



# 人体内caspase蛋白的相关分析

组员：董振，孙彦刚，  
樊惠中，高薇。

报告人：高薇

# 报告提纲



- 一、caspase活性机制及相关背景
- 二、caspase3的基因结构分析
- 三、caspase3的蛋白结构功能分析
- 四、caspase蛋白的生物学意义

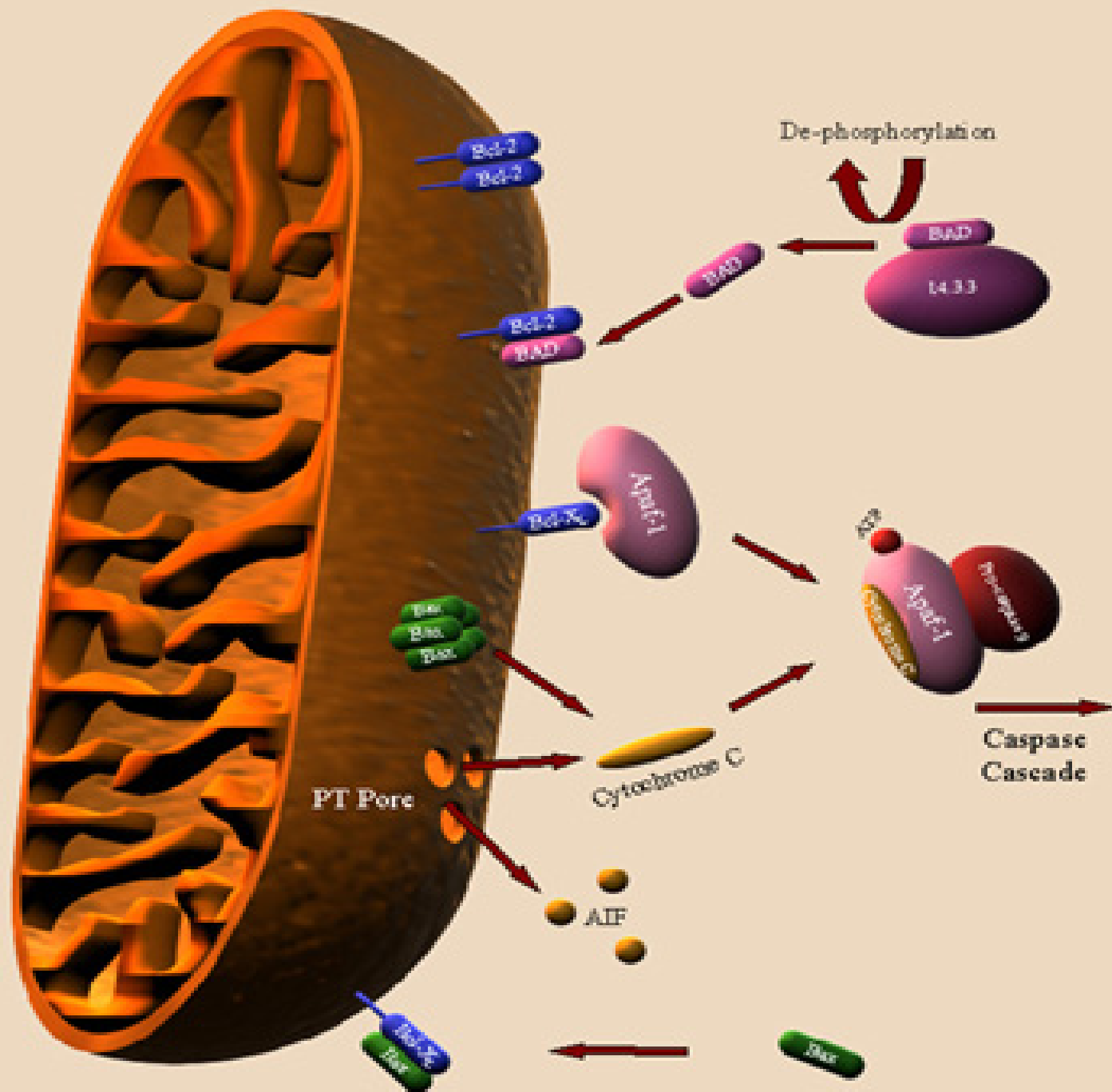
# caspase 背景

它们的活性位点均包含半胱氨酸残基，能够特异性的切割靶蛋白天冬氨酸残基上的肽键。

各种Caspase都富含半胱氨酸，它们被激活后，能够在靶蛋白的特异天冬氨酸残基部位进行切割。在正常的细胞内，每一种caspase都是以非活性状态存在的，这种非活性caspase称作酶原（zymogen），它是酶的非活性前体，其肽链比有活性时长一些，将多出的部分切除，就转变成有活性的caspase。

**有两类Caspase**，一类是起始者（initiators），另一类是执行者（executioners），起始Caspase在外来蛋白信号的作用下被切割激活，激活的起始Caspase对执行者Caspase进行切割并使之激活，被激活的执行者Caspase通过对caspase靶蛋白的水解，导致程序性细胞死亡。

目前认为细胞凋亡的起始者（caspase 2, 8, 9和10）和执行者（caspase 3, 6和7）之间存在着上下游关系，即起始者活化执行者。



# 细胞程序性死亡programmed cell death

- 正常机体细胞在受到生理和病理刺激后出现的一种主动的死亡过程。机体在产生新细胞的同时，衰老和突变的细胞通过程序性死亡机制被清除，使器官和组织得以正常发育和代谢，是动物个体发育过程不可缺少的步骤。细胞程序性死亡强调细胞功能上的改变。
- 在细胞程序性死亡过程中最重要的蛋白家族是caspase家族。

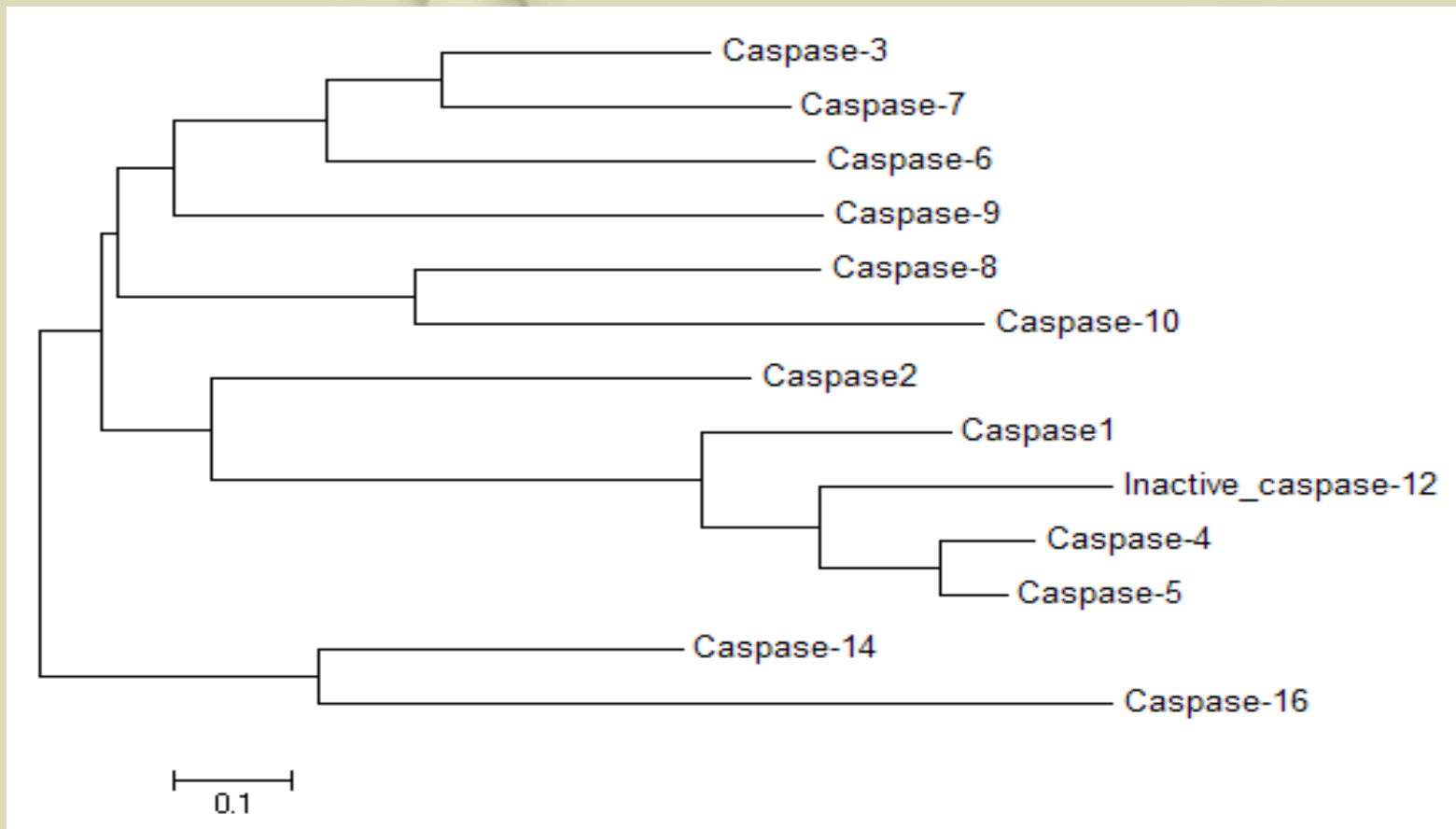


# 基因分析

# 如何得到Caspase3的序列？



- 在Uniprot中通过搜索Caspase3，进入条目后找到其所在家族peptidase C14A family，之后advanced搜索通过organism选择Human，其reviewed14个条目中CFLAR\_HUMAN不属于其中，所以本报告围绕其余13个条目进行。



由MEGA软件得出蛋白质进化树可以看出，Caspase3与Caspase7最相近。（与MEME比对）

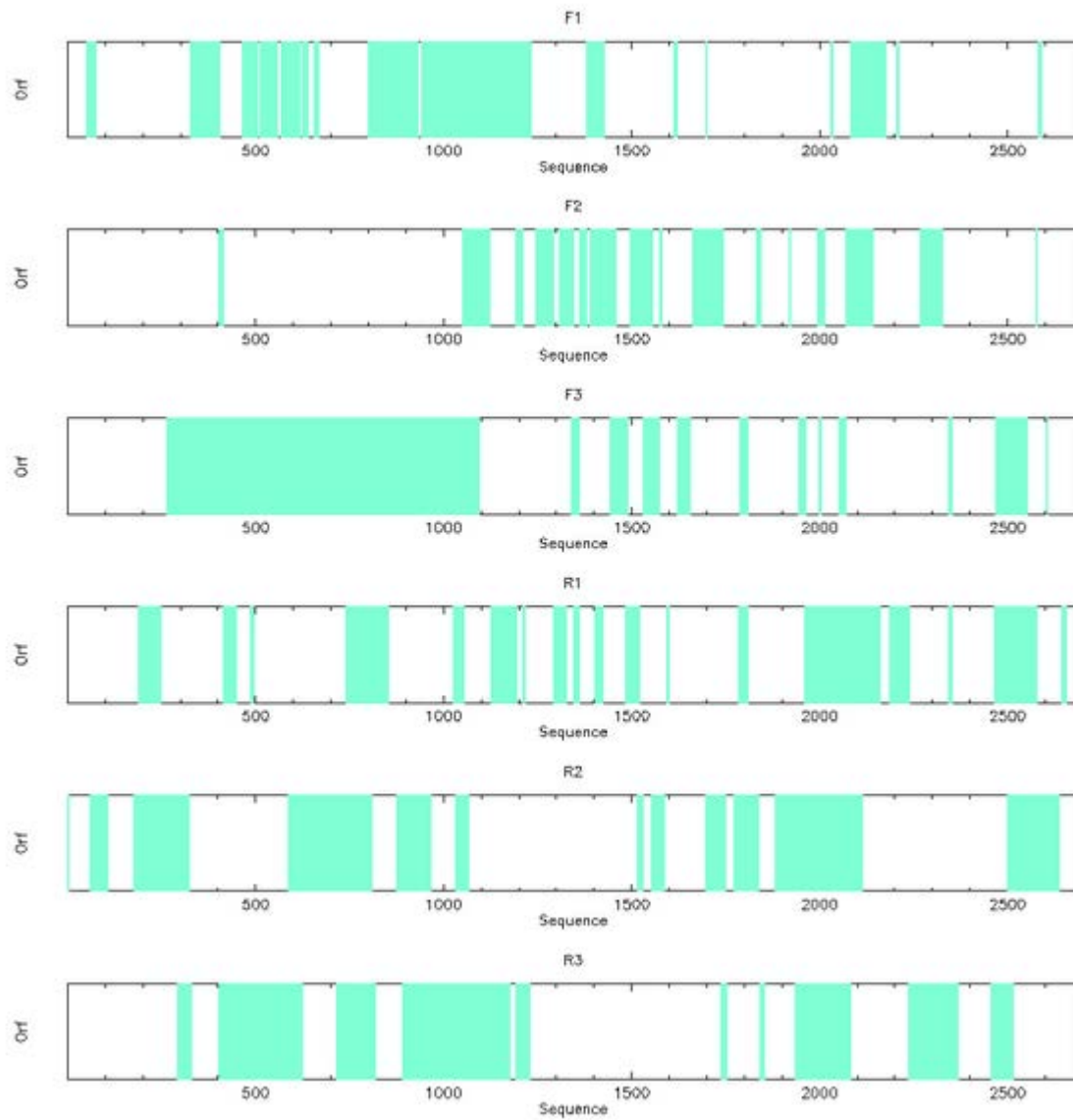


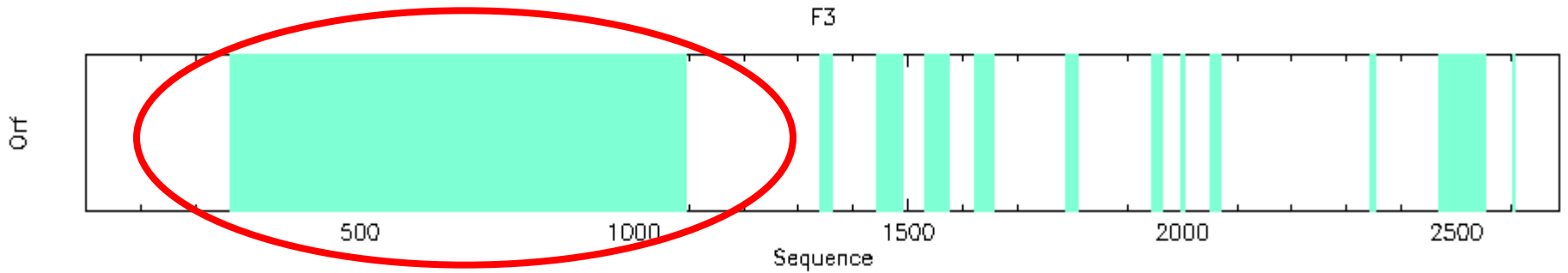
# Caspase3的编码序列

由getorf软件得到Caspase3的编码序列为：

```
ATGGAGAACACTGAAAACCTCAGTGGATTCAAATCCATTAAAAATT  
TGGAACCAAAGATCATAACATGGAAGCGAATCAATGGACTCTGGAA  
TATCCCTGGACAACAGTTATAAAATGGATTATCCTGAGATGGGTTT  
ATGTATAATAATTAATAATAAGAATTTTCATAAAAGCACTGGAATGA  
CATCTCGGTCTGGTACAGATGTCGATGCAGCAAACCTCAGGGAAA  
CATTCAGAACTTGAAATATGAAGTCAGGAATAAAAATGATCTTAC  
ACGTGAAGAAATTGTGGAATTGATGCGTGATGTTTCTAAAGAAGAT  
CACAGCAAAGGAGCAGTTTTGTTTGTGTGCTTCTGAGCCATGGT  
GAAGAAGGAATAATTTTTGGAACAAATGGACCTGTTGACCTGAAAA  
AAATAACAAACTTTTTTCAGAGGGGATCGTTGTAGAAGTCTAACTGG  
AAAACCCAAACTTTTTATTATTTCAGGCCTGCCGTGGTACAGAACTG  
GACTGTGGCATTGAGACAGACAGTGGTGTGTTGATGATGACATGGCG  
TGTCATAAAATACCAGTGGAGGCCGACTTCTTGTATGCATACTCCA  
CAGCACCTGGTTATTATTCTTGGCGAAATTCAAAGGATGGCTCCT  
GGTTCATCCAGTCGCTTTGTGCCATGCTGAAACAGTATGCCGACA  
AGCTTGAATTTATGCACATTCTTACCCGGGTTAACCGAAAGGTGG  
CAACAGAATTTGAGTCCTTTTCTTTGACGCTACTTTTCATGCAA  
GAAACAGATTCCATGTATTGTTTCCATGCTCACAAAAGAACTCTAT  
TTTTATCAC
```

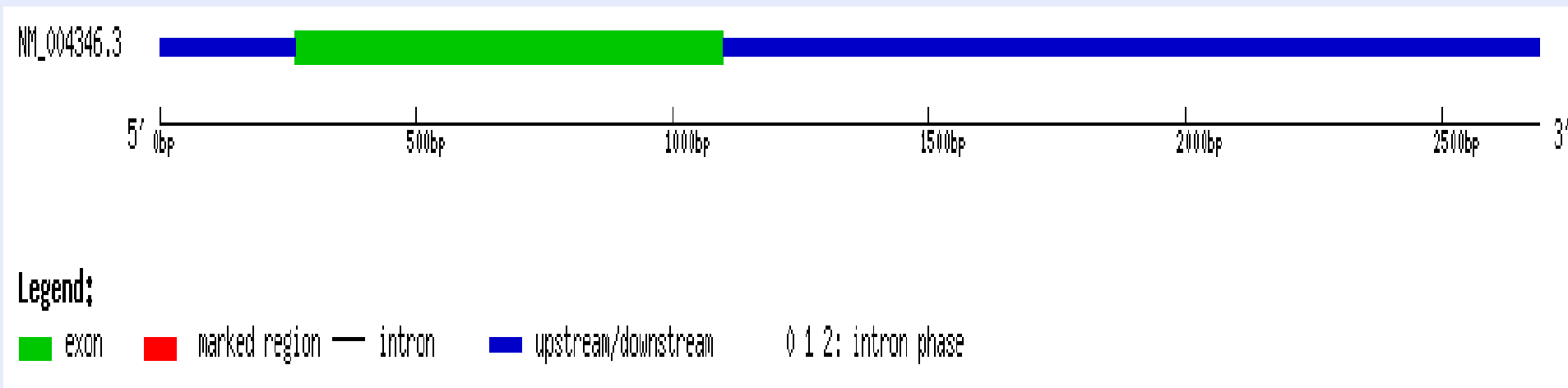
# plotorf软件分析





用plotorf软件预测出Caspase3最可能的序列如上图所示。

# GSDS软件分析结果



从得出的结果可见，在大约270bp-1100bp段有一个外显子序列，表达Caspase3蛋白，剩余片段为5'UTR和3'UTR。



# 蛋白分析

# Caspase3的氨基酸序列

由getorf软件得到Caspase3的氨基酸序列为：

MENTENSVDSKSIKNLEPKIIHGSESMDSGISLDNSYKMD  
YPEMGLCIIINNKNFHKSTGMTSRSGTDVDAANLRETFRN  
LKYEVNRKNDLTREEIVELMRDVSKEDHSKRSSFVCVLL  
SHGEEGIIFGTNGPVDLKKITNFFRGRCSRSLTGKPKLFII  
QACRGTELD CGIETDSGVDDDMACHKIPVEADFLYAYST  
APGYYSWRNSKDGSWFIQSLCAMLKQYADKLEFMHILTR  
VNRKVATEFESFSFDATFHAKKQIPCIVSMLTKELYFYH

# antigenic软件分析结果

由antigenic软件分析得出，Caspase3可能有10个抗原位点，按分值大小依次为：111-121，252-274，154-163，181-204，215-229，44-50，232-238，18-23，96-102和165-171。

# Caspase3蛋白的性质

PEPSTATS of caspase-3 from 1 to 277

Molecular weight = 31607.80	Residues = 277
Average Residue Weight = 114.108	Charge = 0.0
Isoelectric Point = 6.5078	
A280 Molar Extinction Coefficient = 24180	
A280 Extinction Coefficient 1mg/ml = 0.77	
Improbability of expression in inclusion bodies = 0.631	

由pepstats软件得出以上结果，可知Caspase3的等电点为6.5078。



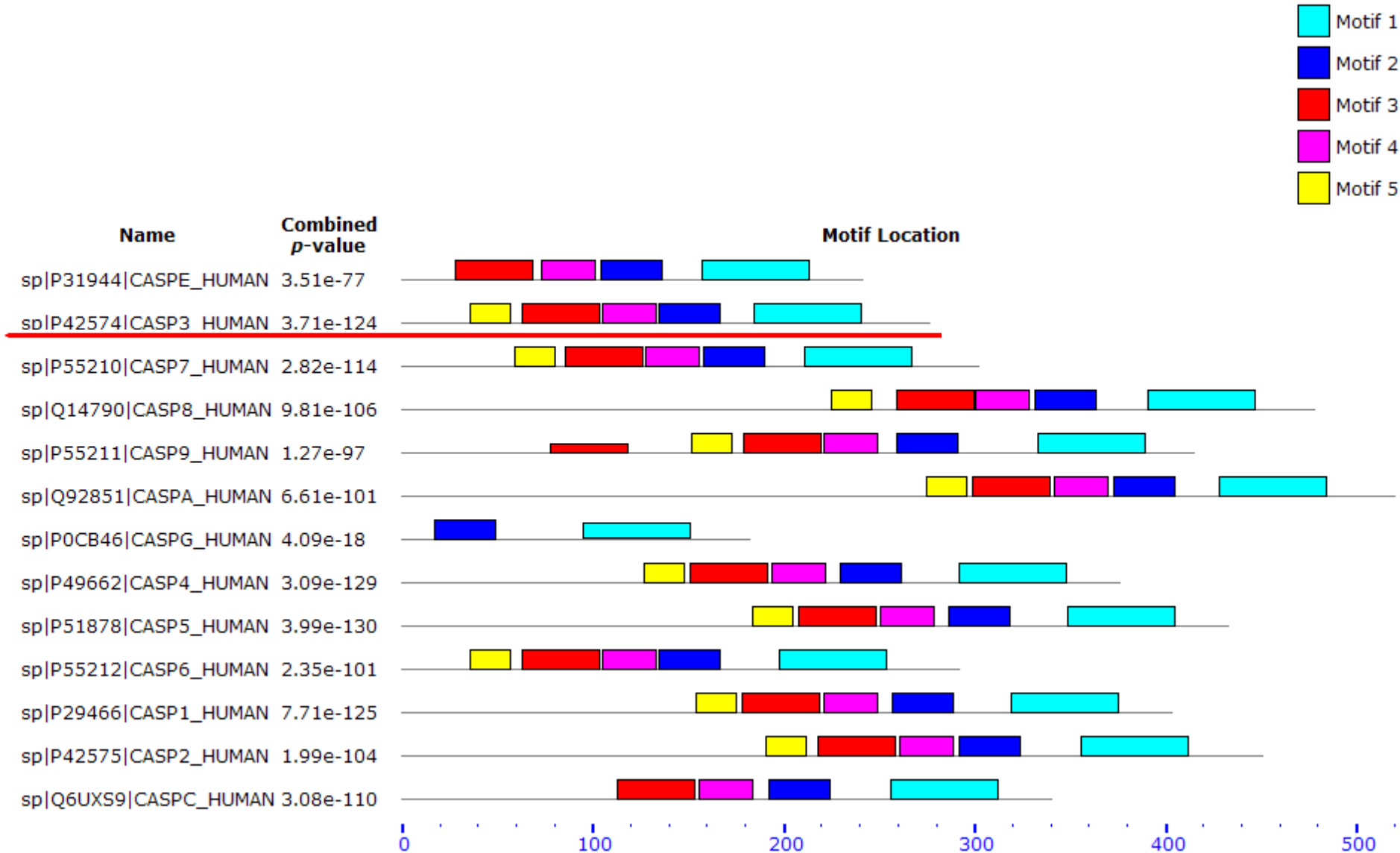
# TargetP 1.1 软件预测结果

```
### targetp v1.1 prediction results #####  
Number of query sequences: 1  
Cleavage site predictions not included.  
Using NON-PLANT networks.
```

Name	Len	mTP	SP	other	Loc	RC
Caspase_3	277	0.081	0.058	0.940	_	1
cutoff		0.000	0.000	0.000		

定位： 细胞质中

# MEME(motif)



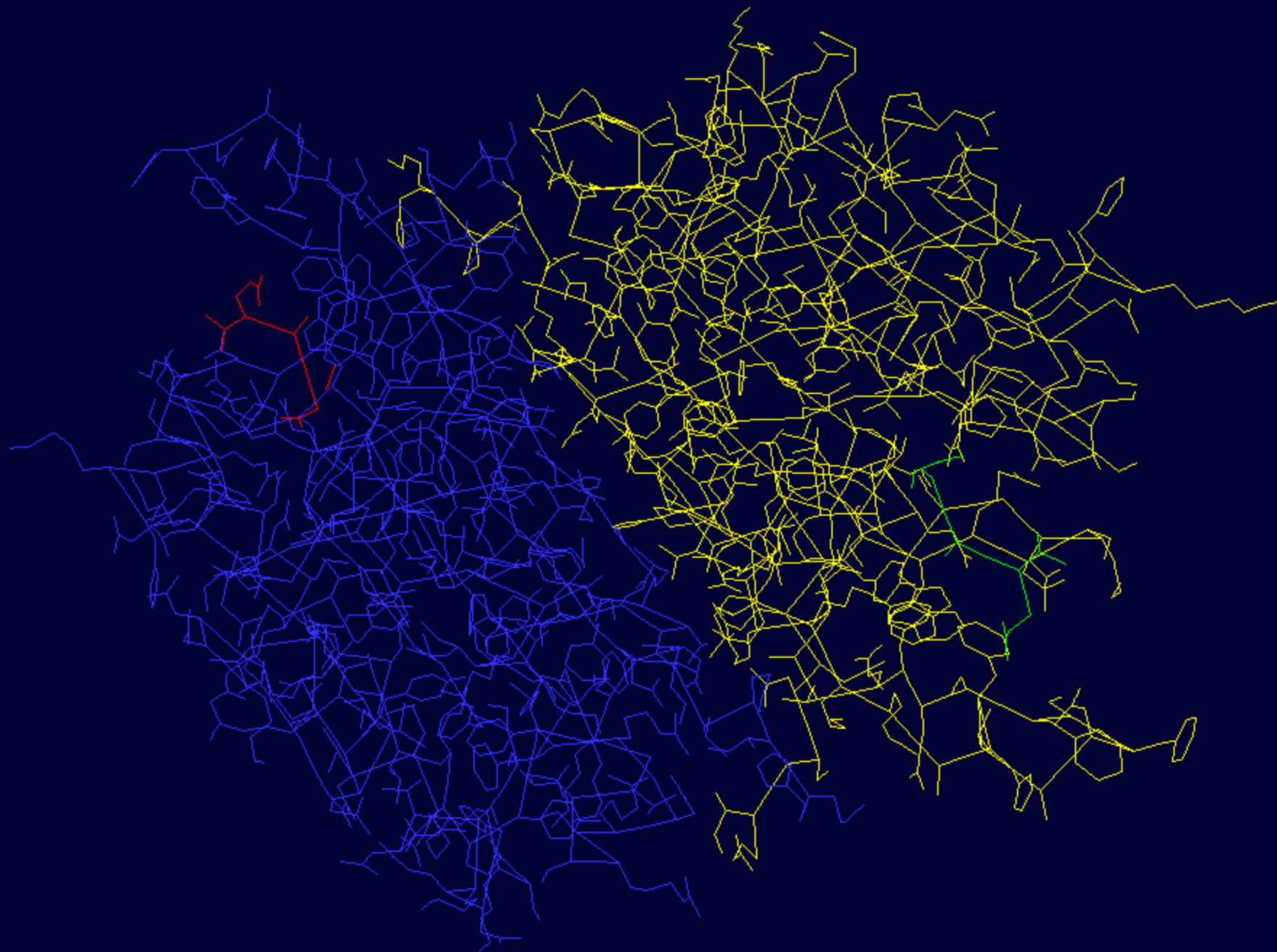
# SPDB-Viwer

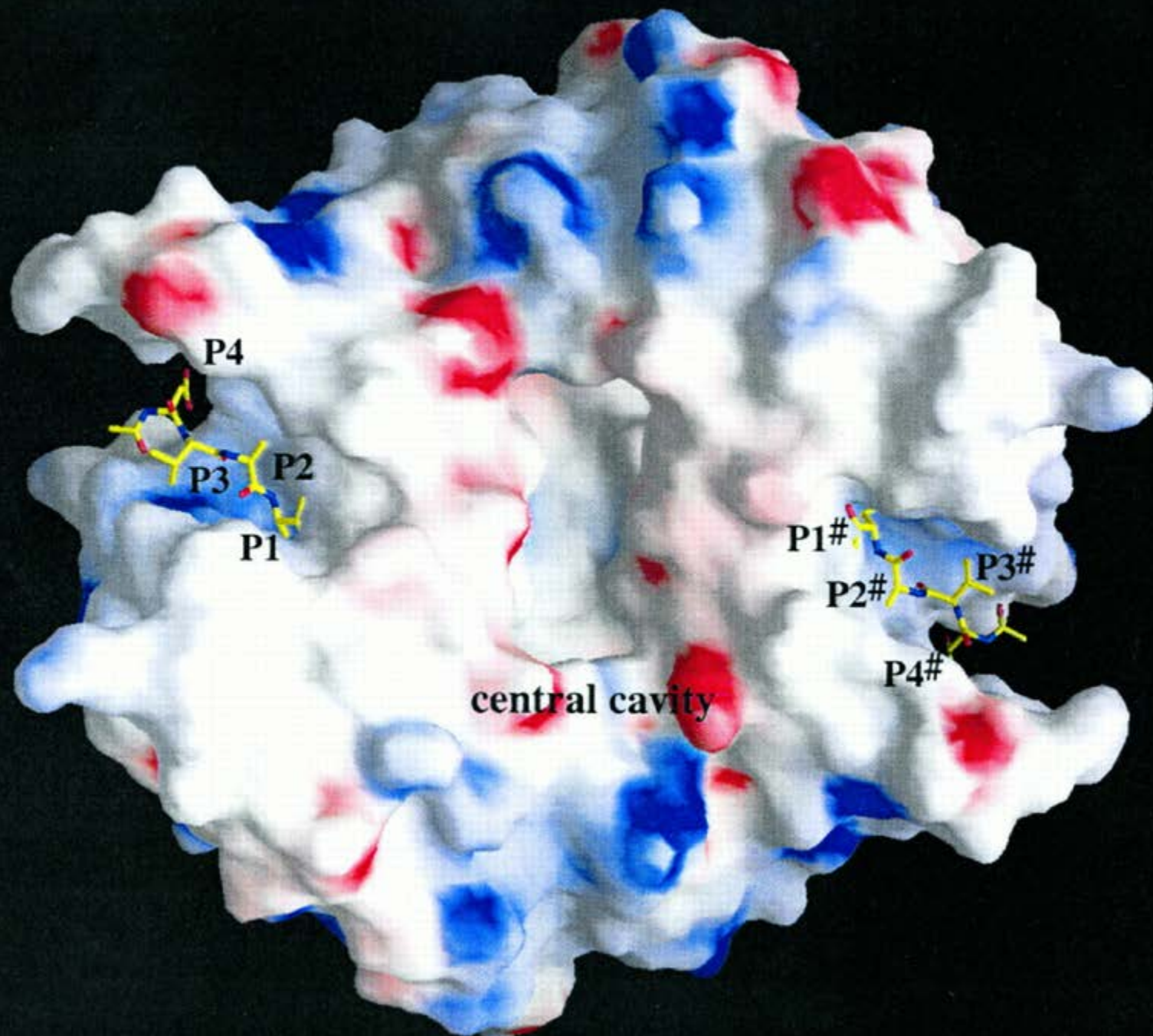
Pro-caspase-3的A、B链分别含有277个氨基酸残基，Pro-caspase-3在活化过程中分别从A、B链的Asp (28) ~Ser (29) 和Asp (175) ~Ser (176) 两处被剪切，形成P17 (29~175) 和P10 (182~277) 两个片段，共四个片段，两种亚基再组成活性形式的caspase-3。

细胞中合成的caspase以无活性的酶原状态存在，以后经活化方能执行其功能。

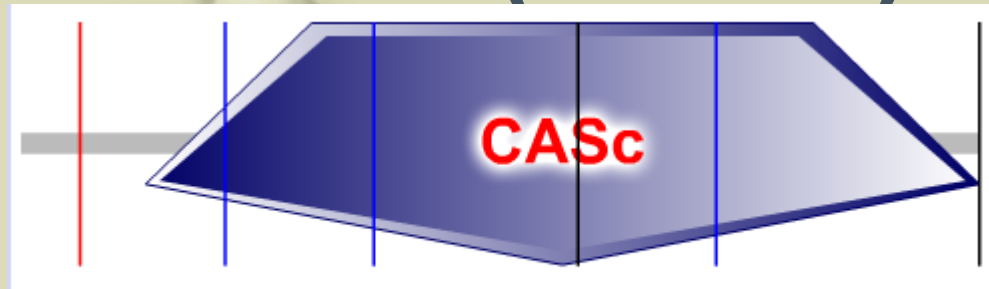
一般的蛋白酶活化时，只是将N-末端的肽段切除，而caspase的活化则需在两个亚基的天冬氨酸位点进行切割，结果产生了由两个亚基组成的异二聚体，此即具有活性的酶。通常N-末端的肽在活化时也被除去，但对于caspase 7是否去除N-末端肽对活性无影响。目前认为细胞凋亡的起始者（caspase 2, 8, 9和10）和执行者（caspase 3, 6和7）之间存在着上下游关系，即起始者活化执行者。

irreversible tetrapeptide inhibitor acetyl-Asp-Val-Ala-Asp fluoromethyl ketone （不可逆四肽抑制剂）





# Smart(domain)



## CASc domain

This is a SMART **CASc** domain ([full annotation](#)).

**Position:** 36 to 277  
**E-value:** 2.39189847263417e-145 ([HMMER2](#))



**SMART ACC:** [SM000115](#)

**Definition:** Caspase, interleukin-1 beta converting enzyme (ICE) homologues

**Description:**

Cysteine aspartases that mediate programmed cell death (apoptosis). Caspases are synthesised as zymogens and activated by proteolysis of the peptide backbone adjacent to an aspartate. The resulting two subunits associate to form an (alpha)2 (beta)2-tetramer which is the active enzyme. Activation of caspases can be mediated by other caspase homologues.

**Interpro abstract (IPR015917):**

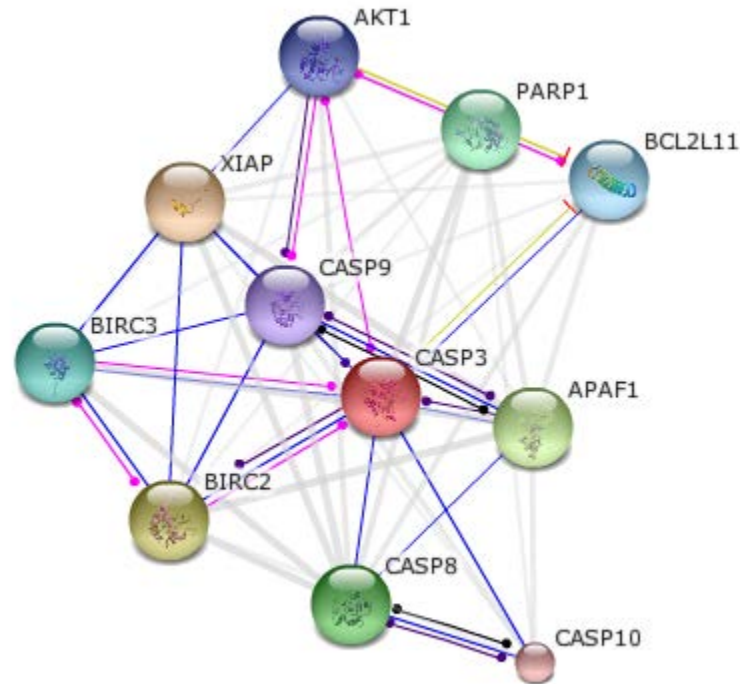
In the MEROPS database peptidases and peptidase homologues are grouped into clans and families. Clans are groups of families for which there is evidence of common ancestry based on a common structural ...([full abstract](#))

**GO process:** apoptotic process ([GO:0006915](#))

**GO function:** cysteine-type peptidase activity ([GO:0008234](#))



# Protein-protein interaction databases-STRING



PARP:  
DNA修复酶

SREBPS: 胆固醇调节  
元件结合蛋白。

- CASP3 caspase 3, apoptosis-related cysteine peptidase; Involved in the activation cascade of caspases responsible for apoptosis execution. At the onset of apoptosis it proteolytically cleaves poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) at a '216-Asp-|-Gly-217' bond. Cleaves and activates sterol regulatory element binding proteins (SREBPs) between the basic helix-loop- helix leucine zipper domain and the membrane attachment domain. Cleaves and activates caspase-6, -7 and -9. Involved in the cleavage of huntingtin (277 aa) (*Homo sapiens*)

# 意义



- 1细胞程序性死亡的正负控制来维持细胞总数的平衡和机体的生命活力；
- 2程序性细胞死亡在形态建成中起重要作用。如手指和脚趾在发育的早期是连在一起的，通过程序性细胞死亡使一部分细胞进入自杀途径才将单个指加以分开；
- 3对于生物发育成熟后一些不再需要的结构通过程序性细胞死亡加以消除。例如蝌蚪的尾巴就是靠程序性细胞死亡消除的；
- 4细胞程序性死亡也能够调节细胞的数量和质量。例如在神经系统的发育过程中，神经细胞必须通过“竞争上岗”获得生存的机会。



# 进一步研究思路：



- 因为相关研究表明人参作用到肿瘤细胞后，肿瘤细胞会发生凋亡，而这个蛋白在凋亡过程中起重要作用，我们可以进一步研究在人参的活性物质如何对caspase蛋白进行作用，而不是单单看caspase蛋白减少或增加的指标。

# 致谢



- 首先感谢罗老师这一个学期以来为我们的辛勤付出与谆谆教导，同时也要感谢16组的组员们的团结合作！课程的结束并不是一个终点，而是全新的起点。愿我们都能学好生物信息学并且因生物信息学而获得更丰硕的成果！谢谢大家！