بررسی پروتئین‌های خانواده GRAS در گردو و مقایسه آن با سایر گونه‌های گیاهی در شرایط *in silico*

ملینا سرابندی*، مهدی محسنی آذر، علیرضا فرخزاد
[۱] گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه، ارومیه
*نویسنده مسئول: lena.sadr@yahoo.com

چکیده

پروتئین‌های خانواده GRAS به‌عنوان فاکتورهای رونویسی نقش‌های متنوعی در ریشه و شاخه‌های در حال تمایز و سیگنال جیبرلیک اسید در گیاهان ایفا می‌کنند. بررسی نقش این پروتئین‌ها در القای پاسخ به جیبرلین در فرآیندهای رشدی گوناگون مورد توجه محققین قرار گرفته است. هدف از این تحقیق بررسی بیوانفورماتیکی پروتئین‌های خانواده GRAS در گردو و مقایسه این پروتئین‌ها با سایر گونه‌ها، مشخص کردن خصوصیات و عملکرد این پروتئین‌ها، یافتن مکان‌های آلرژی‌زایی هر یک از این پروتئین‌ها در شرایط in silico بود. در این تحقیق زیرگروه‌های مختلف این خانواده در گردو مشخص گردید. نتایج مشخص کرد پروتئین‌های موردمطالعه هیچ سایت آلرژی‌زایی ندارند. هیچ سایت گلیکوزیلاسیونی برای این پروتئین‌ها شناسایی نشد. این پروتئین‌ها دارای سایت‌های فسفریلاسیون متعددی هستند. ساختار ۳ بعدی و تعداد α-Helix و β-sheet این پروتئین‌ها در گردو مشخص گردید.

کلیدواژه: **گردو، پروتئین‌های GRAS، آلرژی‌زایی، فسفریلاسیون، گلیکوزیلاسیونی، ساختار سه‌بعدی.**

مقدمه

گردو با نام علمی *Juglans regia* L از خانواده Juglandaceae بومی منطقه گسترده‌ای است که از کوه‌های کارپات در اروپای مرکزی شروع و به کشور کره در شرق آسیا ختم می‌شود.[۱]ایران یکی از مناطق اصلی تنوع و کشت و تولید گردو در دنیا است. ارزش اقتصادی گردو: براساس آمار فائو (۲۰۱۲)، جمهوری اسلامی ایران با دارا بودن ۸۵ هزار هکتار سطح زیر کشت و تولید حدود ۴۵۰ هزار تن گردو (۹٪ تولید کل) مقام دوم را از نظر تولید پس از کشور چین به خود اختصاص داده است.[۲]

پروتئین‌های GRAS یک خانواده مهم از پروتئین‌های گیاهی خاص هستند که به‌عنوان فاکتورهای رونویسی عمل می‌کنند. این ژن‌ها نقش‌های متنوعی در ریشه و شاخه‌های درحال تمایز، سیگنال جیبرلیک اسید و انتقال سیگنال فیتوکروم A، معماری گیاه و همزیستی بین گیاه و میکوریزا ایفا می‌کنند.[۳]

پروتئین‌های DELLA زیر خانواده‌ی از پروتئین‌های GRAS هستند که عوامل هسته‌ای ممانعت کننده از رشد می‌باشند، این پروتئین‌ها به‌عنوان ممانعت کننده بین سلولی در پاسخ به GA عمل می‌کنند. این پروتئین‌ها تنظیم‌کننده‌های منفی سیگنال جیبرلین هستند که به‌سرعت در پایین‌دست گیرنده GA فعالیت می‌کنند. پروتئین‌های "DELLA" بر انتقال سیگنال جیبرلین و پروسه جوانه‌زنی تأثیر منفی دارند.[۴]نقش کلیدی پروتئین‌های DELLA در انتقال سیگنال جیبرلین و القای پاسخ، بررسی نقش این پروتئین‌ها در القای پاسخ به جیبرلین در فرایندهای رشدی گوناگون از جمله جوانه‌زنی مورد توجه محققین قرار گرفته است.[۵]

[1] Association for German Insurance., 2010
[2] www.FAO.ORG
[3] Pysh LD et al., 1999
[4] Prassinos, C et al.,2009
[5] Cheng H et al.,2004

پروتئین‌های DELLA ممانعت کننده‌های پیام جیبرلیک اسید را از بین می‌برند در نتیجه سبب ایجاد فنوتیپ کوتولگی می‌شوند که این امر به علت معیوب ساختن آنزیم‌های سنتز جیبرلیک اسید است.[۶]

توالی یابی ژنوم گردو در سال ۲۰۱۵ در دانشگاه UCdavis کالیفرنیا انجام گرفت و ژنوم آن در ماه می همان سال منتشر شد.[۷]

هدف از انجام پژوهش حاضر، مشخص کردن پروتئین‌های خانواده GRAS در گردو، مقایسه این پروتئین‌ها با سایر گونه‌ها و مشخص کردن خصوصیات و عملکرد برخی از این پروتئین‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

توالی پروتئین‌های GRAS و DELLA در آرابیدوپسیس از طریق بانک پروتئین NCBI استخراج شد و از طریق Blast protein در سایت NCBI پروتئین‌های مشابه در گردو و گونه‌های انگور، آرابیدوپسیس و برنج شناسایی شدند.[۸]کار هم‌ردیفی پروتئین‌ها با استفاده از نرم افزا MEGA6 انجام گرفت. کلاستر بندی توالی‌ها با نرم‌افزار Clustal Omega انجام شد. از آن جهت که گردو جزو میوه‌های آجیلی می‌باشد، توالی‌های پروتئین‌های ذکر شده از نظر وجود توالی‌های دارای خاصیت آلرژی‌زایی با نرم‌افزار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

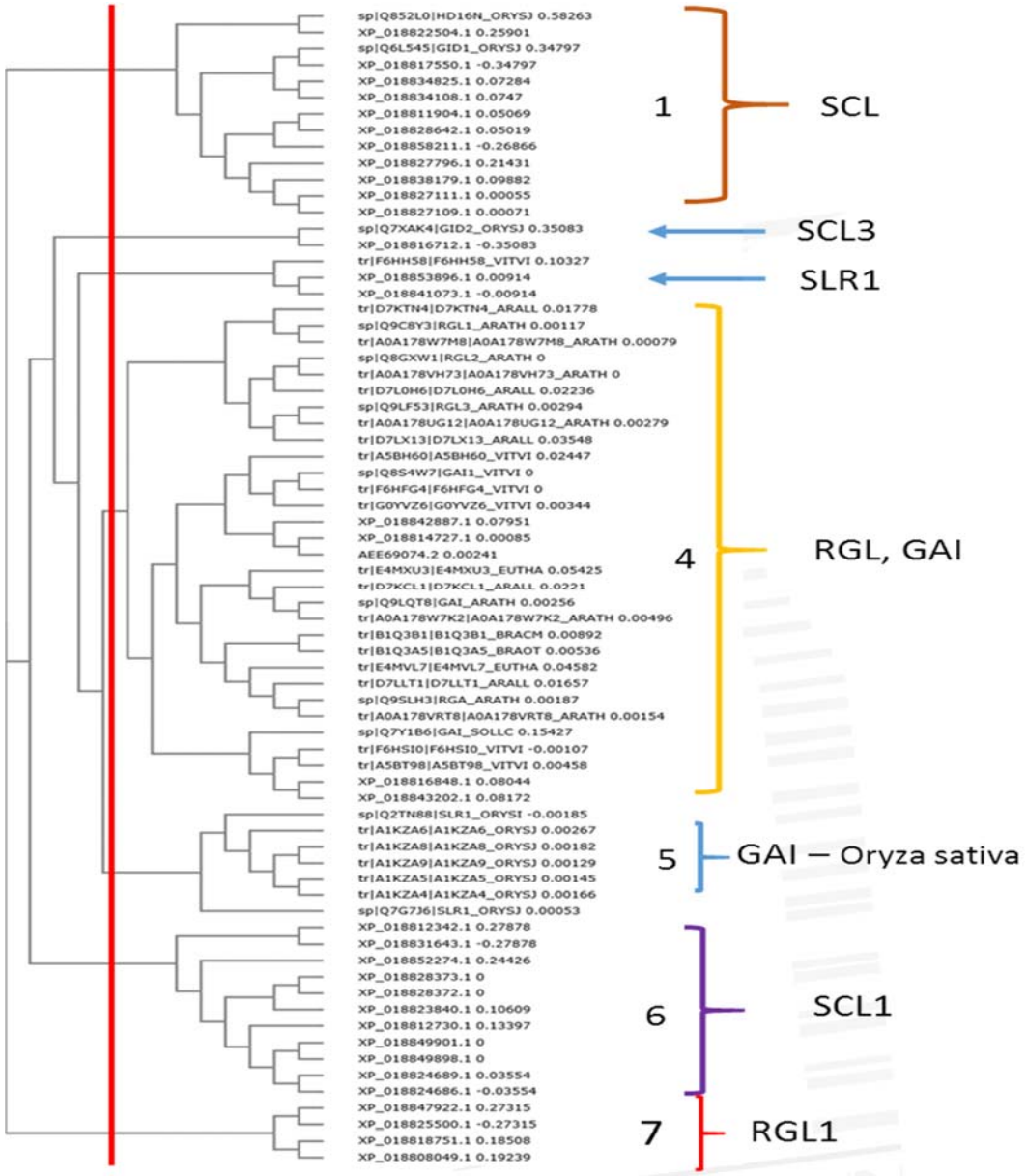
پروتئین‌های گردو از نظر مکان‌های فسفریلاسیون با نرم‌افزار NetPhos 3.1 و از نظر وجود سایت‌های استیلاسیون توسط نرم‌افزار NetAcet 1.0 مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج

برای یافتن مکان‌هایی از پروتئین که دچار تغییرات پس از ترجمه می‌شوند، با استفاده از نرم‌افزارهای آنلاین محل‌های فسفریلاسیون، گلیکوزیلاسیون، متیلاسیون و استیلاسیون بررسی شد. بر اساس نتایج بدست آمده پروتئین SCL گردو از بین تغییرات پس از ترجمه تنها دارای مکان‌هایی برای فسفریلاسیون بود و سایر تغییرات پس از ترجمه روی آن انجام نمی‌گیرد. ازآنجایی‌که گردو به‌عنوان یک میوه آجیلی مصرف خوراکی دارد و برخی افراد نسبت به مصرف آن حساسیت دارند لذا برای یافتن مکان‌هایی از پروتئین SCL گردو و بررسی خاصیت آلرژی‌زایی آن با استفاده از نرم‌افزار algpred بررسی‌ها نشان داد که پروتئین SCL دارای ۲۰ توالی آلرژی‌زایی می‌باشد.

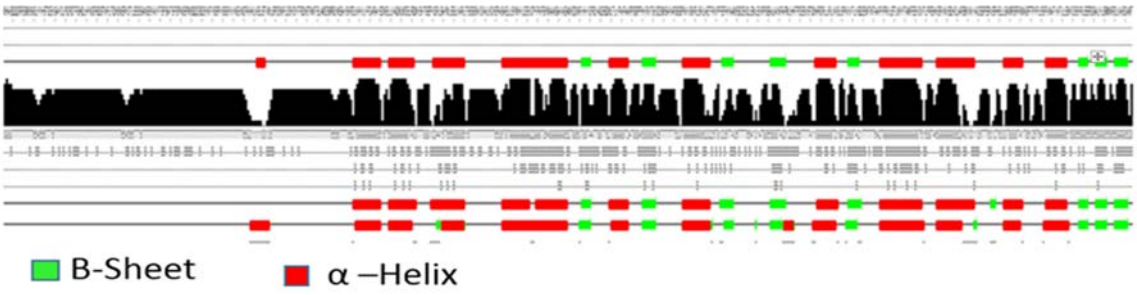
پروتئین‌های گردو از نظر تشابه و نزدیکی در کلاستر مرتب شدند و خانواده مربوط به هر دسته پروتئین در شکل ۱ مشخص گردید.

[6] Cao D et al.,2005
[7] www.universityofcalifornia.edu
[8] www.ncbi.nlm.nih.gov



شکل (۱) تجزیه کلاستر پروتئین‌های مختلف خانواده GRAS

برای یافتن ساختار دوبعدی پروتئین‌ها و بدست آوردن تعداد صفحات آلفا و بتا با استفاده از نرم‌افزارJPRED به‌طور تصادفی از هر دسته، پروتئین‌هایی انتخاب و تعداد صفحات آلفا و بتا آن‌ها محاسبه گردید شکل (۲) و با سایر پروتئین‌های آن خانواده بسط داده شد نتایج در جدول (۱) آورده شده است.



شکل (۲) نتایج آنالیز ساختار ثانویه پروتئین SCL در گردو

جدول (۱)

نام پروتئین	کد پروتئین	α –Helix	B-Sheet
RGL1	Xp-018818751	۱۳	۸
SCL1	Xp-018824686	۱۲	۸
GAI	A1kza4	۸	۶
RGL/GAI	Q8s4w7	۱۶	۹
SLR1	Xp-018853896	۱۱	۶
SCL3	Q7xak4	۴	۱
SCL	Xp-018828642	۱۳	۱۱

بحث

پروتئین‌های خانواده GRAS در گردو مشخص شدند و ویژگی‌های پروتئین‌ها، شباهت‌ها و اختلافات آن‌ها باهم و با سایر گونه‌های مورد بررسی، مشخص گردید. زیرگروه‌های مختلف این خانواده در گردو مشخص گردید. ویژگی‌های تعدادی از پروتئین‌های گردو که تاکنون مشخص نشده بودند مشخص گردیدند. در پروتئین‌های موردمطالعه هیچ سایت آلرژی‌زایی مشخص نشد. هیچ سایت گلیکوزیلاسیونی برای این پروتئین‌ها شناسایی نشد. این پروتئین‌ها دارای سایت‌های فسفریلاسیون متعددی هستند. ساختار ۳ بعدی و تعداد α-Helix و β-sheet این پروتئین‌ها در گردو مشخص گردید که طبق این مقایسه گونه‌های مختلف تعداد متفاوتی از آلفا و بتا دارند.

منابع

Prassinos, C. Ko, J. Lang, G. Iezzoni A. F. And Han K. (2009) Rootstock-induced dwarfing in cherries is caused by differential cessation of terminal meristem growth and is triggered by rootstock-specific gene regulation. Tree Physiology 29, 927–936

Jiang, F Guo, M Yang, F Duncan, K Jackson, D Rafalski, A Wang, S Li B (2012) Mutations in an AP2 Transcription Factor-Like Gene Affect Internode Length and Leaf Shape in Maize. PLoS ONE , 7(5) e37040

King KE, Moritz T, Harberd NP. 2001 Gibberellins are not required for normal stem growth in Arabidopsis thaliana in the absence of GAI and RGA. Genetics.159:767–776

Cheng H, et al. 2004. Gibberellin regulates Arabidopsis floral development via suppression of DELLA protein function. Development; 131:1055-64.

Cao D, Hussain A, Cheng H, Peng J. 2005. Loss of function of four DELLA genes leads to light- and gibberellin-independent seed germination in Arabidopsis. Planta; 223:105-13.

www.ncbi.nlm.nih
www.uniprot.org
http://ptm.asu.edu
http://www.imtech.res.in/raghava/algpred/submission.html
1www.FAo.org
http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo

In Silico Analysis of Walnut GRAS Protein and Compare It with Different Plant Species

*Corresponding Author: lena.sadr@yahoo.com

Abstract

Proteins family of GRAS play diverse roles as copying factors in differentiating root and branches and GA in plants. Investigation of the role of these proteins in response induction to gibberellin in different growth processes has attracted the scientists' attention. In this study different subdivisions of this family in walnut were defined. The results show that the studied proteins had no allergy sites. No glycozilation sites were identified for these proteins. These proteins have several phosphorilation sites. Secondry structure and the number of a-Helix and B-sheet of these proteins in walnut were defined.

***Keyword*: walnut, GRAS Proteins, Allergen site, Phosphorylation, Glycosylation, 3D Structure.**