

变异链球菌 UA159 细胞壁蛋白的预测和功能分析

朱德全¹, 郝莹莹², 姚嘉^{3*}, 张跃华¹, 韩诚武², 卢伟³, 栾积毅³, 刘向东³ (1. 佳木斯大学理学院, 黑龙江佳木斯 154007; 2. 佳木斯大学生命科学学院, 黑龙江佳木斯 154007; 3. 佳木斯大学机械工程学院, 黑龙江佳木斯 154007)

摘要 [目的] 对变异链球菌 UA159 细胞壁蛋白进行预测和功能分析, 为后续研究该菌致病机制奠定基础。[方法] 用 Phobius 和 SignalP 4.0 软件预测变异链球菌 UA159 的细胞壁蛋白, 并采用 COG 功能数据库对细胞壁蛋白进行功能注释。[结果] 变异链球菌 UA159 共含有 22 个细胞壁蛋白, 其中含有 LPxTG 锚定基序的有 12 个, 含有 LysM 基序的有 3 个, 含有 CW 基序的有 5 个, 含有 GW 基序的有 1 个, 含有 PG 锚定基序的有 1 个。功能分析结果显示, 22 个细胞壁蛋白中有 18 个蛋白没有具体的功能注释, 4 个蛋白有具体的功能注释, 其中 beta-lactamase 与防御机制功能有关; exo-beta-D-fructosidase 与碳水化合物代谢与转运有关; 分子伴侣蛋白 ATP-dependent protease ClpE 与蛋白质翻译后修饰和蛋白质折叠有关; cell wall-associated protein WapA 与细胞壁和细胞膜的生物合成有关。[结论] 变异链球菌 UA159 全基因组大多数的细胞壁蛋白功能未知, 需在以后研究中进行进一步的功能注释。

关键词 变异链球菌; 基因组; 细胞壁蛋白; 功能

中图分类号 S188+.2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)19-0121-02

Prediction and Functional Analysis of Cell Wall Proteins of *Streptococcus mutans* UA159

ZHU De-quan¹, HAO Ying-ying², YAO Jia^{3*} et al (1. College of Science, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 2. College of Life Science, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 3. College of Mechanical Engineering, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract [Objective] The genome sequence of *Streptococcus mutans* UA159 was studied to predict the proteins anchored in the cell wall by bioinformatics method, which lay the foundation for further study of the pathogenic mechanism of the strain. [Method] The cell wall proteins of *S. mutans* UA159 were predicted by using Phobius and SignalP 4.0 softwares. The function analysis of cell wall proteins were predicted by using the functional database of Cluster of Orthologous Groups of proteins (COG). [Result] There had 22 cell wall proteins in the genome of *S. mutans* UA159, in which 12 proteins had LPxTG anchor motif, 3 proteins had LysM motif, 5 proteins had CW motif, 1 protein had GW motif, and 1 protein had PG anchor motif. Functional analysis results showed that 18 proteins had no functional annotations, 4 proteins had functional annotations, beta-lactamase protein was related to defensive mechanism function; exo-beta-D-fructosidase protein was related to carbohydrate metabolism and transport; ATP-dependent protease ClpE protein was molecular chaperone protein, which related to protein post-translational modification and protein folding, cell wall-associated protein WapA was related to cell wall/membrane biosynthesis. [Conclusion] Most of the cell wall proteins of *S. mutans* UA159 genome are unknown, and further functional annotations are needed in future study.

Key words *Streptococcus mutans*; Genome; Cell wall proteins; Function

变异链球菌是口腔内重要的致龋菌, 其致龋原因主要包括对牙面的黏附、利用糖类产生多糖以及较强的产酸和耐酸能力^[1]。龋病发病的前提条件是致龋菌的生长和产酸, 致龋菌是口腔中的常驻微生物群, 其中变异链球菌和乳杆菌与龋病的关系十分密切, 可发酵多种糖类产酸, 致菌斑 pH 下降和釉质脱矿溶解, 造成龋损。2002 年, TAKAO 等^[2]完成了 *Streptococcus mutans* UA159 全基因组测序工作, 该基因组是一个环状染色体, 有 1 963 个开放阅读框, 其中 63% 的 ORF 已推测出其相应的功能。 *S. mutans* UA159 全基因组测序的完成标志着 *S. mutans* 研究进入了基因组时代。

S. mutans UA159 作为一种革兰氏阳性菌, 菌体最外含有一层较厚的细胞壁, 主要是由肽聚糖和磷酸组成。在细胞壁的外周有时锚定有蛋白质, 这些蛋白质通过特殊的结构锚定在细胞壁上, 如含有 LPxTG 结构的区段、LysM、PG 等区域, 由于细胞壁蛋白处于菌体的外层, 在适应外界环境和与宿主细胞之间发生相互作用方面, 具有重要的作用。

细胞壁蛋白由于具有特殊的序列结构, 可以以细菌基因

组序列通过生物信息学的方法预测分析这类蛋白。如孙理云^[3]采用生物信息学方法对 2 型猪链球菌 98HAH33 细胞壁结合蛋白进行了分析, 结果共预测出 9 种分选酶底物、2 种具有 LysM 域的蛋白。但目前关于变异链球菌大规模地分析鉴定细胞壁蛋白, 还鲜见报道。该研究用 Phobius (<http://phobius.binf.ku.dk/>)、SignalP 4.0、COG 功能数据库分析 *S. mutans* UA159 的细胞壁蛋白和功能^[4]。

1 材料与方法

1.1 材料 美国国立生物技术信息中心 (NCBI) GenBank 公布的变异链球菌 UA159 的基因组序列, GenBank 的登录号是 NC_004350.2。

1.2 方法 利用 Phobius (<http://phobius.binf.ku.dk/>) 鉴定出含有 LPxTG 基序的蛋白质, SignalP 4.0 软件 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP>) 对变异链球菌 UA159 基因组蛋白的信号肽进行分析。同时采用 COG (<http://eggnog.embl.de/>) 功能数据库对分析得到的细胞壁蛋白进行功能注释和聚类分析。

2 结果与分析

2.1 变异链球菌 UA159 基因组细胞壁蛋白分析 使用生物信息学方法对变异链球菌 UA159 基因组中的编码蛋白进行细胞壁蛋白分析, 结果见表 1。

变异链球菌 UA159 基因组 1 960 个编码蛋白中, 22 个蛋白含有细胞壁的锚定结构域, 其中含有 LPxTG 锚定基序的蛋

基金项目 黑龙江省教育厅科研项目 (2016-KYYWF-0544); 黑龙江省卫生计生委科研项目 (2016-325); 佳木斯大学科技创新团队项目 (cxtd-2016-02)。

作者简介 朱德全 (1980—), 男, 贵州遵义人, 讲师, 博士, 从事微生物生物技术研究。* 通讯作者, 副教授, 博士, 从事生物质转化与利用研究。

收稿日期 2017-05-06

白有 12 个,含有 LysM 基序的蛋白有 3 个,含有 CW 基序的蛋白有 5 个,含有 GW 基序的蛋白有 1 个,含有 PG 锚定基序的蛋白有 1 个。同时在这些细胞壁蛋白中含有信号肽(sig-

nalp)的蛋白有 12 个,表明这些蛋白的部分可以分泌到细胞外。在所有细胞壁蛋白中含有跨膜结构域 (tmhmm)的蛋白也是 12 个,跨膜螺旋数在 1~4 个。

表 1 变异链球菌 UA159 细胞壁蛋白预测和功能分析
Table 1 Prediction and functional analysis of cell wall proteins of *S. mutans* UA159

序号 No.	基因编号 Genetic code	蛋白名称 Protein name	蛋白长度 Protein length	结构域特点 Structure domain characteristics	COG 编号 COG code	COG 聚类 COG clustering
1	SMU_12	beta-lactamase	404	hmm(GW2 GW1 GW3)	COG2367	[V]
2	SMU_78	exo-beta-D-fructosidase	1 423	hmm(LPxTG);signalp;tmhmm(1)	COG1621	[G]
3	SMU_367	hypothetical protein SMU_367	211	hmm(LysM);signalp	COG3942	[R]
4	SMU_379	hypothetical protein SMU_379	45	hmm(LPxTG);tmhmm(1)	—	—
5	SMU_462	hypothetical protein SMU_462	74	hmm(LPxTG);tmhmm(2)	—	—
6	SMU_562	ATP-dependent protease ClpE	753	hmm(PG)	COG0542	[O]
7	SMU_610	cell surface antigen SpaP	1 562	hmm(LPxTG);signalp;tmhmm(1)	—	—
8	SMU_695	hypothetical protein SMU_695	160	hmm(LysM);tmhmm(1)	—	—
9	SMU_772	glucan-binding protein D	726	hmm(CW);signalp	COG5263	[R]
10	SMU_910	glucosyltransferase-S	1 462	hmm(CW);signalp	COG5263	[R]
11	SMU_987	cell wall-associated protein WapA	453	hmm(LPxTG);signalp;tmhmm(2)	COG4932	[M]
12	SMU_999	hypothetical protein SMU_999	93	hmm(LPxTG);tmhmm(2)	—	—
13	SMU_1004	glucosyltransferase-I	1 476	hmm(CW);signalp	COG5263	[R]
14	SMU_1005	glucosyltransferase-SI	1 455	hmm(CW);signalp	COG5263	[R]
15	SMU_1091	cell wall protein, WapE	507	hmm(LPxTG);signalp;tmhmm(2)	—	—
16	SMU_1396	glucan-binding protein GbpC	583	hmm(LPxTG);signalp	—	—
17	SMU_1643c	hypothetical protein SMU_1643c	125	hmm(LPxTG);tmhmm(2)	—	—
18	SMU_1719c	hypothetical protein	82	hmm(LPxTG);tmhmm(1)	COG3763	[S]
19	SMU_2042	dextranase precursor	850	hmm(LPxTG);tmhmm(1)	—	—
20	SMU_2083c	hypothetical protein SMU_2083c	141	hmm(LPxTG);tmhmm(4)	—	—
21	SMU_2112	glucan-binding protein GbpA	565	hmm(CW);signalp;tmhmm(1)	COG5263	[R]
22	SMU_2147c	hypothetical protein SMU_2147c	288	hmm(LysM);signalp	—	—

注: hmm() 表示含有细胞壁的锚定基序;signalp 表示含有信号肽序列的蛋白;tmhmm() 表示含有跨膜螺旋及数目;[V]. 防御机制;[G]. 碳水化合物转运与代谢;[R]. 功能只是预测的;[O]. 蛋白质转运后的修饰;[M]. 细胞壁、细胞膜生物合成;[S]. 功能未知
Note:hmm() indicated the anchor motif containing the cell wall;signalp indicated proteins containing signal peptide sequence;tmhmm() indicated it may contain transmembrane helical and number;[V]. Defense mechanisms;[G]. Carbohydrate transport and metabolism;[R]. Function is predicted;[O]. Protein modification after translation;[M]. Cell wall/membrane biosynthesis;[S]. Function unknown

2.2 变异链球菌 UA159 基因组细胞壁蛋白功能分析 22 个细胞壁蛋白的功能分析结果表明,11 个蛋白没有 COG 功能注释,有 7 个蛋白只是预测的功能,也没有具体的功能注释,这些蛋白的功能还需要在以后的研究中分析。4 个蛋白有具体的功能注释,1 个蛋白(beta-lactamase)与防御机制功能有关,1 个蛋白(exo-beta-D-fructosidase)与碳水化合物代谢与转运有关,1 个蛋白(ATP-dependent protease ClpE)是分子伴侣蛋白,与蛋白质翻译后修饰和蛋白质折叠有关,1 个蛋白(cell wall-associated protein WapA)与细胞壁和细胞膜的生物合成有关。

3 结论

细菌细胞壁蛋白是通过特殊的结构锚定在细胞壁上,由于细胞壁蛋白处于菌体的外层,在适应外界环境和与宿主细胞之间发生相互作用方面具有重要的作用^[6]。但由于该类蛋白处于较厚的细胞壁之间,具有疏水性区域,分离和鉴定相对较困难,传统的电泳方法不能完全鉴定这类蛋白^[5-6]。越来越多的双歧杆菌菌株基因组测序的完成,使得以基因组序列为对象采用生物信息学方法分析细胞壁蛋白成为可能^[7]。该研究以变异链球菌的代表菌株 UA159 为对象,采用生物信息学方法对该菌的细胞壁蛋白进行预测和功能分析。

分析发现 1 960 个编码蛋白中,22 个蛋白含有细胞壁的锚定结构域。功能分析结果显示,22 个细胞壁蛋白中有 18 个蛋白没有具体的功能注释,这些蛋白的功能还需要进一步研究。该方法分析获得的细胞壁蛋白,与传统的蛋白质组学方法互为补充,将为分析变异链球菌的毒力因子和致病机制提供数据基础和分子靶标。

参考文献

[1] HAMADA S,SLADE H D. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*[J]. Microbiological reviews,1980,44(2):331-384.
[2] TAKAO A,NAGAMUNE H,MAEDA N. Identification of the anginosus group within the genus *Streptococcus* using polymerase chain reaction[J]. FEMS Microbiology Letters,2004,233(1):83-89.
[3] 孙理云. 用生物信息学方法预测 2 型猪链球菌 98HAH33 细胞壁结合蛋白[J]. 中国人兽共患病学报,2010,26(1):72-75,80.
[4] GLEINSER M,GRIMM V,ZHURINA D,et al. Improved adhesive properties of recombinant bifidobacteria expressing the *Bifidobacterium bifidum*-specific lipoprotein BopA[J]. Microb Cell Fact,2012,11:80.
[5] GILAD O,HJERNØ K,φSTERLUND E C,et al. Insights into physiological traits of *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12 through membrane proteome analysis[J]. Journal of proteomics,2012,75(4):1190-1200.
[6] GILAD O,SVENSSON B,VIBORG A H,et al. The extracellular proteome of *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12 reveals proteins with putative roles in probiotic effects[J]. Proteomics,2011,11(12):2503-2514.
[7] LEE J H,O'SULLIVAN D J. Genomic insights into bifidobacteria[J]. Microbiology and molecular biology reviews,2010,74(3):378-416.