



王玉珍,蔡进宇,李振,等.烟草 PPO 氨基酸序列分析[J].黑龙江农业科学,2019(4):18-21.

烟草 PPO 氨基酸序列分析

王玉珍¹,蔡进宇²,李 振³,吴 杰⁴,杨志孝²,苏家恩⁵

(1.大理州烟草公司 云龙县分公司,云南 云龙 672700;2.大理州烟草公司 大理市分公司,云南 大理 671000;3.大理州烟草公司 漾濞县分公司,云南 漾濞 672500;4.大理州烟草公司 洱源县分公司,云南 洱源 671200;5.云南省烟草公司 大理州公司,云南 大理 671000)

摘要:为研究烟草 PPO 的理化特性,采用 PROTPARAM、SMART 和 NPSA-PRABI 工具解析烟草 PPO 成员的生理特性、结构域和二级结构。结果表明:烟草 PPO 为酸性氨基酸,NtPPO1、NtPPO2 和 NtPPO3 属于不稳定的蛋白,其中以 NtPPO1 的耐热性相对较强,三者共同含量较高的氨基酸为亮氨酸和脯氨酸;NtPPO1、NtPPO2 和 NtPPO3 均含有 Tyrosinase、PPO1_DWL 和 PPO1_KFDV 结构域,且 NtPPO1 和 NtPPO2 含有信号肽;烟草 PPO 成员的二级结构主要为无规则卷曲,其次是 α -螺旋,各二级结构排列较为分散。

关键词:烟草;PPO 氨基酸;序列

烟草作为经济作物,其收购价位的划定,依据烟叶的级别,然而评价烟叶级别的其中一个指标为烟叶的颜色^[1],如晒烟以褐色较好,烤烟以橘黄色较好^[2-3],若烤烟受到不利的因素影响,将造成烟叶颜色变褐,造成烟农经济的损失^[4],然而烟叶呈现的颜色受多种因素影响,其中一个因素为烟叶内在成分的物质转化,该物质的转化受酶的影响,而该酶为多酚氧化酶(PPO),PPO 可催化烟草组织中酚类物质使其氧化成为醌,进而改变烟叶的颜色,使其呈现褐色^[5-7],为此,本文研究烟草 PPO 氨基酸序列,认识烟草 PPO 的序列特性,为进一步研究烟草 PPO 的理化特性奠定基础。

1 材料与方法

1.1 烟草 PPO 氨基酸序列的获取

利用 NCBI^[8],检索烟草 PPO 的氨基酸序列,获取登录号为 CAA73103、NP_001312700 和 ABE96885,根据序列分布对其进行命名 NtPPO1、NtPPO2 和 NtPPO3^[9]。

1.2 方法

采用 PROTPARAM、SMART 和 NPSA-PRABI 在线工具^[10-12]对烟草 PPO 氨基酸序列进行分子量、脂肪指数、不稳定指数、等电点、氨基酸数、各氨基酸所占比例、蛋白结构和二级结构的分析。

2 结果与分析

2.1 烟草 PPO 氨基酸序列生理特性

NtPPO1、NtPPO2 和 NtPPO3 的分子式较为复杂,分别为 C2997H4556N808O889S24、C2992H4550N812O886S24 和 C2586H3912N690O757S22,但是 NtPPO1 和 NtPPO2 的 S 元素数目相同,而三者的分子量分别为 66 899.5、66 841.4 和 57 485.0 Da,以 NtPPO1 分子量最大;NtPPO1、NtPPO2 和 NtPPO3 的脂肪指数具有一定的差异,分别为 69.86、68.46 和 69.14,以 NtPPO1 脂肪指数最大,说明 NtPPO1 的耐热性较强;对于其不稳定指数以 NtPPO3 最高,为 48.81,其次是 NtPPO1,为 47.57,最小为 NtPPO2,不稳定指数为 47.11,说明 NtPPO3 的不稳定性较高,易受到胞内环境的影响,而 NtPPO2 相对较为稳定;烟草 PPO 成员的等电点依次为 6.16、6.33 和 5.92,然而由于成员等电点均小于 7,说明烟草 PPO 为酸性,且以 NtPPO3 酸性较强;NtPPO1 酵母菌的体内半衰期最短,为 30 min,NtPPO2 和 NtPPO3 酵母菌的体内半衰期最长,且较为相似,均为 > 20 h,说明 NtPPO2 和 NtPPO3 能够在新的环境条件下保持稳定。NtPPO1、NtPPO2 和 NtPPO3 的氨基酸数分别为 592、590 和 502,且图 1 说明各氨基酸在整体的序列中所占比例存在一定的差异,各氨基酸在序列中所占比例由大到小的排序以 NtPPO1 和 NtPPO2 较为相似,其中前三位的氨基酸依次为 Leu(8.1%)、Ser(8.1%)和 Pro(7.4%);NtPPO3 与 NtPPO1 和 NtPPO2 存在较大的差异,其前三位的氨基酸依次为

收稿日期:2018-11-19

第一作者简介:王玉珍(1975-),助理农艺师,从事烟叶生产技术研究指导。E-mail:705763042@qq.com。

通讯作者:苏家恩(1976-),男,硕士,高级农艺师,从事烟叶烘烤技术及烤房研究和推广工作。E-mail:dlyc8816@163.com。

Pro(8.0%)、Asp(7.4%) 和 Leu (7.2%),说明 NtPPO1 和 NtPPO2 序列的相似性较高。

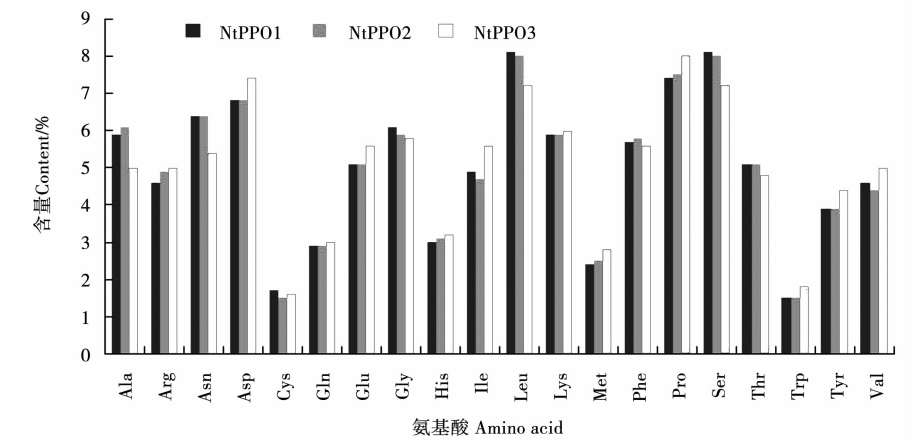


图1 烟草 PPO 氨基酸含量
Fig.1 Amino acid content of tobacco PPO

2.2 烟草 PPO 氨基酸序列的结构域

通过对烟草 PPO 氨基酸序列进行结构分析,结果如图 2 所示,NtPPO1、NtPPO2 和 NtPPO3 均被检测到含有 Tyrosinase、PPO1_DWL 和 PPO1_KFDV 结构域,且 NtPPO1 和 NtPPO2 序列检测到两组信号肽,而 NtPPO3 未被检测到。通过序列分析得出,NtPPO1 的两条信号肽分别位于序列的第 18~31 位氨基酸和第 71~97 位氨基酸的位置,Tyrosinase(1.7e-34)位于序列的第 171~381 位氨基酸的位置,PPO1_DWL(1.2e-25)位于序列的第 387~438 位氨基酸的位置,PPO1_KFDV(5.2e-47)位于序列的第 458~589 位氨基酸的位置;NtPPO2 的信号肽位于第 16~

29 位和第 69~95 位氨基酸的位置,其中 Tyrosinase(1.8e-33)、PPO1_DWL(2.9e-26)和 PPO1_KFDV(1.2e-47)分别位于序列的第 169~379 位、第 385~436 位和第 456~587 位氨基酸的位置;NtPPO3 仅具有结构域,其中 Tyrosinase(3e-34)、PPO1_DWL(1.7e-25)和 PPO1_KFDV(5.6e-47)分别位于序列的第 81-291 位、第 297~348 位和第 368~499 位氨基酸的位置。Tyrosinase 为酪氨酸酶铜结合域的特定结构域(PF00264),PPO1_DWL 为多酚氧化酶中心域的特定结构域(PF12142),PPO1_KFDV 为多酚氧化酶 C-末端的特定结构域(PF12143)。

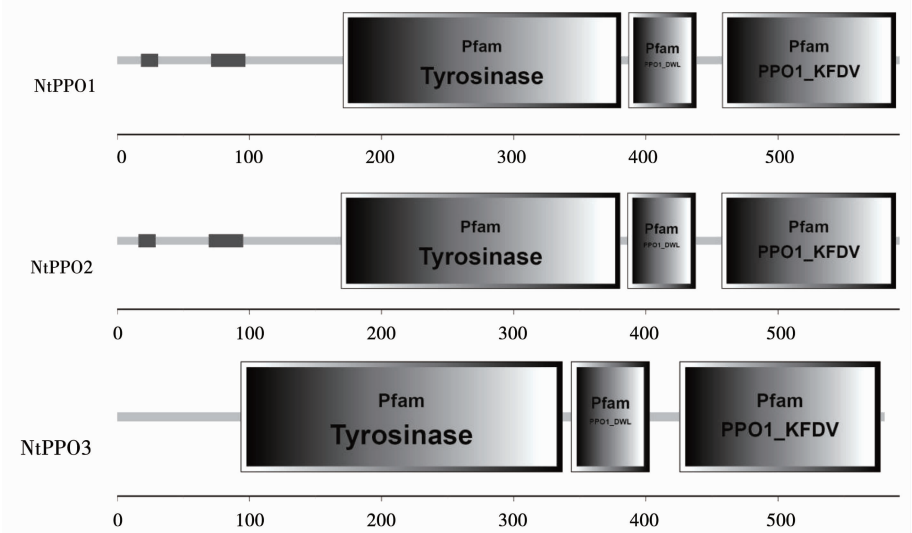
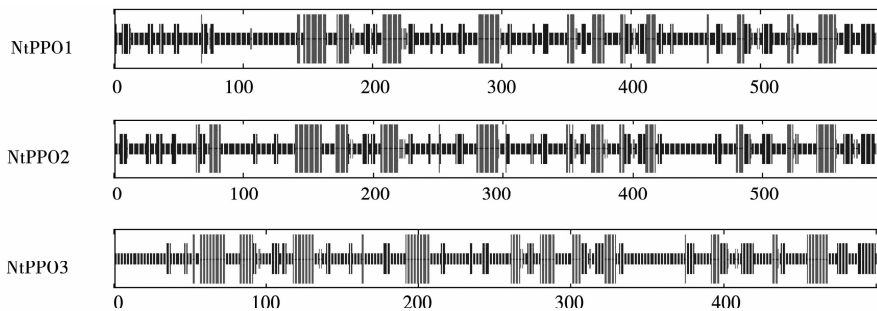


图2 烟草 PPO 序列结构域
Fig.2 Sequence domain of tobacco PPO

2.3 烟草 PPO 氨基酸序列的二级结构

烟草 PPO 氨基酸序列的二级结构将影响到该序列的高级空间结构及分布,进而影响到烟草 PPO 的功能,为此,测定烟草 PPO 的二级结构,结果如图 2 所示。NtPPO1 的二级结构,以无规则卷曲所占比例最多,为 56.3%,共有 333 个,以 β -转角所占比例最少,为 3.7%,共有 22 个,而 α -螺旋和 β -折叠所占比例较为相似,分别为 20.1% 和 19.93%,共含有 119 和 118 个;NtPPO2 的二级结构的组成成分与 NtPPO1 较为相似,其中 β -折叠和 β -转角与 NtPPO1 相同,而 α -螺旋大于



纵向线条由长到短,依次表示为 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲。

The longitudinal lines are long to short, which are represented as α -helix, β -fold, β -turn and random curl.

图 3 烟草 PPO 序列二级结构

Fig. 3 Secondary structure of tobacco PPO sequence

3 结论与讨论

通过对烟草 PPO 氨基酸序列理化性分析, NtPPO1、NtPPO2 和 NtPPO3 特性存在一定的差异,说明烟草 PPO 功能的多样性。通过对烟草 PPO 氨基酸序列的结构域分析, NtPPO1 和 NtPPO2 均具有信号肽和中心域的 PPO1_DWL 结构域和 C-末端的 PPO1_KFDV 结构域,其研究结果与前人相同^[13-14], NtPPO3 不具有信号肽,说明 NtPPO3 可能具有一定的特异性,此外 NtPPO1、NtPPO2 和 NtPPO3 均含有 Tyrosinase 结构域,说明三者具有执行酪氨酸酶的功能^[15-16];烟草 PPO 的二级结构以无规则卷曲为主,研究结构与曾泽媛等^[17]相似,有利于快速改变其空间结构。

参考文献:

- [1] 闫克玉,赵献章.烟叶分级[M].北京:中国农业出版社,2003:63-69.
- [2] 柴家荣,谢丽华,姚恒,等.湖南宁乡、广东南雄晒烟生产技术考察研究[J].昆明学院学报,2011,33(3):26-30.
- [3] 贺帆,王涛,武圣江,等.密集烘烤烤烟不同品种烟叶质地和

NtPPO1,所占比例为 21.7%,共 128 个,无规则卷曲小于 NtPPO1,所占比例为 54.4%,共 321 个;NtPPO3 的二级结构的组成成分与 NtPPO1 和 NtPPO2 有较大的差异, α -螺旋比例为 22.9%,共 115 个, β -折叠比例为 18.3%,共 92 个, β -转角比例为 2.6%,共 13 个,无规则卷曲比例为 56.2%,共 282 个。NtPPO1、NtPPO2 和 NtPPO3 的二级结构分布均较为分散,无明显的集中区域,进而有利于烟草 PPO 高级结构的折叠。

颜色变化[J].核农学报,2014,28(9):1647-1655.

- [4] 陈二龙,范志勇,宋朝鹏,等.烘烤期烟叶霉变发生规律及关键影响因素[J].江西农业大学学报,2017,39(5):877-883.
- [5] Mayer A M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review [J]. Cheminform, 2007, 67 (21): 2318-2331.
- [6] 母洪娜,王良桂,孙陶泽.桂花多酚氧化酶(PPO)基因的克隆及表达分析[J].分子植物育种,2017,15(2):441-446.
- [7] 谭琳,陈娇,李奕星,等.香蕉多酚氧化酶基因编码序列的电子克隆和生物信息学分析[J].广东农业科学,2013,40(24):112-116.
- [8] Treatment C F S A. Chapter 4—Primary and secondary HIV prevention - substance abuse treatment for persons with HIV/AIDS-NCBI bookshelf [M]. America: Substance Abuse & Mental Health Services Administration, 2000.
- [9] 陈二龙,范志勇,王松峰,等.烟草 *Hsp70* 基因家族的鉴定及 *NtHsp70Chl* 基因的表达分析[J].中国烟草科学,2018,39(2):8-16.
- [10] Lubec G, Afjeji-Sadat L, Yang J W, et al. Searching for hypothetical proteins: Theory and practice based upon original data and literature[J]. Progress in Neurobiology, 2005, 77(1):90-127.

[11] Jörg S, Frank M, Peer B, et al. SMART, a simple modular architecture research tool: Identification of signaling domains[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1998, 95(11): 5857-5864.

[12] Heather E H, Caleb H, Laszlo N K, et al. PGY-specific benchmarks improve resident performance on fundamentals of laparoscopic surgery tasks[J]. American Journal of Surgery, 2018, 215(5): 880-885.

[13] William H F, Jennifer K I. Proteolytic processing of polyphenol oxidase from plants and fungi[J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2008, 102(12): 2160-2170.

[14] Carrie M M, Nicole M T, William H F, et al. Comparative analysis of polyphenol oxidase from plant and fungal species[J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2005, 100(1): 108-123.

[15] 王亚光, 邵巧巧, 孙冰冰, 等. 中华鳖 *tyrp-1* 基因的生物信息学分析[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2017, 37(3): 274-280.

[16] 韩宇. 家蚕酪氨酸羟化酶基因的表达与功能初探[D]. 重庆: 西南大学, 2010.

[17] 曾泽媛, 罗勇, 郑楚楚, 等. 茶树 PPO 基因家族的鉴定与分析[J]. 茶叶科学, 2018, 38(4): 385-395.

Analysis of Amino Acid Sequence of Tobacco PPO

WANG Yu-zhen¹, CAI Jin-yu², LI Zhen³, WU Jie⁴, YANG Zhi-xiao², SU Jia-en⁵

(1. Yunlong County Branch Company, Dali Prefecture Tobacco Company, Yunlong 672700, China; 2. Dali Branch of Dali Prefecture Tobacco Company, Dali 671000, China; 3. Yangbi County Branch Company, Dali Prefecture Tobacco Company, Yangbi 672500, China; 4. Eryuan Branch of Dali Prefecture Tobacco Company, Eryuan 671200, China; 5. Dali Prefecture Tobacco Company, Yunnan Tobacco Company, Dali 671000, China)

Abstract: In order to study the physicochemical properties of tobacco PPO, the physiological characteristics, domain and secondary structure of tobacco PPO members were analyzed by PROTPARAM, SMART and NPSA-PRABI tools. The results showed that tobacco PPO was acidic amino acid, NtPPO1, NtPPO2 and NtPPO3 belonged to unstable protein, among which NtPPO1 had relatively strong heat resistance, and the three amino acids with higher common content were leucine and valine; NtPPO1 both NtPPO2 and NtPPO3 contain Tyrosinase, PPO1_DWL and PPO1_KFDV domains, and NtPPO1 and NtPPO2 contain signal peptides; the secondary structure of tobacco PPO members was mainly irregular coiling, followed by α -helix, and the secondary structure was more dispersed.

Keywords: tobacco; PPO amino acid; sequence

《黑龙江农业科学》理事会

理事长单位	代表	理事单位	代表
黑龙江省农业科学院	院长 李文华	黑龙江生物科技职业学院	院长 李承林
副理事长单位	代表	农垦科研育种中心哈尔滨研究所	所长 姚希勤
黑龙江省农业科学院水稻研究所	所长 鄂文顺	黑龙江农业职业技术学院	院长 于波
黑龙江省农业科学院克山分院	院长 邵立刚	鹤岗市农业科学研究所	所长 姜洪伟
黑龙江省农业科学院黑河分院	院长 张立军	伊春市农业技术推广广中心	主任 张含生
黑龙江省农业科学院绥化分院	院长 陈维元	甘南县向日葵研究所	所长 孙为民
黑龙江省农业科学院牡丹江分院	院长 张太忠	萝北县农业科学研究所	所长 张海军
常务理事单位	代表	黑龙江省农垦科学院水稻研究所	所长 解保胜
勃利县广视种业有限责任公司	总经理 邓宗环	黑龙江八一农垦大学农学院	院长 郭永霞
内蒙古丰垦种业有限责任公司	董事长 徐万陶	绥化市北林区农业技术推广中心	主任 张树春
		黑龙江省齐齐哈尔农业机械化学学校	校长助理 张北成