

# 耐盐碱蛋白K-nhaD2的 生物信息学分析

G13组： 王银晓  
秦江曼  
郭文芳  
白净

# 主要内容

## ○ 绪论

## ○ 耐盐碱蛋白K-nhaD2的生物信息学分析

## ○ 结论



# 研究背景

- 土壤盐渍化已成为制约农业生产的一个重要因素，全球盐碱地已相当严重，目前约9.54亿公顷，而我国的盐碱地就将近1亿公顷。同时随着耕地面积逐渐减少，如何将如此广袤的盐碱地利用到农业生产中去这一问题越来越受到人们的关注。
- 目前，盐渍化土地的开发利用主要通过以下两种途径：一是通过物理化学方法，合理灌溉、淡水冲洗、施用化学改良药剂来改良土壤，为农作物生长创造适宜环境；二是利用基因工程、遗传育种技术培育具有耐盐碱性的新品种。



# 植物耐盐碱机制

- 渗透压调节机制
- 离子区隔化
- 活性氧的解毒作用
- 生长调节
- 转录因子



# 耐盐碱蛋白K-nhaD2

- 基因*K-nhaD2*是从大自然中多种耐盐细菌中分离得到的一个耐盐碱基因。目前，已利用基因工程技术将其转化到大肠杆菌中，并验证了其编码的蛋白质K-nhaD2生物学功能具有强耐盐碱性。但是它的耐盐碱机制的作用机理目前还没有明确。
- 现在，我们将利用生物信息学方法预测其表达蛋白的耐盐碱机制，为进一步利用基因工程技术得到强耐盐碱的植物新品种打下坚实基础。



# 主要内容

○ 绪论

○ 耐盐碱蛋白K-nhaD2的生物信息学分析

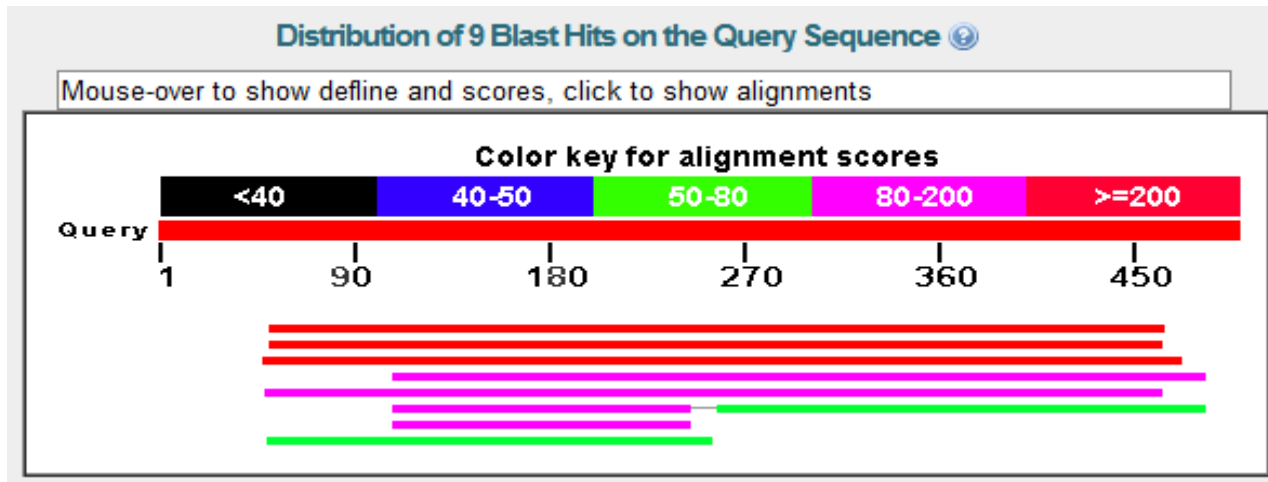
○ 结论



# 序列分析

Accession	E value	Max ident	Source
HQ585057.1	0.0	100%	Bacterium enrichment culture clone K2
CP003466.1	0.0	77%	Alcanivorax dieselolei B5
HQ585056.1	0.0	77%	Bacterium enrichment culture clone K1
CP003171.1	2e-163	75%	Oceanimonas sp. GK1
AM167899.1	1e-160	76%	Halomonas elongata DSM 2581
CP002607.1	4e-95	72%	Aeromonas veronii B565
CP000606.1	1e-91	72%	Shewanella loihica PV-4,
CP000644.1	4e-86	72%	Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida A449
AY962404.1	8e-63	71%	Alkalimonas amylytica

转运蛋白



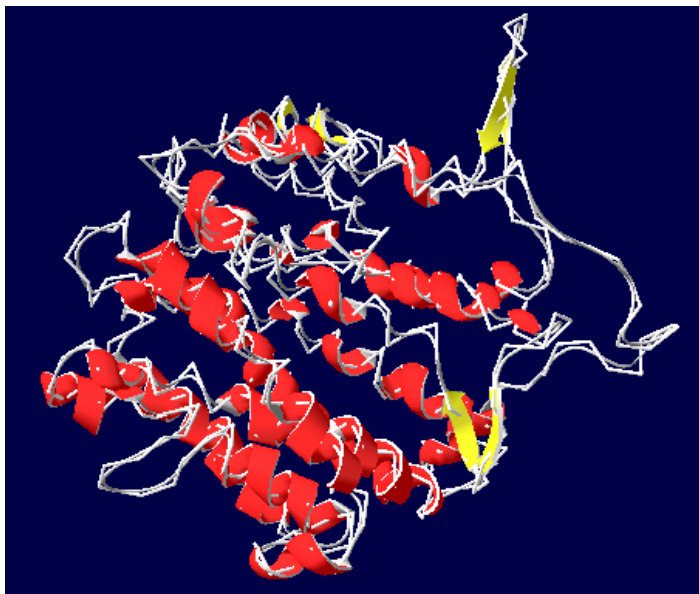
以上分别进行了核酸和蛋白序列（UniProt）的Blast。



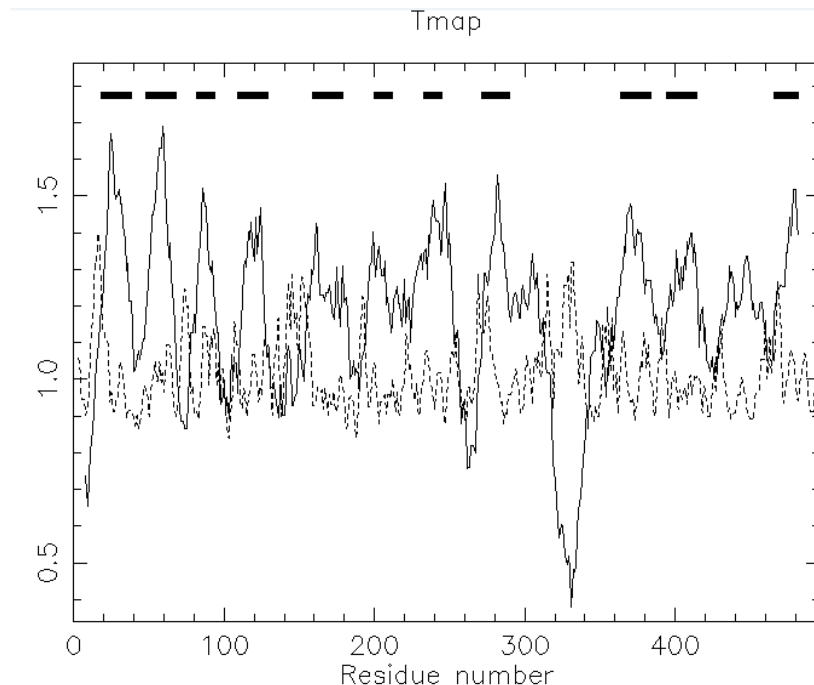




# 结构分析



三级结构预测



跨膜结构预测

利用phyre (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page>)在线分析耐盐碱蛋白K-nhaD2序列的三级结构，其结果与Jpred相一致。利用WebLab 中tmap程序预测跨膜螺旋，与三级结构相呼应。



# 功能分析

Symbol	Full Name	P Value	Function	Information
SO_0935	Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiporter NhaD	2.5e-145	逆向转运Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup>	Shewanella oneidensis MR-1
nhaD	Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiporter	9.1e-132	逆向转运Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup>	Vibrio cholerae
Vc_A1015	Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiporter	9.1e-132	逆向转运Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup>	Vibrio cholerae O1 biovar El Tor
nhaD	Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiporter NhaD	2.1e-123	逆向转运Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup>	Colwellia psychrerythraea 34H
CPS_3512	Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiporter NhaD	2.1e-123	逆向转运Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup>	Colwellia psychrerythraea 34H

Accession, Term	Ontology
GO:0006818 : <a href="#">hydrogen transport</a>	<a href="#">2177 gene products</a> <a href="#">view in tree</a> <b>biological process</b>
GO:0006814 : <a href="#">sodium ion transport</a>	<a href="#">1343 gene products</a> <a href="#">view in tree</a> <b>biological process</b>
GO:0015385 : <a href="#">sodium:hydrogen antiporter activity</a>	<a href="#">263 gene products</a> <a href="#">view in tree</a> <b>molecular function</b>



# 功能分析

```
ProtComp Version 9.0. Identifying sub-cellular location (Plant)
Seq name: gi|331687459|gb|AED87509.1| NhaD [bacterium enrichment culture clone K2], Length=496
Significant similarity by DBSCAN-P - NONE
Predicted by Neural Nets - Plasma membrane with score 2.6
***** Transmembrane segments are found: .+21:42o..o49:69+..+77:99-...-114:132+..+153:171+..+
***** Potential GPI-anchor in position 459 is found
Integral Prediction of protein location: Plasma membrane with score 9.6
Location weights:      LocDB / PotLocDB / Neural Nets / Pentamers / Integral
Nuclear                0.0 / 0.0 / 0.01 / 0.03 / 0.06
Plasma membrane       0.0 / 0.0 / 2.56 / 3.62 / 9.65
Extracellular          0.0 / 0.0 / 0.00 / 0.30 / 0.00
Cytoplasmic            0.0 / 0.0 / 0.00 / 0.10 / 0.26
Mitochondrial          0.0 / 0.0 / 0.07 / 0.27 / 0.00
Endoplasm. retic.     0.0 / 0.0 / 0.00 / 0.47 / 0.00
Peroxisomal            0.0 / 0.0 / 0.05 / 0.00 / 0.03
Golgi                  0.0 / 0.0 / 0.04 / 0.06 / 0.00
Chloroplast            0.0 / 0.0 / 0.00 / 0.32 / 0.00
Vacuolar               0.0 / 0.0 / 0.26 / 0.09 / 0.00
```

利用ProtComp在线预测，耐盐碱蛋白K-nhaD2进行亚细胞定位。根据预测结果可判定最终亚细胞定位于细胞质膜上，且在第459位氨基酸处存在糖基化位点。

# 主要内容

- 绪论
- 耐盐碱蛋白K-nhaD2的生物信息学分析
- 结论



# 结论

根据以上耐盐碱K-nhaD2蛋白质生物信息学分析，现在得出结论：K-nhaD2蛋白是一种位于细胞质膜上的 $\alpha$ 螺旋多跨膜蛋白，它的功能主要是参与 $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 的逆向转运，通过离子区隔化机制降低细胞内部 $\text{Na}^+$ 含量，达到耐盐碱的作用。

综上所述，已知K-nhaD2蛋白是一种跨质膜 $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 逆向转运蛋白。接下来的实验中，我们将利用转基因技术将此基因转化到目的植物中，筛选获得高表达的阳性植株。最后，通过常规育种手段，得到耐盐碱的改良品种，使广阔的盐碱地得以充分利用。



# 致谢：

谢谢罗老师在学习上给以的指导！

谢谢冬季班同学一周的相伴！

