



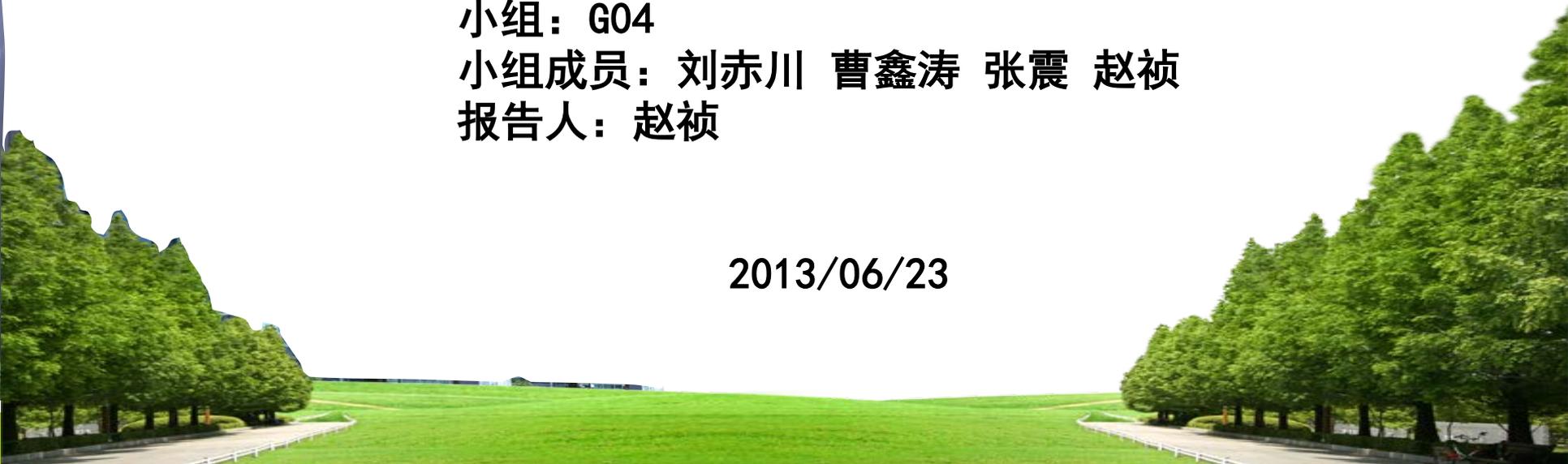
茄子甲硫氨酸亚砷还原酶A SmMsrA的分析

小组：G04

小组成员：刘赤川 曹鑫涛 张震 赵祯

报告人：赵祯

2013/06/23





Contents

报告提纲

1

研究背景及意义

2

蛋白质序列分析

3

蛋白质功能分析

4

系统发育分析





Contents

报告提纲

1

研究背景及意义

2

蛋白质序列分析

3

蛋白质功能分析

4

系统发育分析





茄子单性结实的研究背景



茄子是我国主要的蔬菜之一，属喜温作物，在温室反季节栽培及春季露地早熟栽培条件下，开花期常遇到低温，易引起授粉受精不良，落花、落果，导致生产效益降低。

单性结实

单性结实是指子房未经受精而直接发育成无籽果实的现象。

茄子

低温胁迫

单性结实品种在低温胁迫下可以正常开花结果，提高坐果率。



基因的研究背景

单性结实

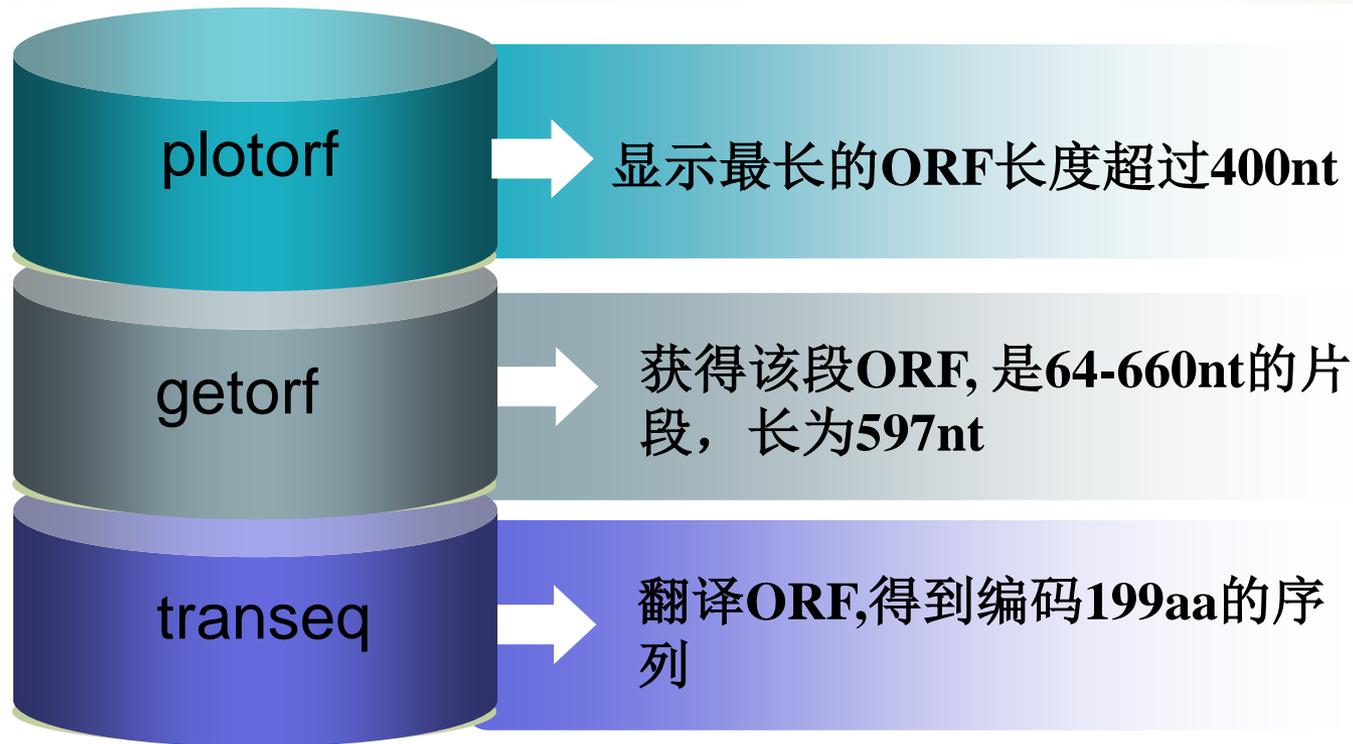
克隆茄子单性结实的基因，进而研究单性结实基因的表达、调控及果实发育的分子机理，对指导单性结实品种的育种工作具有重要意义。

基因克隆

蔬菜花卉研究所茄子课题组的张映从茄子单性结实的SSH-cDNA文库中克隆了一段长为934bp的cDNA。



利用Jemboss软件对核苷酸序列分析



- ❖ 将这段199aa的序列在Uniprot上blastp, 结果显示与番茄的甲硫氨酸亚砷还原酶A (MsrA) (P54153) 相似度最高, 达到了91%, 说明克隆的基因极有可能是茄子中的MsrA基因, 命名为SmMsrA。
- ❖ 在低温胁迫下, 细胞内产生大量活性氧, Met易被氧化为甲硫氨酸亚砷 MetSO, 使控制茄子结实的蛋白活性丧失。Msr能催化MetSO还原为Met, 从而保护控制果实生长、发育的蛋白。
- ❖ 通过荧光定量PCR进行表达分析, SmMsrA基因在低温下的单性结实体系中的表达量高于非单性结实体系。据此, 我们推测茄子的甲硫氨酸亚砷还原酶A (SmMsrA) 可能是单性结实过程中的重要酶类。





Contents

报告提纲

1

研究背景及意义

2

蛋白质序列分析

3

蛋白质功能预测

4

系统发育分析



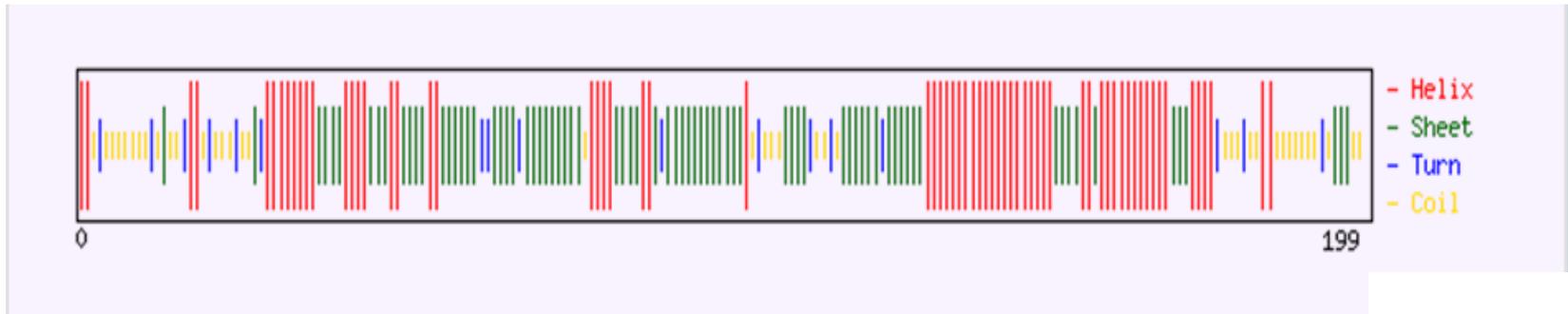
氨基酸序列组成分析



❖ 用ExPASy中的ProtParam分析:

SmMsrA蛋白的分子量为22371.7Da, 等电点为5.42, 不稳定系数为41.29。

❖ CFSSP (<http://www.biogem.org/tool/chou-fasman/>) 对二级结构的预测:



Total Residues: H: 99 E: 116 T: 28





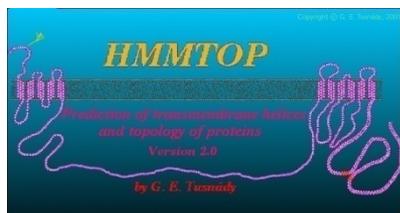
预测跨膜结构

Tmpred (http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html)

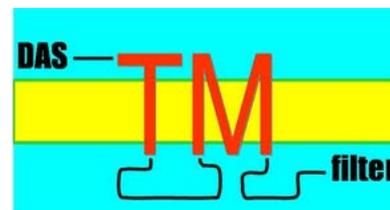
DAS-TMfilter server (<http://mendel.imp.ac.at/sat/DAS/DAS.html>)

HMMTOP (<http://www.enzim.hu/hmmtop/>)

TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)

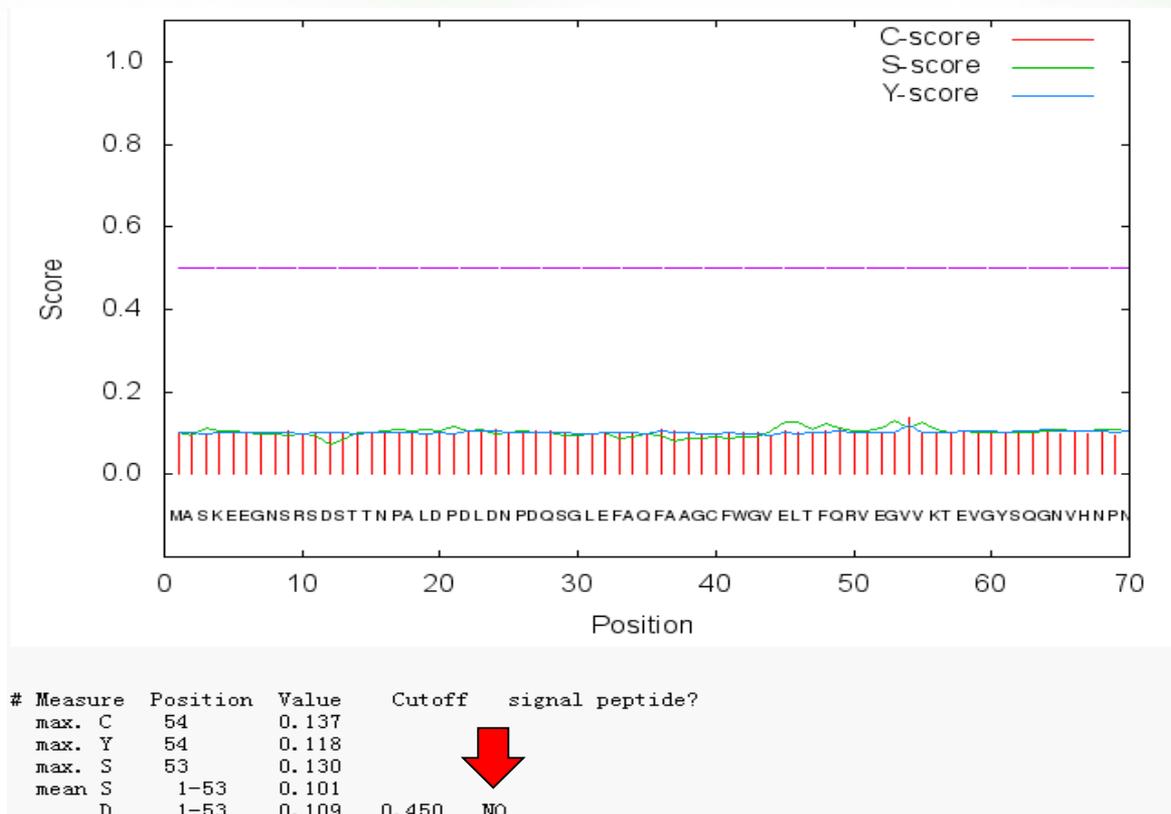


均没有预测到跨膜结构



信号肽预测

SignalP 4.1 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) :



没有预测到信号肽，不是分泌蛋白。



预测蛋白在细胞中的定位

- ❖ **WoLF PSORT** (<http://wolfpsort.org/>)

预测该蛋白可能存在于**叶绿体**中。



- ❖ **TargetP 1.1 Server**

(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>)

Name	Len	cTP	mTP	SP	other	Loc	RC
Solanum_melongena	199	0.266	0.063	0.114	0.876	_	2

定位在细胞器的分值都很低，叶绿体稍高，存在于细胞质基质中的可能性最大。





Contents

报告提纲

1

研究背景及意义

2

蛋白质序列分析

3

蛋白质功能分析

4

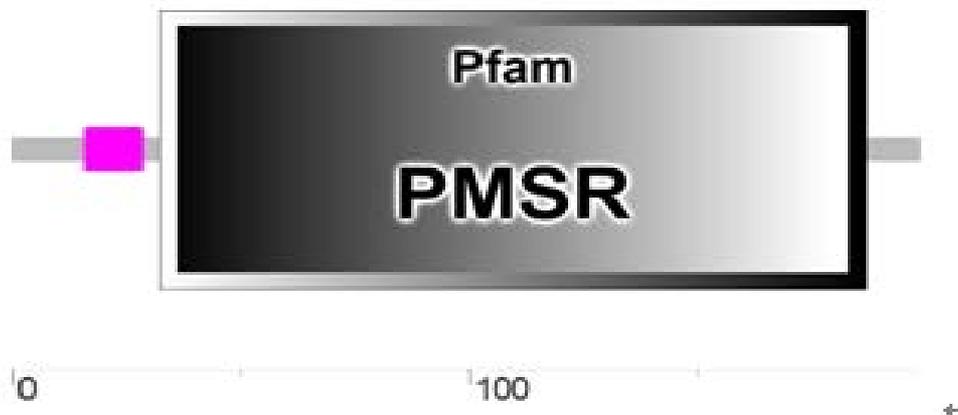
系统发育分析



SMART 预测蛋白结构域

SmMsrA蛋白的N端32-187aa是PMSR(Peptide Methionine Sulfoxide Reductase)结构域

EFAQFAAGCFWGVELTFQRVEGVVKTEVGYSQGNVHN
PNYKLVCSGTTEHAEVIRIQFDPNVCPYSQLLSLFWSRH
DPTTLNRQGNDVGRQYRSGIYYYNDAQAQLARESMEAK
QKEFTDKMIVTEILPAKRIFYRAEEYHQQYLEKGGGSGC
KQSA



运用DNAMAN进行多序列比对

蛋白质序列为PtMsrA(Q6QPJ4)、AtMsrA(Q9FKF7)、SiMsrA(P54153)、SmMsrA，红色框表示保守序列，均还有PMSR结构域。

Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	MLQTLSTHLSSTSTSTSTTTPLLLLLSKPFLSPSAKSQLSHSK	40
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	0
Solanum_lycopersicum_P54153	0
Solanum_melongena	0
Consensus		
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	PFNFPRTLKPIISYYKPPMANILSKLGFGRSPDFSTMDET	80
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7MNILNKLIGI..SSRQINMDFE	20
Solanum_lycopersicum_P54153MEGNN..SSSKSTTNEA	15
Solanum_melongenaMASKEEGN..SRSDSTTNEA	18
Consensuss.....p	
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	.IPQGFDDDLPAFGCQFAQFGAGCFWGVELAFQRVFGVTK	119
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	PIAQVIDDEAPFGCQFTQFGAGCFWGVELAYQRVFGVTQ	60
Solanum_lycopersicum_P54153	.LDPDIDS.PDQEGIEFAQFAAGCFWGVELAFQRVGGVVK	53
Solanum_melongena	.LDPDIDN.PDQSGIEFAQFAAGCFWGVELTFQRVEGVVK	56
Consensusd.....g.....f.....qf.....agcfw.....vel.....qrv.....gv	
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	TEVGYSQGLLHNETYEDVCIQTINHNVEVVRVQYDEKECSF	159
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	TEVGYSQGITHDSEYKIDVCSGTTNHAFIVRVQYDEKECSY	100
Solanum_lycopersicum_P54153	TEVGYSQGNVHDFNYKLCISGTTTEHAEAIRICFDENVCPY	93
Solanum_melongena	TEVGYSQGNVHNEENYKLVCSGTTTEHAEVIRICFDENVCPY	96
Consensus	tevgysqg.....n.....p.....y.....c.....gtt.....n.....e.....r.....q.....dp.....c	
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	DTLLIDVLWARHDPPTTLNRQGNDVGTQYRSGIYYYTPEQEK	199
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	QSLLDLFWSRHDPPTTLNRQGNDVGTQYRSGIYFYNPEQEK	140
Solanum_lycopersicum_P54153	SNLLSLFWSRHDPPTTLNRQGNDVGTQYRSGIYYYNDACAQ	133
Solanum_melongena	SCLLSLFWSRHDPPTTLNRQGNDVGTQYRSGIYYYNDACAQ	136
Consensusl.....w.....hdpttlnrqgndvg.....qyrsgiy.....y.....q	
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	PAKESLERQCK.LLNKRVTEILPAKRFYRAEYHQQYLA	238
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	LARESLERHQQ.QVDRKVVTEILPAKRFYRAEYHQQYLS	179
Solanum_lycopersicum_P54153	LARESLERQCKEFMDKKIVTEILPAKRFYRAEYHQQYLE	173
Solanum_melongena	LARESMERQCKEFMDKMIIVTEILPAKRFYRAEYHQQYLE	176
Consensus	a.....es.....e.....q.....vteilpakrfyraeeyhqqyl	
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	KGGREGFMQSAEKGCNDPIRCY	260
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	KGGREGFLKQSTEKGCNDPIRCY	201
Solanum_lycopersicum_P54153	KGGREGCKQSAEKGCNDPIRCY	195
Solanum_melongena	KGGGSGCKQSAEKGCNDPIRCY	198
Consensus	kgg.....g.....qs.....kgcndpircy	





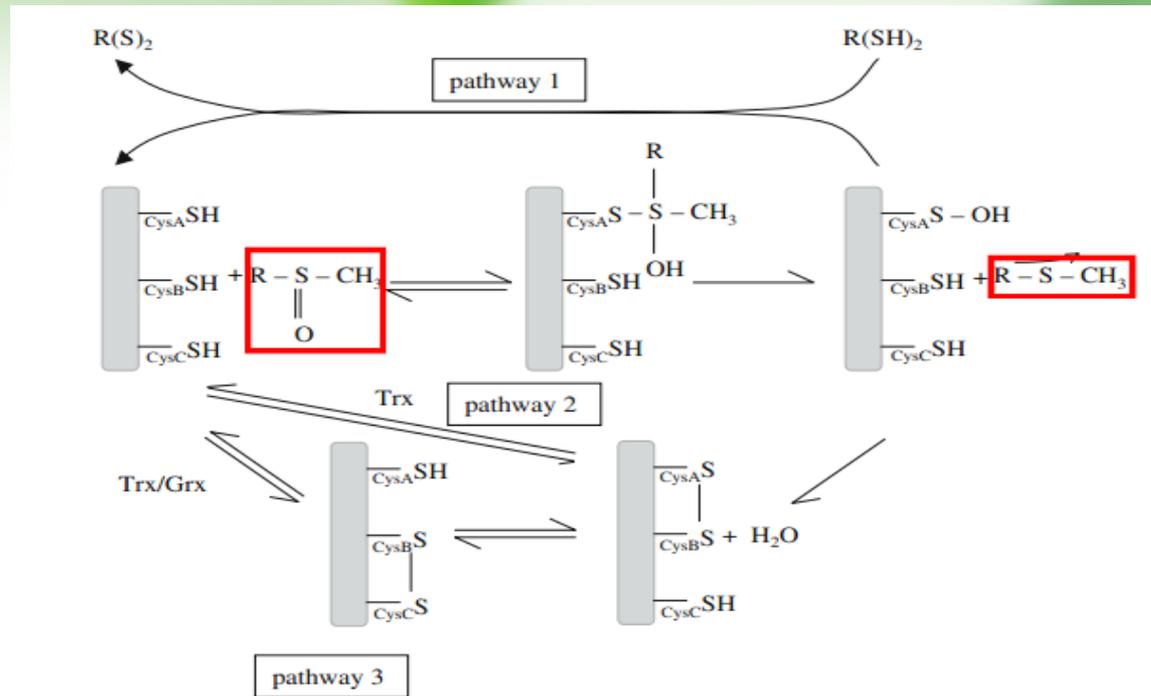
PMSR的功能



1. 在Interpro数据库中，SmMsrA属于甲硫氨酸亚砷还原酶家族（IPR002569），催化甲硫氨酸亚砷（MetSO）还原为甲硫氨酸（Met）。
2. 用GO对功能进行分类，该蛋白参与氧化还原反应（GO:0055114），具有甲硫氨酸亚砷还原酶的活性（GO:0008113），参与高氧胁迫下的应答反应（GO:0006979）和蛋白质的修复过程（GO:0030091）。



MsrA的催化机制



(Boschi-Muller et al, 2005)

1. Msr的CysA与MetSO反应生成次磺酸, 将MetSO还原成Met。
2. Msr的再生:
 - pathway 1: Msr的CysA-SOH被Trx还原, 重新生成Msr;
 - pathway 2: CysA-CysB间形成二硫键, 被Trx还原;
 - pathway 3: CysB-CysC间形成二硫键, 被Trx/Grx还原。





Pfam预测蛋白活性位点



HOME | SEARCH | BROWSE | FTP | HELP | ABOUT



Sequence search results

[Show](#) the detailed description of this results page.

We found **1** Pfam-A match to your search sequence (**all** significant). You did not choose to search for Pfam-B matches.



[Show](#) the search options and sequence that you submitted.

[Return](#) to the search form to look for Pfam domains on a new sequence.

Significant Pfam-A Matches

[Show](#) or [hide](#) all alignments.

Family	Description	Entry type	Clan	Envelope		Alignment		HMM		HMM length	Bit score	E-value	Predicted active sites	Show/hide alignment
				Start	End	Start	End	From	To					
PMSR	Peptide methionine sulfoxide reductase	Family	n/a	32	187	34	184	3	153	156	206.2	2.3e-61	40	Hide
#HMM	avlagCFWgveavfeklkGVisverGVaggevenptYe vcs gktghaEaveveydpekvsyeellvffvfi h d p t q l n r q m d i g t q l r s a i f y t d e e q k k e a e e l i e k l k e v k s k k i v t e i e p l e t F y p a e e y h q d l l e k n p k r y c s													
#MATCH	a + a t g C F W g v e + f + + + G V + + + e v G Y + g t v t n p + Y t v c s g t t + h a E + + + + + d p t + y t l l + f t + h d p t + l n r q m d i g t q l r s t i y + + + + g t t a t e t t e t q k e t + + k i v t e i t p + + + F y t a e e y h q t Y l e k + c t													
#FP	78*****90877665													
#SEQ	AGFAAGCFWGVELTFRVEGVKTEVGYSGQGNVHNPYKLVCSGITTEHAEVIRIQFDPNVCPYSQLLSLFWSRHDPPTLLNRQGNVGRQYRSGIYYNDAGAGLARESMEARKQKFTDKMIVTEILPAKRFYRAEETHQQYLEKGGGSCK													





MsrA保守的Cys活性位点

Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	MLQTLSTHLSSTSTSTTTPLLLLLSKPFLSPSAKSQLSHSK	40
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	0
Solanum_lycopersicum_P54153	0
Solanum_melongena	0
Consensus		
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	PFNFPRTLKPISYKPPMANILSKLGFGRSPDPSTMDPT	80
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7MNILNKLIGI..SSRQTNMDPS	20
Solanum_lycopersicum_P54153MEGNN..SSSKSTINPA	15
Solanum_melongenaMASKEEGN..SRSDSTINPA	18
Consensus		
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	.IPQGPDDDLPAFGQQFAQFGAGCFWGVELAFQRVPGVTK	119
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	PIAQVIDDEAPAPGNQFTQFGAGCFWSVELAYQRVPGVTQ	60
Solanum_lycopersicum_P54153	.LDPDLDS.PDQPGLEFAQFAAGCFWGVELAFQRVGGVVK	53
Solanum_melongena	.LDPDLDN.PDQSGLEFAQFAAGCFWGVELTFQRVEGVVK	56
Consensus		
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	TEVGYTQGLLHNPTYEDVCTGTTNHNEVVRVQYDPKECSF	159
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	TEVGYSQGITHDPSYKDVCSGTTNHAEIVRVQYDPKECSY	100
Solanum_lycopersicum_P54153	TEVGYSQGNVHDPNYKLCISGTTAEAEAIRIQFDPNVCPY	93
Solanum_melongena	TEVGYSQGNVHNPYKLVCSGTTAEAEVIRIQFDPNVCPY	96
Consensus		
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	DTLIDVLWARHDPDTILNRQGNDVGTQYRSGIYYYYTPEQEK	199
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	QSLLDLFWSKHDPDTILNRQGNDVGTQYRSGIYFYNPEQEK	140
Solanum_lycopersicum_P54153	SNLLSLFWSRHDPTILNRQGNDVGVKQYRSGIYYYYNDAQAQ	133
Solanum_melongena	SQLLSLFWSRHDPTILNRQGNDVGRQYRSGIYYYYNDAQAQ	136
Consensus		
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	AAKESLERQQK.LLNRKIVTEILPAKKFYRAEEYHQYLA	238
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	LARESLEHQQ.QVDRKVVTEILPAKKFYRAEEHHQQYLS	179
Solanum_lycopersicum_P54153	LARESLEAKQKEFMDKKIVTEILPAKRFYRAEEYHQYLE	173
Solanum_melongena	LARESMEAKQKEFTDKMIVTEILPAKRFYRAEEYHQYLE	176
Consensus		
Populus_trichocarpa_Q6QPJ4	KGGRFGFMQSAEKGCNDPIRCY	260
Arabidopsis_thaliana_Q9FKF7	KGGRFGLKQSTKGCNDPIRCY	201
Solanum_lycopersicum_P54153	KGGGRGCKQSAAKGCNDPIRCY	195
Solanum_melongena	KGGGSGCKQSAAKGCNDPIRCY	198
Consensus		

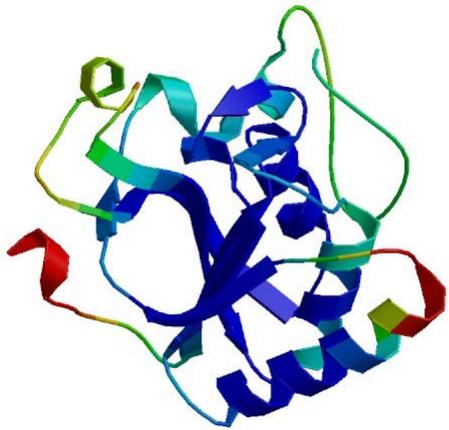
A. thaliana, P. trichocarpa

E. coli, Bos taurus

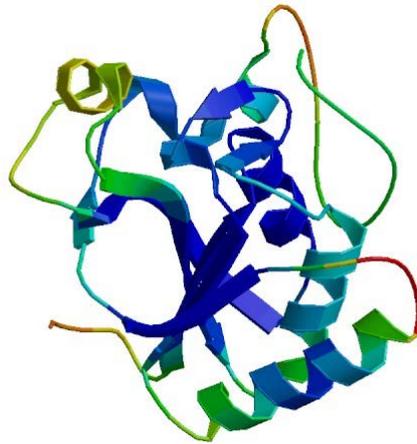


Swiss Model预测三级结构

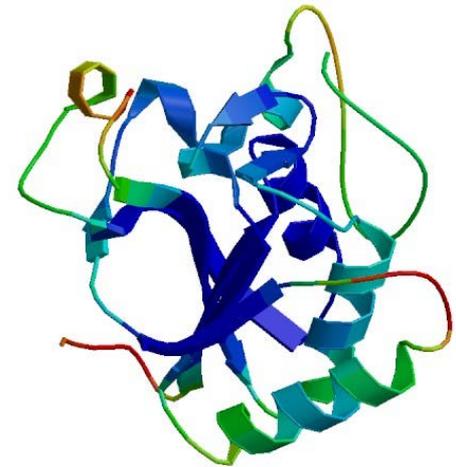
❖ 分别将AtMsrA(Q9FKF7)、SIMsrA(P54153)、SmMsrA进行同源建模，运用的模板都是白杨的MsrA(2j89A)。



AtMsrA



SIMsrA



SmMsrA

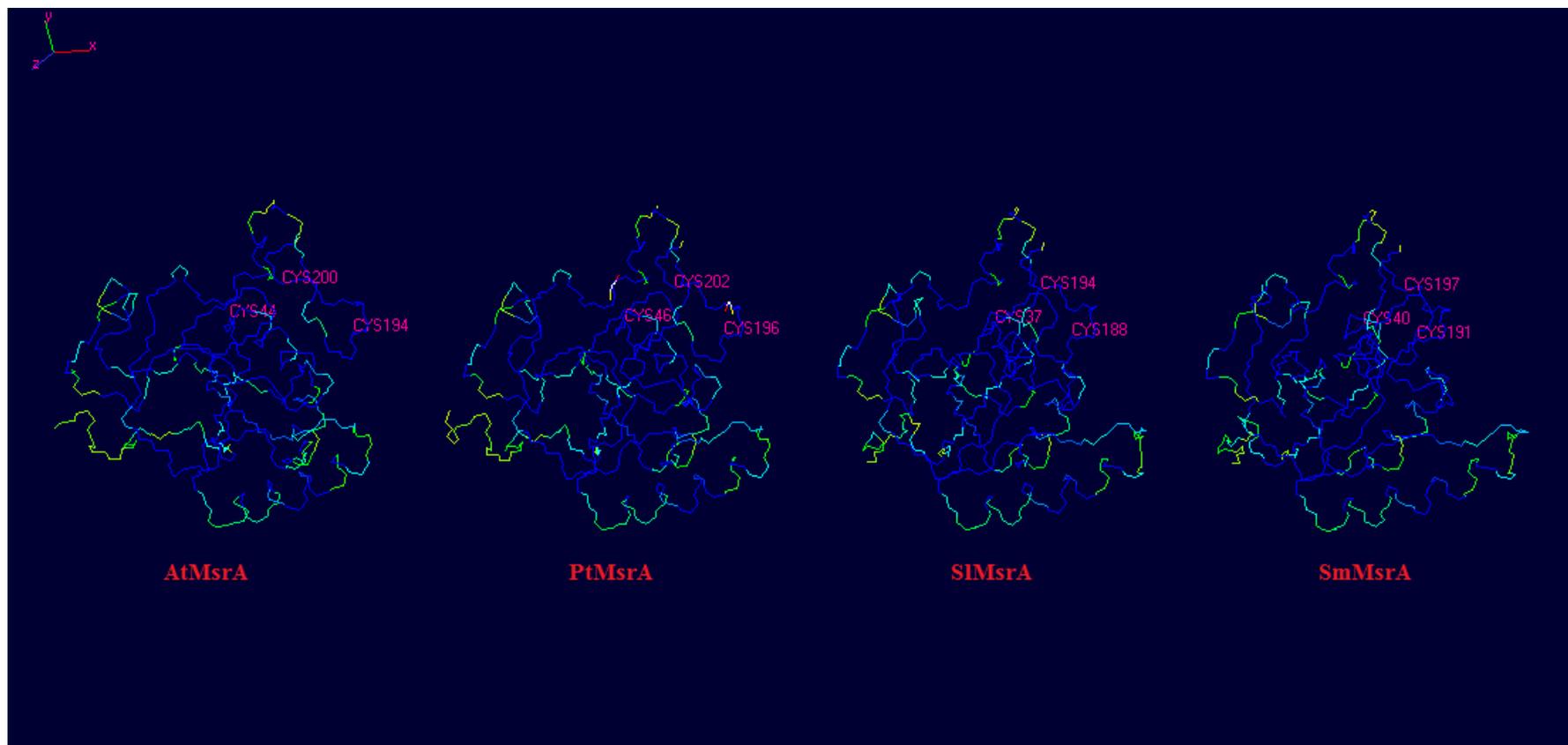




Swiss-pdbViewer



蓝色代表序列一致的区域，三个保守的Cys在空间位置上临近，有利于二硫键的形成。





Contents

报告提纲

1

研究背景及意义

2

蛋白质序列分析

3

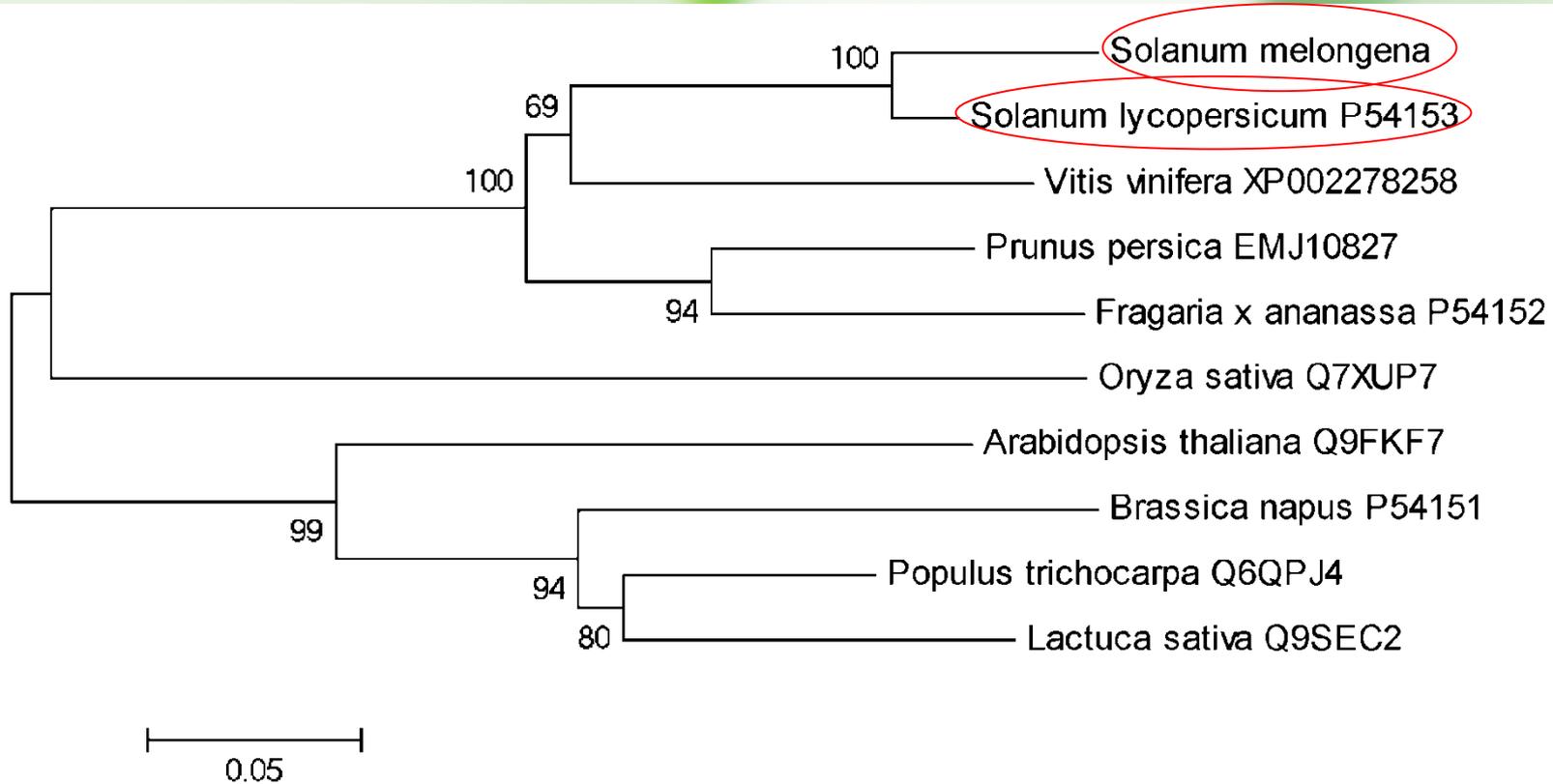
蛋白质功能预测

4

系统发育树分析



系统发育分析



利用Maximum Likelihood方法构建系统发育树，茄子SmMsra和番茄SIMsrA聚于一个分支上，表明其亲缘关系非常近。





结论

通过以上生物信息学分析，可以确认克隆基因表达的氨基酸序列为茄子的MsrA蛋白，为下一步功能验证提供了依据。





谢谢大家！