

· 论 著 ·

# 人 DMP1 结构及功能的生物信息学分析

黄燕<sup>1</sup> 裴晋红<sup>1</sup> 李钰娜<sup>1</sup> 栗学清<sup>1</sup> 武翠玲<sup>1</sup> 郑军<sup>1</sup> 王博<sup>1</sup> 宋丽华<sup>2\*</sup>

1.长治医学院基础医学部生物化学教研室,山西 长治 046000

2.长治医学院药理学系,山西 长治 046000

中图分类号: Q71 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 09-1263-06

**摘要:** **目的** 预测分析人 DMP1 的结构与功能,为进一步探讨 DMP1 作用机制提供借鉴。**方法** 生物信息学方法分析 DMP1 蛋白的理化性质、亚细胞定位、跨膜区和信号肽、二级结构、三级结构、潜在磷酸化及糖基化位点、蛋白相互作用网络、5' 非翻译区潜在转录因子结合位点和 DMP1 分子的进化保守性等指标。**结果** 人 DMP1 蛋白是酸性亲水蛋白;信号肽切割位点位于第 16 与 17 位氨基酸之间,无跨膜区;主要二级结构形式为无规卷曲;磷酸化位点 123 个、O-糖基化位点 118 个、N-糖基化位点 8 个;DMP1 具有利于蛋白间相互作用的结构特点,5' 非翻译区存在多种转录因子潜在结合位点,人体各类组织均有表达,且具有在多种亚细胞结构中定位的特征。**结论** 疏松的结构特征、表达的广泛性、丰富的修饰位点及多种转录因子结合位点均提示 DMP1 具有更为复杂的生物学功能。

**关键词:** DMP1;生物信息学;结构;功能

## Bioinformatic analysis of the structure and function of human DMP1

HUANG Yan<sup>1</sup>, PEI Jinhong<sup>1</sup>, LI Yuna<sup>1</sup>, LI Xueqing<sup>1</sup>, WU Cuiling<sup>1</sup>, ZHENG Jun<sup>1</sup>, WANG Bo, SONG Lihua<sup>2\*</sup>

1.School of Preclinical Medicine, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, Shanxi, China

2.Department of Pharmacology, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, Shanxi, China

\* Corresponding author; SONG Lihua, Email: slh10282001@163.com

**Abstract:** **Objective** To analyze the structure and function of human dentin matrix protein 1 (DMP1), in order to provide reference for further study on the mechanism of DMP1. **Methods** The physicochemical properties, subcellular structural localization, transmembrane region and signal peptide, secondary structure, tertiary structure, potential phosphorylation and glycosylation sites, protein interaction networks, the potential transcription factor binding sites in the 5' UTR, and the evolutionary conservation of the DMP1 protein were analyzed using bioinformatics method. **Results** Human DMP1 is an acidic hydrophilic protein. The signal peptide cleavage site is between 16 and 17 amino acid residues, and there is no transmembrane region. The main secondary structural element is random coil. There are 123 phosphorylation sites, 118 O-glycosylation site and 8 N-glycosylation sites. DMP1 has structural features that facilitate protein-protein interactions, and there are multiple transcription factor possible binding sites in the 5' UTR. Meanwhile, it is expressed in all tissues of human body, and it has the localization characteristics of subcellular structures. **Conclusion** The loose structure, extensive expression, abundant modification sites, and many transcription factor binding sites suggest that DMP1 has more complex biological functions.

**Key words:** DMP1; bioinformatics; structure; function

牙本质基质蛋白 1 (dentin matrix protein 1, DMP1) 于 1993 年 George 在牙齿中首次发现而得名<sup>[1]</sup>, 后期发现骨组织中, DMP1 的表达水平显著高

于牙本质<sup>[2]</sup>。DMP1 在调节骨、牙齿矿化, 体内磷水平稳态方面具有重要作用<sup>[3-4]</sup>。离体实验显示, DMP1 作为转录因子或胞外整合素配体, 通过激活 MAPK 信号转导途径, 调控成骨细胞及成牙本质细胞分化<sup>[5]</sup>。近来, 多项研究表明, 一部分 DMP1 进入了细胞核, 但其在核内的调控机制仍需探讨<sup>[6]</sup>。本文通过生物信息学方法分析 DMP1 的结构和功能, 为深入研究该蛋白的功能提供参考。

基金项目: 山西省卫生计生委科研课题 (201602024); 长治医学院科技创新团队项目 (CX201413); 长治医学院大学生创新创业训练计划项目 (D2017002)

\* 通信作者: 宋丽华, Email: slh10282001@163.com

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

从 NCBI 的 Gen-Bank 数据库获得 DMP1 蛋白的 513 个氨基酸的序列信息,进行后续的生物信息学分析。

### 1.2 方法

登陆在线软件,输入 DMP1 氨基酸序列,通过各参数分析并预测 DMP1 蛋白的性质、结构与功能。如:登陆 Expert Protein Analysis System 数据库,采用其中的 Prot Param Tool 工具分析 DMP1 的理化性质;Prot Scale Tool 工具分析 DMP1 的亲疏水性;SPORII 分析 DMP1 的亚细胞定位;Signal P 4.0 软件分析 DMP1 信号肽,NLStradamus 工具预测该蛋白的核定位信号;TMHMM 2.0 分析 DMP1 的跨膜区域;SOPMA 工具分析 DMP1 的二级结构,SWISS-MODEL 预测蛋白的三级结构;Net Phos 3.1 在线预测 DMP1 蛋白磷酸化位点;Net Nglyc 1.0 Server 在线预测 DMP1 蛋白 N-糖基化位点;通过 STRING 数据库,构建 DMP1 的蛋白质间相互作用网络图;JASPAR 预测可能的转录因子结合位点;Bio GPS 数据库分析 DMP1 在人体正常组织中的表达情况;通过 NCBI BLAST 在线选择比对序列并构建系统进化树。

## 2 结果

### 2.1 Dmp1 基因的编码产物分析

人 Dmp1 基因定位于 4q22.1,包括 7 个外显子,有 4 中不同剪切方式,编码产物见表 1,其中转录产物 NM\_004407.3 全长 2 693 bp,其相应的编码产物 NP\_004398.1 为 513 个氨基酸组成的 DMP1 的共识序列。

表 1 Dmp1 基因可变剪切产物

Table 1 Alternative transcripts of Dmp1 gene

| mRNA 编号        | 蛋白产物编号         |
|----------------|----------------|
| NM_001079911.2 | NP_001073380.1 |
| NM_004407.3    | NP_004398.1    |
| XM_011531705.2 | XP_011530007.1 |
| XM_011531706.2 | XP_011530008.1 |

### 2.2 DMP1 的理化性质分析

登陆 ExPASy 网站,采用 Prot Param 工具分析获得 DMP1 蛋白分子式为  $C_{2232}H_{3458}N_{674}O_{987}S_8$ ,相对分子量是 55782.41 Da,丝氨酸含量最高,占到整个序列的 21.4%。多处存在磷酸化及 O-糖基化修饰

位点。DMP1 的半衰期为 30 h,不稳定系数为 86.69,归类为不稳定蛋白。DMP1 序列中的酸性氨基酸-Asp 和 Glu 共 142 个,碱性氨基酸-Arg、Lys 及 His 共 51 个,理论上的等电点为 4.00,表明 DMP1 是一种酸性蛋白质。

Prot Param 分析得到,DMP1 的脂肪系数为 33.47,平均亲水性是-1.598;登陆 ExPASy 网站,采用 Prot Scale 软件分析,DMP1 最强亲水位点在第 104 位的天冬氨酸,分值-3.544,第 7 位的亮氨酸疏水性最强,分值 2.600。纵观 DMP1 序列中所有氨基酸的亲疏水性质,如图 1 所示,亲水多于疏水,表明 DMP1 是亲水性蛋白质。

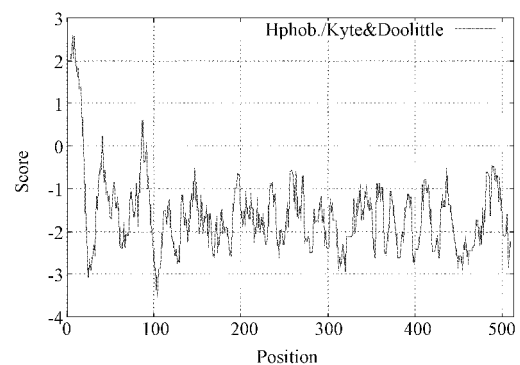


图 1 DMP1 蛋白的亲-疏水性分析

Fig.1 Hydrophilic-hydrophobic analysis of DMP1 protein

### 2.3 DMP1 蛋白的亚细胞结构定位分析

通过 SPORT II 预测,DMP1 蛋白定位于细胞外、细胞质、细胞核的可能性分别为 55.6%、22.2% 和 22.2%。

### 2.4 DMP1 蛋白的信号肽、核定位信号及跨膜区分析

利用 Signal P 4.1 在线分析 DMP1 蛋白的信号肽序列,如图 2 所示。原始剪切位点 C 值最大切割

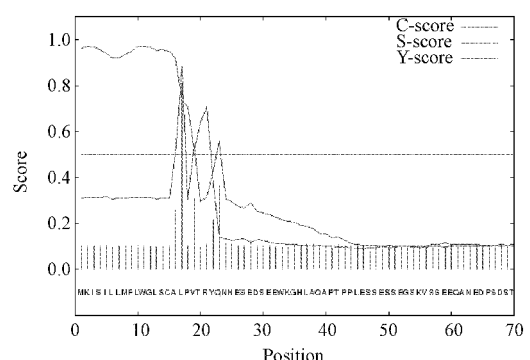


图 2 DMP1 蛋白信号肽分析

Fig.2 Signal peptide analysis of DMP1

点在第17个氨基酸残基位置,分值0.810;Y值即被结合的剪切点最高在第17位氨基酸,分值为0.880;第10个氨基酸处为信号肽分值最高位点,分值0.972;1~16位氨基酸平均信号肽分值为0.918,

能够形成经典的信号肽区域。运用NLStradamus工具预测蛋白的核定位信号,结果显示不存在核定位信号序列,见图3。TMHMM Server v.2.0在线预测,DMP1蛋白序列中无跨膜区,见图4。

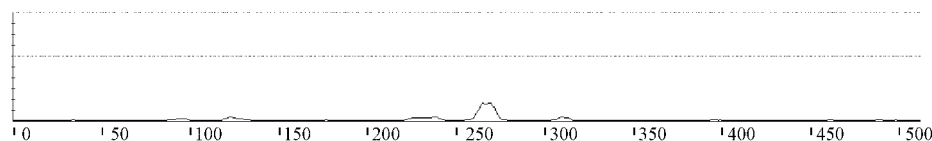


图3 DMP1核定位信号分析

Fig.3 NLS analysis of DMP1

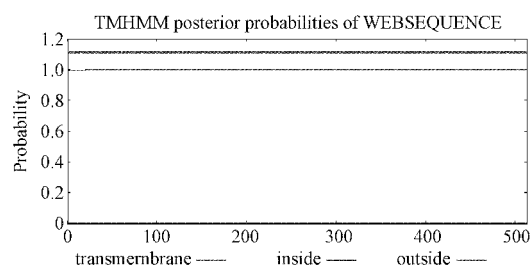


图4 DMP1跨膜区域分析

Fig.4 Analysis of transmembrane region of DMP1

## 2.5 DMP1蛋白的空间结构预测

SOPMA预测DMP1的二级结构,结果显示多肽链中 $\alpha$ -螺旋占15.79%,无规卷曲占76.41%,延伸链占5.07%, $\beta$ -转角占2.73%,其中无规卷曲占主导(图5);SWISS-MODEL在线预测DMP1蛋白的三级结构,如图6所示。

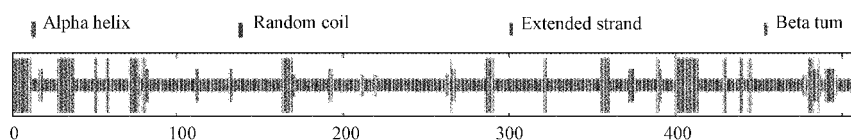


图5 DMP1的二级结构分析

Fig.5 Secondary structure prediction of DMP1



图6 DMP1的三级结构预测

Fig.6 Prediction of tertiary structure of DMP1 protein

## 2.6 DMP1蛋白磷酸化位点预测

NetPhos 3.1在线预测DMP1蛋白磷酸化位点,见图7。结果表明,DMP1含有123个潜在的磷酸化位点,其中丝氨酸磷酸化位点最多,有106个;苏氨酸磷酸化位点12个;酪氨酸磷酸化位点5个。除酪

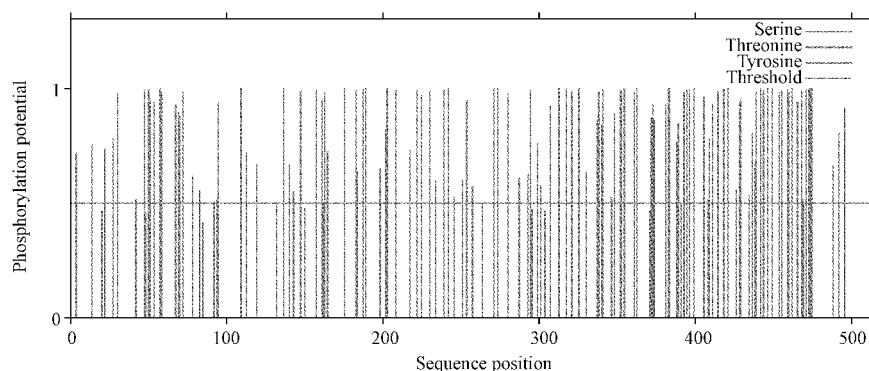


图7 DMP1蛋白磷酸化位点预测

Fig.7 Prediction of phosphorylation sites of DMP1 protein

氨酸外的 118 个潜在磷酸化位点也是 O-糖基化位点。

## 2.7 DMP1 蛋白 N-糖基化位点预测分析

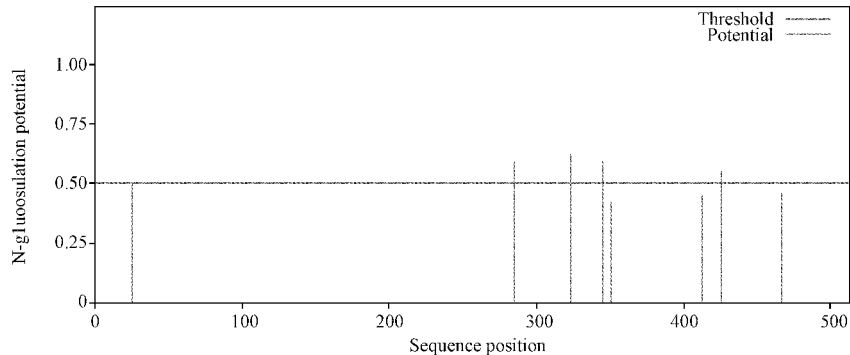


图 8 DMP1 蛋白 N-糖基化位点预测

Fig.8 Prediction of N-glycosylation sites of DMP1

## 2.8 蛋白质相互作用、Dmp1 基因 5' 非翻译区分析

STRING 数据库预测与 DMP1 相互作用的蛋白,构建蛋白相互作用网络图,见图 9,包括整合素  $\alpha$ -V (ITGAV)、E1A 结合蛋白 p300 (EP300)、整合素  $\beta$ 3 (ITGB3)、Jun B 原癌基因 (JUNB)、成纤维细胞生长因子 23 (FGF23)、外源核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶 1 (ENPP1)、整合素结合的唾液酸蛋白 (IBSP)、牙本质涎磷蛋白 (DSPP)、X 连锁的磷酸调节内肽酶同系物 (PHEX)、TAF2 RNA 聚合酶 II (TAF2),DMP1 蛋白与这 10 种蛋白的相关系数分别为 0.905、0.903、0.901、0.900、0.838、0.762、0.732、0.727、0.687、0.628,JASPAR 分析显示 JUNB 作为转录因子可能结合 *Dmp1* 基因 5' 非翻译区(表 2)调控 DMP1 的表达。此外,Mye、Eip74EF、SP1、Bcl6、Myb 等转录因子都具有潜在结合位点,进一步提示 DMP1 的表达受到多种因素的影响。

表 2 转录因子 JUNB 的 DNA 潜在结合位点

Table 2 DNA Binding sites of transcription factor JUNB

| 转录因子    | 潜在结合位点    | 结合位点序列         |
|---------|-----------|----------------|
| JUNB    | 146~156   | TACTGCCTCAG    |
|         | 398~408   | CAGTGAGACAA    |
|         | 431~441   | CAGTGACCCAG    |
| Mye     | 1804~1813 | TTCACATGCC     |
| Eip74EF | 179~185   | CAGGAAT        |
|         | 802~808   | TAGGAAA        |
|         | 915~921   | CAGGAAG        |
| SP1     | 1105~1114 | TGGGAGTGGT     |
|         | 1650~1659 | GAGGCGGGAA     |
|         | 1673~1682 | AGGGCAGGCT     |
| Bcl6    | 1435~1448 | TTTCCTAGTAGGTG |
| Myb     | 504~511   | AACGGTTA       |
|         | 728~735   | GGCAGCTG       |
|         | 1176~1183 | GGCAGTTT       |

NetNglyc 1.0 Server 在线软件预测 DMP1 蛋白 N-糖基化位点,见图 8,结果显示,DMP1 蛋白序列中存在 8 个潜在 N-糖基化位点。

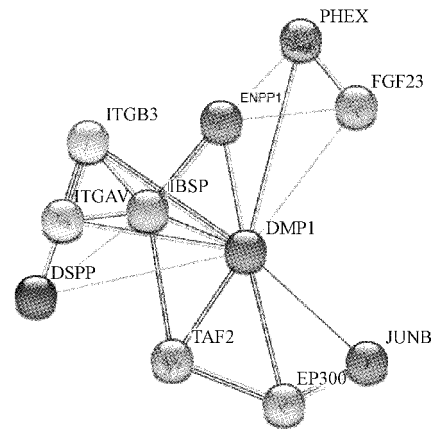


图 9 DMP1 蛋白相互作用网络

Fig.9 Protein-protein interaction network for DMP1

## 2.9 DMP1 在人体正常组织中的表达

BioGPS 数据库显示,DMP1 蛋白在人体各正常组织均有表达,其中在心肌和骨骼肌中含量较高,如图 10 所示。提示 DMP1 具有重要的生物学功能,但目前对其功能还缺乏进一步了解。

## 2.10 DMP1 的系统进化分析

通过 NCBI 中 BLAST 分析,选择奇蹄目、食肉目、啮齿目、灵长目及偶蹄目动物序列直接建树,见图 11。结果与物种进化程度一致,人 DMP1 蛋白在灵长类动物中具有保守的分子功能。

## 3 讨论

DMP1 属于小整合素结合配体 N-糖蛋白家族成员,不仅表达于牙齿和骨组织,脑、心肌、肝脏等非矿化组织也有表达<sup>[7]</sup>。DMP1 不仅可以诱导未分化的

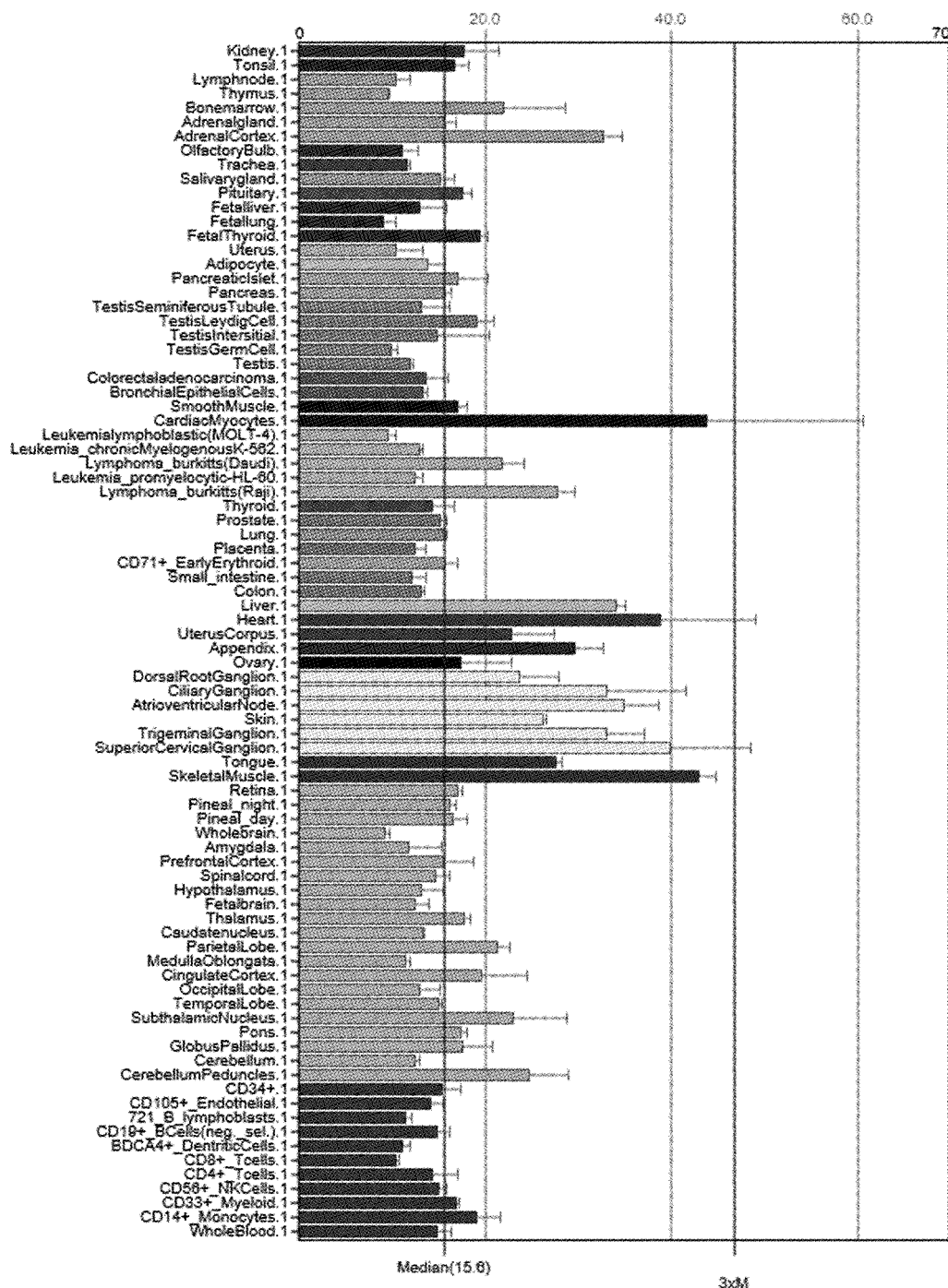


图10 DMP1在人体各组织中的表达

Fig.10 Expression of DMP1 in different human tissues

间充质干细胞分化为成骨细胞<sup>[8-9]</sup>,还可以通过调节 FGF23 来平衡体内磷酸盐代谢<sup>[10]</sup>;在成骨细胞分化的早期阶段,c-Jun 调控 *Dmp1* 基因的转录,但在成骨细胞分化末期,c-Jun 的作用并不显著。有研究显示,矿化过程中,c-Jun 与调节蛋白 p300 相互作用,结合在启动子区,协同调节 *Dmp1* 基因的表达<sup>[11]</sup>;过表达 Runx2 能诱导 C3H10T1/2 细胞中

*Dmp1* 基因的表达<sup>[12]</sup>;lncRNA32865 作用于 *Dmp1* 基因启动子区调控 *Dmp1* 的基因表达<sup>[13]</sup>;DMP1 在 HacaT 细胞和口腔鳞癌细胞中的表达存在差异<sup>[14]</sup>;卵巢去势骨质疏松大鼠下颌骨中 *Dmp1* mRNA 表达水平明显下降<sup>[15]</sup>;DMP1 参与大鼠下颌前移过程中髁突软骨的适应性重塑,促进髁突软骨内成骨和软骨增殖<sup>[16]</sup>。以上研究表明,DMP1 在骨代谢、肾的



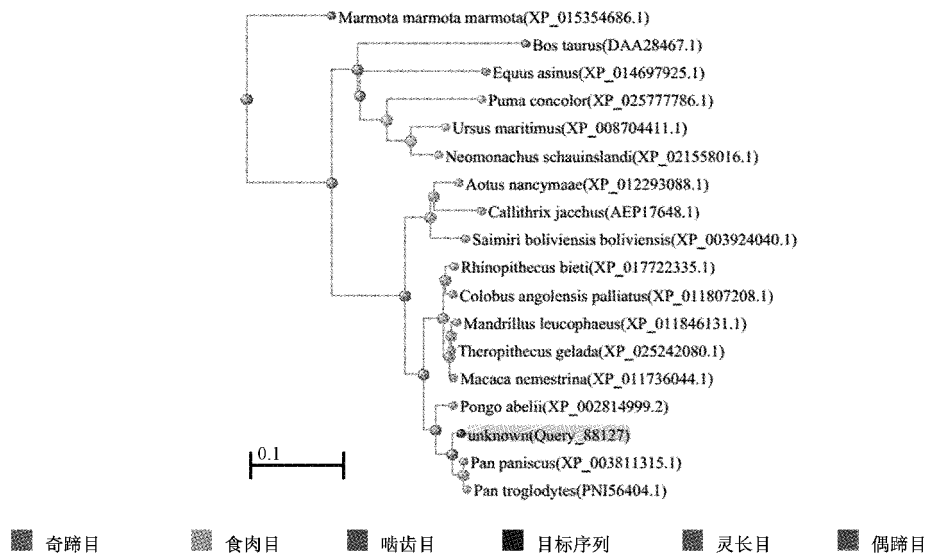


图 11 DMP1 蛋白分子进化树

Fig.11 The phylogenetic tree of human DMP1 protein

矿物质代谢、肿瘤的发生等方面均有影响,但其作用的分子机制尚未完全明了。

本研究基于生物信息学分析和预测 DMP1 的结构与功能,结果提示,人 DMP1 蛋白是酸性亲水蛋白,有信号肽,无跨膜区;主要二级结构元件是无规卷曲;具备丰富的磷酸化位点及糖基化位点;具有利于蛋白间相互作用的结构特点及多种转录因子潜在结合位点,人体各组织均有表达。

综上所述,提示 DMP1 多数为游离存在的酸性分泌性蛋白;无规卷曲占主导的二级结构元件表明 DMP1 具有疏松的结构特征,为与其他分子的相互作用提供了便利;多种修饰位点的存在为其功能活性的改变提供了更多可能;在人体各组织的广泛性表达,为其发挥重要的生物学功能提供了物质基础。因此,本文分析和预测 DMP1 的结构和功能,对明确 DMP1 作用的分子机制具有参考意义。

### 【 参 考 文 献 】

- [ 1 ] George A, Sabsay B, Simonian PA, et al. Characterization of a novel dentin matrix acidic phosphoprotein. Implications for induction of biomineralization [ J ]. J Biol Chem, 1993, 268 ( 17 ): 12624-12630.
- [ 2 ] MacDougall M, Gu TT, Luan X, et al. Identification of a novel isoform of mouse dentin matrix protein 1: spatial expression in mineralized tissues [ J ]. J Bone Miner Res, 1998, 13 ( 3 ): 422-431.
- [ 3 ] Suzuki S, Haruyama N, Nishimura F, et al. Dentin matrix protein-1: Two highly phosphorylated proteins in mineralized tissues [ J ]. Arch Oral Biol, 2012, 57 ( 9 ): 1165-1175.
- [ 4 ] Liu S, Zhou J, Tang W, et al. Pathogenic role of Fgf23 in Dmp1-null mice [ J ]. Am J Physiol Endocrinol, 2008, 295 ( 2 ):

254-261.

- [ 5 ] Wu H, Teng PN, Jayaraman T, et al. Dentin matrix protein 1 (DMP1) signals via cell surface integrin [ J ]. J Biol Chem, 2011, 286 ( 34 ): 29462-29469.
- [ 6 ] Siyam, Wang S, Qin C, et al. Nuclear localization of DMP1 proteins suggests a role in intracellular signaling [ J ]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 424 ( 3 ): 641-646.
- [ 7 ] 占柳, 谢淑娟, 潘卫红. 牙本质基质蛋白-1 及其特异性表达的研究进展 [ J ]. 现代口腔医学杂志, 2013, 27 ( 1 ): 55-58.
- [ 8 ] Lu Y, Ye L, Yu S, et al. Rescue of odontogenesis in Dmp1 deficient mice by targeted re-expression of DMP1 reveals roles for DMP1 in early odontogenesis and dentin apposition in vivo [ J ]. Dev Biol, 2007, 303 ( 1 ): 191-201.
- [ 9 ] Almushayt A, Narayanan K, Zaki AE, et al. Dentin matrix protein 1 induces cytodifferentiation of dental pulp stem cells into odontoblasts [ J ]. Gene Ther, 2006, 13 ( 7 ): 611-620.
- [ 10 ] Feng JQ, Ward LM, Liu S, et al. Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism [ J ]. Nat Genet, 2006, 38 ( 11 ): 1310-1315.
- [ 11 ] Narayanan K, Srinivas R, Peterson MC, et al. Transcriptional regulation of dentin matrix protein 1 by JunB and p300 during osteoblast differentiation [ J ]. J Biol Chem, 2004, 279 ( 43 ): 44294-44302.
- [ 12 ] Fen JQ, Zhang J, Dallas SL, et al. Dentin matrix protein 1, a target molecule for Cbfa1 in bone is a unique bone marker gene [ J ]. J Bone Miner Res, 2002, 17 ( 10 ): 1822-1831.
- [ 13 ] 李博亚, 伍虹, 夏昕, 等. 长链非编码 RNA 对牙本质基质蛋白 1 的调控机制 [ J ]. 中华口腔医学研究杂志 ( 电子版 ), 2017, 11 ( 1 ): 7-11.
- [ 14 ] 孟祥, 朴松林, 孙长生, 等. 牙本质基质蛋白 1 在口腔鳞癌细胞中的表达 [ J ]. 现代生物医学进展, 2017, 5: 806-809.
- [ 15 ] 吴迪, 张斌, 李莹, 等. DMP1 在去势大鼠颌骨中的表达 [ J ]. 现代生物医学进展, 2016, 16 ( 35 ): 6808-6811.
- [ 16 ] 汪浩然, 左艳萍, 闫宝勇, 等. 牙本质基质蛋白-1 参与下颌功能前伸过程中髁突软骨增殖的实验研究 [ J ]. 中国实用口腔科杂志, 2017, 10 ( 9 ): 554-557.

( 收稿日期: 2018-11-30; 修回日期: 2019-01-22 )