

# 水稻抽穗期基因 *Ehd1* 序列特征 和功能分析

Sequence characterization and functional analysis of *Ehd1* gene at heading stage in rice

汇报人 G01D 张舒易

组员 G01A 徐安迪 G01B 王欣茹 G01C 朱灏宇

# 研究背景——水稻相关信息介绍



**短日照植物（日照时间短于一定的数值开花的植物）**

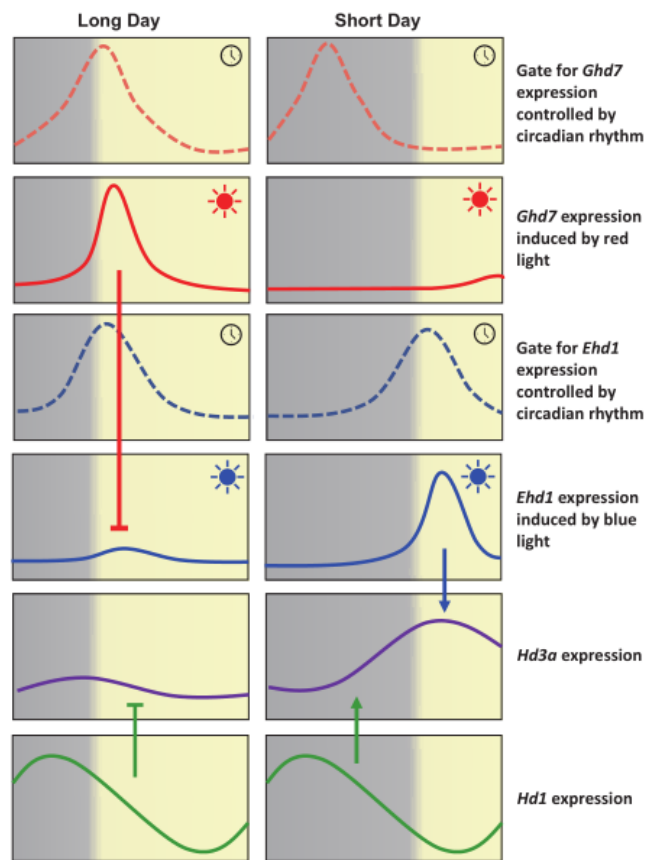
**主要有两个亚种：粳稻和籼稻**

**一般在海南、福建、广东等温度比较高的地区可种植三季，在浙江、重庆、安徽等地区可种植两季，东北地区则种植一季。**

**抽穗期**标志着农作物由**营养生长**(根和茎、叶等的生长)转向**生殖生长**（开花结果）。也就是**营养生长**和**生殖生长**旺盛的并进阶段。

**抽穗期**是**决定农作物产量最为重要的关键期**,也是农作物一生中生长发育最快,对养分、水分、温度、光照要求最多的时期。

# 研究背景——长短日照对抽穗基因表达的影响



在长日照条件下，*Ghd7*表达在黎明前后具有最高的红光诱导率，而在短日照条件下，诱导率峰值移到午夜

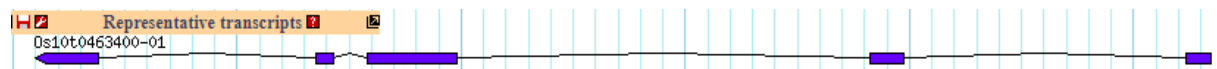
在长日照和短日照条件下，*Ehd1*表达在黎明前后具有最高的蓝光诱导率

在长日照下，黎明时分红光诱导*Ghd7*转录，进一步抑制*Ehd1*和*Hd3a*的表达

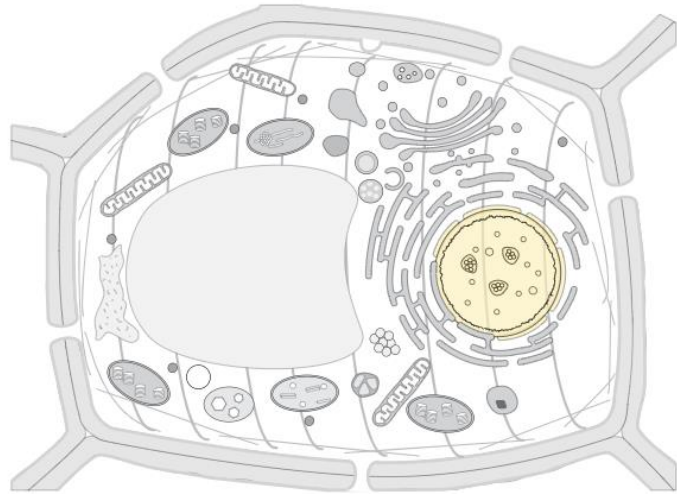
在短日照下，*Ehd1*在黎明前后表达，并诱导*Hd3a*的表达

利用昼夜钟和日长调控水稻抽穗的外部符合模型  
(Shirong Zhou, Shanshan Zhu, et al. New Phytol. 2021 May)

# Ehd1基因基本信息——调查自数据库



**Ehd1基因结构图**  
(蓝色区域为外显子区域, 图源RAP-DB)



**亚细胞定位情况**  
(图源UniProt)

**基因号:** LOC\_Os10g32600.1 (MUS) /Os10g0463400 (RAP)  
**染色体定位:** 10号染色体 (17,076,098 到 17,081,344)  
**基因全长:** 5247bp (包含五个外显子及四个内含子)  
**启动子区域:** 17,074,098-17,076,098 (-2000区段)  
**CDS序列长度:** 1026bp  
**编码氨基酸:** 341 aa  
**亚细胞定位:** 细胞核  
**功能:** 作为诱导剂, 促进短日照下的开花途径

# Ehd1 蛋白信息——调查自UniProt数据库

UniProt登录号: Q7Y0W5 (EHD1\_ORYSJ)

所属家族: ARR家族, B类亚家族 (含有类MybDNA结合结构域)

## Domains and Repeats

Feature key	Position(s)	Description	Actions	Graphical view	Length
Domain <sup>i</sup>	12 - 127	Response regulatory <a href="#">PROSITE-ProRule annotation</a>	<a href="#">Add</a> <a href="#">BLAST</a>		116
Domain <sup>i</sup>	195 - 254	HTH myb-type <a href="#">PROSITE-ProRule annotation</a>	<a href="#">Add</a> <a href="#">BLAST</a>		60

## Ehd1 结构域信息

**结构域情况:** 共有两个结构域 (反应调节区域 和 螺旋-转角-螺旋 myb类结构域)

**反应调节区域:** 作为双组分调节系统的一部分, 调节细胞对环境变化的响应。反应调节区域可与作为环境变化传感器的特定组氨酸激酶耦合。 (Pfam: PF00072)

**Myb结构域:** myb型HTH结构域是约55个氨基酸的DNA结合、螺旋-转螺旋 (HTH) 结构域, 通常在真核转录因子中以串联重复方式出现。 (InterPro: IPR017930)

## Amino acid modifications

Feature key	Position(s)	Description	Actions	Graphical view	Length
Modified residue <sup>i</sup>	63	4-aspartylphosphate <a href="#">PROSITE-ProRule annotation</a>			1

## Ehd1 磷酸化位点信息

# Ehd1 蛋白情况分析——利用ExPASy及ProdictProtein

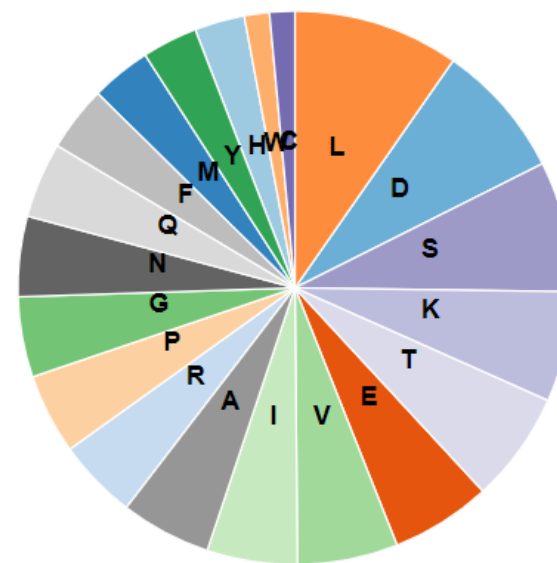
**分子量：38863.13**

**等电点：5.61**

**氨基酸含量（前3位）：**  
Leu (L) 9.7%  
Asp (D) 7.9%  
Ser (S) 7.6%

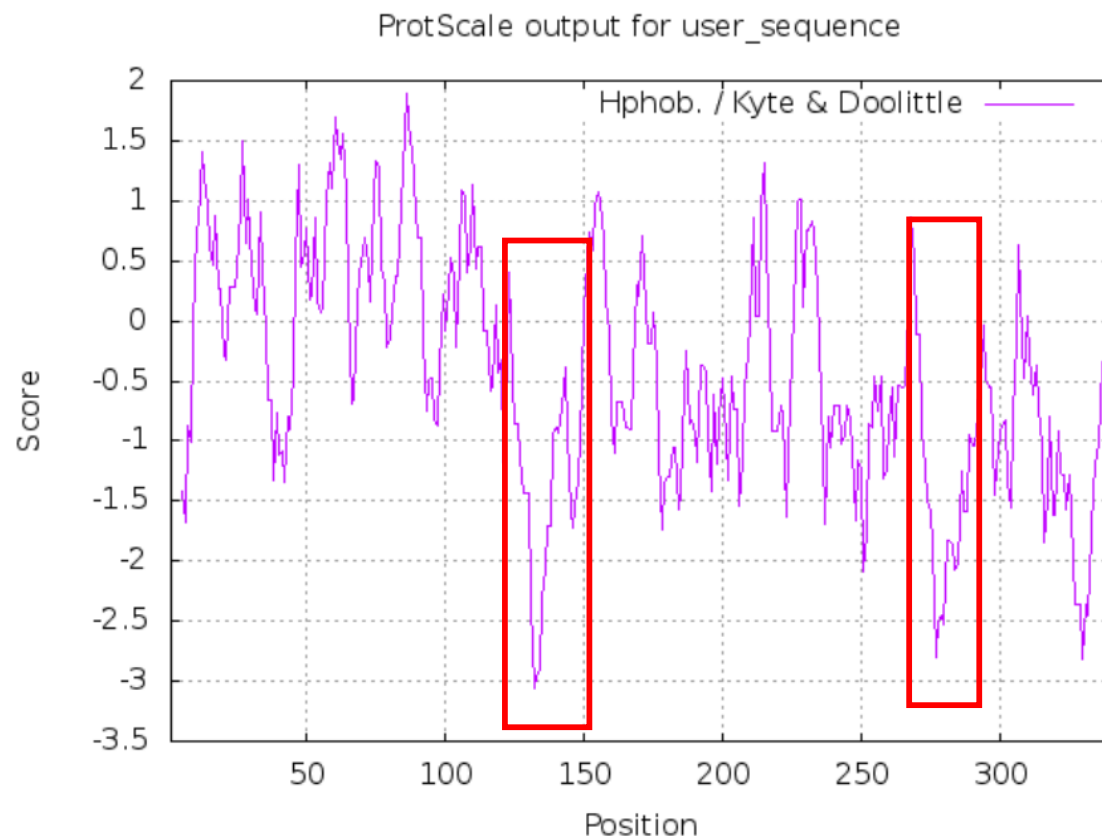
**亲水性总平均值：-0.455（疏水）**

Amino Acid composition



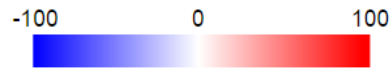
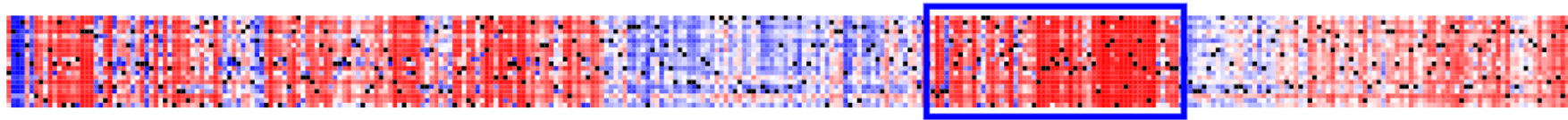
**氨基酸含量饼图  
(预测自PredictProtein)**

# Ehd1亲疏水性预测——利用ExPASy

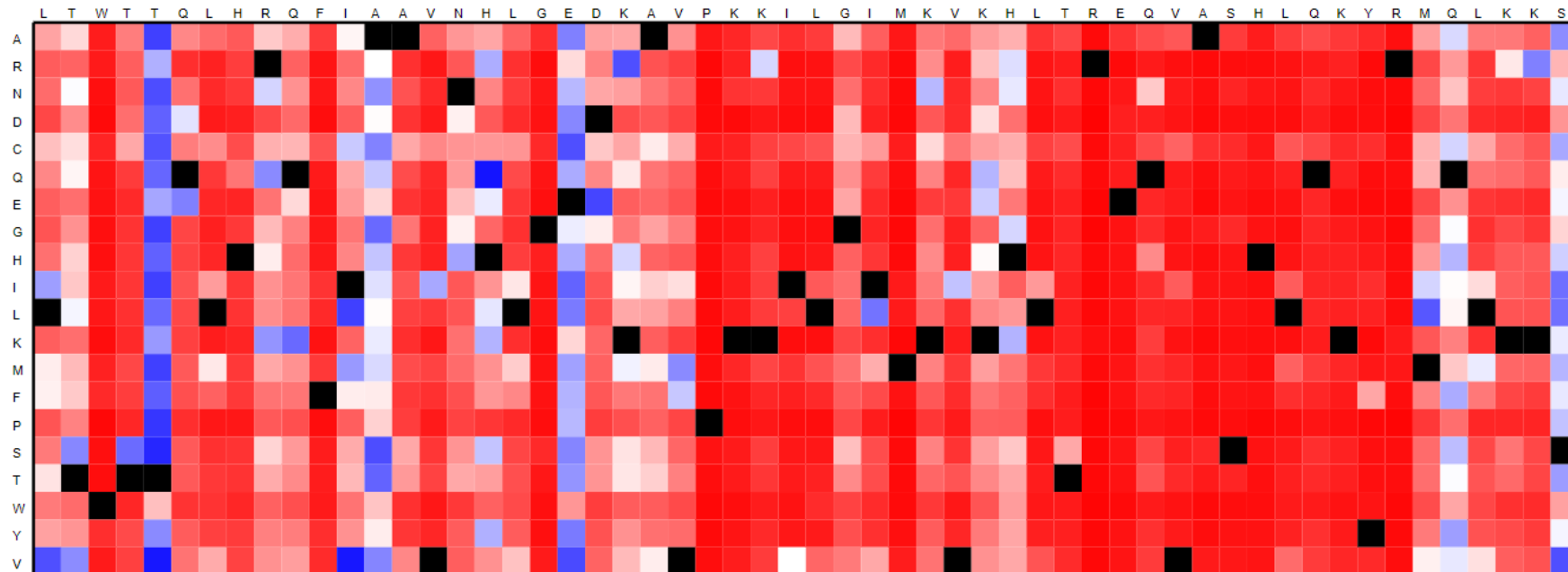


**EHD1亲疏水性预测结果**  
**(红框为亲水性较强的区域)**

# Ehd1蛋白质序列点突变预测结果——利用PredictProtein



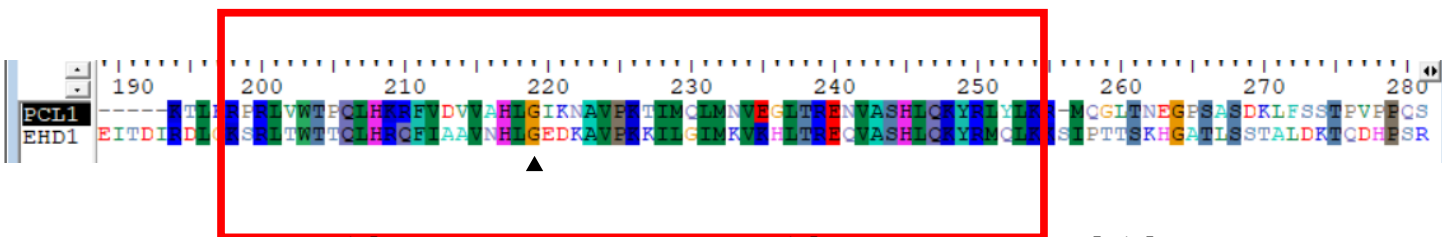
G→R会限制其DNA绑定活性 (Kazuyuki Doi, et al. Genes Dev. 2004)



点突变预测图  
(图中方框及放大区域为螺旋-转螺旋结构域)

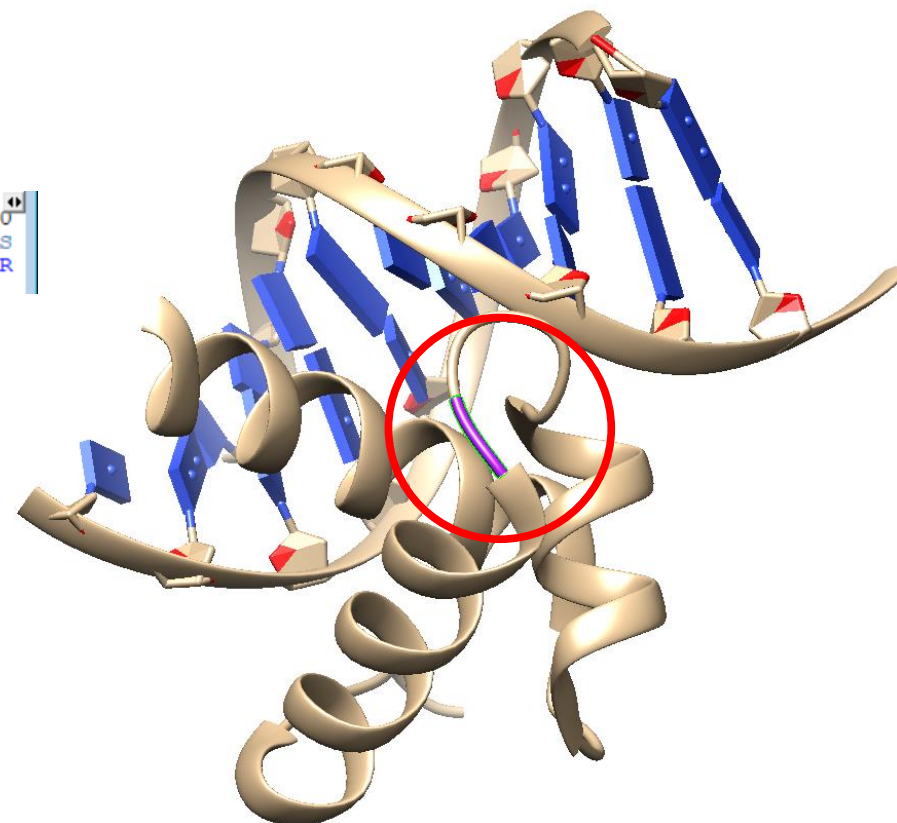


# EHD1蛋白突变位点模拟



LUX中MYB结构域与EHD1MYB结构域序列对比结果  
(三角指示的G为突变位点，红框区域为右侧图示序列区，  
对比自BioEdit软件)

推测G→R可能影响到转角区域的形成从而影响了类MYB  
结构域的功能



LUX与DNA复合物的MYB结构域  
(紫色区域为G，Chimera作图，PDB: 5LXU)

# ARR-B家族分析——基于数据库

	UniProt (Swiss-Prot)	PlantTFDB
拟南芥	11	21
籼稻	13	11

拟南芥和籼稻ARR-B家族在各数据库收录情况

PlantTFDB未将不同的剪接情况合并

排除同一基因的不同剪接情况后

拟南芥中PlantTFDB多出三条：

AT5G07210.1 (response regulator 21) 、 AT1G68210.1 (pseudo-response regulator 6) 、  
AT5G49240.1 (pseudo-response regulator 4)

籼稻中PlantTFDB少了四条：

LOC\_Os10g32600 (EHD1) 、 LOC\_Os08g17760 (RR32) 、 LOC\_Os08g35650 (RR31) 、  
LOC\_Os08g35670 (RR33)

# 数据库差异原因猜想——基于 *Ehd1* 基因

Basic Information		Back to Top					
TF ID	LOC_Os10g32600.1						
Common Name	EHD1, LOC107276289, Os10g0463400, OsJ_31808, OSJNBa0071K18.25, RR30						
Organism	<i>Oryza sativa subsp. japonica</i>						
Taxonomic ID	39947						
Taxonomic Lineage	cellular organisms; Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Streptophytina; Embryophyta; Tracheophyta; Euphyllophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; Mesangiospermae; Liliopsida; Petrosaviidae; commelinids; Poales; Poaceae; BOP clade; Oryzoideae; Oryzaceae; Oryzinae; Oryza; Oryza sativa						
Protein Properties	Length: 168aa MW: 18684.4 Da PI: 9.6095						
Gene Model	<b>Gene Model ID</b>	<b>Type</b>	<b>Source</b>	<b>Coding Sequence</b>			
	LOC_Os10g32600.1	genome	MSU	View CDS			
Signature Domain		Back to Top					
No.	Domain	Score	E-value	Start	End	HMM Start	HMM End
1	G2-like	75	1.1e-23	110	159	1	51

## PlantTFDB中 *Ehd1* 基因信息

Oryza sativa ssp japonica cv. Nipponbare		LOC_Os10g32600	RGAP (Osa1) Release 7 Annotation
Download Sequence   Show LOC_Os10g32600 in Rice Genome Browser			
Gene Identification			
Gene Product Name: MYB family transcription factor, putative, expressed			
Locus Name: LOC_Os10g32600.1			
Gene Attributes			
Chromosome: Chr10			
CDS Coordinates (5'-3'): 17077979 - 17076098			
Nucleotide length: 504			
Predicted protein length: 168			
Predicted molecular weight: 18684.4102			
Predicted pI: 9.60949993			

## MUS数据库中 *Ehd1* 基因信息

Os10t0463400-01

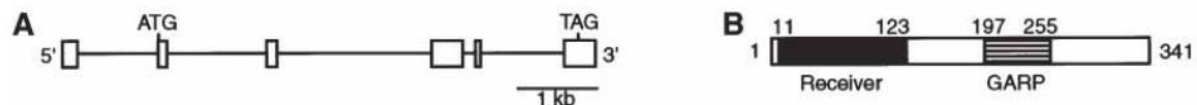
Details DB references Sequences Gene Structure Expression CoExp Network

Transcript 1026 bp

Protein 341 aa

```
>Os10t0463400-01 B-type response regulator, Floral inducer to promote short-day (SD) flowering
MDHRELWPGYGLRVLVIDDDCSYLSVMEDLLKCSYKVTYKNVREAVPFLDNPQIVDLV
ISDAFFPTEDGLLILQEVTSKFGIPTVIMASSGDTNTVMKYVANGAFDPLLKPVRIEELS
NIWQHIFRKQMDHKNMNVGNLEKPGHPPSILAMARATPATRSTATEASLAPLENEVR
DDMVNYNGEITDIRDLGKRLTWTQLHRQFIAAVNHLGEDKAVPKKILGIMKVKHLTRE
QVASHLQKYMQLKKSIFPTTSKHGATLSSTALDKTQDHPRSQYFNQDGCKEIMDYSLPR
DDLSSGSECMLEELNDYSSEGQDFRWDSDKQEYGPFCVNF*
```

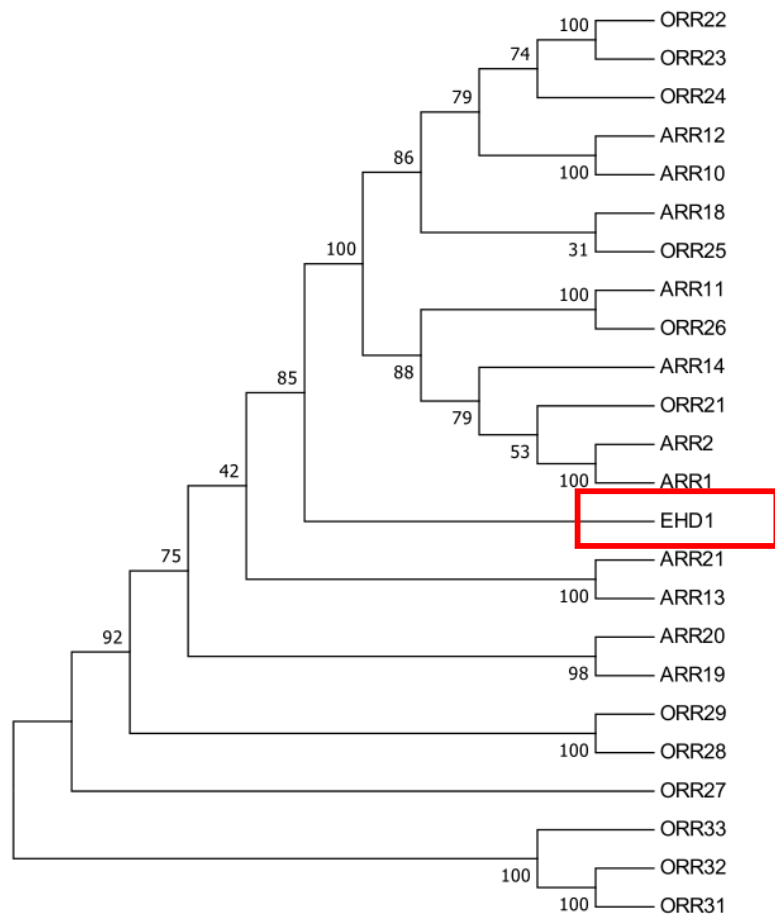
## RAP-DB中 *Ehd1* 基因信息



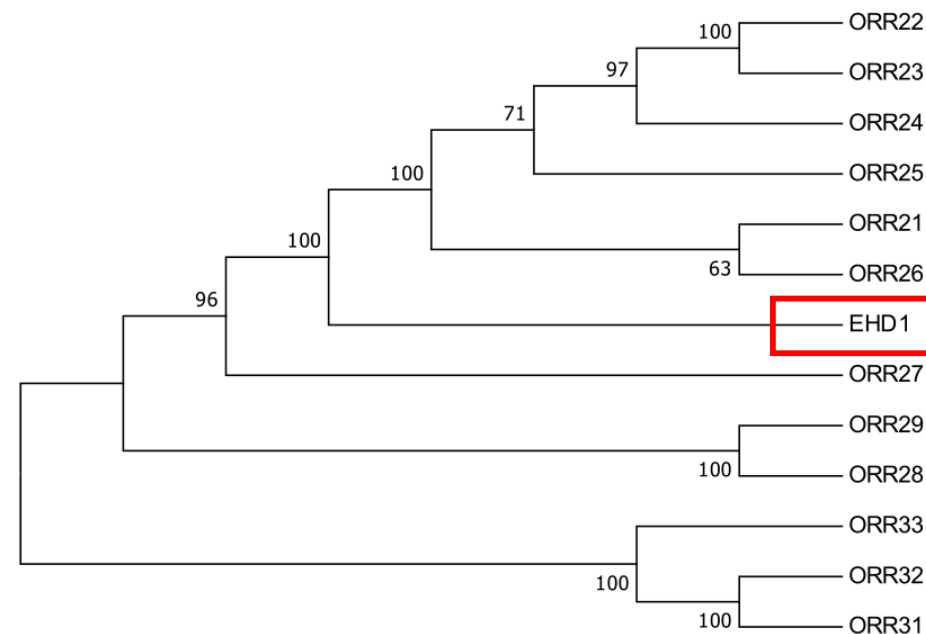
文献中的基因结构 (Kazuyuki Doi, et al. Genes Dev. 2004)

可能是由于抓取到了数据库中错误的基因信息导致了分类的差异

# Ehd1进化关系分析——利用MEGA7



水稻和拟南芥ARR-B家族进化树



水稻中ARR-B家族进化树

# 总结与展望

- ***Ehd1*是转录调节因子，其蛋白含有反应调节域和类Myb DNA结合结构域**
- **Ehd1与拟南芥中ARR-B家族成员亲缘关系较远，与水稻中ORR27亲缘关系较近**
- **寻找与Ehd1启动子区域互作的蛋白**
- **寻找磷酸化Ehd1的激酶**

**谢谢大家!**