

核盘菌磷酸泛酰巯基乙胺基转移酶编码基因的 预测与生物信息学分析

李秀丽^{1,2}, 樊淼¹, 吴亚¹, 张茜茹¹, 高智谋^{1*}

(1. 安徽农业大学植物保护学院, 合肥 230036; 2. 宿州学院生物与食品工程学院, 宿州 234000)

摘要: 为了解磷酸泛酰巯基乙胺基转移酶(PPTases)在核盘菌生理代谢与致病过程中的作用, 在核盘菌全基因组中寻找 PPTases 同源物。利用同源比对的方法, 预测出核盘菌中 PPTases 基因, 进而分析其编码蛋白的基本理化性质、疏水性、跨膜区、信号肽、亚细胞定位、二级、三级结构和保守结构域, 并对 PPTases 编码氨基酸进行遗传进化分析。结果表明, 在核盘菌全基因组中预测存在 3 个 PPTases 基因同源物, 分别命名为: *Ss-Ppt1*、*Ss-Ppt2* 和 *Ss-Ppt3*。3 个蛋白均为亲水性的非分泌型蛋白, 在其二级和三级结构中 α 螺旋结构和无规则卷曲占主要部分, 且三者都含有 PPTases 的保守结构域 SCOP 和 (或) ACPS。

关键词: 核盘菌; 磷酸泛酰巯基乙胺基转移酶; 生物信息学

中图分类号: Q949.32; Q811.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2016)03-0359-07

Prediction and bioinformatics analysis of phosphopantetheinyl transferase gene in *Sclerotinia sclerotiorum*

LI Xiuli^{1,2}, FAN Miao¹, WU Ya¹, ZHANG Qianru¹, GAO Zhimou¹

(1. School of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. School of Biological and Food Engineering, Suzhou University, Suzhou 234000)

Abstract: Phosphopantetheinyl transferase (PPTase) is an important class protein superfamily existing in eukaryotes. To decipher the function of PPTases in the biological metabolism and pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum*, the characters of PPTases genes and the encoded protein were predicted and analyzed using bioinformatics methods, including general physical and chemical properties, hydrophobicity, transmembrane region, signal peptide, conserved domains, secondary and tertiary structure, localization sites in cells, and the phylogenetic tree. Results showed that the candidate coding genes *Ss-Ppt1*, *Ss-Ppt2* and *Ss-Ppt3* of PPTase in *S. sclerotiorum* were selected in the genome. The proteins encoded by the three genes were hydrophilic and nonsecreting proteins. There were lots of alpha helix and random coil in the secondary and tertiary structure of the three proteins. Additionally, all of the three proteins had either SCOP or ACPS domains, or both. So we speculated that *Ss-Ppt1*, *Ss-Ppt2* and *Ss-Ppt3* might be the PPTases of *S. sclerotiorum*. This work could provide a cue for further study on the function of the PPTase in *S. sclerotiorum*.

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum*; phosphopantetheinyl transferase; bioinformatics

核盘菌[*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary], 是属于子囊菌门、柔膜菌目、核盘菌科、核盘菌属的植物病原真菌, 可以侵染 400 种以上的植物, 使多种重要的农作物产生重大经济损失^[1]。充分认识

核盘菌的生理代谢及其致病机制是防控核盘菌的基础。

磷酸泛酰巯基乙胺基转移酶 (phosphopantetheinyl transferases, PPTases) 蛋白在各生物的代谢

收稿日期: 2016-01-29

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201103016), 安徽省现代产业(油菜)体系专项和 2014 年宿州区域发展协同创新中心全国开放课题(2014SZXTKF04ZD)共同资助。

作者简介: 李秀丽, 博士。E-mail: lixiuli2187@163.com

* 通信作者: 高智谋, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: gaozhimou@126.com

过程中发挥着重要作用,它参与调节初生代谢和次生代谢过程,进而影响生物的生长发育和致病性过程。在脂肪酸、聚酮化合物以及非核糖体多肽合成酶复合体中,载体蛋白添加一个来自于辅酶 A 的磷酸泛酰巯基乙胺基后才可形成具活性的全蛋白,而这一重要的修饰过程需要 PPTases 的催化作用^[2]。有关文献报道证实核盘菌存在 PPTases 基因,且 PPTase 蛋白对生命过程的影响是多方面的,除了已揭示部分的功能,可能还有一些未知的作用机理等待我们去探索,这对于我们深入研究核盘菌的致病机理具有重要意义。

目前,根据 PPTases 蛋白的氨基酸序列和底物的不同,将 PPTases 蛋白分为 3 种类型。第 1 类为酰基载体蛋白合成酶(Acyl carrier protein synthases, ACPS)型,该型来自大肠杆菌(*Escherichia coli*)的酰基载体蛋白合成酶为例,该蛋白由约 120 个氨基酸组成,以三聚体的形式在脂肪酸的合成过程中发挥作用^[3]。第 2 类为 Sfp 型 PPTases,这类酶由约 240 个氨基酸组成,这类酶的代表为枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)的 Surfactin PPTases^[4]。第 3 类是存在于真菌中的一类脂肪酸合成酶(Fatty acid synthases, FASs)中的一个功能域,例如在酵母中具有 PPTases 活性的功能区域为 FAS α 亚基的 C 末端部分^[5]。据研究表明,一般有 2~3 个 PPTases 在同一种生物中发挥不同的作用,但在人类基因组中只发现 1 种 PPTases 催化多种反应^[6-7]。在真菌中 PPTases 被报道可以参与赖氨酸的生物合成、聚酮化合物的合成、真菌的铁离子的吸收作用,并其可能参与真菌致病作用^[8-10]。核盘菌作为植物病原真菌,PPTases 在核盘菌中发挥怎样的生理代谢调节和致病机理尚未报道。核盘菌全基因组序列的公布,为从基因角度研究这一重要的病原真菌提供了有力条件。

因此,深入了解真菌的 PPTases 的编码基因,进而明确该类酶的生物学功能将有助于进行致病真菌的预防和控制。目前对核盘菌基因组中 PPTases 同源基因未见报道,值得展开研究。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究使用的核盘菌及相关物种的 PPTases 基因序列分别下载自核盘菌全基因组序列网站 http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/Sclerotinia_sclerotiorum/MultiHome.html 和 NCBI 网站 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>。

1.2 方法

1.2.1 核盘菌 PPTases 家族成员的预测鉴定 用已报道的真菌 PPTases 蛋白保守结构域的氨基酸序列,在 NCBI 网站 BLAST-P 搜索核盘菌基因组中的同源蛋白序列,而后将所得序列在 SMART 网站中预测其功能结构域,并将不含有 PPTases 相关保守结构域的序列剔除,经反复比对筛选得到核盘菌 PPTases 家族成员基因。

1.2.2 理化性质分析 利用 Geneva 大学的 ExPASy 服务器提供的 ProtParam 工具,预测蛋白质的相对分子量、理论等电点、氨基酸残基的性质、脂肪指数、重组产物在酵母和大肠杆菌细胞中的半衰期、在溶液中的稳定性等;利用 ProtScale 工具分析蛋白质的疏水性质;利用 TMHMM Server v. 2.0 分析核盘菌 PPTases 蛋白的跨膜区;采用 Signal P 4.1 Server 分析蛋白信号肽的有无。

1.2.3 结构及功能预测 利用 SOPMA 预测蛋白质的二级结构,用 SWISS-MODEL 同源建模蛋白的三级结构利用 PSORT II 预测蛋白的亚细胞定位,利用 SMART 服务器分析蛋白的结构功能域,本研究中所用的软件见表 1。

表 1 所用软件与网址
Table 1 Software and website used in this study

软件 Software	网址 Website
BLAST-P	http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi/
SMART	http://smart.embl-heidelberg.de/
ExPASy	http://web.expasy.org/
TMHMM Server	http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/
Signal P 4.1 Server	http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/
PSORT II	http://psort.hgc.jp/form2.html
SOPMA	http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html
SWISS-MODEL	http://swissmodel.expasy.org/

1.2.4 系统进化树的构建 利用 Clustal_X 软件对核盘菌及已报道 14 子囊真菌 PPTases 蛋白序列(表 2):进行氨基酸序列比对,并将比对结果利用 MEGA5 软件生成进化树,进化树的构建采用邻接法(Neighbor-Joining, NJ),校验参数 Bootstrap 重复 1000 次。

2 结果与分析

2.1 核盘菌 PPTases 基因的识别与同源性比较

在核盘菌基因组中识别出 3 个 PPTases 基因编码基因的同源物,分别命名为 *Ss-Ppt1*、*Ss-Ppt2* 和 *Ss-Ppt3*。在 NCBI 中的登录号依次为:

XP_001596511.1、XP_001585982.1 和 XP_001590875.1。其中 *Ss-Ppt1* 与构巢曲霉的 NpgA 蛋白保守序列相似性为 32%，*E-value* 值为 $1e-43$ ；*Ss-Ppt2* 与白色

念珠菌的 FAS 保守序列相似性为 64%；*E-value* 值为 0.0；*Ss-Ppt3* 与烟曲霉 PptB 的相似性为 43%，*E-value* 值为 $8e-07$ 。

表 2 14 种 PPTases 蛋白的信息

Table 2 The information of 14 PPTases used in this study

物种 Species	蛋白名称 Proteins	登录号 Accession number	主要作用 Function
构巢曲霉 <i>Aspergillus nidulans</i>	NpgA	AAF12814.1	NRPS, PKS, lysine
黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>	PptA	CAK46165.1	PKS, NRPS
烟曲霉 <i>Aspergillus fumigatus</i>	PptB	XP_746591.1	mitoFAS
白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	CaLys5	AAO26020	Lysine
白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	CaFAS	KGU27335.1	FAS
麦根腐平脐蠕孢 <i>Bipolaris sorokiniana</i>	BsPpt1	AER36018.1	NRPS, PKS, lysine
禾生炭疽菌 <i>Colletotrichum graminicola</i>	CgPpt1	DQ028305	NRPS, PKS, lysine
藤仓镰孢 <i>Fusarium fujikuroi</i>	FfPpt1	HE614113	NRPS, PKS, lysine
酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ScLys5	CAA96866	Lysine
粟酒裂殖酵母 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	New8	G2TRL9	mitoFAS
粟酒裂殖酵母 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Ppt1314154	Q10474	Lysine
绿木霉 <i>Trichoderma virens</i>	TvPpt1	EHK16960	NRPS, PKS, lysine
尖孢镰孢 <i>Fusarium oxysporum</i>	FoFAS	ENH73760.1	FAS
拟盘多毛孢 <i>Pestalotiopsis fici</i>	PfFAS	ETS82808.1	FAS

注：在来源不同物种而名字相同的蛋白前面加上来源物种拉丁文首字母以示区别。

Note: In order to differentiate the PPTases proteins with the same name, the first letter of the specie Latin name was added before the protein name.

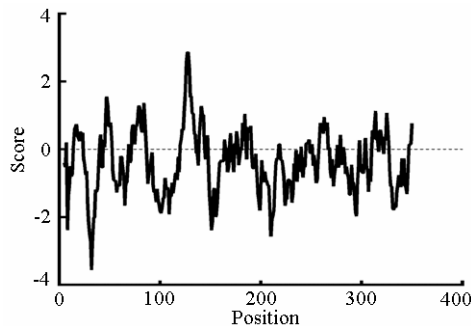


图 1 *Ss-Ppt1* 的疏水性分析

Figure 1 The hydrophobicity of *Ss-Ppt1*

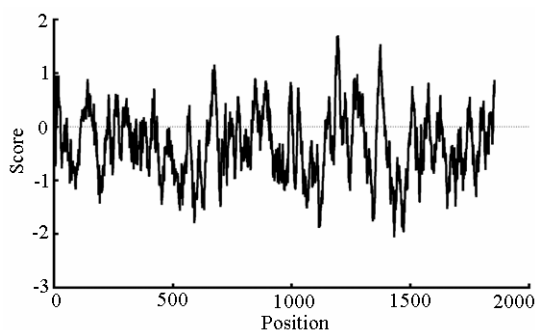


图 2 *Ss-Ppt2* 的疏水性分析

Figure 2 The hydrophobicity of *Ss-Ppt2*

Ss-Ppt1 的相对分子量为 40.12 kD，理论等电点为 6.23，含酸性氨基酸(DE)14.12%，碱性氨基酸(KR)12.99%，亲水性氨基酸(AILFWV)、极性氨基酸(NCQSTY)和带电氨基酸(RKHYCDE)的比例分别为 35.3%、22.8%和 34.7%。在组成 *Ss-Ppt1* 蛋白的 20 种氨基酸中，亮氨酸所占最高，达到 10.7%，而半胱氨酸的比例最低，为 1.4%。其脂肪指数为 91.98，在酵母和大肠杆菌中表达的半衰期分别大于 20 h 和 10 h，在溶液中的不稳定指数为 34.27，提示该蛋白稳定性较强。

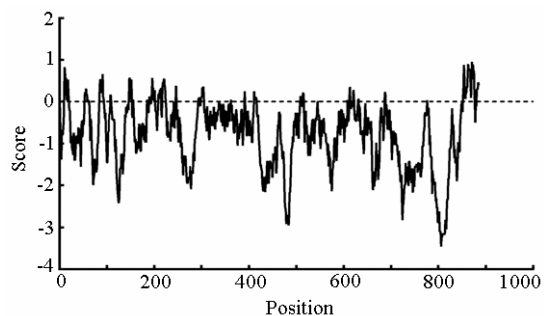


图 3 *Ss-Ppt3* 的疏水性分析

Figure 3 The hydrophobicity of *Ss-Ppt3*

分析表明 *Ss-Ppt2* 编码蛋白 *Ss-Ppt2* 的相对分子量为 204.89 kD，理论等电点为 5.91，含酸性氨基酸 12.7%，碱性氨基酸 11.5%，亲水性氨基酸、极性氨

2.2 理化性质预测

利用 ProtParam 工具分析表明 *Ss-Ppt1* 编码蛋白

基酸和带电氨基酸的比例分别为 34.2%、25.4%和 29.9%。在组成 Ss-Ppt2 蛋白的 20 种氨基酸中, 丙氨酸所占最高, 为 9.1%, 而半胱氨酸的比例最低,

为 0.9%。其脂肪指数为 83.62, 在酵母和大肠杆菌中表达的半衰期分别大于 20 h 和 10 h, 在溶液中的不稳定指数为 38.51, 提示其稳定性较强。

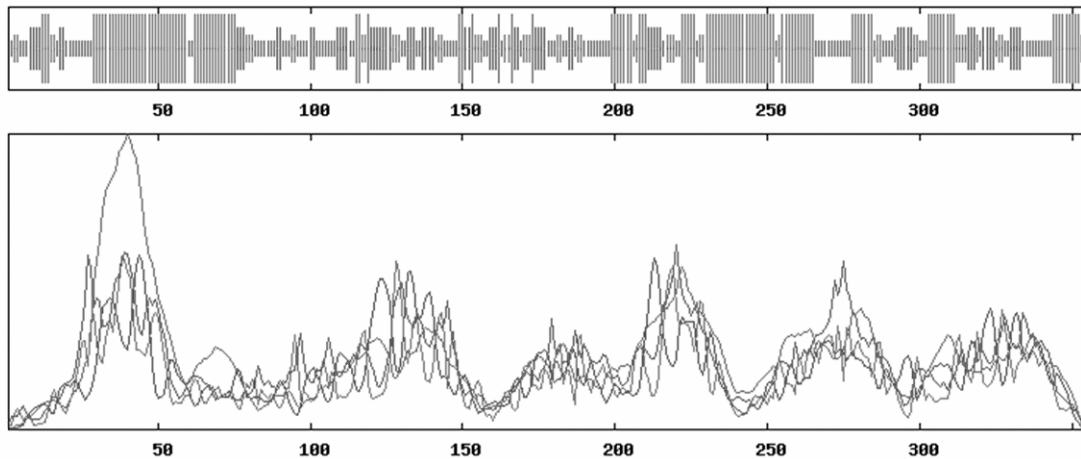


图 4 Ss-Ppt1 的二级结构分析

Figure 4 The secondary structure of Ss-Ppt1



图 5 Ss-Ppt1 三级结构模型

Figure 5 The tertiary structure of Ss-Ppt1

分析表明 Ss-Ppt3 编码蛋白 Ss-Ppt3 的相对分子量为 101.86 kD, 理论等电点为 9.34, 含酸性氨基酸 14.12%, 碱性氨基酸 12.99%, 亲水性氨基酸、极性氨基酸和带电氨基酸的比例分别为 28.9%、26.5%和 34.1%。在组成 Ss-Ppt3 蛋白的 20 种氨基酸中, 谷氨酸和丝氨酸所占高, 都达到 8.1%, 而半胱氨酸的比例最低, 为 1.2%, 脂肪指数为 71.04, 另外, 该蛋白在酵母和大肠杆菌中表达的半衰期分别大于 20 h 和 10 h, 其在溶液中的不稳定指数为 54.68, 提示该蛋白稳定性较差。

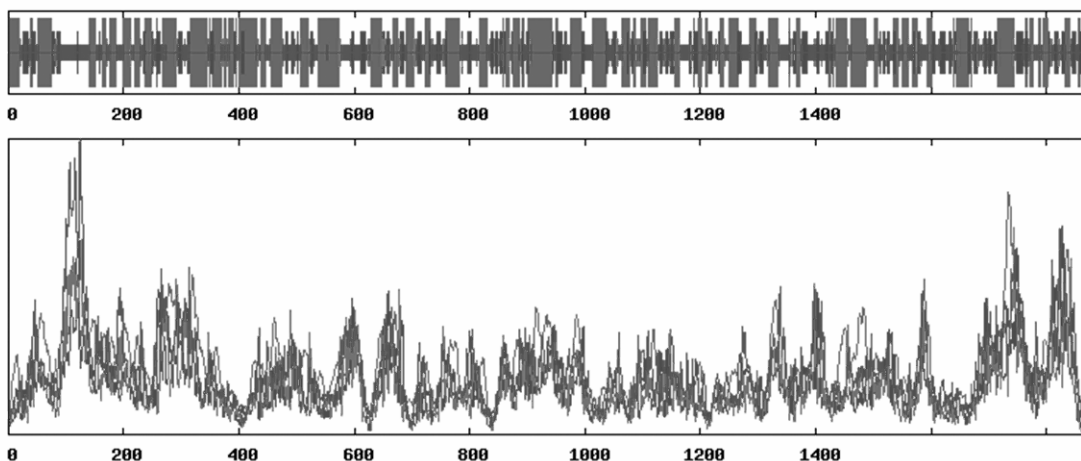


图 6 Ss-Ppt2 的二级结构分析

Figure 6 The secondary structure of Ss-Ppt2

2.3 疏水性分析

利用 ProtScale 在线预测 Ss-Ppt1、Ss-Ppt2 和 Ss-Ppt3 的亲疏水性, 分析表明 Ss-Ppt1 蛋白大约在

25~35 位有 1 个典型的亲水结构域, 大约在 110~140 位氨基酸之间含有 1 个典型的疏水结构域 (图 1), 但其氨基酸的疏水系数大多小于 0, 总平均疏水指数



图 7 Ss-Ppt2 三级结构模型

Figure 7 The tertiary structure of Ss-Ppt3

为-0.381。Ss-Ppt2 的各氨基酸疏水系数大在+1.5~-1.5 之间(图 2), 且多为负, 其疏水性总平均数为-0.337。Ss-Ppt3 蛋白在 800 位左右有 1 个典型的亲水结构域

(图 3), 该蛋白总平均疏水指数为-0.776, 结果提示:Ss-Ppt1、Ss-Ppt2 和 Ss-Ppt3 蛋白均为亲水蛋白。

2.4 跨膜区分析

利用 TMHMM Server v. 2.0 对 PPTases 蛋白进行跨膜区分析表明 Ss-Ppt1、Ss-Ppt2 和 Ss-Ppt3 3 个蛋白都不具有跨膜区, 说明这些蛋白都不是跨膜蛋白, 推测它们可能主要在基质中发挥作用。

2.5 信号肽预测和分析

分泌蛋白及细胞膜蛋白都以前体物质多肽的形式合成, 其 N 末端含有作为通过膜时指导蛋白质跨膜转移的氨基酸序列即为信号肽。利用在线网站 Signal P 4.1 Server 分析核盘菌的 3 个 PPTases 蛋白, 结构显示都不含有信号肽, 预测这 3 个都属于非分泌型蛋白。

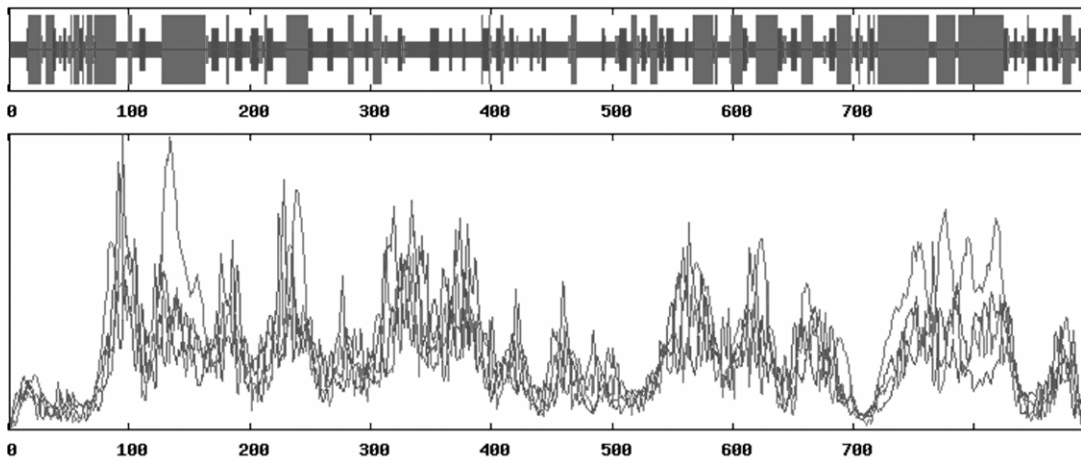


图 8 Ss-Ppt3 的二级结构分析

Figure 8 The secondary structure of Ss-Ppt3

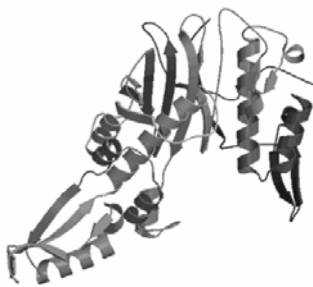


图 9 Ss-Ppt3 三级结构模型

Figure 9 The tertiary structure of Ss-Ppt3



The conserved domains were analyzed by putting the protein sequence of Ss-Ppt1 onto the SMART Website. The result showed that a SCOP and a ACPS domain were found in the Ss-Ppt1 protein

图 10 Ss-Ppt1 蛋白保守结构域

Figure 10 The conserved domains of Ss-Ppt1

2.6 二级结构及三级结构模型

SOPMA 预测结果表明:Ss-Ppt1 的二级结构(图 4), 包括 α 螺旋、 β 转角、无规则卷曲和伸展链, 其中 α 螺旋占 37.01%、 β 转角占 13.56%、无规则卷曲占 30.79%、伸展链占 18.64%。其三级结构建模(图 5)显示: Ss-Ppt1 存在 α 螺旋结构和无规则卷曲等结构, 同二级结构的预测结果一致。SOPMA 预测结果表明: Ss-Ppt2 的二级结构中 α 螺旋占 41.66%、 β 转角占 9.65%、无规则卷曲占 31.10%、伸展链占 17.59%(图 6), 在其三级结构图中(图 7)也可以看出 α 螺旋和无规则卷曲结构占据了结构的大部分。Ss-Ppt3 的二级结构预测结果(图 8)中, α 螺旋占 35.76%、 β 转角占 6.95%、无规则卷曲占 40.92%、伸展链占 16.37%, 与三级结构预测结果(图 9)一致。

2.7 结构域预测

SMART 分析显示 Ss-Ppt1 在第 41~126 位的氨

氨基酸残基区域是一个 SCOP 结构域,位于第 135-263 位氨基酸残基区域是一个 ACPS 结构域(图 10),这与其他物种 PPTases 的显著结构域相同。



The conserved domains were analysed by putting the protein sequence of Ss-Ppt2 onto the SMART Website. The result showed that a ACPS domain were found near the C-terminal, two ketoacyl-synt domains and two low complexity region (1, 2) in the protein

图 11 Ss-Ppt2 蛋白保守结构域

Figure 11 The conserved domains of Ss-Ppt2



The conserved domains were analyzed by putting the protein sequence of Ss-Ppt3 onto the SMART Website. The result showed that a SCOP and a ACPS domain were found near the N-terminal, a ZnF-RBZ domain, three low complexity regions(1, 2, 3) and a coiled coil region(4) in the protein

图 12 Ss-Ppt3 蛋白保守结构域

Figure 12 The conserved domains of Ss-Ppt3

SMART 分析显示(图 11) Ss-Ppt2 蛋白在第 1748-1810 位氨基酸残基区域有 1 个 ACPS 结构域,说明 Ss-Ppt2 蛋白可能具有 PPTases 的活性,而在第 1135-1371 和 1490-1592 位氨基酸残基区域分别有 1 个 ketoacyl-synt 结构域另有两个低复杂性区域(Low complexity region)(图 11 中 1 和 2)。

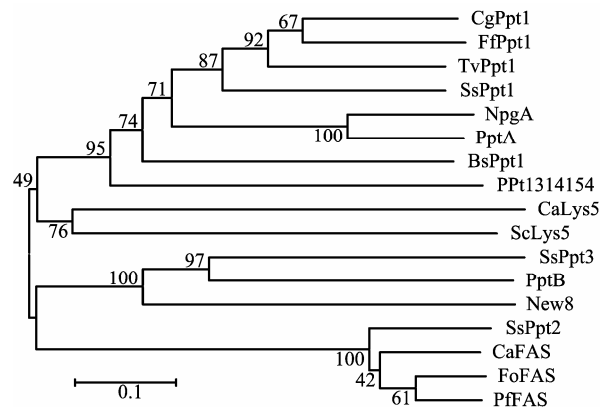
基区域;说明该蛋白可能该蛋白具有 PPTases 的活性。另外 Ss-Ppt3 还含有 3 个低复杂性区域(Low complexity region)其中第 1 个位于第 336~346 位氨基酸残基区域,第 2 个位于第 736~747 位氨基酸残基区域,第 3 个位于第 754~762 位氨基酸残基区域(见图 12 中 1、2 和 3);在第 506~132 位氨基酸残基区域是一个锌指模型结构域(Zinc finger domain);在 785~825 位氨基酸残基区域是一个卷曲螺旋结构域(Coiled coil region)(见图 12 中 4)。

2.8 亚细胞定位

利用 PSORT II 对 Ss-Ppt1 蛋白的亚细胞定位分析结果显示,其分布在细胞质、细胞骨架、细胞核、线粒体、过氧化物酶体的可能性分别为 60.9%、13.0%、13.0%、8.7%和 4.3%。推断 Ss-Ppt1 蛋白可能主要在细胞质中发挥生物学作用。对 Ss-Ppt2 蛋白的亚细胞定位分析结果显示,其分布在线粒体、细胞质、内质网、高尔基体、液泡、细胞核的可能性分别为 34.8%、21.7%、21.7%、13.0%、4.3%和 4.3%。推断 Ss-Ppt2 蛋白可能主要在线粒体中发挥生物学作用。对 Ss-Ppt3 蛋白的亚细胞定位分析结果显示,其分布在细胞核、细胞质、液泡、细胞骨架、质膜、线粒体的可能性分别为 60.9%、21.7%、21.7%、4.3%、4.3%、4.3%和 4.3%。推断 Ss-Ppt3 蛋白可能主要在细胞核中发挥生物学作用。

2.9 系统发育树

将核盘菌中预测得到的 3 个 PPTases 蛋白与另外 14 种来自其他子囊真菌的 PPTases 的氨基酸序列比对、聚类分析并生成系统发育树(图 13)。由系统发育树图可以看出,核盘菌 PPTases 蛋白 Ss-Ppt1、Ss-Ppt2 和 Ss-Ppt3 分别属于不同的大分支中,Ss-Ppt1 与 PPTases CgPpt、FfPpt1、TvPpt1、NpgA、PptA、BsPpt1、Ppt1314154 聚在一起,而后再与 ScLys5 和 CaLys5 聚为一大组,其中 Ss-Ppt1 和 CgPpt、FfPpt1、TvPpt1 亲缘关系最近;Ss-Ppt2 与 CaFAS、FoFAS、PpFAS 聚为一组,Ss-Ppt3 和 PptB、New8 聚为另一组。



The phylogenetic tree was generated by the distance based neighbor joining method using MEGA5, bootstrap values were calculated from 1000 replicates of the alignment, and the rate of change bar was 0.1

图 13 PPTases 蛋白系统发育树的构建

Figure 13 The phylogenetic tree of PPTases

SMART 分析结果(图 12)显示 Ss-Ppt3 含有 1 个 SCOP 结构域,位于第 11~50 位氨基酸残基区域,1 个 ACPS 结构域位于第 129~226 位氨基酸残

3 讨论

由核盘菌引起的油菜菌核病是油菜病害之首,每年在世界范围内造成严重的经济损失。目前对其防控主要集中在化学农药防治方面,而化学农药的大量使用对环境保护和食品安全造成严重威胁,因此,人们对更为环保的生物防治和抗病品种的选育等新的防治方法更加青睐。研究核盘菌的分子致病机理,可为探索新的防治菌核病的策略提供理论基

础^[11]。PPTases 被认为是脂肪酸、聚酮化合物和非核糖体多肽合成的分子开关, 因此该类酶在各生物的初生代谢和次生代谢过程中发挥重要的作用^[4]。本研究以核盘菌全基因组序列为背景, 利用生物信息学技术, 预测出 3 个 PPTases 基因的生物信息学分析结果。随着基因信息库的丰富和基因反向遗传学的应用, 预测结果将为核盘菌 PPTases 基因功能学和致病机理的研究提供良好的借鉴。

通过对 Ss-Ppt1、Ss-Ppt2 和 Ss-Ppt3 的疏水性、跨膜区以及信号肽预测和分析发现表明, 这 3 个 PPTases 蛋白的亲水性较强, 都不存在跨膜结构域, 且都不含有信号肽序列, 这可能说明这 3 个 PPTases 蛋白都在胞液内发挥催化作用, 不属于跨膜蛋白和分泌蛋白。另外, 通过二级和三级结构预测分析发现在 3 个蛋白中 α 螺旋、无规则卷曲占结构的主要部分, 这可能与它们在发挥类似功能的有关。

在 Ss-Ppt1 中 SCOP 和 ACPS 结构域占据了整个蛋白的主要结构部分, 且蛋白大小也最接近于 Sfp 型 PPTase 的大小。另外在进化树分析中其与 CgPpt1、FfpPpt1、TvPpt1 亲缘关系最近, 而 CgPpt1、FfpPpt1、TvPpt1 都是 Sfp 型 PPTase^[8,10,12], 因此, 我们推断 Ss-Ppt1 可能属于 Sfp 型的 PPTase。二级结构预测分析 Ss-Ppt2 蛋白含有 1 个 ACPS 结构域, 且在第 1135~1371 和 1490~1592 位氨基酸残基区域分别含有 1 个 ketoacyl-synt 结构域, ketoacyl-synt 结构域是脂肪酸合成酶的重要的结构域之一^[13], 在进化树图中, Ss-Ppt2 与另外 3 个脂肪酸合成酶 CaFAS、FoFAS 和 PfFAS 聚为一组, 因此推测 Ss-Ppt2 主要在核盘菌的脂肪酸的合成过程中发挥重要作用。另外, 亚细胞定位分析结果显示 Ss-Ppt2 位于线粒体、细胞质和内质网中的可能性较大分别为 34.8%, 21.7% 和 21.7%, 这表明 Ss-Ppt2 蛋白可能主要参与这 3 个细胞器中的脂肪酸的合成。Ss-Ppt3 含有 1 个 SCOP 和 ACPS 结构域, 另有锌指模型结构域等典型结构域, 表明其是位于多酶复合物中发挥作用的 PPTase。由于第 3 类 PPTase 往往位于酶复合体中, 且倾向作用于同一条肽链的其它亚单位^[14], 因此我们推测 Ss-Ppt2 和 Ss-Ppt3 属于第 3 类 PPTase, 且二者发挥不同的催化作用。

4 结论

利用生物信息学方法在核盘菌基因组中预测到 3 个 PPTase 同源物, 分别命名为: Ss-Ppt1、Ss-Ppt2 和 Ss-Ppt3, 其中 Ss-Ppt2 为 Sfp 型 PPTases, Ss-Ppt2

和 Ss-Ppt3 属于第 3 类 PPTase 为多酶复合体的一个功能域。该研究结果为深入研究核盘菌基因组中 PPTase 的功能奠定良好的基础。

参考文献:

- [1] MELVIN D B, BART P H J T, BERLIN D N. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2006, 7(1): 1-16.
- [2] LAMBALOT R H, GEHRING A M, FLUGEL R S, et al. A new enzyme superfamily the phosphopantetheinyl transferases [J]. *Chemistry & Biology*, 1996, 3(11): 923-936.
- [3] LAMBALOT R H, WALSH C H. Cloning, over production, and characterization of the *Escherichia coli* holo-acyl carrier protein synthase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(42): 24658-24661.
- [4] HENNING D M, ROBERT F, MOHAMED A M. Phosphopantetheine transfer in primary and secondary metabolism of *Bacillus subtilis*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(40): 37289-37298.
- [5] FICHTLSCHERER F, WELLEIN C, MITTAG M, et al. A novel function of yeast fatty acid synthase[J]. *European Journal of Biochemistry*, 2000, 267(9): 2666-2671.
- [6] JOSHI A K, ZHANG L, RANGAN V S, et al. Cloning, expression, and characterization of a human 4'-phosphopantetheinyl transferase with broad substrate specificity [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(35): 33142-33149.
- [7] PRAPHANPHOJ V, SACKSTEDER K A, GOULD S J, et al. Identification of the α -Amino adipic Semialdehyde Dehydrogenase Phosphopantetheinyl Transferase Gene, the Human Ortholog of the Yeast LYS5 Gene[J]. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2001, 72(4): 336-342.
- [8] YUEQIANG L, SHAOBIN Z. Sfp-type 4'-phosphopantetheinyl transferase is required for lysine synthesis, tolerance to oxidative stress and virulence in the plant pathogenic fungus *Cochliobolus sativus*[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2012, 13(4): 375-387.
- [9] HORBACH R, GRAF A, WEIHMANN F, et al. Sfp-type 4'-phosphopantetheinyl transferase is indispensable for fungal pathogenicity[J]. *The Plant Cell Online*, 2009, 21(10): 3379-3396.
- [10] WIEMANN P, ALBERMANN S, NIEHAUS E M, et al. The Sfp-type 4'-phosphopantetheinyl transferase Ppt1 of *Fusarium fujikuroi* controls development, secondary metabolism and pathogenicity[J]. *Plos One*, 2012, 7(5): e37519.
- [11] 李秀丽, 高智谋. 核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)致病分子机理研究进展[J]. *安徽农业大学学报*, 2013, 40(2): 146-153.
- [12] VELÁZQUEZ-ROBLEDO R, CONTRERAS-CORNEJO H A, MACÍAS-RODRÍGUEZ L, et al. Role of the 4-Phosphopantetheinyl Transferase of *Trichoderma virens* in Secondary Metabolism and Induction of Plant Defense Responses[J]. *Molecular plant-microbe interactions*, 2011, 24(12): 1459-1471.
- [13] BHORE S J, CHA T S, AMELIA K, et al. Insights from computational analysis of full-length β -ketoacyl-[ACP] synthase-II cDNA isolated from American and African oil palms[J]. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2014, 5(1): 73-81.
- [14] JORIS B, EVA C S, CHRISTOPHER R V, et al. The phosphopantetheinyl transferases: catalysis of a post-translational modification crucial for life [J]. *The Royal Society of Chemistry*, 2014, 31: 61-108.