链球菌属噬菌体Gp3蛋白结构的预测

组内成员：姚文娟、孙东杰、王芳芳、郑莹莹

报告内容简介：

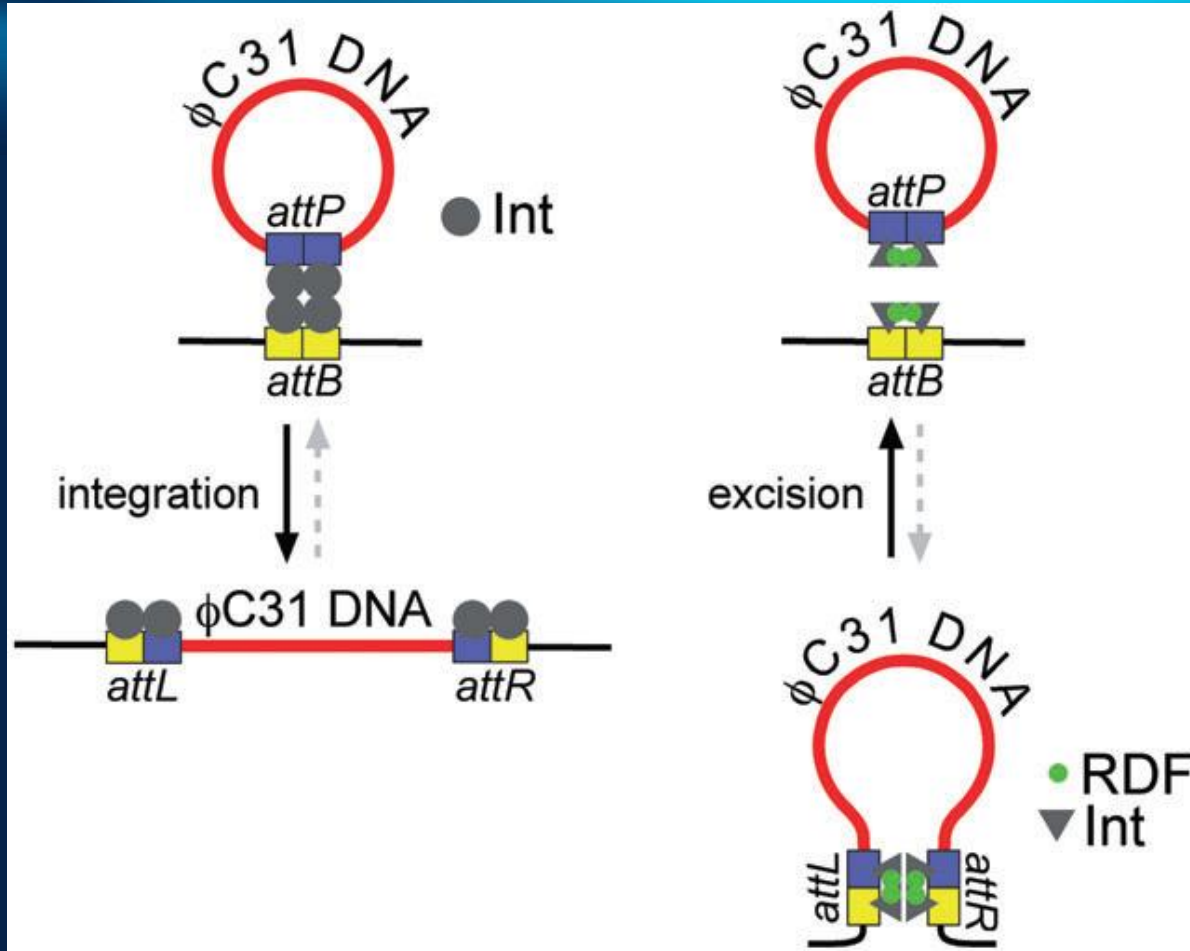| 1	背景介绍
2	gp3氨基酸序列分析 Blast和同源建模
3	gp3和gp47比较
4	结论和参考文献

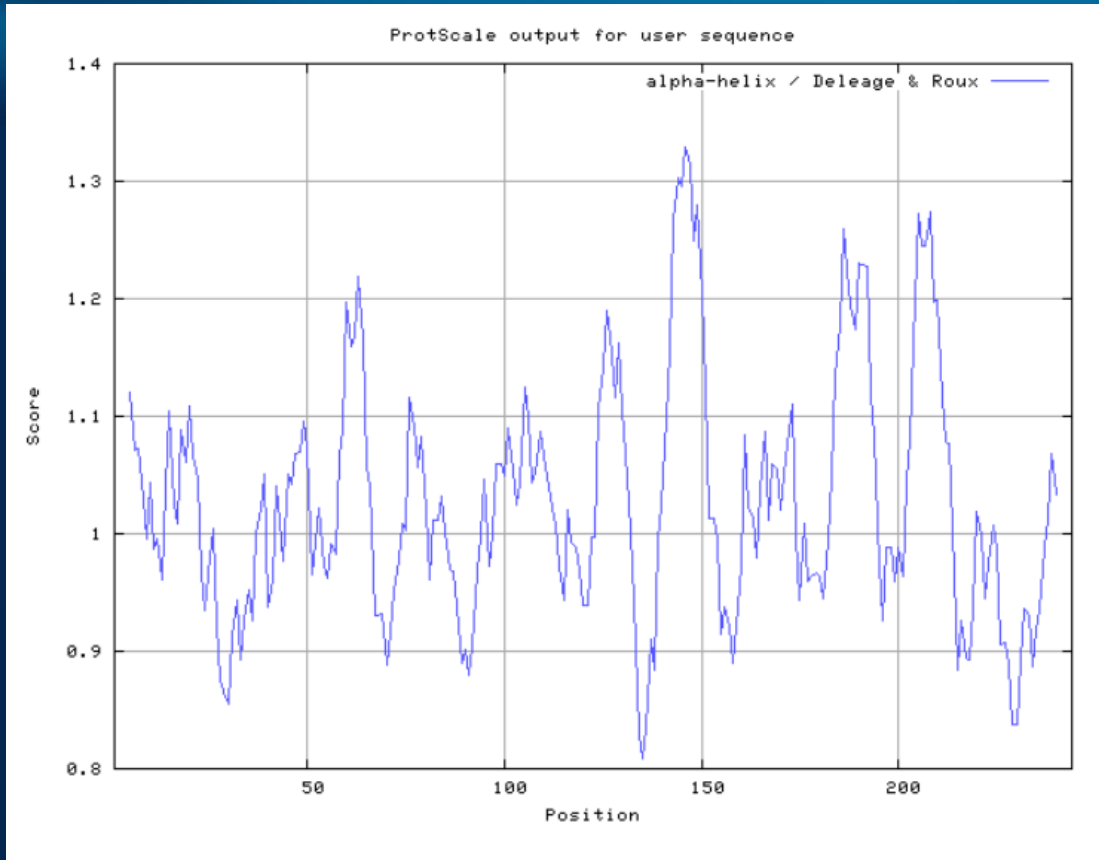# 来自于链霉菌噬菌体fC31的丝氨酸整合蛋白Int可用于调节噬菌体基因组在寄主染色体中的插入和删除。

fC31整合和删除机制：Int亚基中控制插入的用灰色圆圈表示，控制删除的用三角形表示，Int亚基用于预测研究蛋白的构想改变，Int和RDF的亚基仍然不清楚，黑线和红线代表了宿主和噬菌体基因组DNA。

- fC31表达早期蛋白gp3（RDF家族成员），当有gp3存在时，整合酶能催化切离反应，当没有gp3时，整合酶只能催化整合反应。
- 有文章表明整合酶的方向性由一个预测的卷曲螺旋结构控制的，我们猜想gp3中存在卷曲螺旋结构。
- fC31 gp3的功能特点类似于进化上无关的噬菌体Bxb1的gp47，通过文献查阅表明，这两种RDF在趋同进化方面具有相似性。
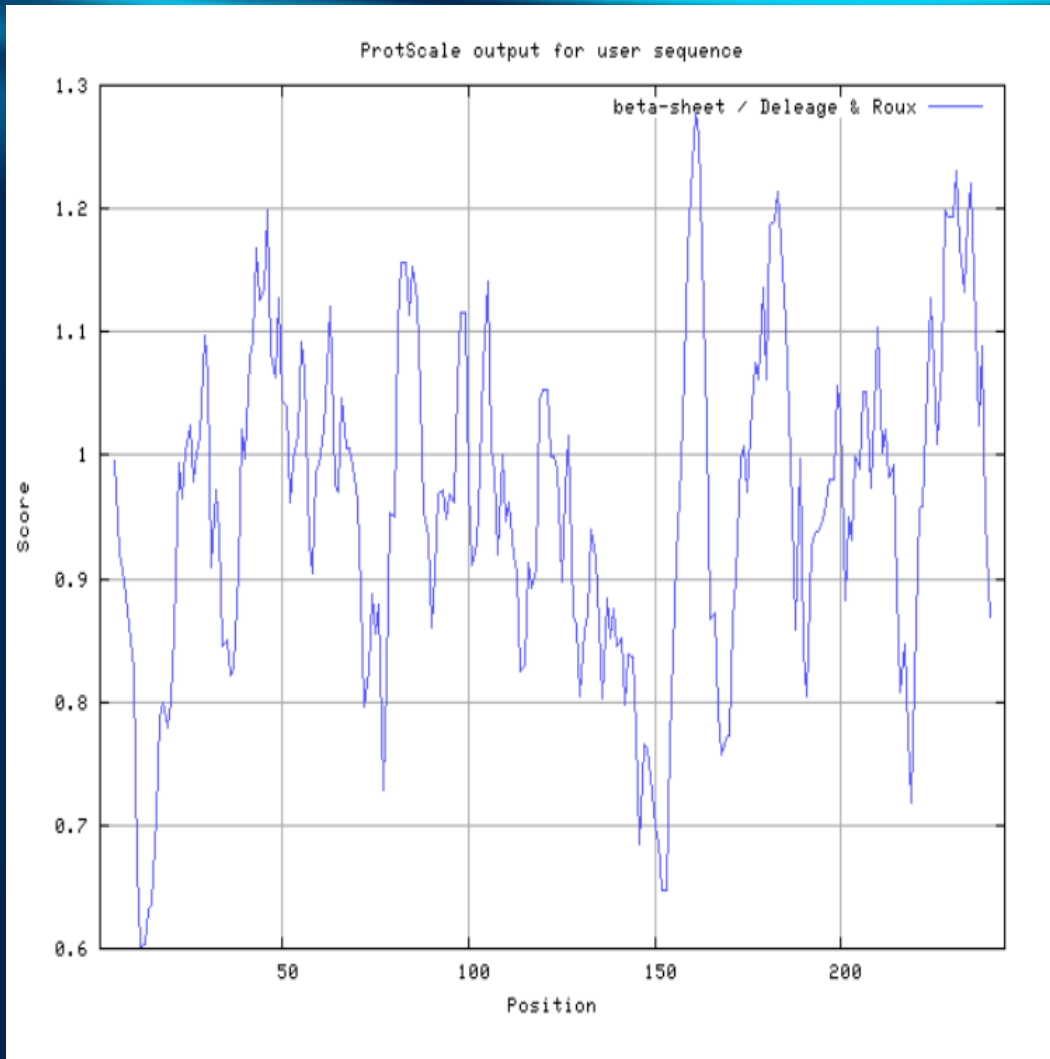
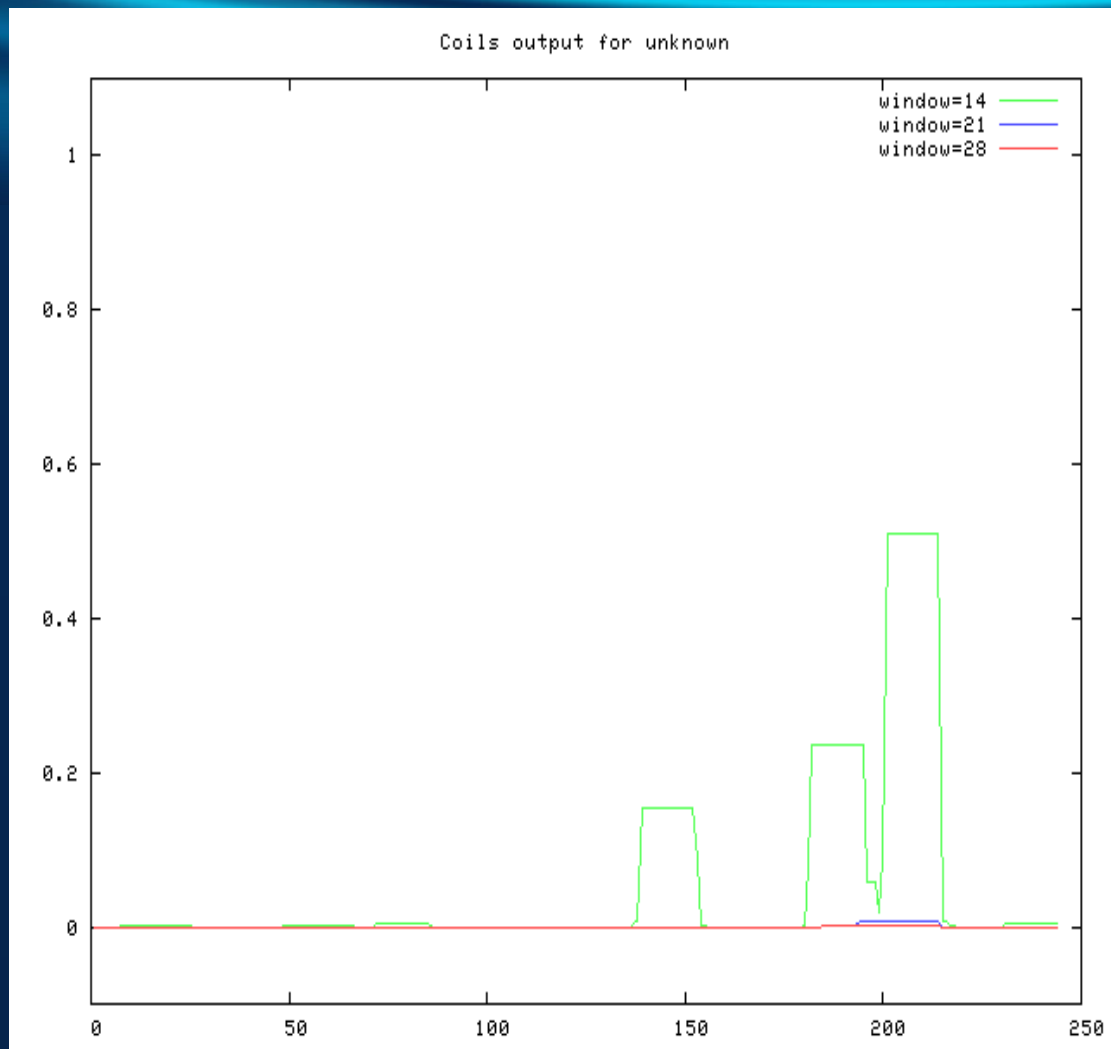# 用Expasy分析gp3的氨基酸序列

预测55-70,140-150，180-195,200-220位之间有alpha螺旋。

ProtScale output for user sequence

beta-sheet / Deleage & Roux

- 预测40-50,75-80,155-165,220-240位之间有 beta 折叠

LOGO

Coils output for unknown

window=14
window=21
window=28

分析在220-240位之间可能有一个卷曲螺旋。

用Weblab中的pepcoil预测卷曲螺旋

```
###########################################
# Program: pepcoil
# Rundate: Sat   9 Jun 2012 23:07:41
# Commandline: pepcoil
#    -auto
#    -other N
#    -frame
#    -window 28
#    -coil
#    -sequence 544148
#    -outfile 544149
# Report_format: motif
# Report_file: 544149
###########################################
#=========================================
#
# Sequence: Gp3      from: 1    to: 244
# HitCount: 0
#
# Window size: 28 residues
#
#=========================================
Max_coil_pos at "*"
#-----------------------------------------
#-----------------------------------------
```

- 结果显示没有卷曲螺旋

用 SMART分析gp3的保守区

• 在201-212之间有个低复杂区域

Blast

用gp3的氨基酸序列检索蛋白质库结果

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
NP_047948.1	gp3 [Streptomyces phage phiC31] >emb|CAA07127.1| gp3 [Strepton	508	508	100%	0.0	100%
CAA53914.1	unnamed protein product [Streptomyces phage phiC31]	509	509	100%	0.0	100%
NP_813719.1	gp3 [Streptomyces phage phiBT1] >emb|CAD80127.1| gp3 [Strepton	441	441	100%	1e-154	85%
ZP_09407037.1	hypothetical protein SPW_7341 [Streptomyces sp. W007] >gb|EHM4	169	169	94%	5e-48	43%
YP_004905875.1	unnamed protein product [Kitasatospora setae KM-6054] >dbj|BAJ29	109	109	76%	7e-26	38%
YP_003714756.1	gp6 [Streptomyces phage phiSASD1] >gb|ADE43473.1| gp6 [Strepto	103	103	85%	2e-23	33%
ZP_04999429.1	hypothetical protein SSAG_03731 [Streptomyces sp. Mg1] >gb|EDX2	94.4	94.4	43%	6e-20	45%

用gp3核苷酸序列检索蛋白质库结果：

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
NP 047948.1	gp3 [Streptomyces phage phiC31] >emb|CAA07127.1| gp3 [Strepton	508	508	100%	0.0	100%
CAA53914.1	unnamed protein product [Streptomyces phage phiC31]	509	509	100%	0.0	100%
NP 813719.1	gp3 [Streptomyces phage phiBT1] >emb|CAD80127.1| gp3 [Strepton	441	441	100%	1e-154	85%
ZP 09407037.1	hypothetical protein SPW_7341 [Streptomyces sp. W007] >gb|EHM2·	169	169	94%	5e-48	43%
YP 004905875.1	unnamed protein product [Kitasatospora setae KM-6054] >dbj|BAJ29	109	109	76%	7e-26	38%

Results Customize

	▾ Cluster ID	Status	Cluster name	▾ Size	Cluster member(s)	▾ Organisms	▾ Length	Identity
☐	UniRef90_B3VGB0	★	Cluster: Gp50	6	B3VGB0 B3VH33 B5LLQ3 G1D3J4 D2XRQ0 Q9B074	Mycobacterium phage Lockley Mycobacterium phage DD5 Mycobacterium phage Solon Mycobacterium phage Lesedi Mycobacterium phage SkiPole Mycobacterium phage Bxb1 (Mycobacteriophage Bxb1)	255	90%

进行比对发现他们保守性很强。

对gp3及Blast出的序列以及gp47蛋白质家族序列构建进化树
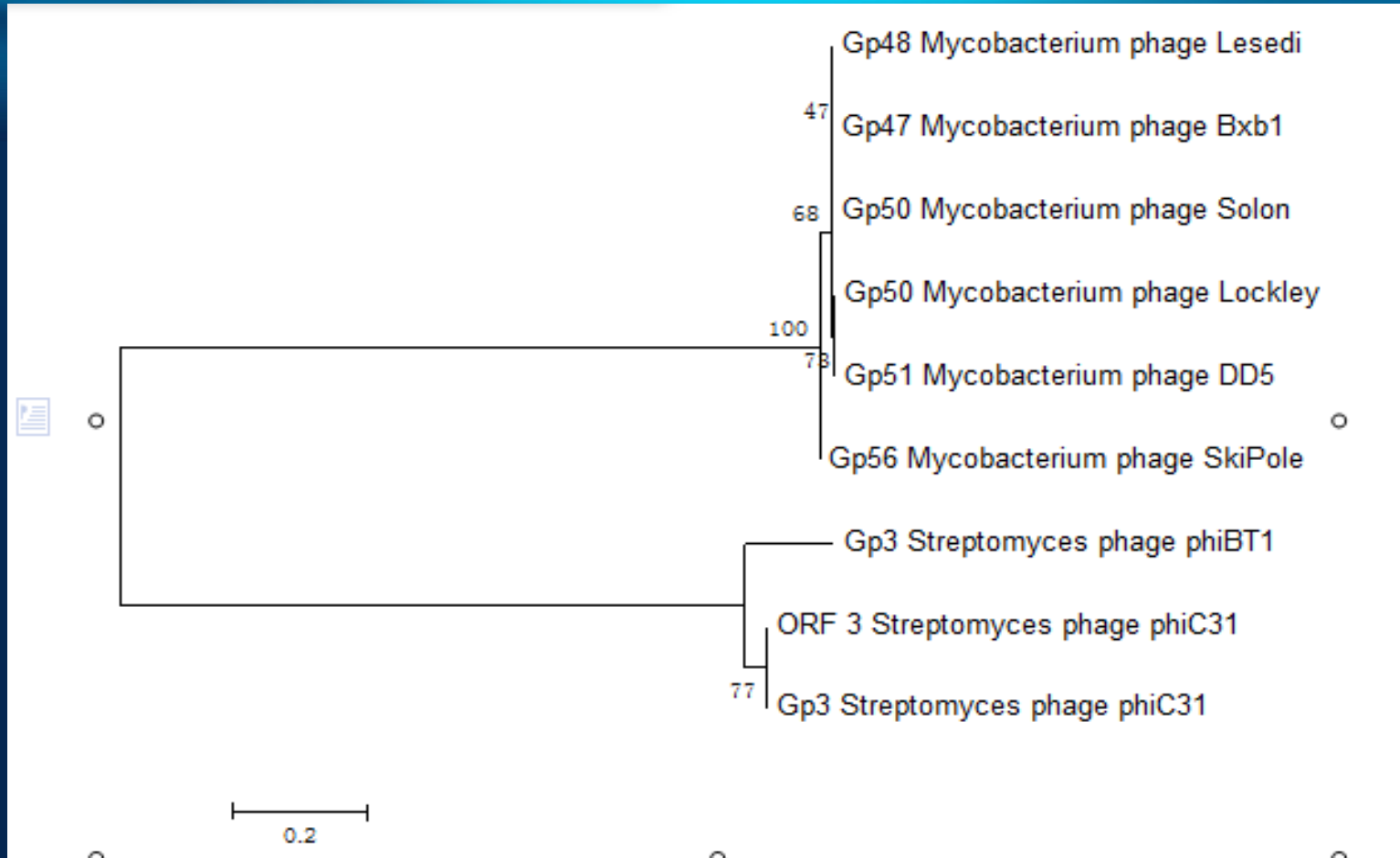
由于用GP3以及在Blast中得到的两条序列进行同源建模，但是都没有得到结果，而有关文献报告噬菌体Bxbi中的gp47和链球菌属噬菌体gp3蛋白功能 一样，属于有趋同进化关系的两个蛋白，所以我们下面以gp47进行同源建模看看能否有预想的卷曲螺旋结构。
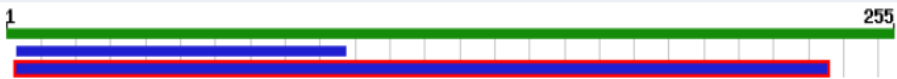
用Swiss-model同源建模

- 用GP47同源建模，得出两个结果，其中model1是4-98位氨基酸，model2的是4-236位，故以model2为模板。
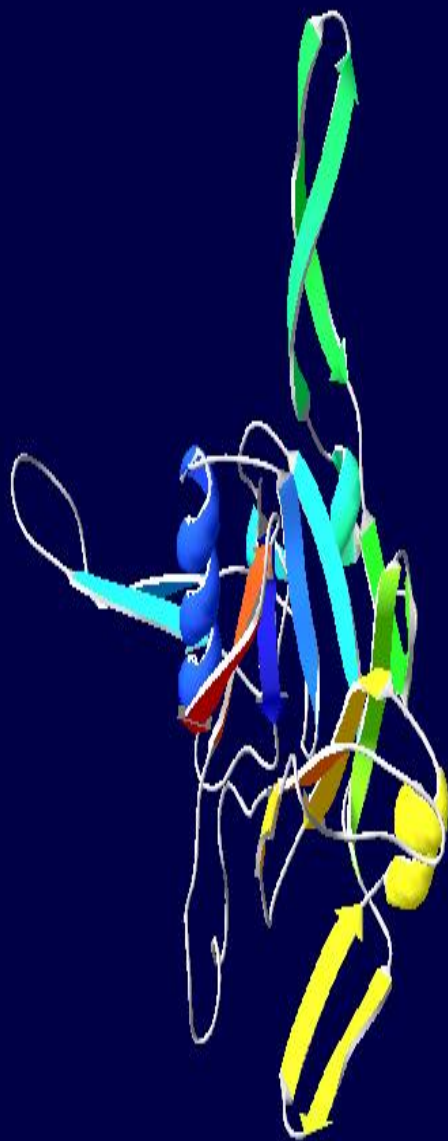
分析有4个alpha螺旋，14个beta折叠，没有卷曲螺旋。

gp3氨基酸序列：

>tr|Q9T216|Q9T216_BPPHC Gp3

MAKRSIWAGDEDNKPKKRETYADDTVGRFHSGYSETNERGKVVPVALDKWRIST
GEQSVADAVAQLFGGTPVENEESTSENFIDVFTDRPKSPWIIEADGIHWDMKLWL
NGKLKHHCDGFDFVSHADEEMIGQPCGCPKLFDERKAAAKEYDAPNPAITVTFTL
ADDPELGRFKFQTGSWTLFKVLHEAEDDVERVGKGGAVLANLELELVEYTPKRG
PMRNKLVSYYKPTITVLKSYNDAIAD

gp47氨基酸序列：

>tr|Q9B074|Q9B074_BPMB1 Gp47

MTQRIVFLPDTQLPFEARKEMQAVIRFIGDVQPYGVVHIGDVLDLPQPSRWNRGT
KGEFEGSVYRDADYAKKNLMEPLRKVYDGWIGMHEGNHDLRAREYLAKNAPAL
EGTHAFDIDVLLDFDGFGVELLPDFYDIAPGWISTHGHMGKMTLSQIAGSTALNG
AKKFGKSVVCGHTHRQAVVSHSFGYGGSVRKTVTGMEVGHLMDMKKANYLKG
GAGNWQMGFGMLTVDGKHVKAEIVPILGGKFTVDGQVWEV

gp3核苷酸序列

- >gi|40807285:23098-23832 Streptomyces phage phiC31, complete genome
- ATGGCGAAGCGTTCGATCTGGGCCGGAGACGAAGACAACAAGC
CGAAGAAGCGTGAGACGTACGCCGACGACACCGTTGGGCGTTTC
CACTCCGGCTACAGCGAGACGAATGAGCGGGGCAAGGTCGTTC
CCGTCGCGCTCGACAAGTGGCGTATCTCGACCGGCGAACAGTCC
GTTGCGGACGCTGTGGCTCAGCTCTTCGGCGGCACCCCGGTTGA
GAACGAAGAGAGCACGTCTGAGAACTTCATCGACGTGTTCACCG
ACCGGCCGAAGTCCCCGTGGATCATTGAGGCTGACGGTATCCAC
TGGGATATGAAGCTTTGGCTGAACGGCAAGCTGAAGCACCACTG
CGACGGCTTTGACTTCGTGTCGCACGCCGACGAAGAGATGATCG
GTCAGCCGTGCGGGTGCCCGAAGCTCTTCGATGAGCGGAAGGC
AGCGGCGAAGGAGTACGACGCGCCGAACCCGGCAATCACCGTG
ACCTTCACGCTCGCCGACGACCCGGAGCTTGGCCGCTTCAAGTT
CCAGACCGGTTCTTGGACGCTCTTCAAGGTTCTGCACGAAGCCG
AAGACGACGTTGAGCGCGTCGGCAAGGGTGGCGCTGTGCTCGC
CAATCTCGAACTTGAGCTTGTGGAGTACACGCCGAAGCGTGGCC
CGATGCGGAACAAGCTTGTGAGCTACTACAAGCCGACCATCACG
GTTCTGAAGTCGTACAACGACGCGATTGCCGACTAG

gp47核苷酸序列：

- >gi|12657854:36020-36787 Mycobacterium phage Bxb1, complete genome
- TCAGACTTCCCAGACCTGGCCGTCAACGGTGAACTTGCCTCCCAGGATCG
GGACGATCTCAGCCTTGACATGCTTGCCGTCGACCGTGAGCATCCCGAA
GCCCATCTGCCAGTTCCCGGCTCCGCCCTTTAGATAGTTGGCCTTCTTCAT
GTCCATCAGGTGCCCGACTTCCATGCCGGTGACGGTCTTGCGCACCGAG
CCGCCGTACCCGAACGAGTGCGAGACGACAGCCTGCCGGTGCGTGTGG
CCGCAGACCACGGACTTGCCGAACTTCTTGGCACCGTTGAGCGCTGTCG
ATCCGGCGATCTGGGATAGCGTCATCTTGCCCATGTGCCCGTGAGTGGA
GATCCAGCCCGGAGCGATGTCGTAGAAGTCAGGCAGCAGCTCCACACCG
AACCCGTCGAAGTCGAGCAGCACGTCGATGTCGAAAGCGTGCGTACCCT
CCAGGGCCGGTGCGTTCTTGGCCAGGTACTCGCGGGCTCGCAGATCGTG
GTTGCCCTCGTGCATCCCGATCCAGCCGTCGTAGACCTTGCGCAGCGGCT
CCATCAGGTTCTTCTTGGCGTAGTCCGCGTCGCGGTACACCGAGCCCTCG
AACTCGCCCTTGGTTCCCCGGTTCCAGCGCGAGGGCTGCGGCAGGTCTA
GGACGTCACCGATATGTACCACGCCGTACGGCTGGACATCCCCGATGAA
GCGGATGACCGCTTGCATCTCTTTGCGCGCCTCGAAAGGCAACTGAGTAT
CGGGTAGAAAGACGATACGCTGAGTCAT

gp3和gp47氨基酸以及核苷酸的比对结果

氨基酸比对结果：

Pairwise Alignment Result

LENGTH	SCORE	IDENTITY	SIMILARITY	GAPS
447	23.0	13/447 (2.9%)	20/447 (4.5%)	395/447 (88.4%)

核苷酸比对结果：

Pairwise Alignment Result

LENGTH	SCORE	IDENTITY	SIMILARITY	GAPS
847	1930.5	423/847 (49.9%)	423/847 (49.9%)	191/847 (22.6%)

gp3和gp47氨基酸以及核苷酸的比对结果

LOGO

氨基酸比对结果：

Pairwise Alignment Result

LENGTH	SCORE	IDENTITY	SIMILARITY	GAPS
447	23.0	13/447 (2.9%)	20/447 (4.5%)	395/447 (88.4%)

核苷酸比对结果：

Pairwise Alignment Result

LENGTH	SCORE	IDENTITY	SIMILARITY	GAPS
847	1930.5	423/847 (49.9%)	423/847 (49.9%)	191/847 (22.6%)

2012/6/14

空间位阻比较

Gp47

Gp3
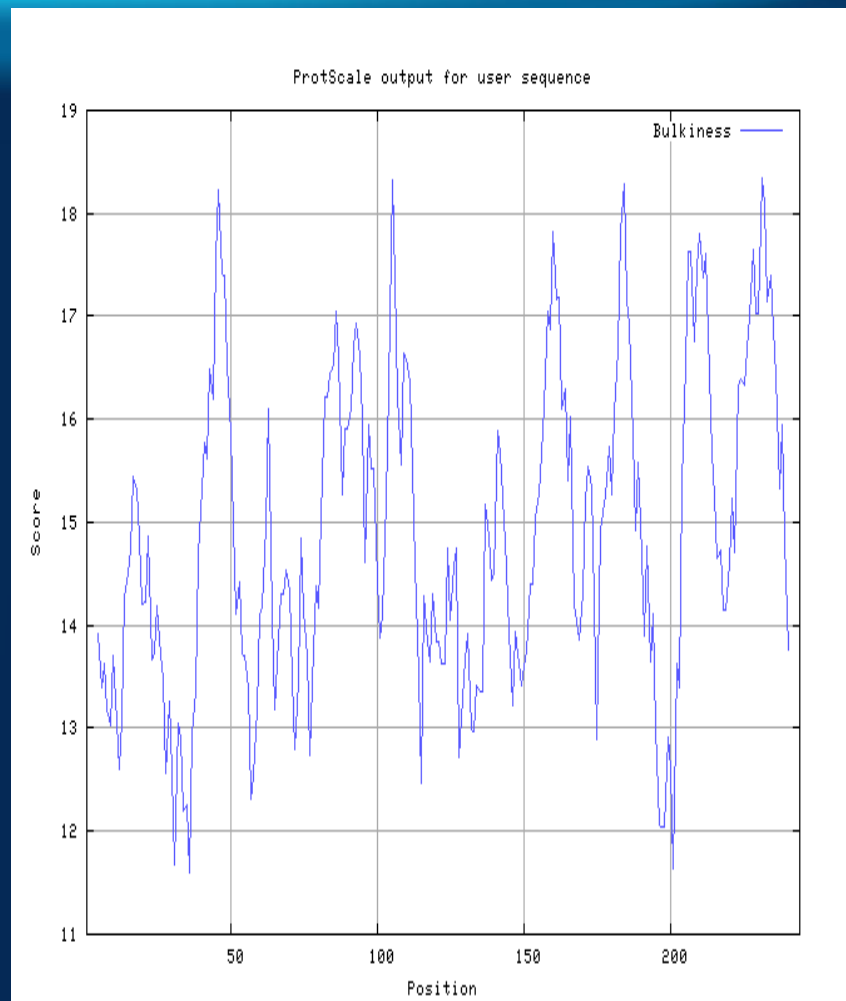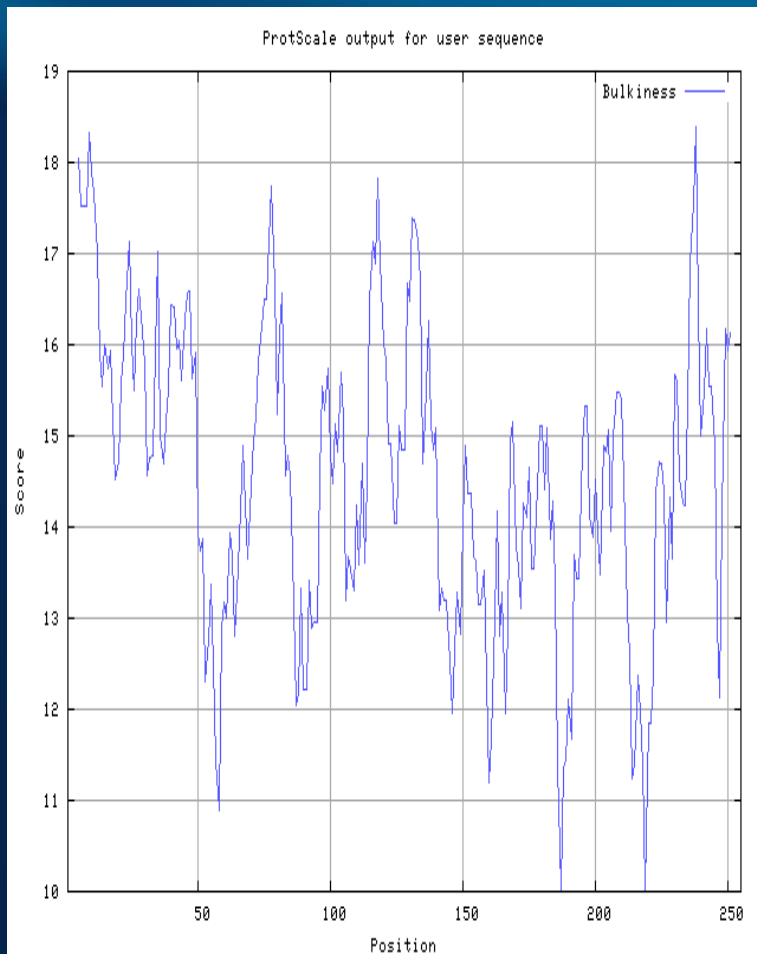
分子质量比较

Gp47
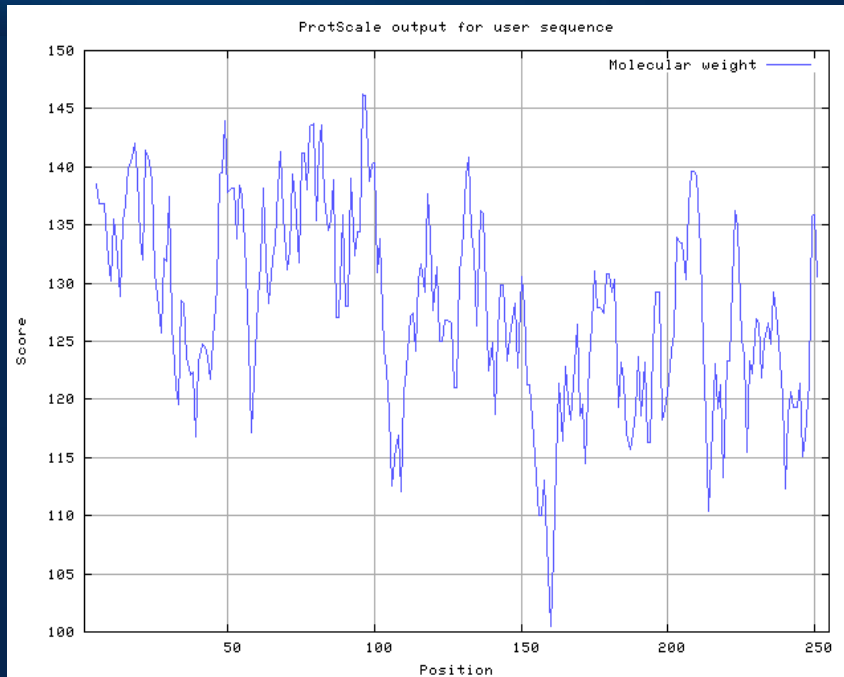
Gp3
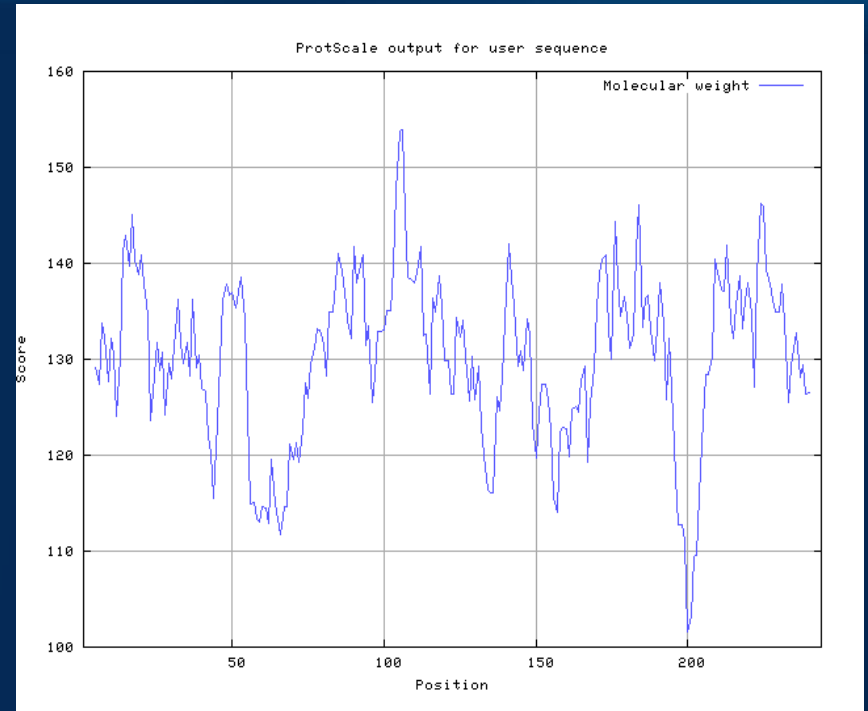
平均柔性性比较

Gp47   **Gp3**
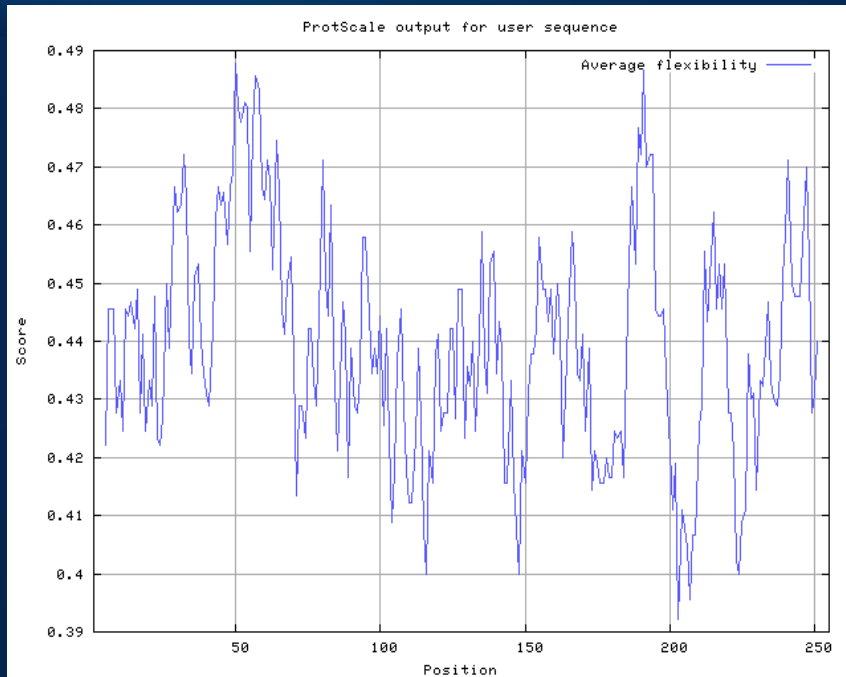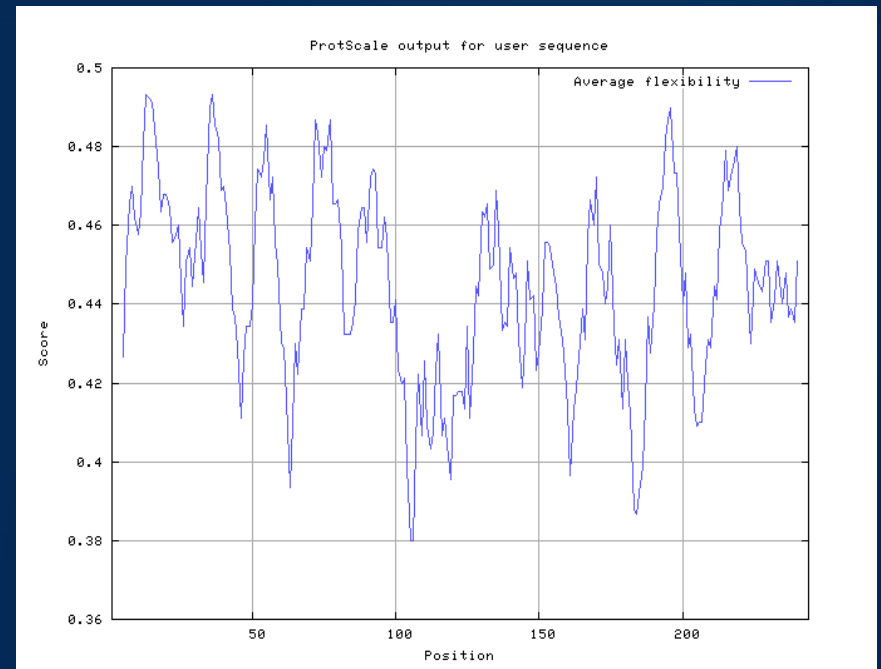
alpha螺旋比较
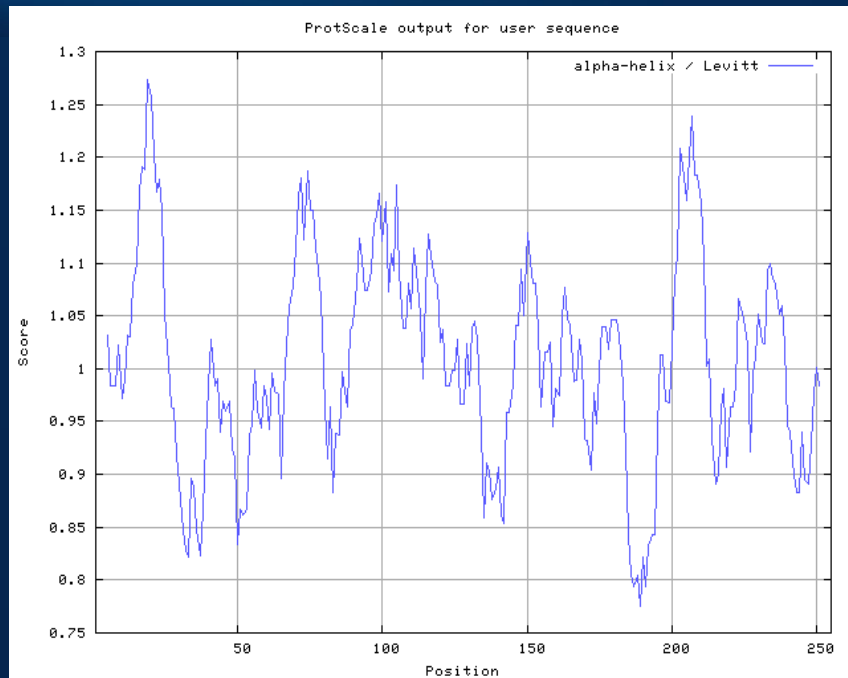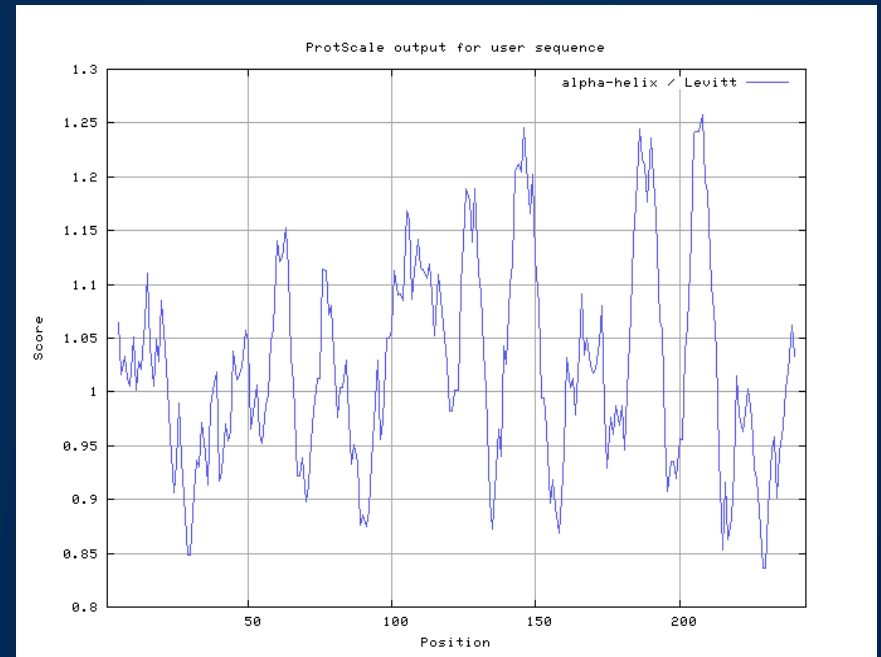
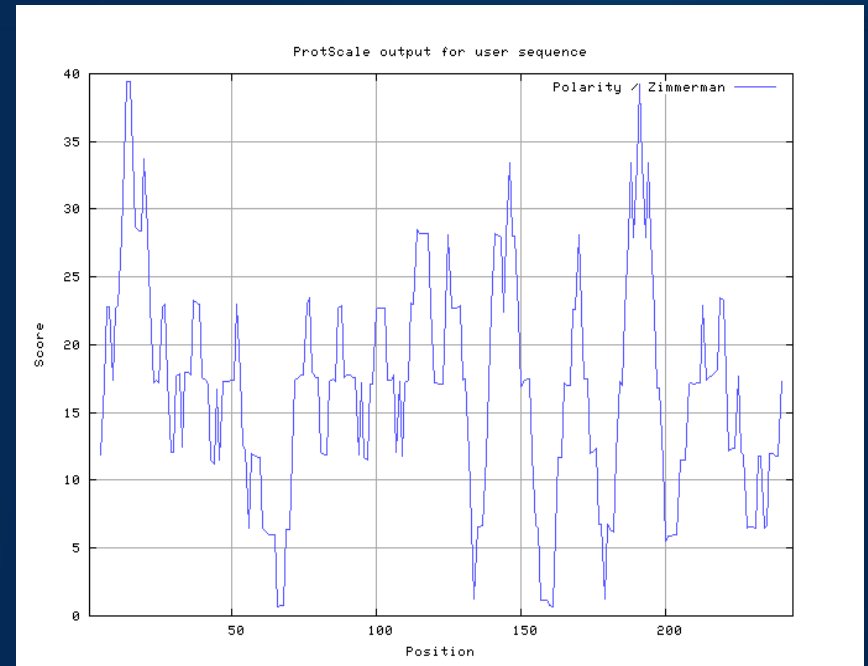**Gp47**   **Gp3**
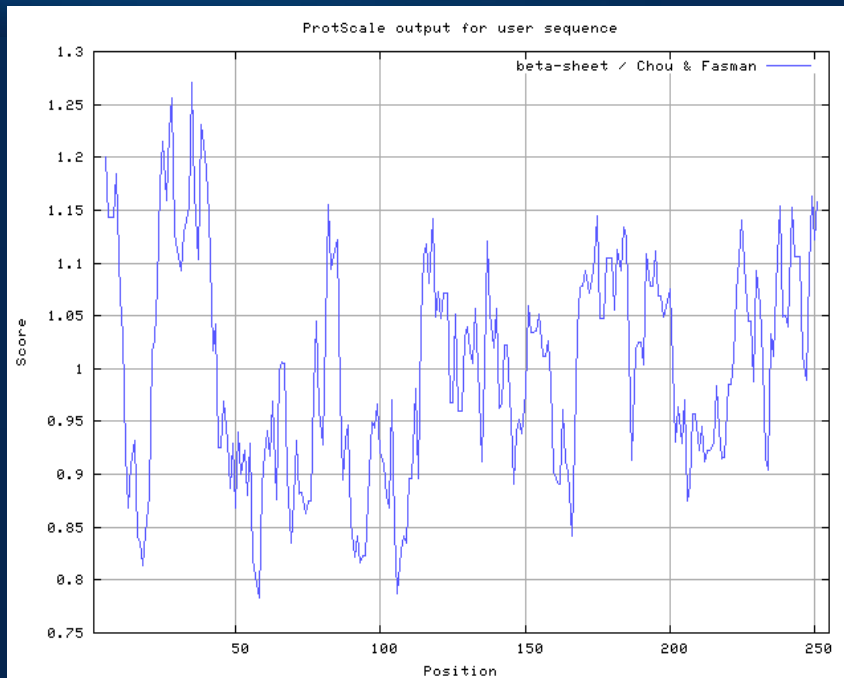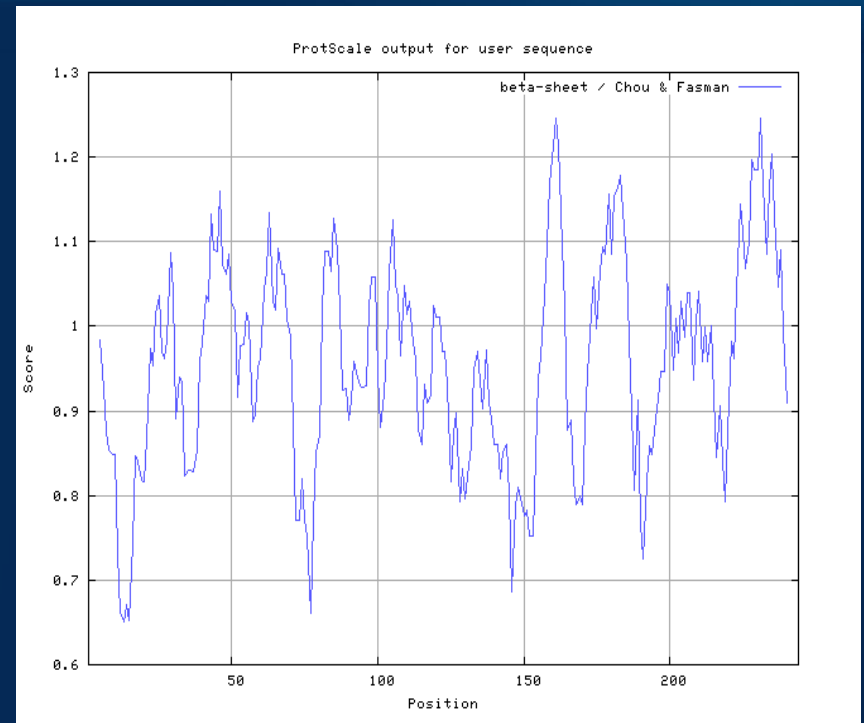
极性比较
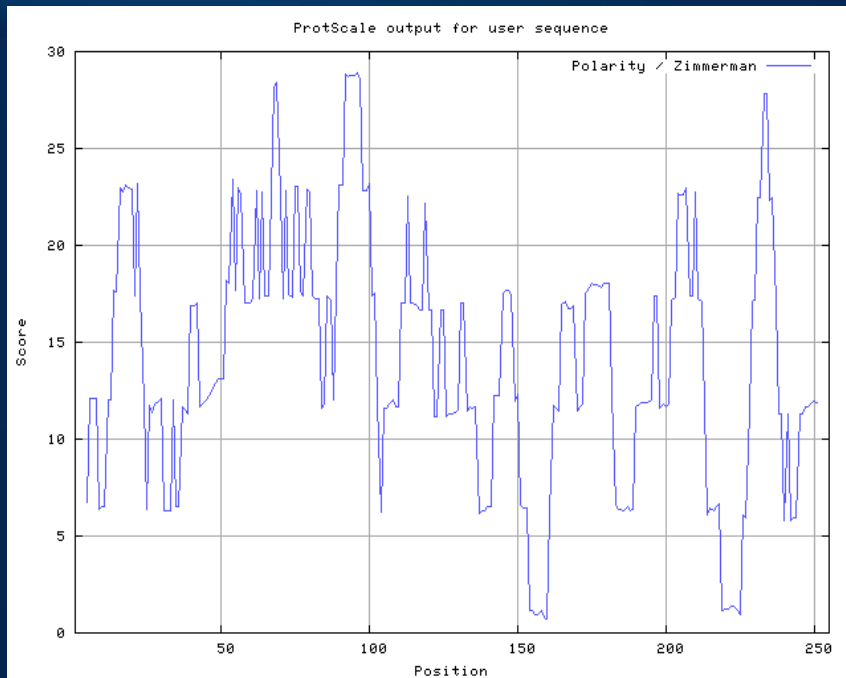
Gp47

Gp3

beta折叠的比较

Gp47

Gp3

结论

对gp3氨基酸结构的分析我们可以预测gp3中含有201-212位有一个低复杂区，没有很强有力的证据证明含有卷曲螺旋。

对gp3以及与它同源的三级结构的预测失败了，但对qp47的是三级结构预测得到了结果，想可以借助gp47的结构对qp3的结构进行预测。

对gp3和gp47进行的比对结果显示尽管两者的功能相似，但不论是在氨基酸序列、核酸序列、还是氨基酸结构性质的分析比较，差别显著，应该通过其他思路或方法对gp3进行预测。

- Khaleel T, Younger E, McEwan AR, Varghese AS, Smith MC.A phage protein that binds φC31 integrase to switch its directionality.Mol Microbiol. 2011 Jun;80(6):1450-63. doi: 10.1111/j.1365-2958.2011.07696.x. Epub 2011 May 25.

- Thanafez Khaleel, Ellen Younger,Andrew R. McEwan, Anpu S. Varghese andMargaret C. M. Smith.A phage protein that binds fC31 integrase to switch its directionality.Molecular Microbiology (2011) 80(6), 1450–1463

- Ghosh P, Wasil LR, Hatfull GF.Control of phage Bxb1 excision by a novel recombination directionality factor

致谢

感谢罗老师在这一学期中对我们的教育与指导！
感谢春季班各位同学对我们的帮助！
感谢组内成员所作出的努力！

单击输入单位名称