

王天龙,梁永标,何俊龙,等.烟草丙酮酸脱羧酶的生物信息学分析[J].黑龙江农业科学,2020(2):24-27.

烟草丙酮酸脱羧酶的生物信息学分析

王天龙¹,梁永标¹,何俊龙²,李江美²,李春荣³,高文佑³,官崇植⁴,苏家恩⁵

(1.大理州烟草公司永平县分公司,云南永平 672100;2.大理州烟草公司鹤庆县分公司,云南鹤庆 672100;3.大理州烟草公司剑川县分公司,云南剑川 671300;4.大理州烟草公司巍山县分公司,云南巍山 672400;5.云南省烟草公司大理州公司,云南大理 671000)

摘要:为进一步了解烟草丙酮酸脱羧酶的特性及功能,采用 NetPhos 3.1 Server、Meme 和 Wolf Psort 工具获取烟草丙酮酸脱羧酶的磷酸化位点、保守基序和亚细胞定位的相关信息并进行分析。结果表明:丝氨酸和苏氨酸磷酸化位点数以 NtPDC_1 成员较多,酪氨酸磷酸化位点数以 NtPDC_3 成员较多;烟草丙酮酸脱羧酶成员中共检测到 7 组保守基序,以 Motif 1~6 较为保守,NtPDC_6 缺失 Motif 7,除 Motif 5 外,其他保守基序均作为序列功能结构域的重要组成部分;NtPDC_1、NtPDC_2 和 NtPDC_3 定位于细胞质,NtPDC_4 定位于线粒体,NtPDC_5 和 NtPDC_6 定位于内质网。

关键词:烟草;丙酮酸脱羧酶;生物信息学

作为焦磷酸硫胺素(Thiamine pyrophosphat)依赖性非氧化酶之一的丙酮酸脱羧酶,是一种胞内酶^[1],可在焦磷酸硫胺素和镁离子的协助下于缺氧环境中催化丙酮酸反应,为机体提供能量和机体代谢的中间产物,维持机体的正常运行^[2]。丙酮酸脱羧酶催化反应产生的醛类化合物,通过进一步反应,可获得多种医药产物^[3-4],同时在逆境环境中为保证自身的生存创造条件^[5]。目前,关于丙酮酸脱羧酶的研究主要为水稻、酿酒酵母、白花丹参和移动单胞菌等^[6-9],而烟草作为重要的经济作物,其生长品质与烟农收益有重要的关系,为此,本文分析了烟草丙酮酸脱羧酶的磷酸化位点、保守基序和亚细胞定位的相关信息,为后期烟草丙酮酸脱羧酶的特性及功能研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

烟草丙酮酸脱羧酶的序列获取。以数据库 NCBI 为基础,获取烟草丙酮酸脱羧酶家族成员

的序列登录号,其代码依次为 NP_001312861、XP_016495723、XP_016467254、XP_016508504、XP_016454960 和 XP_016508505,并分别为其进行命名 NtPDC_1、NtPDC_2、NtPDC_3、NtPDC_4、NtPDC_5 和 NtPDC_6。

1.2 方法

采用 NetPhos 3.1 Server 读取序列中的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸,并依据其分值是否大于 0.5 判断是否属于磷酸化位点^[10],运用 Meme 将蛋白序列与数据库模型进行比对,进而获取序列的保守基序^[11],Wolf Psort 工具根据氨基酸序列判断其在各亚细胞结构中所占分值,分值越高,其所在亚细胞结构大概率越大^[12]。

2 结果与分析

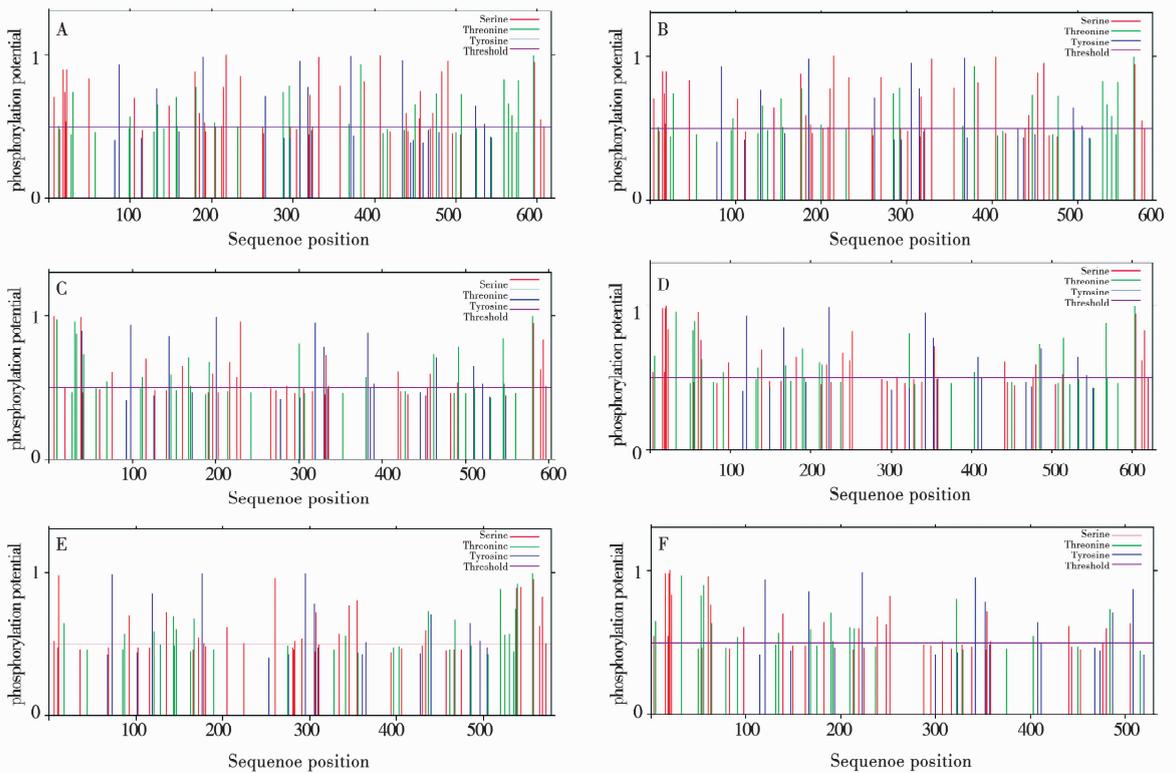
2.1 烟草丙酮酸脱羧酶的磷酸化分析

通过分析烟草丙酮酸脱羧酶各成员的磷酸化,其有效磷酸化位点较多,结果如图 1 所示。NtPDC_1 具有 58 个磷酸化位点,其中丝氨酸磷酸化位点为 28 个,苏氨酸磷酸化位点为 20 个,酪氨酸磷酸化位点为 10 个;NtPDC_2 序列中共有 54 个磷酸化位点,丝氨酸磷酸化位点为 26 个,苏氨酸磷酸化位点为 19 个,酪氨酸磷酸化位点为 9 个;NtPDC_3 具有 47 个磷酸化位点,其中丝氨

收稿日期:2019-11-25

第一作者:王天龙(1986-),男,硕士,助理农艺师,从事烟叶生产技术研究推广工作。E-mail:3619215306@qq.com。

通信作者: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:dlhklw666@163.com。



A: NtPDC_1 的磷酸化; B: NtPDC_2 的磷酸化; C: NtPDC_3 的磷酸化; D: NtPDC_4 的磷酸化; E: NtPDC_5 的磷酸化; F: NtPDC_6 的磷酸化

A: phosphorylation of NtPDC_1; B: phosphorylation of NtPDC_2; C: phosphorylation of NtPDC_3; D: phosphorylation of NtPDC_4; E: phosphorylation of NtPDC_5; F: NtPDC_6 phosphorylation

图 1 烟草丙酮酸脱羧酶的磷酸化

Fig. 1 Phosphorylation of tobacco pyruvate decarboxylase

酸磷酸化位点为 19 个, 苏氨酸磷酸化位点为 17 个, 酪氨酸磷酸化位点为 11 个; NtPDC_4 序列中共有 52 个磷酸化位点, 丝氨酸磷酸化位点为 25 个, 苏氨酸磷酸化位点为 18 个, 酪氨酸磷酸化位点为 9 个; NtPDC_5 具有 46 个磷酸化位点, 其中丝氨酸磷酸化位点为 22 个, 苏氨酸磷酸化位点为 15 个, 酪氨酸磷酸化位点为 9 个; NtPDC_6 序列中共有 44 个磷酸化位点, 丝氨酸磷酸化位点为 21 个, 苏氨酸磷酸化位点为 15 个, 酪氨酸磷酸化位点为 8 个。综上所述, 以 NtPDC_1 磷酸化位点总数最多 58 个, 且丝氨酸(28)和苏氨酸(20)磷酸化位点数在各成员中最多; 而含有酪氨酸(11)磷酸化位点数最多的成员为 NtPDC_3。

2.2 烟草丙酮酸脱羧酶的保守基序分析

通过对烟草丙酮酸脱羧酶成员保守基序的检索, 共获取 7 组保守基序, 结果如图 2 所示。NtPDC_1、NtPDC_2、NtPDC_3、NtPDC_4 和 NtPDC_5 含有 7 组保守基序, 而 NtPDC_6 具有 6 组保守基序, 缺少 Motif 7, 表明 Motif 1、Motif 2、Motif 3、Motif 4、Motif 5 和 Motif 6 较为保守。7 组保守基序在各成员序列中的位置存在差异, 但均含有 50 个氨基酸残基构成, 其详情结果如表 1 所示。Motif 1 和 Motif 4 位于序列的 N 端区域, 其涉及硫酸胺素磷酸酶 N-末端 TPP 结构域(TPP_enzyme_N), Motif 3 和 Motif 6 涉及硫酸胺素磷酸酶中心结构域(TPP_enzyme_M);

表 1 烟草丙酮酸脱羧酶保守基序的序列代码

Table 1 Sequence code for the conserved motif of tobacco pyruvate decarboxylase

名称 Name	保守基序 Conservative motif
Motif 1	CIVGGPNSNDYGTNRILHHTIGLP- DFSQELRCFQTVTCYQAVVNNLDDAH
Motif 2	EPLRVNVLFQHIQNMLS GSDAVIAETGD- SWFNCQKLLKLPZGCGYEFQM QY
Motif 3	HPHFIGTYWGA VSTAFCAEIVESADAYL- FAGPIFNDYSSVGYSL LJKKEK
Motif 4	PGDFNLTLLDHLIAEPELN LIGCCNEL- NAGYAADGYARARGV GACVVTF T
Motif 5	DTAISTALKESKPVYISIGCN LPGI- PHPTFSREPVPFALS PRLSNMMGLE
Motif 6	IIVQPDRVTIGNGPAFGCV LMRD- FLAALAKKLLKNPTAYENYHRIYVPEG
Motif 7	DGSFQVTAQDISTMIRCGQKTHIFL INNG- GYTIEVEIHDGPYNVIKNWNY

Motif 2 和 Motif 7 涉及硫胺素磷酸酶 C-末端 TPP 结构域(TPP_enzyme_C)。

2.3 烟草丙酮酸脱羧酶的亚细胞定位分析

为进一步了解烟草丙酮酸脱羧酶各成员于特定的亚细胞结构中发挥作用,采用 Wolf Psort 对过烟草丙酮酸脱羧酶各成员进行亚细胞定位,其成员有可能存在的亚细胞结构为细胞核、细胞质、内质网、线粒体、叶绿体和液泡,其详情如表 2 所示。通过概率分析,NtPDC_1、NtPDC_2 和 NtPDC_3 定位于细胞质中的值最大,分别为 6,6 和 7,表明该 3 组成员可能于细胞质中发挥作用;NtPDC_4 定位于线粒体中的值最大(4),说明该成员可能于线粒体中发挥作用;NtPDC_5 和 NtPDC_6 定位于内质网中的值最大,均为 4,反映 NtPDC_5 和 NtPDC_6 可能于内质网中发挥作用。

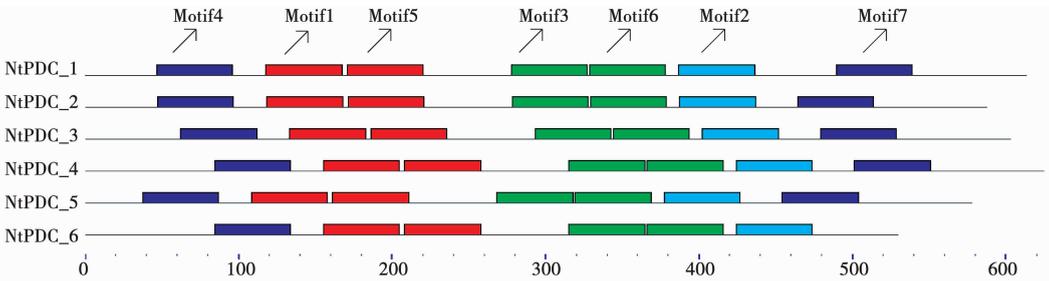


图 2 烟草丙酮酸脱羧酶的保守基序

Fig. 2 Conserved motif of tobacco pyruvate decarboxylase

表 2 烟草丙酮酸脱羧酶的亚细胞定位

Table 2 Subcellular localization of tobacco pyruvate decarboxylase

名称 Name	亚细胞结构 Subcellular structure					
	细胞核 Nucl	细胞质 Cyto	内质网 E. R	线粒体 Mito	叶绿体 Chlo	液泡 Vacu
	NtPDC_1	2	6	4	-	-
NtPDC_2	2	6	4	-	-	1
NtPDC_3	-	7	5	1	-	-
NtPDC_4	1.5	3.5	1	4	2	-
NtPDC_5	-	3.5	4	3	1	-
NtPDC_6	1.5	3.5	4	1	3	-

3 结论与讨论

丙酮酸脱羧酶的活性与其磷酸化有关,通过烟草丙酮酸脱羧酶的磷酸化位点,各成员均含有大量的磷酸化位点,其中 NtPDC_1 磷酸化位点总数最多,有利于促进丙酮酸脱羧酶空间结构的改变,由此推测 NtPDC_1 较为活跃^[13];烟草丙酮酸脱羧酶成员中均含有 Motif 1~Motif 6,唯有 NtPDC_6 缺失 Motif 7,说明 NtPDC_6 的功能可能具有特异性^[14];NtPDC_1 和 NtPDC_2 数值较为相似,且均不涉及线粒体和叶绿体结构,表明 NtPDC_1 和 NtPDC_2 的功能可能较为相似;NtPDC_4 和 NtPDC_6 数值较为相似,且均不涉及

液泡结构,表明 NtPDC_4 和 NtPDC_6 的功能可能较为相似;NtPDC_3 和 NtPDC_6 数值与其他成员有所差异,说明 NtPDC_3 和 NtPDC_6 的功能可能具有特异性^[15]。

参考文献:

- [1] 朱碧云,李浩明. 丙酮酸脱羧酶及其应用研究[J]. 生命科学,2010,22(11): 1184-1191.
- [2] Meyer D, Walter L, Kolter G, et al. Conversion of pyruvate decarboxylase into an enantioselective carboligase with biosynthetic potential[J]. Journal of the American Chemical Society,2011,133(10):3609-3616.
- [3] 邱伙琴,徐国谦,庄英萍,等. 维生素对乳酸菌细胞活性和代谢途径相关酶活性的影响[J]. 华东理工大学学报(自然科学版),2007,33(3):330-335.
- [4] Cindy G, Gernalia S, Allen K C, et al. Yeast pyruvate decarboxylases: variation in biocatalytic characteristics for (R)-phenylacetylcarbinol production [J]. Fems Yeast Research, 2006,7(1):33-39.
- [5] Reena P, Rinu P, Alejandro G M, et al. Alleviation of low temperature sweetening in potato by expressing Arabidopsis pyruvate decarboxylase gene and stress-inducible rd29A: A preliminary study[J]. Physiology & Molecular Biology of Plants An International Journal of Functional Plant Biology,2011,17(2):105.
- [6] 陈波,韩斌. 水稻丙酮酸脱羧酶基因 OsPDC3 功能的初步研究[J]. 中国水稻科学,2011,25(6):567-574.

- [7] 蒋雅红,游松,任杰,等. 酿酒酵母丙酮酸脱羧酶基因的克隆及表达[J]. 沈阳药科大学学报,2002(4):291-293,307.
- [8] 史仁玖,常正尧,王健美,等. 白花丹参丙酮酸脱羧酶基因的克隆和表达分析[J]. 中草药,2013,44(1):90-95.
- [9] 任杰,郭丽清,贾娟,等. 移动单孢菌丙酮酸脱羧酶基因的克隆及表达[J]. 沈阳药科大学学报,2006(11):735-738.
- [10] Oliveira P C R D, Lopes D D O, Coelho I E D V, et al. Cytotoxic activities of eosinophil cationic protein and eosinophil-derived neurotoxin: in silico analysis[J]. Cancer Genomics & Proteomics,2015,12(6):397.
- [11] Bailey T L, Boden M, Buske F A, et al. Meme Suite: tools for motif discovery and searching[J]. Nucleic Acids Research,2009(suppl_2):suppl_2.
- [12] Kaundal R, Raghava G P S. RSLpred: an integrative system for predicting subcellular localization of rice proteins combining compositional and evolutionary information[J]. Proteomics,2010,9(9):2324-2342.
- [13] Mutoh T, Chun J. Lysophosphatidic acid and sphingosine-1-phosphate activation of G-Protein-Coupled receptors[J]. 2010;1191-1200.
- [14] 胡利宗,王俊生,赵锦慧,等. 番茄与马铃薯 TIFY 家族基因的鉴定与比较分析[J]. 分子植物育种,2017(4):26-37.
- [15] 褚翠萍,任秋萍,孔兰静,等. 拟南芥膜联蛋白 2 的亚细胞定位研究 [J]. 中国细胞生物学学报,2017,39(7):873-880.

Bioinformatics Analysis of Tobacco Pyruvate Decarboxylase

WANG Tian-long¹, LIANG Yong-biao¹, HE Jun-long², LI Jiang-mei², LI Chun-rong³, GAO Wen-you³, GUAN Chong-zhi⁴, SU Jia-en⁵

(1. Yongping County Branch of Dali Prefecture Tobacco Company, Yongping 672100, China; 2. Heqing Branch of Dali Prefecture Tobacco Company, Heqing 672100, China; 3. Jianchuan Branch of Dali Prefecture Tobacco Company, Jianchuan 671300, China; 4. Weishan Branch, Dali Prefecture Tobacco Company, Weishan 672400, China; 5. Dali Prefecture Company of Yunnan Tobacco Company, Dali 671000, China)

Abstract: In order to further understand the characteristics and functions of tobacco pyruvate decarboxylase, NetPhos 3.1 Server, Meme and Wolf PSORT tools were used to obtain and analyze the phosphorylation sites, conserved motifs and subcellular localization of tobacco pyruvate decarboxylase. The results showed that the number of phosphorylation sites of serine and threonine was ntpdc_1, the number of tyrosine phosphorylation sites was ntpdc_3, 7 groups of conserved motifs were detected in pyruvate decarboxylase, motif 1~6 were conserved, and motif 7 was absent in ntpdc_6. Except motif 5, other conserved motifs were all important components of sequence functional domain Ntpdc, ntpdc and ntpdc were located in the cytoplasm, ntpdc, ntpdc and ntpdc were located in the mitochondria, ntpdc, ntpdc and ntpdc were located in the endoplasmic reticulum.

Keywords: tobacco; pyruvate decarboxylase; bioinformatics