

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201406013

石鹏,曹红星,李东霞,等. 油棕等热带植物 *DXS* 基因的生物信息学分析 [J]. 广西植物, 2016, 36(4):471-478

SHI P, CAO HX, LI DX, et al. Bioinformatics analysis of *DXS* gene from six tropical plants including oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) [J]. Guihaia, 2016, 36(4):471-478

油棕等热带植物 *DXS* 基因的生物信息学分析

石 鹏, 曹红星, 李东霞, 王 永, 雷新涛*

(中国热带农业科学院 椰子研究所 海南省热带油料作物生物学重点实验室, 海南 文昌 571339)

摘 要: 油棕等热带植物含有丰富的胡萝卜素和维生素 E 等类异戊二烯物质, 类胡萝卜素和甾醇等类异戊二烯物质在植物生命活动中扮演重要角色, 并且对保护人类健康具有重要意义, MEP 途径是合成类异戊二烯的重要途径之一。DXS 是 MEP 途径中的第一个限速酶, 其功能在油棕等热带植物中极其保守。为了弄清油棕等热带植物 DXS 的结构和功能特点, 该研究利用生物信息学工具和软件对以油棕等热带植物类异戊二烯合成关键基因 *DXS* 为对象, 进行核酸和氨基酸序列的理化性质、蛋白质结构以及功能结构域等分析, 探讨了不同物种间的亲缘关系。结果表明: *DXS* 基因起始密码子均为 ATG, 终止密码子则分为 TAG、TAA 和 TGA, *DXS* 蛋白质属于不具有信号肽的亲水性蛋白, 可能作为转运蛋白在叶绿体基质中发挥作用, 未发现明显的跨膜结构域, 磷酸化位点有 36 个, 其中丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸位点分别为 17、11 和 8 个, 无规则卷曲和 α -螺旋是蛋白质二级结构主要的结构元件, 三级结构预测具有 *DXS* 酶特征, 硫胺素焦磷酸盐结合位点和 PLN02582 保守结构域, 不同植物 *DXS* 功能结构域非常保守, 可以作为判断不同物种间亲缘关系的重要依据。该研究结果为油棕等热带植物 *DXS* 的结构、功能分析和利用提供了进一步的信息, 为其品质性状分子机制研究及遗传改良奠定了基础。

关键词: 油棕, *DXS* 基因, 生物信息学, 系统进化树

中图分类号: Q811.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2016)04-0471-08

Bioinformatics analysis of *DXS* gene from six tropical plants including oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)

SHI Peng, CAO Hong-Xing, LI Dong-Xia, WANG Yong, LEI Xin-Tao*

(Hainan Key Biological Laboratory of Tropical Oil Crops, Coconut Research Institute,
Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wenchang 571339, China)

Abstract: The paper unraveled structure characteristics, function features and phylogenetic relationships among species through analyzing nucleic acid and protein sequences of key gene *DXS* controlling isoprenoids synthesis of tropical plants as oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) by using bioinformatics tools. Isoprenoids like carotenoids and sterols play an important role in life of plant, and have important significance for the protection of human health. Tropical plants as oil palm contains abundant isoprenoids like carotenes and vitamin E, MEP is one of the important pathway for isoprenoids biosynthesis. *DXS* as the first rate limiting enzyme in MEP pathway, its functions were highly conserved in diverse tropical plants. In order to understand the structure and function characteristics of *DXS* from tropical plants as oil palm, *DXS*

收稿日期: 2014-12-19 修回日期: 2015-02-15

基金项目: 国家林业局“948”项目(No.2013-4-40) [Supported by the Plan of Introducing the Advanced Technology for Agriculture of State Forestry Administration(No.2013-4-40)]。

作者简介: 石鹏(1987-), 男, 湖南安乡人, 硕士, 研究实习生, 主要从事油棕种质资源评价等研究, (E-mail)624811593@qq.com。

*通讯作者: 雷新涛, 博士, 研究员, 主要从事热带油料作物遗传育种等研究, (E-mail)xtlei@263.com。

genes nucleic acid and protein sequences from different plants including oil palm were analyzed such as physicochemical property, protein structure, and conserved domain by the tools of bioinformatics in this study. The results showed that the start codon of *DXS* gene was ATG, but termination codon was divided into TAG, TAA and TGA; *DXS* protein belonged to a hydrophilic protein without a signal peptide; It might played a role in the chloroplast stroma as a transport protein; No transmembrane domain was found, there were 36 phosphorylation sites, including 17 serine, 11 threonine and 8 tyrosine sites respectively; Random coil and alpha helix were the major structural elements of secondary structure; It had *DXS* enzyme character, thiamin diphosphate (TPP) binding sites and PLN02582 conserved multi-domains with tertiary structure analysis; Domains of *DXS* protein from different plant, were very conservative, and could be used as an important basis for determining genetic relationships among species. The results would provide further information for structure and functional analysis of *DXS*, and lay the foundation for molecular mechanism research and genetic improvement of quality traits for tropical plants including oil palm.

Key words: oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.), *DXS* gene, bioinformatics, phylogenetic tree

油棕 (*Elaeis guineensis* Jacq.) 属棕榈科多年生乔木, 是热带产油植物, 果实中类胡萝卜素的含量是决定油棕品质的一个重要指标。粗棕榈油中含有 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 类胡萝卜素, 其中 80% 都是 β -胡萝卜素和 α -胡萝卜素, 这也是粗棕榈油呈黄色或红棕色的原因 (雷新涛和曹红星, 2013)。巴西橡胶、可可、白木香、杜仲和麻疯树都是重要的热带植物, 对油棕等热带植物进行 *DXS* 的生物信息学分析, 对于了解这些重要植物的 *DXS* 蛋白质结构和功能具有重要意义, 同时也为分析这些热带植物间进化关系提供依据。

类异戊二烯是最大的一类天然产物, 目前为止已知的有 3 万多种 (Sacchetti & Poulter, 1997)。一些类异戊二烯在细胞中有着重要作用, 如甾醇是细胞膜结构的重要组分 (Erick, 2008), 长萜醇在蛋白质糖基化中担任糖基载体 (Vincent & Dirk, 2011), 泛素和质体醌在光合作用和呼吸作用中扮演电子转运体的角色 (Keisuke et al, 2010), 脱落酸、细胞分裂素、赤霉素和甾醇作为激素控制着生理和发育过程 (Jonathan & Neil, 2001)。尽管各种类异戊二烯的结构和功能存在差异, 但是所有的都由异戊烯焦磷酸 (IPP) 和它的同分异构体二甲烯丙基焦磷酸 (DMAPP) 构成。IPP 和 DMAPP 能通过两个不同生物合成路线: 甲羟戊酸 (MVA) 途径, 其主要存在真菌、酵母和动物细胞质中; 2-C-甲基-D-赤藻糖醇-4-磷酸 (MEP) 途径, 其存在原生生物, 大多数细菌, 绿藻和高等植物质体中 (Lombard & Moreira, 2011; Wanke et al, 2001; Vranova et al, 2013)。MEP 途径的第一步是丙酮酸和 3-磷酸甘油醛在 1-脱氧木酮糖-5-磷酸合成酶 (*DXS*) 的催化下生成 1-脱氧木酮糖-5-磷酸 (DXP)。DXS 是一种新的转酮酶, 由

DXS 基因翻译而来 (Elizabeth et al, 2009; Han et al, 2013)。在植物和大肠杆菌中, 由此反应产生的 DXP 被用来在质体中生成 IPP。*DXS* 基因最初在大肠杆菌中被克隆和分析, 其它细菌和高等植物中随后也找到了同源基因 (Cordoba et al, 2011; Zhang et al, 2009; Gong et al, 2006; Luisa et al, 1998; Kuzuyama et al, 2000; Hahn et al, 2001)。胡萝卜素和叶黄素统称为类胡萝卜素, 是所有进行光合作用生物中的色素。在高等植物中, 类胡萝卜素在绿色组织光合作用中扮演重要角色。其中, β -胡萝卜素是维生素 A 的前体, 具有抗癌的作用, 其缺乏会导致失明和早逝 (Rao et al, 2007; Shan & Li, 2008; Aguila & Manuel, 2012)。由于类胡萝卜素的重要性, 高等植物中编码类胡萝卜素生物合成的酶基因成为了增加类胡萝卜素生物合成的潜在位点。有文献报道证实 *DXS* 是途径中的限速酶, MEP 途径中的基因高表达与植物中更高含量的类胡萝卜素有直接关系 (Peng, 2008)。

生物信息学兴起于 21 世纪, 利用信息学工具分析核酸和蛋白质等大分子, 大规模挖掘这些大分子的生物学意义 (Luscombe et al, 2001)。目前, 植物中开展 *DXS* 的生物信息学分析还不多, 尤其在油棕等热带植物中还很少报道。本文主要以油棕等热带植物的 *DXS* 核酸和蛋白质序列为分析对象, 利用大量的生物信息学工具挖掘其序列的生物学意义, 为进一步研究油棕等热带植物 *DXS* 基因功能和类胡萝卜素代谢过程奠定基础。

1 材料与方法

1.1 数据来源

核酸和蛋白质序列均来源于 NCBI (National

表 1 生物信息学分析使用的工具和软件
Table 1 Tools and softwares used by bioinformatics analysis

工具或软件 Tool or software	功能 Function	网址 Website
ProtParam	蛋白质理化性质分析 Physicochemical property analysis	http://web.expasy.org/protparam/
ORF Finder	查找开放阅读框 Open reading frame	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html
ProtScale	蛋白质亲水性和疏水性分析 Hydrophobicity or hydrophilicity analysis	http://web.expasy.org/protscale/
SOPMA	蛋白质二级结构预测 Secondary structure prediction	http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html
SWISS-MODEL	蛋白质三级结构预测 Tertiary structure prediction	http://swissmodel.expasy.org/interactive
TMHMM Server V.2.0	蛋白质跨膜结构域预测 Transmembrane structure prediction	http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/
NetPhos 2.0 Server	蛋白质磷酸化位点预测 Phosphorylation sites prediction	http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/
PSORT	蛋白质亚细胞定位 Subcellular localization	http://psort.hgc.jp/form.html
SignalP 4.1 Server	蛋白质信号肽预测 Signal peptide prediction	http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/
TargetP 1.1 Server	蛋白质导肽预测 Leading peptide prediction	http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/
Conserved Domains Database	蛋白质保守结构域分析 Conserved domain analysis	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/edd/wrpsb.cgi
Blastn/Blastp	核酸和蛋白质比对 Nucleic acid and protein alignment	http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi
MEGA 6.06	系统进化树构建 Phylogenetic tree construction	http://www.megasoftware.net/

Center for Biotechnology Information) 数据库中已有的油棕等热带植物 1-脱氧木酮糖-5-磷酸合成酶基因的核酸序列及其对应的蛋白质序列, 如油棕 (*Elaeis guineensis* Jacq., AY583783、AAS99588)、白木香 (*Aquilaria sinensis*, JX860326、AFU75321)、杜仲 (*Eucommia ulmoides*, JX458817、AFU93068)、巴西橡胶 (*Hevea brasiliensis*, AB294698、BAF98288)、麻疯树 (*Jatropha curcas*, KF955327、AHL17583)、可可 (*Theobroma cacao*, XM007035370、XP007035432); 另外, 构建系统进化树还用到了以下几种植物的 *DXS* 蛋白质序列: 高良姜 (*Alpinia officinarum*, AEK69518)、阳春砂 (*Amomum villosum*, ACR02668)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*, NP193291)、巴豆 (*Croton stellatopilosus*, BAF75640)、海岛棉 (*Gossypium barbadense*, ABN13970)、苜蓿 (*Medicago truncatula*, XP003609567)、烟草 (*Nicotiana tabacum*, ACF60511)、粳稻 (*Oryza sativa*, NP001055524)、葛麻姆 (*Pueraria montana*, AAQ84169)、蓖麻 (*Ricinus communis*, XP002516843)、罗汉果 (*Siraitia grosvenorii*, AEM42997)、番茄 (*Solanum lycopersicum*,

NP001234672)、马铃薯 (*S. tuberosum*, NP001275130)、南非醉茄 (*Withania somnifera*, AFI98878)、玉米 (*Zea mays*, NP001157805)。

1.2 方法

所用生物信息学工具和软件如表 1 所示, 具体参数设置见结果。

2 结果与分析

2.1 油棕等热带植物 *DXS* 基因核酸及氨基酸序列分析

利用 ORF Finder 和 ProtParam 对油棕、巴西橡胶、麻疯树、杜仲、可可和白木香 6 种热带植物 *DXS* 基因的核酸序列及其氨基酸序列进行分析。分析结果如表 2 所示, 不同植物 *DXS* 基因开放读码框的碱基数及所编码的氨基酸残基数变化不大, 起始密码子均为 ATG, 终止密码子分为 3 种, 即油棕、巴西橡胶和白木香均为 TAG, 麻疯树和杜仲为 TAA, 可可为 TGA; 而且不同植物 *DXS* 的分子量、理论等电点和高含量氨基酸成分基本一致; Leu、Ala、Gly 是这 6 种热带植物 *DXS* 中含量最丰富的氨基酸; 根据

表 2 6 种热带植物 DXS 核酸及氨基酸序列分析
Table 2 Analysis of DXS nucleic acid and amino acid from 6 tropical plants

来源 Resource	起始 密码子 Initiation codon	终止 密码子 Termination codon	aa 残基数 Number of amino acid residue	相对分子 量/KD Relative molecular weight/ kilodalton	理论等 电点 Theoretical isoelectric point	高含量氨基酸 Amino acid of high content			亲水性 总平均值 Grand average of hydropathicity	不稳定 指数 Instability index
油棕 <i>Elaeis guineensis</i> Jacq.	ATG	TAG	707	76.44	7.00	Leu(10.5)	Ala(9.6)	Gly(9.6)	-0.120	40.42
巴西橡胶 <i>Hevea brasiliensis</i>	ATG	TAG	720	77.44	7.34	Leu(10.3)	Gly(10.0)	Ala(9.7)	-0.063	39.55
麻疯树 <i>Jatropha curcas</i>	ATG	TAA	720	77.49	7.12	Leu(10.3)	Ala(10.1)	Gly(9.9)	-0.096	41.76
杜仲 <i>Eucommia ulmoides</i>	ATG	TAA	712	76.96	8.14	Leu(9.7)	Gly(9.7)	Ala(9.4)	-0.076	39.54
可可 <i>Theobroma cacao</i>	ATG	TGA	722	77.59	6.94	Leu(10.4)	Ala(10.4)	Gly(9.8)	-0.069	39.75
白木香 <i>Aquilaria sinensis</i>	ATG	TAG	717	76.91	6.65	Ala(10.9)	Leu(9.9)	Gly(9.6)	-0.113	41.39

不稳定性指数小于 40 为稳定性蛋白质判断,巴西橡胶、杜仲和可可的 DXS 为稳定类蛋白质,而油棕、麻疯树和白木香的 DXS 为不稳定类蛋白质;且它们的亲水系数较低,均为亲水性蛋白质。

2.2 油棕等热带植物 DXS 亲水性/疏水性的预测和分析

利用 ProtScale 对油棕氨基酸序列的疏水性/亲水性进行预测(图 1)。从图 1 发现,多肽链第 55 位的 His 具有最低的分值 -2.656,亲水性最强;而第 185 位的 Gly 具有最高的分值 2.067,疏水性最强。整体来看,亲水氨基酸分布比较均匀,且数量大于疏水氨基酸,故推测油棕 DXS 蛋白质为亲水性蛋白。

2.3 油棕等热带植物 DXS 二级结构的预测和分析

利用 SOPMA 对油棕 DXS 氨基酸序列进行二级结构预测(图 2)。从图 2 可以发现,油棕 DXS 由 40.45%的无规则卷曲(Random coil),38.19%的 α -螺旋(Alpha helix),15.28%的延伸链(Extended strand)和6.08% β -转角(Beta turn)组成。在整个蛋白质结构中,无规则卷曲和 α -螺旋是油棕 DXS 最主要的结构元件,而延伸链和 β -转角则次之。

2.4 油棕等热带植物 DXS 蛋白三级结构的预测和分析

利用 SWISS-MODEL 的同源建模方法预测油棕 DXS 蛋白的三级结构,获得油棕 DXS 三维结构模式(图 3)。同源建模分析发现其与蛋白质模板 2o1s.1.A 有 50.58%的相似性,且根据三级结构特征推测为 1-脱氧木酮糖-5-磷酸合成酶(1-deoxy-D-xylose-5-phosphate synthase)。从图 3 可以看出,紫色卷曲状结构代表的无规则卷曲遍布在油棕 DXS

三级结构中。

2.5 油棕等热带植物 DXS 跨膜结构域的预测和分析

利用 TMHMM 对不同热带植物 DXS 氨基酸序列的跨膜结构域进行预测(图 4),未发现明显的跨膜结构域。

2.6 油棕等热带植物 DXS 翻译后修饰的预测和分析

利用 NetPhos 2.0 Server 对油棕 DXS 的翻译后修饰预测的结果表明(图 5),整个多肽链中分值在 0.5(阈值)以上的氨基酸位点有 36 个,可知油棕 DXS 的磷酸化位点有 36 个,其中 Ser:17,Thr:11,Tyr:8。

2.7 油棕等热带植物 DXS 的亚细胞定位分析

利用 PSORT 对油棕等热带植物的 DXS 基因的编码产物进行亚细胞定位分析,结果表明,油棕和其它热带植物的 DXS 蛋白质定位在叶绿体中基质的可能性最大,该结果说明热带植物 DXS 蛋白可能主要是在叶绿体基质中行使功能。

2.8 油棕等热带植物 DXS 信号肽和导肽的预测及分析

利用 SignalP 4.1 Server 对油棕 DXS 氨基酸序列的信号肽进行预测(图 6)。图 6 结果表明,油棕 DXS 不含有信号肽。

同时利用 TargetP1.1 Server 进行导肽分析也证实了其作为叶绿体转运蛋白(分值为 0.409)的可能性比较大(图 7),该蛋白存在信号肽(分值为 0.030)的可能性很小。此结果与亚细胞定位及信号肽预测结果基本一致。

2.9 油棕等热带植物 DXS 保守结构域的预测和分析

通过 NCBI 中的保守结构域数据库(Conserved Domain Database, CDD)工具对 DXS 基因的氨基酸

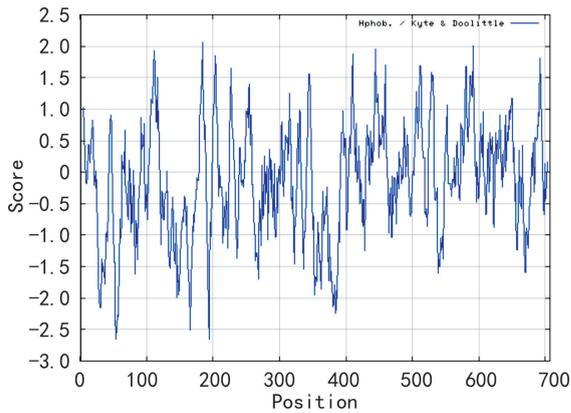


图 1 油棕 *DXS* 的疏水性/亲水性预测和分析
Fig. 1 Hydrophobicity or hydrophilicity prediction and analysis of EgDXS

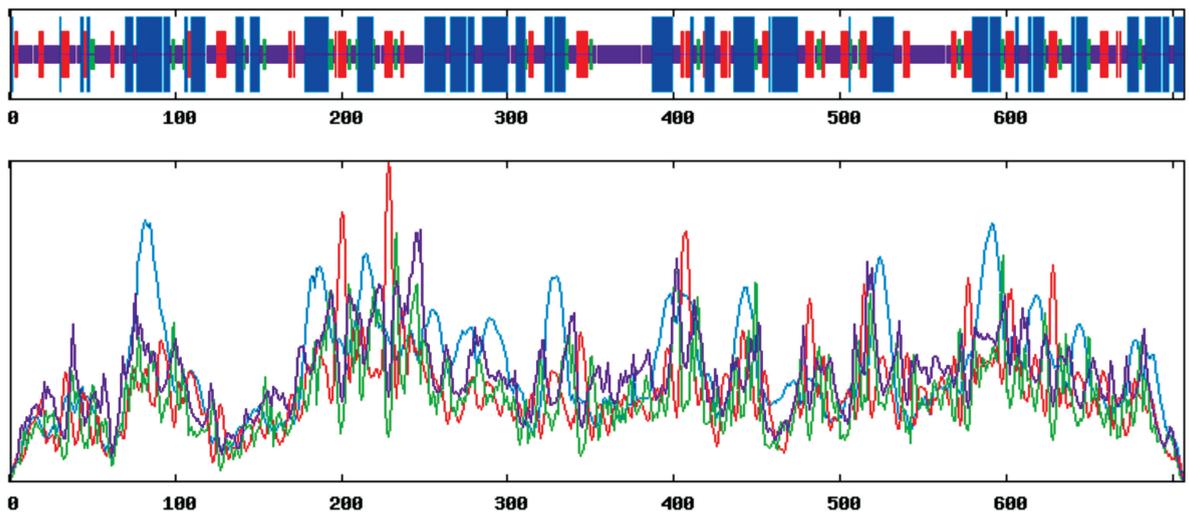


图 2 油棕 *DXS* 二级结构预测 蓝色线条, 红色线条, 绿色线条和紫色线条分别表示 α -螺旋, 延伸链, β -转角和无规则卷曲。横坐标和纵坐标分别表示二级结构在所处的位置和数量。

Fig. 2 Secondary structure prediction of EgDXS Blue lines, red lines, green lines, purple lines represent alpha helix, extended strand, beta turn and random coil respectively. Horizontal and vertical axis represent position and quantity of secondary structure respectively.

79%和 79%;蛋白质的 Blastp 比对发现,油棕 *DXS* 的氨基酸序列与其他植物的氨基酸序列有更高的相似性,如与长春花 (AGL40532)、阳春砂 (ACR02668)、玉米 (ACG27905)、麻疯树 (AHL17583)、高良姜 (AEK69518) 和罗汉果 (AEM42997) 的一致性分别为 86%、85%、86%、86%、86% 和 85%。以上结果表明,植物 *DXS* 氨基酸序列之间的相似性高于核酸序列。

把 21 个来自不同植物的 *DXS* 氨基酸序列用 MEGA 6.06 软件采用 Neighbor-Joining 法,进行 1 000 次 bootstrap 统计学检验构建系统进化树(图 9)。图 9 结果表明,21 种不同植物的 *DXS* 氨基酸序列可以

序列分析发现,*DXS* 含有硫胺素焦磷酸盐 (TPP, Thiamine pyrophosphate) 和嘧啶 (PYR, Pyrimidine) 结合位点,TPP_ *DXS*、TPP_PYR_ *DXS*_TK_like 和 Transketolase_C 保守域,TPP_enzymes、TPP_enzyme_PYR 和 Transketolase_C superfamily 家族和 PLN02582 保守结构域。其中 PLN02582 是 1-脱氧木酮糖-5-磷酸合成酶的特征序列(图 8)。

2.10 油棕等热带植物 *DXS* 序列比对及系统进化分析

用 Blast 程序比对油棕与其它植物 *DXS* 的核酸及氨基酸序列同源性,结果表明油棕 *DXS* 的核酸序列与其它植物如高良姜 (HQ874656)、麻疯树 (KF955327)、葛麻姆 (FJ455512)、橡胶 (AB294698)、番茄 (NM001247743) 和南非醉茄 (JQ710678) 的一致性分别是 80%、80%、79%、79%、

分为 3 大类,巴西橡胶和蓖麻等 10 种植物分为第 I 类,其中大戟科植物麻疯树、巴豆、蓖麻和巴西橡胶在此类,而白木香、可可和杜仲等热带植物也聚在此类;豆科植物和茄科植物分在第 II 类,其中同为豆科植物的葛麻姆和苜蓿聚成一簇的信心指数为 100%,马铃薯、番茄、南非醉茄和烟草为茄科,其中马铃薯和番茄聚成一簇的信心指数为 100%;油棕、姜科和禾本科植物分在第 III 类,其中同为禾本科的梗稻和玉米聚成一簇的信心指数为 100%,同为姜科的高良姜和阳春砂聚成一簇的信心指数为 100%。从聚类分析结果可以发现,用 *DXS* 氨基酸序列构建的系统进化树可以比较真实地反映不同植

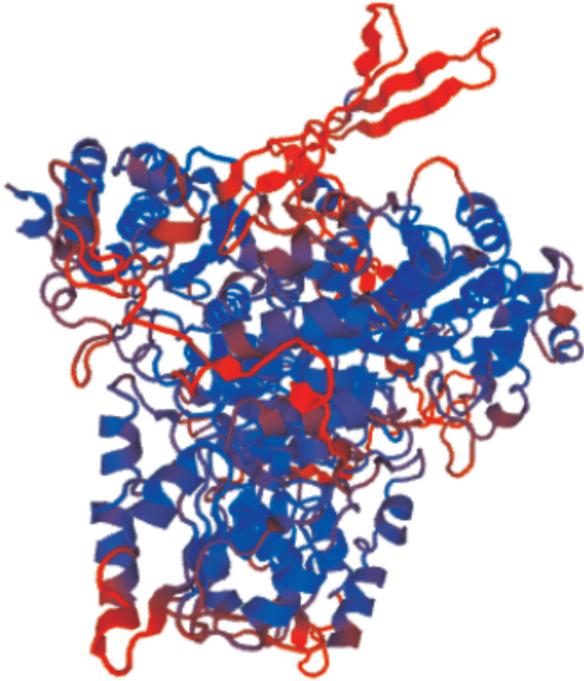


图3 油棕 DXS 三级结构预测

Fig. 3 Tertiary structure prediction of EgDXS

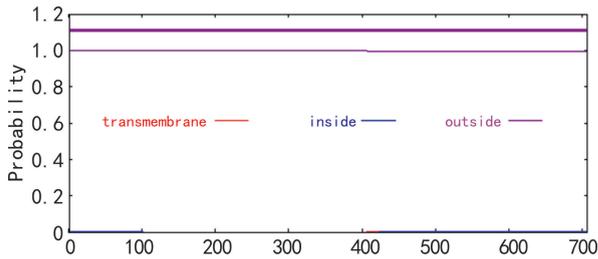


图4 油棕 DXS 的跨膜结构域预测

Fig. 4 Transmembrane structure prediction of EgDXS

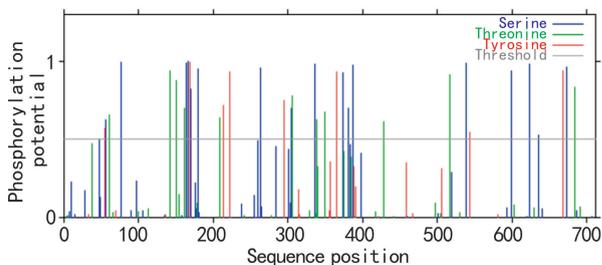


图5 油棕 DXS 翻译后修饰预测 磷酸化位点分为丝氨酸,苏氨酸和酪氨酸3种。

Fig. 5 Posttranslational modification prediction of EgDXS Phosphorylation sites are divided into serine, threonine and tyrosine.

物之间的进化关系,对判断植物间的亲缘关系具有很好的参考价值。

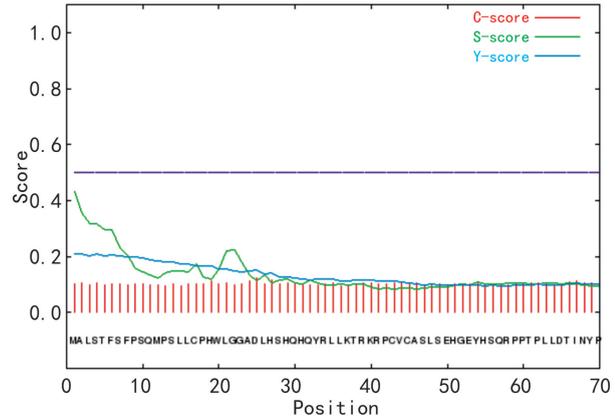


图6 油棕 DXS 信号肽预测 C-score. 切割位点的可能性; S-score. 氨基酸是信号肽的可能性; Y-score. 结合 C-score 和 S-score 的导数,能更好地反映切割位点的可能性。

Fig. 6 Signal peptide prediction of EgDXS C-score. Possibility of cleavage site; S-score. Possibility of signal peptide; Y-score. Derivative of the C-score combined with the S-score resulting in a better cleavage site prediction than the raw C-score alone.

Name	Len	cTP	mTP	SP
EgDXS	707	0.409	0.262	0.030

图7 油棕 DXS 导肽预测 Len. 蛋白质长度; cTP. 作为叶绿体转运蛋白的可能性; mTP. 作为线粒体转运蛋白的可能性; SP. 信号肽的可能性。

Fig. 7 Leading peptide prediction of EgDXS Len. Length of protein; cTP. Possibility of chloroplast transport protein; mTP. Possibility of mitochondria transport protein; SP. Possibility of signal peptide.

3 讨论与结论

类胡萝卜素对于植物来说是必需的,并且在为人类提供营养和保护健康方面具有重要作用。本文利用生物信息学工具和软件对油棕等热带植物的 DXS 基因的核酸及蛋白质理化性质、结构组成和功能特征等进行了预测和分析,并构建了油棕等 21 种植物的系统进化树。预测结果表明,不同植物 DXS 的理化性质差异不大,蛋白质稳定性不一,都属于亲水性蛋白质。跨膜结构域、信号肽和导肽预测结果表明,油棕等热带植物的 DXS 都没有发现明显的跨膜结构域和信号肽,主要是在叶绿体基质中发挥作用,可能作为叶绿体转运蛋白行使功能。DXS 的保守结构域分析发现,DXS 含有硫胺素焦磷酸盐和嘧啶结合位点, TPP_DXS、TPP_PYR_DXS_TK_like 和

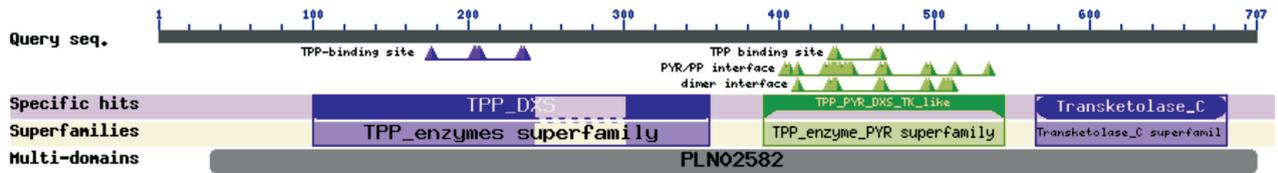


图 8 油棕 *DXS* 保守结构域预测
Fig. 8 Conserved domain prediction of EgDXS

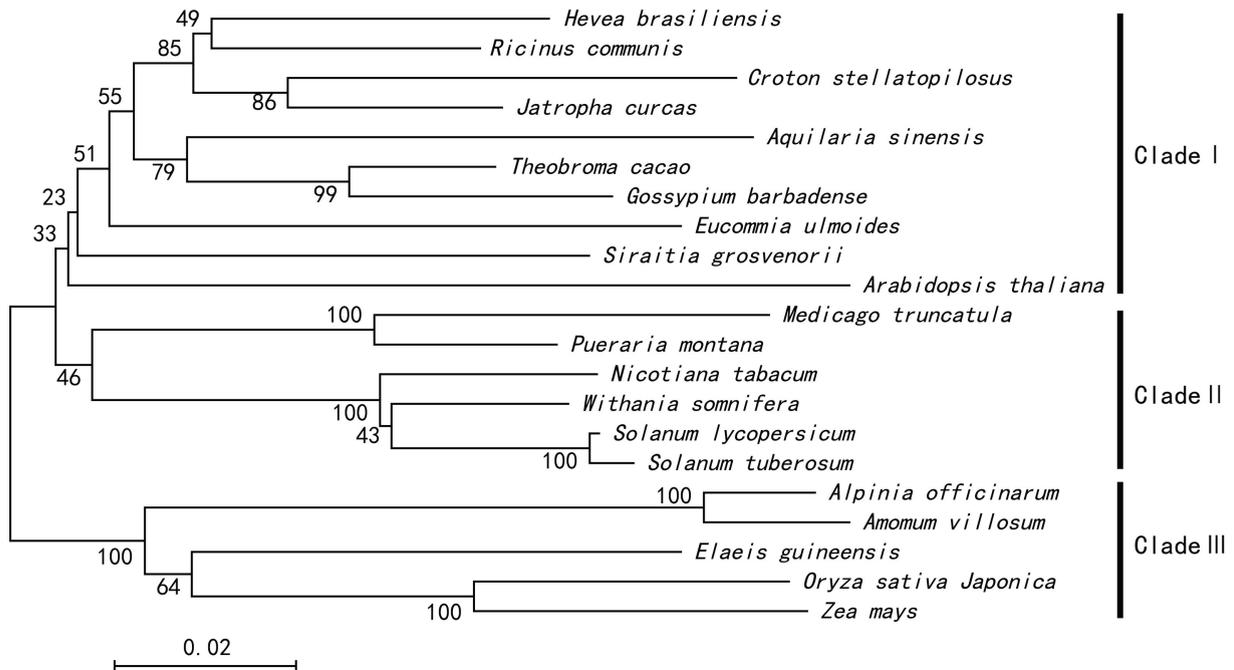


图 9 油棕等 21 种植物 *DXS* 氨基酸序列系统进化树分析
Fig. 9 Phylogenetic tree analysis of Amino acid series from 21 plants including oil palm

Transketolase_C 保守域, TPP_enzymes、TPP_enzyme_PyR 和 Transketolase_C superfamily 家族以及 PLN02582 保守结构域, 其中 PLN02582 保守结构域是 1-脱氧木酮糖-5-磷酸合成酶的特征结构域。

在 MEP 途径中, 以丙酮酸和 3-磷酸甘油醛为底物, 先后经过 8 个酶的催化最终形成了合成类异戊二烯的通用底物 IPP 和 DMAPP。实验证实作为 MEP 途径第一个酶 *DXS* 在 IPP 和 DMAPP 合成过程中发挥重要作用。拟南芥中对 MEP 途径中的酶研究较多, 目前 MEP 途径中的所有酶都已经确认。MEP 途径的第一个反应就是在 *DXP* 合成酶 *DXS* 的催化作用下甘油醛-3-磷酸缩合生成 1-脱氧木酮糖-5-磷酸。研究表明, 通过 MEP 途径合成类胡萝卜素主要受到限速酶 *DXS*, *DXR* 和 *HDR* 的控制 (Sawitri & Wallie, 2005; Elizabeth et al, 2009)。Parucia et al (2006) 认为在充分了解植物类胡萝卜

素合成机制的基础上, 可以通过生物技术手段提高植物中的类胡萝卜素, 为人类提供类胡萝卜素含量更高的食物。目前, 番茄、马铃薯、油菜和水稻中都已经开展了相关转基因实验。植物中类胡萝卜素的代谢和生物合成途径已经得到广泛研究, 合成途径中几乎所有编码合成酶的基因都被分离出来。Sanae & Akemi (2006) 研究菊花花瓣颜色发现, 是类胡萝卜素的合成和积累机制不同形成了黄色和白色两种花瓣颜色, 其中 *LCYE*, *LCYB* 和 *DXS* 的表达量与花瓣中类胡萝卜素的含量息息相关。在番茄果实发育过程中, *DXS* 的表达量与果实中类胡萝卜素含量呈正相关关系, 说明 *DXS* 在番茄果实发育和器官形成过程中发挥重要作用 (Luisa et al, 2000)。莱茵衣藻中研究发现, *DXS* 和 *DXR* 等基因的表达量随着光周期波动, *DXS* 等基因的表达量表现出典型的昼夜节律模式, 并且也会受到中间代谢产物的反馈调

节(Tian et al,2010)。因此,在植物类胡萝卜素合成代谢过程中,DXS 是调控类胡萝卜素合成的关键酶,对其进行生物信息学分析为今后深入研究具有重要意义。油棕和巴西橡胶等热带植物 DXS 生物信息学分析,可以寻找这些不同科的热带植物在 DXS 上的共同特征和不同点,希望为热带植物 DXS 结构和功能研究奠定基础。植物激素、类胡萝卜素和甾醇等类异戊二烯物质在热带植物生命活动中具有重要作用,而它们在热带植物中的具体功能作用及其控制基因研究较少,需要进一步开展相关研究,揭开类异戊二烯在热带植物中的生物合成途径及其调控机制。油棕等 21 种植物 DXS 氨基酸序列比对和系统进化树分析发现,不同植物的 DXS 序列相似性较高,功能域非常保守,以 DXS 氨基酸序列构建的进化树能准确反映不同植物间的亲缘关系,也可作为评价油棕等热带植物种质资源的重要依据。

参考文献:

AGUILA RS, MANUEL RC, 2012. Carotenoid biosynthesis in *Arabidopsis*: a colorful pathway [J]. *Arabidopsis Book*, 10:e0158.

CORDOBA E, PORTA H, ARROYO A, et al, 2011. Functional characterization of the three genes encoding 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase in maize [J]. *J Exp Bot*, 62(6):2 023–2 038.

ERICK JD, 2008. Sterols and membrane dynamics [J]. *J Chem Biol*, 1(1–4):63–77.

ELIZABETH C, MARI S, PATRICIA L, 2009. Unravelling the regulatory mechanisms that modulate the MEP pathway in higher plants [J]. *J Exp Bot*, 60(10):2 933–2 943.

GONG YF, LIAO ZH, GUO BH, et al, 2006. Molecular cloning and expression profile analysis of *Ginkgo biloba* DXS gene encoding 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase, the first committed enzyme of the 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate pathway [J]. *Plant Med*, 72(4):329–335.

HAN M, HEPPEL SC, SU T, et al, 2013. Enzyme inhibitor studies reveal complex control of methyl-D-erythritol-4-phosphate (MEP) pathway enzyme expression in *Catharanthus roseus* [J]. *PLoS ONE*, 8(5):e62467.

HAHN FM, EUBANKS LM, TESTA CA, et al, 2001. 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, the gene product of open reading frame (ORF) 2816 and ORF 2895 in *Rhodobacter capsulatus* [J]. *J Bact*, 183:1–11.

JONATHAN DB, NEIL WP, 2001. Plant hormones and the control of physiological processes [J]. *New Phytol*, 152(3):375–407.

KEISUKE Y, MASARU S, ICHIRO T, et al, 2010. Simultaneous determination of *in vivo* plastoquinone and ubiquinone redox states by HPLC-based analysis [J]. *Plant Cell Physiol*, 51(5):836–841.

KUZUYAMA T, TAKAGI M, TAKAHASHI S, et al, 2000. Cloning and characterization of 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase from *Streptomyces* sp. Strain CL190, which uses both

the mevalonate and nonmevalonate pathway for isopentenyl diphosphate biosynthesis [J]. *J Bacteriol*, 182(4):891–897.

LEI XT, CAO HX, 2013. *Oil Palm* [M]. Beijing: China Agriculture Press; 103–104. [雷新涛,曹红星,2013.油棕[M].北京:中国农业出版社:103–104.]

LOMBARD J, MOREIRA D, 2011. Origins and early evolution of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis in the three domains of life [J]. *Mol Biol Evol*, 28(1):87–99.

LUISA ML, NARCISO C, SURYA RP, et al, 1998. Cloning and characterization of a gene from *Escherichia coli* encoding a transketolase-like enzyme that catalyzes the synthesis of D-1-deoxyxylulose-5-phosphate, a common precursor for isoprenoid, thiamin, and pyridoxol biosynthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 95(5):2 105–2 110.

LUSCOMBE NM, GREENBAUM D, GERSTEIN M, et al, 2001. What is bioinformatics? A proposed definition and overview of the field [J]. *Meth Inf Med*, 40(4):346–358.

LUISA ML, MANUEL RC, FRANCESCA G, et al, 2000. Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: regulatory role of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase [J]. *Plant J*, 22(6):503–513.

PENG HC, 2008. Bioimage informatics: a new area of engineering biology [J]. *Bioinformatics*, 24(17):1 827–1 836.

PATRICIA BP, MANUEL RC, 2006. Carotenoid biotechnology in plants for nutritionally improved foods [J]. *Physiol Plant*, 126(3):369–381.

RAO AV, RAO LG, 2007. Carotenoids and human health [J]. *Pharmacol Res*, 55:207–216.

SACCHETTINI JC, POULTER CD. 1997. Creating isoprenoid diversity [J]. *Science*, 277:1 788–1 789.

SANAE K, AKEMI O, 2006. Regulation of carotenoid biosynthesis in petals and leaves of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*) [J]. *Physiol Plant*, 128(3):436–447.

SAWITRI K, WALLIE S, 2005. Molecular cloning and expression of a cDNA encoding 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase from oil palm *Elaeis guineensis* Jacq. [J]. *Plant Sci*, 169:571–578.

SHAN L, LI L, 2008. Carotenoid metabolism: biosynthesis, regulation, and beyond [J]. *J Integr Plant Biol*, 50(7):778–785.

TIAN HS, CHENG QL, YUAN YH, et al, 2010. Coordinated regulation of gene expression for carotenoid metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *J Integr Plant Biol*, 52(10):868–878.

VINCENT C, DIRK JL, 2011. From glycosylation disorders to dolichol biosynthesis defects: a new class of metabolic diseases [J]. *J Inherit Metab Dis*, 34(4):859–867.

VRANOVA E, COMAN D, GRUISSEM W, 2013. Network analysis of the MVA and MEP pathway for isoprenoid synthesis [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 64:665–700.

WANKE M, SKORUPINSKA TK, SWIEZEWSKA E, 2001. Isoprenoid biosynthesis via 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate/2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate (DOXP/MEP) pathway [J]. *Acta Biochim Pol*, 48(3):663–672.

ZHANG M, LI K, ZHANG C, et al, 2009. Identification and characterization of class I DXS gene encoding 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, the first committed enzyme of the MEP pathway from soybean [J]. *Mol Biol Rep*, 36(5):879–887.