



蜂王浆主蛋白MRJP1的序列、 结构与相关功能分析

Sequence, structure and function analysis of the major
royal jelly protein 1 (MRJP1)

汇报人: 2G04A 沈文权

组 员: 2G04B 孙思源

2G04C 刘 婧

2G04D 孙丽侠

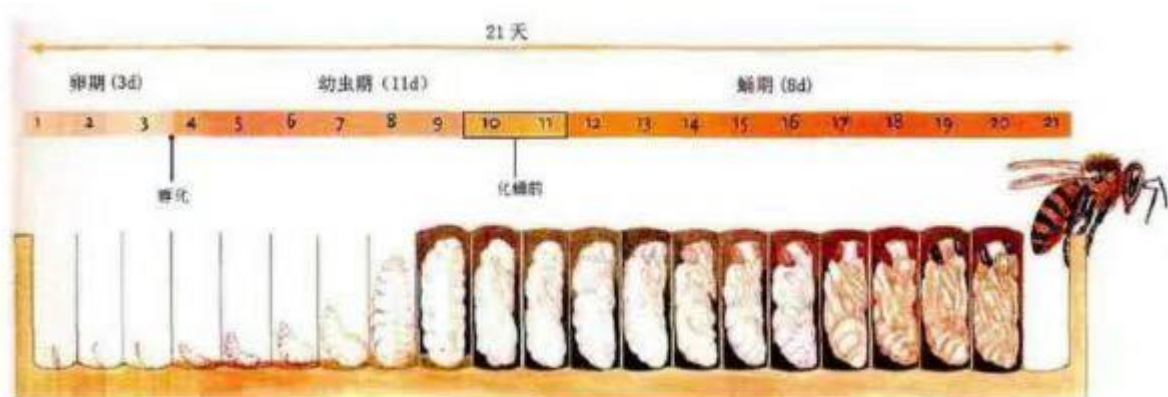
蜂王浆

蜂王浆又名蜂皇浆或者蜂乳。呈乳白色或淡黄色的浆状物质。是蜂巢中培育幼虫的青年工蜂的咽下腺和上颚腺分泌物。蜂王浆干物质中约50%为蛋白质,其中MRJP1含量最丰富,约占蜂王浆水溶性蛋白的48%。。

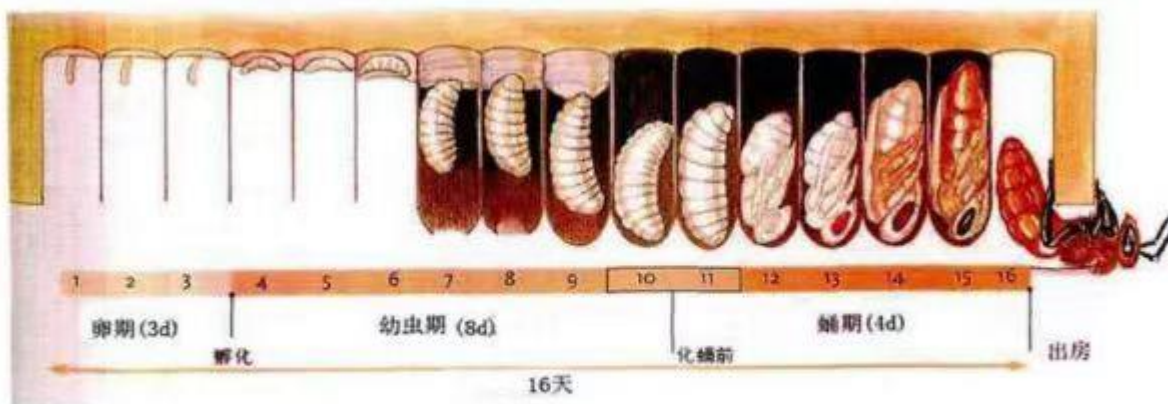
蛋白质组学研究结果显示蜂王浆中约有150多种不同的蛋白,其中约三分之一被鉴定为MRJPs。MRJPs是从一个古老的蛋白家族(Yellow)进化而来,二者同源性很高,经常被归为MRJP/Yellow家族,该家族中的成员发挥着不同的生理功能,并表现出高度的保守性。



蜂王浆



西方蜜蜂工蜂胚后发育各阶段状态图



西方蜜蜂蜂王胚后发育各阶段状态图



蜜蜂是典型的社会性昆虫，蜂群通常由2种性别，3种类型的个体组成，即雄蜂、工蜂和蜂王，被称为“三型蜂”。蜂王在蜂群中的主要职能是产卵，在繁殖季节它不停地在巢内产卵，最盛时一天可以产下1500-2000粒卵，这些卵的总重量约与蜂王自身的体重相等。“产卵机器”全由蜂王浆来驱动和支持。

MRJP1

蜂王浆主蛋白 (MRJP) 在UniProtKB中的查询结果

物种: 蜜蜂 (Honeybee)

拉丁学名: *Apis mellifera Ligustica Spinola*

研究蛋白: MRJP1

Filter byⁱ

 Reviewed (5)
Swiss-Prot

Popular organisms

APIME (5)

Search terms

Filter "mrjp" as:






gene name

Filter "honeybee" as:

organism

BLAST Align Download Add to basket Columns >

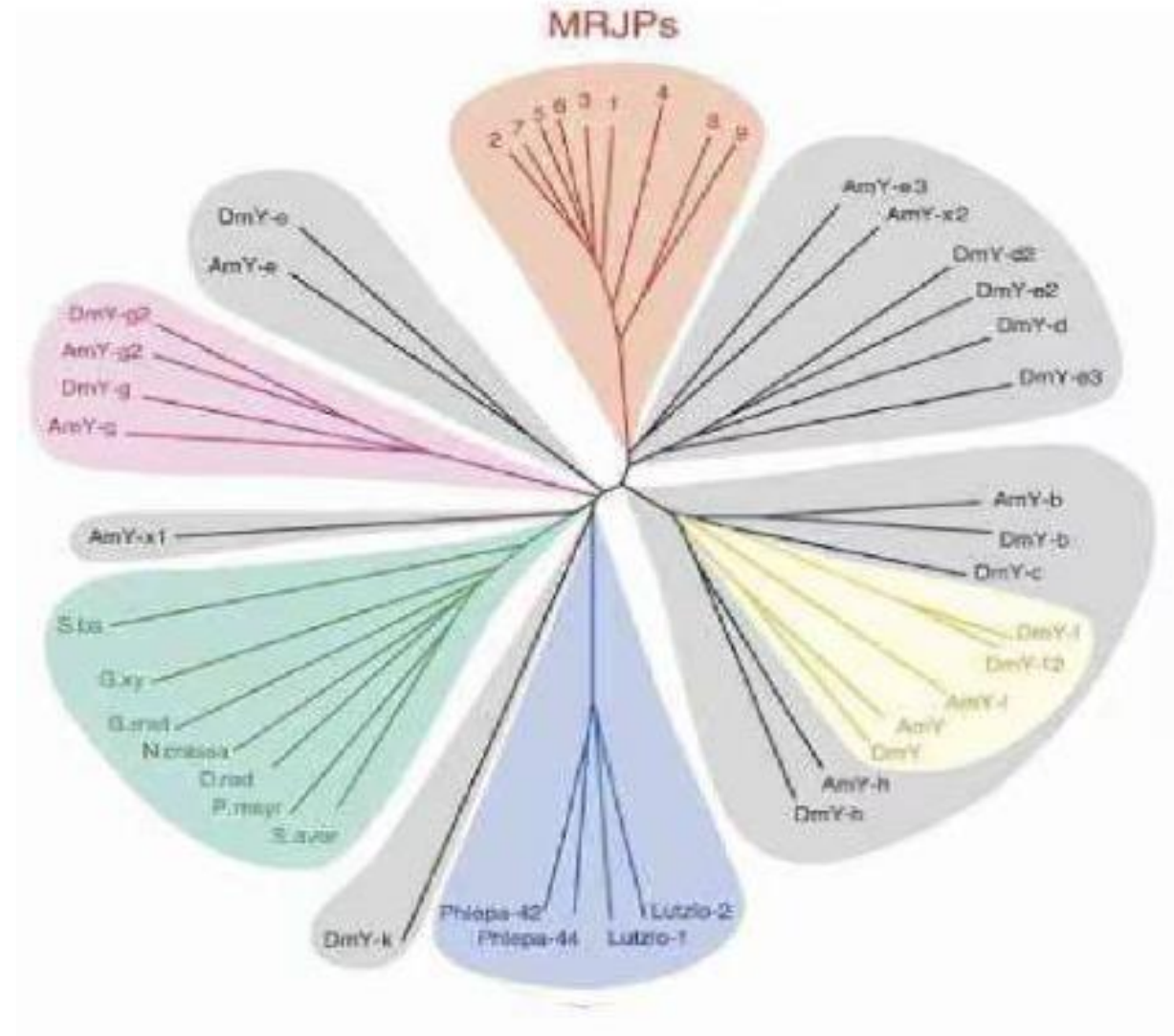
1 to 5 of 5 Show 25

<input type="checkbox"/>	Entry	Entry name		Protein names	Gene names	Organism	Length	
<input type="checkbox"/>	O18330	MRJP1_APIME		Major royal jelly protein 1	MRJP1	<i>Apis mellifera</i> (Honeybee)	432	
<input type="checkbox"/>	Q17060	MRJP3_APIME		Major royal jelly protein 3	MRJP3	<i>Apis mellifera</i> (Honeybee)	544	
<input type="checkbox"/>	O77061	MRJP2_APIME		Major royal jelly protein 2	MRJP2	<i>Apis mellifera</i> (Honeybee)	452	
<input type="checkbox"/>	Q17061	MRJP4_APIME		Major royal jelly protein 4	MRJP4	<i>Apis mellifera</i> (Honeybee)	464	
<input type="checkbox"/>	O97432	MRJP5_APIME		Major royal jelly protein 5	MRJP5	<i>Apis mellifera</i> (Honeybee)	598	

MRJPS

<i>mrjp1</i>	113	82	644	311	570						
<i>mrjp2</i>	569	88	553	158	708						
<i>mrjp3</i>	152	89	580	175	590						
<i>mrjp4</i>	104	80	683	384	584						
<i>mrjp5</i>	151	82	578	399	529						
<i>mrjp6</i>	99	121	617	402	327						
<i>mrjp7</i>	136	82	547	291	713						
<i>mrjp8</i>	99	89	1160	182	251						
<i>mrjp9</i>	1	869	2	340	3	332	4	99	5	538	6
<i>yellow-e3</i>	1	629	2	1357	3+4	564	5	540	6		
<i>yellow-e</i>		206		85		1397		734			
<i>yellow-h</i>	1029		172		260						
<i>yellow-b</i>	300		112		71		412				
<i>yellow</i>	2712		523		558		90		194		
<i>yellow-f</i>	231		106		86		428				
<i>yellow-x1</i>											
<i>yellow-x2</i>		278			135						
<i>yellow-g</i>			513		2034						
<i>yellow-g2</i>		1121		361							

yellow基因与蜜蜂中MRJPs的编码比对



Yellow/MRJP蛋白家族系统进化树

MRJP1序列分析

```
Aligned_sequences: 2
1: MRJP1_APIME
2: MRJP2_APIME
Matrix: EBLOSUM62
Gap_penalty: 10.0
Extend_penalty: 0.5
```

```
Length: 466
Identity: 287/466 (61.6%)
Similarity: 347/466 (74.5%)
Gaps: 48/466 (10.3%)
Score: 1489.5
```

蛋白质序列比对相似度74.5%

```
#
# Aligned_sequences: 2
# 1: NM_001011579.1_cds_NP_001011579.1_1
# 2: AF000632.1_cds_AAC61894.1_1
# Matrix: EDNAFULL
# Gap_penalty: 10.0
# Extend_penalty: 0.5
#
# Length: 1406
# Identity: 1020/1406 (72.5%)
# Similarity: 1020/1406 (72.5%)
# Gaps: 154/1406 (11.0%)
# Score: 3844.0
#
#
```

基因编码序列比对相似度72.5%

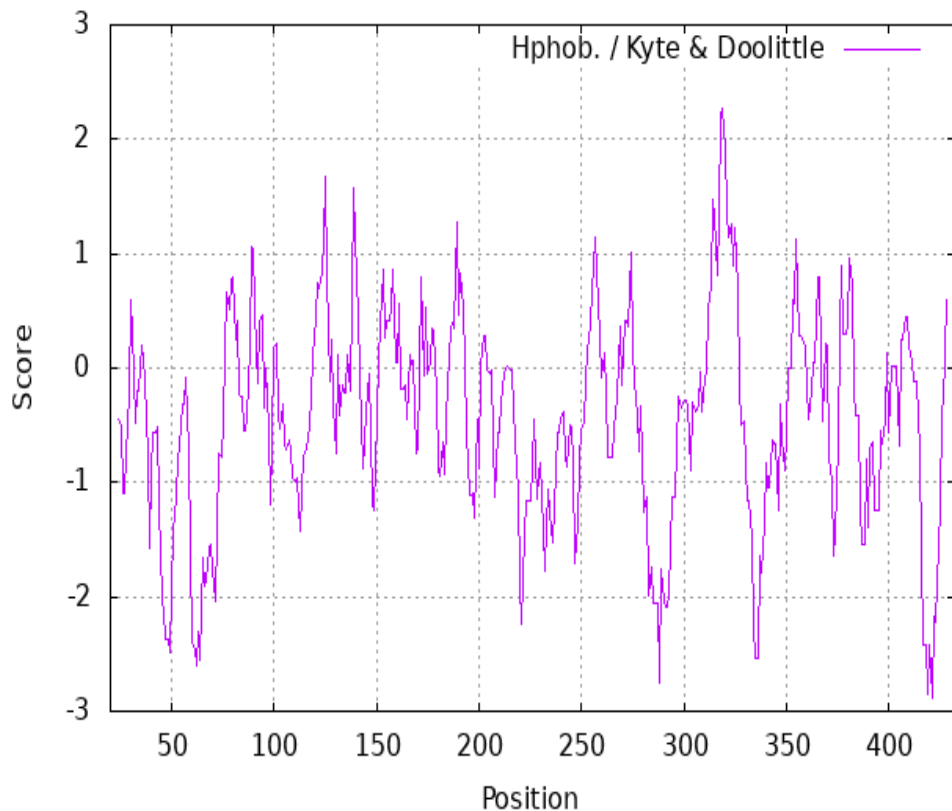
```
Number of amino acids: 19
Molecular weight: 2043.55
Theoretical pI: 7.83
```

```
Number of amino acids: 413
Molecular weight: 46860.56
Theoretical pI: 5.03
```

等电点、分子量分析

MRJP1结构分析

ProtScale output for MRJP1_APIME



疏水性测定

Sequence length : 432

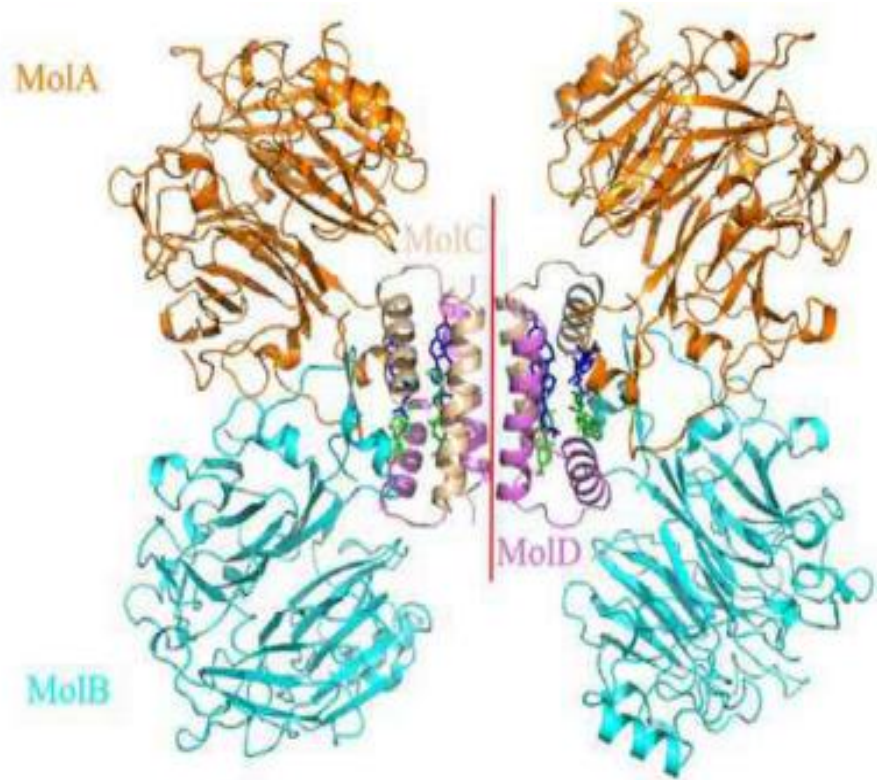
SOPMA :

Alpha helix	(Hh)	:	64 is	14.81%
3 ₁₀ helix	(Gg)	:	0 is	0.00%
Pi helix	(Ii)	:	0 is	0.00%
Beta bridge	(Bb)	:	0 is	0.00%
Extended strand	(Ee)	:	135 is	31.25%
Beta turn	(Tt)	:	24 is	5.56%
Bend region	(Ss)	:	0 is	0.00%
Random coil	(Cc)	:	209 is	48.38%
Ambiguous states (?)		:	0 is	0.00%
Other states		:	0 is	0.00%

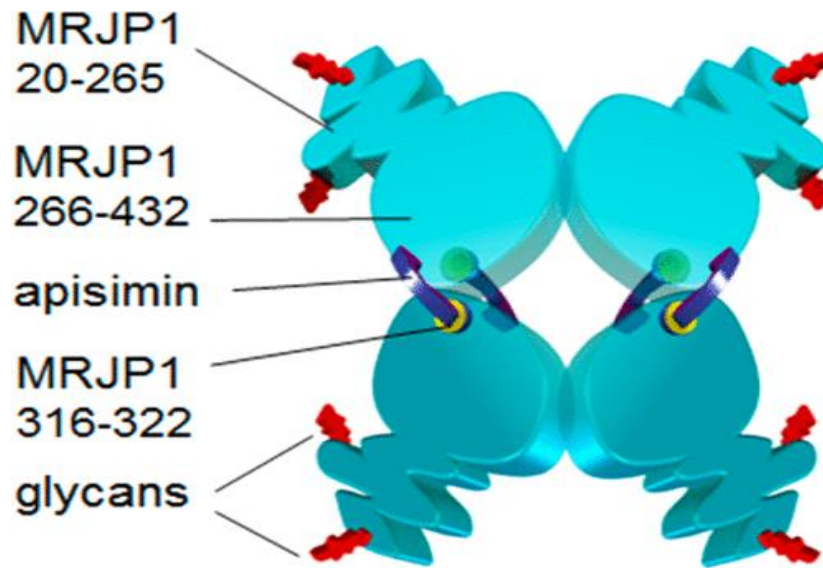
分析工具: SOPMA

二级结构: 主要是以氢键维持的结构

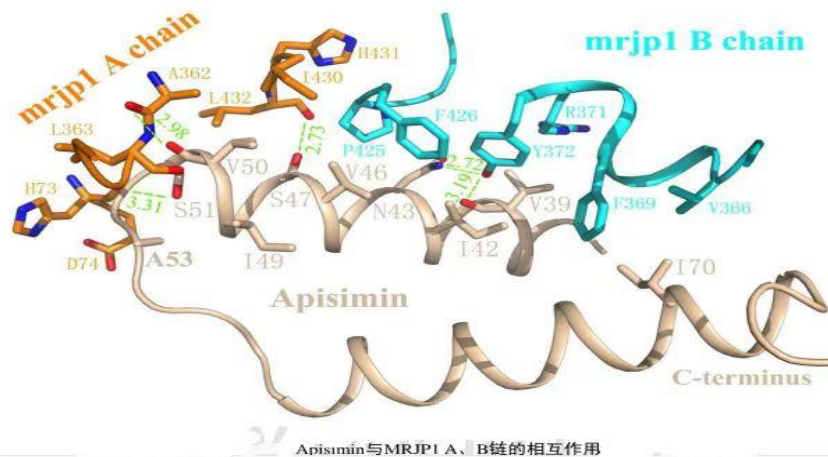
MRJP1结构分析



(田文礼, 2013)



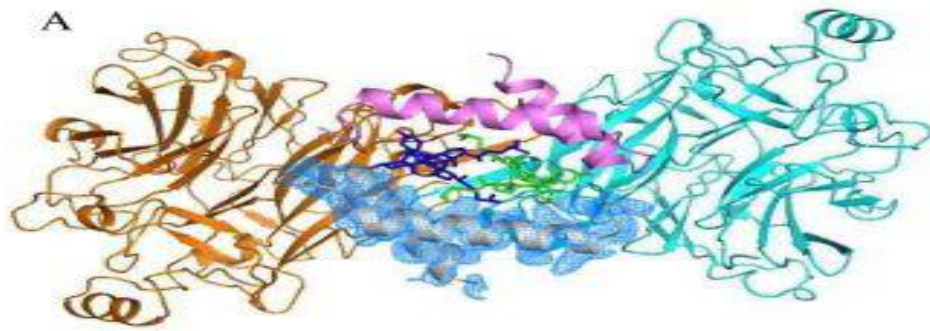
(Samuel C. Mandacaru等, 2017)



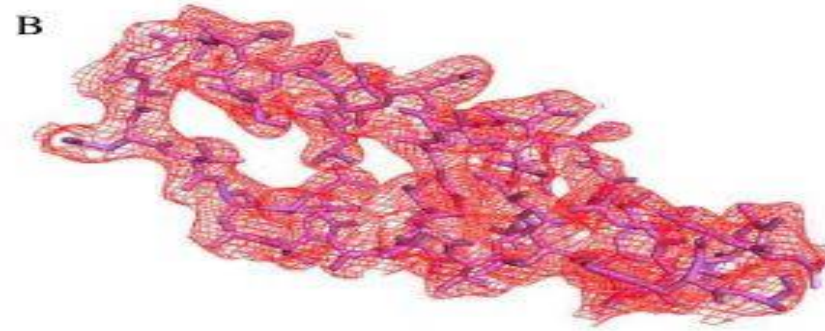
Apisinin与MRJP1 A、B链的相互作用

橘黄色A链与亮蓝色B链是MRJP1分子，浅黄色C链与紫色D链是小肽apisimin，蓝色与绿色棍棒状物质分别显示两种排列不同的胆固醇分子。

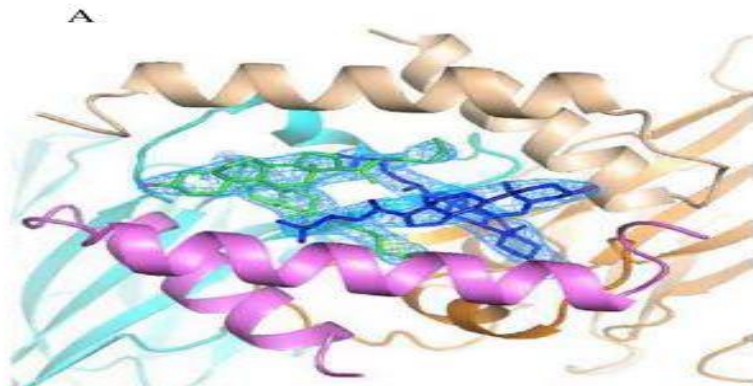
MRJP1结构分析



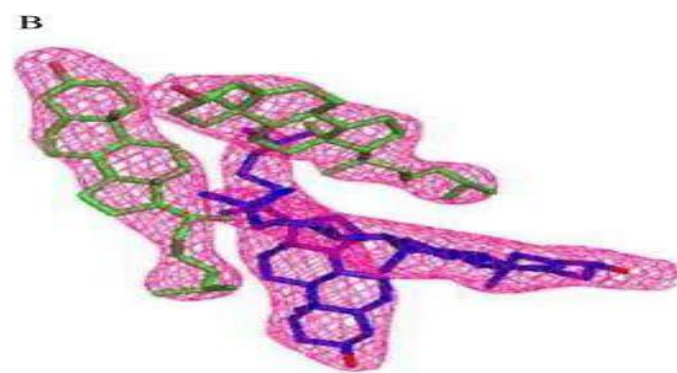
A. Apisimin 小肽电子密度图 $2F_o - F_c$ (1.0σ)



apisimin小肽



A. 胆固醇电子密度图 $2F_o - F_c$ (1.0σ)

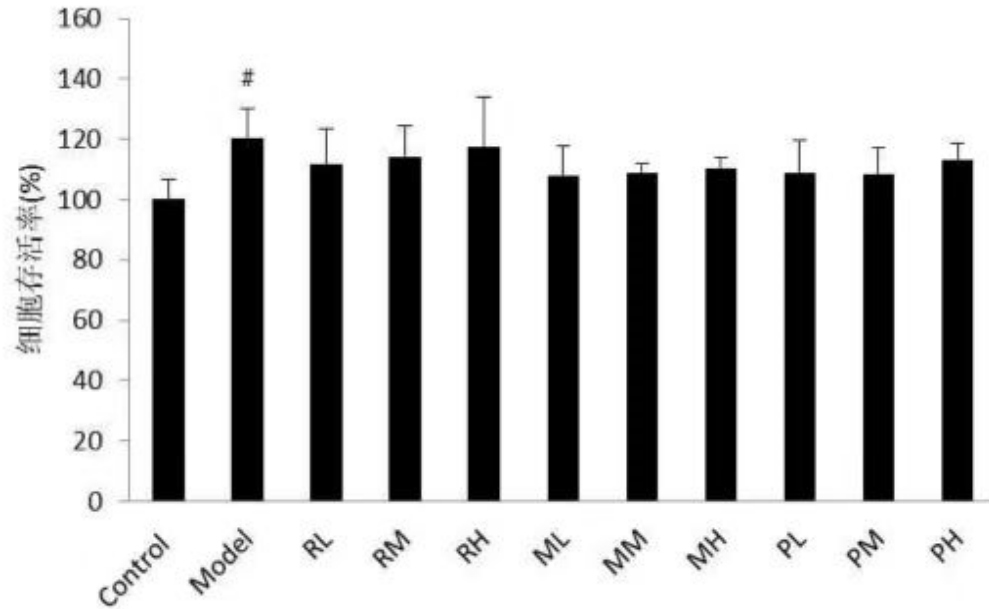


胆固醇

(田文礼, 2013)

MRJP1功能分析

蜂王浆和MRJP1对ox-LDL诱导的VSMC细胞损伤模型的干预

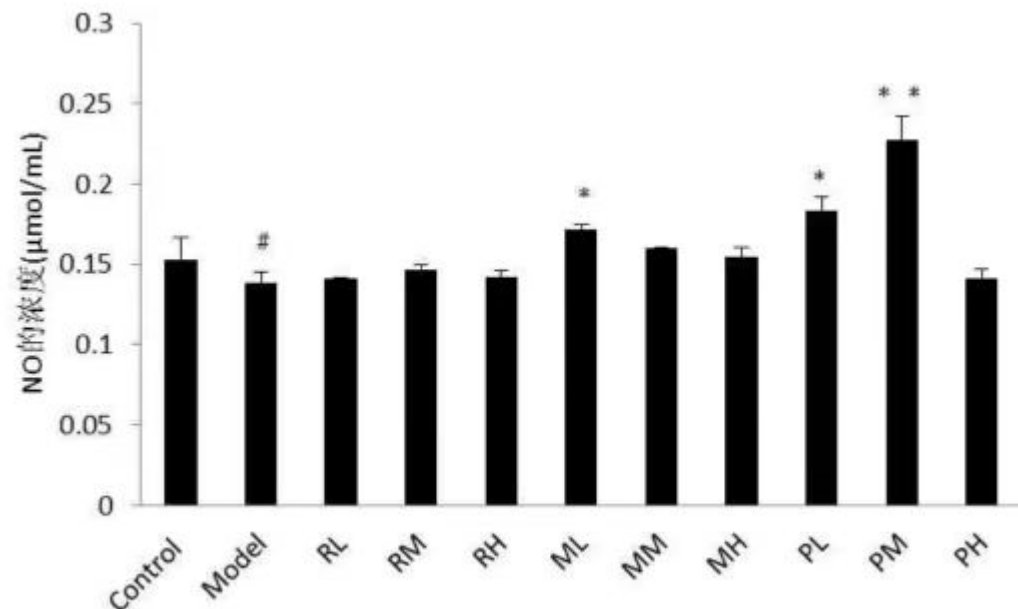


蜂王浆和MRJP1对ox-LDL诱导的VSMC细胞增殖的影响

通过MTT法测定吸光值(OD值)反应细胞增殖活性, 蜂王浆和MRJP1对ox-LDL诱导的血管平滑肌细胞(VSMC)增殖的影响如图所示。结果表明VSMC细胞显著增殖, 与模型组相比, 培养24 h, 蜂王浆、MRJP1单体和MRJP1聚体对VSMC增殖均无显著抑制作用。

MRJP1功能分析

蜂王浆和MRJP1对VSMC释放NO能力影响

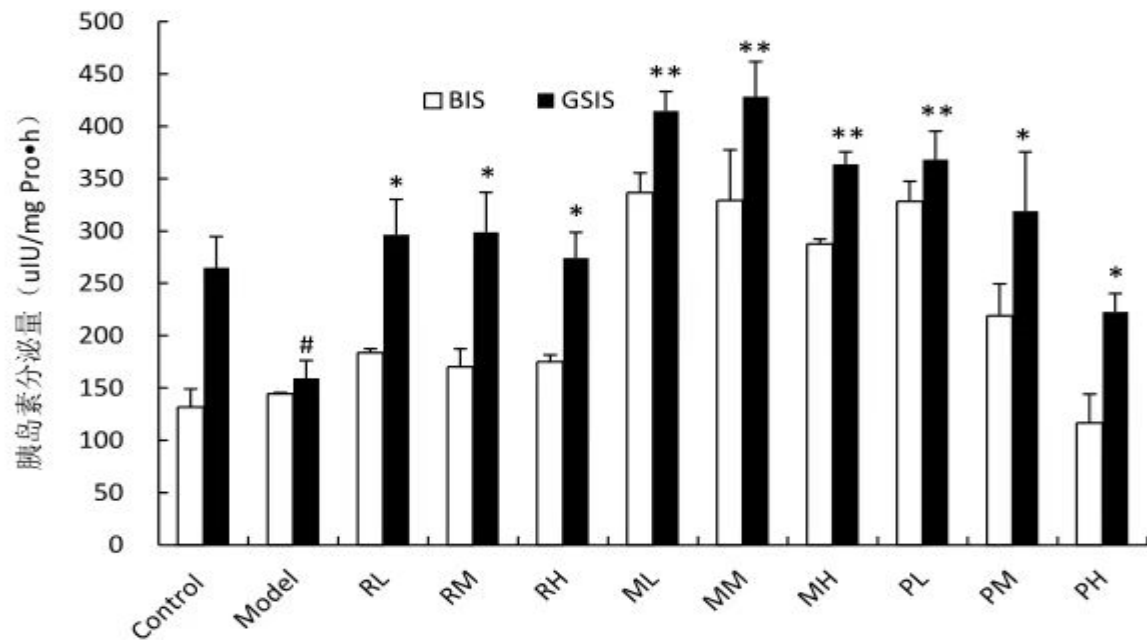


蜂王浆和 MRJP1 对 ox-LDL 诱导的 VSMC 生成 NO 的影响

与模型组相比，油菜蜂王浆不能显著增强VSMC释放NO的能力，10 μg/mL MRJP1单体和10 μg/mL MRJP1聚体均能显著增强VSMC释放NO的能力，特别是20ug/mL MRJP1聚体能极显著提高VSMC释放NO的能力，其NO生成量提高了64%。因此，实验结果表明，油菜蜂王浆不具有增强VSMC释放NO的能力，而MRJP1聚体促进VSMC释放NO作用强于MRJP1单体。

MRJP1功能分析

蜂王浆和MRJP1对糖脂损伤诱导的胰岛素分泌量的影响

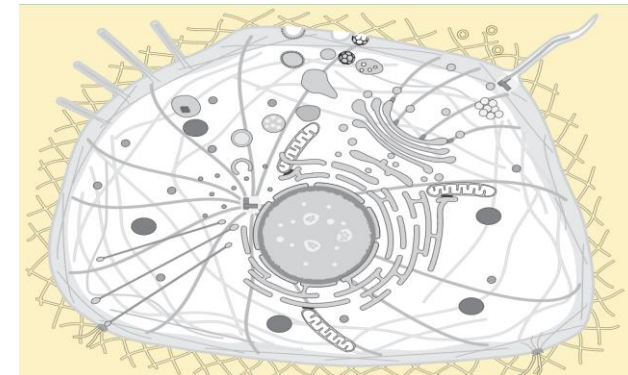


蜂王浆和MRJP1对糖脂损伤诱导的胰岛素分泌量的影响

蜂王浆、MRJP1单体和MRJP1聚体均能显著提高葡萄糖刺激的胰岛素分泌值 (GSIS)，即均能保护胰岛素的合成。MRJP1单体的3个浓度及聚体的低浓度对GSIS值升高显著，但胰岛素分泌值 (BIS) 也显著升高，说明此4种处理可以有效保护胰岛素的合成功能，但对葡萄糖敏感性的保护略低于其他处理组。

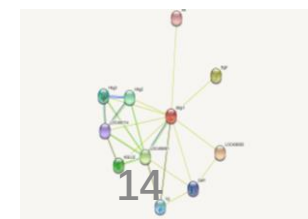
MRJPs功能拓展

- MRJPs 主要在保健功效方面有**促进细胞增殖、高效的抗菌活性、较强的免疫活性和抗氧化活性**等功能。MRJP1在不同的生物系统内显示出不同的生物活性，如MRJP1能刺激人淋巴细胞在无血清的培养基中生长，也能促进小鼠肝细胞的增殖能力，并表现出一定的**抗疲劳**功效。
- Fontana等发现蜂王浆中的抗菌肽Jelleines 对酵母、革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌有**特异性抗菌**作用，而MRJP1为Jelleines的前体物质，同时也验证了MRJP2也具有一定的抗菌活性。
- MRJP3具有**免疫调节功能**，可抑制IgE和IgG ,同时MRJP3可以抑制白细胞介素4 (IL-4)、白细胞介素2(IL-2)和γ干扰素(INF-γ)的产生，故可作为消炎药的有效成分。
- Inouc 等通过给小鼠定量喂食蜂王浆，发现小鼠肾脏DNA和血清中的8-OHdG(氧化程度指标)明显降低，认为蜂王浆中的蛋白通过减少氧化损害而**延长了小鼠的寿命**。
- MRJPs经水解后具有较强的**抗氧化活性**，能抑制亚油酸的过氧化反应。
- 蜂王浆中的MRJPs蛋白成分在**保健食品和药品**的研发过程中具有较高的应用价值。



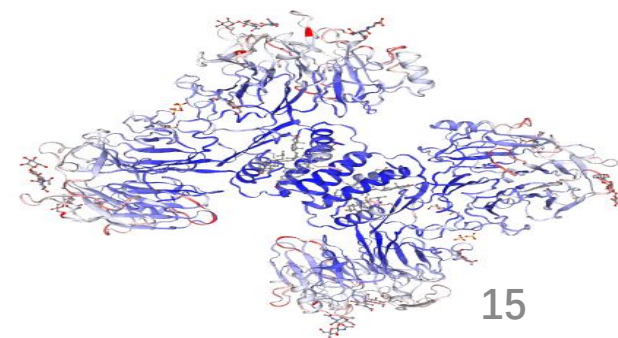
总结

- 1、在蜜蜂基因组中，MRJPs由簇集在相同染色体区域yellow基因家族的9个基因编码，相似度达到了**60%**以上。MRJPs家族成员序列中存在一些几乎完全相同的氨基酸区域，C末端均具有**高度疏水**的特征性结构。
- 2、两个MRJP1单体通过C末端与**多肽apisimin小分子和胆固醇**相互作用组成MRJP1二聚体，. 两个MRJP1二聚体通过apisimin小肽形成四聚体；MRJP1四聚体由4个MRJP1单体、4个多肽apisimin小分子和8个胆固醇小分子组成，主要以**疏水相互作用和氢键**结合，其中apisimin起关键的连接作用，另外还含有3个**二硫键**。
- 3、MRJP1 聚体经过**蛋白酶**处理后显著促进蜜蜂幼虫的生长发育。MRJP1聚体具有**增加血管平滑肌细胞(VSMC)释放NO能力、提高糖脂损伤诱导后胰岛素分泌功能,减少细胞的氧化应激水平和降低细胞内ROS自由基水平**等重要的生物学功能。



展望

- MRJP1单体是蜂王浆中**决定蜜蜂级型分化**的关键因子，对引发蜂王个体增大、发育时间缩短和卵巢发育等特征的出现机制探索。进一步通过MRJP1表达和纯化、晶体生长等研究，获得MRJP1单体的复合物晶体，通过结构解析**从分子水平阐明蜜蜂的级型分化机理**
- 对MRJP1结构和功能开展更深入的研究，探讨和阐明MRJP1对蜜蜂的**学习能力、行为调控、延长寿命**等方面的分子作用机制和机理，以及揭示其与上下游蛋白相互作用和信号传递的过程。





感谢聆听!

汇报人：2G04A 沈文权

组 员：2G04B 孙思源

2G04C 刘 婧

2G04D 孙丽侠