

بررسی توالی پروتئین بازدارنده پلی گالاکتوروناز در محلب و انطباق آن با توالی‌های همولوگ

راحله قنبری محب سراج^{۱*} و زهرا خزائی^۲

^۱گروه باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

^۲نویسنده مسئول: r.ghanbary6565@gmail.com

چکیده

در پژوهش حاضر، پروتئین بازدارنده پلی گالاکتوروناز در رقم محلب مورد بررسی قرار گرفت و همولوگ‌های آن از طریق BLAST تعیین گردید و انطباق توالی چندتایی بر روی آن‌ها انجام گرفت سپس درخت تکامل ژنتیکی برای همولوگ‌های موردنظر رسم گردید. با توجه به درخت فیلوژنتیکی، رقم‌های مورد بررسی دارای اجداد یکسانی بوده و در طی گذر زمان از یکدیگر جدا شده‌اند. در نهایت ساختار دوم و سوم پروتئین پیش‌بینی گردید و ترکیبات اسید آمینه این پروتئین مشخص شد.

کلمات کلیدی: پروتئین بازدارنده پلی گالاکتوروناز، محلب، توالی همولوگ، ساختار دوم و سوم پروتئین.

مقدمه

دیواره سلولی اولین سدی است که سلول‌های گیاهی از آن در مقابل حمله عوامل بیماری‌زا استفاده می‌کنند. بیشتر عوامل بیماری‌زای گیاهی برای موفقیت در تشکیل کلونی در بافت گیاه، آنزیم‌هایی ترشح می‌کنند که این آنزیم‌ها می‌توانند پلیمرهای دیواره سلولی را تجزیه کنند. اولین آنزیم‌هایی که عوامل بیماری‌زای گیاهی در هنگام روبرو شدن با دیواره‌های سلول گیاهی ترشح می‌کنند شامل یک دسته از پکتینازها شامل پلی گالاکتورونازها، پکتین لیازها، پکتات لیازها و پکتین استرازها می‌باشند که به‌منظور حمله به نواحی هوموگالاکتورونان دیواره سلولی، بیان می‌شوند (Soleymani et al., 2012). پلی گالاکتورونازها یکی از فاکتورهای مهم بیماری‌زایی هستند که در مراحل اولیه آلودگی گیاه با پاتوژن‌ها، توسط قارچ‌ها ترشح می‌شوند. پلی گالاکتوروناز با تجزیه پلیمرهای دیواره سلولی، تشکیل کلنی‌های قارچی را روی گیاه میسر می‌سازند. پروتئین‌های بازدارنده پلی گالاکتورونازها که از جمله پروتئین‌های دفاعی گیاه هستند، فعالیت هیدرولیتیکی اندوپلی گالاکتورونازها را کاهش می‌دهند و باعث تجمع مناسب زنجیره‌های بلند الیگوگالاکتورونیدها که محرک‌های پاسخ‌های دفاعی مختلف هستند می‌شوند (Zare mehrjerdi et al, 2005).

در ذیل به اختصار محلب و همولوگ‌های آن معرفی می‌گردد.

Prunus mahaleb

محب با نام علمی متعلق به خانواده رزاسه، زیرخانواده پرونوئیده، جنس پرونوس و گونه محلب می‌باشد. محلب بومی منطقه مدیترانه، جنوب شرقی اروپا و غرب آسیا است. به‌طور معمول در ایران به‌عنوان پایه برای گیلاس و آلبالو استفاده می‌شود.

Prunus americana

معمولاً آلودگی آمریکایی، آلودگی وحشی یا آلودگی زرد شیرین بزرگ مارشال نامیده می‌شود. یکی از گونه‌های پرونوس بومی آمریکای شمالی است. به‌عنوان پایه برای درختان میوه نیز استفاده می‌شود.

Prunus salicina

معمولاً به‌عنوان آلودگی خوانده می‌شود، درخت برگ‌ریز کوچک و بومی چین است در طب سنتی چین استفاده می‌شود. اغلب به‌صورت آلودگی تازه در آمریکای شمالی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Jones, 1928)

Ampelopsis glandulosa var. brevipedunculata

بانام‌های عمومی پیچک، حبه پرسن، انگور وحشی و یک گیاه زینتی بومی نواحی معتدل آسیا است. بطور کلی مشابه گونه‌های انگور و دیگر گونه‌های موچسب‌ها است و معمولاً با آن‌ها اشتباه گرفته می‌شود.

Prunus fruticosa

گیلاس پاکوتاه اروپا، گیلاس مغولی یا گیلاس استپ، درختچه‌ای برگ‌ریز، گزروفیتیک، مقاوم به زمستان و درختچه‌ای متحمل است. همچنین گیلاس زمینی اروپایی نامیده می‌شود. بومی غرب سیبری، چین، روسیه، اوکراین، لهستان، آلمان، مجارستان، اتریش و ایتالیا است. گیلاس مزه ترش است و به صورت دارویی استفاده می‌شود.

Prunus persica

هلو درخت برگ‌ریز بومی نواحی شمال غرب چین است. لقب ویژه پرسیکا به کشت گسترده آن در ایران اشاره دارد که از آنجا به اروپا منتقل شد.

Prunus mume

گونه درخت آسیایی طبقه‌بندی شده در بخش Armeniaca است. نام عمومی آن آلوی چینی و زردآلو ژاپنی است. به عنوان طعم‌دهنده همچنین در طب سنتی استفاده می‌شود.

Prunus emarginata

گیلاس تلخ یا گیلاس اورگان، بومی شمال غربی آمریکا است. خیلی خوش طعم نیستند و ایجادکننده بیماری در انسان هستند ولی در حیوانات ایجاد بیماری نمی‌کنند.

Prunus dulcis

بادام یک گونه درختی بومی شرق میانه و آسیای جنوبی است. دانه‌های آن خوراکی و بطور گسترده‌ای کشت می‌شود.

Malus domestica

سیب یک درخت برگ‌ریز در خانواده رزاسه است. بطور وسیعی کشت می‌شود. از آسیای مرکزی منشأ گرفته است.

Lyonothamnus floribundus

از خانواده رزاسه است. با نام درخت آهن شناخته می‌شود. بومی جزایر کانال کالیفرنیا است که در آن درختان جنگلی رشد می‌کند.

Chamaebatiaria millefolium

درختچه‌ای معطر در خانواده رزاسه است. بانام‌های عمومی سرخس بوش و شیرین بیابان شناخته می‌شود. یک گیاه مودار و چسبنده با شاخ و برگ شبیه سرخس پوشیده شده است. در مناظر عمومی استفاده می‌شود و متحمل به خشکی است.

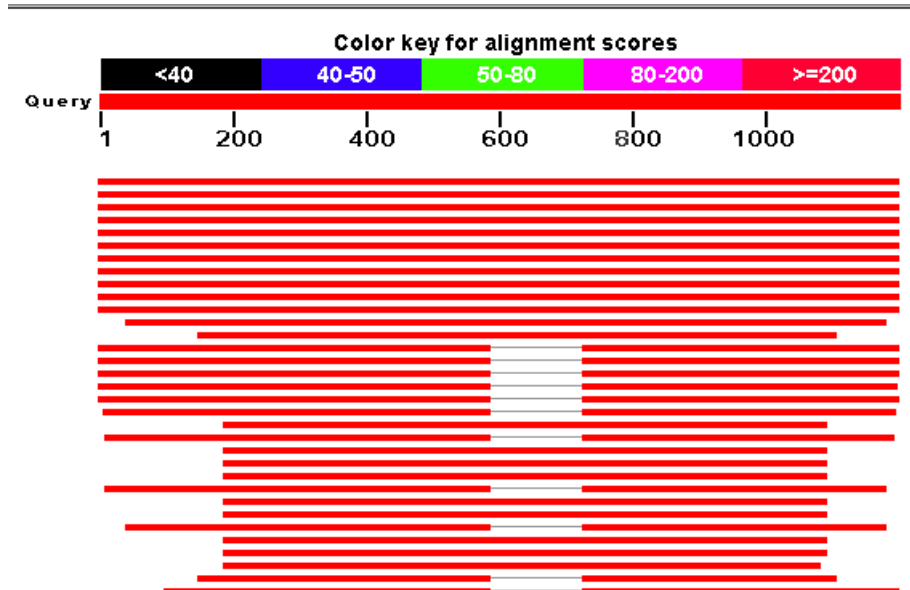
Rhodotypos scandens

درختچه‌ای برگ‌ریز در خانواده رزاسه، بومی چین و احتمالاً ژاپن است. با نام جنس آن بیشتر شناخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

جستجوی توالی همولوگ از طریق برنامه BLAST

توالی نوکلئوتیدی پروتئین بازدارنده پلی گالاکتوروناز رقم محلب از سایت NCBI با شماره دسترسی AF263465.1 تهیه گردید. سپس توالی‌های همولوگ توالی فوق‌الذکر از طریق BLAST جستجو گردیده و تعداد ۱۲ عدد از توالی‌های همولوگ گزینش گردید و توالی آن‌ها ذخیره گردید (شکل ۱).



شکل ۱- جستجوی توالی‌های همولوگ از طریق برنامه BLAST

انطباق توالی چندتایی

با استفاده از برنامه ClustalW بر روی توالی‌های همولوگ، آنالیز انطباق توالی چندتایی انجام گرفت که نشان‌دهنده وجود جد مشترک در توالی‌های همولوگ مورد مطالعه بود.

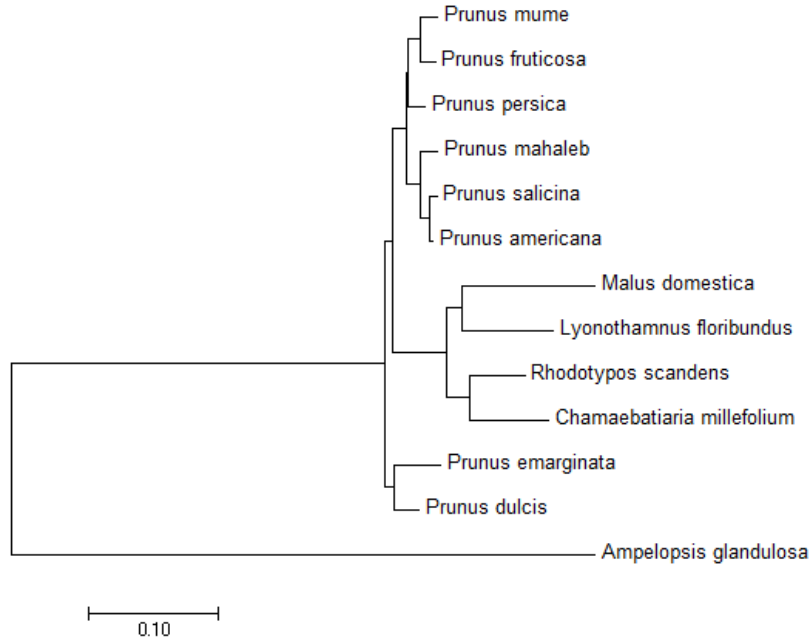
رسم درخت فیلوژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار MEGA7

توالی‌های تهیه شده از NCBI با فرمت FASTA وارد نرم‌افزار MEGA7 گردید سپس توالی‌ها انتخاب و با گزینه Align مرتب گردیدند (شکل ۲) تا بخش‌های مشابه کنار هم قرار گیرند و قسمت‌هایی از توالی‌ها که بازهای آن‌ها مشخص نبود و با (N) نشان داده شده بودند حذف گردیدند تا خطای نرم‌افزار حداقل شود.

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrv	Group Name
1. Prunus mume	**
2. Prunus salicina	**
3. Prunus mahaleb	**
4. Malus domestica	**
5. Prunus americana	**
6. Prunus persica	**
7. Prunus fruticosa	**
8. Ampelopsis glandulosa	**
9. Rhodotypos scandens	**
10. Prunus emarginata	**
11. Prunus dulcis	**
12. Lyonothamus floribundus	**
13. Chamaebatiaria millefolium	**

شکل ۲- بازآرایی توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار MEGA7

پس از Align کردن توالی‌ها، درخت فیلوژنتیکی برای توالی‌های همولوگ مذکور رسم گردید (شکل ۳). همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است اجداد مشترک رقم‌های مختلف و فاصله ژنتیکی بین آن‌ها با استفاده از درخت تکامل ژنتیکی مشخص است. با توجه به درخت فیلوژنتیکی رقم *Ampelopsis glandulosa* بیشترین فاصله ژنتیکی را با سایر ارقام دارد و توالی آن احتمالاً مشابه توالی اجدادی سایر ارقام می‌باشد.

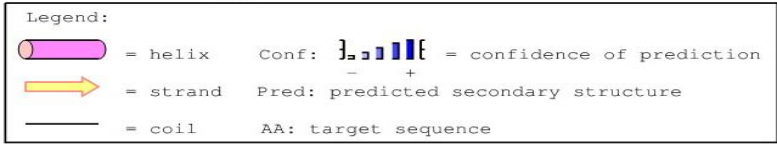
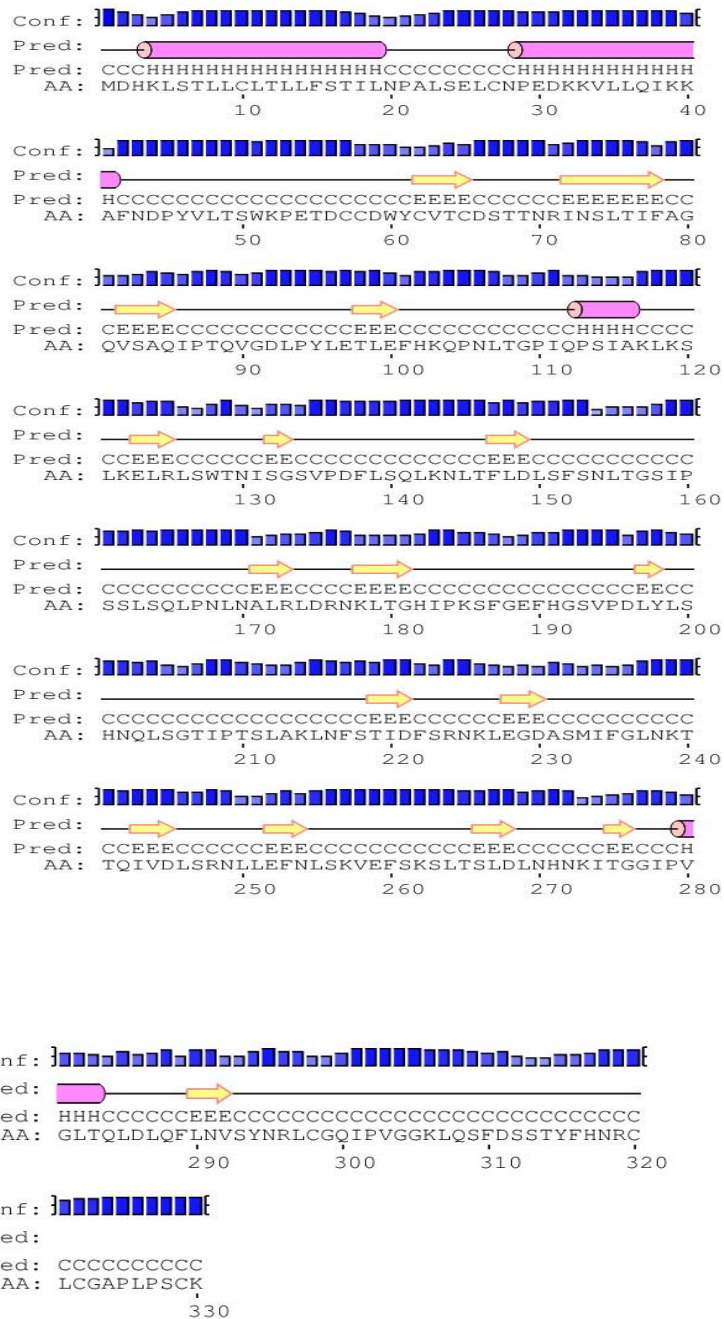


شکل ۳- درخت فیلوژنتیکی توالی‌های همولوگ با انتخابی با استفاده از نرم‌افزار MEGA7

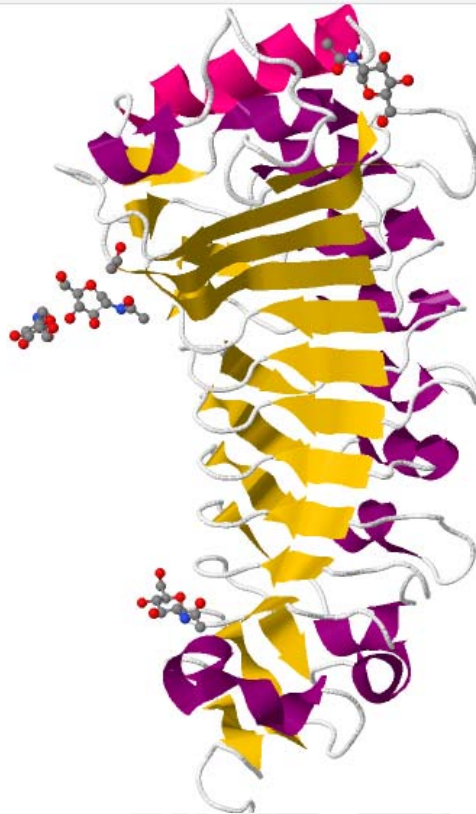
پیش‌بینی ساختار دوم و سوم پروتئین

جهت رسم ساختار دوم پروتئین از الگوی PSIPRED استفاده شد. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود خط پیش‌بینی (pred) حاوی حرف‌های H, E و C است. این حرف‌ها نشان‌دهنده کنفورماسیون هر اسیدآمینو است. (Helical =H) یا مارپیچی و Extended =E صفحه‌ای یا بتا و Random Coil =C (یا پیچ تصادفی). خط اطمینان (Conf) حاوی ارقام ۰ تا ۹ است که نشان‌دهنده میزان اعتماد به پیش‌بینی هر موقعیت (۹=اعتماد بالا، ۰=اعتماد ضعیف) می‌باشد.

IrHC 2017
Tehran - Iran



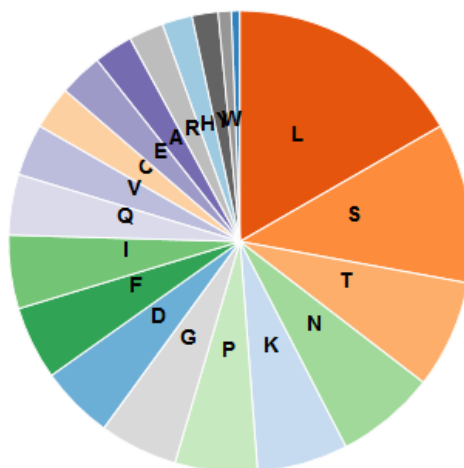
شکل ۴- پیش بینی ساختار دوم پروتئین با استفاده از الگوی PSIPRED



شکل ۵- پیش‌بینی ساختار سوم پروتئین با استفاده از PDB

ساختار سوم پروتئین در شکل ۵ نشان داده شده است که در آن مارپیچ‌ها به رنگ بنفش، صفحات بتا به شکل پیکان‌های زرد و پیچ‌ها به شکل خطوط سفید نشان داده شده است. در نهایت ترکیبات اسیدآمینه پروتئین بازدارنده پلی گالاکتوروناز با استفاده از الگوی PredictProtein مشخص گردید که اسیدآمینه غالب آن L و S بوده و به ترتیب مربوط به لوسین و سرین می‌باشد.

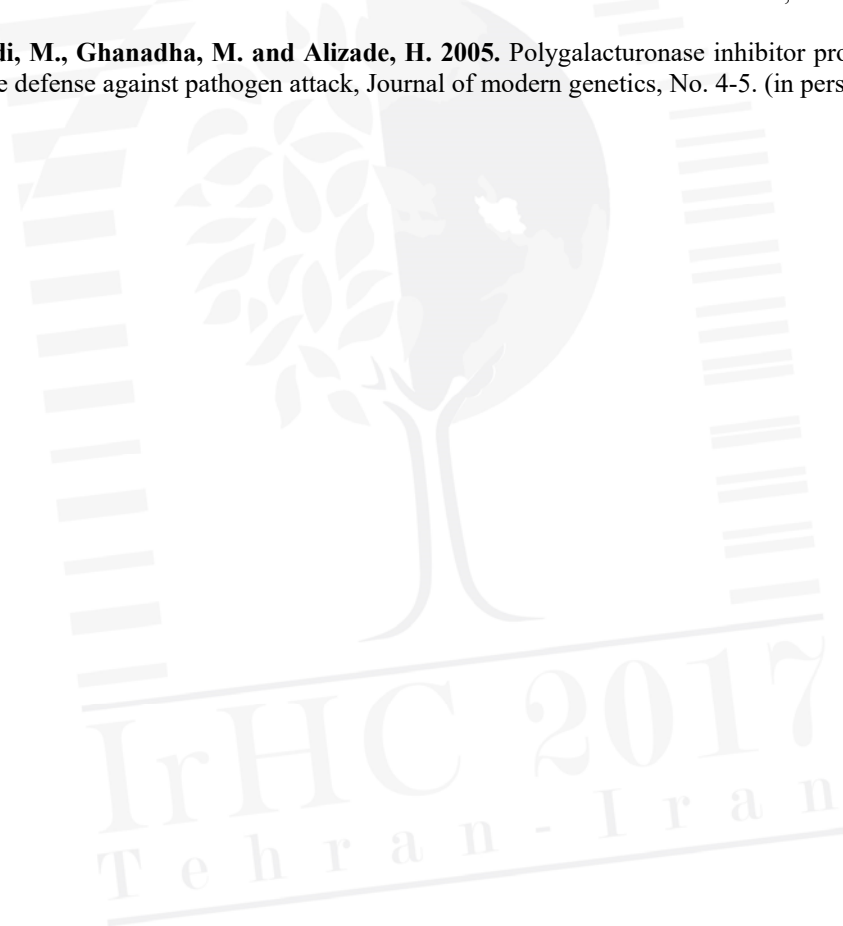
Amino Acid composition



شکل ۶- ترکیبات اسیدآمینه پروتئین بازدارنده پلی گالاکتوروناز

منابع

- Bailey, L.L. 1916.** The Standard Cyclopedia of Horticulture V. New York: The Macmillan Company. p. 2386.
- Fan, Chengda. 2010.** Treatises of the Supervisor and Guardian of the Cinnamon Sea (Translated ed.). Seattle: University of Washington Press. p. LV. ISBN 9780295990798.
- Ganji moghadam, E., Bolandi, A. & Anahid, S., 2007.** "In vitro proliferation of four selected dwarf genotypes of Mahaleb", research and construction in natural resources, No. 79.
- Jones, D. F. 1928.** "Burbank's Results with Plums". Journal of Heredity 19 (8): 359–372.
- Katzer, G. 2002.** Mahaleb Cherry (Prunus mahaleb L.), <http://gernot-katzers-spice-pages.com>.
- Loudon, John Claudius. 1838.** Arboretum Et Fruticetum Britannicum: Or, The Trees and Shrubs of Britain, London: Longman, Orme, Brown, Green and Longmans. p. 702. Under C. chamaecerasus. Downloadable Google Books.
- Smith, Kim. 2009.** Oh garden of fresh possibilities. New Hampshire: David R. Godine, Publisher. p. 38. ISBN 978-1-56792-330-8.
- Soleymani, V., Maleki, R., Hoseini, R. and Sharafi, Y. 2012.** Gene transfer of Polygalacturonase inhibitor protein (agent of resistance to some fungal diseases in apples) to the bacterium Agrobacterium tumefaciens, Iranian Genetics Congress. (in persian)
- Swearingen, Jil, B. Slattey, K. Rehetiloff, and S. Zwicker. 2010.** Plant Invaders of the Mid-Atlantic Natural Areas. 4th Edition. National Park Service and the U.S. Fish and Wildlife Service, Washington, D.C. 168 pp.
- Zare mehrjerdi, M., Ghanadha, M. and Alizade, H. 2005.** Polygalacturonase inhibitor proteins of plant and their role defense against pathogen attack, Journal of modern genetics, No. 4-5. (in persian).



Polygalacturonase Inhibitor Protein Sequence Analysis in Mahaleb and Compliance with Homologous Sequences

Rahele Ghanbari Moheb Saraj^{* 1} and Zahra Khazai²
^{1,2} Department of Horticulture, University Mohaghegh Ardabili, Ardabil
^{*} Corresponding author: r.ghanbary6565@gmail.com

Abstract

In the present study, polygalacturonase inhibitor proteins were examined in the Mahaleb and its homologues were determined by BLAST and adapt multiple sequencing was performed on it. Then genetic evolutionary tree for interest homologous was drawn. According to the phylogenetic tree, studied cultivar has been the same ancestors and have been separated from each other over time. Finally, secondary and tertiary structure of proteins was predicted and amino acid composition of the protein was found.

Keywords: polygalacturonase inhibitor protein, Mahaleb, sequences homologous, Secondary and tertiary structure of proteins

