



# 蜂王浆主蛋白\_MRJP2的结构预测

报告人：汪雪玉

小组成员：薛菲 亓玉萍 赵玲娜 汪雪玉

# 报告纲要

- 研究背景
- 研究目的
- 结构分析
  - 一级结构分析
  - 二级结构预测
  - 三维结构预测
- 结果讨论
- 参考文献

# 研究背景



蜂王浆(Royal Jelly, RJ)是5~15日龄工蜂咽下腺和上颚腺所分泌的乳白色或淡黄色乳状液体，主要用于饲喂蜂王及3日龄内的蜂幼虫，是蜂王幼虫整个发育期的唯一食物。

现代营养学和医学研究表明：  
蜂王浆具有增强机体免疫功能、延缓衰老、防癌抗癌、降血糖、降血压、抗疲劳等保健功能和疗效。



# 研究背景

蜂王浆富含多种对机体有益的物质，其中蛋白质约占干重的**50%**，包括水溶性蛋白质和水不溶性蛋白质。水溶性蛋白质占蜂王浆中总蛋白质含量的**46%~89%**，为蜂王浆蛋白质的主要部分，称为蜂王浆主蛋白 (Major Royal Jelly Proteins, MRJPs)。迄今为止，研究人员已经发现蜂王浆主蛋白家族有**10**个成员 (MRJP1~MRJP9和MRJP $\psi$ )。MRJP2是该蛋白质家族的第**2**个成员，分子量为**49~51 kDa**，等电点为**6.2~7.9**，属于一种弱碱性糖蛋白，其在蜂王浆主蛋白中含量为**16%**左右。

# 研究目的

目前为止，对于蜂王浆主蛋白家族成员的研究，主要集中在基因水平上，在UniprotKB中发现只有MRJP 1-4是蛋白水平上的并经过了审阅。由于分离蜂王浆主蛋白家族各成员的方法不是很完善，进而影响到对各成员蛋白结构和功能性质的研究。蜂王浆中蛋白质结构信息的缺乏必将影响其生物学功能的研究进程。鉴于此，我们小组试图利用实用生物信息技术对MRJP2进行结构预测和分析，旨在通过对其结构分析得到一种更好的分离方案。

# 一级结构分析

- MRJP2的序列
- 信号肽分析
- 氨基酸组成分析
- 疏水性分析
- 重复序列分析

# MRJP2的序列

✦ 从Uniprot中得到MRJP2的序列:

```
>sp|O77061|MRJP2
```

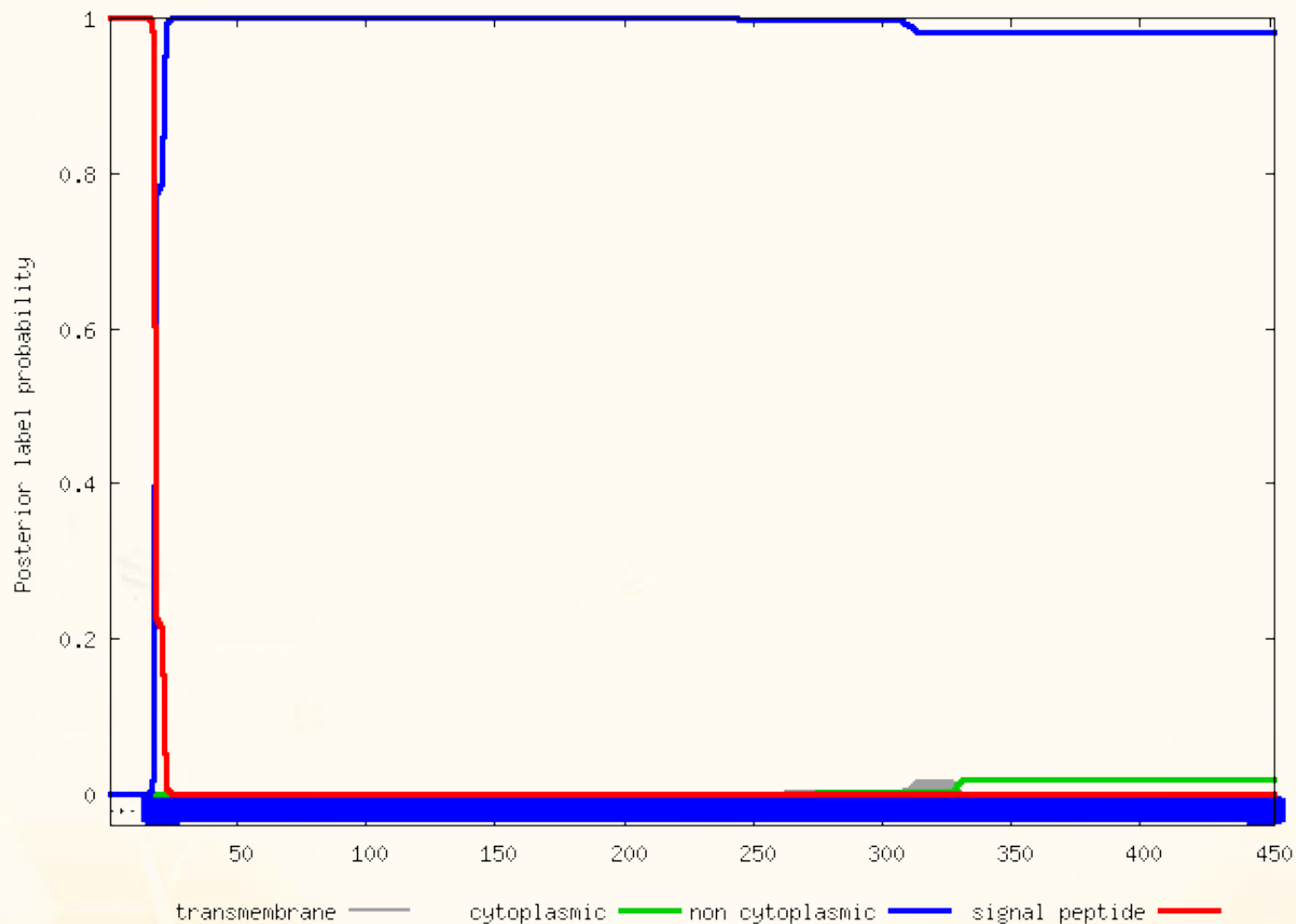
```
MTRWLFMVACLGIAACQGAIVRENSPRNLEKSLNVIHEWKYF  
DYDFGSEERRQAAIQSGEYDHTKNYPFDVDQWRDKTFVTIL  
RYDGVPSTLNVISGKTGKGGRLPKPYPDWSFAEFKDCSKIV  
SAFKIAIDKFDRLWVLDSGLVNRTVPVCAPKLHVFDLKTSNH  
LKQIEIPHDIAVNATTGKGGVSLAVQAIDLANTLVYMADHKG  
DALIVYQNADDSFHRLTSNTFDYDPRYAKMTIDGESFTLNKG  
ICGMALSPVTNNLYYSPLASHGLYYVNTAPFMKSQFGENVV  
QYQGSEDILNTQSLAKAVSKNGVLFVGLVGNNSAVGCWNEH  
QSLQRQNLEMVAQNDRTLQMIAGMKIKEELPHFVGSNKPVK  
DEYMLVLSNRMQKIVNDDFNFDVNFRI LGANVKELIRNTHC  
VNNNQNDNIQNTNNQNDNNQKNNKKNANNQKNNNQNDN
```



# 信号肽分析

我们利用**Phobius prediction**对MRJP2全序列进行分析如下：

Phobius posterior probabilities for sp|077061|MRJP2





# 信号肽分析

## Phobius prediction 分析结果:

ID sp|O77061|MRJP2

FT SIGNAL 1 17

FT REGION 1 4 N-REGION.

FT REGION 5 13 H-REGION.

FT REGION 14 17 C-REGION.

FT TOPO\_DOM 18 452 NON CYTOPLASMIC.

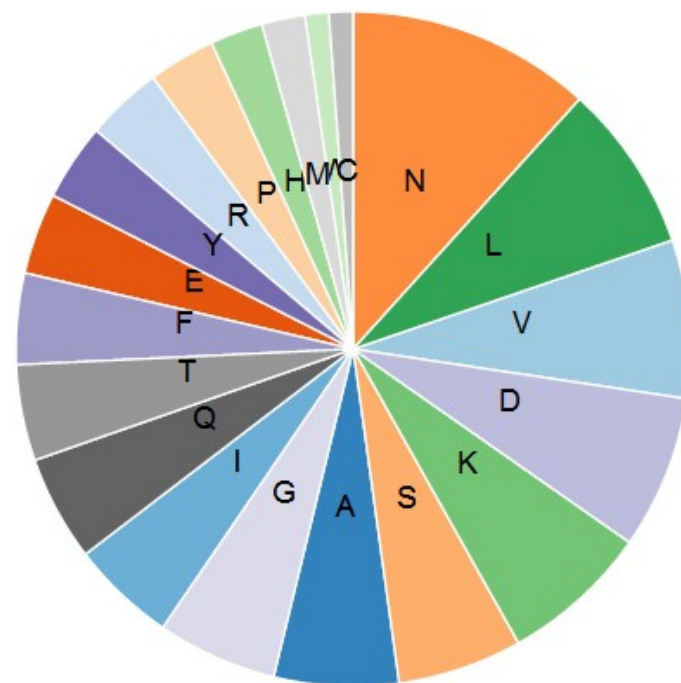
由此上结果可以看出，MRJP2的信号肽序列为1-17，切除信号肽后，分析出MRJP2为非胞内蛋白即分泌蛋白。

# 氨基酸组成分析

ProtParam分析氨基酸成分:

氨基酸	个数	百分比	氨基酸	个数	百分比
Ala(A)	26	6.00%	Lys(K)	31	7.10%
Arg(R)	16	3.70%	Met(M)	9	2.10%
<b>Asn(N)</b>	<b>51</b>	<b>11.70%</b>	Phe(F)	19	4.40%
Asp(D)	32	7.40%	Pro(P)	14	3.20%
Cys(C)	5	1.10%	Ser(S)	26	6.00%
Gln(Q)	22	5.10%	Thr(T)	20	4.60%
Glu(E)	17	3.90%	Trp(W)	5	1.10%
Gly(G)	25	5.70%	Tyr(Y)	16	3.70%
His(H)	11	2.50%	Val(V)	33	7.60%
Ile(I)	22	5.10%	Pyl(O)	0	0.00%
Leu(L)	35	8.00%	Sec(U)	0	0.00%

Amino Acid composition



PredictProtein

利用**PEPSTATS** 分析, MRJP2的一些理化性质如下:

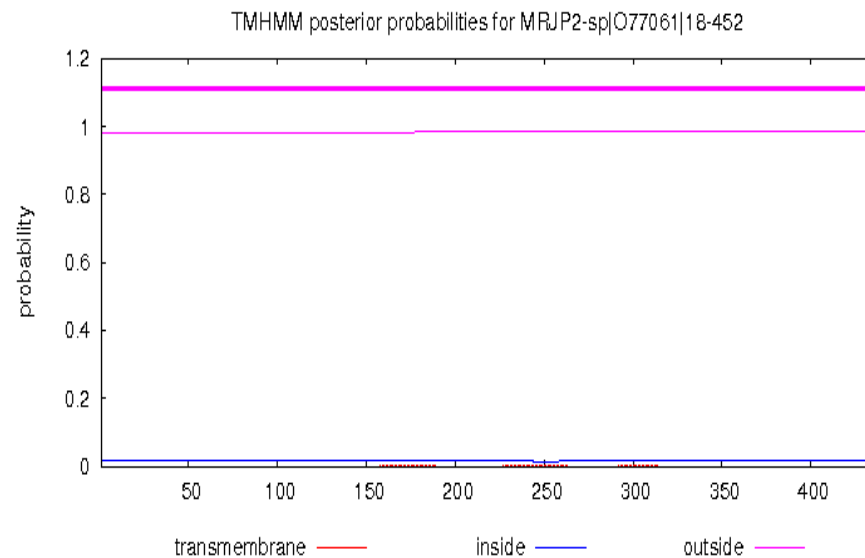
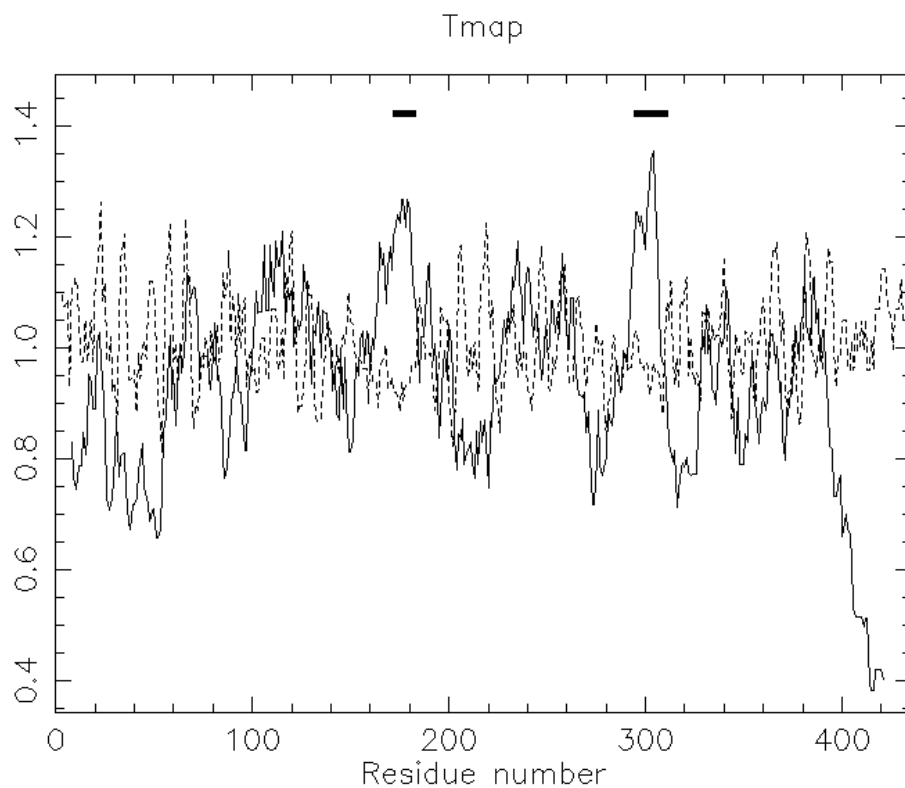
Molecular weight = 49191.04      Isoelectric Point = 7.1003

Property	Residues	Number	Mole%
Tiny	(A+C+G+S+T)	102	23.448
Small	(A+B+C+D+G+N+P+S+T+V)	232	53.333
Aliphatic	(A+I+L+V)	116	26.667
Aromatic	(F+H+W+Y)	51	11.724
Non-polar	(A+C+F+G+I+L+M+P+V+W+Y)	209	<b>48.046</b>
Polar	(D+E+H+K+N+Q+R+S+T+Z)	226	<b>51.954</b>
Charged	(B+D+E+H+K+R+Z)	107	24.598
Basic	(H+K+R) <b>NH<sub>3</sub><sup>+</sup></b>	58	13.333
Acidic	(B+D+E+Z) <b>COO<sup>-</sup></b>	49	11.264



# 疏水性分析

通过**tmap**和**TMHMM**工具分析序列疏水性:

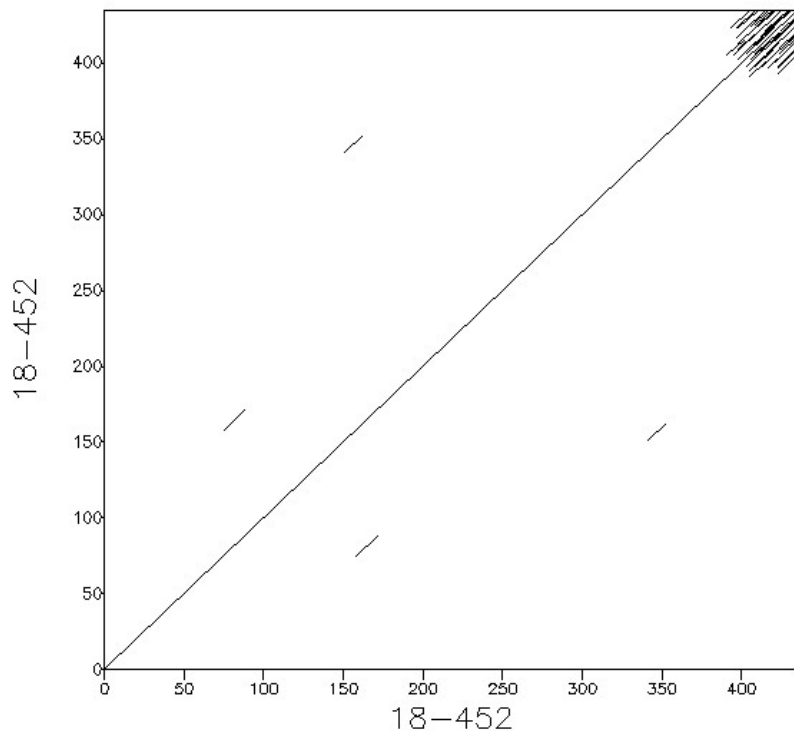




# 重复序列分析

Dotmatcher: fasta::698979:18-452 vs fasta::698980:18-452..

(window size = 10, threshold = 23.00 12/01/14)



Dotmatcher

MRJP2末尾序列:  
 VNNNQNDNIQNTNNQNDNN  
 QKNNKKNANNQKNNNQNDN

No. of Repeats	Total Score	Length	Diagonal	BW-From	BW-To	Level
2	67.19	17	19	399	415	1

399- 415 (33.98/16.80) NNNQNDNIQNTNNQNDN

419- 435 (33.21/16.27) NNKKNANNQKNNNQNDN

No. of Repeats	Total Score	Length	Diagonal	BW-From	BW-To	Level
2	107.49	31	82	172	202	3

172- 202 (51.68/32.65) LAVQAIDLANTLVYMADHKGDALIVYQNADD

251- 281 (55.81/35.77) LASHGLYVNTAPFMKSQFGENNVQYQGS

RADA  
R

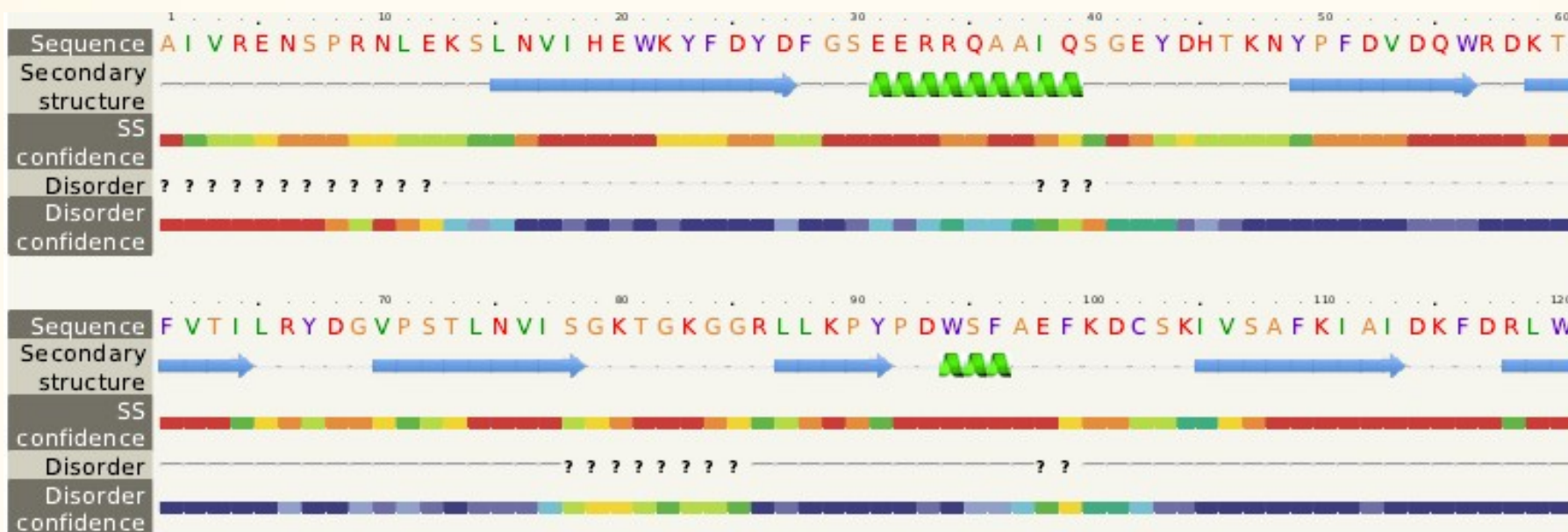


# 二级结构预测

- Phyre<sup>2</sup>预测
- PSIPred预测

# Phyre<sup>2</sup>预测结果

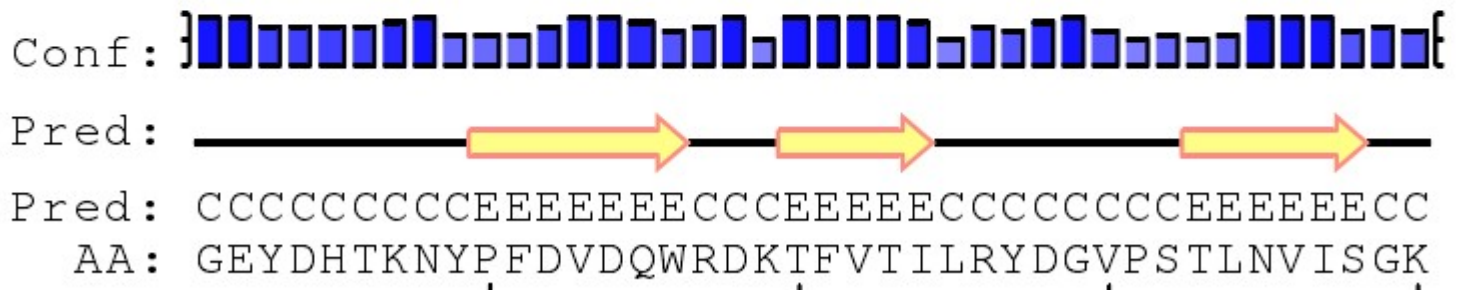
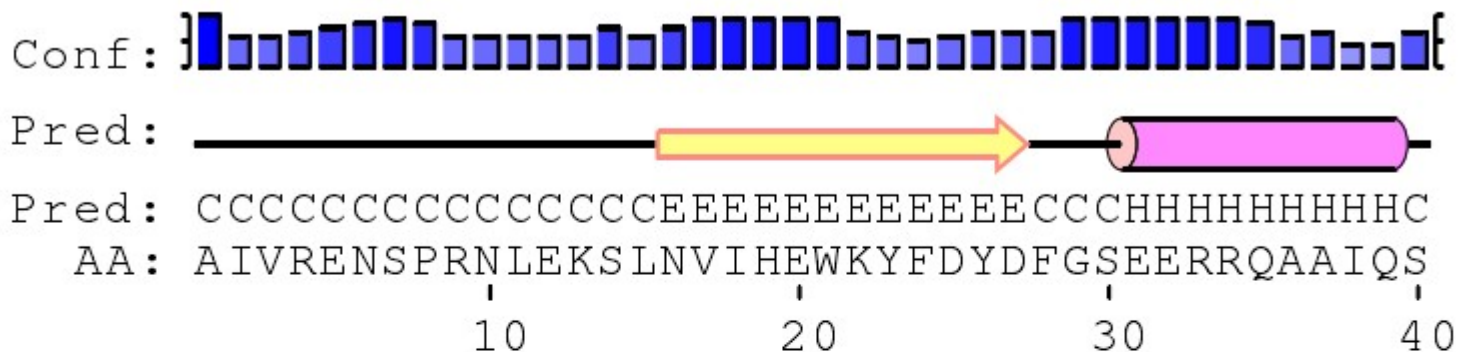
Phyre<sup>2</sup>预测的二级结构中，包含27个β折叠和6个α螺旋。








# PSIpred预测结果


PSIpred预测的二级结构中，包含27个β折叠和2个α螺旋。



Legend:

 = helix      Conf:  = confidence of prediction

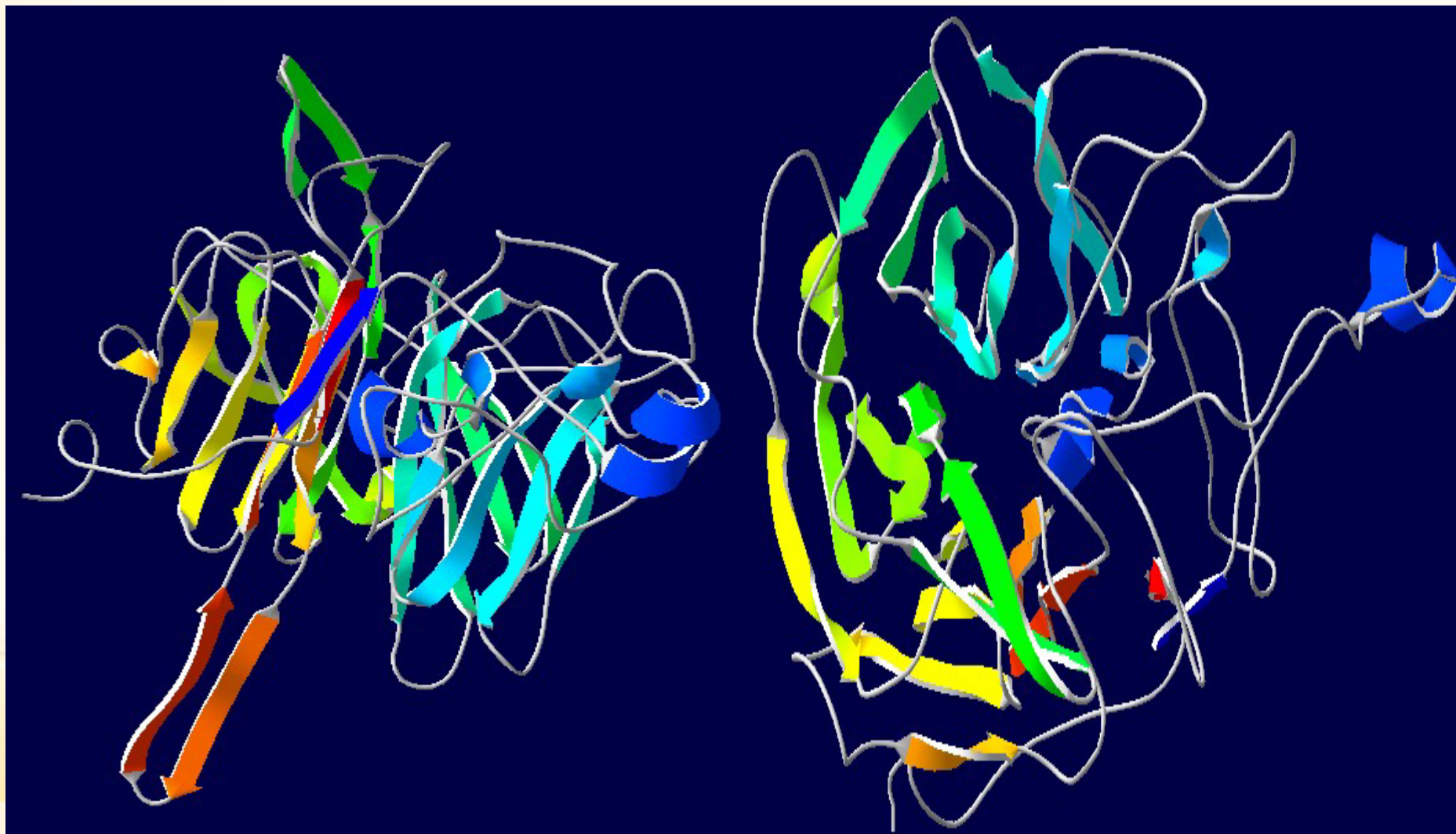
 = strand      Pred: predicted secondary structure

 = coil      AA: target sequence

# 三维结构预测

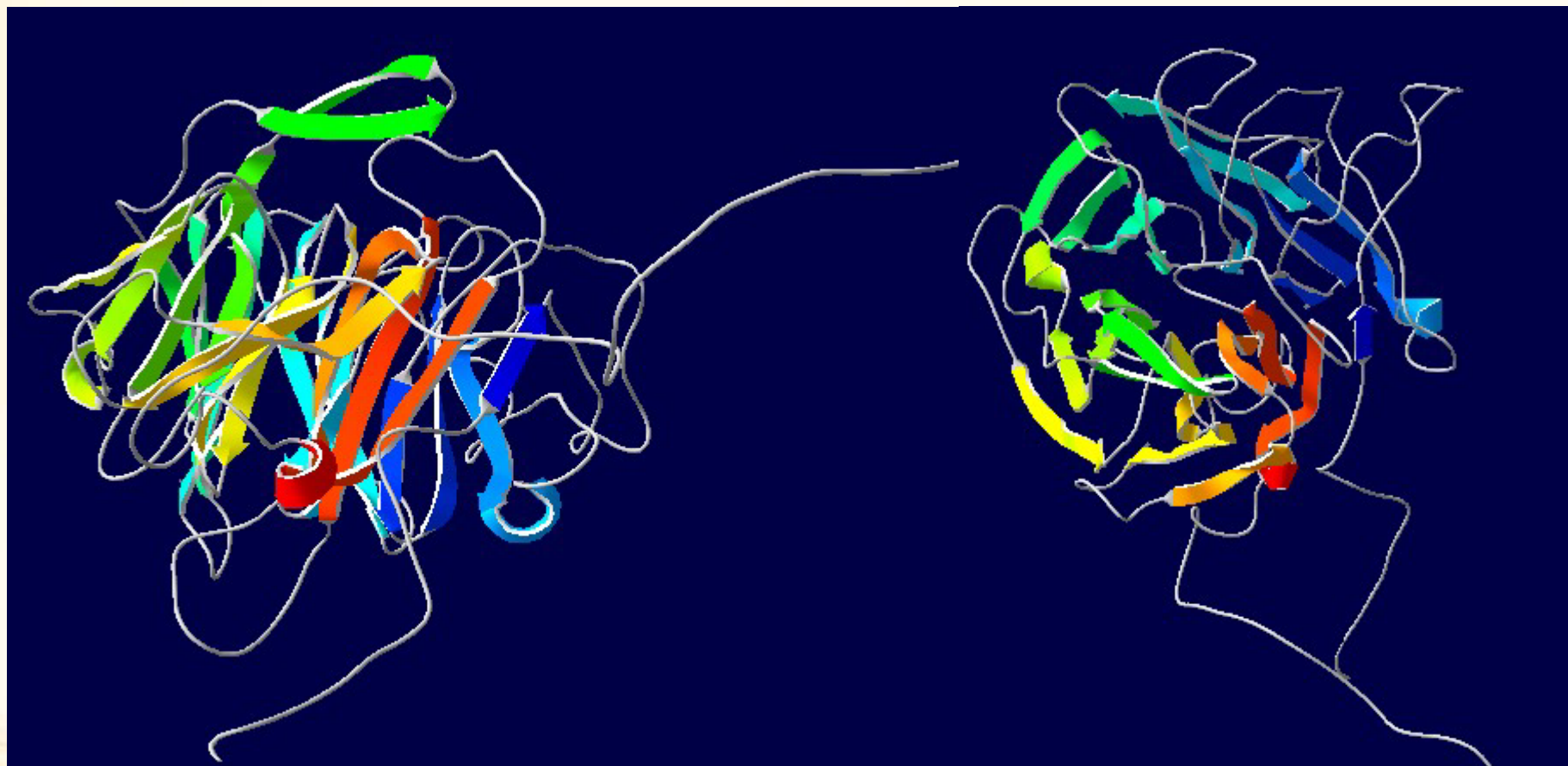
- SWISS-MODEL预测
- PSIPred 预测
- HHpred预测
- Phyre<sup>2</sup>预测

# SWISS-MODEL 预测结果





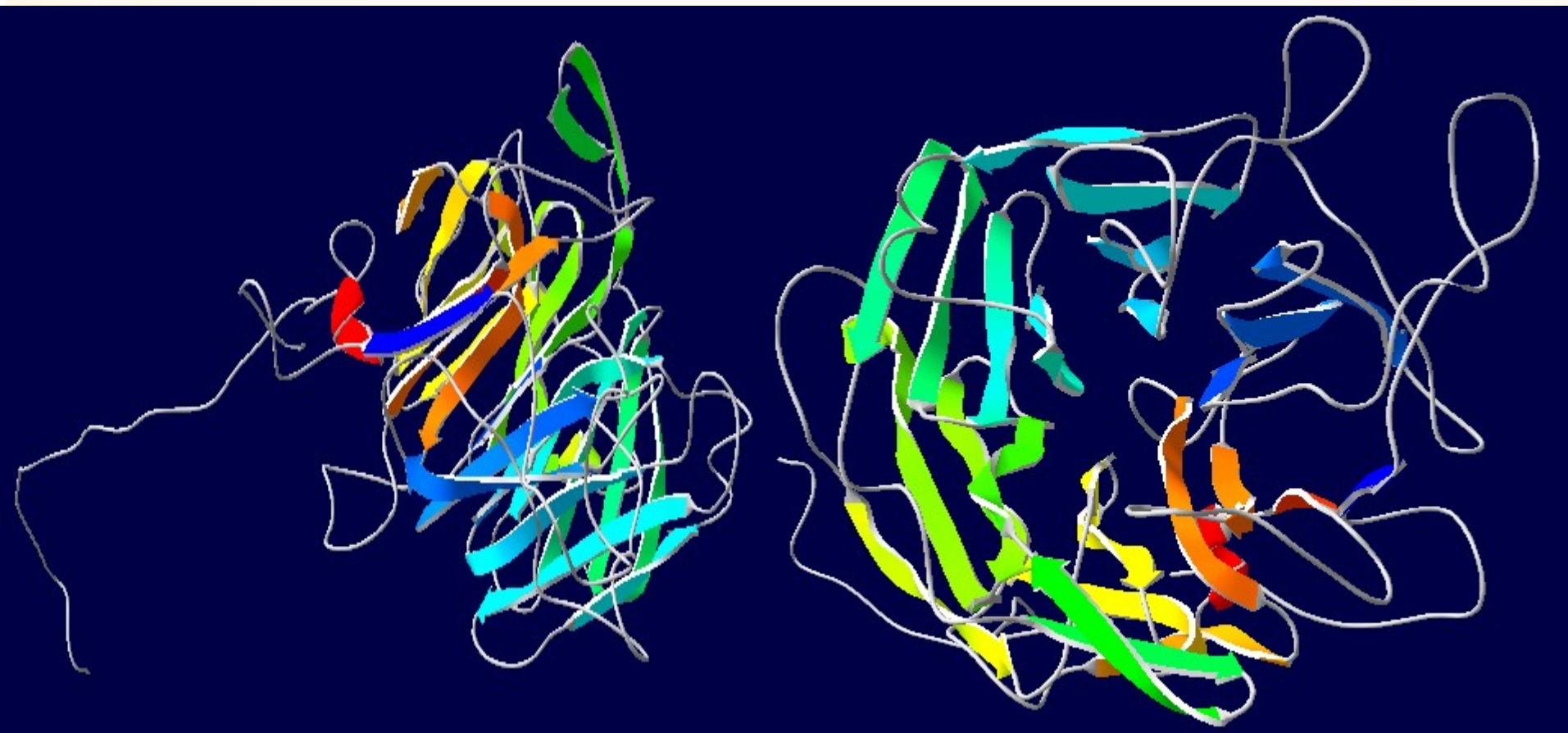
# PSIpred 预测结果





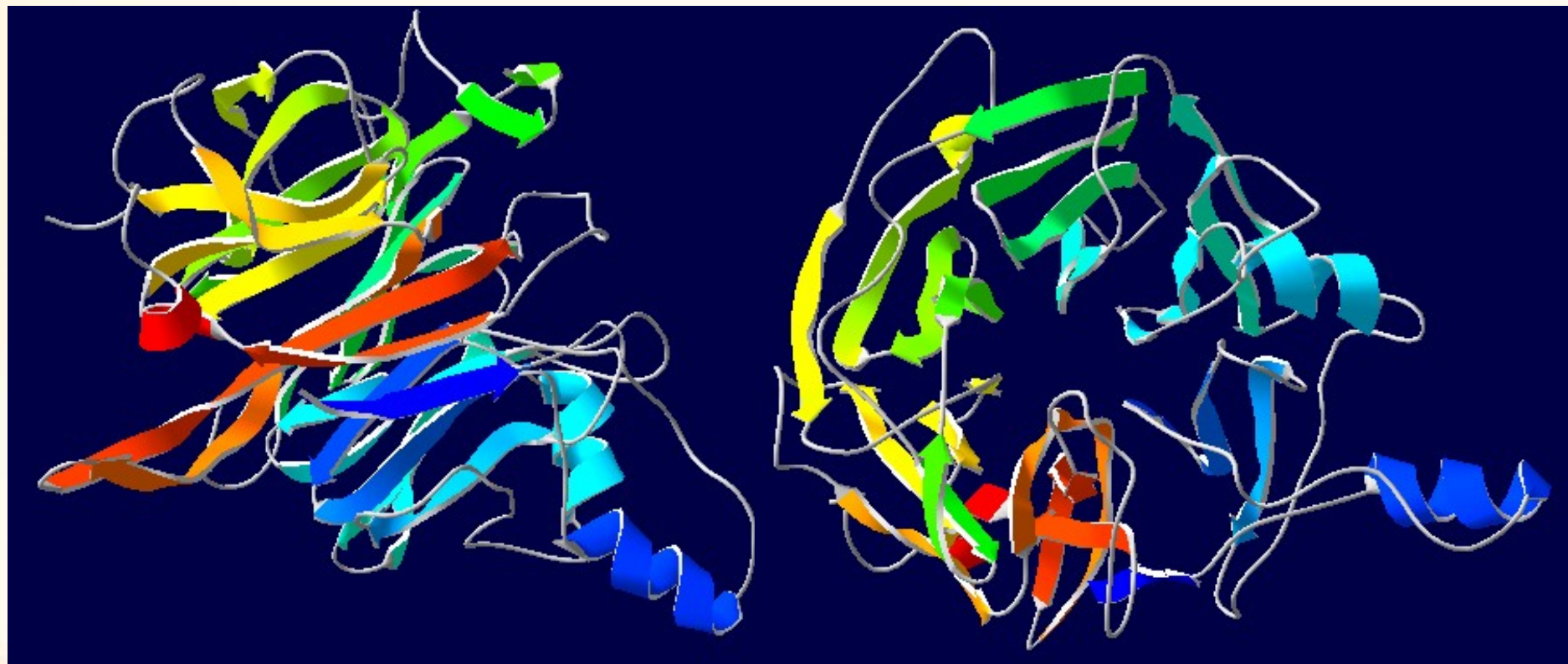


# HHpred预测

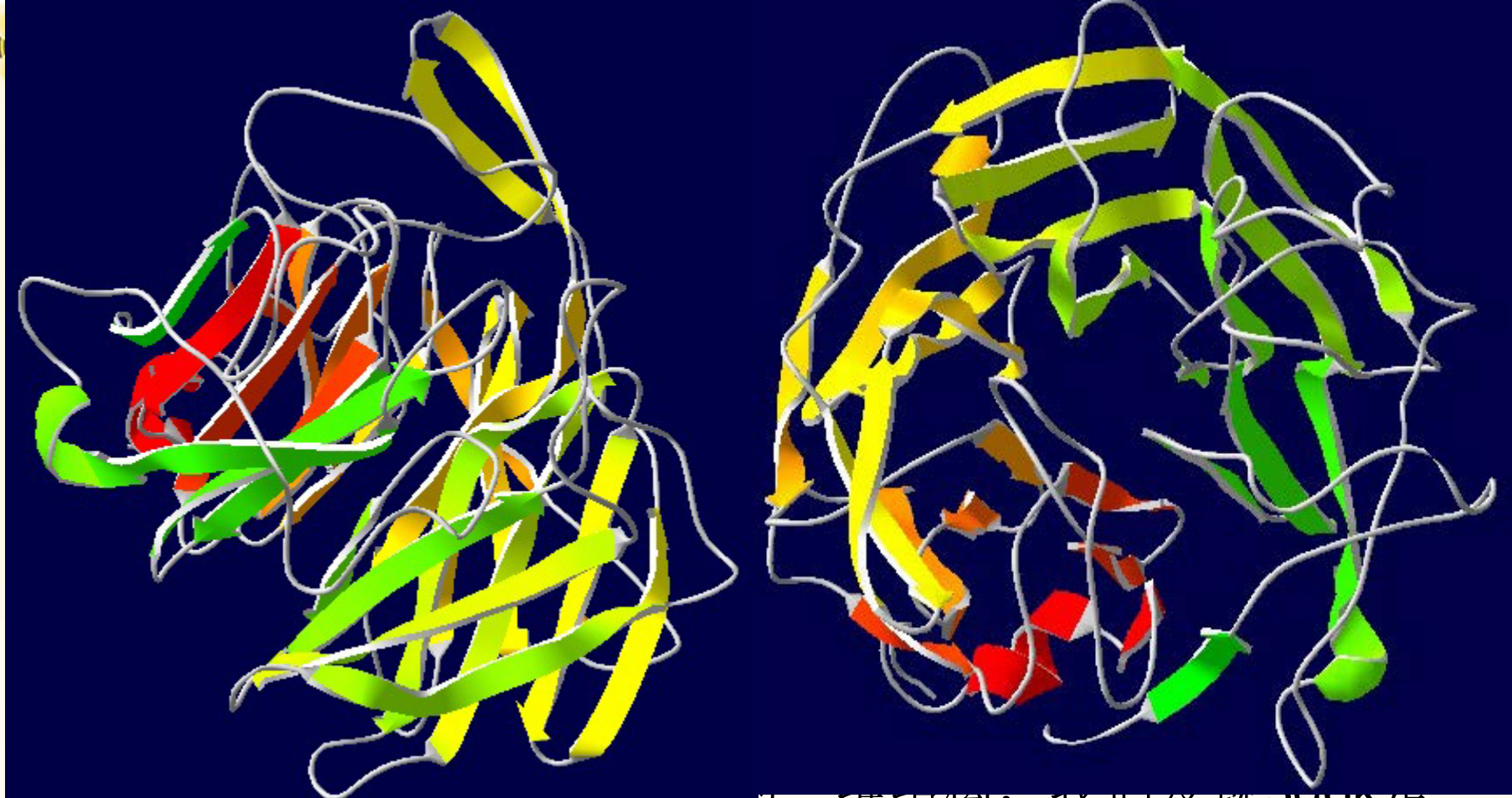




# Phyre<sup>2</sup>预测结果







通过软件对蛋白序列进行比对，我们发现3q6k是其最相似的模板，从PDB中得知[3q6k](#)是Lutzomyia longipalpis（长须罗蛉）分泌的一种唾液蛋白，该蛋白由两个亚基构成。

返回



# 结果讨论

- **MRJP2等电点**—可以考虑利用阳离子交换层析
- **MRJP2疏水性**—鉴于疏水性较弱排除了疏水层析
- **MRJP2末尾富含N的结构**—单氨基酸重复序列Q与神经退行性疾病有关，在蛋白质相互作用中是重要的调节分子，怀疑MRJP2也易与其他蛋白相互作用。
- **MRJP2三维结构预测**—与长须罗蛉唾液蛋白的结构最相近，而且有实验通过圆二色谱测定其 $\beta$ 折叠比 $\alpha$ 螺旋多很多，因此我们可以尝试通过研究已经确定的3q6k结构，寻找可能的分离方案。

# 参考文献

1. A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L.
2. 蜂王浆中主蛋白成分(MRJP2)的分离纯化及圆二色谱分析。
3. Estimation and characterisation of major royal jelly proteins obtained from the honeybee *Apis mellifera*.
4. Identification of major royal jelly proteins in the brain of the honeybee *Apis mellifera*.