

大鼠单核细胞趋化蛋白-1 基因的生物信息学分析

吴桂梅, 赵小峰, 汪瑶, 金磊, 贺玲* (徐州医科大学, 基础医学国家级教学示范中心, 江苏徐州 221000)

摘要 [目的] 对大鼠单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 基因编码的蛋白质进行结构和性质分析。[方法] 利用生物信息学方法对大鼠 MCP-1 基因编码的蛋白质的理化性质和结构进行分析, 并分析该基因与其他物种的生物进化关系。[结果] 大鼠 MCP-1 基因与小鼠的亲缘关系最近; 大鼠 MCP-1 蛋白是一个稳定的亲水性碱性蛋白, 分子式为 $C_{721}H_{1175}N_{197}O_{223}S_9$, 理论等电点为 9.20, 由 8.78% 的 α -螺旋、35.81% 的折叠延伸链、55.41% 的无规则卷曲组成, 有 1 个 SCY 结构域; 该蛋白可能的信号肽剪切位点在第 17 位点处。[结论] MCP-1 蛋白是一个稳定的亲水性分泌蛋白。该研究结果可为 MCP-1 的进一步研究提供理论依据。

关键词 单核细胞趋化蛋白-1; 生物信息学分析; 大鼠; 基因

中图分类号 Q343.1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)01-0093-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.01.029



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Bioinformatics Analysis of Monocyte Chemotacticprotein-1 Gene in Rat

WU Gui-mei, ZHAO Xiao-feng, WANG Yao et al (National Demonstration Center for Experimental Basic Medical Science Education, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221000)

Abstract [Objective] To investigate the structure and properties of Monocyte chemotacticprotein-1 (MCP-1) gene encoding protein in rat. [Method] MCP-1 gene encoding protein of rat was analyzed including physicochemical property, structure, its evolution relationship with other species was inferred by bioinformatics analysis. [Result] MCP-1 protein in rat was a stable hydrophilic structural alkaline protein, the molecular formula was $C_{721}H_{1175}N_{197}O_{223}S_9$, which contained 8.78% α -helices, 35.81% folding extending chain, 55.41% random coil, it had a SCY domain. The possible signal peptide was located at the seventeenth amino acids residue. [Conclusion] MCP-1 protein in rat is a stable hydrophilic secretory protein. This study provides theoretical foundation for the further studies of MCP-1.

Key words Monocyte chemotacticprotein-1; Bioinformatics analysis; Rat; Gene

单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotacticprotein-1, MCP-1/CCL2) 是趋化细胞因子 CC 亚家族中的一员^[1]。MCP-1 由多种类型细胞生成, 包括上皮、内皮、平滑肌、成纤维细胞、星形胶质细胞、单核细胞和小胶质细胞, 并且它能募集单核细胞、记忆 T 细胞、树突状细胞至损伤和感染的组织, 这些细胞对末梢循环和组织中的抗病毒免疫应答起着非常重要的作用。由此可见, MCP-1 的分布比较广泛, 在不同的组织中都发挥着重要作用。研究显示 MCP-1 在类风湿性关节炎、肾病综合征、急性冠状动脉综合征、肿瘤等疾病的发生和发展过程中发挥重要作用^[2-5]。此外, 在癫痫、脑缺血、阿尔茨海默病、自身免疫性脑脊髓炎-1 和创伤性脑损伤中, MCP-1 在神经胶质细胞中的表达增加, 但其具体病理生理机制尚不完全清楚^[6-9]。

大鼠基因组与人类基因组相似度较高, 且大鼠方便取材, 被广泛应用于各种医学实验研究。研究大鼠 MCP-1 的各种性质对研究 MCP-1 的功能具有重要的意义, 目前尚无关于大鼠 MCP-1 蛋白结构的相关报道, 对大鼠 MCP-1 进行生物信息学分析, 以期研究该基因的调控机制奠定基础。

1 材料与方

1.1 材料 登录美国国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 的 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>), 检索人 *Homo sapiens* (NP_002973.1)、猫 *Felis catus* (XP_003996605.1)、牛 *Bos taurus* (NP_776431.1)、狼 *Canis lupus familiaris* (NP_001003297.

1)、马 *Equus caballus* (NP_00107500.1)、猕猴 *Macaca mulatta* (NP_001027993.1)、小鼠 *Mus musculus* (NP_035463.1)、猪 *Sus scrofa* (NP_999379.1)、兔 *Oryctolagus cuniculus* (NP_001075763.1)、大鼠 *Rattus norvegicus* (NP_113718.1)、豚尾猴 *Macaca nemestrina* (NP_001292836.1) 的 MCP-1 基因的 cDNA 序列和蛋白序列。

1.2 方法 利用 Mega 软件程序对大鼠及其他物种的 MCP-1 基因的 cDNA 序列和蛋白序列进行同源比对; 通过 <http://www.expasy.ch/tools/prot-param.html> 网站对大鼠 MCP-1 蛋白的理化性质进行分析; 利用 http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_gor4.html 网站分析大鼠 MCP-1 蛋白的二级结构; 利用 <http://www.ebs.dtu.dk/services/SignalP> 网站预测 MCP-1 蛋白的信号肽; 利用 <http://smart.embl-heidelberg.de/> 网站预测蛋白质的结构域; 利用 <http://swissmodel.expasy.org/> 网站预测 MCP-1 蛋白的高级结构; 利用 Strings 数据库做蛋白质相互作用分析。

2 结果与分析

2.1 MCP-1 蛋白分子进化分析 将不同来源的基因编码蛋白序列调入 Mega 软件程序进行系统进化分析, 其结果见图 1, 进化树总体分为两支, 大鼠和小鼠成为一支, 亲缘关系最为密切, 人类与其他 8 个物种成为独立的大分支。

2.2 MCP-1 理化性质分析 蛋白质的某些理化性质是蛋白质鉴定、提取、纯化的基本依据。对大鼠 MCP-1 的理化性质预测, 结果显示, MCP-1 分子式为 $C_{721}H_{1175}N_{197}O_{223}S_9$, 由 148 个氨基酸组成, 相对分子质量为 16 459.9, 理论等电点为 9.20, 该蛋白由 20 种氨基酸组成, 其中 Thr、Ser、Val 含量较高, 分别占 12.2%、11.5%、9.5%。带负电荷的氨基酸残基数

作者简介 吴桂梅 (1982—), 女, 安徽萧县人, 实验师, 硕士, 从事医学分子生物学研究。* 通信作者, 副教授, 从事化学生物学研究。

收稿日期 2018-08-30

(天冬氨酸、谷氨酸)为11个,带正电荷的氨基酸残基数(精氨酸、赖氨酸)为17个。不稳定指数为39.13,推定该蛋白为稳定蛋白。总平均亲水性为-0.110,预测该蛋白是亲水蛋白。

2.3 MCP-1 二级结构分析 利用在线蛋白质分析系统得

到大鼠 MCP-1 的二级结构预测结果。由图 2 可知,大鼠 MCP-1 由 8.78%的 α -螺旋、35.81%的折叠延伸链、55.41%的无规则卷曲组成。这为预测其三级结构及蛋白质的功能提供了一定的参考依据。

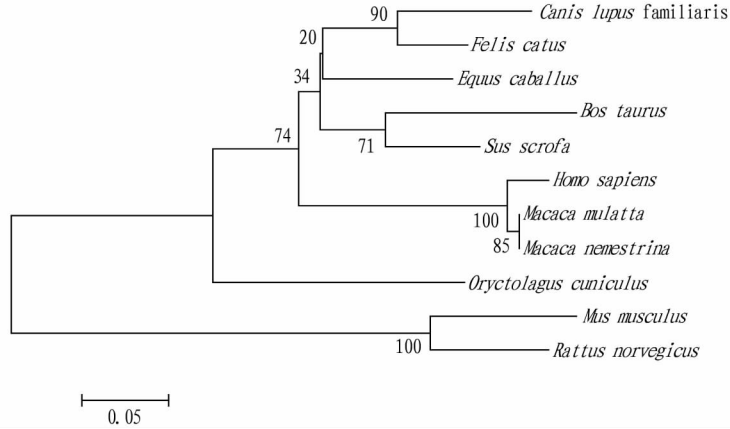


图1 MCP-1的氨基酸序列系统进化树

Fig.1 Phylogenetic tree of the amino acid sequences of MCP-1

GOR4 :

Alpha helix (Hh) :	13 is	8.78%
3 ₁₀ helix (Gg) :	0 is	0.00%
Pi helix (Ii) :	0 is	0.00%
Beta bridge (Bb) :	0 is	0.00%
Extended strand (Ee) :	53 is	35.81%
Beta turn (Tt) :	0 is	0.00%
Bend region (Ss) :	0 is	0.00%
Random coil (Cc) :	82 is	55.41%
Ambiguous states (?) :	0 is	0.00%
Other states :	0 is	0.00%

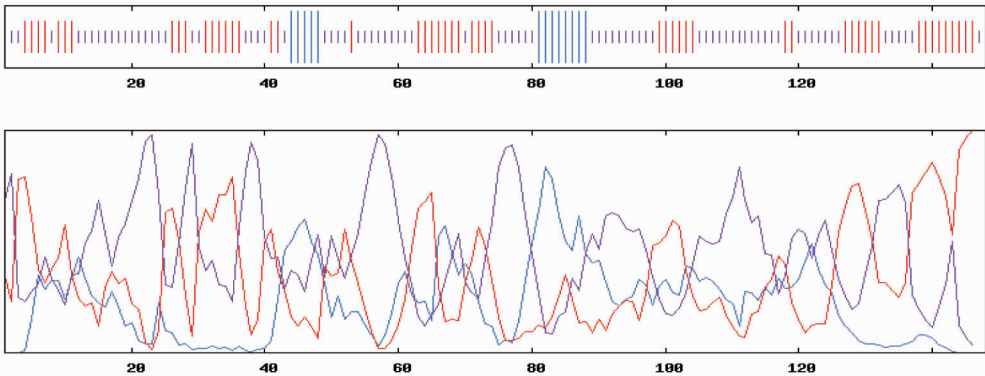


图2 大鼠 MCP-1 的二级结构

Fig.2 Secondary structure of rat MCP-1

2.4 MCP-1 结构域分析 通过结构域预测可知大鼠 MCP-1 含有 1 个 SCY 结构域。由图 3 结构域预测结果可知,大鼠 MCP-1 在 31~90 位置处有 1 个 SCY 结构域。

2.5 MCP-1 信号肽分析 对大鼠 MCP-1 的信号肽预测结果见图 4。由图 4 的预测结果可以看出第 17~18 位点处 S 值陡峭, Y 值最高并且具有高 C 值,是最可能的剪切位点。

2.6 MCP-1 三级结构预测 对大鼠 MCP-1 的三级结构进行预测,结果见图 5。

2.7 MCP-1 蛋白相互作用分析 对大鼠 MCP-1 与其他蛋白质的相互作用进行分析,结果见图 6。

3 讨论

MCP-1 促进单核细胞的趋化,以及其他一些和趋化相关的细胞事件,包括 Ca^{2+} 流出和整合素表达。MCP-1 还是

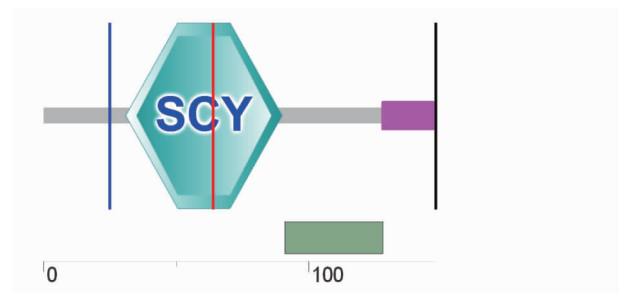


图3 大鼠 MCP-1 的结构域分析

Fig.3 Domain analysis of rat MCP-1

单核细胞细胞因子表达的弱诱导物,在高浓度时,能引发呼吸道破裂,导致活性氧的生成^[10-12]。此外,MCP-1 还是一个连接外围炎症与神经兴奋过度的关键分子。MCP-1 通过与

其受体 CCR2 结合参与炎症反应、血管生成和损伤修复等过程^[12]。不过 MCP-1 在各种疾病中的信号转导机制还需要更深入的研究。该研究通过蛋白质相互作用分析发现 MCP-1 与 CCL3、CCL7、CCL22、CCR5 等分子存在相互作用, 这为进一步研究 MCP-1 在不同疾病中的信号转导机制提供了一定的基础。

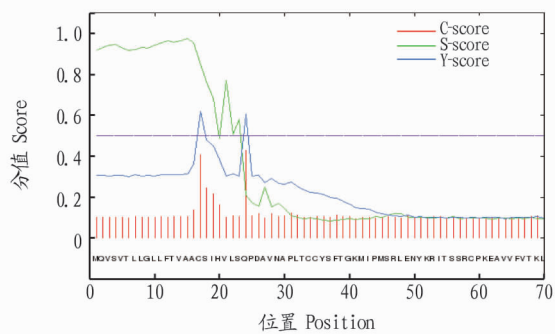


图 4 大鼠 MCP-1 的信号肽分析

Fig. 4 Signal peptide analysis of rat MCP-1

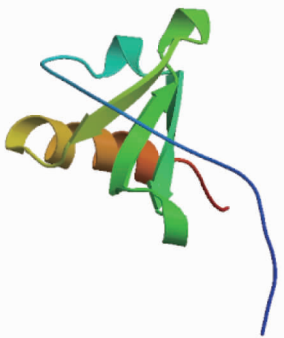


图 5 大鼠 MCP-1 的三级结构

Fig. 5 Tertiary structure of rat MCP-1

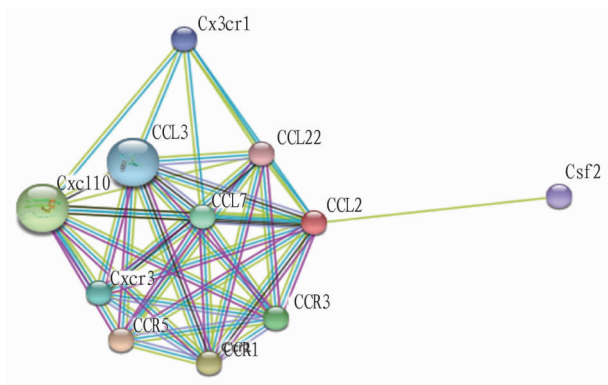


图 6 大鼠 MCP-1 与其他蛋白质的相互作用分析

Fig. 6 The rat MCP-1 and other protein interaction analysis

蛋白质的某些理化性质是蛋白质鉴定、提取、纯化的基本依据。通过蛋白质理化性质预测结果推测, 大鼠 MCP-1

是一个稳定的亲水性碱性蛋白。蛋白质二级结构是空间结构及蛋白功能的基础, 通过二级结构的预测能为三级结构的预测提供指导。此外, 使用预测的二级结构信息进行二硫键预测能够提高二硫键结构的准确率^[13], 这将有利于今后蛋白质三维结构的预测。从对信号肽分析结果中可知, 大鼠 MCP-1 有信号肽并且预测出信号肽的剪切位点在第 17 位点处。信号肽是蛋白质的一部分, 位于分泌蛋白 N 端。对信号肽进行改造能够提高外源蛋白表达量^[14], 该分析为大鼠 MCP-1 蛋白表达量提高的设计提供了参考依据。

MCP-1 是炎症反应的一个关键因子, 通过生物信息学方法对其进行研究, 可为研究 MCP-1 在不同条件下的功能及其在信号转导调节中的作用提供必要的信息, 也可为 MCP-1 相关的疾病研究和疾病治疗奠定一定的基础。

参考文献

- [1] GU L, TSENG S C, ROLLINS B J. Monocyte chemoattractant protein-1[J]. Chem Immunol, 1999, 72: 7-29.
- [2] 林涛, 吕昊哲, 马玉霞, 等. 类风湿关节炎患者血清单核细胞趋化蛋白-1 水平及与间质性肺疾病的关系[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2010, 26(1): 59-63.
- [3] 张舒媚, 包金兰, 孙润陆, 等. 早发冠心病患者血清 MCP-1 与 HDL2、HDL3 水平及其相关性分析[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2015, 36(3): 403-407.
- [4] KHO M C, PARK J H, HAN B H, et al. *Plantago asiatica* L. ameliorates puromycin aminonucleoside-induced nephrotic syndrome by suppressing inflammation and apoptosis[J]. Nutrients, 2017, 9(4): 386.
- [5] HAN R, GU S Z, ZHANG Y J, et al. Estrogen promotes progression of hormone-dependent breast cancer through CCL2-CCR2 axis by upregulation of Twist via PI3K/AKT/NF- κ B signaling[J]. Scientific reports, 2018, 8(1): 9575.
- [6] FABENE P F, BRAMANTI P, CONSTANTIN G. The emerging role for chemokines in epilepsy[J]. J Neuroimmunol, 2010, 24(1/2): 22-27.
- [7] HICKMAN S E, EL KHOURY J. Mechanisms of mononuclear phagocyte recruitment in Alzheimer's disease[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2010, 9(2): 168-173.
- [8] RANSOHOFF R M, HAMILTON T A, TANI M, et al. Astrocyte expression of mRNA encoding cytokines IP-10 and JE/MCP-1 in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. FASEB J, 1993, 7(6): 592-600.
- [9] SEMPLE B D, BYE N, RANCAN M, et al. Role of CCL2 (MCP-1) in traumatic brain injury (TBI): Evidence from severe TBI patients and CCL2^{-/-} mice[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2009, 30(4): 769-782.
- [10] PRENTICE H, MODI J P, WU J Y. Mechanisms of neuronal protection against excitotoxicity, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial dysfunction in stroke and neurodegenerative diseases[J]. Oxidative medicine and cellular longevity, 2015, 2015: 964518.
- [11] OERTEL W, SCHULZ J B. Current and experimental treatments of Parkinson disease: A guide for neuroscientists[J]. Journal of neurochemistry, 2016, 139: 325-337.
- [12] O'CONNOR T, BORSIG L, HEIKENWALDER M. CCL2-CCR2 signaling in disease pathogenesis[J]. Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets, 2015, 15(2): 105-118.
- [13] 石鸡燕, 蔡春泉, 孙伟, 等. 结合蛋白质二级结构信息预测蛋白质空间结构中的二硫键[J]. 计算机应用研究, 2011, 28(6): 2049-2051.
- [14] MARTÍNEZ-RUIZ A, DEL POZO A M, LACADENA J, et al. Secretion of recombinant pro- and mature fungal α -sarcin ribotoxin by the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*: The Lys-arg motif is required for maturation[J]. Protein Expr Purif, 1998, 12(6): 315-322.

(上接第 86 页)

- [7] 韩兴鹏. 常见微生物制剂在河蟹养殖中的应用[J]. 农村经济与科技, 2016, 27(20): 46, 48.
- [8] 徐成斌, 马溪平, 孟雪莲, 等. 光合细菌的分离鉴定及在河蟹养殖中的

应用[J]. 辽宁大学学报(自然科学版), 2009, 36(1): 77-81.

- [9] 王应超, 田国平, 韦娟. 微生物菌的应用对河蟹生长和水质变化的影响[J]. 科学养鱼, 2012(8): 32-33.
- [10] 王笃彩, 闫斌伦, 李士虎, 等. 复合微生物制剂对河蟹育苗生产影响的研究[J]. 水利渔业, 2007, 27(6): 99-101, 106.