

# 玉米中Opaque2及其突变体的研习

영원히 잊을수 없는 기억...



汇报人：颜娜

组号：G06

组员：钟海丽 张静 朱吉风

# 一、研究背景

玉米是重要的粮食作物，但普通玉米籽粒中，氨基酸组成不均衡，尤其是必需氨基酸—赖氨酸含量低，蛋白质品质较差，限制了玉米的应用。玉米胚乳中重要的转录调控因子 Opaque2 基因发生突变会使玉米中的赖氨酸含量大幅度上升，可极大地改善玉米籽粒的蛋白质品质，利用 opaque2( o2 )突变体是目前获得高赖氨酸优质蛋白玉米的主要手段。





# 一、研究背景

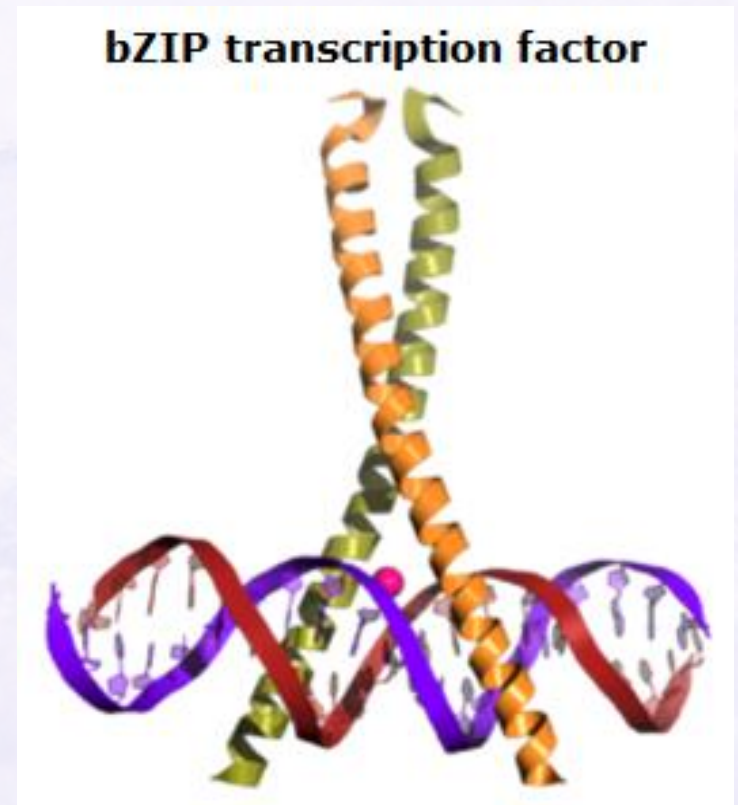
近年来的研究发现，Opaque 2 基因编码的 Opaque2 蛋白是玉米胚乳中一种重要的转录激活因子，属碱性亮氨酸拉链(bZIP) 家族成员。该基因在授粉后10d开始表达，约45d结束，所表达的蛋白具多效性，参与玉米中众多蛋白质的调控。

该基因突变后，胚乳中赖氨酸含量极低的醇溶蛋白表达量减少，谷蛋白等非醇溶蛋白表达量增加。

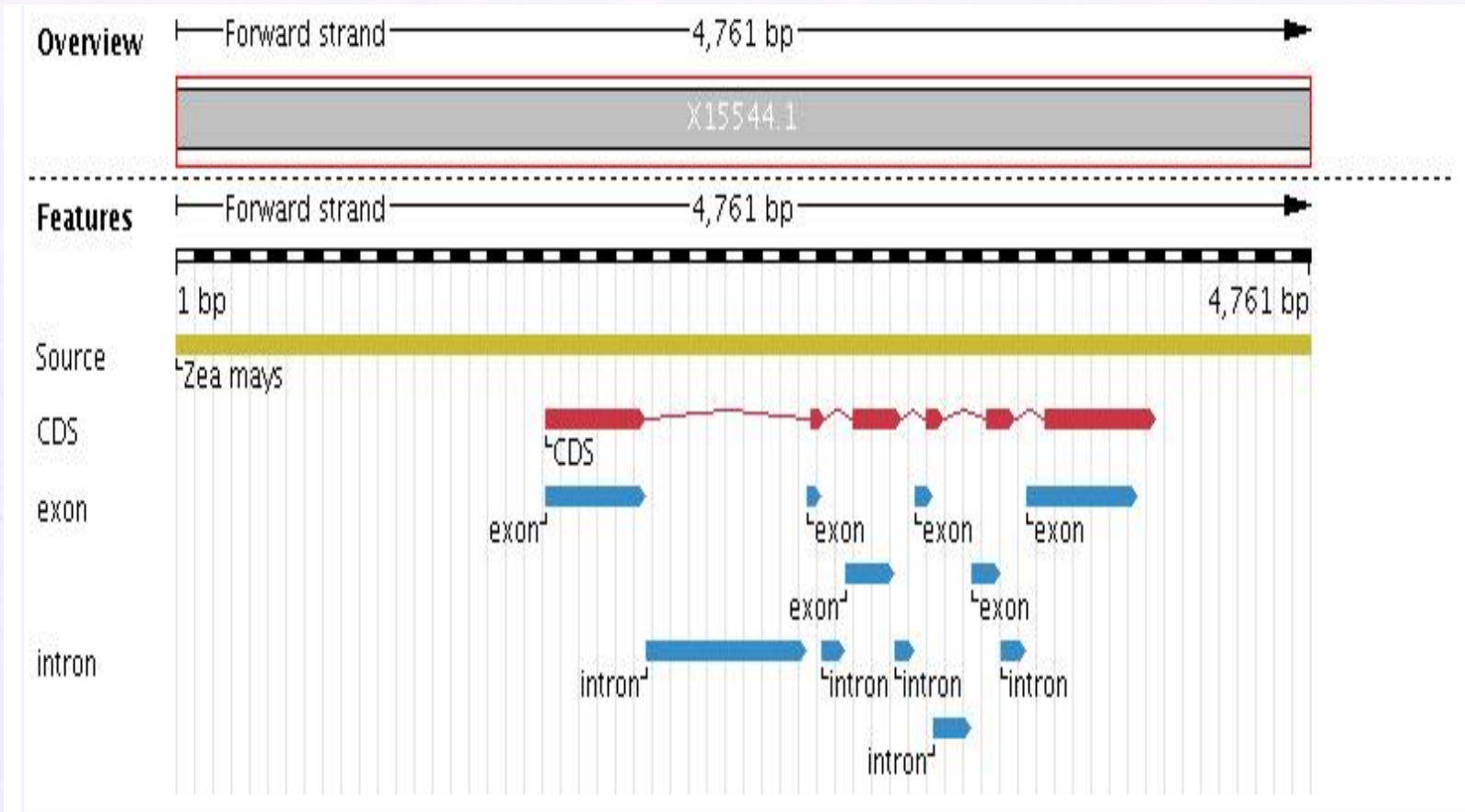


# bZIP转录因子

- **bZIP类转录因子的共同特点是：**
  - 1.含有与特异DNA序列相结合的碱性结构域，参与寡聚化作用的亮氨酸拉链区与碱性区紧密相连。
  - 2.转录因子的 N-末端含有酸性激活区。
  - 3.以二聚体的形式结合DNA，肽链 N-末端的碱性区与DNA直接结合。
  - 4.bZIP 类转录因子识别核心序列为ACGT的顺式作用元件。

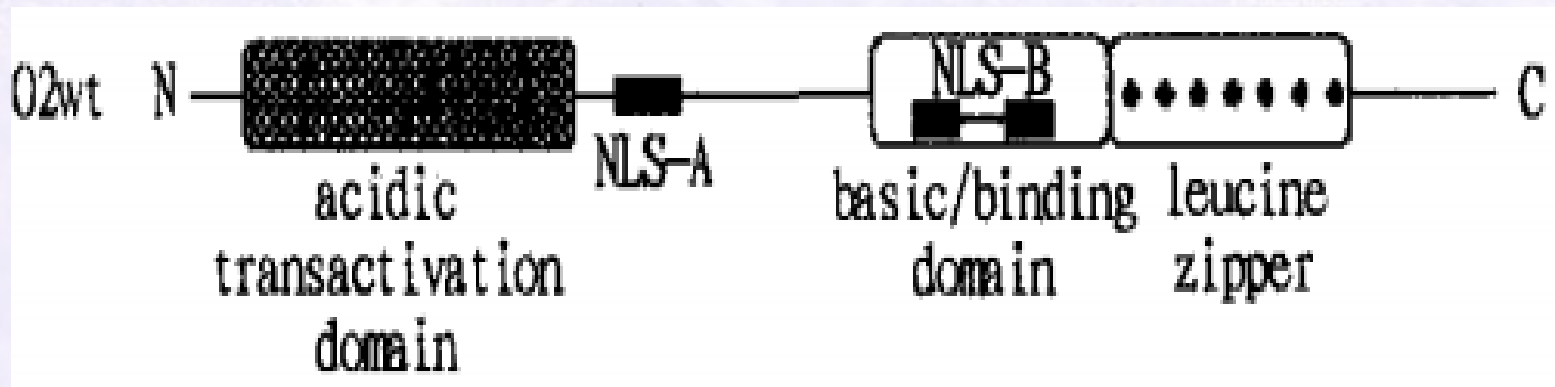
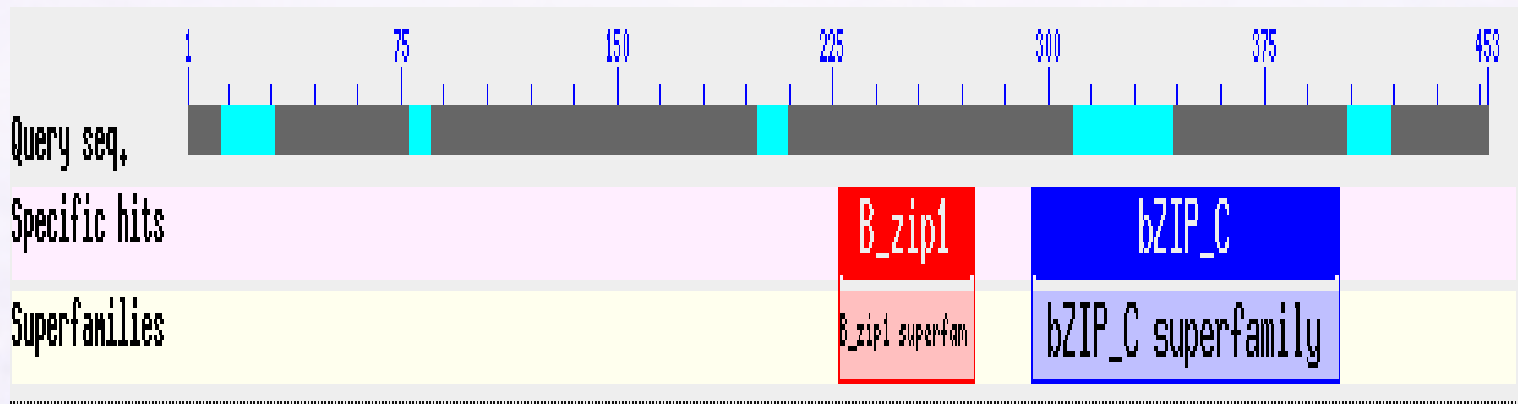


## 二、Opaque2基因的结构





### 三、Opaque2蛋白的结构与功能



### 三、Opaque2蛋白的结构与功能

作为转录调控因子，Opaque2蛋白可以同源二聚体或异源二聚体的形式，直接或间接上调或下调多种蛋白的表达。

#### a. 醇溶蛋白

#### b. 蛋白质代谢相关酶类: Opaque2蛋白可激活多

种蛋白质代谢相关酶类基因的转录，其中，重要的有胞质丙酮酸磷酸双激酶(CyPPDK 1)基因和赖氨酸-酮戊二酸还原酶 / 酵母氨酸脱氢酶(LKR / SDH)基因。

# MEGA中蛋白质序列对比结果:

#GN02	MEHVISMEEI	LGPFWELLPP	PAPEPE--RE	QPPVTGIVVG	SVIDVAAAGH	[ 50]
#GN02	.....	.....	.....PE..	.....	.....	[ 50]
#GN02	GDG--DMMDQ	QHATEWTFER	LLEEEALTTT	TPPPVVVVPN	SCCSGALNAD	[100]
#GN02	.H.GG.....	.....	.....	.....	.....V.	[100]
#GN02	RPPVMEEAVT	MAPAAVSSAV	VGDPMEYNAI	LRRKLEEDLE	AFKMWRADSS	[150]
#GN02	.....M	.....	.....	.....	.....A..	[150]
#GN02	VVTSDQRSQG	SNNHTGGSSI	RNNPVQNKLM	NGEDPINNH	AQTAGLGVRL	[200]
#GN02	.....	.....	.....	.....T.....	.....	[200]
#GN02	ATSSSSRDPS	PSDEDMDGEV	EILGFKMPTE	ERVRK-KESN	RESARRSRYR	[250]
#GN02	.....	.....	.....	.....R.....	.....	[250]
#GN02	KAAHLKELED	QVAQLKAENS	CLLRRIAALN	QKYNDANVDN	RVLRADMETL	[300]
#GN02	.....	.....	.....	.....	.....	[300]



# MEGA中蛋白序列对比结果:

```
#GN02 RAKVKMGEDS LKRVIEMSSS VPSSMPISAP TPSSDAPVPP PPIRDSIVGY [350]
#GN02 ..... [350]

#GN02 FSATAADDDA SVGNGFLRLQ AHQEPASMVV GGTLSEATEMN RVAAATHCAG [400]
#GN02 ..... [400]

#GN02 AMELIQTAMG SMPPTSASGS TPPPQIMSCW VQMGPYTWTC IRHCGFRDRW [450]
#GN02 ..... ---DY ELL. .NGAIH MDMY----- [450]

#GN02 EHFICRRR [458]
#GN02 ----- [458]
```

# Amino acid Frequencies

All frequencies are given in percent.

	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu
GNO2	9.934	1.76 6	5.51 9	7.94 7	1.76 6	5.96 0	2.20 8	3.75 3	2.87 0	5.96 0
GNo2	10.20	0.90 7	5.44 2	8.39 0	1.36 1	6.57 6	2.26 8	3.40 1	2.94 8	6.57 6
	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Trp	Tyr
GNO2	4.857	4.41 5	8.16 8	3.31 1	7.06 4	9.49 2	5.07 7	7.50 6	1.32 5	1.10 4
GNo2	5.215	4.76 2	8.61 7	3.17 5	6.12 2	9.52 4	4.76 2	7.71 0	0.68 0	1.36 1

# 蛋白质氨基酸残基含量 利用jemboss中的pepstats统计

02

Property	Residues	Number	Mole%
Tiny	(A+C+G+S+I)	146	32.230
Small	(A+B+C+D+G+H+P+S+I+V)	262	57.837
Aliphatic	(A+I+L+V)	123	27.152
Aromatic	(F+H+W+Y)	29	6.402
Non-polar	(A+C+F+G+I+L+M+P+V+W+Y)	236	52.097
Polar	(D+E+H+K+N+Q+R+S+I+Z)	217	47.903
Charged	(B+D+E+H+K+R+Z)	116	25.607
Basic	(H+K+R)	55	12.141
Acidic	(B+D+E+Z)	61	13.466

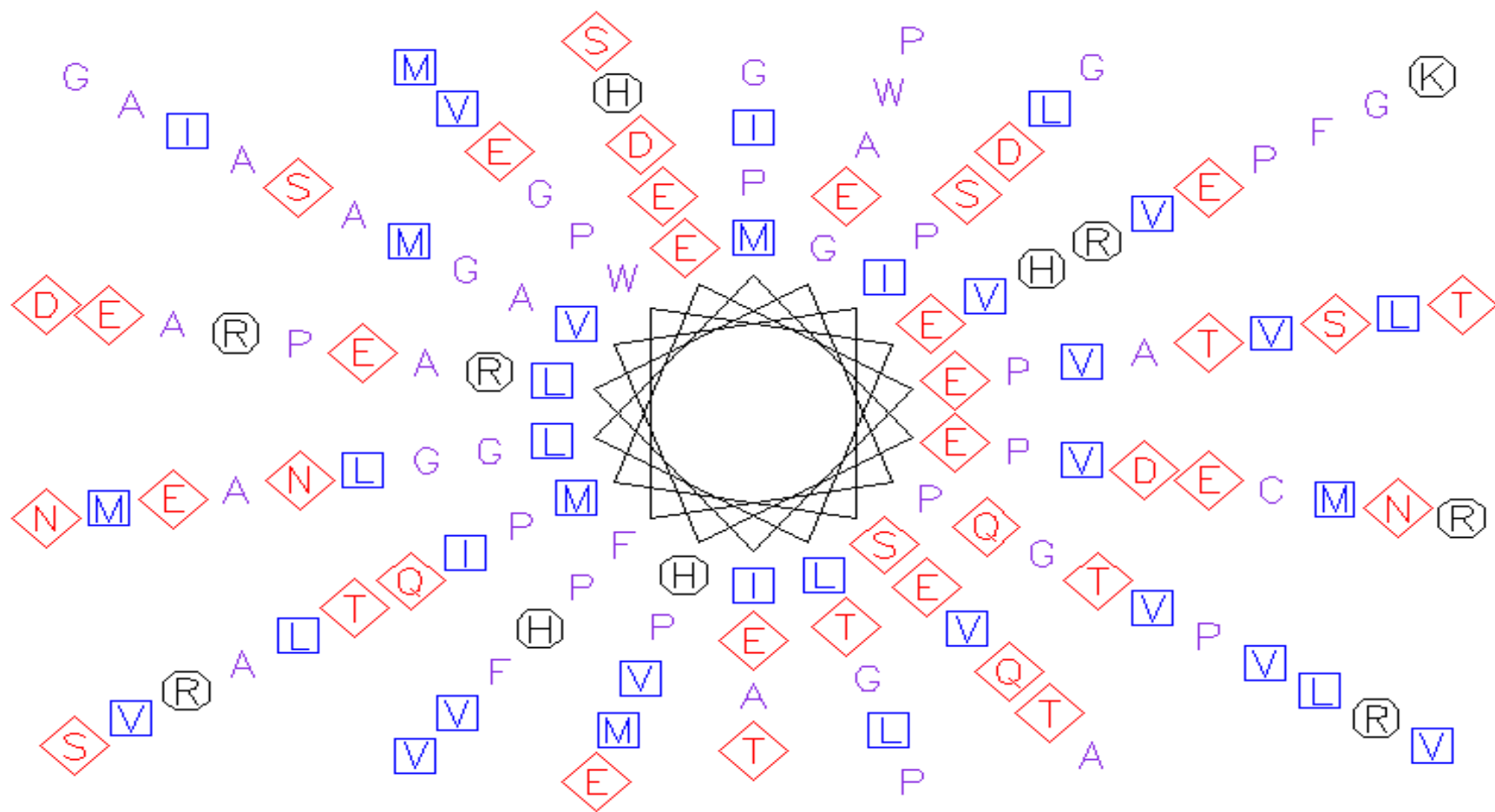
02

Property	Residues	Number	Mole%
Tiny	(A+C+G+S+I)	141	31.973
Small	(A+B+C+D+G+H+P+S+I+V)	258	58.503
Aliphatic	(A+I+L+V)	123	27.891
Aromatic	(F+H+W+Y)	25	5.669
Non-polar	(A+C+F+G+I+L+M+P+V+W+Y)	232	52.608
Polar	(D+E+H+K+N+Q+R+S+I+Z)	209	47.392
Charged	(B+D+E+H+K+R+Z)	111	25.170
Basic	(H+K+R)	50	11.338
Acidic	(B+D+E+Z)	61	13.832



Helical wheel of fasta::586428:o2

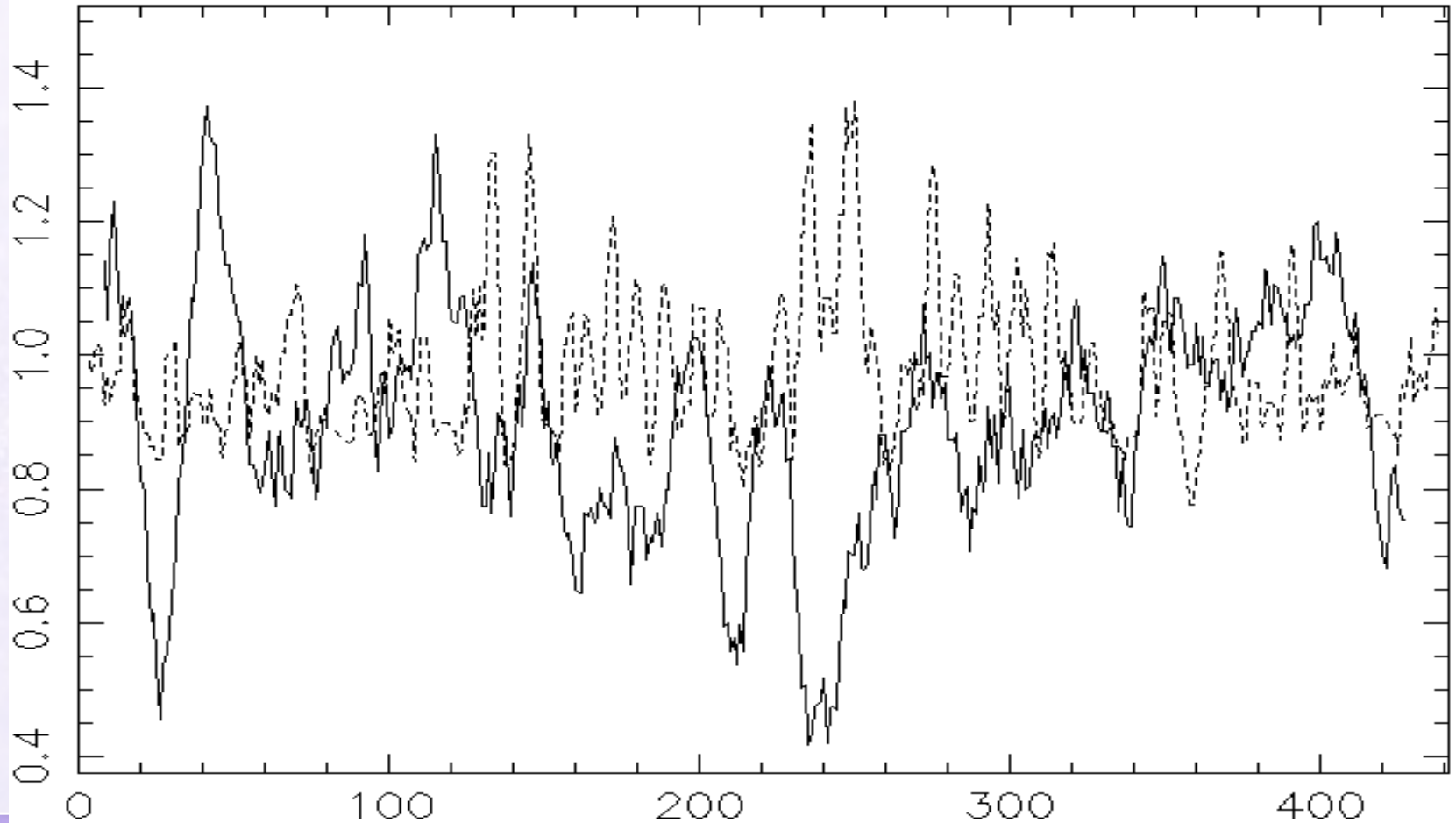
Fri 18 Jan 2013 12:18:18





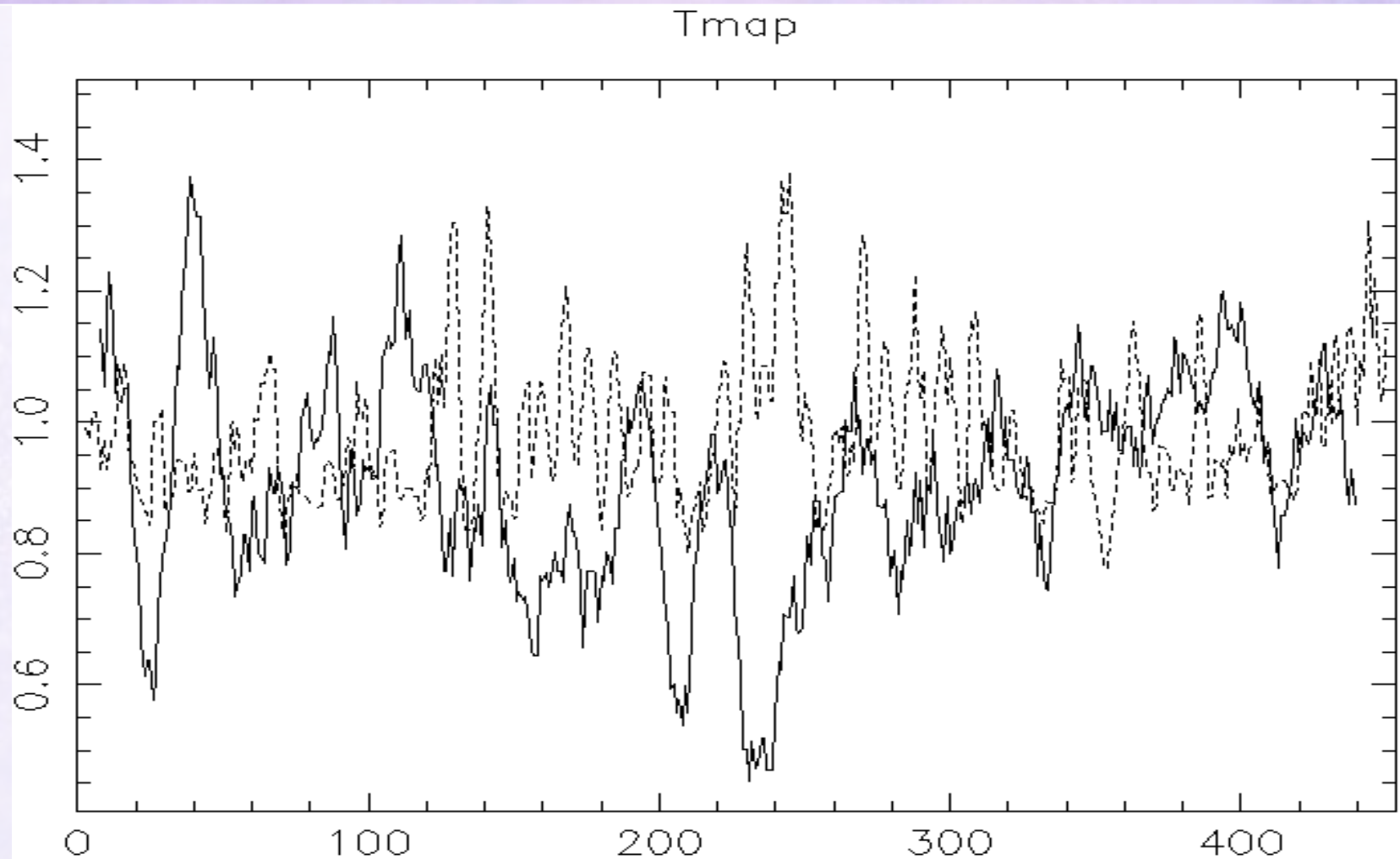
# o<sub>2</sub>跨膜区域预测

Tmap



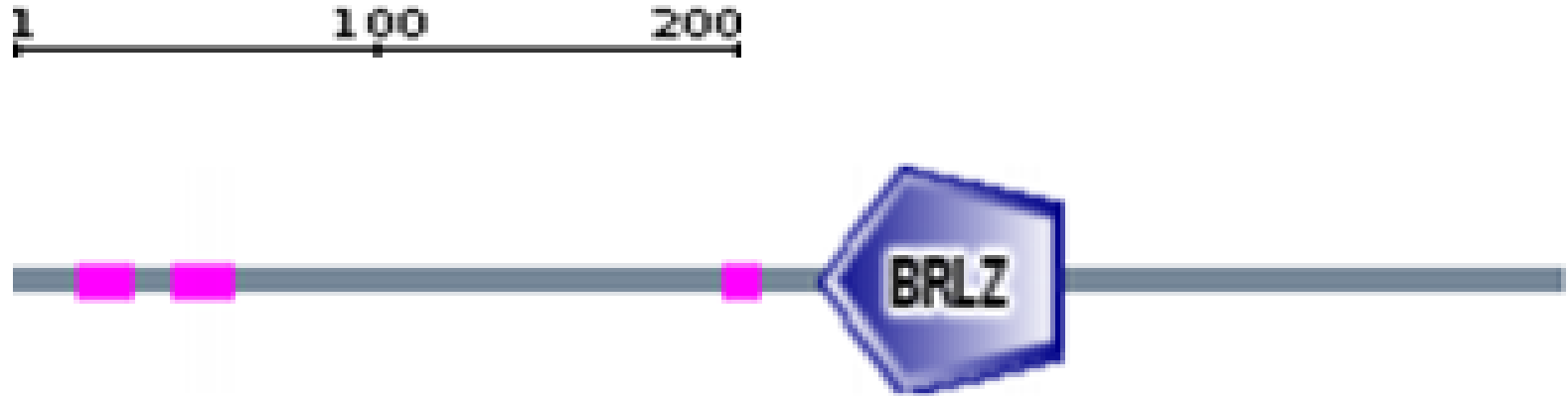


# Opaque2中跨膜区域预测



# O2与o2 Motif finding -SMART

Opaque 2



Regulatory protein opaque-2



## Confidently predicted domains, repeats, motifs and features:

Name	Start ▲	End	E-value	
low complexity	17	32	N/A	▲
low complexity	43	60	N/A	
low complexity	187	197	N/A	
BRLZ	212	276	2.48e-19	▼



## Confidently predicted domains, repeats, motifs and features:

Name	Start ▲	End	E-value
low complexity	13	31	N/A
low complexity	78	85	N/A
low complexity	199	209	N/A
BRLZ	223	287	5.04e-20
low complexity	309	343	5.04e-20
low complexity	404	419	5.04e-20

# 用jemboss中的garnier预测二级结构

O2

```
      O
      RRR|
helix
sheet
turns III
coil

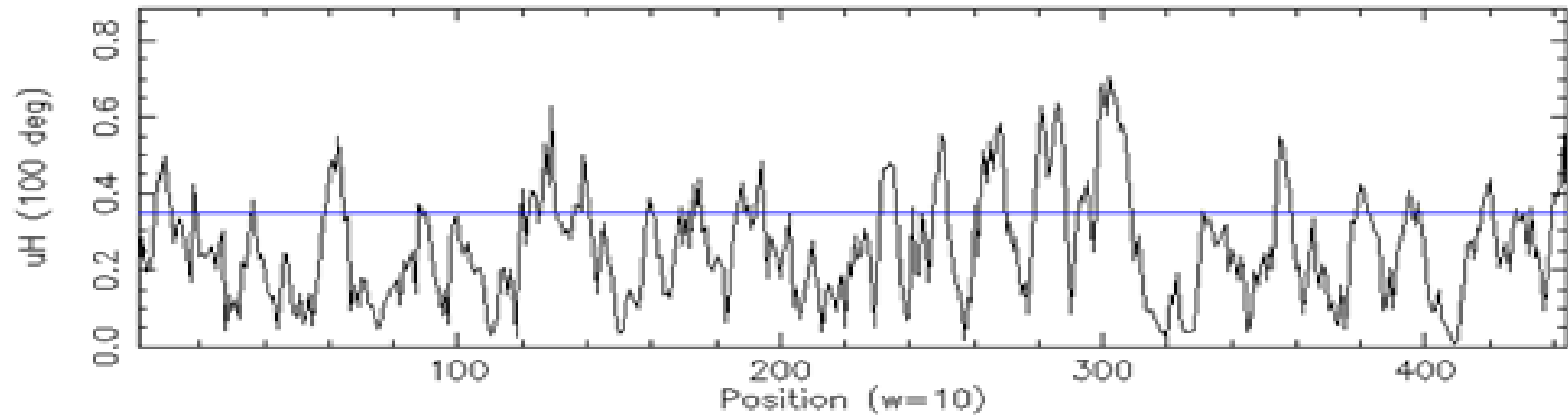
#-----
#
# Residue totals: H:182  E: 76  I: 80  C:115
#           percent: H: 41.6 E: 17.4 I: 18.3 C: 26.3
#
#-----
#
#-----
# Total_sequences: 1
# Total_length: 453
# Reported_sequences: 1
# Reported_hitcount: 97
#-----
```

o2

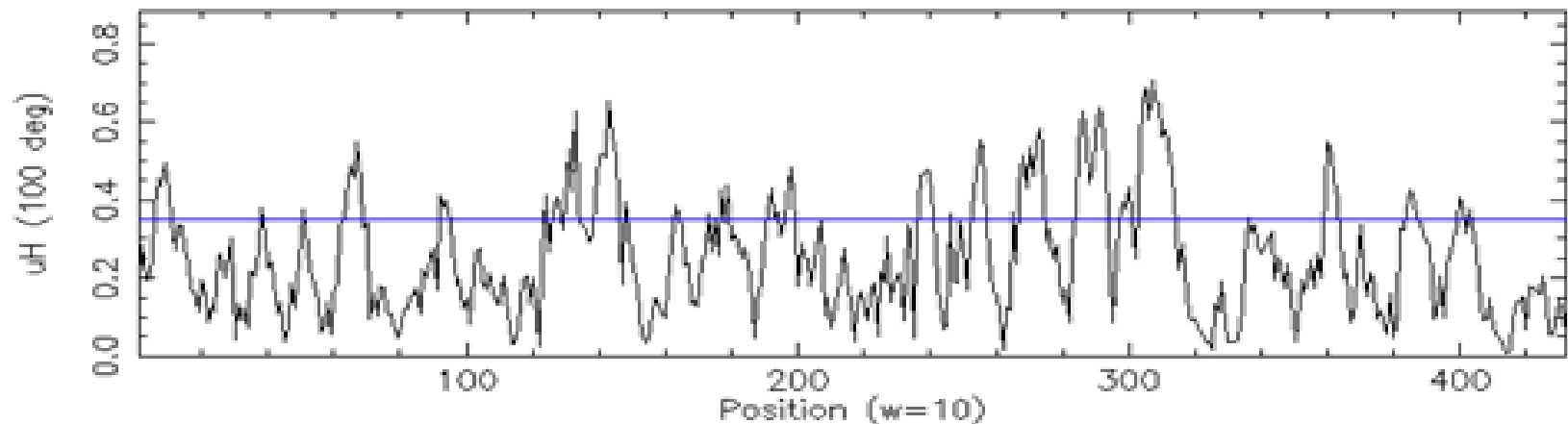
```
#-----
#
# Residue totals: H:184  E: 72  I: 56  C:129
#           percent: H: 43.3 E: 16.9 I: 13.2 C: 30.4
#
#-----
#
#-----
# Total_sequences: 1
# Total_length: 441
# Reported_sequences: 1
# Reported_hitcount: 92
#-----
```

# alpha螺旋 (O2与o2) 的预测 用jemboss中的hmoment

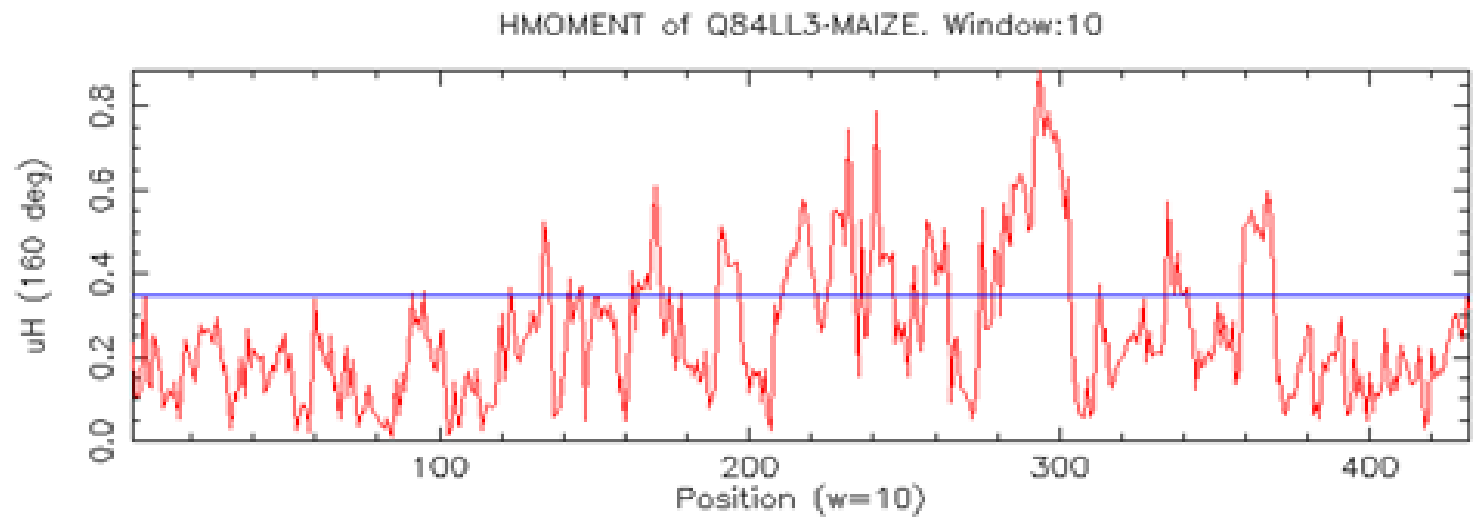
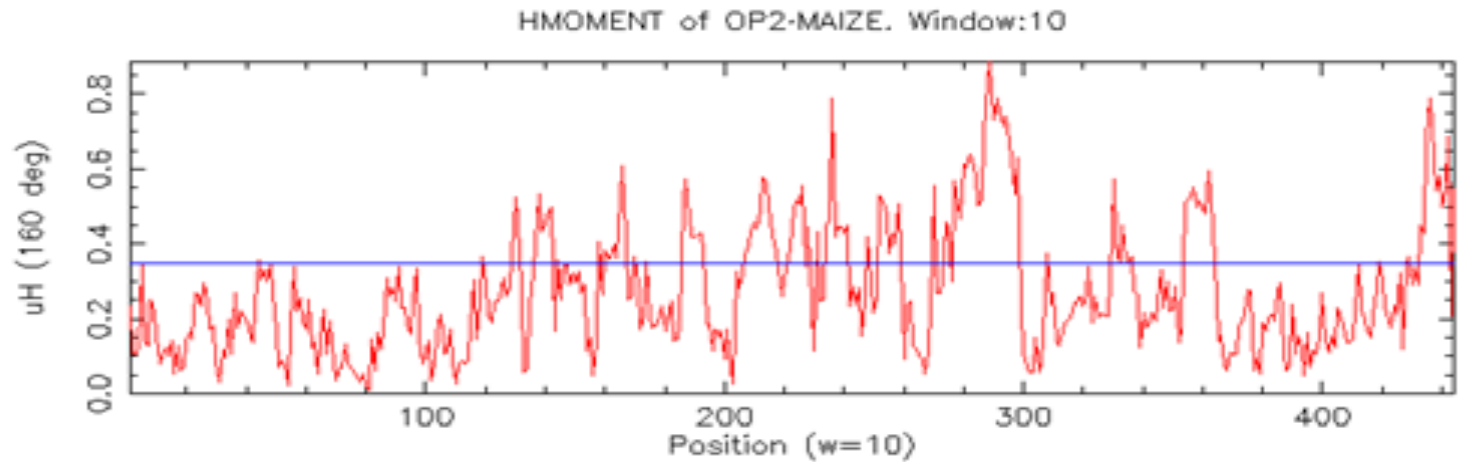
HMOMENT of OP2-MAIZE. Window:10



HMOMENT of Q84LL3-MAIZE. Window:10



# beta折叠 (O2与o2) 的预测 用jemboss中的hmoment





## 四、突变体在玉米育种中的应用

利用Opaque2突变体可以培育出赖氨酸含量高的优质蛋白玉米（QPM），但QPM育种中仍存在一系列问题：

- 种质基础狭窄
- 抗病性差
- 突变体为隐性基因，加大育种难度
- 遗传机理尚未完全清楚
- 优质不优价

## 下一步研究方向

- 有关 Opaque2蛋白的作用机制仍有很多未解之处，如O2蛋白到底能激活多少种蛋白，在哪些地方能影响赖氨酸的合成和降解，哪些会影响籽粒形态及淀粉形态，分别作用于哪些通路，其具体作用机理又如何等，都需要我们进行进一步探讨。

感谢罗老师，ABC我们一起走过！