



玉米转录因子GRAS11的序列、 结构和相关功能分析

Analysis of the Sequence, Structure and Related
Functions of A Maize Transcription Factor—GRAS11

汇报人: G08A 李森

成员: G08B 李冉

G08C 郝雨水

G08D 李慧洁

背景

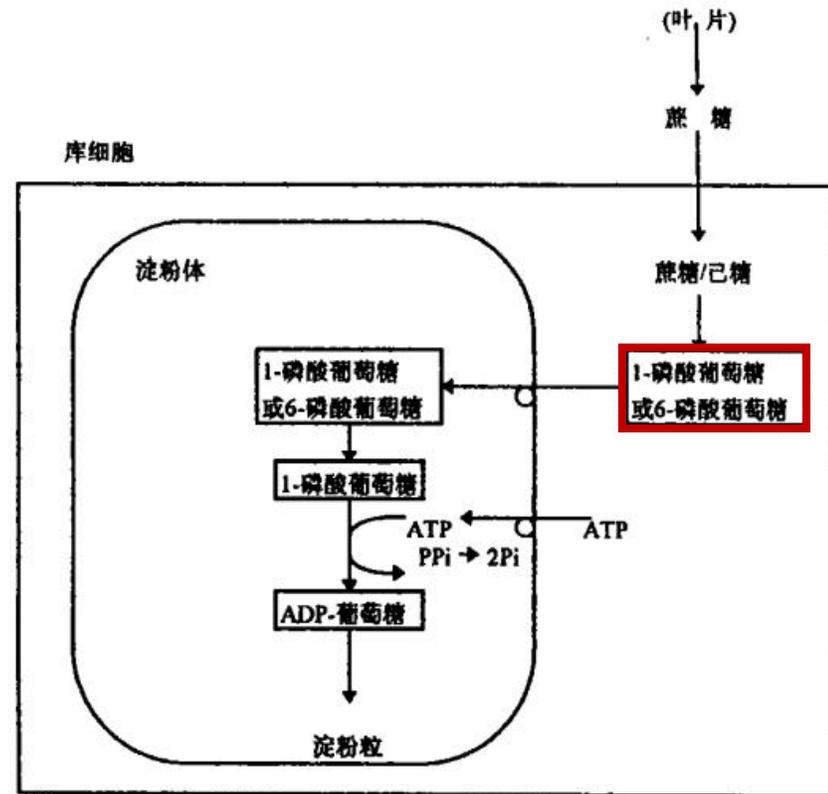
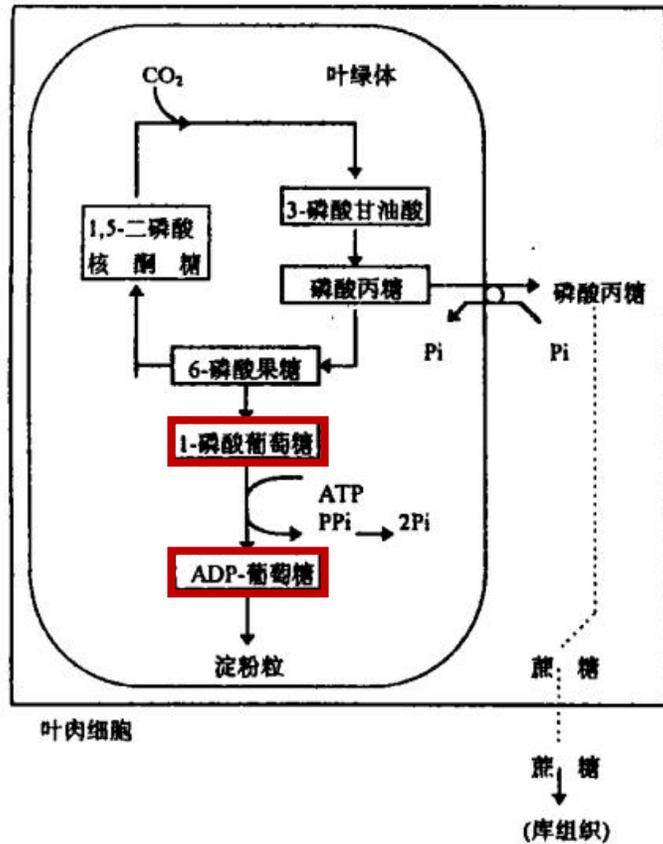
玉米是世界三大主粮作物之一。

在保证产量的基础上，改善玉米籽粒的营养成分成为育种主要目标。

淀粉作为和谷类作物种子的主要储存形式，玉米胚乳中贮藏的淀粉占整个世界淀粉市场的90%以上。

背景

淀粉合成途径



背景

Opaque2(O2)蛋白

Opaque2(O2)蛋白是碱性亮氨酸拉链家族(bZIP)转录因子。1935年首次发现了opaque2(o2)突变基因。

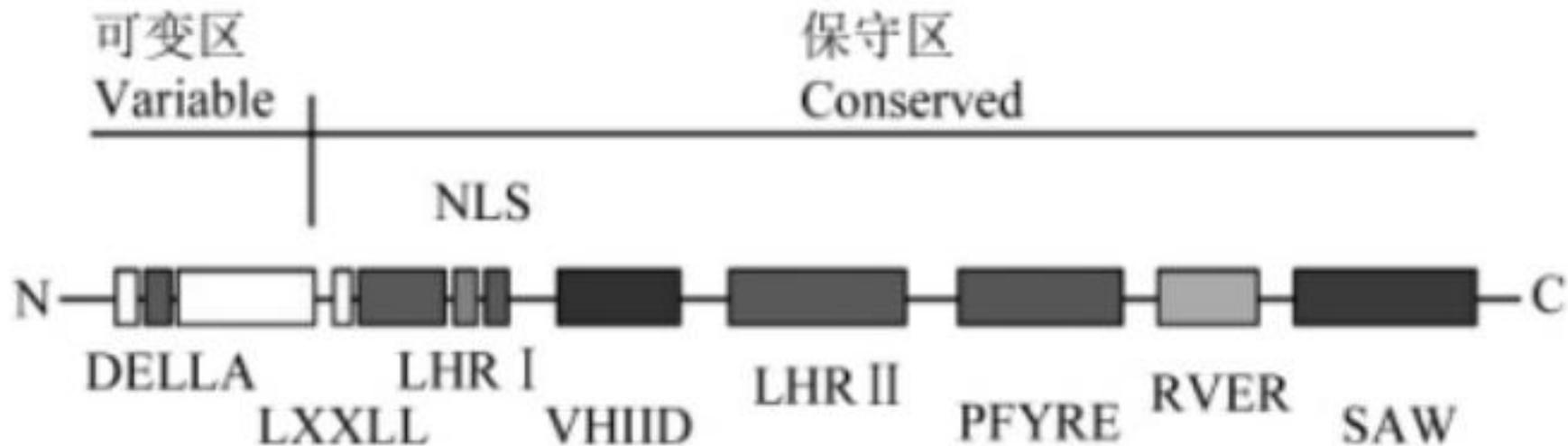
O2基因突变导致作物籽粒淀粉含量和组成比例发生显著变化。O2蛋白直接调控淀粉合成关键酶蔗糖合成酶(SUS)及淀粉合成酶(SSs)，间接调控淀粉分支酶(SBE)参与淀粉合成。

但淀粉合成相关基因众多，转录水平受多个转录因子调控。RNA-Seq数据分析发现转录因子ZmGRAS11的表达量在o2突变体中极显著降低，推测其可能通过直接调控淀粉合成相关基因，与O2蛋白共同参与淀粉积累。

背景

GRAS家族在植物中的研究进展

GRAS 转录因子家族是植物特有的转录调控因子，其命名来源于在拟南芥中最先发现的三个家族成员 GAI、RGA和 SCR。



背景

GRAS蛋白的生物学功能

- 生长发育功能
 - 调控分生组织的发育
 - 调控根茎叶的发育
- 信号转导功能
 - 调控 GA 信号通路
 - 调控远红光信号途径
- 调控根瘤和菌根的形成
- 调控植物的胁迫应答
- 解毒功能
- 参与花药小孢子发生过程中的转录调控

背景

GRAS蛋白分类

根据拟南芥中的33个GRAS转录因子和水稻中的57个GRAS 转录因子的序列特征，可将 GRAS 家族分为8个亚家族，这些亚家族的名称以家族内部的一个成员或一个通用的基序来命名，分别是 SCR、SCL3、LISCL、LS、HAM、PAT1、DELLA 和 SHR，并且在后期又增加了3个亚家族，分别是 SCL4/7、NSP1和 NSP2。

目的

利用数据库和课程介绍网站及软件



确定ZmGRAS11蛋白所属亚家族
推测其功能



结果

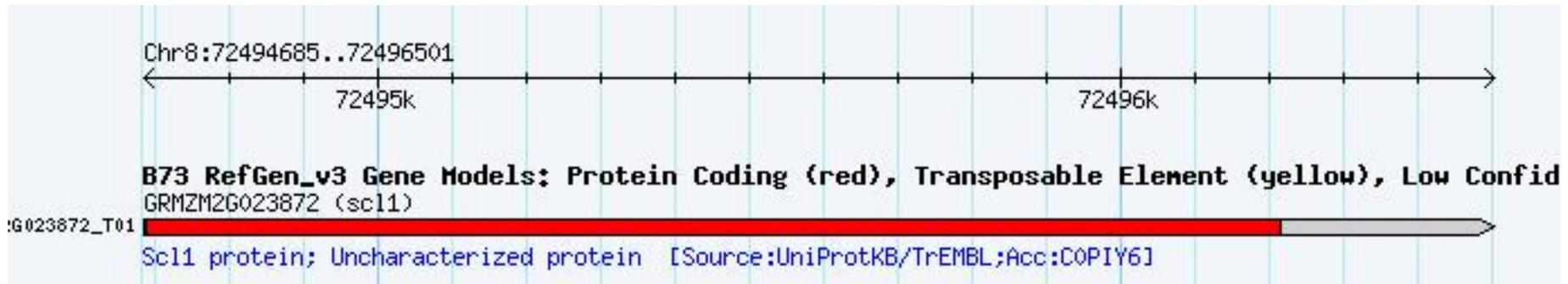


ZmGRAS11基因的序列分析

利用玉米基因组数据库网站[MaizeGDB](#)，查找到ZmGRAS11基因的序列信息。

2008年通过生物信息学，利用BAC(Bacterial Artificial Chromosom)文库和Overgo(Overlapping oligonucleotides)探针杂交方法在B73中定位到。

ZmGRAS11基因位于玉米第8号染色体上，具有一个外显子，仅存在1个转录本。CDS全长1527 bp，编码508个氨基酸。



结果

通过MaizeGDB链接到Uniprot(C0PIY6)可知其蛋白结构C端含有VHIID保守序列和SAW基序，属于GRAS家族。

Family & Domainsⁱ

Region

Feature key	Position(s)	Description	Actions	Graphical view	Length
Region ⁱ	174 – 239	VHIID PROSITE-ProRule annotation	Add BLAST		66
Region ⁱ	398 – 476	SAW PROSITE-ProRule annotation	Add BLAST		79

Motif

Feature key	Position(s)	Description	Actions	Graphical view	Length
Motif ⁱ	205 – 209	VHIID PROSITE-ProRule annotation			5
Motif ⁱ	304 – 308	LXXLL motif PROSITE-ProRule annotation			5

Sequence similaritiesⁱ

Belongs to the [GRAS family](#). [PROSITE-ProRule annotation](#)

Phylogenomic databases

HOGENOM ⁱ	CLU_011924_0_3_1
OrthoDB ⁱ	559310at2759

Family and domain databases

InterPro ⁱ	View protein in InterPro IPR005202, TF_GRAS
PANTHER ⁱ	PTHR31636 , PTHR31636, 1 hit
Pfam ⁱ	View protein in Pfam PF03514, GRAS, 1 hit
PROSITE ⁱ	View protein in PROSITE PS50985, GRAS, 1 hit

结果

对B73、D黄212、CAL58材料中ZmGRAS11 CDS序列进行扩增比对后发现，D黄212与B73相比，CDS序列存在10个碱基突变，氨基酸序列序列有5个氨基酸残基替换。主要motif并未发生改变。

共识 ZmGRAS11 B-73 ZmGRAS11 D -212 ZmGRAS11 CAL58	*****; MDAHTTHIVARKNTSLSFTSNELMDHFPAWLPMDFPTAMALSGT LSPSFSTTSTNDTMYNLNPALYASLVPPIRKPATPTTVEVGRQCKEEEDASIRLVHLLITCTSAIETGDYSIAQG MDAHTTHIVARKNTSLSFTSNELMDHFPAWLPMDFPTAMALSGT LSPSFSTTSTNDTMYNLNPALYASLVPPIRKPATPTTVEVGRQCKEEEDASIRLVHLLITCTSAIETGDYSIAQG 120 MDAHTTHIVARKNTSLSFTSNELMDHFPAWLPMDFPTAMALSGT LSPSFSTTSTNDTMYNLNPALYASLVPPIRKPATPTTVEVGRQCKEEEDASIRLVHLLITCTSAIETGDYSIAQG 120 MDAHTTHIVARKNTSLSFTSNELMDHFPAWLPMDFPTAMALSGT LSPSFSTTSTNDTMYNLNPALYASLVPPIRKPATPTTVEVGRQCKEEEDASIRLVHLLITCTSAIETGDYSIAQG 120
共识 ZmGRAS11 B-73 ZmGRAS11 D -212 ZmGRAS11 CAL58	***** NLSEARKILGEIPTSTGIGRVGKHFIDALVQRLFPAYPHAAPPSPSPSTSIDLHNNFYDAGPYLKFAYSTANQAILKAIKGYN VHIIID SLMQGLQWPALMDVFSAREGGPPKLRITGI NLSEARKILGEIPTSTGIGRVGKHFIDALVQRLFPAYPHAAPPSPSPSTSIDLHNNFYDAGPYLKFAYSTANQAILKAIKGYNHVHIIIDFSLMQGLQWPALMDVFSAREGGPPKLRITGI 240 NLSEARKILGEIPTSTGIGRVGKHFIDALVQRLFPAYPHAAPPSPSPSTSIDLHNNFYDAGPYLKFAYSTANQAILKAIKGYNHVHIIIDLSLMQGLQWPALMDVFSAREGGPPKLRITGI 240 NLSEARKILGEIPTSTGIGRVGKHFIDALVQRLFPAYPHAAPPSPSPSTSIDLHNNFYDAGPYLKFAYSTANQAILKAIKGYNHVHIIIDFSLMQGLQWPALMDVFSAREGGPPKLRITGI 240
共识 ZmGRAS11 B-73 ZmGRAS11 D -212 ZmGRAS11 CAL58	*****; GPNPIGGRDELHEVGIRLAKYAHSVGIDFTFQGVCDQLDRLCDWMLLKPIKGEAVAINSIL LHRLLD VDPDANPVVPAPIDILLKLVIKINPMIIFTVVEHEADHNRPLLERFTNALFH GPNPIGGRDELHEVGIRLAKYAHSVGIDFTFQGVCDQLDRLCDWMLLKPIKGEAVAINSILQLHRLLDVDPDANPVVPAPIDILLKLVIKINPMIIFTVVEHEADHNRPLLERFTNALFH 360 GPNPIGGRDELHEVGIRLAKYAHSVGIDFTFQGVCDQLDRLCDWMLLKPIKGEAVAINSILQLHRLLDVDPDANPVVPAPIDALLKLVIKINPMIIFTVVEHEADHNRPLLERFTNALFH 360 GPNPIGGRDELHEVGIRLAKYAHSVGIDFTFQGVCDQLDRLCDWMLLKPIRGEAVAINSILQLHRLLDVDPDANPVVPAPIDILLKLVIKINPMIIFTVVEHEADHNRPLLERFTNALFH 360
共识 ZmGRAS11 B-73 ZmGRAS11 D -212 ZmGRAS11 CAL58	*****; YAAMFDSLEAMHRCTSGRDITDSLTEVYLRGEIFDIVCGEGSARTERHELFGHWRERLTYAGLTQVWFDPEVDTLKDQLIHVTSLSGSGFNILVCDGSLALAWHNRPLYVATAWCVTGG YATMFDLSLEAMHRCTSGRDITDSLTEVYLRGEIFDIVCGEGSARTERHELFGHWRERLTYAGLTQVWFDPEVDTLKDQLIHVTSLSGSGFNILVCDGSLALAWHNRPLYVATAWCVTGG 480 YAAMFDSLEAMHRCTSGRDITDSLTEVYLRGEIFDIVCGEGSARTERHELFGHWRERLTYAGLTQVWFDPEVDTLKDQLIHVTSLSGSGFNILVCDGSLALAWHNRPLYVATAWCVTGG 480 YAAMFDSLEAMHRCTSGRDITDSLTEVYLRGEIFDIVCGEGSARTERHELFGHWRERLTYAGLTQVWFDPEVDTLKDQLIHVTSLSGSGFNILVCDGSLALAWHNRPLYVATAWCVTGG 480
共识 ZmGRAS11 B-73 ZmGRAS11 D -212 ZmGRAS11 CAL58	***** NAASSMVG NICKGTNDSRRKENRNGPME NAASSMVG NICKGTNDSRRKENRNGPME 508 NAASSMVG NICKGTNDSRRKENRNGPME 508 NAASSMVG NICKGTNDSRRKENRNGPME 508

结果

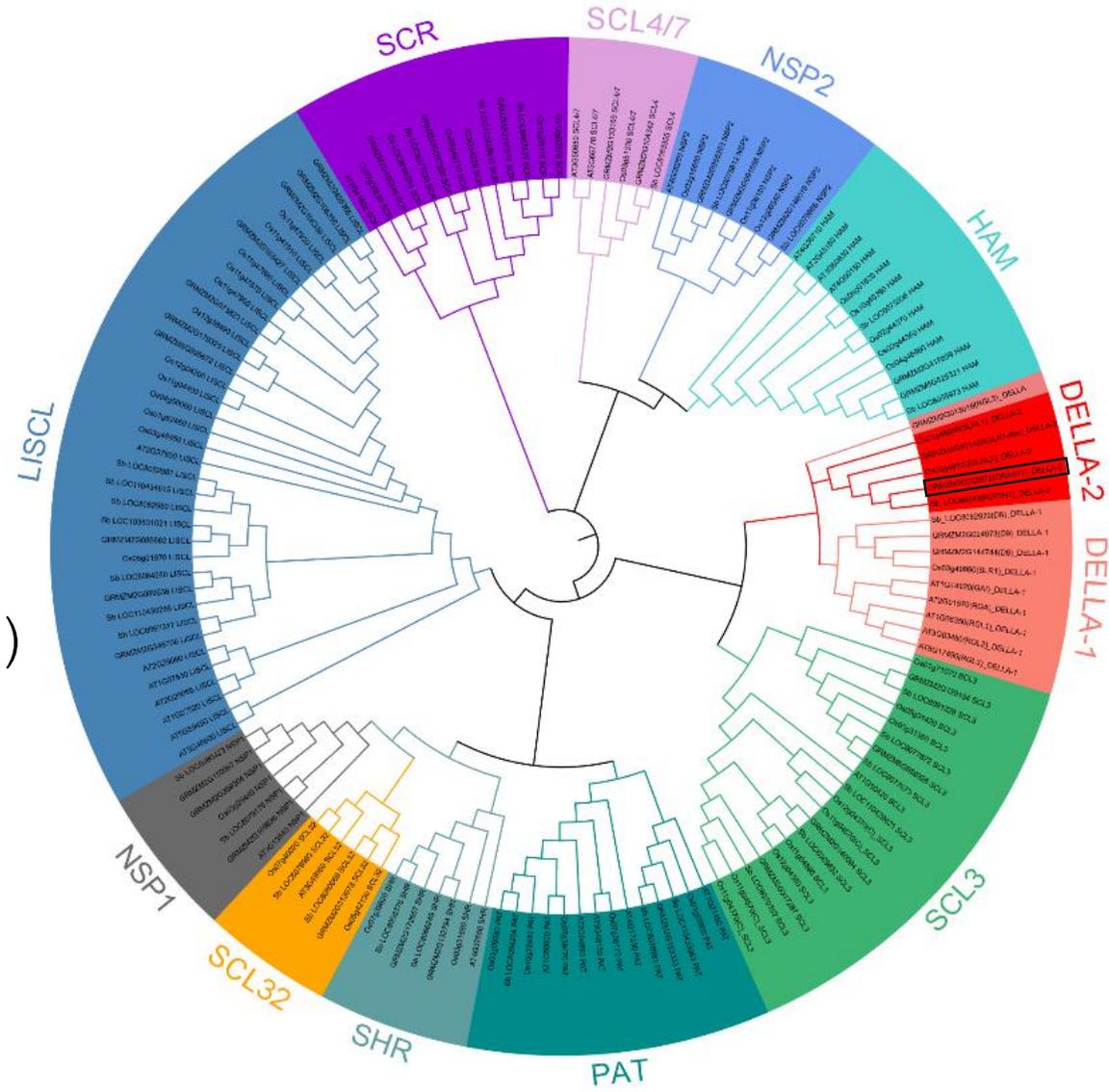
序列进化树分析

对玉米、拟南芥、水稻、高粱中的GRAS家族蛋白进行系统发育树的构建。



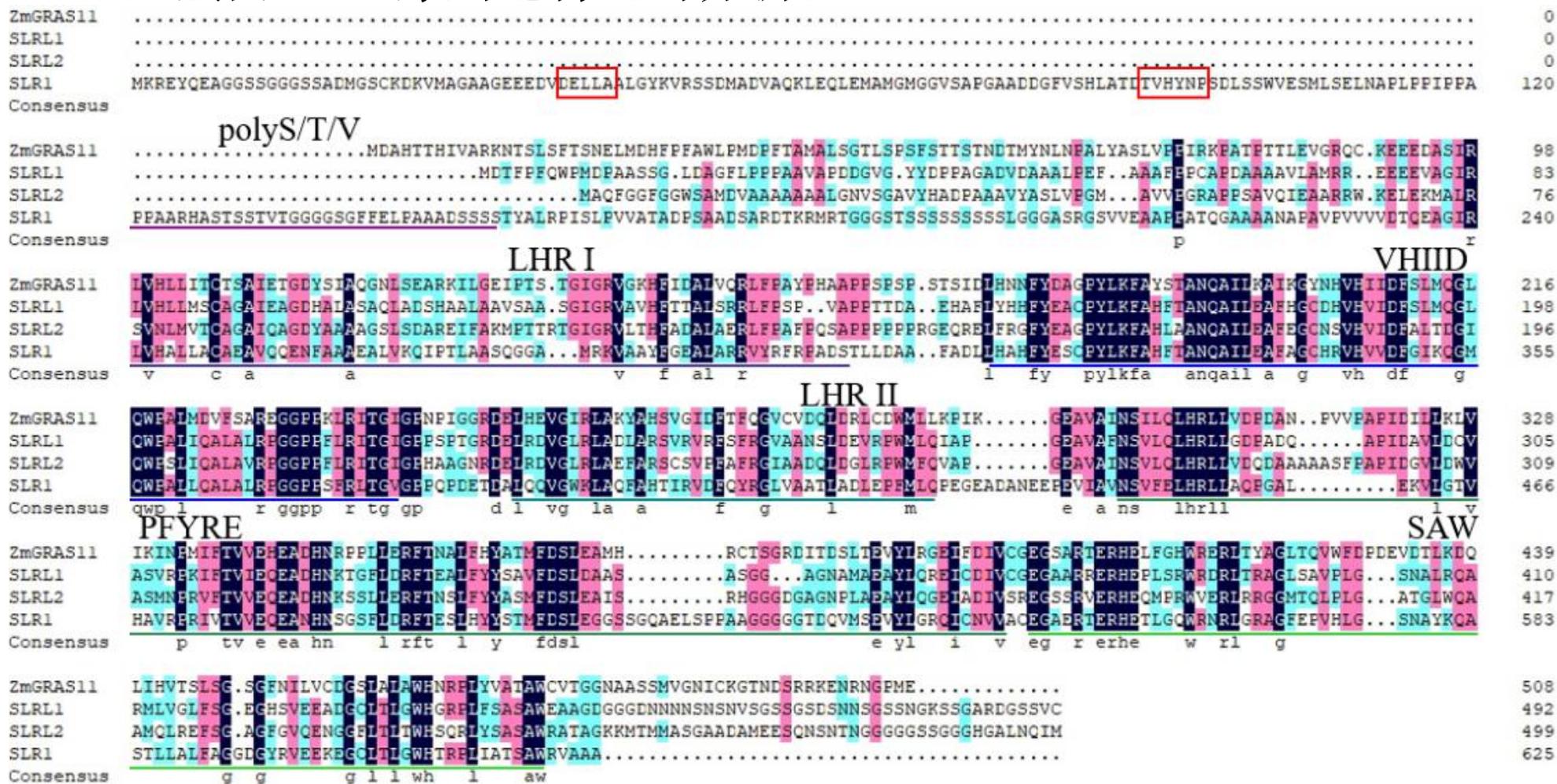
ZmGRAS11蛋白与DELLA亚家族的RHT-1 (SbLOC8084398)、SLRL2 (Os05g49930) 和SLRL1 (Os01g45860) 同源性最高。

SLRL1蛋白在发育的花中表达活性高，SLRL2则主要在叶片、叶鞘等营养器官中表达，具有特异性表达。



ZmGRAS11属于DELLA-2型蛋白

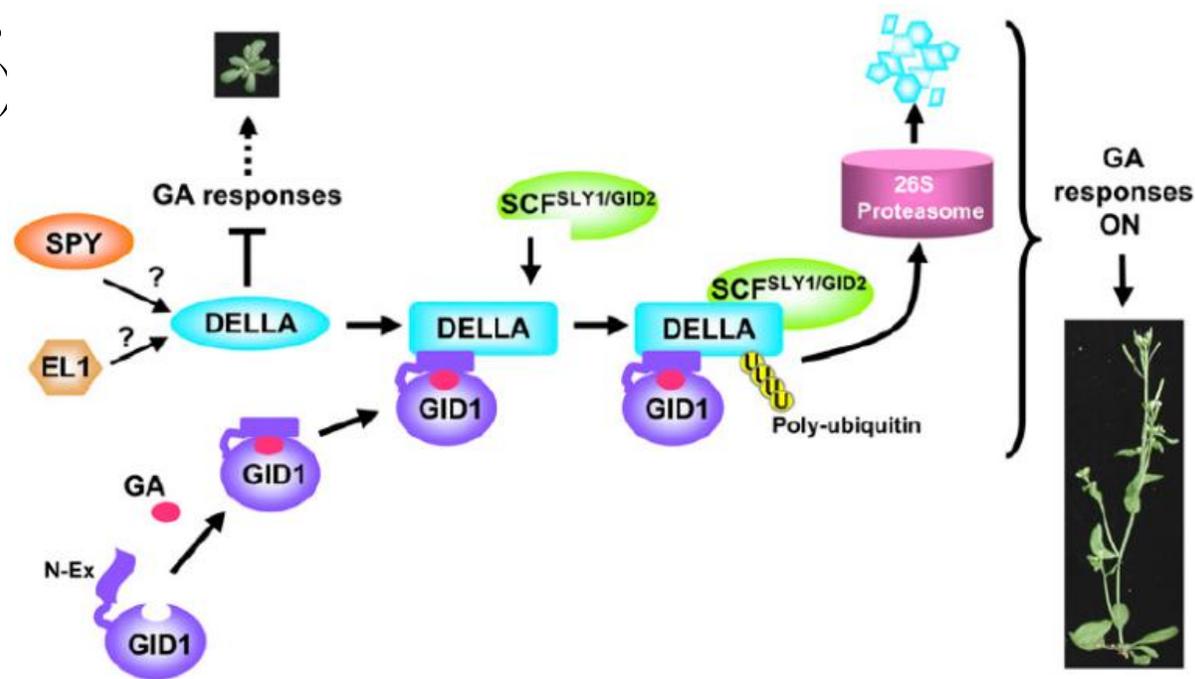
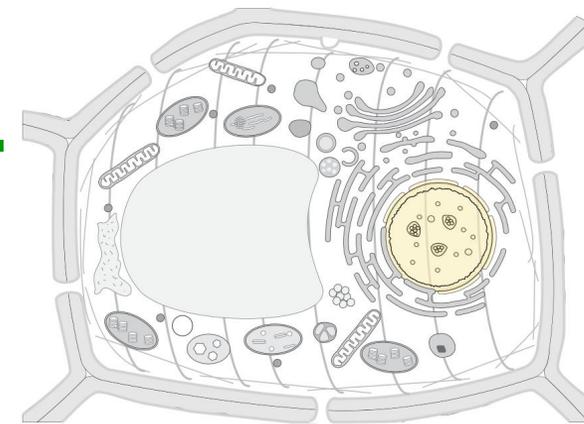
将ZmGRAS11与其亲缘关系相近的DELLA-2型蛋白SLRL1、SLRL2，以及DELLA-1型蛋白SLR1序列进行比对分析。



结果

DELLA蛋白定位于细胞核，其名称来源于N端序列中保守的DELLA结构域的存在，是赤霉素反应的抑制因子。

DELLA还可以参与光与其他激素信号途径。DELLA通过减少PIF3（光敏色素互作因子）蛋白丰度，协调光信号和GA信号，参与幼苗发育过程中的细胞伸长。在激素反应中，DELLA蛋白介导水杨酸途径参与植物防御和生长。



Sun et al., 2010. Li et al., 2016. Navarro et al., 2008.

结论



ZmGRAS11是DELLA家族转录因子；
推测ZmGRAS11在玉米中存在组织、时空的特异表达，可能通过影响淀粉合成基因的转录，减少籽粒发育过程中淀粉含量的积累，从而对种子萌发及幼苗发育造成影响。

讨论

编码质特性

利用Expasy(http://web.expasy.org/compute_pi/)对ZmGRAS11蛋白质序列预测, 可知分子质量为56088.05Da, 理论等电点为5.91, 呈现弱酸性。

Number of amino acids: 508

Molecular weight: 56088.05

Theoretical pI: 5.91

Amino acid composition:

[CSV format](#)

Ala (A)	41	8.1%
Arg (R)	26	5.1%
Asn (N)	23	4.5%
Asp (D)	30	5.9%
Cys (C)	9	1.8%
Gln (Q)	11	2.2%
Glu (E)	25	4.9%
Gly (G)	35	6.9%
His (H)	20	3.9%
Ile (I)	34	6.7%
Leu (L)	52	10.2%
Lys (K)	17	3.3%
Met (M)	13	2.6%
Phe (F)	21	4.1%
Pro (P)	33	6.5%
Ser (S)	34	6.7%
Thr (T)	36	7.1%
Trp (W)	7	1.4%
Tyr (Y)	13	2.6%
Val (V)	28	5.5%
Pyl (O)	0	0.0%
Sec (U)	0	0.0%

(B) 0 0.0%

(Z) 0 0.0%

(X) 0 0.0%

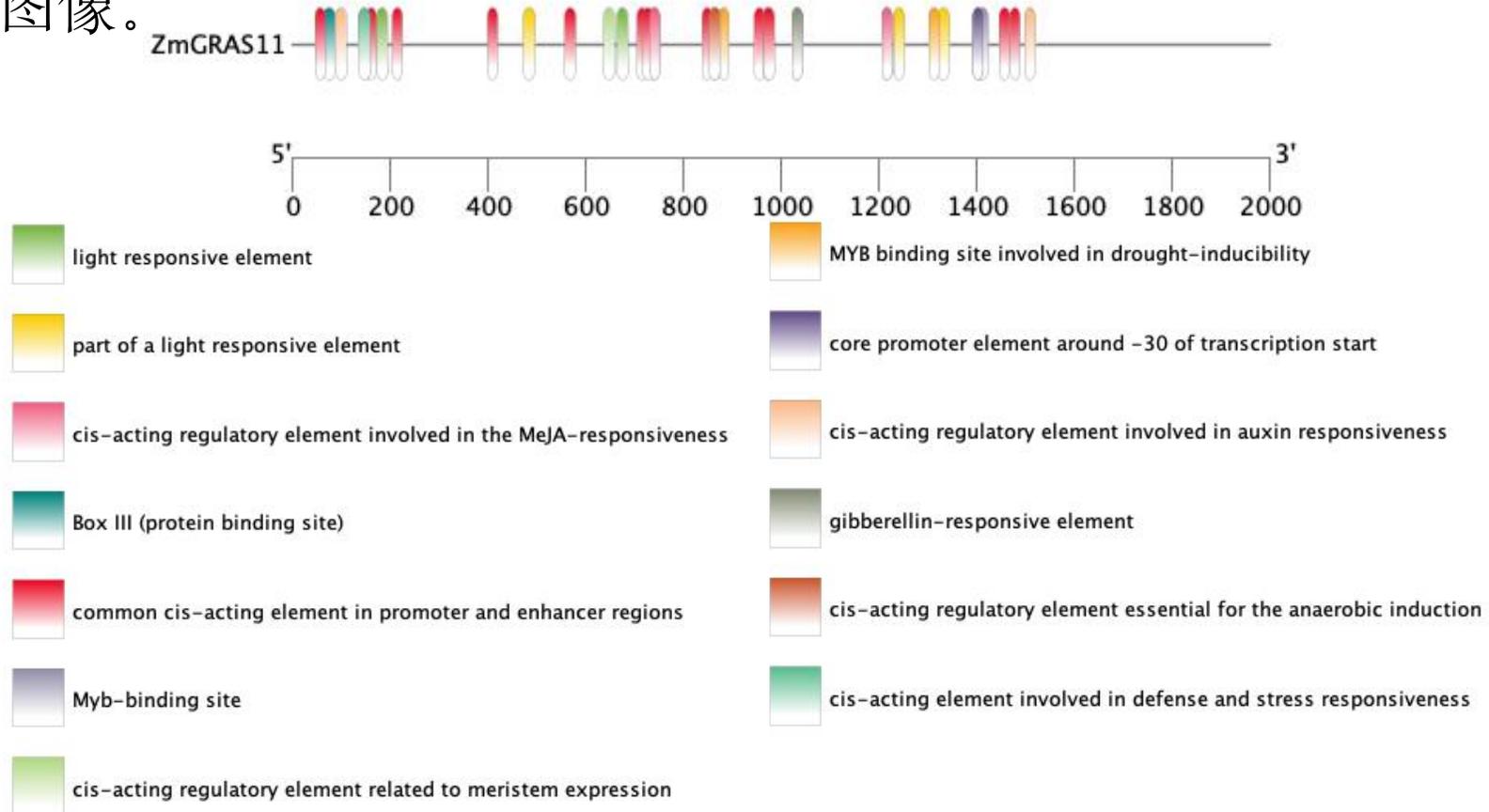
Total number of negatively charged residues (Asp + Glu): 55

Total number of positively charged residues (Arg + Lys): 43

讨论

顺式作用元件分析

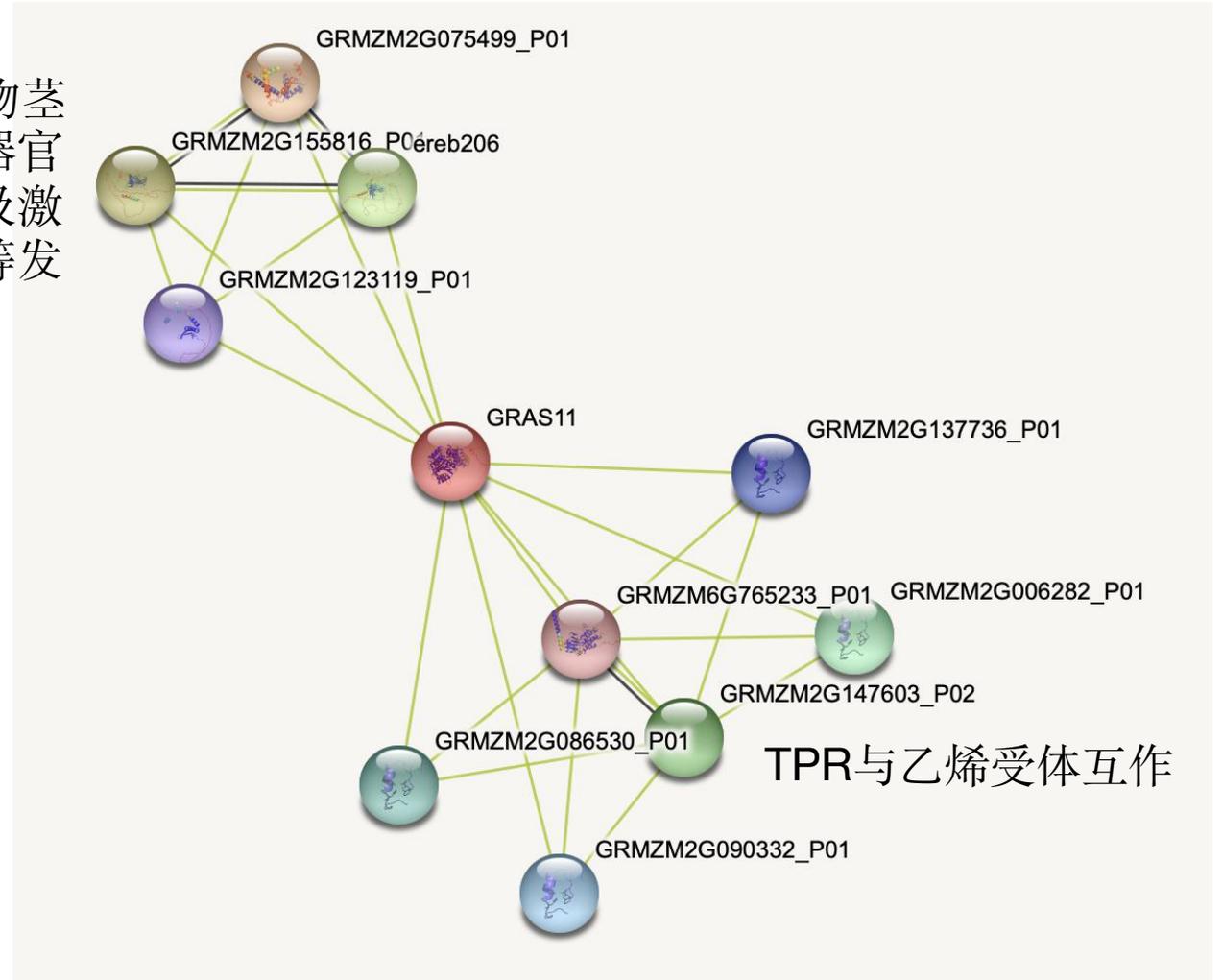
提取ZmGRAS11上游2000bp序列，在 PlantCare 上进行顺势作用元件预测，利用TBtools绘制图像。



讨论

互作网络

NAC蛋白参与植物茎尖分生组织、花器官和侧枝的形成以及激素的控制和防御等发育过程。



进步研究

通过亚细胞定位验证ZmGRAS11的定位
进行时空表达验证特异性
利用酵母双杂研究蛋白互作

谢谢!

欢迎大家批评指正!