

拟南芥中NUWA蛋白结构与功能的分析

Structural and Functional Analysis of
NUWA Protein in *Arabidopsis Thaliana*

G03 小组

汇报人：孙妍

研究背景

研究问题

研究方法

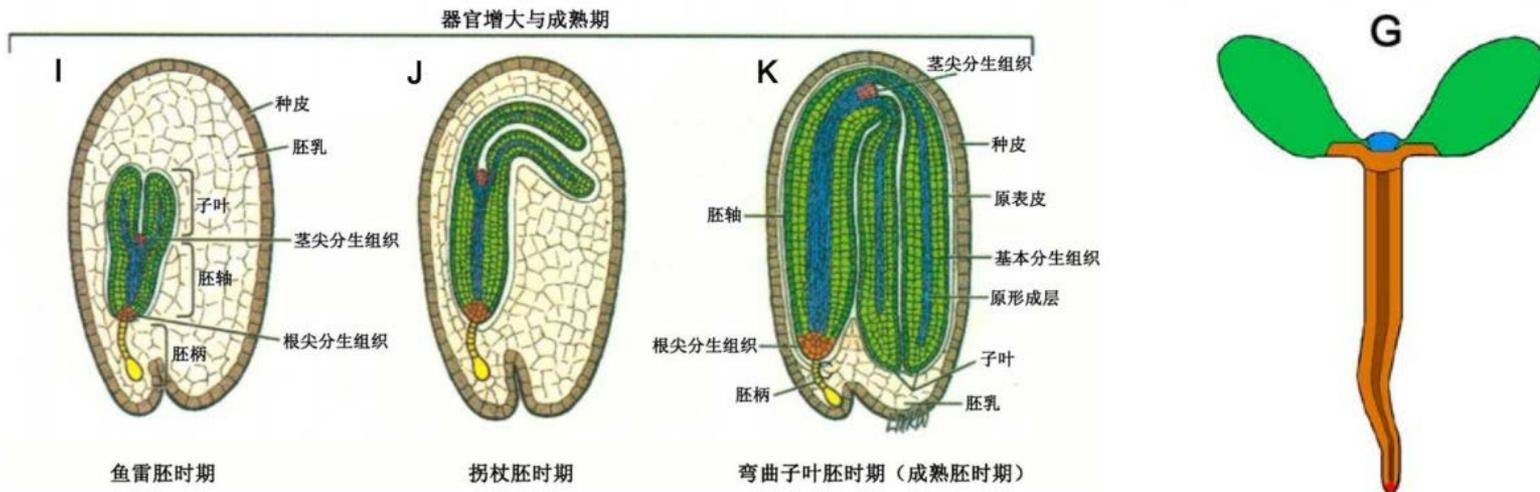
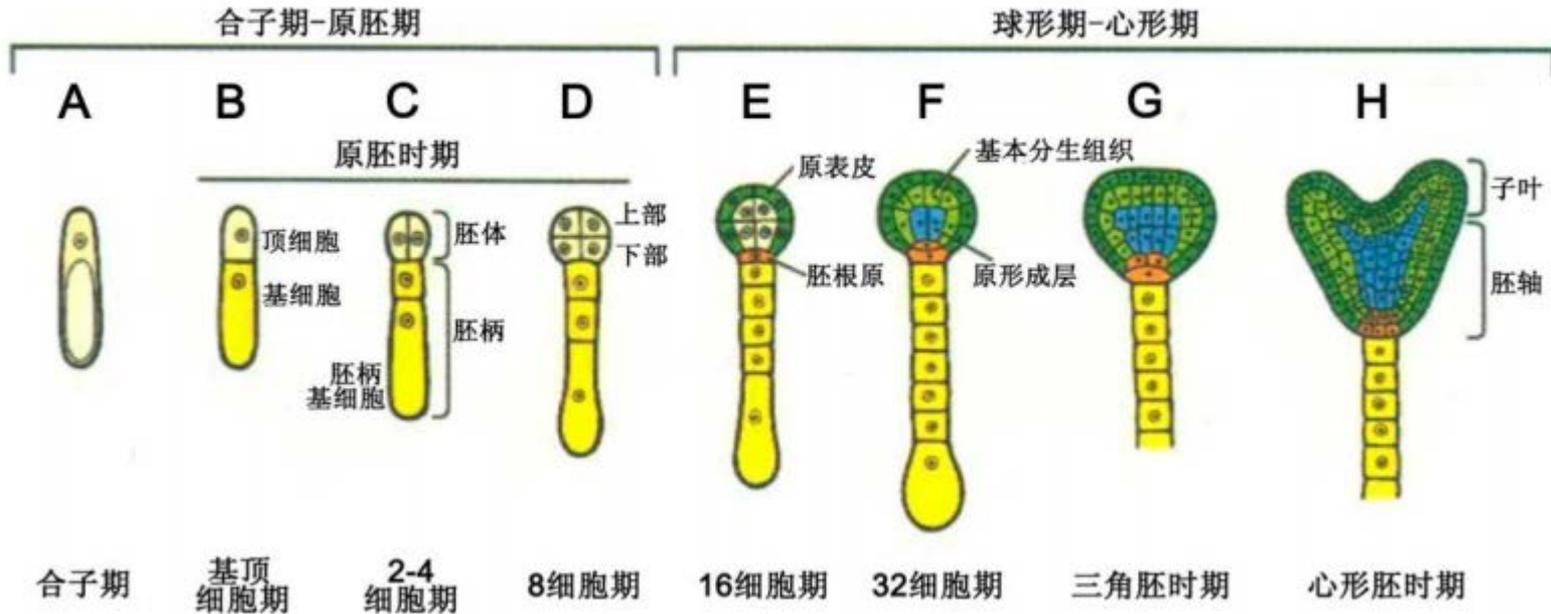
实验设计

NUWA蛋白名字的由来



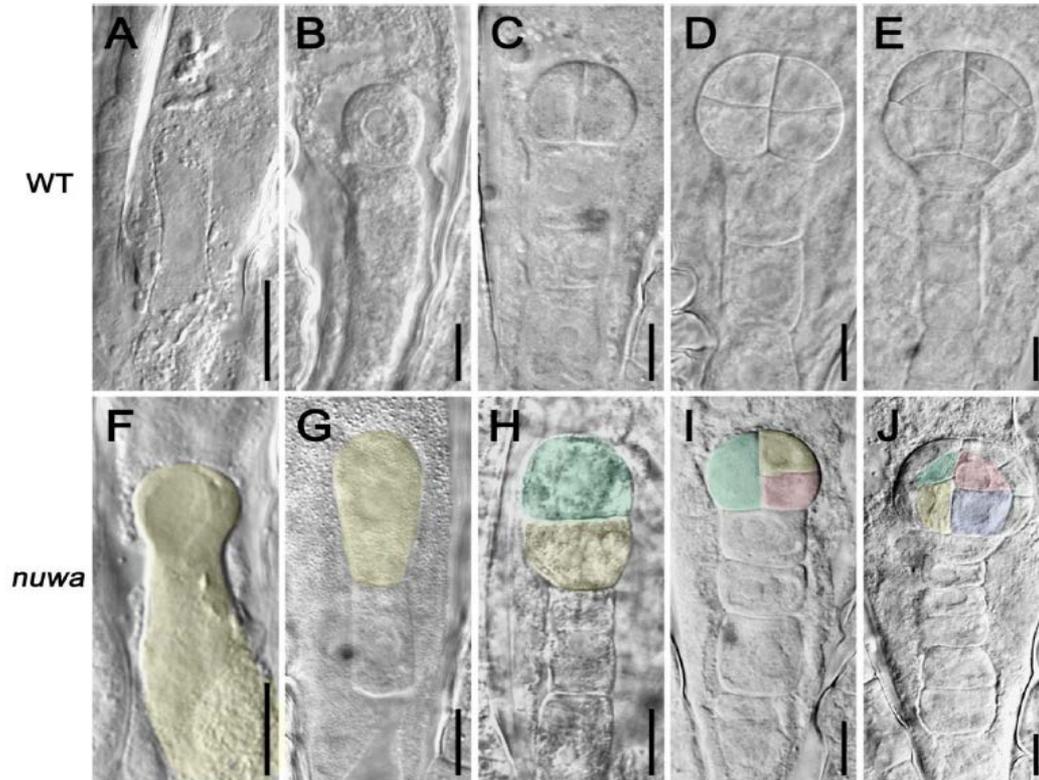
女娲女神，是汉民族始祖神话的典型代表。女娲通过捏土造人创造了人类。

拟南芥胚胎发育过程



研究背景

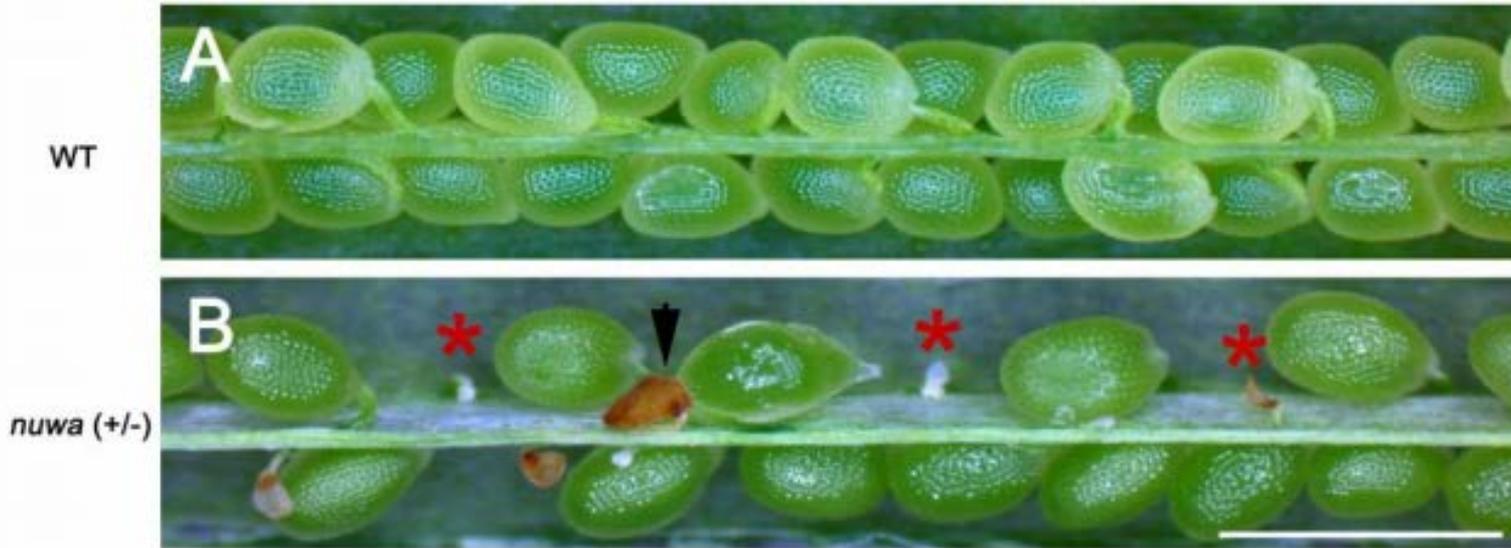
*nuwa*突变体表型：胚胎和胚乳发育缓慢，纯合致死，线粒体形态异常



(Shan He. unpublished data)

研究背景

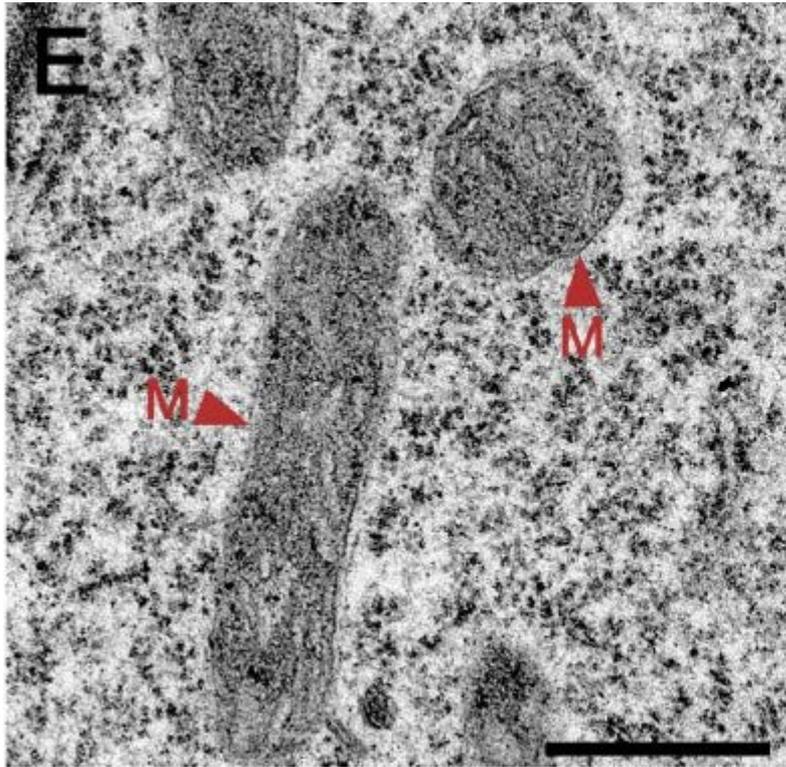
*nuwa*突变体表型：胚胎和胚乳发育缓慢，纯合致死，
线粒体形态异常



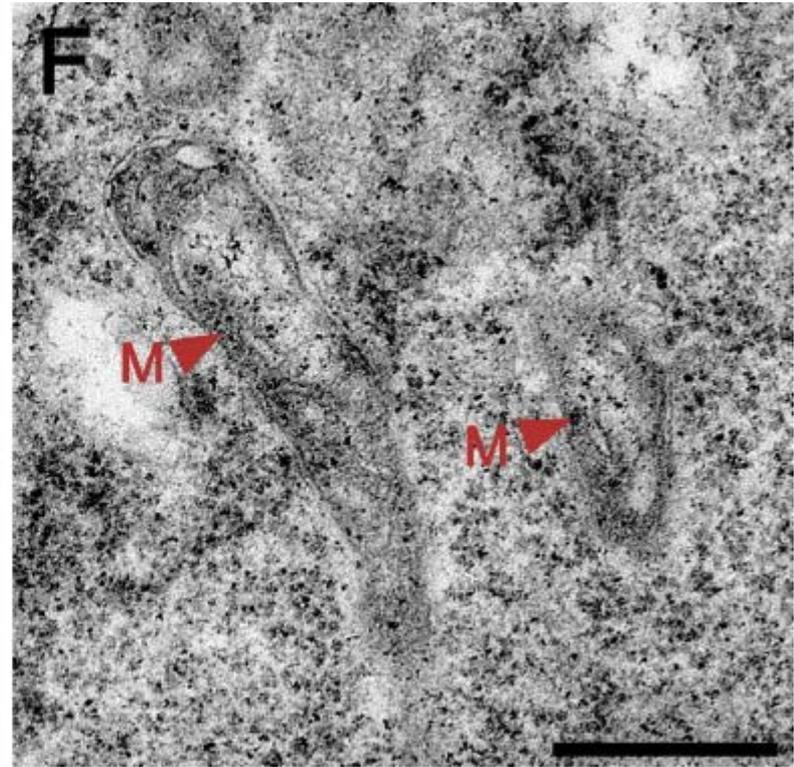
(Shan He. unpublished data)

研究背景

*nuwa*突变体表型：胚胎和胚乳发育缓慢，纯合致死，线粒体形态异常



WT

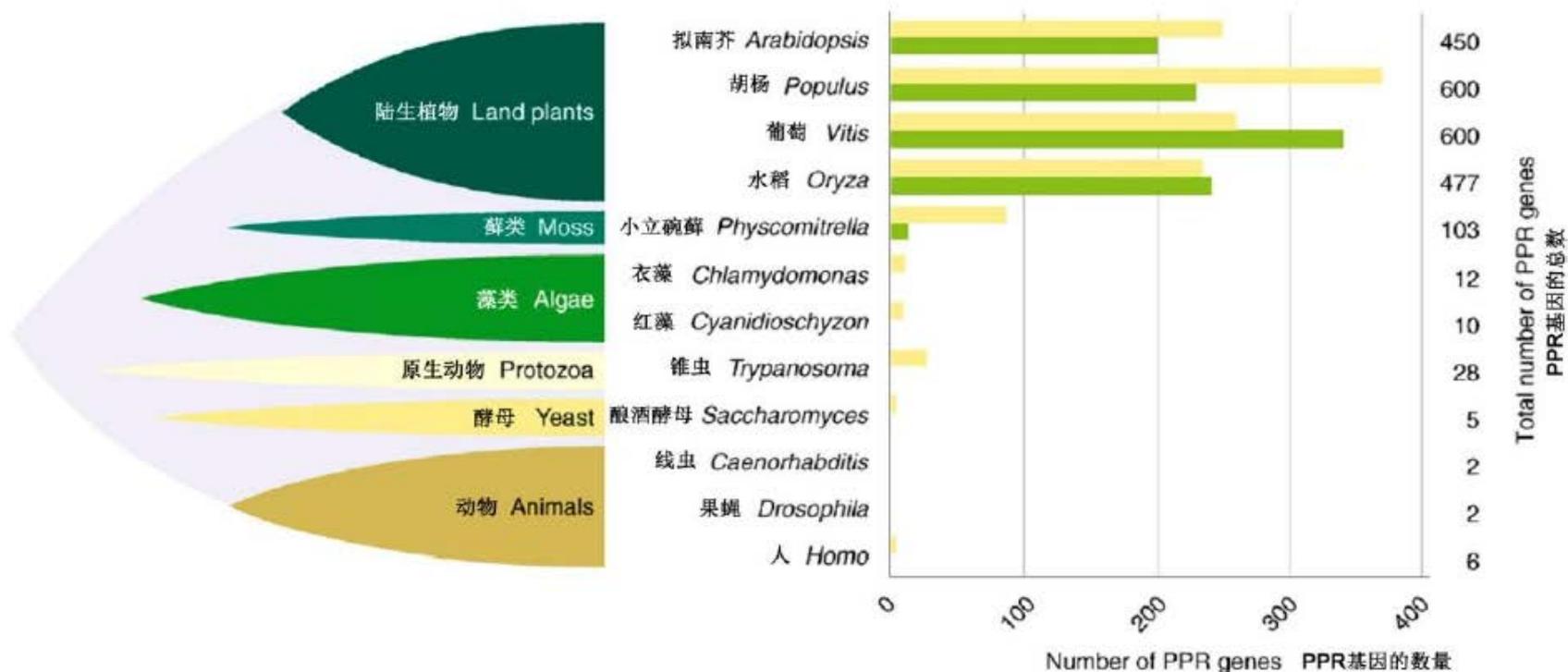


nuwa

(Shan He. unpublished data)

研究背景

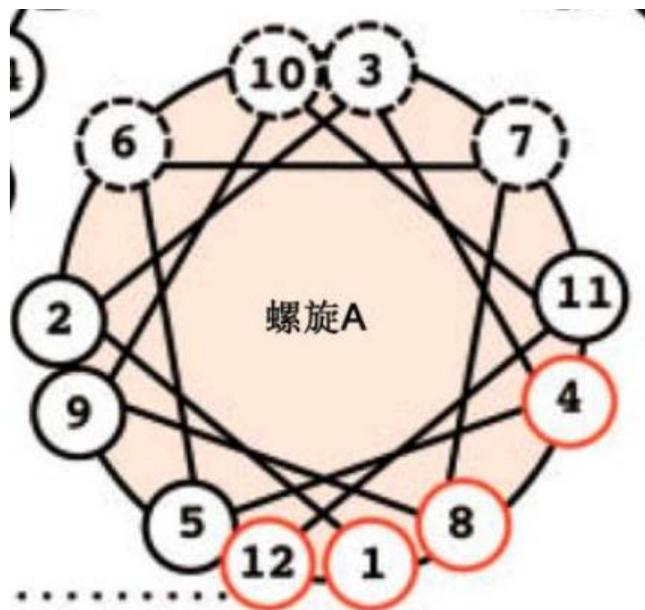
NUWA 基因属于PPR家族 (pentatricopeptide repeat protein), PPR基因家族是一个庞大的植物基因家族, 在陆生植物中广泛分布。它是拟南芥中最大的基因家族之一, 目前共发现有450个家族成员



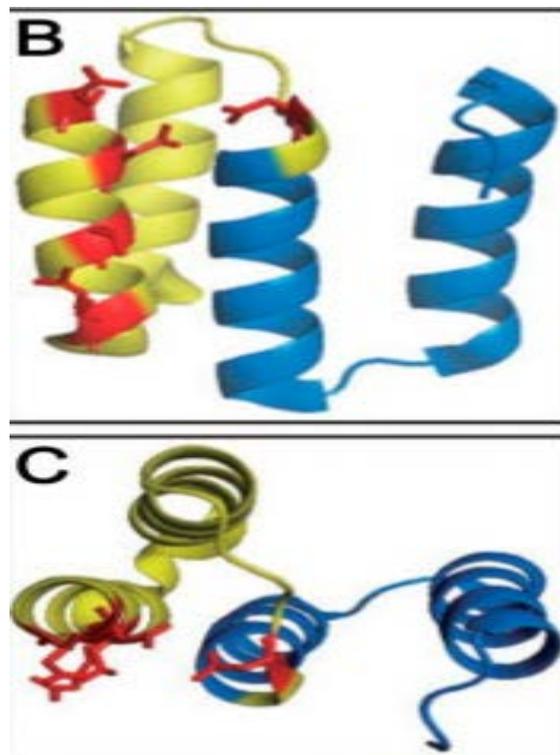
(改编自Schmitz-Linneweber and Small, 2008)

研究背景

PPR基因家族编码的蛋白平均12个串联重复的以35个氨基酸为单位的三十五肽基序，每个PPR基序是由两个反向平行的 α 螺旋结构和转角构成的



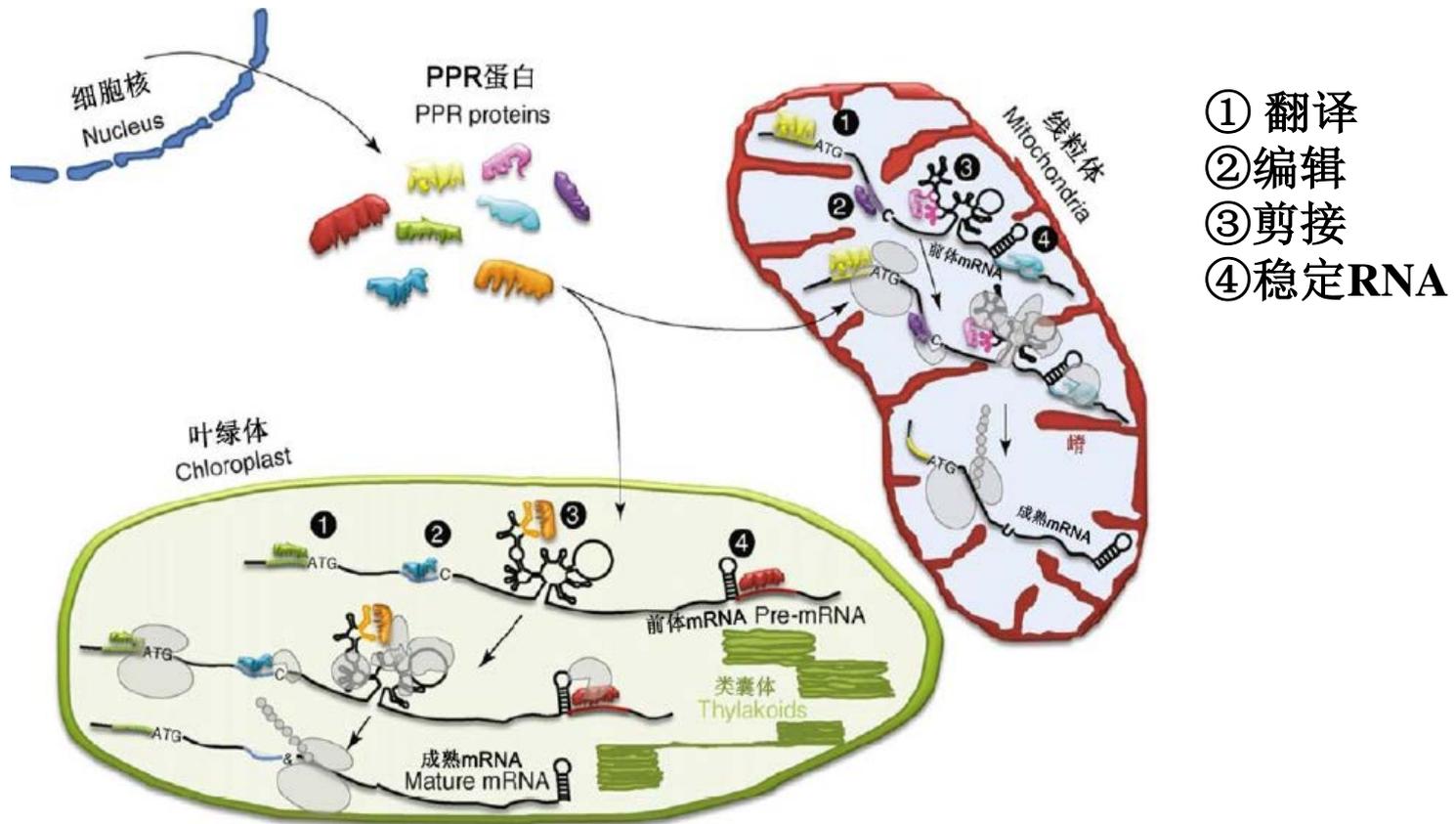
拟南芥 HCF152 氨基酸位置示意图



拟南芥 HCF152 三维结构侧视图

研究背景

PPR蛋白主要功能是序列特意地识别某个线粒体或叶绿体的基因的转录本序列并对参与RNA的剪切、拼接、编辑、稳定甚至转录和翻译等重要的转录后加工过程进行调控



改编自：Schmitz-Linneweber and Small, 2008

研究问题

利用生物信息学的方法分析NUWA蛋白的二级结构和功能域

利用生物信息学的方法预测NUWA蛋白在植物体中表达部位和亚细胞定位

研究方法：



序列全长： 629AA

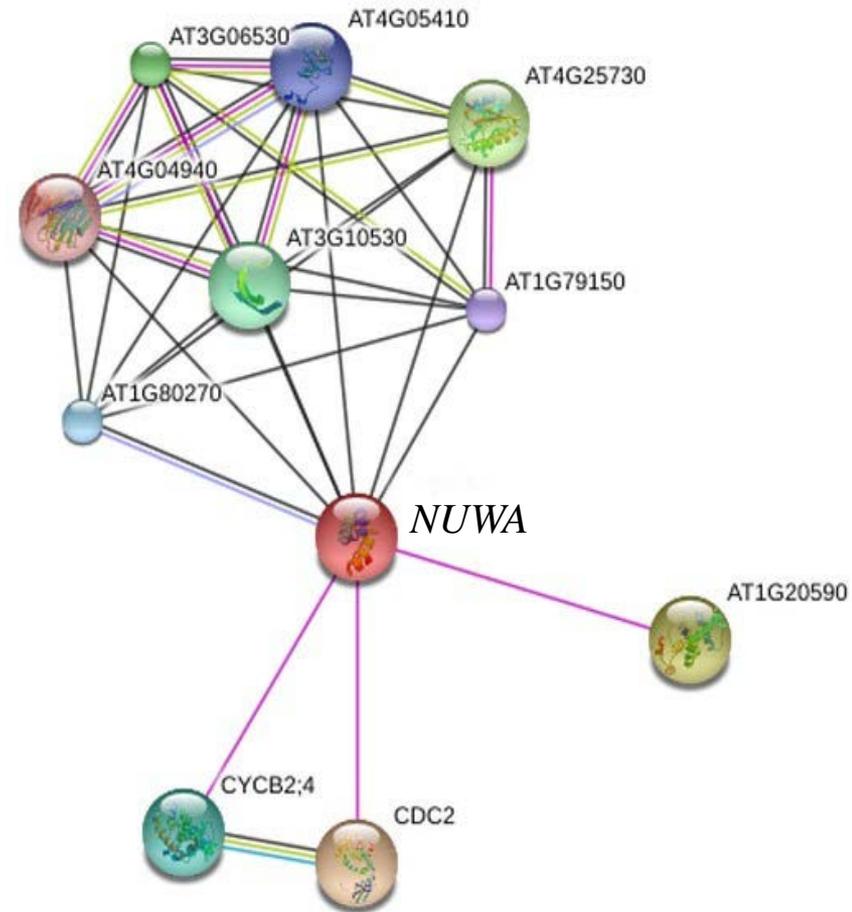
内含子： 无

序列注释： 11个motif

功能： 可能与胚胎发育有关

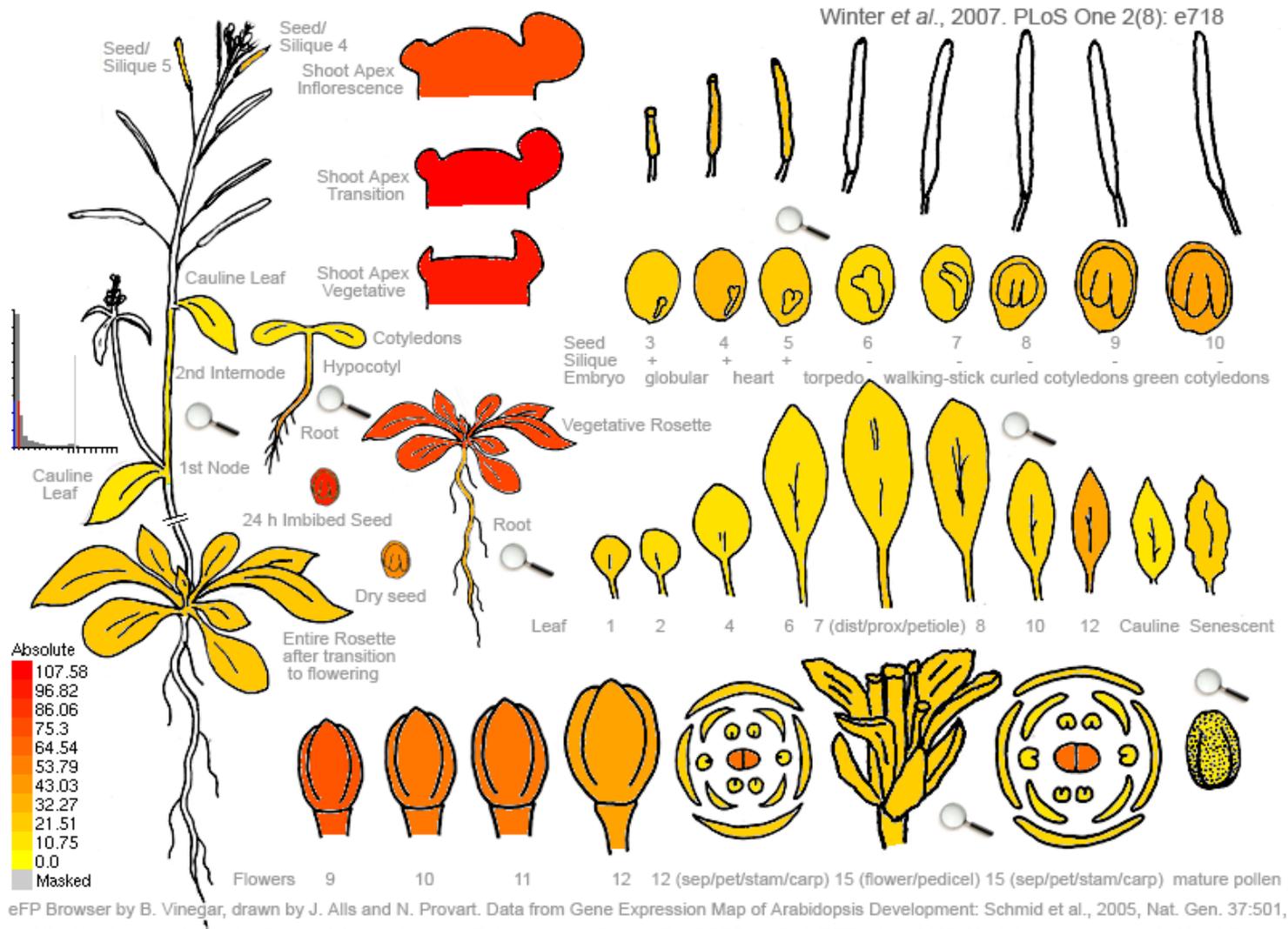
亚细胞定位： 线粒体、叶绿体

分子功能： ATP binding

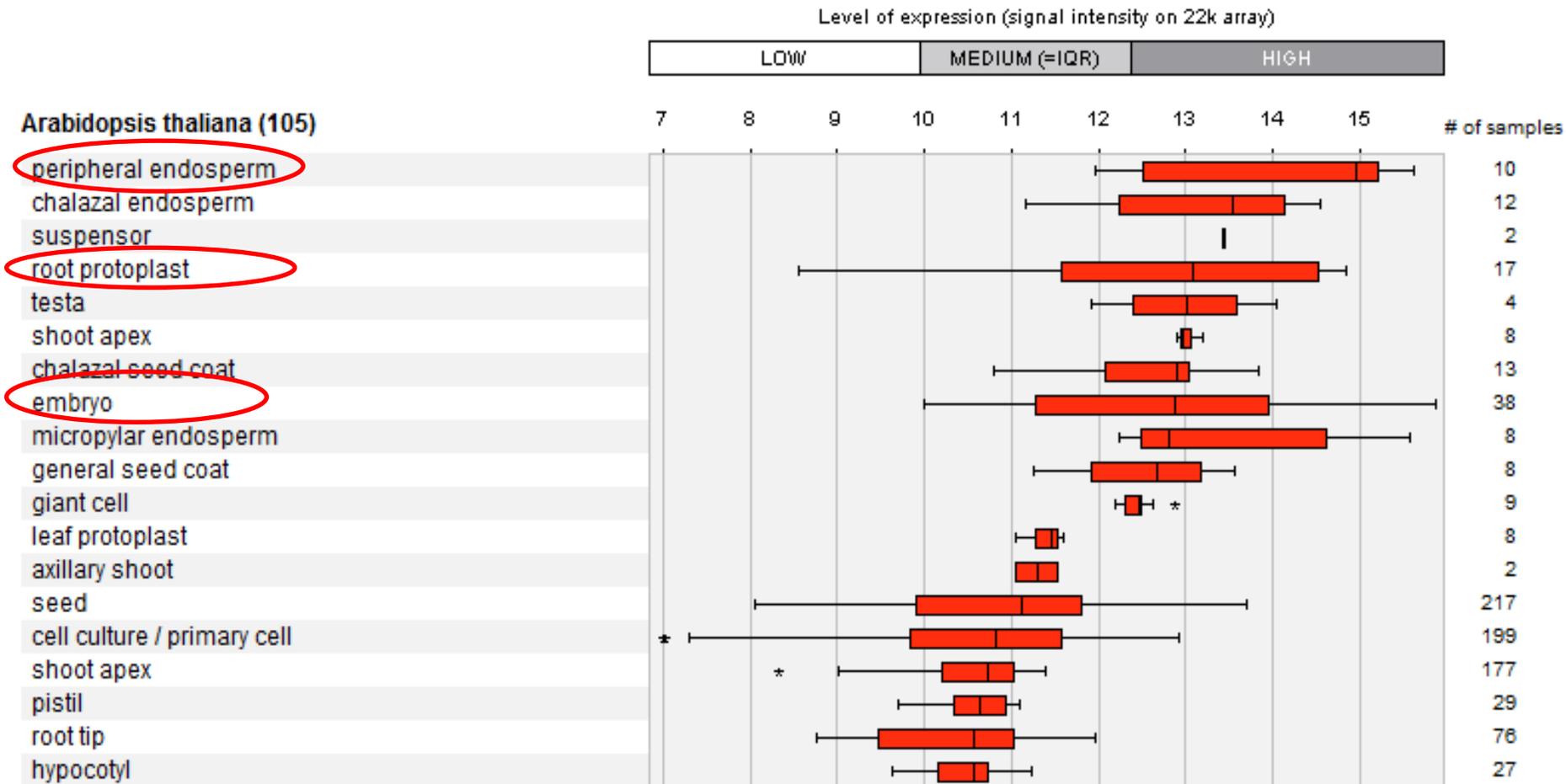


From STRING

NUWA 基因在不同组织中转录水平



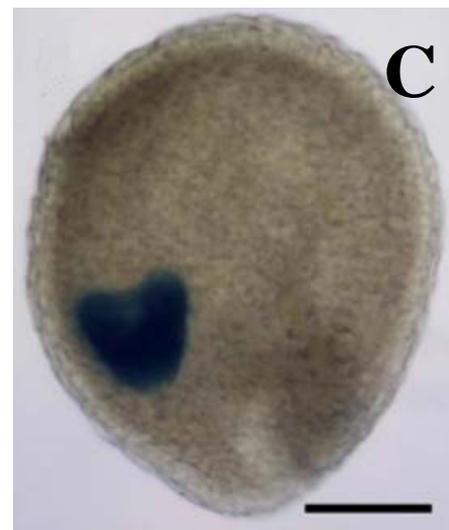
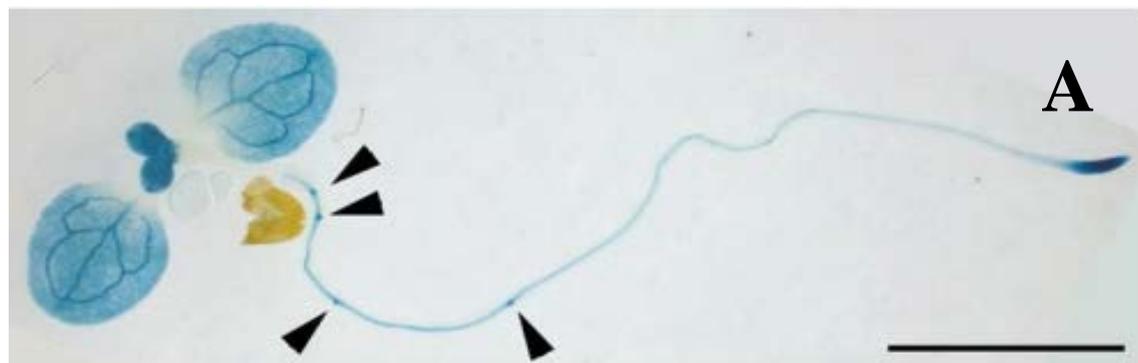
NUWA 蛋白在不同组织中表达量



(摘自 Genevestigator)

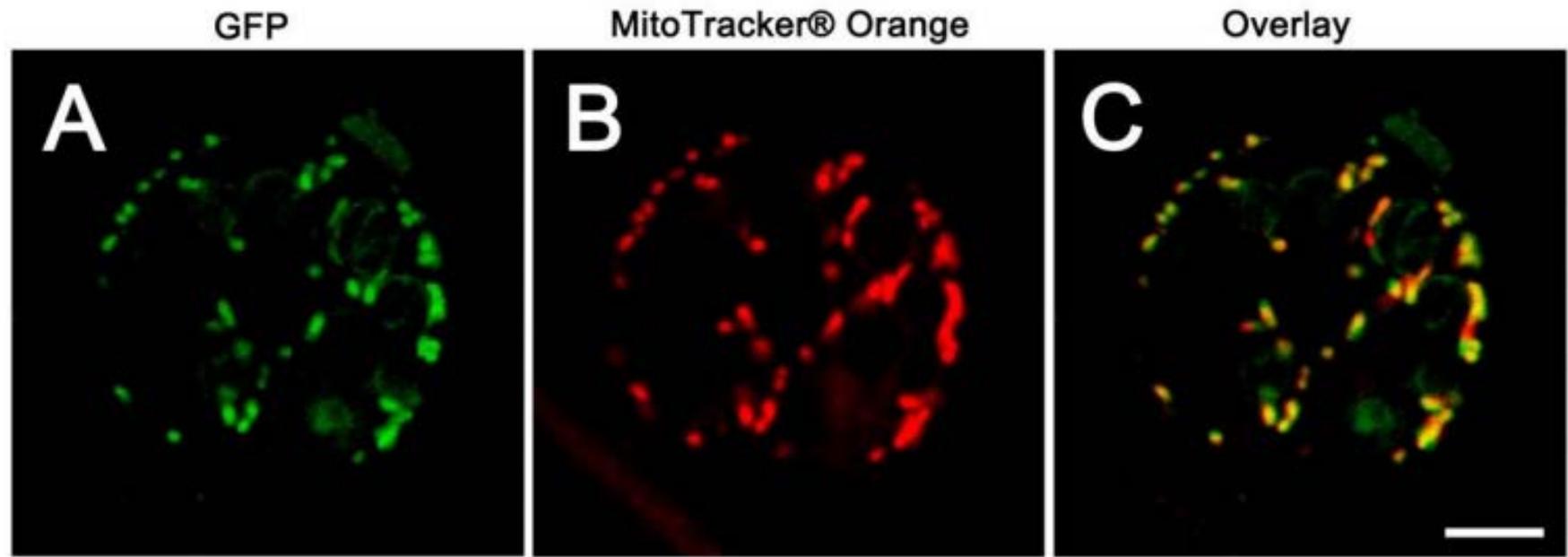
NUWA蛋白在胚胎、胚乳、根尖、茎尖表达旺盛

NUWA-GUS 检测蛋白表达模式

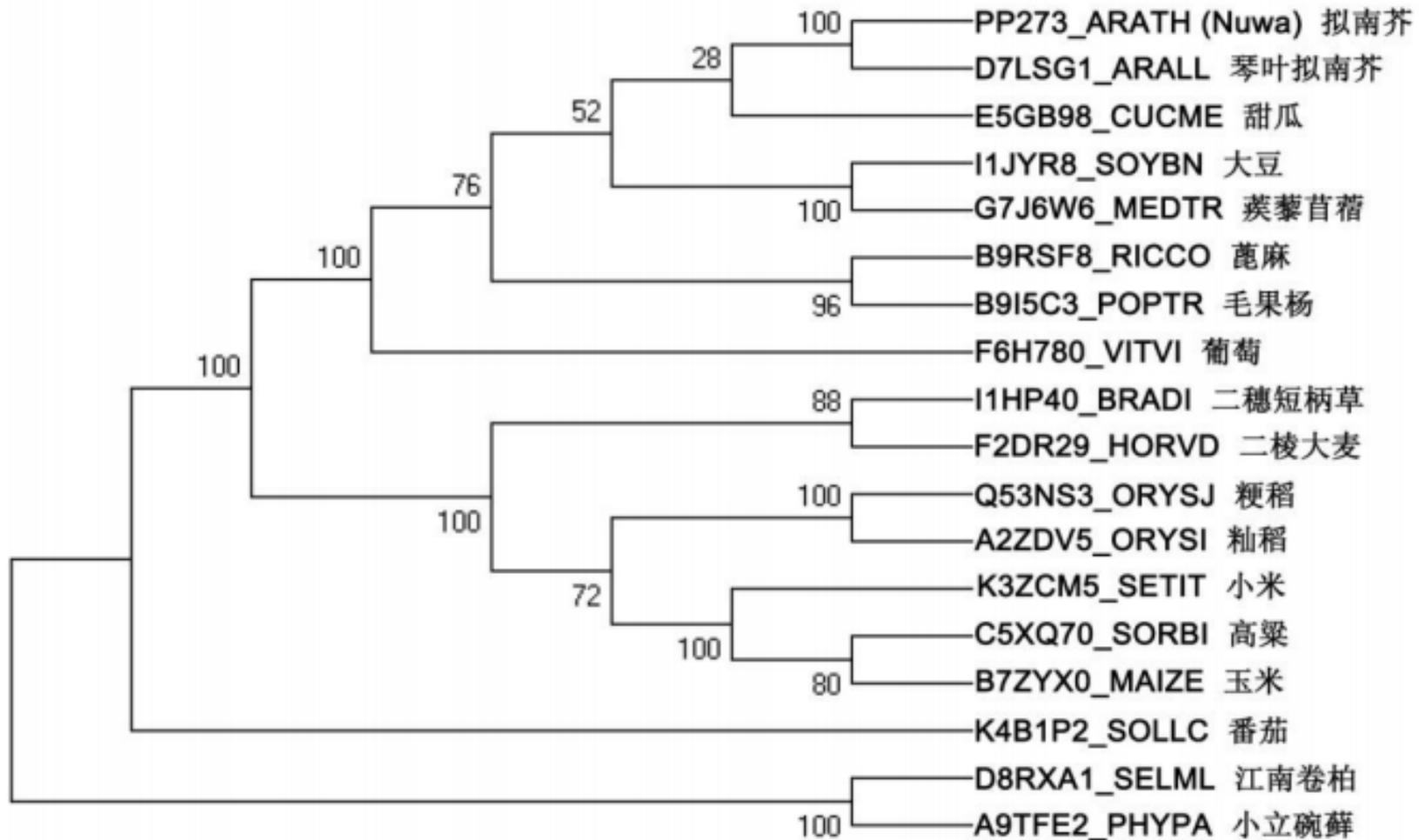


NUWA蛋白亚细胞定位预测

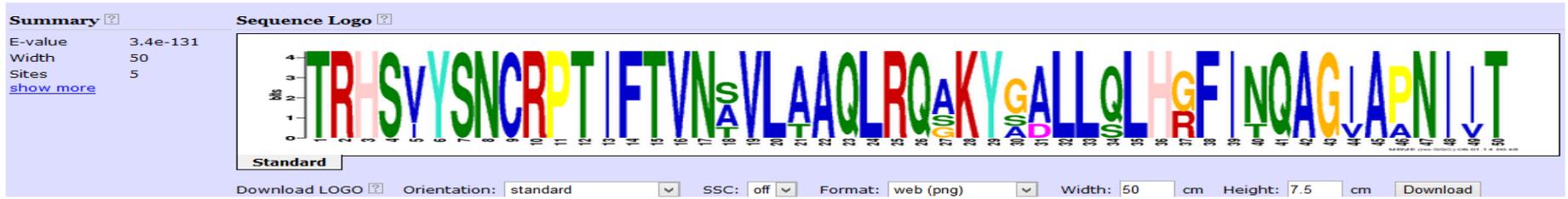
Name	Len	cTP	mTP	SP	other	Loc
Nuwa	629	0.174	0.659	0.015	0.036	M
cutoff		0.000	0.000	0.000	0.000	



不同物种中NUWA蛋白同源蛋白的系统树



MEME分析NUWA蛋白保守结构域



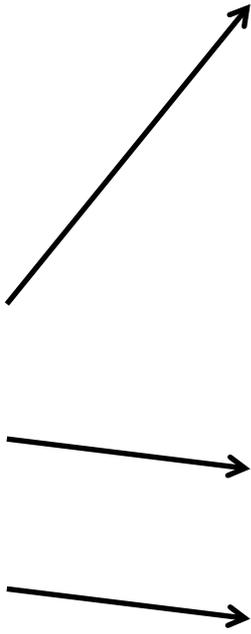
Combined Block Diagrams [?](#)

Non-overlapping sites with a p -value better than 0.0001.
 The height of the motif "block" is proportional to $-\log(p\text{-value})$, truncated at the height for a motif with a p -value of $1e-10$.
 Click on any row to highlight sequence in all motifs. The motif blocks have tool tips with more information.



保守结构域与NUWA蛋白二级结构的对应关系

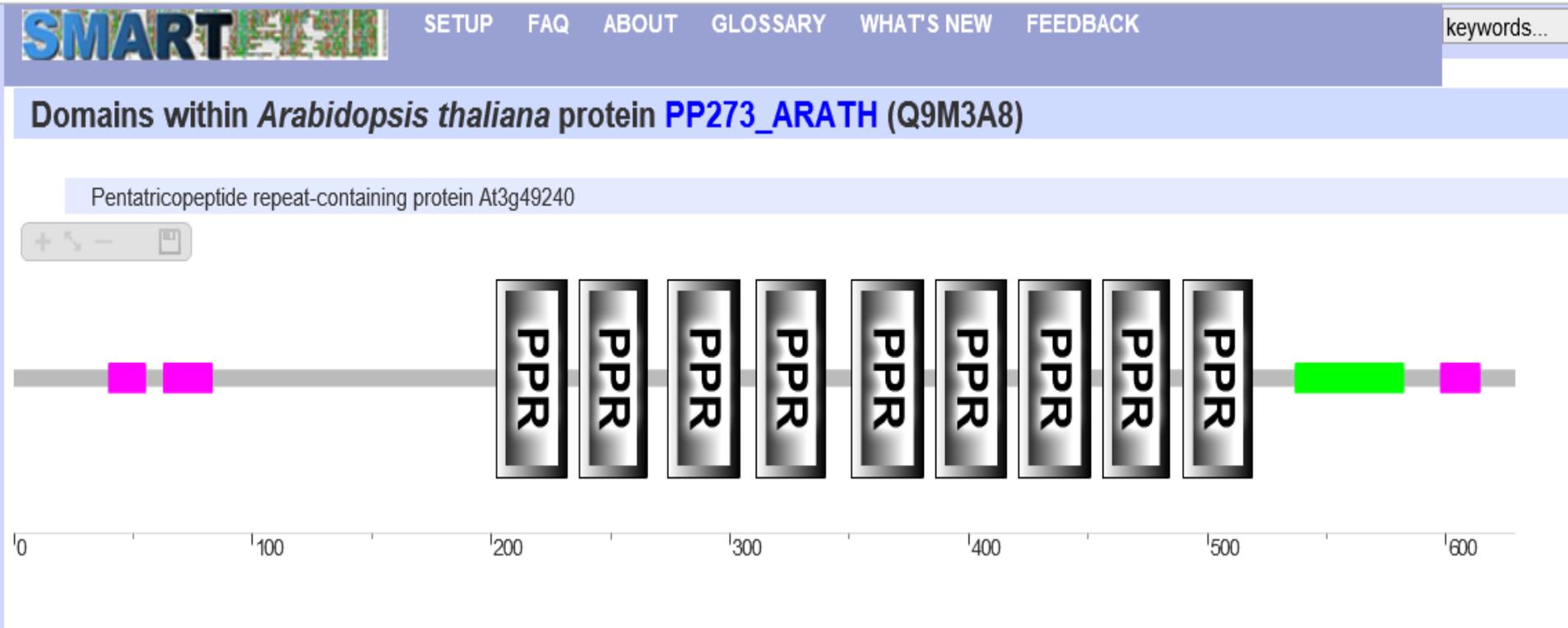
保守结构域		NUWA二级结构	
Motif1	AA118-168	PPR1	AA129-163
Motif2	AA349-399	PPR2	AA164-194
Motif3	AA418-468	PPR3	AA200-234
		PPR4	AA235-265
		PPR5	AA272-306
		PPR6	AA309-343
		PPR7	AA349-383
		PPR8	AA384-418
		PPR9	AA419-453
		PPR10	AA454-484
		PPR11	AA488-522



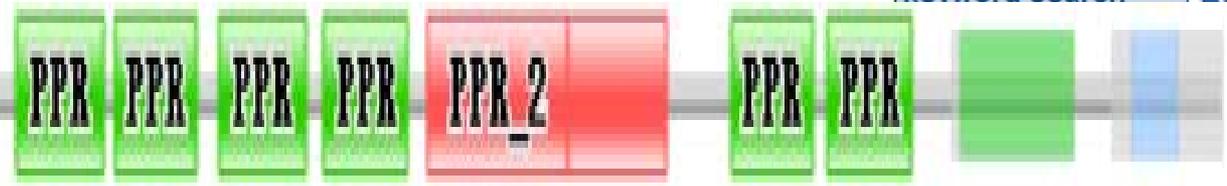
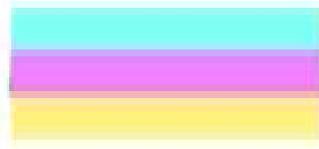
MEME预测保守结构域

UniProt对NUWA蛋白二级结构的预测

NUWA蛋白二级结构预测



用SMART软件分析出NUWA蛋白由一个线粒体定位信号肽，九个PPR结构和一个coil-coil结构组成



Launched Web
Finished Web

InterProScan (version: 4.8)
Sequence: Sequence_1
Length: 629
CRC64: AAD1ECDF7B50AC01

InterPro Match 1 Query Sequence 629 Description

IPR002885 Pentatricopeptide repeat

- PF01535 ▶
- PF12854 ▶
- PF13041 ▶
- TIGR00756 ▶
- PS51375 ▶

Legend: PPR (purple), PPR_1 (blue), PPR_2 (green), PPR (orange)

IPR011990 Tetratricopeptide-like helical

- 1.25.40.10 ▶

Legend: G3DSA:1.25.40.10 (purple)

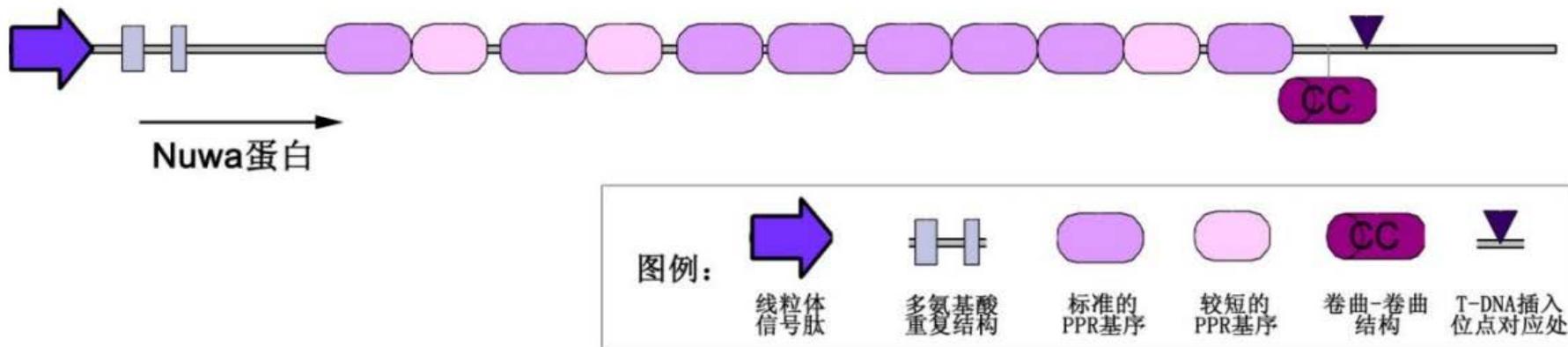
noIPR unintegrated

- PTHR24015 ▶
- PTHR24015:SF0 ▶
- SSF48452 ▶

Legend: PTHR24015 (brown), PTHR24015:SF0 (black), SSF48452 (black)

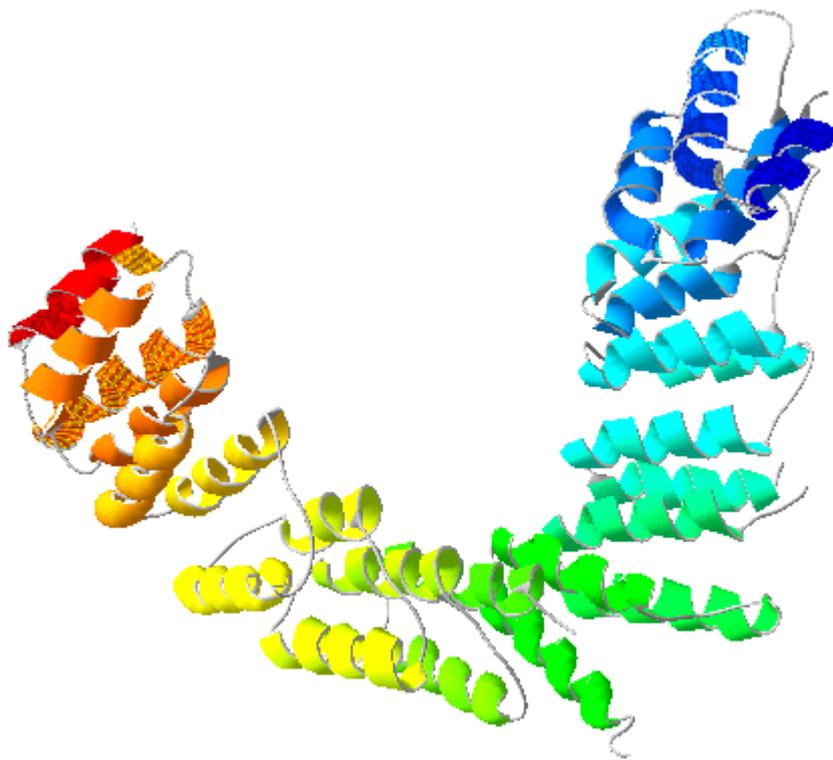
- PRODOM
- HAMAP
- PRINTS
- PROSITE
- PIR
- SUPERFAMILY
- PFAM
- SIGNALP
- SMART
- TMHMM
- TIGRFAMs
- PANTHER
- PROFILE
- GENE3D

综合Uniprot数据库和 Proscan 对NUWA蛋白二级结构的预测，得到以下初步模型：



NUWA蛋白二级结构

同源模建预测NUWA蛋白三级结构



NUWA 蛋白三级结构预测

用玉米中的PPR10
(4m57A) 作为模
版，在swiss model
中预测了NUWA蛋白
可能的三级结构

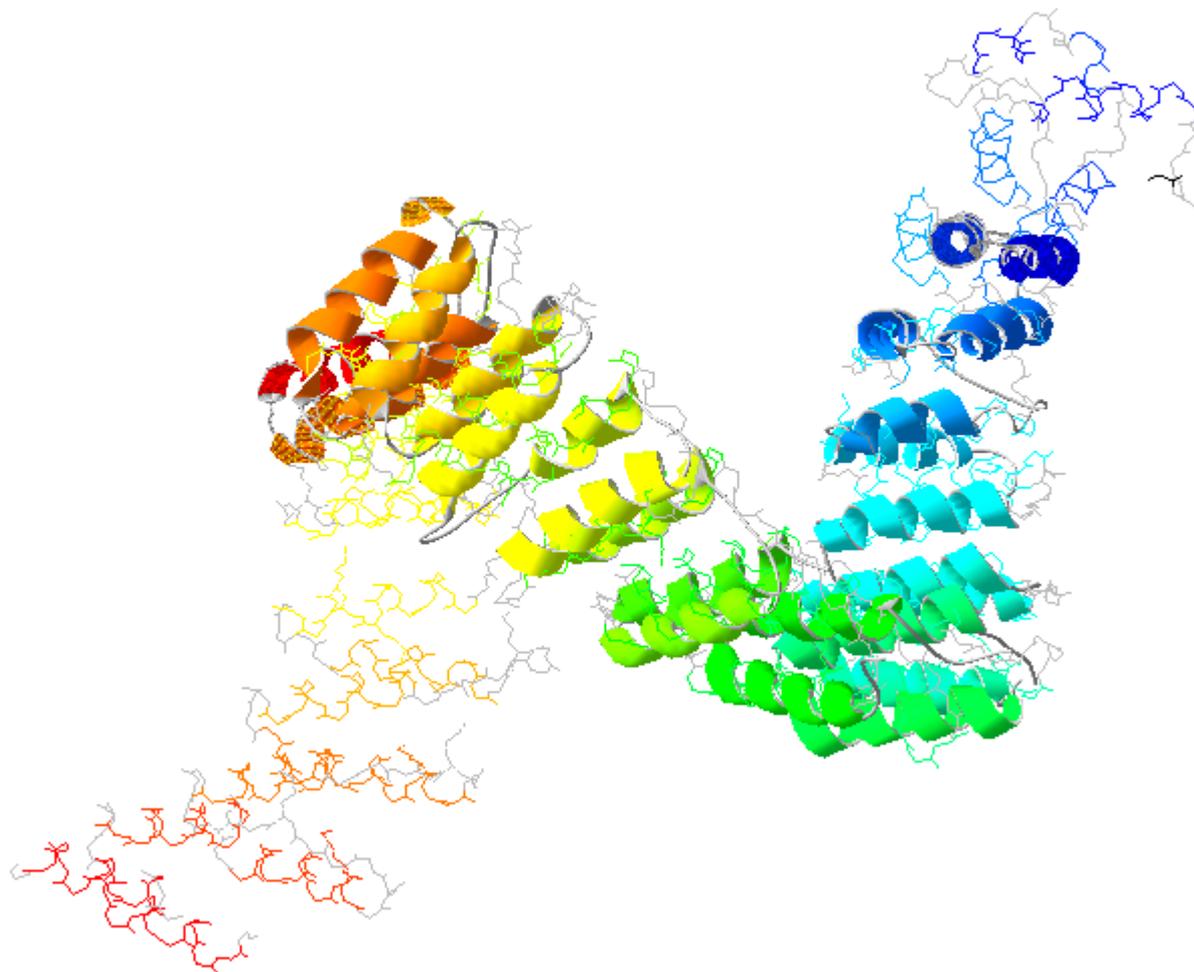
Model information:

Modelled residue range:	98 to 552
Based on template:	4m57A (2.86 Å)
Sequence Identity [%]:	18.559
Evalue:	0

Quality information:

QMEAN Z-Score: -2.916

NUWA与4M57叠合



Regions

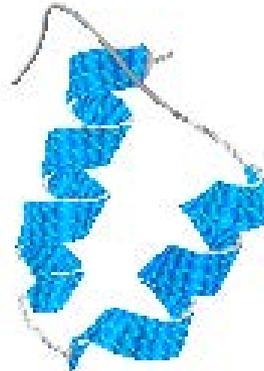
<input type="checkbox"/>	Repeat	129 - 163	35	PPR 1		
<input type="checkbox"/>	Repeat	164 - 194	31	PPR 2		

```
NUMBER PREDICTED COILED-COIL DOMAINS WITH THRESHOLD 90.0 : 1
  1. from 504 to 562 (length = 59) with max = 100.0
NUMBER PREDICTED COILED-COIL DOMAINS WITH THRESHOLD 99.0 : 1
  1. from 517 to 557 (length = 41) with max = 100.0
```

NUWA蛋白卷曲-卷曲结构预测



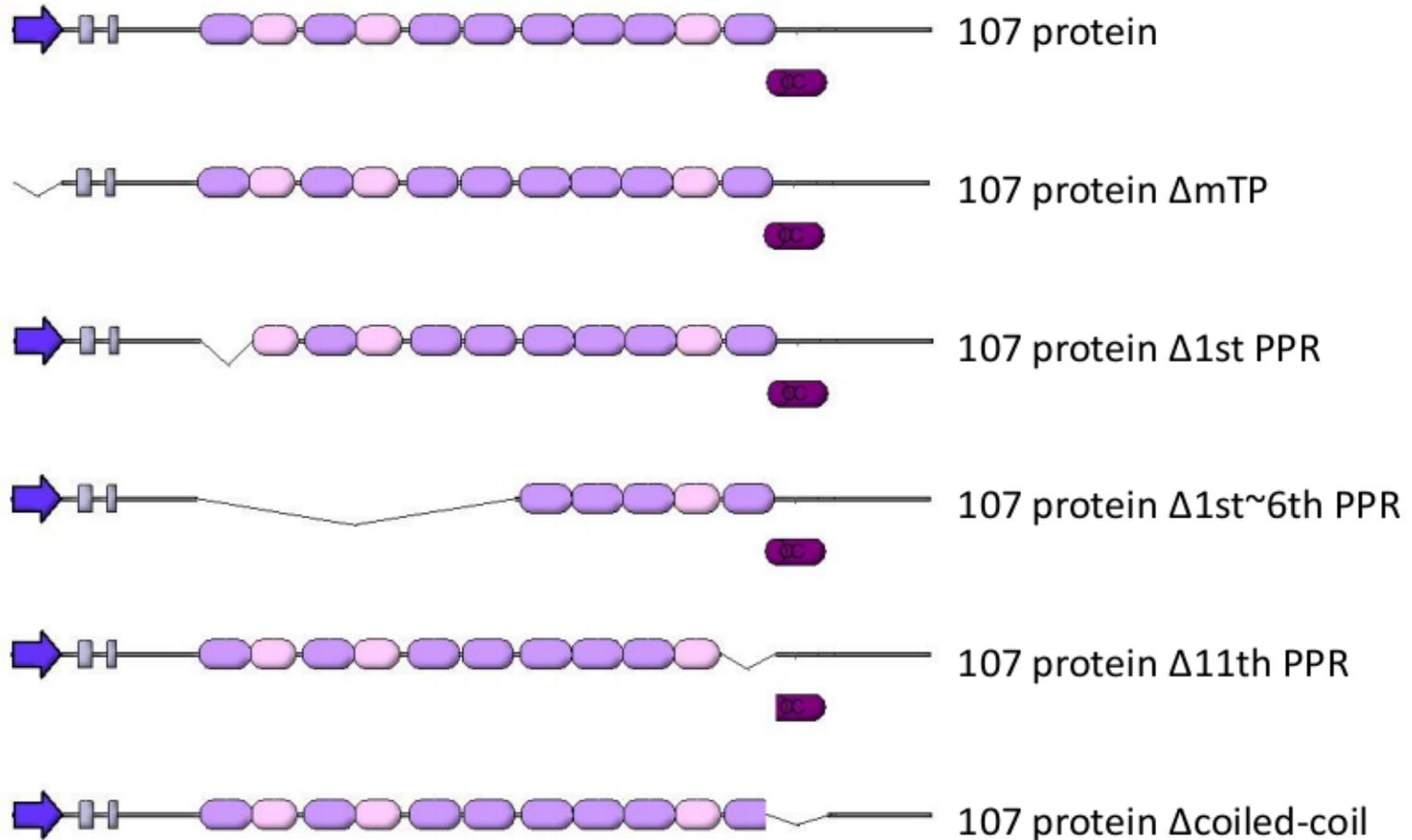
卷曲-卷曲结构 (517~552)



PPR motif 1 (129~163)

实验计划

NUWA蛋白各结构域对其功能的影响



截去不同结构域或基序的NUWA蛋白互补突变体

心得

生物信息学给我们实验有很大的指导作用。在研究NUWA蛋白时，我们可以依据生物信息学工具对各个motif分析和预测，并依据结果进行针对性实验，寻找具有生物学意义的motif。但是，同一个生物学问题的生物信息学的一些软件和工具存在一定冲突，预测和分析结果有所不同。比如本次利用SMART、 Pfam、 ProScan等对PPR结构域的预测，结果都有所不同，在这种情况下，我们可能要通过具体实验进行验证。

感谢罗老师的教导

感谢农科院的同学们

谢 谢

