

酿酒酵母26S蛋白酶体调节颗粒盖子复合体 Rpn亚基的序列、结构及相互作用分析

PKU15S-G07

报告人：庾星驰

组员：李倩雯、于淼

主要内容

- 1.研究背景
- 2.Rpn系列蛋白的序列保守性分析
- 3.Rpn系列蛋白的结构保守性分析
- 4.亚基间相互作用界面保守性残基分析
- 5.结构未知亚基的性质和结构预测
- 6.小结

研究背景

The Nobel Prize in Chemistry 2004



Photo: D. Porges
Aaron Ciechanover
Prize share: 1/3



Photo: D. Porges
Avram Hershko
Prize share: 1/3

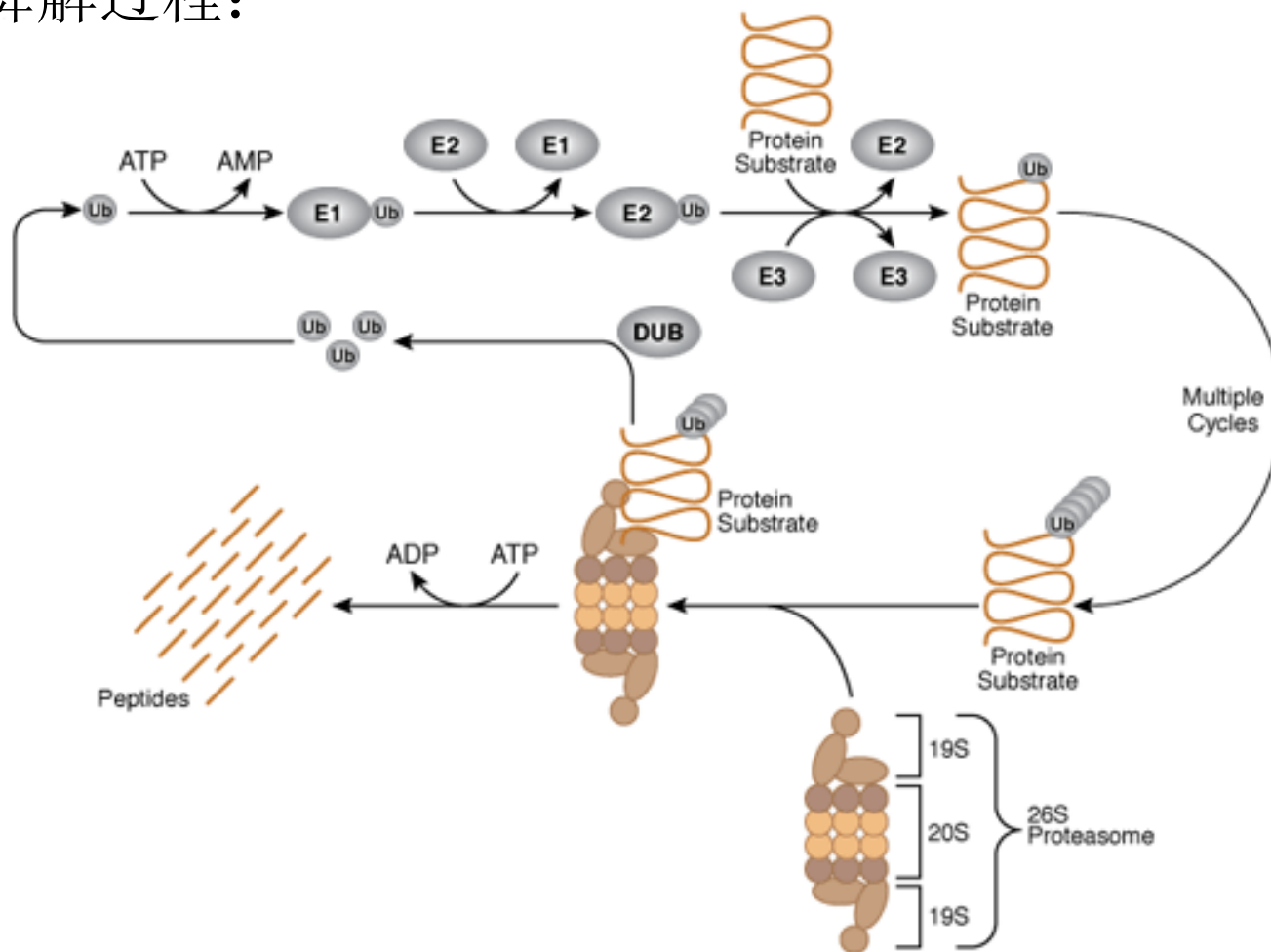


Irwin Rose
Prize share: 1/3

The Nobel Prize in Chemistry 2004 was awarded jointly to Aaron Ciechanover, Avram Hershko and Irwin Rose *"for the discovery of ubiquitin-mediated protein degradation"*.

研究背景

蛋白质降解过程:



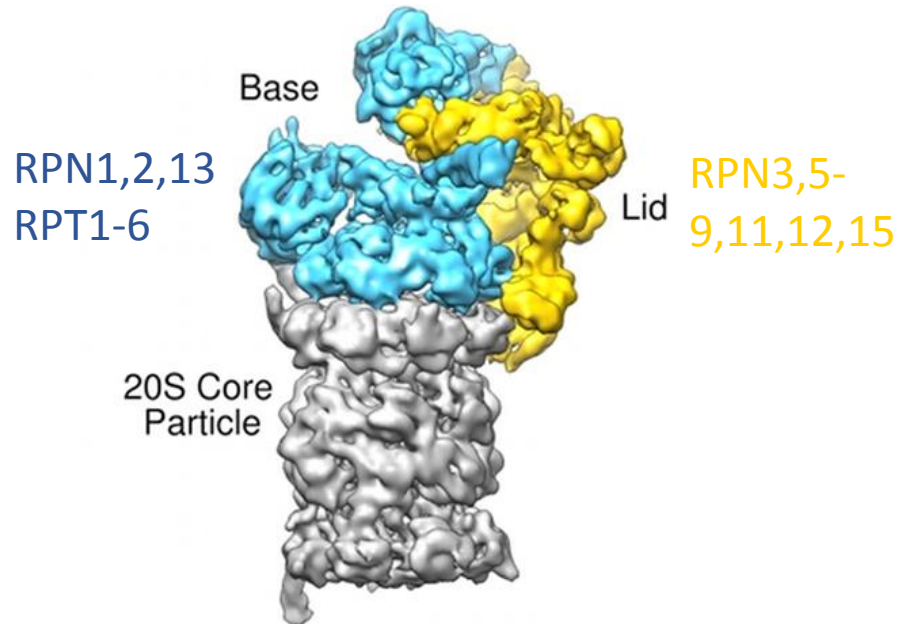
研究背景

26S蛋白酶体:

26S
蛋白酶体
(2.5 MDa)

19S 调节颗粒
20S 核心颗粒

盖子复合体 (底物识别*, 去泛素化)
基底复合体 (去折叠, 转运底物)

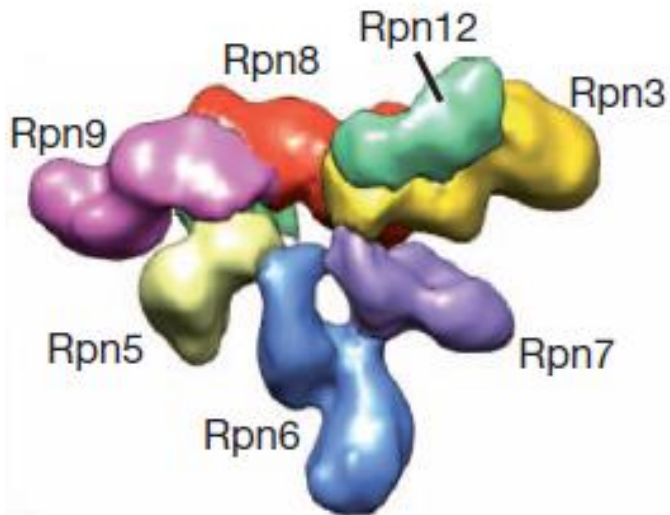
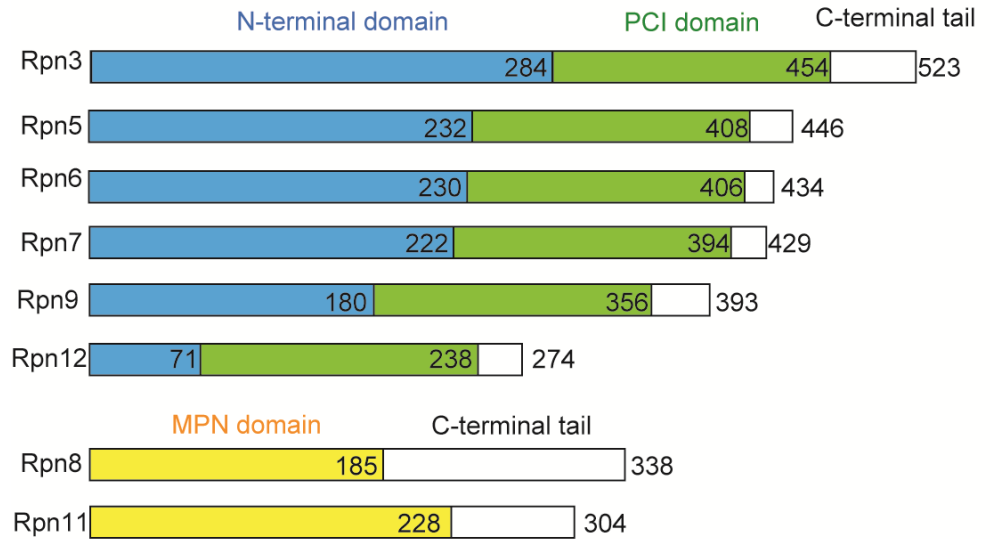


Side view of the *S. cerevisiae* 26S proteasome (Cryo-EM $\sim 7 \text{ \AA}$)

研究背景

盖子复合体:

Rpn3,5-9,11,12,15



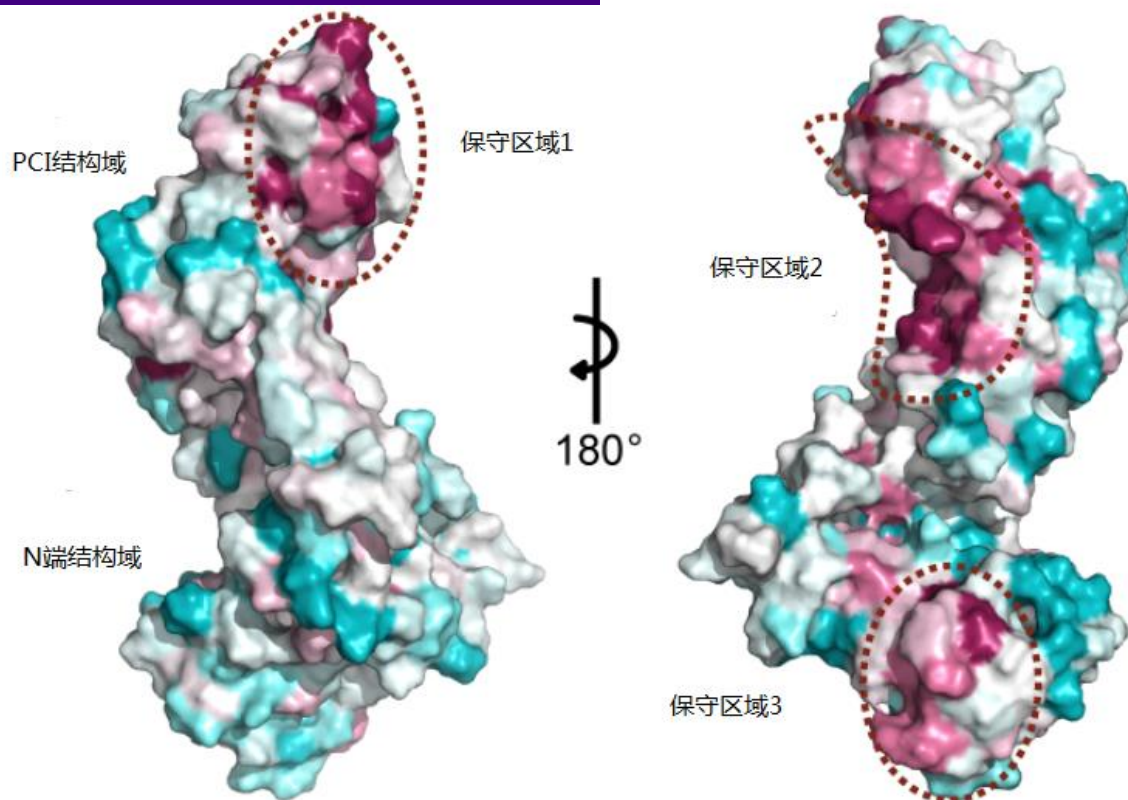
序列保守性分析

Rpn9保守性残基分析:



The ConSurf Server

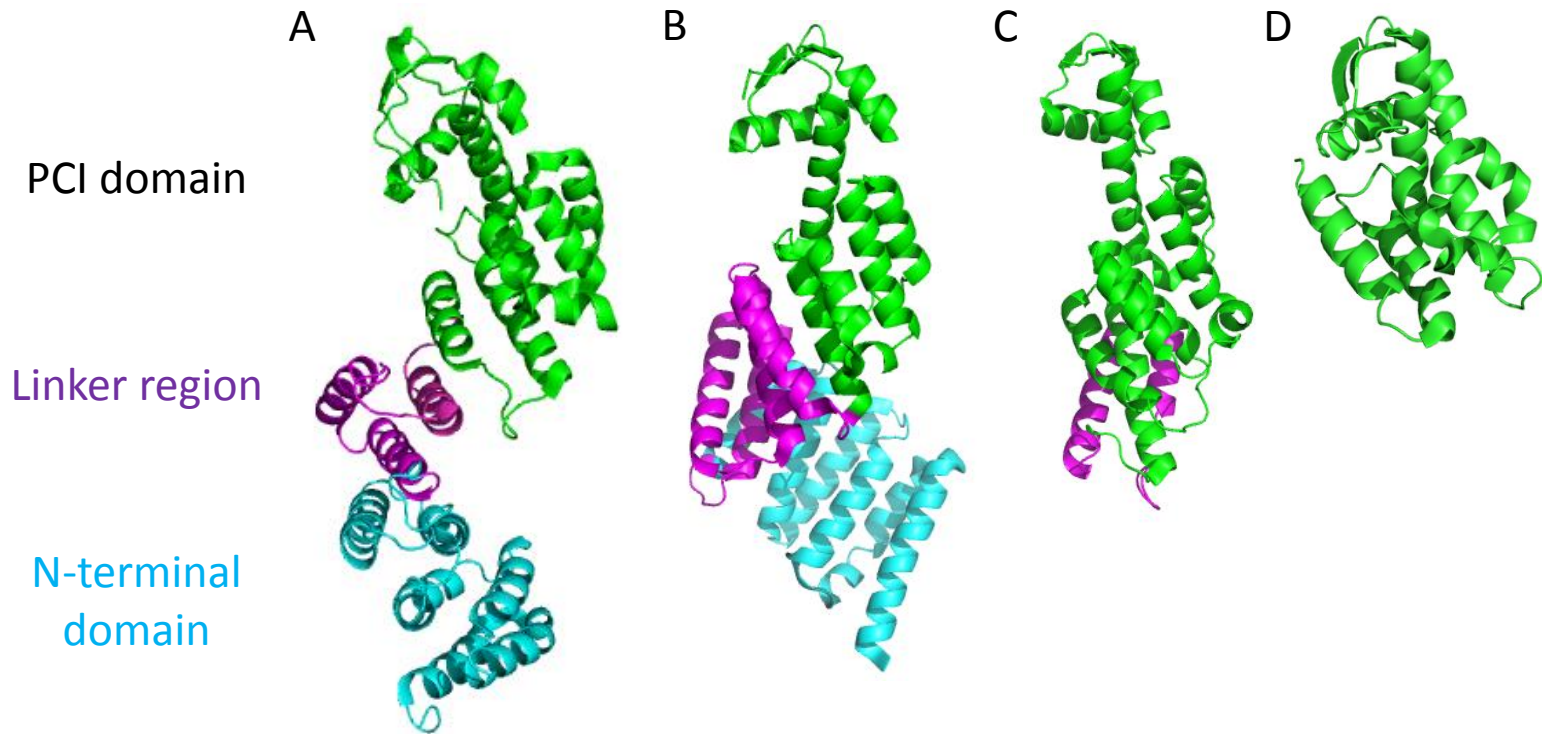
Server for the Identification of Functional Regions in Proteins



Rpn9的保守性残基主要集中分布在3个区域，其中保守区域1，2分布在PCI结构域中保守区域3分布在N端结构域。

结构保守性分析

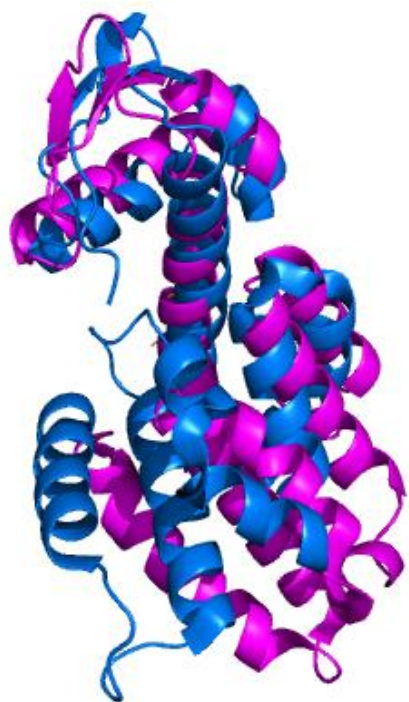
已有含PCI结构域的蛋白结构：



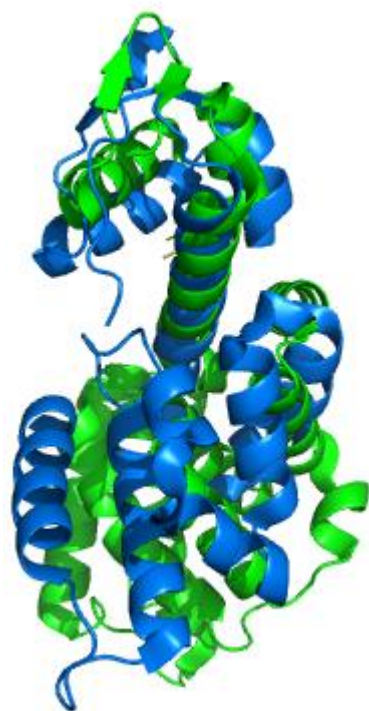
- A. 酿酒酵母Rpn9 的溶液结构 (PDB ID: 2MR3) ;
- B. 果蝇Rpn6 的晶体结构 (PDB ID: 3TXN) ;
- C. 裂殖酵母Rpn12 的晶体结构 (PDB ID: 4B0Z) ;
- D. 拟南芥CSN7 的晶体结构 (PDB ID: 3CHM)

结构保守性分析

PCI结构域结构对比：



RMSD=5.0



RMSD=7.2

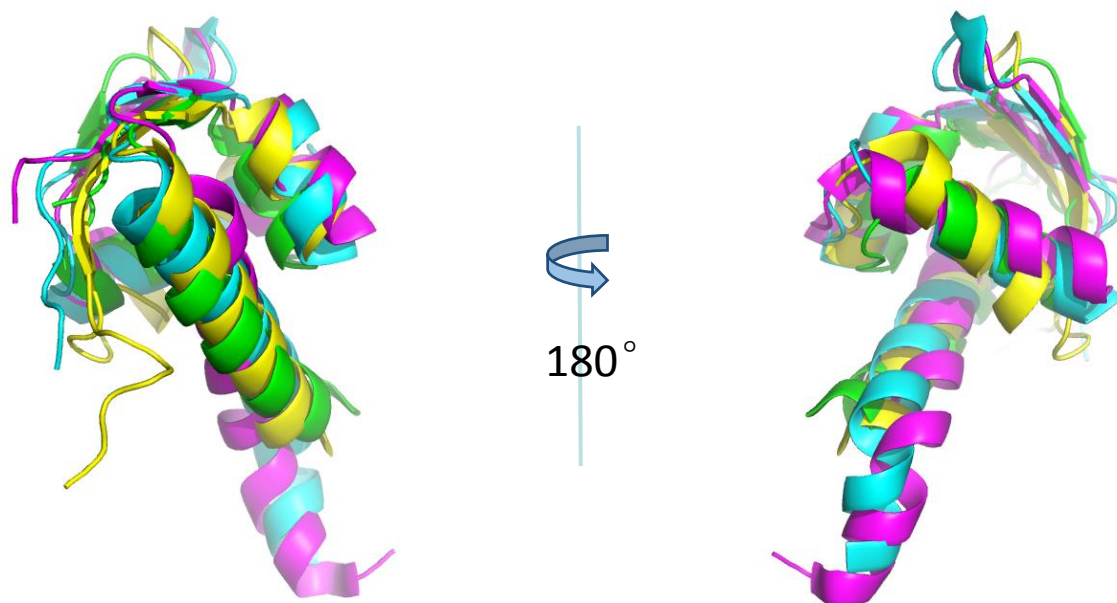


RMSD=3.2

Rpn9溶液结构与果蝇Rpn6, 裂殖酵母Rpn12 和拟南芥CSN7 的PCI结构域的结构对比

结构保守性分析

WH(winged helix)亚结构域结构比对:

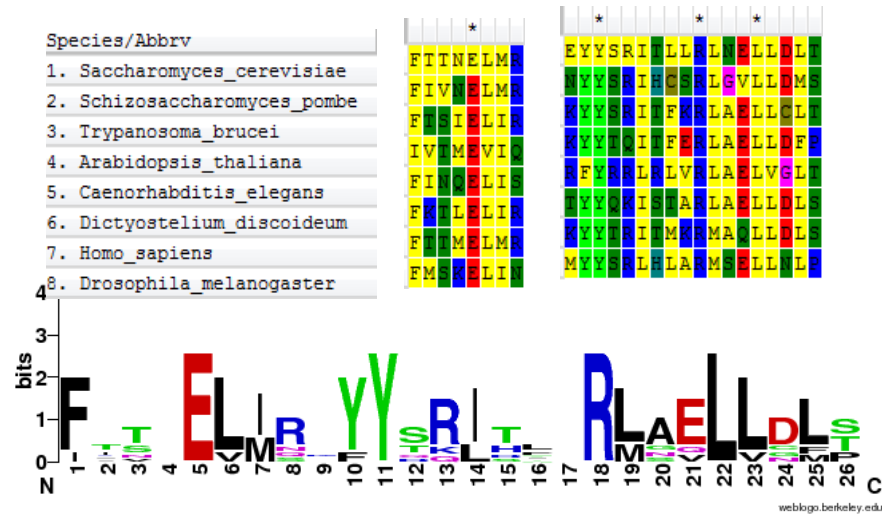


蓝色表示Rpn9 的WH 亚结构域，紫色、绿色和橙色分布表示Rpn6 (PDB ID: 3TXN)、Rpn12 (PDB ID: 4B0Z) 和CSN7 (PDB ID: 3CHM) 的WH 亚结构域。

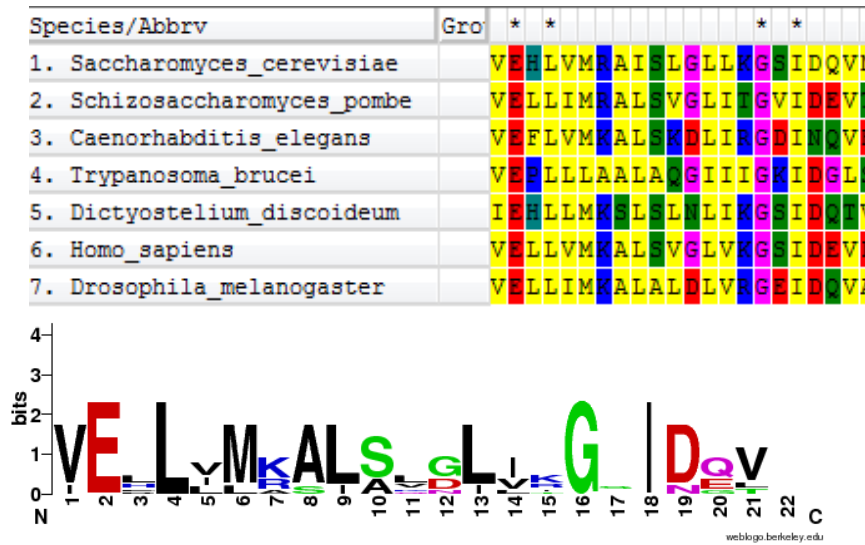
保守性残基分析

Rpn9与Rpn5的相互作用界面保守残基分析:

Rpn5(303-310,355-372):
具有较多的疏水性残基和带电的残基

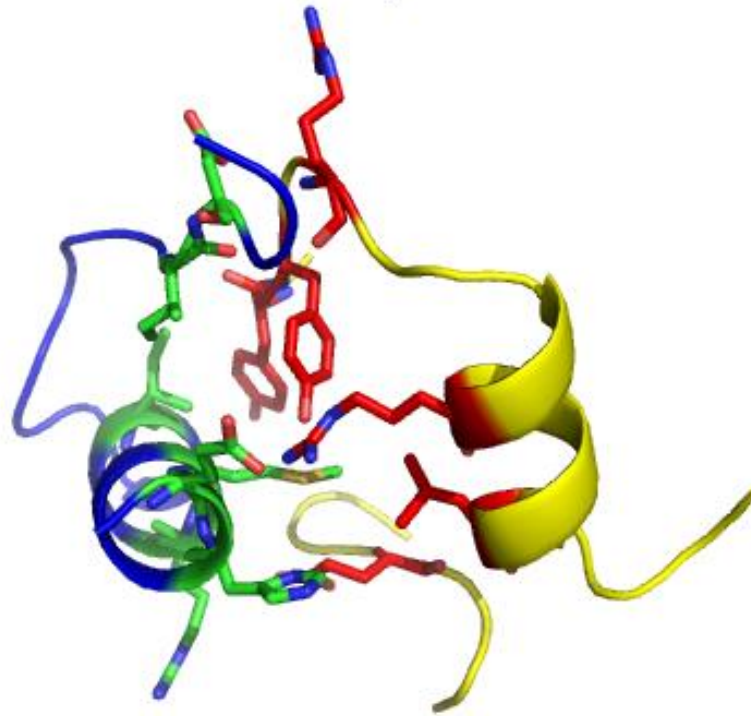


Rpn9(324-345):
具有较多的疏水性残基
和带电的残基



保守性残基分析

Rpn9与Rpn5的相互作用界面保守残基分析：



Rpn9和Rpn5的相互作用界面上有3对疏水作用残基和3对电荷相互作用残基在不同的物种中具有保守性。

保守性残基分析

Rpn9与Rpn10的相互作用界面保守残基分析:

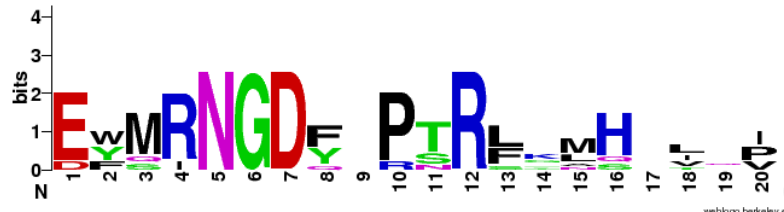
Rpn9 (36-43,69-75):
具有多个带电的残基

Species/Abbrv	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1. Saccharomyces_cerevisiae	E	K	L	W	F	Q	L	S	E	F	Y	D	K	I	N	G
2. Schizosaccharomyces_pombe	K	K	L	W	H	Q	L	L	F	F	H	R	V	N	S	
3. Caenorhabditis_elegans	N	K	L	W	H	Q	L	K	F	H	R	K	L	R	S	
4. Trypanosoma_brucei	R	K	L	W	K	L	L	D	F	H	R	V	I	N	S	
5. Dictyostelium_discoideum	E	K	L	W	F	Q	L	I	F	H	R	K	I	N	S	
6. Homo_sapiens	K	K	L	W	H	Q	L	I	V	H	E	L	R	V	N	S
7. Drosophila_melanogaster	G	A	L	W	V	Q	L	I	D	V	M	E	M	S	S	



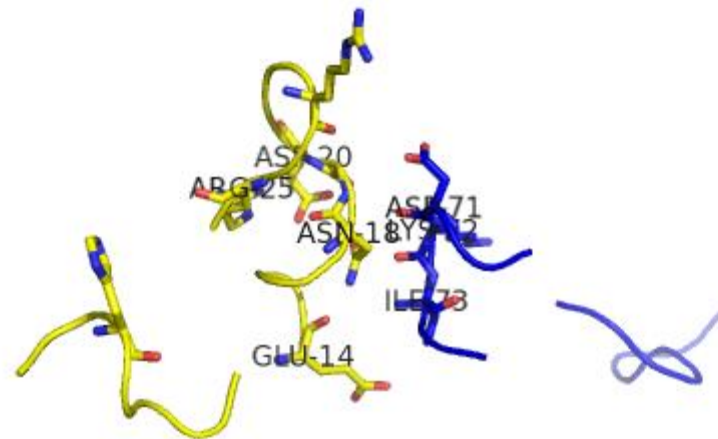
Rpn10 (14-26,75-81):
具有多个带电的残基

Species/Abbrv	Gr	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26					
1. Saccharomyces_cerevisiae		E	Y	S	R	G	D	F	P	T	R	F	G	L	H	E	T	Q	I
2. Schizosaccharomyces_pombe		E	W	M	I	G	D	F	I	T	R	F	A	M	H	L	L	V	
3. Arabidopsis_thaliana		E	W	M	R	G	D	F	S	S	S	L	C	M	H	L	D	V	
4. Caenorhabditis_elegans		E	Y	M	R	G	D	F	P	T	R	F	K	M	H	S	I	S	
5. Trypanosoma_brucei		E	F	M	R	G	D	F	H	P	M	F	I	M	H	K	I	S	
6. Dictyostelium_discoideum		E	W	M	R	G	D	F	T	P	S	L	G	A	H	L	I		
7. Homo_sapiens		E	Y	M	R	G	D	F	L	P	T	R	L	K	L	H	L	V	S
8. Drosophila_melanogaster		D	F	R	G	D	F	F	T	R	L	K	M	H	L	V	S		



保守性残基分析

Rpn9与Rpn10的相互作用界面保守残基分析：



Rpn9和Rpn10是依靠环区（loop）进行相互作用，在相互作用的位点附近存在保守的静电相互作用的残基

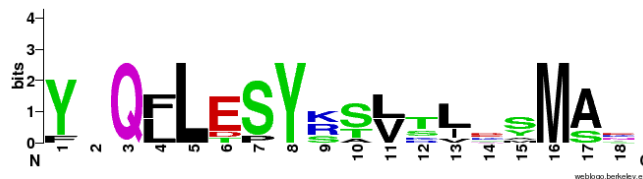
保守性残基分析

其他一些亚基的相互作用分析:

Rpn6 (368-393)



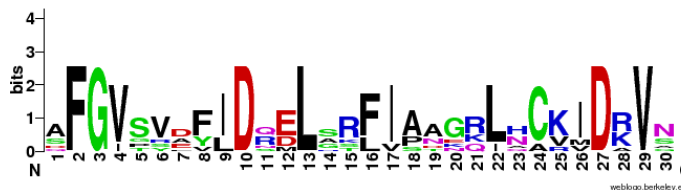
Rpn7 (338-355)



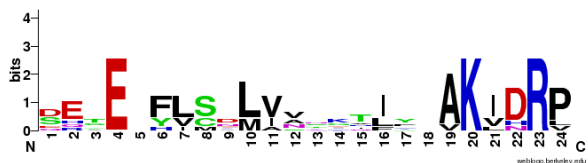
Rpn3 (394-407)



Rpn7(356-385)



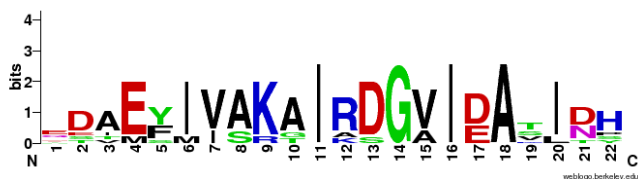
Rpn5 (374-396)



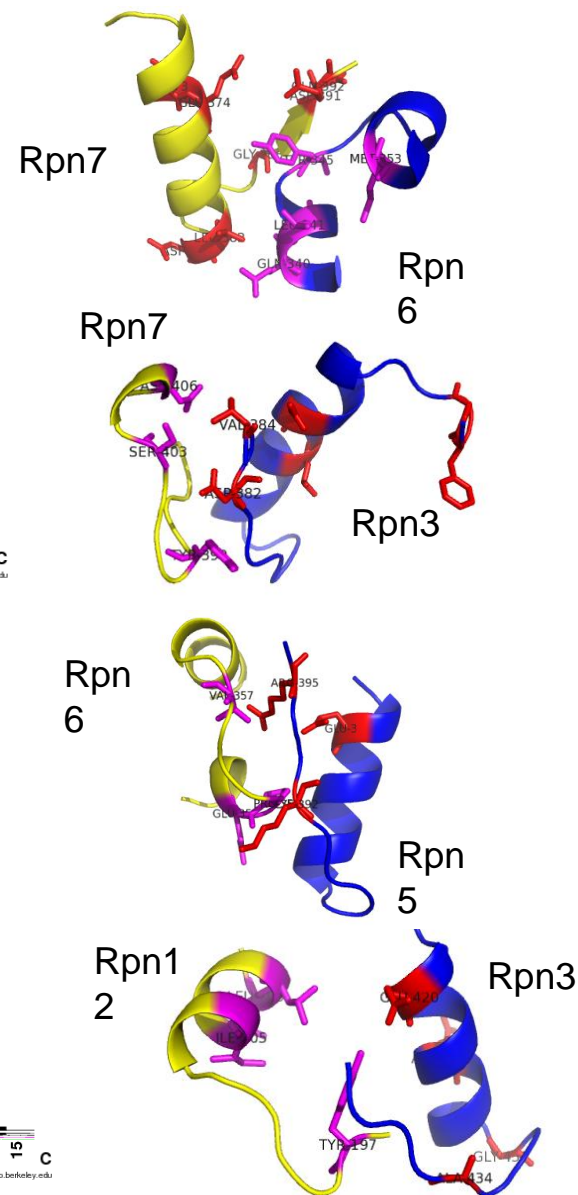
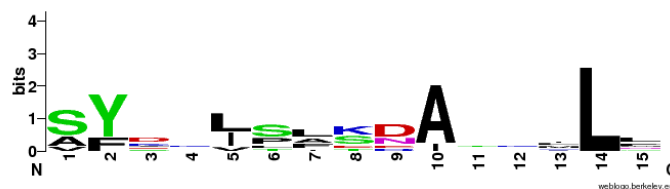
Rpn6 (348-366)



RPN3 (417-437)



RPN12 (196-210)



保守性残基分析

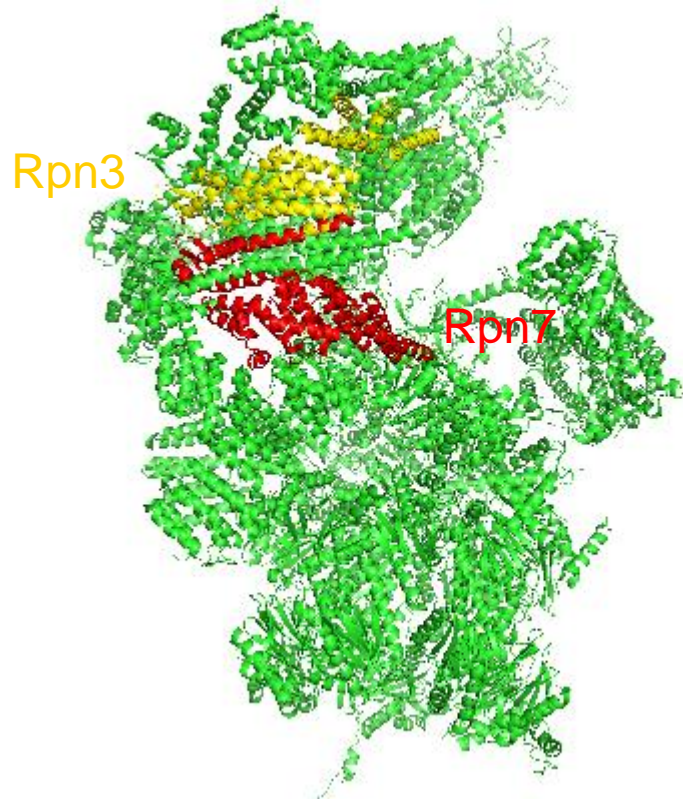
相互作用界面保守性残基分析总结：

相互作用的亚基	PCI-PCI界面上疏水性残基数目	PCI-PCI界面上带电残基数目
Rpn9-Rpn5	3+3，高度保守	3对，高度保守
Rpn6-Rpn7	2+3，高度保守	1对，比较保守
Rpn7-Rpn3	1+2，高度保守	2对，高度保守
Rpn5-Rpn6	1+1，比较保守	1对，保守性低
Rpn3-Rpn12	2+2，比较保守	1对，保守性低

相互作用残基数目与生物实验得到的亚基之间的相互作用强弱结果相符合。

性质分析与结构预测

Rpn3和Rpn7的性质和结构预测：

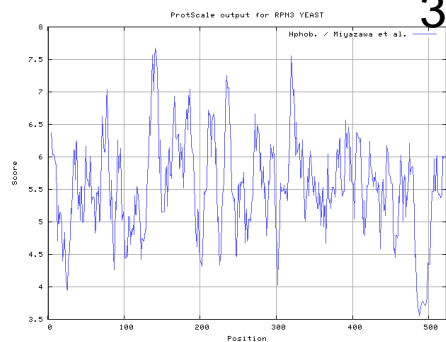


Rpn3和Rpn7目前都没有原子分辨率的结构。

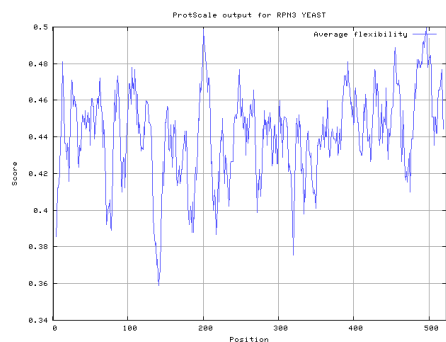
序列性质分析

Rpn3和Rpn7序列的理化性质分析:

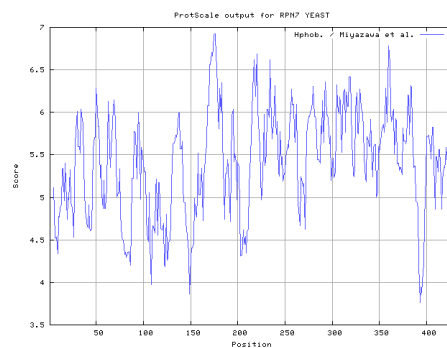
Rpn
3



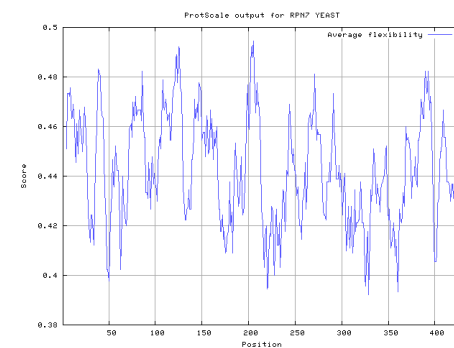
疏水性



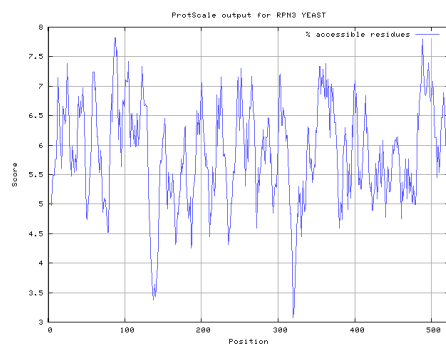
结构柔性



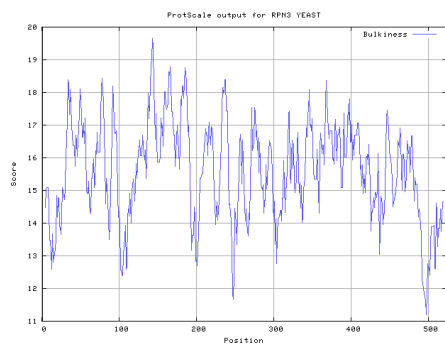
疏水性



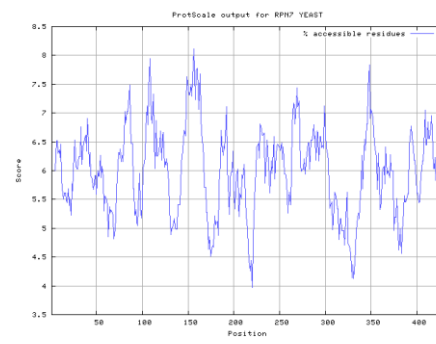
结构柔性



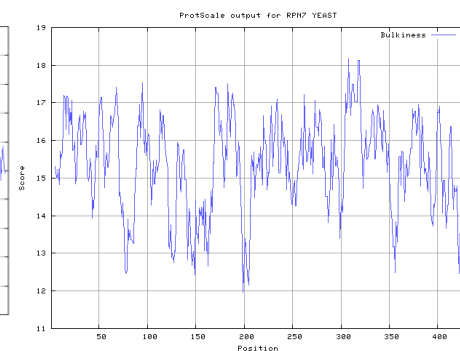
溶液可及性



残基位阻



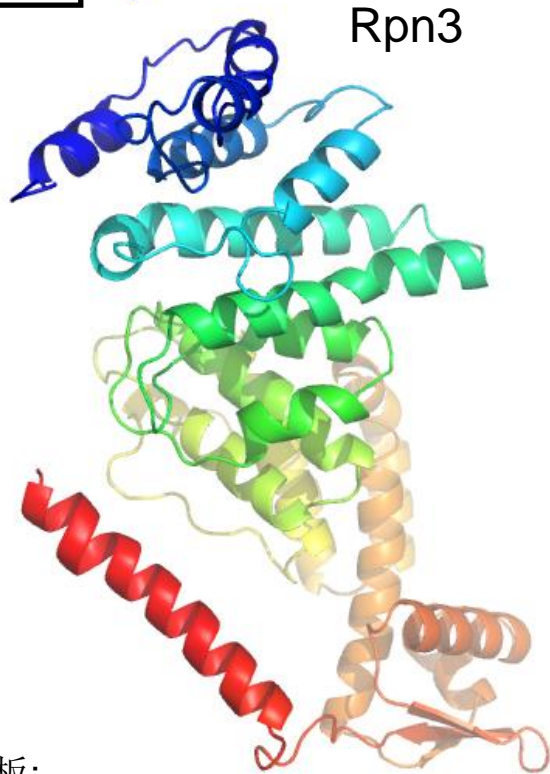
溶液可及性



残基位阻

三维结构预测

Phyre2



模板:

cop9 signalosome complex subunit 3

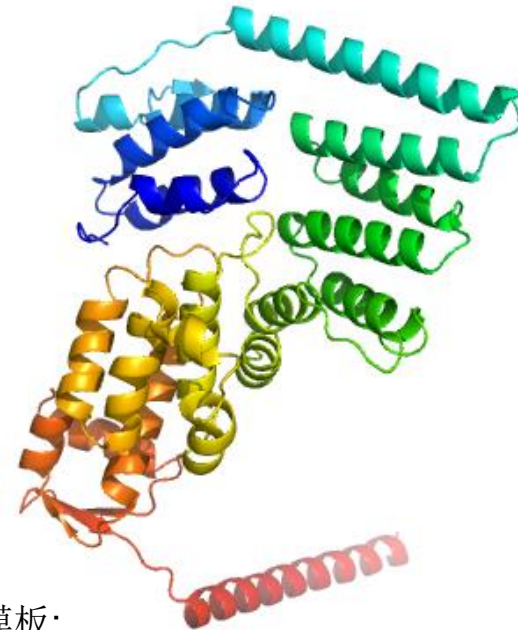
PDB ID: c4d10C

分辨率: 3.8Å 晶体结构

序列一致性: 16%

覆盖率: 75%

Rpn7



模板:

cop9 signalosome complex subunit 1

PDB ID: c4d18I

分辨率: 4.08Å 晶体结构

序列一致性: 20%

覆盖率: 98%

小结

- 1.序列保守性发现**PCI**结构域的序列具有比较高的保守性。
- 2.对比**PDB**数据库里已知的**PCI**结构域和**WH**亚结构域，发现**WH**亚结构域具有结构保守性。
- 3.通过分析**26S**蛋白酶体中盖子复合体各个亚基之间的相互作用界面处序列的保守性，发现保守的相互作用界面的残基数跟相互作用强度相一致。（后续结合核磁共振滴定实验可以从原子层面上确定各个亚基之间的相互作用界面，亚基间界面残基的保守性将给予暗示）
- 4.通过同源模建的方法搭建了结构未知的**Rpn3**和**Rpn7**的结构，虽然搭建的模型可能跟真是的结构有差异，但是序列分析能够给予我们一定的关于真实结构的信息。

致谢

- 感谢罗老师一学期以来对我们的悉心指导
- 感谢G07小组全体同学的团结合作
- 感谢ABC课程全体同学陪伴

谢谢！