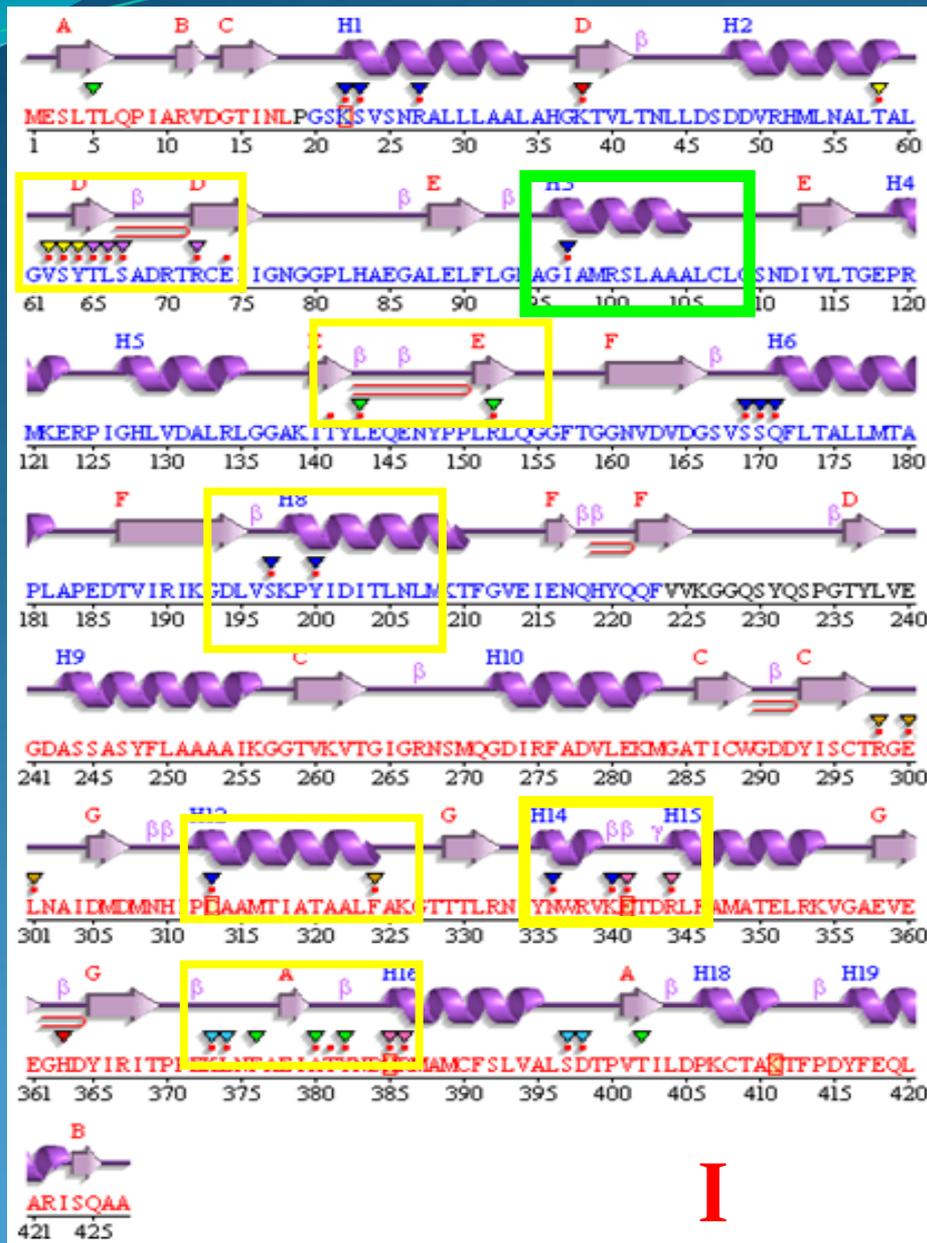
Escherichia      GTYLVEGDASSASYFLAAAAIKGGTVKVTGIGRNSMQG-----DIRFADVLEKMGATICW 289
Agrobacterium    VIDVPGDPSSTAFPLVAALLVPGSDVTILNVLMNPTRTGLLITLQEMGADIEVINPRLAG 297
                  : . :** : ** : * . *.: : * . : . . :* :.. :.

Escherichia      GDDYISCTR--GELNAIDMDMNHIP---DAAMTIATAALFAKGTTTLRNIYNWRVKETDR 344
Agrobacterium    GEDVADLRVRSSTLKGVTVPEDRAPSMIDEYPILAVAAAFAEGATVMNGLEELRVKESDR 357
                  ** . . *.: : : : * * :*.** **:*:*:..: : **:*:**

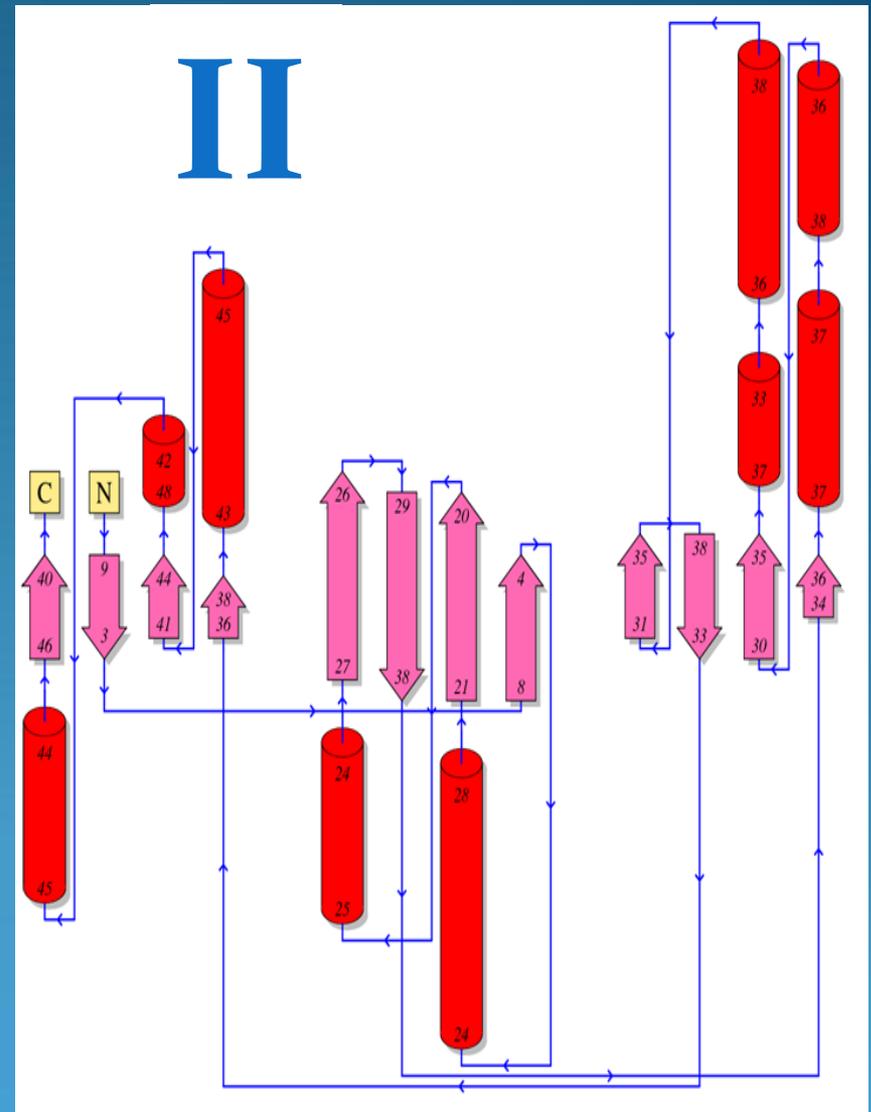
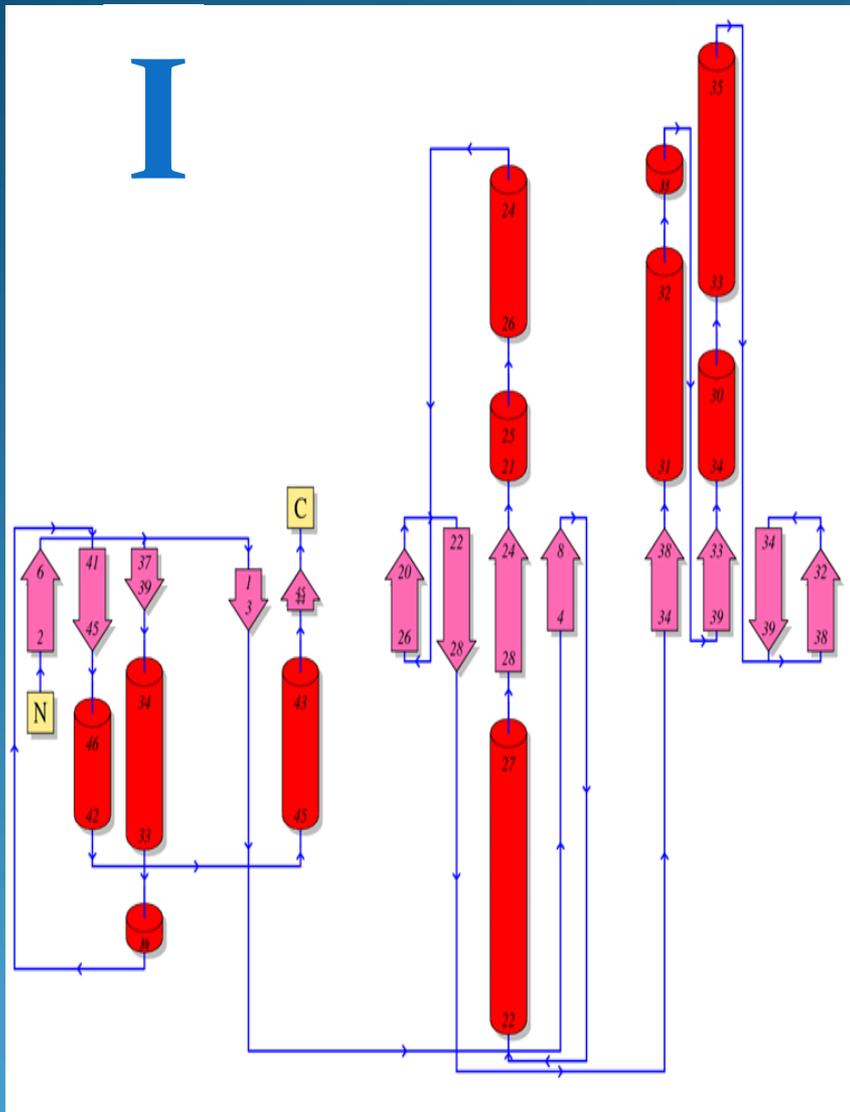
Escherichia      LFAMATELRKVGAEVEEGHDYIRITP-PE-----KLNFAEIATYNDHRMAMCFSLVALS- 397
Agrobacterium    LSAVANGLKLNQVDCDEGETSLVVRGRPDGKGLGNASGAAVATHLDHRIAMSFLVMGLVS 417
                  * ** . *: *.: **: : : * : : . * **: **:*:*.* :.:.

Escherichia      DTPVTILDPKCTAKTFPDYFEQLARISQAA----- 427
Agrobacterium    ENPVTVDDATMIATSFPEFMDLMAGLGAKIELSDTKAA 455
                  :.***: *.. *.:***:..: * :.
```

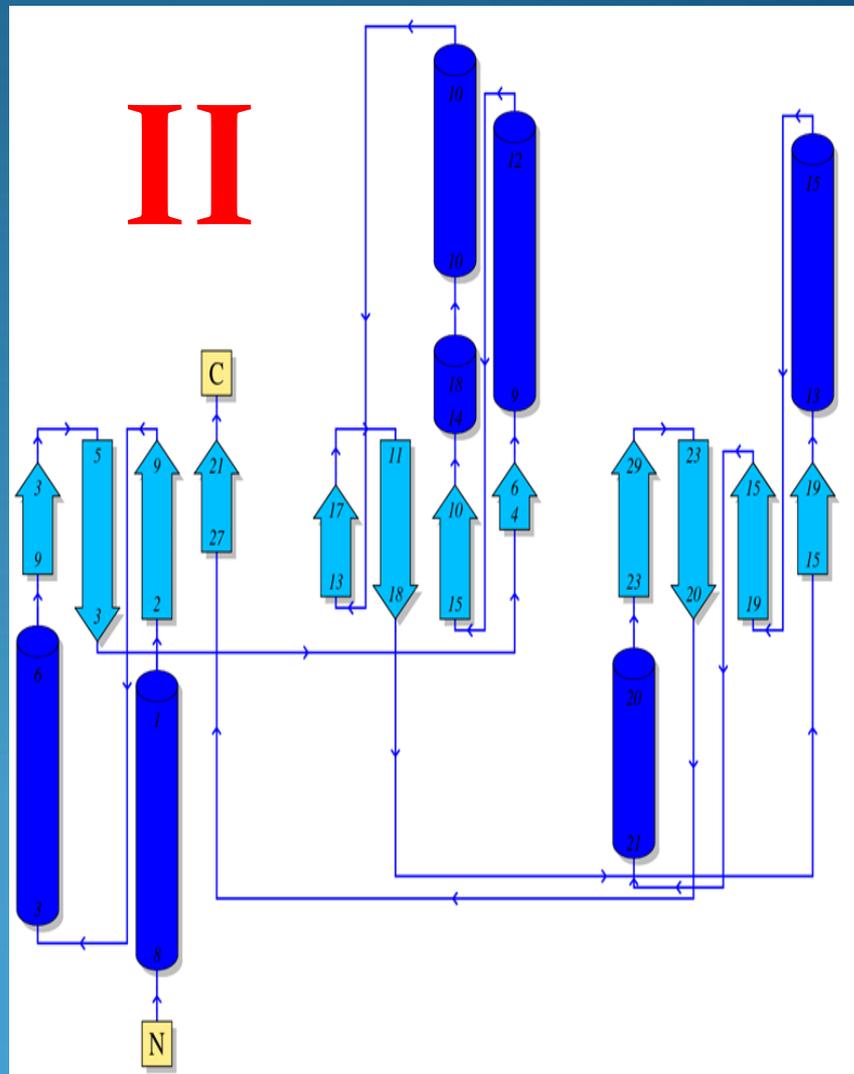
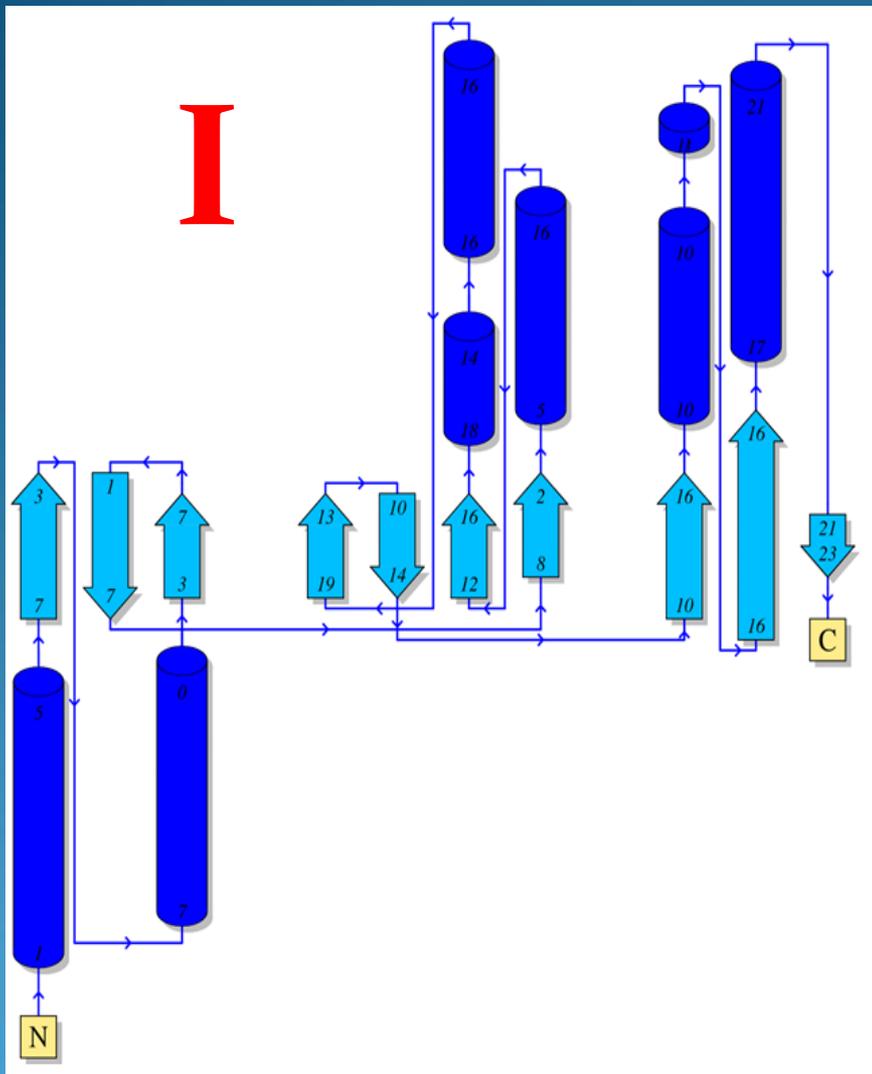
4.2.1 I型与II型 二级结构对比分析



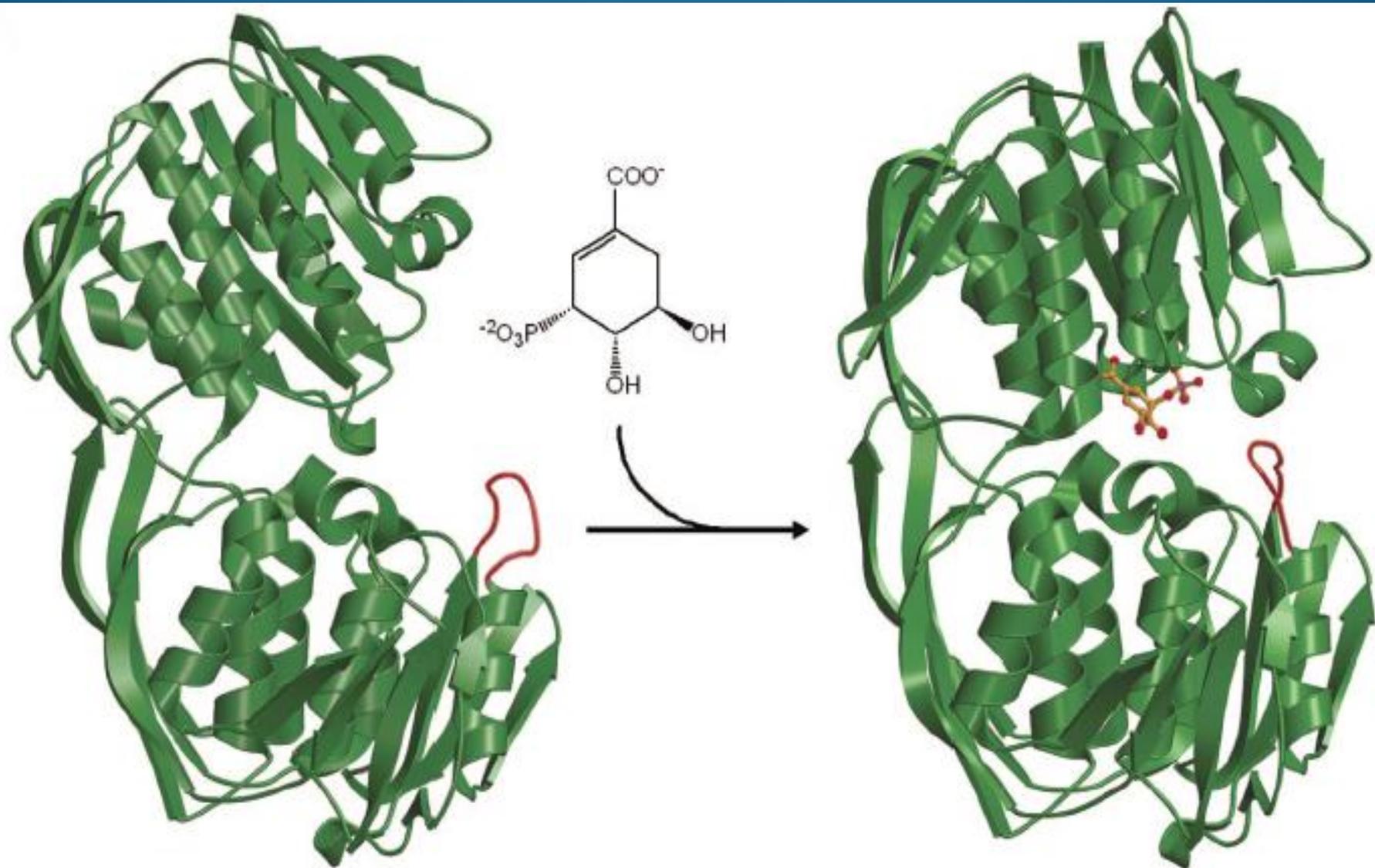
4.2.2 I型与II型 功能域对比分析-DOMAIN1

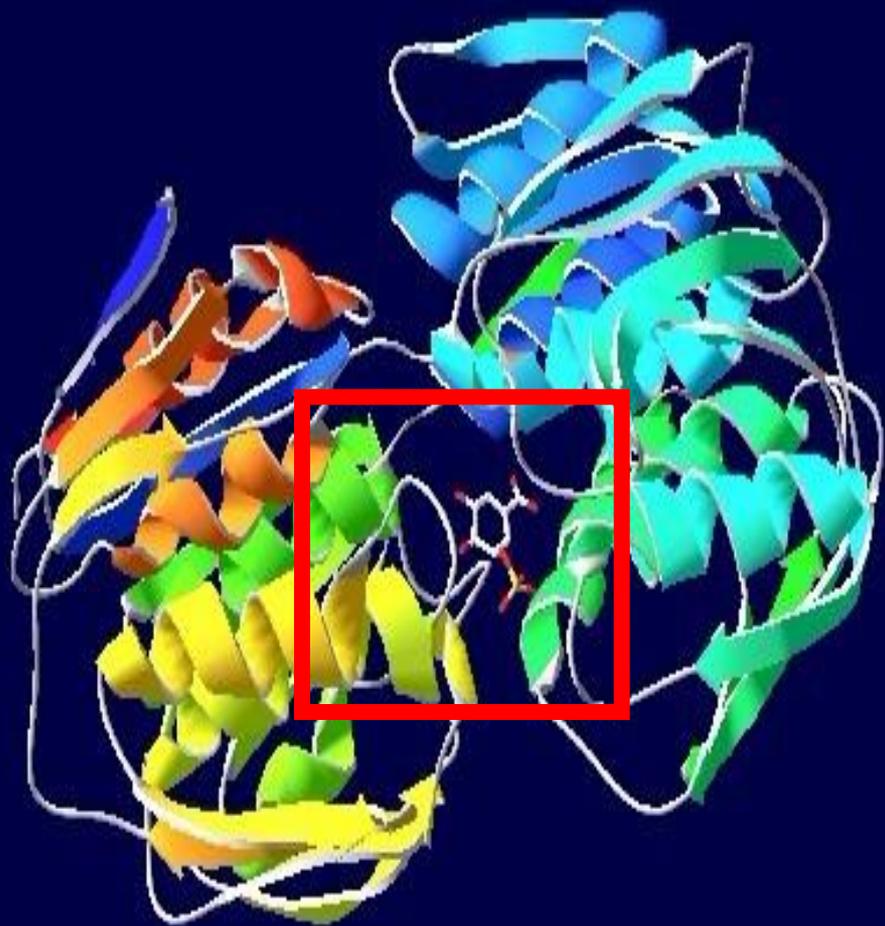


4.2.3 I型与II型 功能域对比分析-DOMAIN2

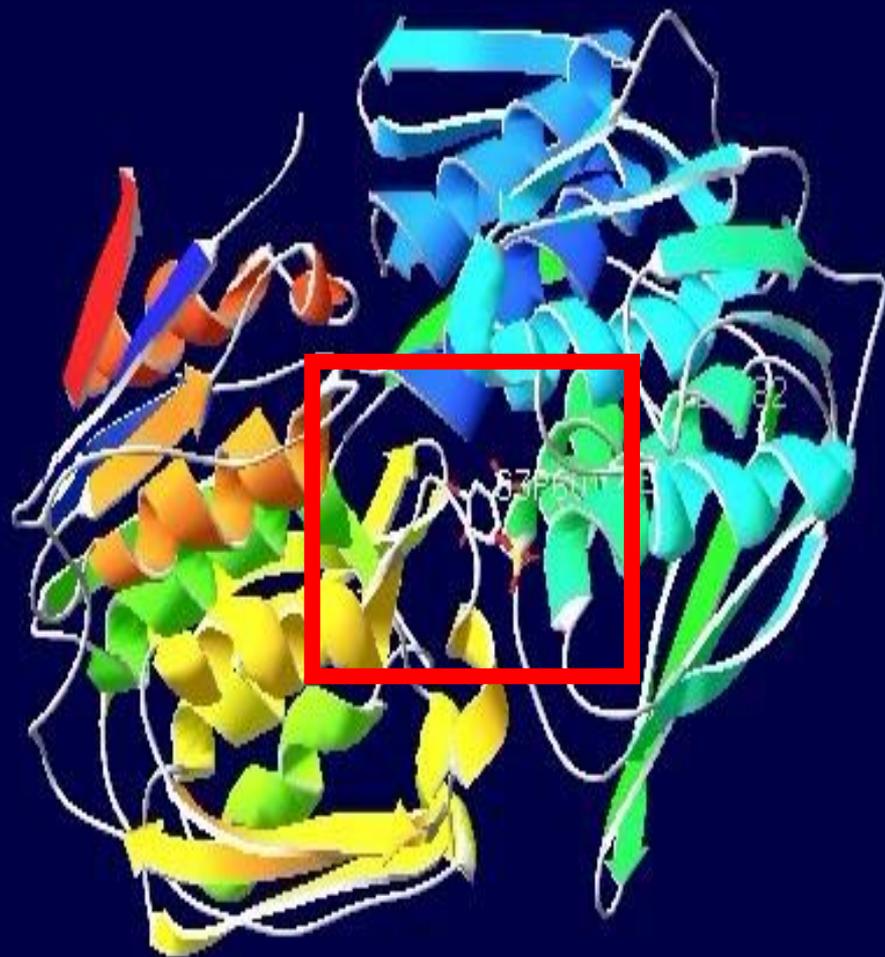


4.3 I型与II型 三级结构对比





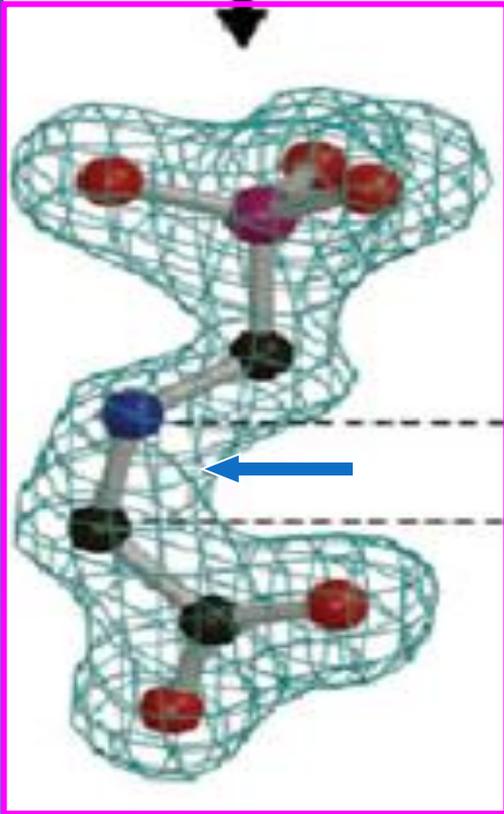
I



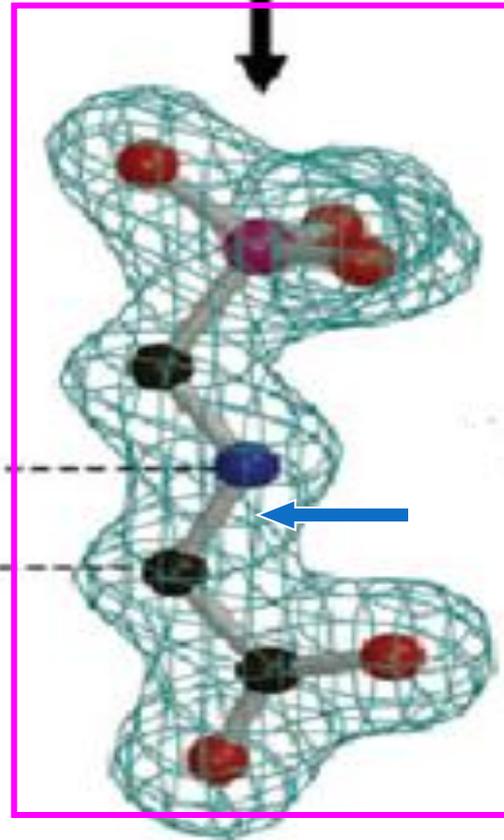
II

I型与II型 三级结构对比分析

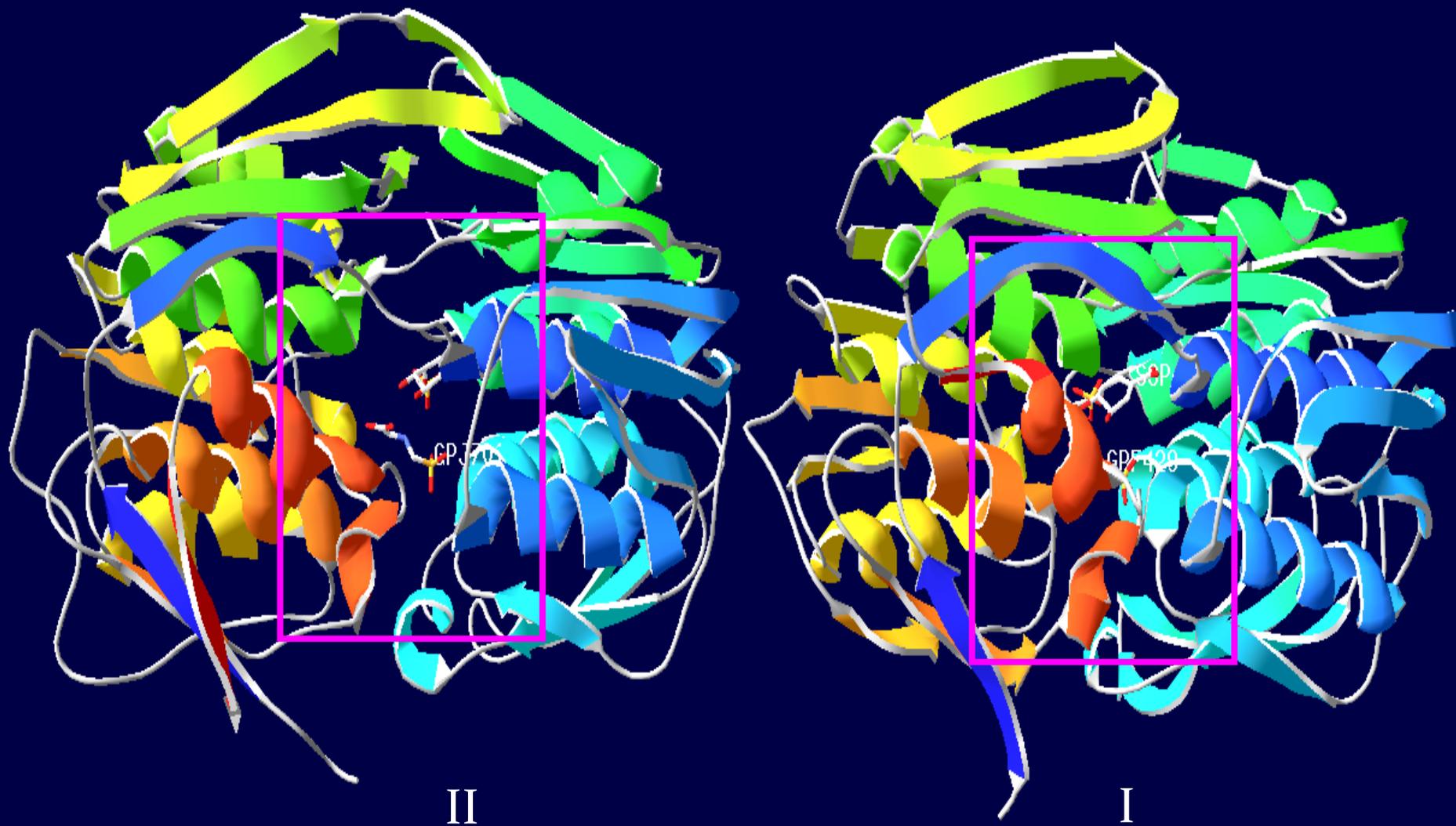
Ala100



Gly100



EPSPS 与草甘膦、S₃P三元复合物



参考文献

- 1 周卫平. 1999. 过期专利农药的创制与发展. 农药译丛. 21(3), 38-43
- 2 任不凡, 曹淞曾. 草甘膦及其研究进展. 农药, 1998. 37:1-8
- 3 Steinrucken, H. C. and N. Amrhein. 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase of *Klebsiella pneumoniae* 2. Inhibition by glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine]. *Eur J Biochem*, 1984. 143(2):351-7
- 4 Hollander-Czytko, H. and N. Amrhein. 5-Enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase, the target enzyme of the herbicide glyphosate, is synthesized as a precursor in a higher plant. *Plant Physiol*, 1987. 83(2):229-231
- 5 李冠德. 植物对草甘膦抵抗性的自然发生与人工改造
- 6 顿宝庆, 陆伟, 平淑珍等. 新型高抗草甘膦N-乙酰转移酶基因的分离及其在大肠杆菌中的表达. 高技术通讯, 2006. 9:943-948
- 7 金丹, 陈明, 马瑞强等. 利用DNA shuffling技术鉴定草甘膦N乙酰转移酶抗性相关位点. 中国农业科技导报, 2007. 9(5):110-114

参考文献

- 8 沈同和王镜岩.生物化学.北京高等教育出版社
- 9 梁爱敏.极端草甘膦环境中EPSP合酶基因的克隆及其抗性相关位点的鉴定.保定:河北农业大学, 2004
- 10 J.Barriuso,S.Marín,and R.P.Mellado(2010).Effect of the herbicide glyphosate on glyphosate-tolerant maize rhizobacterial communities:
a comparison with pre-emergence applied herbicide consisting of a combination of acetochlor and terbuthylazine. *Environ Microbiol*, 12, 1021-1030.
- 11 Y.S.Tian,A.S.Xiong,J.Xu,W.Zhao,F.Gao,X.Y.Fu,H.Xu,J.L.Zheng,R.H.Peng,and Q.H.Yao(2010).Isolation from *Ochrobactrum anthropi* of a novel class II 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase with high tolerance to glyphosate. *Appl Environ Microbiol*, 76, 6001-6005.
- 12 S.B.Powles,and Q.Yu(2010). Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annu Rev Plant Biol*, 61, 217-247.

感谢

- 罗老师对我们的教导
- 曹高焱、李见坤师兄、尚慧捷师姐的帮助
- 寒假班同学的帮助

謝

謝