



水稻胚乳特异表达蛋白OsEnS11蛋白结构预测与功能分析  
Structural prediction and functional analysis of rice endosperm  
specific expression protein OsEnS11

2021年12月20日

汇报人：李欣伟

中国水稻研究所

2021级博士1班

邮箱：[lixinwei162013@163.com](mailto:lixinwei162013@163.com)

微信号：17673653328

# 小组成员

编号	姓名	研究所	导师	研究方向
G2A	吴佳民	水稻所	胡培松	稻米品质
G2B	李欣伟	水稻所	胡培松	种子活力与休眠
G2C	王亚荣	郑果所	姚家龙	果树育种
G2D	王东梅	作科所	黎裕	基因创新与利用

# 汇报内容

- 研究背景
- OsEnS11序列及功能分析
- OsEnS11蛋白结构预测
- OsEnS11突变后表型变化
- 结论

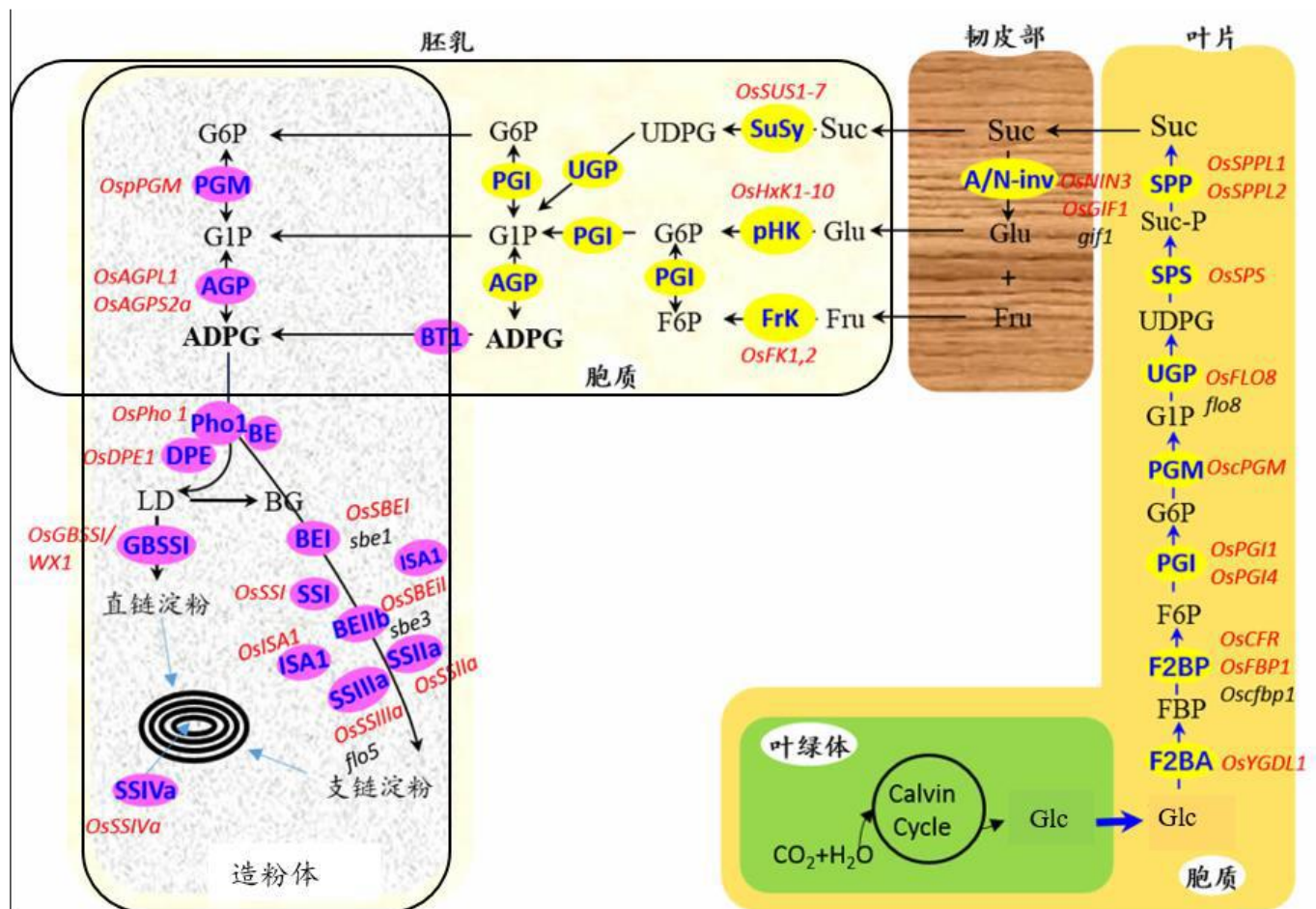
# 研究背景

## 1. 研究意义

- 水稻是世界上最重要的粮食作物之一，世界上有1/3以上的人口以稻米为主食。
- **淀粉**是收获的作物储藏器官中最主要的成分，成熟的水稻籽粒中淀粉含量高达60%-90%提高淀粉的产量也就意味着增加水稻产量，改变淀粉含量和结构对稻米的产量和品质都具有重要影响。
- **高温**对水稻淀粉合成有严重的危害影响，但高温影响淀粉合成的分子机理研究很少。

# 研究背景

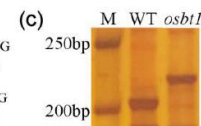
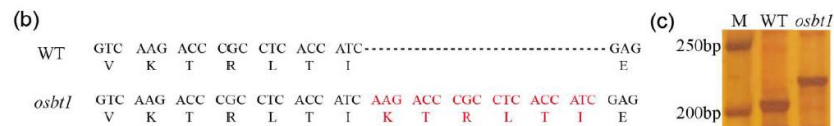
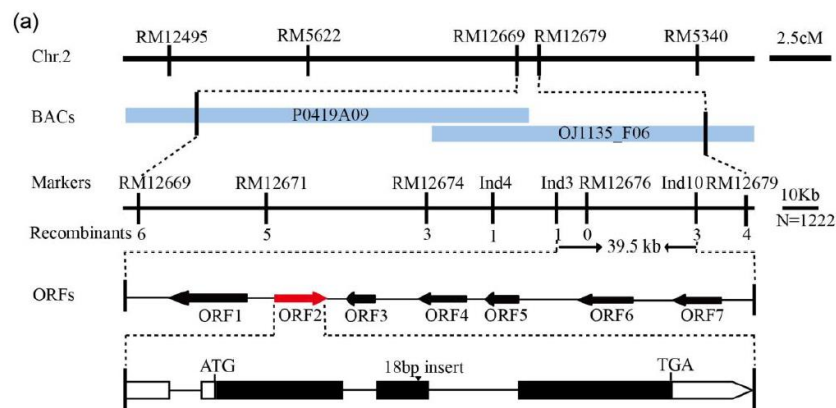
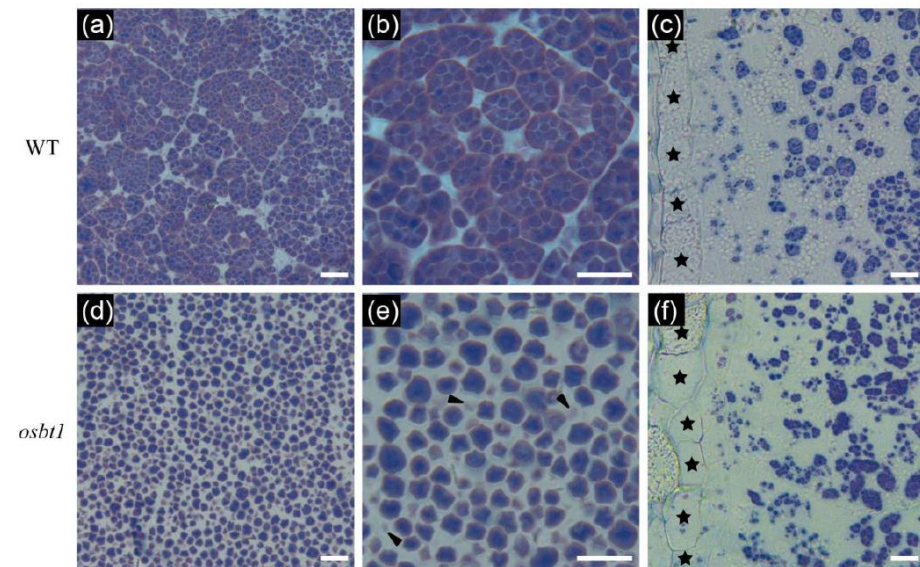
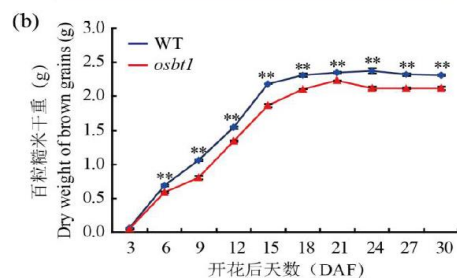
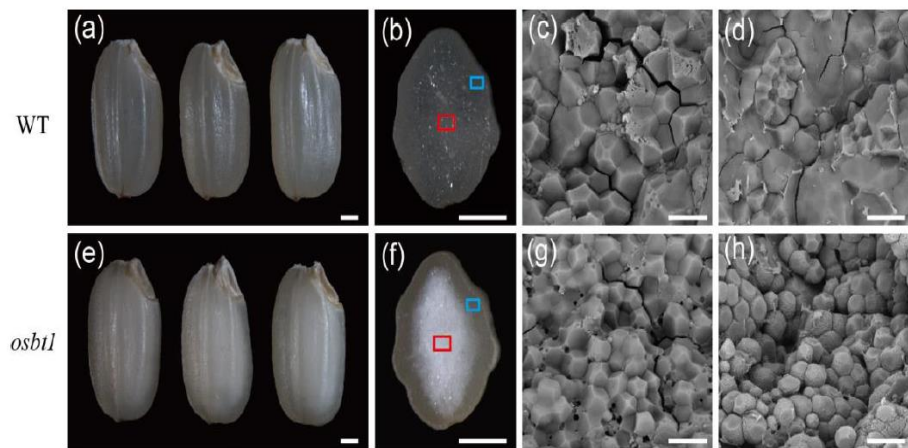
## 2. 水稻淀粉生物合成途径



蓝色字体表示水稻胚乳淀粉合成途径中的酶；黄色背景表示胞质中的酶 紫色背景表示造粉体中的酶；红色斜体表示编码该酶的基因；黑色小写斜体为该酶的突变体；绿色背景表示卡尔文循环。

# 研究背景

## OsBT1为例



# 研究背景

## 3. 材料来源

宁粳1号灌浆期在培养箱高温条件下（30-32°），取开花后10天种子进行转录组分析，寻找转录有变化且在种子特异表达基因

No.	预测功能	数量	载体
QC-1	myb-like, DNA-binding domain containing protein	1	pYLCRISPR/Cas9-MH
QC-2	Defensin and Defensin-like DEFL family	1	BGK03
QC-3	B12D protein	1	BGK03
QC-4,5,7,13	expressed protein	4	BGK03
QC-6,11	DUFlike domain containing protein	2	BGK03
QC-8	KUN1 - Kunitz-type trypsin inhibitor precursor	1	BGK03
QC-10	类萌发素蛋白	1	BGK03
QC-12	2-aminoethanethiol dioxygenase	1	BGK03
QC-14	no apical meristem protein	1	BGK03



# 序列及功能分析

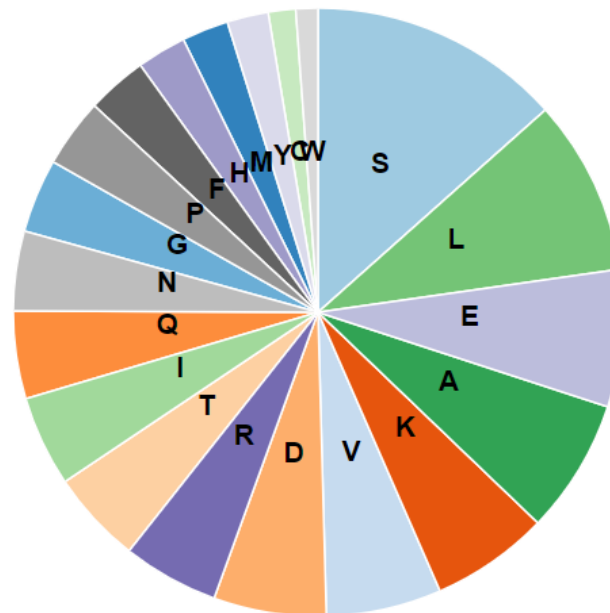
## 1. 氨基酸组成分析

- 利用predict protein对EnS11进行预测
- 经图示可以看出, EnS11总氨基酸数为686, 丝氨酸含量最高为13.41%, 亮氨酸次之为9.33%, 谷氨酰胺为7.29%, 丙氨酸7.1%。

## Summary

Sequence Length	686
Number of Aligned Proteins	31

## Amino Acid composition





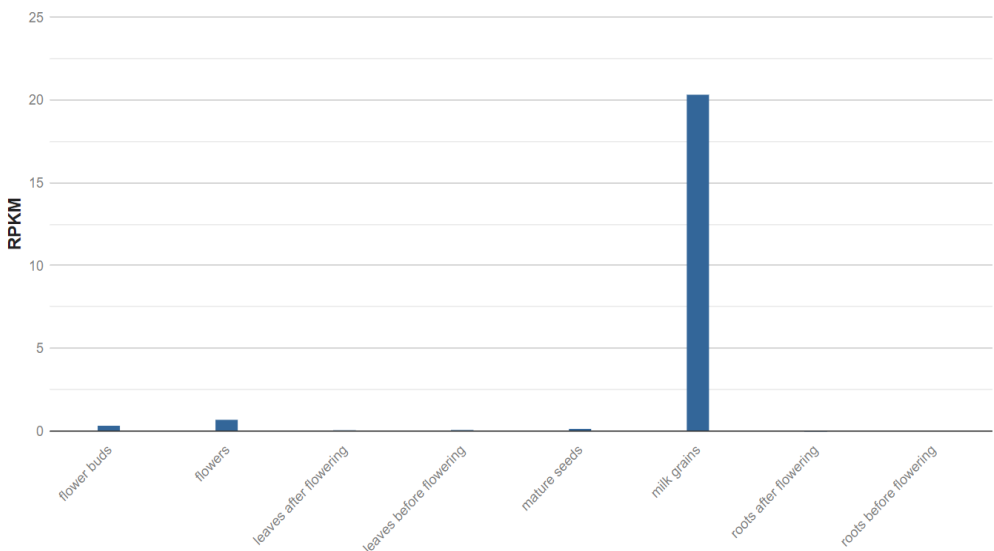
# 序列及功能分析

## 2. 结构域及表达模式预测



DUF630 (1-59)

DUF632 (281-622)



- 利用Interpro对EnS11进行预测，EnS11共包含两个结构域DUF630和DUF632。
- 在NCBI网站中查找到该基因为胚乳特异表达。

# 序列及功能分析

## 3.OsEnS11功能分析

在Uniprot上查找包含DUF630/632结构域蛋白，只有3个蛋白是经人工审阅。

Nitrate regulatory gene2 protein

Protein ALTERED PHOSPHATE STARVATION RESPONSE 1

Protein ROLLING AND ERECT LEAF 2

<input checked="" type="checkbox"/>	Entry	Entry name		Protein names	Gene names	Organism	Length	Annotation	Cross-reference (RefSeq)	
<input checked="" type="checkbox"/>	Q93YU8	NRG2_ARATH		<b>Nitrate regulatory gene2 protein</b>	<b>NRG2</b> At3g60320, F27H5_110	Arabidopsis thaliana (Mouse-ear cress)	796	Annotation score: ●●●●○	NP_191591.2, NM_115896.3	
<input checked="" type="checkbox"/>	A0A178VBJ0	APSR1_ARATH		<b>Protein ALTERED PHOSPHATE STARVATIO...</b>	<b>APSR1</b> At3g51290, F24M12.330	Arabidopsis thaliana (Mouse-ear cress)	640	Annotation score: ●●●●○	NP_001327368.1, NM_001339498.1	
<input checked="" type="checkbox"/>	Q9AQW1	REL2_ORYSJ		<b>Protein ROLLING AND ERECT LEAF 2</b>	<b>REL2</b> LOC_Os10g41310, Os10g0562700, OsJ_32472, OSJNBb0089A17.4	Oryza sativa subsp. japonica (Rice)	767	Annotation score: ●●●●○	XP_015612957.1, XM_015757471.1	

# 序列及功能分析

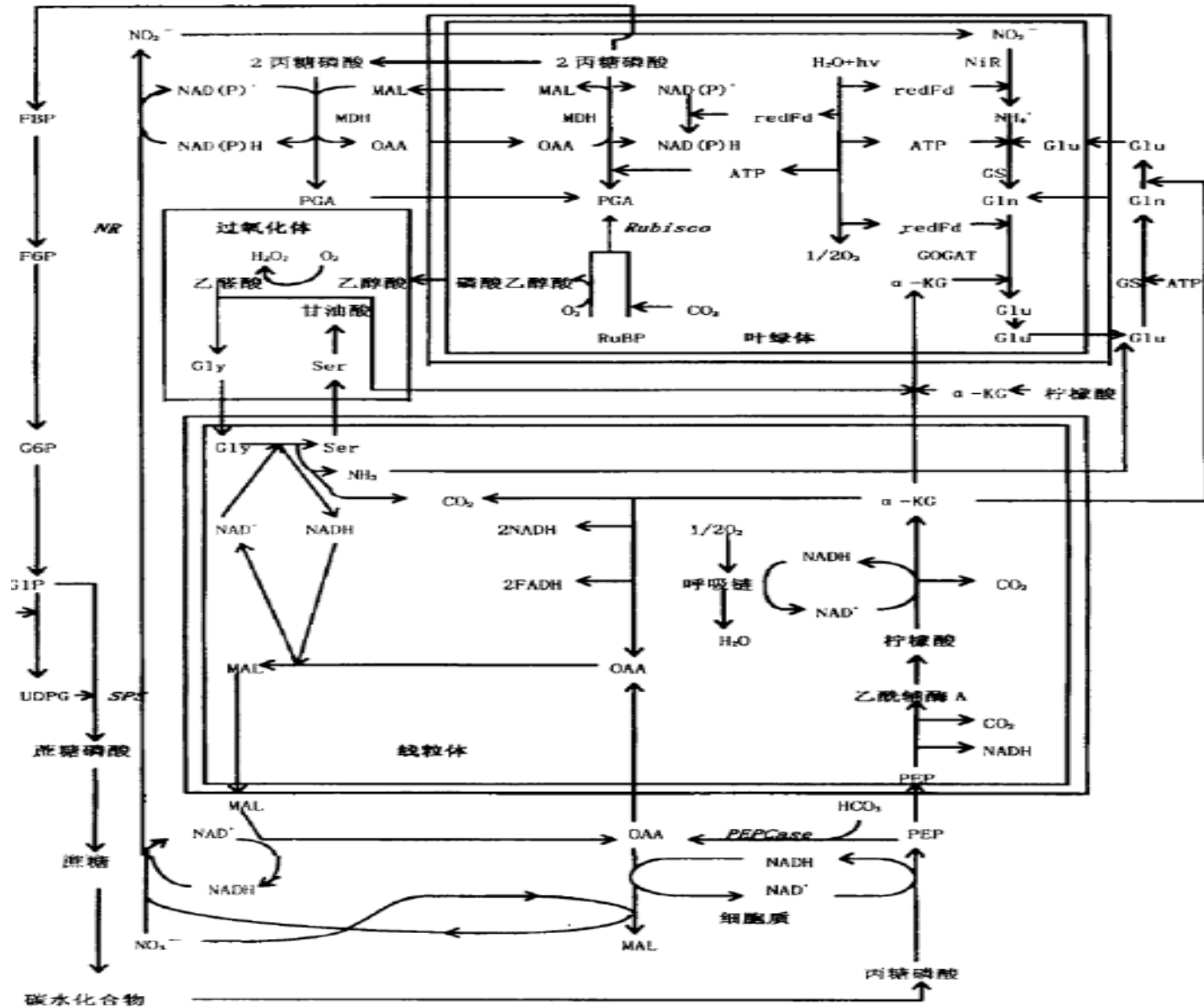
## 3.OsEnS11功能分析

Organism: Japanese rice (taxid:39947), Arabidopsis thaliana (taxid:3702), Zea mays (taxid:4577), Setaria italica (taxid:4555), Indian rice (taxid:39946), Sorghum bicolor (taxid:4558), soybean (taxid:3847)

Database: Reference proteins

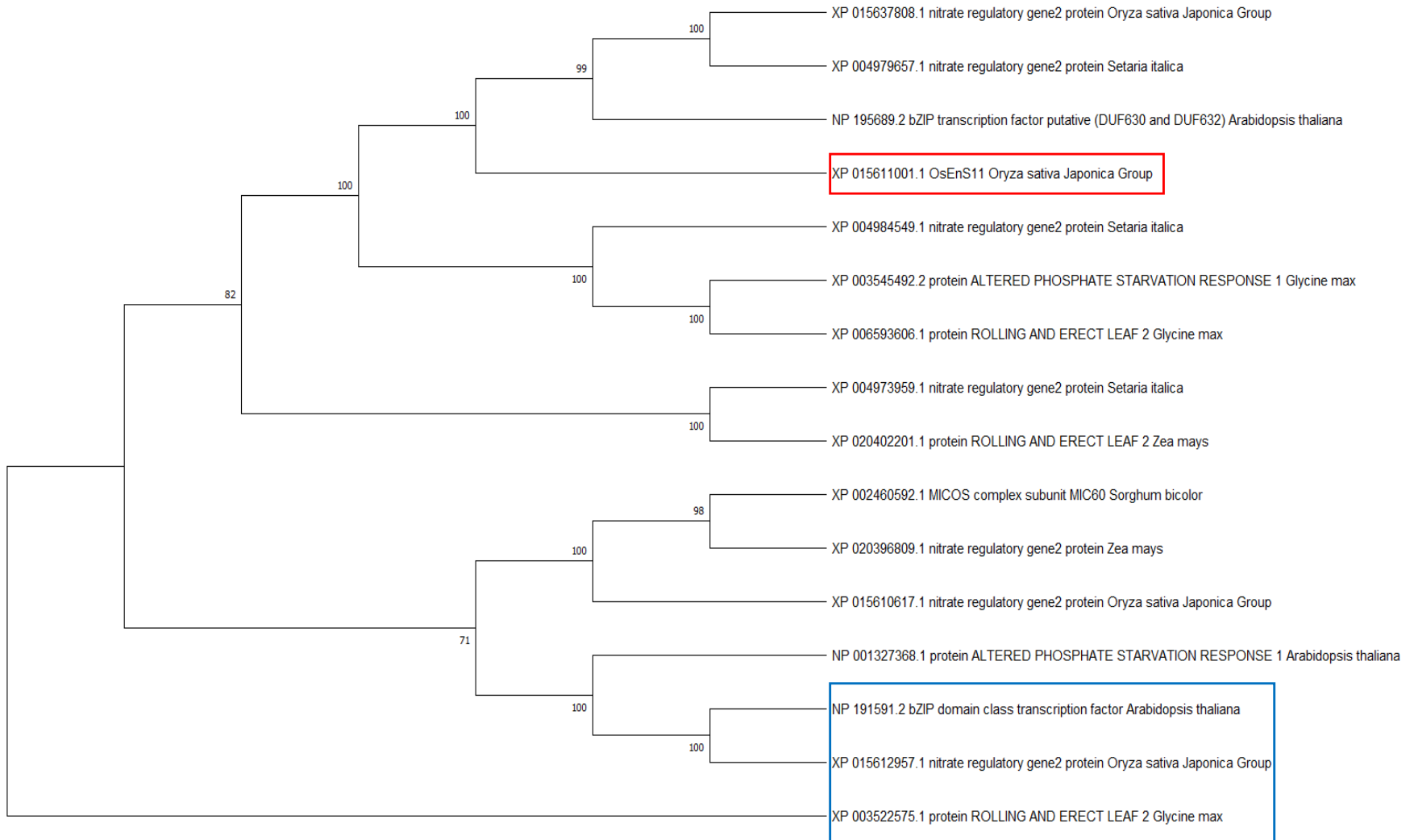
RefSeq	Protein	Organism
XP_015611001.1	OsEnS11	Oryza sativa Japonica Group
XP_004973959.1	nitrate regulatory gene2 protein	Setaria italica
XP_020402201.1	protein ROLLING AND ERECT LEAF 2	Zea mays
XP_015637808.1	nitrate regulatory gene2 protein	Oryza sativa Japonica Group
XP_003545492.2	protein ALTERED PHOSPHATE STARVATION RESPONSE 1	Glycine max
XP_004979657.1	nitrate regulatory gene2 protein	Setaria italica
XP_004984549.1	nitrate regulatory gene2 protein	Setaria italica
XP_006593606.1	protein ROLLING AND ERECT LEAF 2	Glycine max
XP_002460592.1	MICOS complex subunit MIC60	Sorghum bicolor
XP_020396809.1	nitrate regulatory gene2 protein	Zea mays
XP_003522575.1	protein ROLLING AND ERECT LEAF 2	Glycine max
XP_015610617.1	nitrate regulatory gene2 protein	Oryza sativa Japonica Group
NP_195689.2	bZIP transcription factor, putative	Arabidopsis thaliana
NP_191591.2	bZIP domain class transcription factor	Arabidopsis thaliana
NP_001327368.1	protein ALTERED PHOSPHATE STARVATION RESPONSE	Arabidopsis thaliana
XP_015612957.1	nitrate regulatory gene2 protein	Oryza sativa Japonica Group

# 序列及功能分析



# 序列及功能分析

## 4. 系统发育树分析



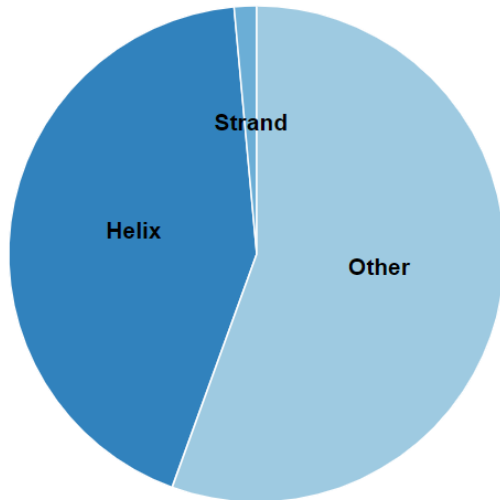


# 蛋白结构预测

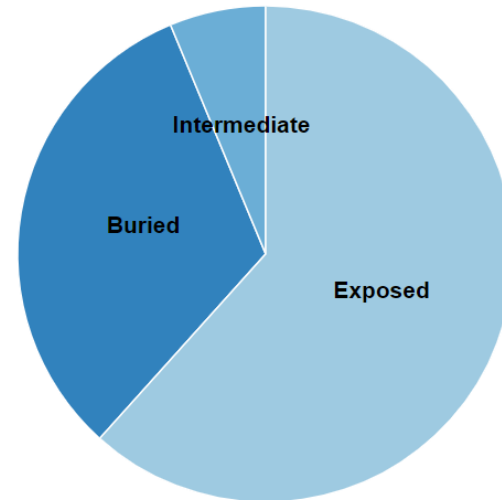
## 1. 蛋白二级结构与可溶性分析

如图所示二级结构组成为43%的螺旋，1.63%的折叠，55.54%的无规则卷曲。通过蛋白质残基可溶性分析可以看出在内部的氨基酸残基占32.07%，在蛋白质表面的残基占61.66%，处于中间状态的为6.27%。

Secondary Structure Composition



Solvent Accessibility





# 蛋白结构预测

## 2. 亚细胞定位预测



- EnS11经预测定位于**细胞核**中

# 蛋白结构预测

## 3. EnS11蛋白3D结构预测

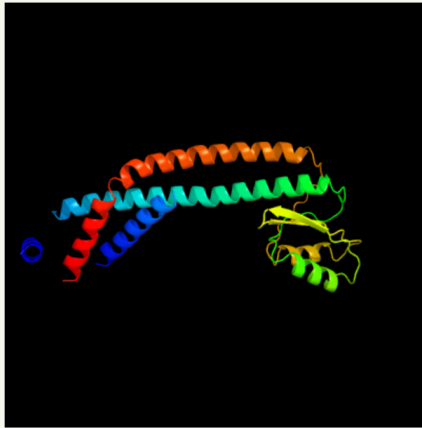


Image coloured by rainbow N → C terminus  
Model dimensions (Å): X:86.274 Y:53.854 Z:30.673

### Top template information

**PDB header:** membrane protein  
**Chain:** A; **PDB Molecule:** vacuolar atp synthase catalytic subunit a;  
**PDBTitle:** saccharomyces cerevisiae v-atpase stv1-v1vo state 3  
**PDB Entry:** [PDBe](#) [RCSB](#) [PDBj](#)

### Confidence and coverage

Confidence: **94.5%** Coverage: **30%**

208 residues ( 30% of your sequence) have been modelled with 94.5% confidence by the single highest scoring template.



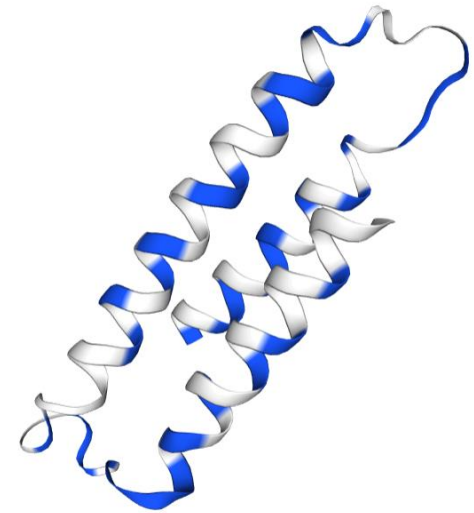
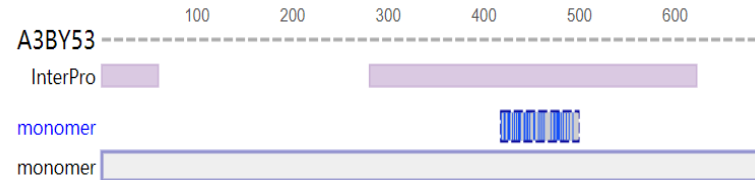
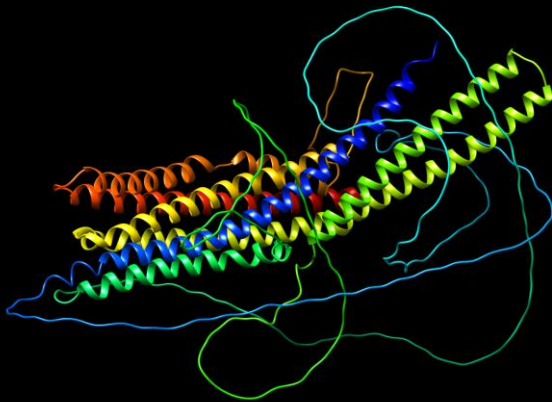
You may wish to submit your sequence to [Phyrealarm](#). This will automatically scan your sequence every week for new potential templates as they appear in the Phyre2 library.

**Warning:** 52% of your sequence is predicted disordered. Disordered regions cannot be meaningfully predicted.

### 3D viewing

[Interactive 3D view in JSmol](#)

For other options to view your downloaded structure offline see the [FAQ](#)



该蛋白在Phyre2和Swiss-model中预测结构很相似，但来自不同的模板，分别是酵母液泡atp合酶催化亚基(6o7xa)和人低聚糖转移酶复合体(6s7o)。

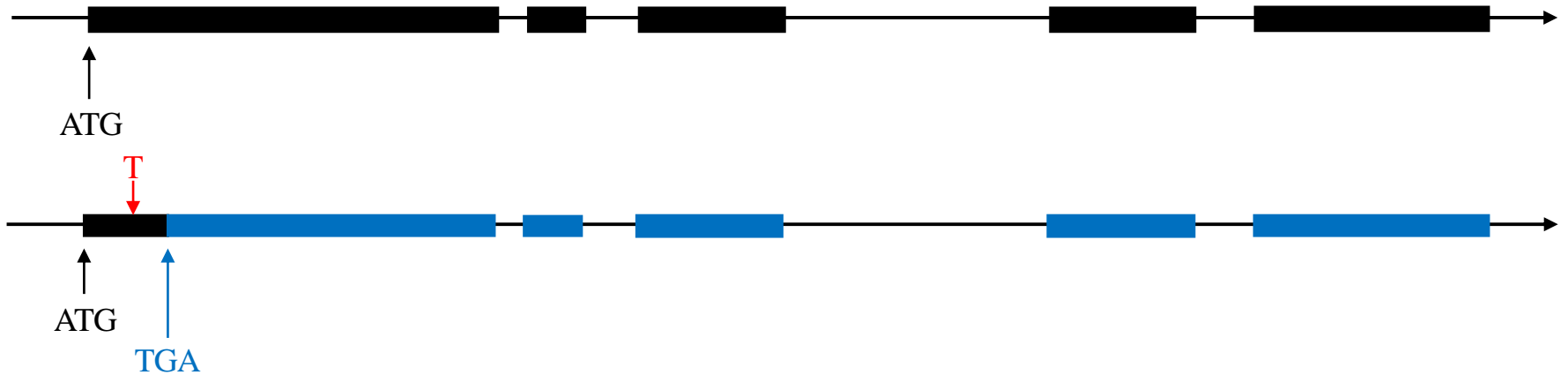
# OsEnS11突变后表型变化

通过Crispr-Cas9系统，敲除胚乳特异表达基因OsENS11获得了纯和*osens11-21*粉质突变体

OsEnS11

NIP AGCAATCTCTCCGCAGTCT - TGG

*osens11-21* AGCAATCTCTCCGCAGTTC**T**TGG



# 结论

- OsEnS11包含了两个两个位置结构域（DUF630和DUF632），切在胚乳中特异表达。
- OsEnS11可能具有转录活性。
- OsEnS11疑似与氮磷吸收、转运或者同化相关。
- OsEnS11主要由  $\alpha$ -螺旋构成
- *osens11-21*突变体因碱基插入导致蛋白结构破坏，功能丧失。



请罗老师和各位同学  
批评指正！