

原癌基因 PIM-2 转录蛋白生物信息学分析

周小东, 郑岷村

(成都医学院 检验医学院, 成都 610500)

摘要:目的:研究原癌基因 PIM-2 的抗凋亡、致癌机理,用生物信息学的方法分析转录蛋白,为临床应用提供科学依据和理论基础.方法 使用 pbil, expasy, RasMol, DNASTar Lasergene 等生物信息学在线服务器和相关软件,对 PIM-2 转录蛋白进行全面分析预测.结果:成功预测出 PIM-2 转录蛋白的空间结构,各种理化性质,该蛋白是一种不稳定的酸性蛋白,序列上分布着 17 段 B 细胞抗原表位,14 段 Th 细胞抗原表位,3 段 CTL 细胞表位,多段 MCH I 分子结合肽和 MCH II 分子结合肽.结论:PIM-2 转录蛋白的结构、表位、特性、修饰具有重要意义,可为深入研究原癌基因 Pim-2 的作用机理提供科学依据和理论帮助.

关键词:原癌基因;PIM-2;生物信息学;结合肽

中图分类号:Q811.4

文献标志码:A

肿瘤的发生原因多种,如:癌基因激活、细胞增殖凋亡异常等. Pim 家族具有强大抗凋亡能力,与多种肿瘤有密切关系. Pim 家族包括 Pim-1, Pim-2, Pim-3, 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,也是钙调蛋白依赖性的蛋白激酶. 其中 Pim-2 在白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤中,出现高表达^[1],参与抑制肿瘤细胞凋亡,与癌细胞的生存、生长密切相关,但 Pim-2 抗凋亡、致癌机理尚待进一步研究. 人 Pim-2 基因位于染色体 Xp11. 23, 有两种转录产物,分别是 34、41 kDa, 它们 N 端不同,活性中心相同,其中 34 kDa 蛋白质活性最强^[2]. 本研究用生物信息学的方法,对 Pim-2 蛋白进行研究,分析其蛋白特性、预测表位、蛋白修饰、空间结构等,为深入研究 Pim-2 抗凋亡、致癌机理提供科学依据和理论帮助.

1 材料和方法

1.1 数据来源

通过美国国立信息技术中心 NCBI, 检索下载获得 Pim-2 蛋白序列,活性最强,分子量为 34 kDa 的蛋白序列,序列号为 Q9P1W9. 1.

1.2 研究方法

应用多种生物信息学的方法分析 Pim-2 蛋白,包括蛋白特性、预测表位、蛋白修饰、空间结构等. 所用的生物信息学在线服务器和相关软件有:蛋白质二级结构分析:[http://npsa-pbil. ibcp. fr/cgi-bin/npsa_automat. plpage=npsa_gor4. html](http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.plpage=npsa_gor4.html);蛋白质空间结构模建:[http://swissmodel. expasy. org/](http://swissmodel.expasy.org/)、RasMol Version 2. 6;可及性模型和蛋白表面静电模型构建:Swiss-PdbViewer 4. 1. 0;理化性质分析:[http://web. expasy. org/protparam/](http://web.expasy.org/protparam/);B 细胞抗原表位多参数和 Th 细胞抗原表位预测:DNASTar Lasergene;CTL 细胞表位预测:[http://www. imtech. res. in/raghava/ctlpred/](http://www.imtech.res.in/raghava/ctlpred/);MCH I 分子结合肽预测:[http://www. imtech. res. in/raghava/nhlapred/comp. html](http://www.imtech.res.in/raghava/nhlapred/comp.html);MCH II 分子结合肽预测:[http://www. imtech. res. in/raghava/propred/index. html](http://www.imtech.res.in/raghava/propred/index.html)^[3].

收稿日期:2015-07-10;修回日期:2015-12-17.

基金项目:成都医学院校基金(CYZ11-022);2012年四川省卫生厅科研资助项目(120499).

第1作者简介(通信作者):周小东(1975-),男,四川广汉人,成都医学院讲师,主要从事临床检验诊断学和生物信息学研究, E-mail:zhouxd@cmc.edu.cn.

2 结果与分析

2.1 蛋白组成

Pim-2 蛋白由 311 个氨基酸构成,酸性氨基酸(Asp+Glu)有 38 个,碱性氨基酸(Arg+Lys)有 29 个.含量最高的氨基酸是亮氨酸 Leu(12.5%),以下依次是脯氨酸 Pro(11.3%)、甘氨酸 Gly(9.6%)、丙氨酸 Ala(6.8%)、精氨酸 Arg(6.1%)、天冬氨酸 Asp(6.1%)、谷氨酸 Glu(6.1%)、缬氨酸 Val(5.8%)、异亮氨酸 Ile(4.8%)、丝氨酸 Ser(4.8%)、苯丙氨酸 Phe(3.9%)、苏氨酸 Thr(3.9%)、组氨酸 His(3.2%)、赖氨酸 Lys(3.2%)、谷氨酰胺 Gln(2.9%)、半胱氨酸 Cys(2.6%)、色氨酸 Trp(2.3%)、酪氨酸 Tyr(1.9%)、蛋氨酸 Met(1.3%),含量最低的是天冬酰胺 Asn(1%).各氨基酸构成百分比,如图 1 所示.

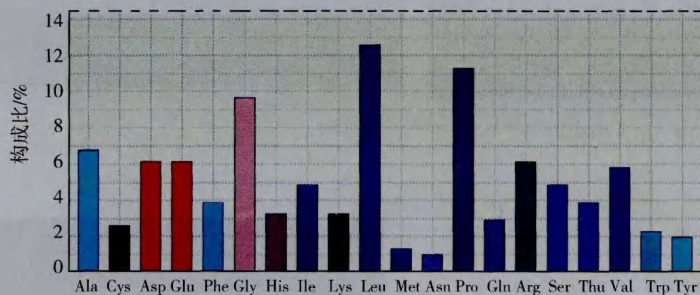


图1 PIM-2蛋白的氨基酸构成

2.2 二级结构

蛋白质二级结构蛋白肽链折叠、盘绕的方式,包括 α 螺旋等.通过在线服务器 pbil 预分析 PIM-2 蛋白的二级结构,结果显示蛋白序列含 α 螺旋、 β 片层和不规则卷曲 3 种结构. α 螺旋含 77 个氨基酸,分布于序列 25~34、53~60、99~106、125~129、168~175、209~212、242~250、277~282 区域, β 片层含 49 个氨基酸,分布于序列 44~48、61~63、68~69、72~73、82~90、146~152、158~160、179~181、200~203、214~217、219~229、261~262、308~310 区域,不规则卷曲含 185 个氨基酸,分布于序列 1~24、35~43、49~52、64~67、70~71、74~81、91~98、117~124、130~145、153~157、161~167、176~178、182~199、204~208、213、218、230~241、251~260、263~271C、283~307、311 区域.其具体分布如图 2 所示.

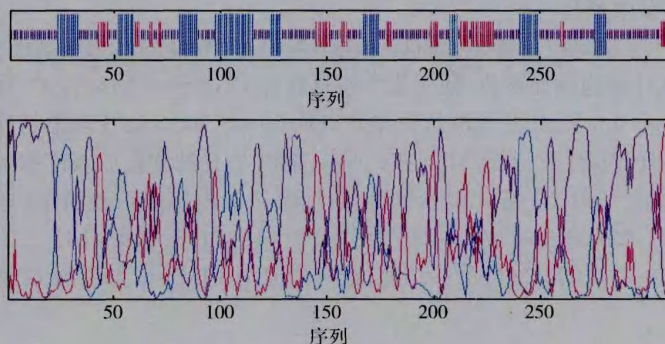


图2 PIM-2蛋白的二级结构

2.3 空间结构

蛋白质空间结构是指肽链在进一步折叠、盘绕,形成特定空间构型.将 PIM-2 蛋白发送到在线服务器 expasy,由相关程序 Swiss-Model 对 Pim-2 蛋白进行建模^[4].用软件 RasMol Version 2.6 进行显示,图 3 为 PIM-2 蛋白的球棍子模型,清晰显示了蛋白的空间立体结构,红色为 α 螺旋,黄色为 β 片层,白色为不规则卷曲.用软件 Swiss-PdbViewer 4.1.0 模建蛋白的可及性模型和蛋白表面静电模型,如图 4、图 5 所示.图 4 显示了蛋白的可及性,模型中氨基酸残基的颜色反映了周围溶剂与蛋白接触的程度,可及性较强为黄色,可及

性弱为绿色,可及性极弱为蓝色.图5显示了蛋白的表面电荷分布,蓝色为正电势,红色为负电势,蛋白大部分携带负电荷,整体呈现负弱电势.

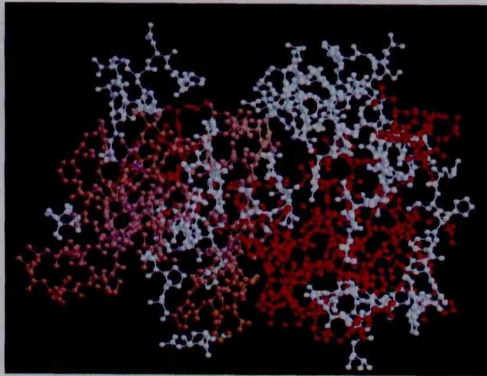


图3 PIM-2蛋白的空间结构

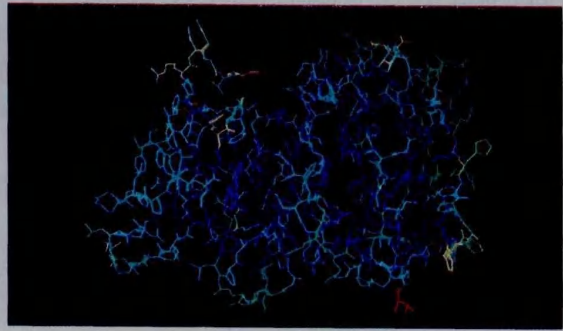


图4 PIM-2蛋白可及性模型

2.4 理化性质分析

使用在线服务器 expasy 的 protparam 程序,分析 PIM-2 蛋白的理化性质^[5],其结果如下:

分子式为:C1550H2401N417O433S12

分子量:34190.3

等电点(PI):5.58

不稳定指数:48.57

消光系数:280nm

平均亲水性(GRAVY):-0.141

脂肪指数:91.25

预期半衰期:哺乳动物的网织红细胞内为 30 h、酵母内大于 20 h,大肠杆菌内大于 10 h.

2.5 B 细胞抗原表位多参数预测

抗原表位是抗原分子中决定抗原特异性的特殊化学基团,其中可被 B 细胞表面受体或 Ig 特异性识别、结合的片段,故又被称为 B 细胞抗原表位.使用生物信息软件 DNASTar Lasergene 的 Protean 程序对 PIM-2 蛋白进行多参数预测. Jameson-Wolf 法预测抗原指数, Karplus-Schuhz 法预测柔韧性, Kyt-Doolittle 法预测亲水性, Emini 法预测表面可及性^[6]. 其结果如图 6 所示. 能满足 B 细胞抗原表位的条件有:抗原指数 ≥ 0 、亲水性 ≥ 0 、表面可及性指数 ≥ 1 ,位于一定柔韧性的区段,而且一般由不规则卷曲结构形成. 综合分析,满足以上条件的区段有 5~7、9~24、64~65、74、119~121、130~132、138、162~167、191~198、202、204~205、239~241、269~271、288~291、293、296~299、301,最可能成为 PIM-2 蛋白的 B 细胞抗原表位所在,如表 1 所示.

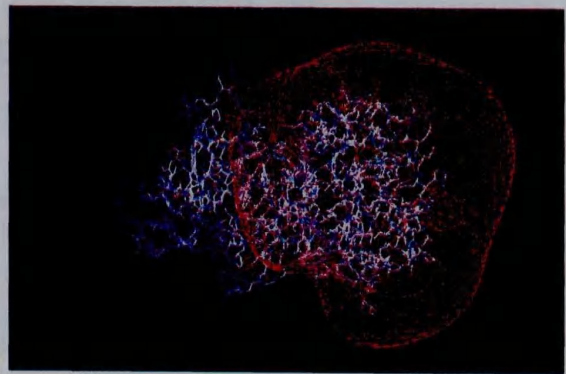


图5 PIM-2蛋白表面电势分布

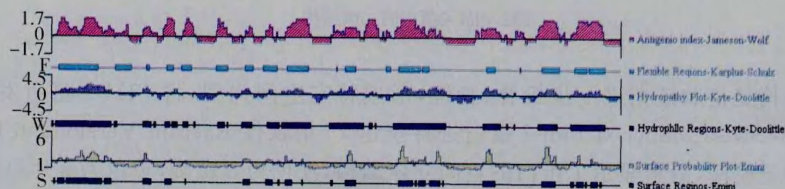


图6 PIM-2蛋白的多参数预测

表 1 PIM-2 蛋白的 B 细胞抗原表位预测结果

预测	结果
抗原指数	2~34,36~42,51~58,62~68,73~79,91~99,104,107~111,118~121,124,129 ~143,154~169,172~179,182,184~186,189~210,212~213,233~234,236~ 246,249,255~259,266~278,280~281,285~302
柔韧性	5~26,36~44,53~54,64~67,72~77,91~97,107~111,117~124,130~141, 157,162~167,184~186,191~202,204~207,239~243,257,269~278,287~293, 295~303
亲水性	1,3~33,35~36,51~55,57,63~65,67~69,73~75,79,92~95,97,105~110,119 ~125,127~142,153~171,175~176,178,188~216,237~246,250,254,267~ 277,285~303
表面可及性	2,4~7,9~28,30~33,51~55,63~66,74,106~109,118~121,125,129~132, 138,154,162~167,191~198,200,202~205,208~213,215,237~243,269~276, 285~286,288~291,293,296~299,301
无规则卷曲	1~24,35~43,49~52,64~67,70~71,74~81,91~98,117~124,130~145,153~ 157,161~167,176~178,182~199,204~208,213,218,230~241,251~260,263~ 271,283~307,311
综合分析	5~7,9~24,64~65,74,119~121,130~132,138,162~167,191~198,202,204~ 205,239~241,269~271,288~291,293,296~299,301

2.6 Th 细胞抗原表位预测

T 细胞抗原表位是能被 T 细胞的 TCR 所识别的抗原,多属于线型表位,其又分为辅助性 T 细胞表位和细胞毒性 T 细胞表位.利用生物信息软件 DNASTar 的 Protean 程序分析预测 PIM-2 蛋白的免疫优势辅助性 T 细胞抗原位点和含有特定基序(motif)的潜在 T 细胞决定簇,结果显示 PIM-2 蛋白序列中符合免疫优势辅助性 T 细胞抗原位点为 6~16,43~45,71~73,75~77,96~108,124~129,137~143,146~156,160~162,174~182,193~195,197~206,261~264,279~289,如图 7 所示. PIM-2 蛋白序列中含有特定基序(motif)的潜在 T 细胞决定簇分布的区段为 26~29,51~54,61~64,67~70,98~107,124~131,158~161,179~182,186~190,201~204,207~210,243~246,279~283,如图 8 所示.

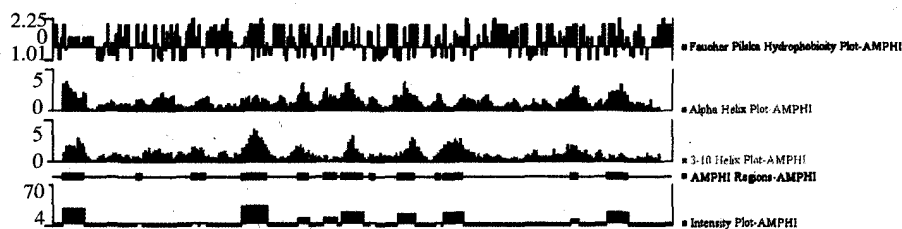


图7 Th细胞优势抗原表位预测



图8 潜在T细胞决定簇预测

2.7 CTL 细胞表位预测

CTL 细胞表位是一种能诱导 CTL 发生免疫应答的抗原蛋白.利用在线 CTL 细胞表位预测服务器 imtech 的 ctplpred 程序预测 PIM-2 蛋白的 CTL 细胞表位^[7],该程序基于人工神经网络法,阈值为 0.51,预测结果显示 PIM-2 蛋白序列上有三段序列 CTL 细胞表位得分较高,分别为 73~81,86~94,184~192,可确定为典型的 CTL 细胞表位,见表 2.

表2 PIM-2蛋白的CTL细胞表位预测

位次	区段	序列	得分	结果
1	73~81	PLSDSVTCP	0.990	Epitope
2	86~94	LLWKVGAGG	0.990	Epitope
3	184~192	GSGALLHDE	0.990	Epitope

2.8 MCH I分子结合肽预测

MHC即主要组织相容性复合体,又称为人类白细胞抗原. MHC I分子位于细胞表面,参与细胞识别和免疫诱导等. 使用在线服务器 imtech 分析 PIM-2蛋白的 MCH I分子结合肽,选择 ANNs+QM(神经网络法+量化矩阵法),阈值为 0.5,预测 HLA-A2、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205 5类等位基因的结合肽,结果如表3所示.

表3 MCH I分子结合肽预测

HLA-A2[ANNs+QM]			HLA-A*0201[ANNs+QM]			HLA-A*0202[ANNs+QM]		
位次	起始点	序列	位次	起始点	序列	位次	起始点	序列
1	32	YRLGPLL GK	1	61	KVIPRNRVLGWS- PLSDSVTCPLEV- AL	1	1	MLTKPLQGP
2	188	LLHDEPYTD	2	112	FMLVLERPL	2	37	LLGKGGFGT
3	213	QYHALPATV	3	134	PLGEGPSRC	3	78	VTCPLEVALL- WKVGAGG
4	223	SLGILLYDMVCG- DI	4	172	DLRRGCAKLID- FGSGALLH- DEPYTD	4	134	PLGEGPSRC
5	247	AELHFPAHVSPD- CCAL	5	216	ALPATVWSL GIL- LYDMVCGD	5	172	DLRRGCAKL
-	-	-	6	247	AELHFPAHVSPD- CCALIRRCLAP- KPSSR	6	216	ALPATVWSL GIL- LYDM
-	-	-	7	280	ILLDPWMQT	7	247	AELHFPAHVSPD- CCALIRRCLAP- KPSSR
-	-	-	8	301	GPAPLAWSL	8	301	GPAPLAWSL

HLA-A*0203[ANNs+QM]			HLA-A*0205[QM]		
位次	起始点	序列	位次	起始点	序列
1	67	RVLGWSPLS	1	6	LQGPPAPPGTPTPPGGK- DRE
2	114	LVLERPLPA	2	30	AEYRLGPLLKGGFGTV- FAGHRLTDRL
3	140	SRCFFGQVV	3	78	VTCPLEVALLWKV- GAGGGHPGVIRL
4	172	DLRRGCAKLIDFGSGA	4	112	FMLVLERPL
5	194	YTFDFGTRV	5	127	DYITEKGPL
6	276	CLAPKPSSR	6	176	GCAKLIDFG
-	-	-	7	213	QYHALPATVWSL
-	-	-	8	241	DQEILEAEL
-	-	-	9	287	QTPAEDVPL
-	-	-	10	301	GPAPLAWSL

2.9 MCH II分子结合肽预测

MHC II分子位于抗原提呈细胞上,启动免疫应答. 使用在线服务器 imtech 分析 PIM-2蛋白的 MCH II分子结合肽,预测 DRB1_0101、DRB1_0101、DRB1_0301 3类^[8],结果见表3. 从表中可看出,区段 100~122、143~159为 DRB1_0101、DRB1_0101 两类共有,区段 60~68为 DRB1_0101、DRB1_0301 两类共有,区段 173~181、263~271为 3类所共有. 结果如表3所示.

表 4 MHC II 类分子结合肽预测

DRB1_0101			DRB1_0102			DRB1_0301		
位次	起始点	序列	位次	起始点	序列	位次	起始点	序列
1	100	IRLLDWFETQEG- FMLVLERPLPA	1	60	IKVIPRNRV	1	60	IKVIPRNRV
2	143	FFGQV- VAAIQHCHSRGV	2	100	IRLLDWFETQEG- FMLVLERPLPA	2	161	VHRDIKDENIL- IDLRRGCAKLI
3	173	LRRGCAKLI	3	143	FFGQV- VAAIQHCHSRGV	3	188	LLHDEPYTD
4	213	YHALPATVW	4	173	LRRGCAKLI	4	227	LLYDMVCG- DIPFER
5	263	IRRCLAPKP	5	263	IRRCLAPKP	5	263	IRRCLAPKP
-	-	-	-	-	-	6	280	ILLDPWMQT

3 讨 论

蛋白序列氨基酸残基进行组合排列,再折叠形成特定的空间结构,它是蛋白的结构、作用机制、生理功能的必要基础。Pim-2 蛋白含 311 个氨基酸残基,酸性氨基酸 38 个,碱性氨基酸 29 个。酸性氨基酸一般含 1 个氨基 2 个羧基,等电点在 2.8~3.2 之间,碱性氨基酸含 2 个氨基 1 个羧基,等电点在 9.7~10.7 之间。Pim-2 蛋白呈现酸性,等电点为 5.58。蛋白含量最高的是亮氨酸,其次脯氨酸,最少的为天冬酰胺。本研究通过在线服务器 pbil 分析预测 Pim-2 蛋白的二级结构,该服务器基于精度较高的分层神经法(HNN),较传统的 Gamier-Robson 和 Chou-Fasman 更科学准确。预测结果显示 Pim-2 蛋白有 77 个氨基酸构成了 α 螺旋,49 个氨基酸构成 β 片层,185 个氨基酸构成不规则卷曲。 α 螺旋一般为右手螺旋,螺距为 0.54nm,半径 0.23nm,每圈含 3.6 个氨基酸,沿长轴上升 0.15nm。肽链中存在大量脯氨酸残基,由于脯氨酸残基的其亚氨基缺少一个氢原子,导致氢键无法正常形成,而且 $C\alpha-N$ 键不能旋转,于是肽链 α 螺旋频繁中断,形成结节,出现 β 片层和不规则卷曲。 β 片层又称为 β 折叠结构,是一种肽链相当伸展的结构,相邻肽链之间的氢键将完全伸展的多肽链侧聚集在一起。无规则卷曲是指蛋白质的肽链中没有一定规律的松散结构,但其本身具有一定稳定性,是蛋白质分子构象和功能实施的重要区域^[9]。蛋白质空间结构由肽链依靠氢键、疏水作用、范德华力和静电,在二级结构基础上进一步盘绕、折叠形成特定空间结构。模建蛋白分子空间结构有同源模建法和能量最小化法,蛋白质最稳定的结构就是天然结构,对应的能量最小,疏水基在内,亲水基在外。本研究采用能量最小化法,是依据蛋白质自发折叠成天然构象,计算出可能构象的能量,从中选择能量最小的构象。本研究成功构建了 PIM-2 蛋白空间结构,清晰展示了 α 螺旋、 β 片层和不规则卷曲的空间位置。同时模建了 Pim-2 蛋白的可及性模型和表面静电模型。可及性反映了蛋白内外各层氨基酸的分布,氨基酸残基与溶剂分子接触的可能性^[10],其对蛋白质的空间结构、疏水性、亲水性和柔韧性都有重要意义。蛋白的电势是由蛋白肽链上的可解离基团电离后,带上电荷,形成酸碱性质,通过绘制蛋白表面静电模型,可有助于研究 PIM-2 蛋白的表位电性差异和分子间的识别、结合。

Pim-2 蛋白的不稳定指数是 48.57,为不稳定蛋白,当蛋白不稳定指数 >40 时,则该蛋白质不稳定。Pim-2 蛋白的消光系数是 280 nm,蛋白的消光系数上依据色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸等芳香族氨基酸的含量,在碱性水中水解,芳香族氨基酸残基上的苯酚基团完全离子化,产生紫外线吸收光谱,于是根据各种氨基酸的组成可计算出蛋白质的消光系数。平均亲水性 -0.141,为弱亲水性蛋白。蛋白的亲水性由其表面的带电基团和极性基团决定,氨基、羧基的离子化后形成正、负电荷,蛋白表面的不均匀分布着荷电区、亲水区,蛋白分子周围形成或密或疏的水化层,它们影响着蛋白与其他物质的结合。Pim-2 蛋白的脂肪指数是 91.25,脂肪系数反映了脂肪侧链如异亮氨酸、亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸所占的相对值,其可作为球蛋白热稳定性增加的阳性因素。结构域又称为基元、辖区,是蛋白质分子的一种折叠的紧密球状结构单位,在蛋白序列上呈现为明显分开,具有一定生物功能,通过分析,发现 Pim-2 蛋白序列 8-22 位是低复杂度区域。蛋白激酶就是对蛋白质进行磷酸化修饰的酶,可作为信号转导途径中的中间分子,Pim-2 蛋白序列 38-61 位为蛋白激酶 ATP 结合结

构域,159—171位为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶样活性位点信号。

通过分析,Pim-2蛋白序列上分布着多段B细胞抗原表位,其中最具有形成优势的是区段5~7、9~24、64~65、74、119~121、130~132、138、162~167、191~198、202、204~205、239~241、269~271、288~291、293、296~299、301。B细胞表位指Ig识别特定部位,一般存在于天然抗原分子表面,可直接被B细胞识别,而不经加工处理。其多为氨基酸或多糖组成,在蛋白序列上空间结构临近,但在序列上不相连或相连不定,具有一定的空间结构依赖的蛋白质结构,故又被称为构象表位^[11]。PIM-2蛋白序列上区段6~16、43~45、71~73、75~77、96~108、124~129、137~143、146~156、160~162、174~182、193~195、197~206、261~264、279~289为免疫优势辅助性T细胞抗原位点。该抗原表位为大分子蛋白质,能在T细胞辅助和抗原提呈细胞参与下,活化B细胞,诱导其产生IgG类抗体,并可引起回忆反应^[12]。区段为26~29、51~54、61~64、67~70、98~107、124~131、158~161、179~182、186~190、201~204、207~210、243~246、279~283为潜在T细胞决定簇。PIM-2蛋白序列上区段54~62、274~282、32~40为典型的CTL细胞表位,CTL细胞表位一般由8~10个连续的氨基酸构成的短肽,可被APCs细胞摄取处理,与MHC-I类分子结合,被TCR识别诱导、活化CTL细胞产生特异性杀伤效应^[13],它们影响着CTL细胞与PIM-2蛋白的识别结合。

MHC存在于大部分脊椎动物基因组中,呈高度多态性,编码分子表达于不同细胞表面,与免疫密切相关,分为MHC I和MHC II两类。MHC I分子的肽槽由MHC Ia链的a1和a2结构域组成,两端处于封闭状,只能接纳9肽^[14]。MHC II分子的肽槽由MHC IIa链的a1和MHC IIb链的b1结构域组成,两端较为开放,能接纳较长的肽段。MHC分子可与抗原肽结合成为复合物,是MHC分子有效提呈抗原重要前提。抗原肽可与MHC分子抗原结合凹槽相结合,抗原肽肽链上带有两个及以上的锚着残基专和MHC分子肽结合槽中的多肽结合基序相结合,这种结合具有相对选择性,但并非严格专一,呈现一定包容性。本研究综合了神经网络法和量化矩阵法,预测了PIM-2蛋白的MCH I分子结合肽,MCH I分子结合肽一般为8~11个氨基酸构成,通常为9肽的伸展状短肽,结果显示蛋白序列上存在37段MCH I分子结合肽。本研究还预测PIM-2蛋白的MCH II分子结合肽,MCH II分子结合肽长度变化较大,从10~30个氨基酸残基不等,但其核心区约为13个氨基酸,与MCH II分子结合的肽段为九肽,结果显示PIM-2蛋白序列上存在16段MCH II分子结合肽,其中区段173~181、263~271为DRB1_0101、DRB1_0101、DRB1_0301三类所共有。

Pim-2的生理作用、致癌机理是复杂的,国内外研究表明PIM-2蛋白具有蛋白激酶活性,具有多方面的功能。一方面能促进造血细胞生存、生长、分化,在缺乏生长因子时可维持细胞各种合成代谢,防止细胞萎缩等。另一方面,PIM-2异常表达可抑制细胞凋亡,类似于抗凋亡基因Bcl-xL和Akt,协同c-myc基因导致人类淋巴瘤发生。当PIM-2充分表达激酶活性时,可使白血病细胞对化疗药物雷帕霉素产生耐受,非转化的造血细胞继续生长。本研究用生物信息学的方法,对Pim-2蛋白进行系统研究,确定了空间结构,构建了可及性模型和蛋白表面静电模型,分析出理化性质,成功预测了B细胞抗原表位、Th细胞抗原表位、CTL细胞表位、MCH I分子结合肽和MCH II分子结合肽。通过这些研究,为分析解释Pim-2的致癌机理,研究抗癌药物,制备相关肽疫苗提供科学依据和理论基础。

参 考 文 献

- [1] Fox C J, Hammerman P S, Cinalli R M, et al. The serine/threonine kinase Pim-2 is a transcriptionally regulated apoptotic inhibitor[J]. *Genes Dev*, 2003, 17(15): 1841-1854.
- [2] Levy D I, Davidovich A, Zirkin S, et al. Activation of cell cycle arrest and apoptosis by the proto-oncogene Pim-2 et al. URI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22506047>, Date: 2012.
- [3] 张 萌, 苏 平, 刘雨佳, 等. 雷公藤甾牛儿基甾牛儿基焦磷酸合酶基因全长 cDNA 的获得及生物信息学分析[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(6): 1066-1070.
- [4] Arnold K, Bordoli I, Kopp J, et al. The SWISS-MODEL workspace: a web-based environment for protein structure homology modelling [J]. *Bioinformatics*, 2006, 22(2): 195-201.

学报,2010(5):410-413.

- [27] 张剑,张微,冯俭.领导者的自主支持与员工创造性绩效的关系[J].中国软科学,2010(S1):62-69.
- [28] Ratelle C F, Larose S, Guay F, et al. Perceptions of parental involvement and support as predictors of college students' persistence in a science curriculum[J]. Journal of Family Psychology,2005,19:286-293.
- [29] Markus H R, Kitayama S, Heiman R J. Culture and "basic" psychological principles[J]. Social psychology,1996,21(2):121-142.
- [30] Guay F, Vallerand R J, Blanchard C. On the assessment of situational intrinsic and extrinsic motivation: The Situational Motivation Scale (SIMS)[J]. Motivation and emotion,2000,24(3):175-213.

Coach Autonomy Support Effect on Athletes Intrinsic Motivation: Entermediary Inspection of Basic Psychological Needs

CAI Duanwei

(College of Physical Education, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: In this paper, sampled from volleyball athletes, aims to explore the impact mechanism of coach autonomy support on athlete's intrinsic motivation of athletes, mediated by basic psychological needs. The results show that athlete's basic psychological needs are partial mediators between autonomy support and intrinsic motivation. In the basic psychological needs, sense of belonging relatedness has an evident effect on intrinsic motivation, followed by competence, whereas the influence of autonomy is not significant.

Keywords: autonomy support; self determination; basic needs; intrinsic motivation

(上接第148页)

- [5] Gasteiger E, Hoogland C, Gattiker A, et al. Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server;(In)John M. Walker(ed); The Proteomics Protocols Handbook[M]. New Jersey: Humana Press,2005:571-607.
- [6] 杜玲,孙俊,刘建生,等. TIMP-1 B细胞表位的预测和鉴定[J]. 中国病理生理杂志,2012,28(10):1917-1920.
- [7] 冯新港. 免疫信息学原理及其应用[M]. 上海:上海科学技术出版社,2009:64.
- [8] Rajapakse M, Schmidt B, Feng L, et al. Predicting Peptides Binding to MHC Class II Molecules Using Multi-objective Evolutionary Algorithms [J]. BMC Bioinformatics,2007,8:450-459.
- [9] 王海波,施晓东,张梅芬,等. 紫花苜蓿蛋白质二硫键异构酶 mPDI 的生物信息学分析与同源建模研究[J]. 农业科学与技术:英文版,2009,10(5):59-64.
- [10] 王文敬,董文其,李明. 鼠疫耶尔森氏菌 F1 抗原的表位预测[J]. 中国人兽共患病学报,2008,24(11):1014-1016.
- [11] Liang L, Huang P, Wen M, et al. Epitope peptides of influenza H3N2 virus neuraminidase gene designed by immunoinformatics. Acta Biochim Biophys Sin,2012;44(2):113-118.
- [12] Moise L, De GA. Putting immunoinformatics to the test [J]. Nat Biotechnol,2006 24(7):791-792.
- [13] 曾安,潘丹,郑启伦,等. 基于粗集的 T 细胞表位预测方法[J]. 计算机科学,2007,34(6):226-230.

Bioinformatics Analysis of Proto-oncogene PIM-2 Transcription Protein

ZHOU Xiaodong, ZHENG Juecun

(School of laboratory medicine, Chengdu medical college, Chengdu 610500, China)

Abstract: Objective: To study the antiapoptosis and carcinogenesis mechanism of proto-oncogene PIM-2, and analyze the transcription protein from bioinformatics aspect, so as to provide scientific and theoretic basis for clinical practice. Method: To comprehensively analyze and predict proto-oncogene PIM-2 transcription protein with online bioinformatics servers and related software, such as pbil, expasy, RasMol, DNASTar Lasergene. Result: the protein spatial structure and physicochemical characteristics of PIM-2 are predicted. The protein is turned to be an destabilized acidic protein, with 17 B Cell epitopes, 14 Th cell epitopes, 3 CTL epitopes, and several MCH class I & II peptide bindings in the sequence. Conclusion: The structure, epitope, character, modification of PIM-2 transcription protein have great significance, which can provide scientific basis and heorical support for further research on proto-oncogene PIM-2 transcription protein mechanism of action.

Keywords: proto-oncogene; PIM-2; bioinformatics; peptide binding