

植物丝裂原活化蛋白激酶激酶的生物信息学分析

李凤梅

(青岛科技大学 化工学院, 山东 青岛 266042)

摘 要:丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号传导通路是植物细胞内重要的信号传导系统,在多种生物和非生物胁迫、激素、细胞分化和发育进程中发挥关键作用。丝裂原活化蛋白激酶激酶(MAPKK)是信号传导中的重要成员,执行整合上游信号到丝裂原活化蛋白激酶的重要功能。基于 BLAST 搜索,得到植物丝裂原活化蛋白激酶激酶基因序列。采用 CLUSTALW、SMART、Swiss Model 和 MEGA3.1 软件分析这些序列。多序列比对揭示了它们具有典型的蛋白激酶 ATP 结合域签名和丝氨酸、苏氨酸蛋白激酶激活位点签名。空间结构预测表明它们与人 MAPKK 的晶体结构相似。系统进化树中烟草和番茄的丝裂原活化蛋白激酶激酶、野生稻和印度栽培稻丝裂原活化蛋白激酶激酶形成独立的分支,说明它们分别具有较近的亲缘关系。

关键词:丝裂原活化蛋白激酶激酶;多序列比对;空间结构;系统发生分析

中图分类号:Q 946.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)03-0196-04

丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK)通路是介导植物细胞外信号到细胞内反应的重要信号传导系统。在多种生物和非生物胁迫,激素,细胞分化和发育进程中发挥着关键作用^[1-3]。MAPK 通路通常由 3 种三级激酶级联激酶参与信号转导,它们是 MAPKKK、MAPKK 和 MAPK。细胞外刺激通过某些环节使 MAPKK 激活,转化 MAP 激酶激酶(MAP Kinase Kinase, MAPKK),然后通过对苏氨酸和酪氨酸双位点磷酸化激活 MAPK^[4-5]。近年来,从主要的经济作物中报道了 MAPKK 基因,但是还没有生物信息学的相关报道。该研究对已知的植物 MAPKK 进行了模体预测、多序列比对、空间结构预测和系统发生分析。

作者简介:李凤梅(1974-),女,博士,讲师,现主要从事分子免疫方面研究工作。

收稿日期:2009-11-20

1 材料与方法

在 NCBI 中检索植物丝裂原活化蛋白激酶激酶基因,获得其相应的氨基酸序列,信号肽查找用 SignalP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)程序分析;跨膜区用 TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM>)程序搜寻,多序列比对采用 CLUSTAL W (Thompson, 1994)程序,采用 SMART 软件(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)查找蛋白特征模体,空间结构预测采用 Swiss-model 软件,模型查看用 Swiss-PdbViewer (Schwede, 2003)软件。运用 CLUSTAL X1.83 和 MEGA 3.1 软件,采用 Neighbor-joining 法构建进化树。

2 结果与分析

2.1 植物丝裂原活化蛋白激酶激酶基因的特征分析

从 NCBI 中检索到 7 种植物丝裂原活化蛋白激酶激酶基因,它们分别是烟草 *Nicotiana tabacum* (AAF67262)、番茄 *Solanum lycopersicum* (CAA04261)、欧芹 *Petroselin-*

Abstract: This thesis which study salt-tolerant plants summary the current research situation of the plants, from the species and salt-tolerance mechanism to the development and utilization prospects of salt-tolerant plants. Through the recent description of these studies, people will have a deeper understanding on salt-tolerant plants and adopt appropriate strategy to take advantage of them in order to create a good improvement of saline-alkali soil, as well as economic benefits and social benefits.

Key words: salt-tolerant plants; species; mechanism of salt tolerance; application

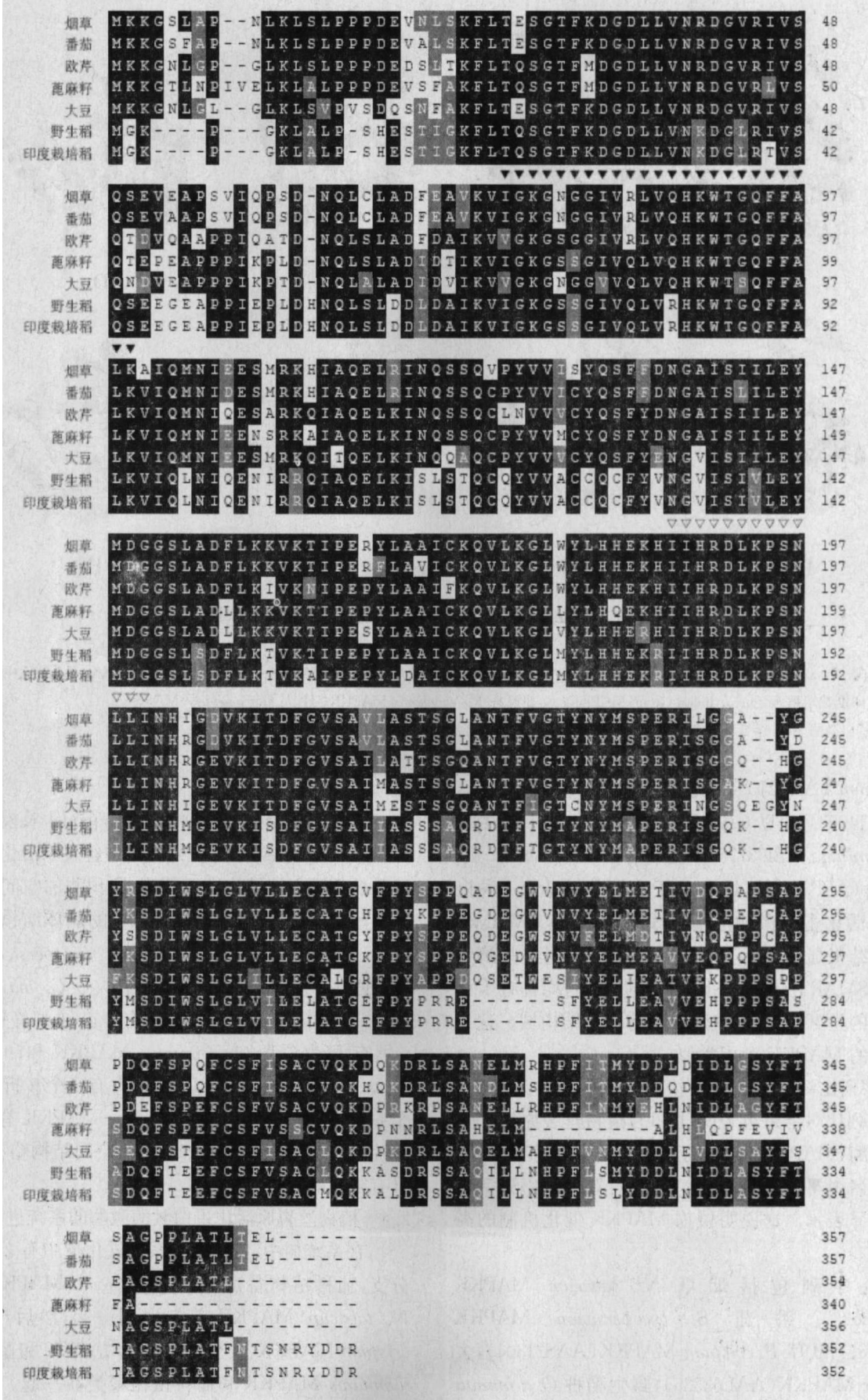


图1 植物丝裂原活化蛋白激酶基因的多序列比对

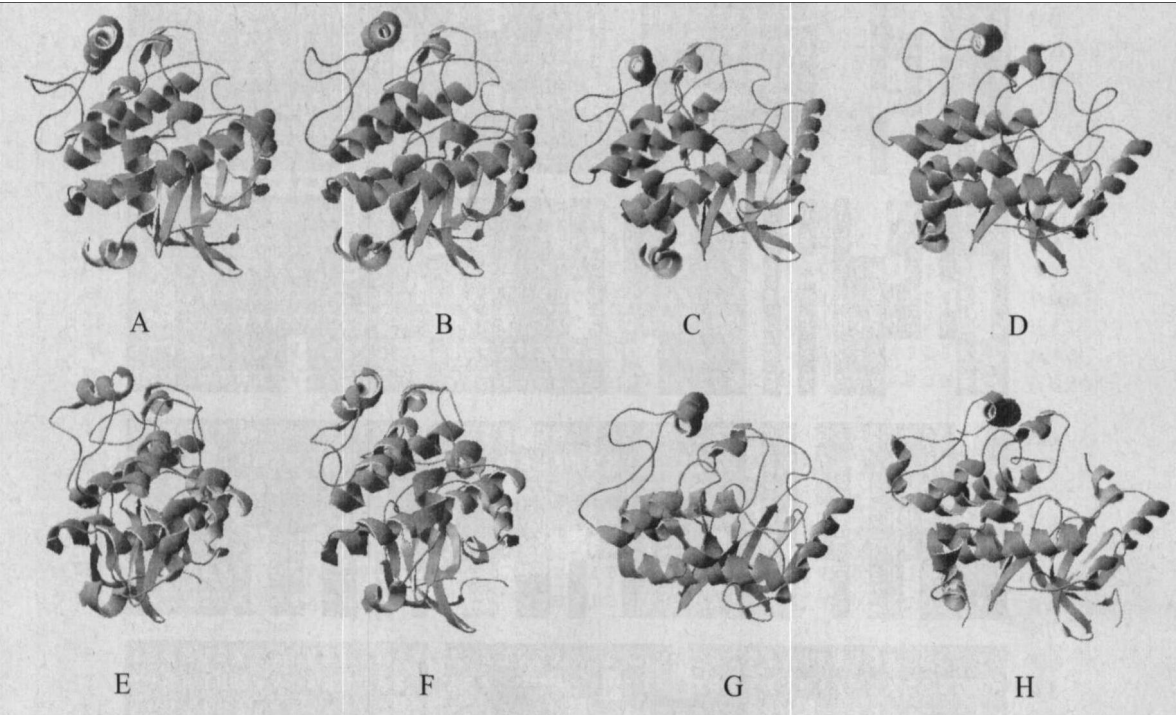


图2 植物丝裂原活化蛋白激酶激酶的空间结构预测结果

注:A:烟草 *N. tabacum* MAPKK; B:番茄 *S. lycopersicum* MAPKK; C:欧芹 *P. crispum* MAPKK; D: 大豆 *G. max* MAPKK; E:野生稻种 *O. a minuta* MAPKK; F:印度栽培稻 *O. sativa* Indica Group MAPKK; G:蓖麻籽 *R. s communis* MAPKK; H:人 *Homo sapiens* MAPKK。
▼表示蛋白激酶 ATP 结合域签名,丝氨酸、苏氨酸蛋白激酶激活位点签名由▽表示。

num crispum (AAS21304)、蓖麻籽 *Ricinus communis* (XP_002514093)、大豆 *Glycine max*(AAL62336)、野生稻种 *Oryza minuta* ABI93775,印度栽培稻 *Oryza sativa* Indica Group(ABP88102),经 SingalP 程序分析显示,7 种植物丝裂原活化蛋白激酶激酶都没有信号肽,TMHMM 程序搜寻结果显示,它们均没有跨膜区,说明这些酶为胞外酶。SMART 软件分析结果表明,它们均含有 1 个高度保守的丝氨酸、苏氨酸蛋白激酶催化结构域。这一结果与人的 MAPKK 基因类似。

2.2 多序列比对分析

多序列比对结果也表明(图 1),植物丝裂原活化蛋白激酶激酶(MAPKK)存在高度保守的蛋白激酶 ATP 结合域签名由 ▼表示,丝氨酸、苏氨酸蛋白激酶激活位点签名由▽表示。这说明植物 MAPKK 催化机制的高度保守。

注:序列包括烟草 *N. tabacum* MAPKK (AAF67262)、番茄 *S. lycopersicum* MAPKK (CAA04261)、欧芹 *P. crispum* MAPKK(AAS21304),大豆 *G. max* MAPKK(AAL62336),野生稻种 *O. a minuta* MAPKK (ABI93775),印度栽培稻 *O. sativa* Indica Group MAPKK(ABP88102),蓖麻籽 *R. s communis* MAPKK (XP_002514093)。

2.3 三维空间结构分析

采用空间结构预测软件 Swiss-model 及模型查看软件 Swiss-PdbViewer 对获得的植物丝裂原活化蛋白激酶激酶的 7 种空间结构进行预测,所预测的空间结构都有与人丝裂原活化蛋白激酶激酶 1 的晶体结构相似。烟草 *N. tabacum* MAPKK、番茄 *S. lycopersicum* MAPKK、欧芹 *P. crispum* MAPKK 和大豆 *G. max* MAPKK 的空间结构预测结果显示,含有 8 个 β 折叠片和 10 个 α-螺旋,野生稻种 *O. a minuta* MAPKK 和印度栽培稻 *O. sativa* Indica Group MAPKK 含有 8 个 β 折叠片和 11 个 α-螺旋,而蓖麻籽 *R. s communis* MAPKK 有 8 个 β 折叠片和 8 个 α-螺旋。虽然它们的空间结构略有差异,但具有很高的相似性。

2.4 植物丝裂原活化蛋白激酶激酶的系统进化分析

在系统树中,所构建的系统进化树中有 2 个明显的分支,茄科植物番茄 *S. lycopersicum* MAPKK 和烟草 *N. tabacum* MAPKK 首先聚到一起,然后与欧芹 *P. crispum* MAPKK、大豆 *G. max* MAPKK 和蓖麻籽 *R. s communis* MAPKK 和茄科植物聚类在一起。野生稻种 *O. a minuta* MAPKK 和经过驯化的印度栽培稻 *O. sativa* Indica Group 在进化树聚成独立一支。系统进化关系说明番茄 *S. lycopersicum* MAPKK 和烟草 *N. tabacum* MAPKK,野生稻和栽培稻中 MAPKK 具有较近的

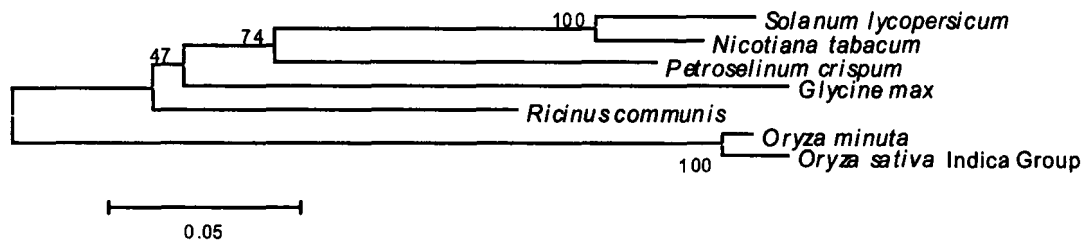


图3 植物丝裂原活化蛋白激酶的系统进化关系

注:序列包括烟草 *N. tabacum* MAPKK(AAF67262),番茄 *S. lycopersicum* MAPKK (CAA04261),欧芹 *P. crispum* MAPKK(AAS21304),大豆 *G. max* MAPKK(AAL62336),野生稻种 *O. a minuta* MAPKK (ABI93775),印度栽培稻 *O. sativa* Indica Group MAPKK(ABP88102),蓖麻籽 *R. s communis* MAPKK (XP_002514093)。

亲缘关系。

3 结论

试验通过对几种植物丝裂原活化蛋白激酶激酶的模体预测、多序列比对、空间结构预测和系统进化分析,表明植物 MAPKK 基因高度保守,意味着其催化功能在进化过程中的高度保守。

参考文献

[1] Pedley K F, Martin G B. Role of mitogen-activated protein kinases in plant immunity[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2005, 8 (10):541-547.
[2] Johnson G L, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways

mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases [J]. Science, 2002, 298 (5600):1911-1912.
[3] Kumar K, Rao K P, Sharma P, et al. Differential regulation of rice mitogen activated protein kinase kinase(MKK)by abiotic stress[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2008, 46(10):891-897.
[4] Widmann C, Gibson S, Jarpe M B, et al. Mitogenactivated protein kinase; conservation of a three-kinase module from yeast to human [J]. Physiol Rev, 1999, 79(1):143-180.
[5] Kiegl S, Cardinale F, Siligan C, et al. SIMKK, a mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinase, is a specific activator of the salt stress-induced MAPK, SIMK [J]. Plant Cell, 2000, 12(10):2247-2258.

Bioinformatics Analysis of Plant MAPKK

LI Feng-mei

(College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, Shandong 266042)

Abstract: Mitogen-activated protein kinase(MAPK) pathway is important signal transduction system in cells from plant, and plays a crucial role in various biotic and abiotic stresses, hormones, cell division and developmental processes. MAP kinase kinase is important member in signal transduction which performs an important function of integrating upstream signals to mitogen activated protein kinase. Based on the result of BLAST search, 7 plant MAP kinase kinase sequences were collected. Smart and Swiss model were used to analyze their sequence alignment, spatial structure and phylogenetic analysis. Multiple sequence alignment revealed they have MAPK ATP binding region signature and serine/threonine protein kinase active site signature. Spatial structure predicted that they were similar to crystal structure of human MAP kinase kinase 1. Phylogenetic analysis showed that tobacco and tomato MAPKK, Oryza minuta and Oryza sativa Indica Group formed independent branch, respectively. These indicated their phylogenetic relationship was close, respectively.
Key words: MAPKK; multiple sequence alignment; spatial structure; phylogenetic analysis