بررسی بیوانفورماتیکی لینالول سنتاز در گیاه *Rosa rugose* و چند گیاه دیگر

هدی‌السادات عقیلی[1*]، حسین مرادی[2]

[1]دانشجوی کارشناسی‌ارشد باغبانی- بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

[2]عضو هئیت علمی (استادیار) گروه باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری. ساری

[*]نویسنده مسئول: Hoda_aghili@yahoo.com

چکیده

لینالول از جمله منوترپن‌های طبیعی و ترکیبی با بوی معطر که با دارا بودن خواص آروماتراپی برای انسان، در صنایع آرایشی- بهداشتی و پزشکی استفاده فراوانی دارند. ژن کدکننده سنتز آنزیمی لینالول در چندین خانواده گیاهی توالی‌یابی شده است. هدف از این پژوهش بررسی بیوانفورماتیکی توالی‌های پروتئینی لینالول‌سنتاز می‌باشد. نخست از پایگاه اطلاعاتی NCBI، توالی‌های پروتئینی لینالول‌سنتاز مربوط به این گونه‌ها دریافت شد؛ سپس همردیفی توالی‌ها، با نرم‌افزار CLC Genomics Workbench5.5.2 صورت گرفت. همچنین جهت تعیین ارتباط فیلوژنتیک بین گیاهان مورد بررسی، درخت فیلوژنی این پروتئین‌ها رسم شد. نتایج نشان داد که طول این پروتئین در میان گیاهان بررسی شده در محدوده بین 871 - ۴۲۸ اسیدآمینه می‌باشند. بیشترین وزن مربوط به *Clarkia concinna*، کمترین وزن مربوط به *Rosa rugose* و نقطه ایزوالکتریک این پروتئین در محدوده ۶/۸۵ – ۵/۵ و محدوده شاخص آلیفاتیک در محدوده ۸۱/۹۱۶ تا ۹۰/۶۷۸ می‌باشد، بیشترین شاخص آلیفاتیک مربوط به *Solanum lycopersicum* است. بنابراین نزدیکی بین جنس‌ها نشان دهنده قابلیت حفظشدگی بالای این منطقه یا دومین در نسل‌های متفاوت می‌باشد.

***کلمات کلیدی:* بیوانفورماتیک، شاخص آلیفاتیک، لینالول‌سنتاز ، نقطه ایزوالکتریک**

مقدمه

متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند: ۱) ترپن‌ها ۲) فنل‌ها ۳) آلکالوئیدها (Rispail *et al.*, 2005). همه ترپنوئیدها از اتصال واحدهای ایزوپنتیل دی‌فسفات (IDP) و ایزومر آلیلی آن دی‌متیل‌آلیل‌دی‌فسفات (DMADP) سنتز می‌شوند (Cheng *et al.*, ۲۰۰۷). معمولاً ترپنوئیدها بر اساس تعداد واحدهای ایزوپرنوئید موجود در ساختارشان به چندین دسته از جمله مونوترپنوئیدها، دی‌ترپنوئیدها، تری‌ترپنوئیدها، تتراترپنوئیدها، سزکوئی‌ترپنوئیدها تقسیم می‌شوند (Cseke *at el.*, 1998).

مونوترپن‌ها، یکی از مهمترین گروه ترپن‌ها است. لینالول (C10H18O) یک مونوترپن طبیعی است که در گیاهان توسط لینالول‌سنتاز از پیش‌ساز عمومی مونوترپن‌ها یعنی ژرانیل‌دی‌فسفات تولید می‌شود (الیاسی و مجدی، ۱۳۹۲). لینالول ترکیبی با بوی معطر بوده که در بسیاری از گل‌ها و گیاهان معطر یافت می‌شود و به دلیل بوی معطر، در ساخت ۷۰-٪۶۰ از مواد بهداشتی و پاک‌کننده‌ها مانند صابون‌ها و لوسیون‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، همچنین سبب جذب حشره‌های گرده‌افشان شده و دارای خواص آروماتراپی برای انسان است (جاودان اصل و همکاران، ۱۳۹۳). ژن لینالول‌سنتاز در بسیاری از گونه‌های گیاهی مانند درمنه (Jia *at el.*, ۱۹۹۹)، ریحان (*Ocimum basilicum*) (Iijima *et al.*, 2004)، سیب (*Malus domestica*) (Nieuwenhuizen *et al.*, ۲۰۱۳)، آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) (Aubourg *et al.*, ۲۰۰۴) جداسازی و توالی‌یابی گردیده است. در این مطالعه با استفاده از نرم‌افزارها و روش‌های بیوانفورماتیکی رابطه تکاملی این ژن بین گیاه *Rosa rugose* و چند گیاه دیگر به‌منظور بررسی میزان شباهت‌ها و شناسایی نواحی حفظ شده، دومین‌ها و خانواده پروتئینی آن مورد بررسی قرار گرفت.

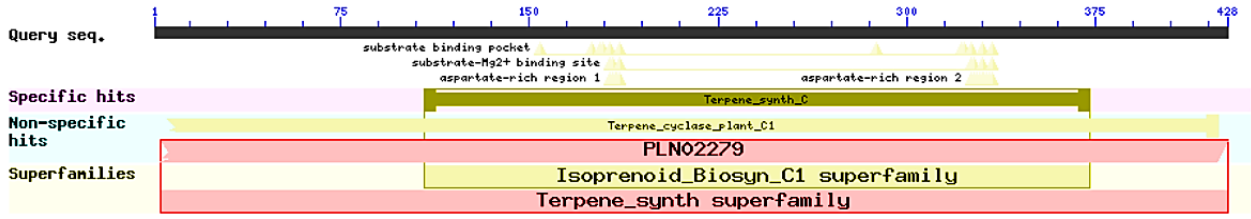
مواد و روش

توالی‌های کامل آمینواسیدی لینالول مربوط به گیاه *Rosa rugose* و چند گیاه دیگر از پایگاه اطلاعاتی NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) یافت شد. پروتئین‌های لینالول‌سنتاز مربوط به گیاهان مورد نظر با فرمت FASTA دریافت شد. دامنه‌ها و موقعیت‌های مشابه لینالول از قسمت Conserved domains پایگاه اطلاعاتی NCBI بدست آمد. همچنین از پایگاه اطلاعاتی uniprot (http://www.uniprot.org/align) و با برنامه clustalo این موقعیت‌ها بدست آمد.

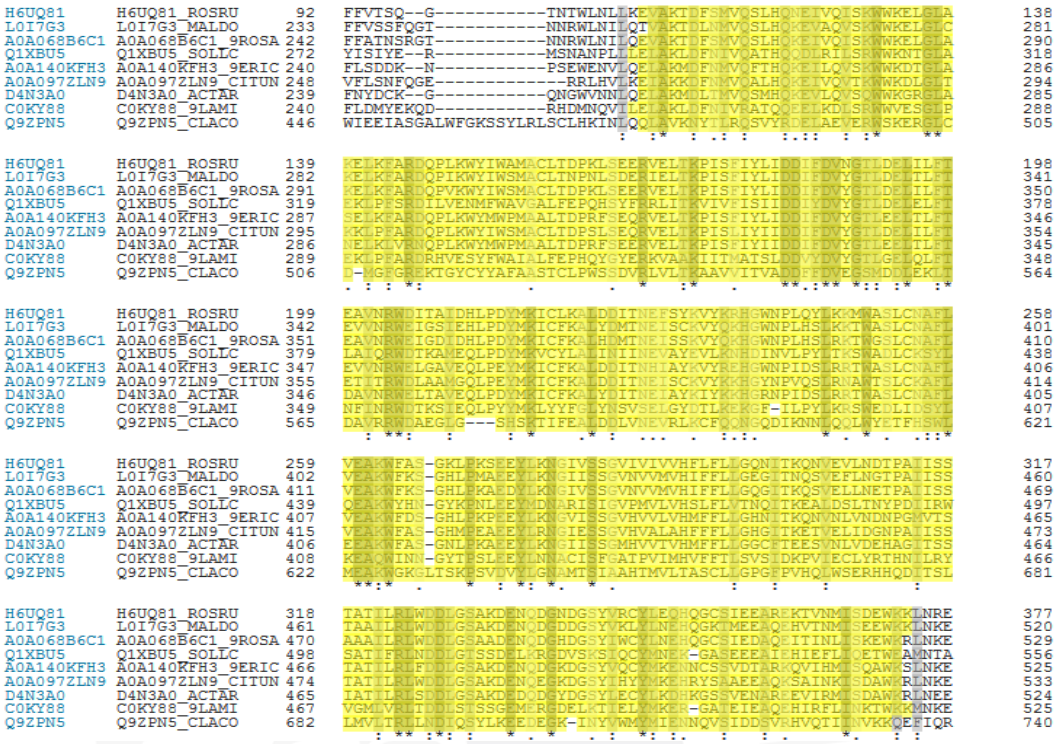
توالی‌های بدست‌آمده برای بررسی بیشتر و مقایسه با یکدیگر با استفاده از نرم‌افزار CLC Genomics Workbench5.5.2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و جدول مشخصات آن‌ها رسم گردید. درخت فیلوژنی مربوط به این توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Mega7 و با روش Neighbor-joining رسم شد.

نتایج و بحث

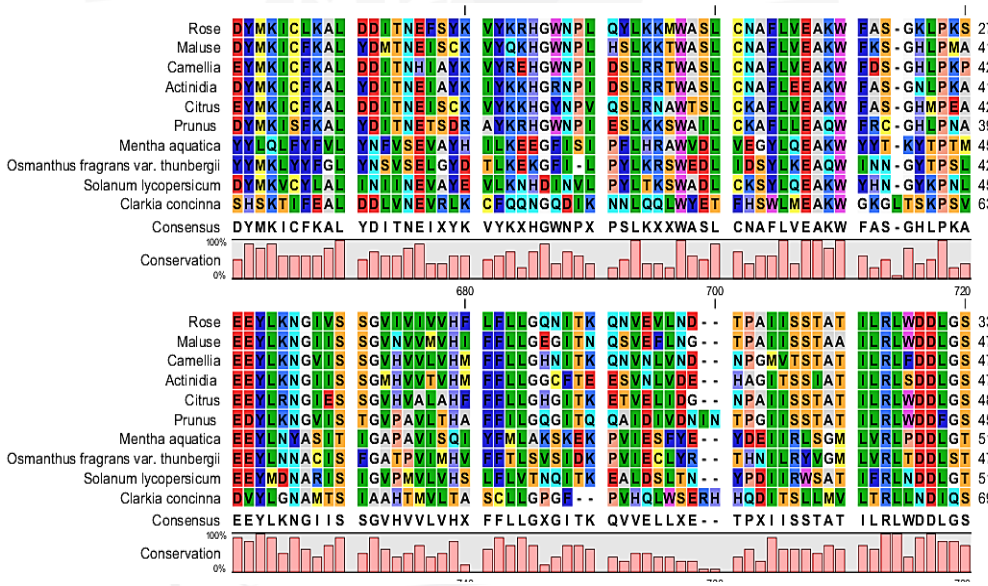
در بررسی‌های حاصل از بلاست (شکل ۱) مشخص شد که لینالول‌سنتاز بیشترین حفظ‌شدگی را با دومین‌های ترپن‌سیکلاز گروه یک و آنزیم‌های سنتز کننده ترپن دارد. ترپن‌سیکلازهای گروه یک دارای دومین حفظ شده می‌باشد که شامل یک گروه متنوع از ترپن‌سیکلازهای گیاهی مونومریک می‌باشد که ژرانیل‌دی‌فسفات را به مونوترپن‌ها، فارنسیل‌دی‌فسفات را به سزکویی‌ترپن‌ها و ژرانیل‌ژرانیل‌دی‌فسفات را به دی‌ترپن‌ها تبدیل می‌کند. همچنین بررسی فیلوژنی آنزیم لینالول‌سنتاز در ۱۰ خانواده گیاهی در این پژوهش نشان داد که این آنزیم در خانواده Rosaceae روابط فیلوژنی نزدیکتری با خانواده‌های Rutaceae، Theaceae، Actinidiaceae دارد که این موضوع نشان دهنده درجه بالای حفظ‌شدگی این پروتئین‌ها در بینابین خانواده‌ها می‌باشد (شکل ۴). نتایج حاصل از نرم‌افزار CLC Genomics Workbench 5.5.2 (جدول ۱) نشان داد که طول این پروتئین در میان گیاهان بررسی شده در این پژوهش 871 - ۴۲۸ اسیدآمینه است. بیشترین وزن مربوط به *Clarkia concinna*، کمترین وزن مربوط به *Rosa rugose* و نقطه ایزوالکتریک این پروتئین در محدوده ۶/۸۵ – ۵/۵ می‌باشد. محدوده شاخص آلیفاتیک که به‌عنوان یک عامل مثبت برای افزایش مقاومت حرارتی است در محدوده ۸۱/۹۱۶ تا ۹۶/۰۵۹ قرار دارد که بیشترین شاخص آلیفاتیک مربوط به *Solanum lycopersicum* است. بررسی فیلوژنی لینالول‌سنتاز در بین گیاهان مورد بررسی نشان داد که این آنزیم بیشترین نزدیکی را به *Malus domestica* دارد (شکل ۴). همچنین نتایج حاصل از همردیفی نشان داد که این آنزیم از حفظ‌شدگی بالایی برخوردار است (شکل ۳). نتایج حاصل از بلاست در حقیقت وجود نواحی مشابهی را در خانواده‌های Rosaceae، Rutaceae، Theaceae و Actinidiaceae مشخص نمود؛ که در حقیقت این نواحی پس از ترسیم دندوگرام‌ها نشان دادند که دارای میزان اسیدآمینه ۴۲۸ – ۸۷۱ و در بررسی‌های فیلوژنی نزدیکی بین جنس‌های داخل خانواده را نشان داد. بنابراین نزدیکی بین جنس‌ها نشان دهنده قابلیت حفظ‌شدگی بالای این منطقه یا دومین در نسل‌های متفاوت می‌باشد.



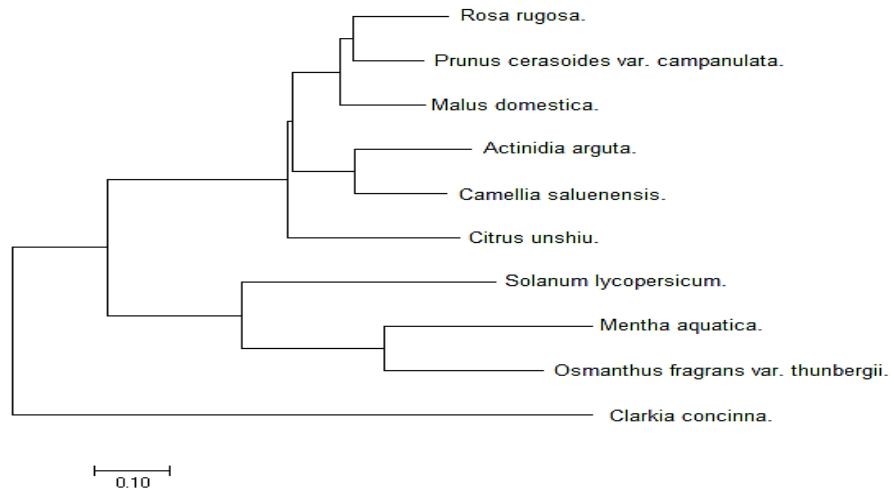
شکل ۱– دومین‌های حفظ شده لینالول‌سنتاز موجود در گیاه *Rosa rugose*



شکل ۲- دومین‌ها تشابه بین پروتئین لینالول سنتاز در گیاه *Rosa rugose* (H6UQ81)، *Malus domestica* (L017G3)، *Citrus ushiu* (A0A097ZLN9)، *Camellia saluenensis* (A0A140KFH3)، *Actinidia arguta* (D4N3A0)، *Mentha aquatic* (Q1XBUS)، *Prunus cerasoides* var. campanulata (A0A068B6C1)، *Clarkia concinna* (Q9ZPN5)، *Osmanthus fragrans* var. thunbergii (C0KY88)



شکل ۳– قسمتی از نواحی حفظ شده حاصل از همردیفی توالی‌های لینالول‌سنتاز در گیاهان مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار CLC Genomics Workbench5.5.2



شکل ۴- درخت فیلوژنی مربوط به پروتئین لینالول‌سنتاز در گیاه *Rosa rugose* و چند گیاه دیگر

جدول ۱- خصوصیات مهم لینالول‌سنتاز (طول برحسب اسیدآمینه و وزن برحسب کیلو دالتئن می‌باشد)

نام گونه	طول	وزن	نقطه ایزوالکتریک	شاخص آلیفاتیک
Rosa rugose	۴۲۸	۴۹	۵/۸۷	۹۰/۶۷۸
Malus domestica	۵۶۷	۶۴/۶۰۷	۵/۹۴	۸۷/۳۷۲
Citrus ushiu	۵۸۸	۶۷/۳۹	۶/۷۴	۸۶/۱۲۲
Camellia saluenensis	۵۷۵	۶۶/۰۶۷	۶/۲۸	۸۴/۶۰۹
Actinidia arguta	۵۷۴	۶۶/۱۱۹	۵/۸۶	۸۱/۹۱۶
Mentha aquatica	۶۰۶	۷۰/۵۳۴	۵/۸۳	۸۹/۸۱۸
Prunus cerasoides	۵۶۱	۶۴/۵۲۶	۵/۶۳	۹۰/۰۷۱
Clarkia concinna	۸۷۱	۹۹/۵۸۷	۶/۸۵	۸۹/۲۰۸
Osmanthus fragrans	۵۷۶	۶۷/۲۹۲	۵/۵	۸۶/۸۵۸
Solanum lycopersicum	۶۰۹	۷۰/۹۴۴	۶/۴۴	۹۶/۰۵۹

منابع

Aubourg, S., Lecharny, A. and Bohlmann, J. (2002). Genomic analysis of the terpenoid synthase (AtTPS) gene family of Arabidopsis thaliana. Molecular Genetics and Genomics, 267(6): 730-745.

Alyasy.r., Majdi. M., Linalool synthase 1392. bioinformatic study on the Lamiaceae and several other plant family. The Second National Congress of organic and conventional farming. Researcher University of Ardabil. (in Persian).

Cheng, A.X., Lou, Y.G., Mao, Y.B., Lu, S., Wang, L.J and Chen, X.Y. (2007). Plant terpenoids: biosynthesis and ecological functions, Journal of Integrative Plant Biology, 49(2): 179-186.

Cseke, L., Dudareva, N. and Pichersky, E. (۱۹۹۸). Structure and evolution of linalool synthase. Molecular Biology and Evolution, ۱۵(۱۱): ۱۴۹۱-۱۴۹۸.

Iijima, Y., Gang, D.R., Fridman, E., Lewinsohn, E. and Pichersky, E. (2004). Characterization of geraniol synthase from the peltate glands of sweet basil. Plant Physiology, 134(1): 370-379.

Javedan Asl, M., Rajabi Memari, Hamid., Nabati Ahmadi, Daryoosh., and Rahnama Ghahfarokhi. Afrasiyab. 1393. Isolation of Linalool Synthase and Pinene Synthase Genes from Yarrow (*Achillea millefolium* L.) Medicinal Plant. Plant genetic research. Volume 2. (1). (in Persian).

Jia, J.W., Crock, J., Lu, S., Croteau, R. and Chen, X.Y. (1999). (3R)-Linalool synthase from Artemisia annua L.: cDNA isolation, characterization, and wound induction. Archives of Biochemistry and Biophysics, 372(1): 143-149.

Nieuwenhuizen, N.J., Green, S.A., Chen, X., Bailleul, E.J., Matich, A.J., Wang, M.Y. and Atkinson, R.G. (2013). Functional genomics reveals that a compact terpene synthase gene family can account for terpene volatile production in Apple. Plant Physiology, 161(2): 787-804

Evaluation Bioinformatic of Linalool Synthase In the Plant Rosa Rugose and Several other Plant

Hoda Aghili[1*], Hossein Moradi[2]
[1] Graduate Student Institute of sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources
[2] Assistant professor of sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources
[*]*Corresponding Author: Hoda_aghili@yahoo.com*

Abstract

The Linalool is one of the economically valuable very, monoterpenes that is used in cosmetics-health. The coding gene of this enzyme is plants Several plant families has been sequenced. The aim of this research is bioinformatic study of protein sequences of this gene. First, protein sequences of linalool synthase of this kinds has been received, from NCBI database؛ then the sequence alignment has been clone, with the software, CLC Genomics Workbench ۵/۵/۲ took place. The Phylogenetic tree of these proteins has drawn. The results showed that the length of this protein through plants is 428 – 871 amino acid. Highset weight is for *Clarkia concinna*, lowest weight is for *Rosa rugose* and Isoelectric point of this protein is in range of 6.85 - 5.5 and Aliphatic Index is in range of 81.916 to 90.678. Highset Aliphatic Index is for *Solanum lycopersicum*. Therefore, the similarity between the genuses indicates the ability to conservation this region or the domain in different generations.

Keywords: bioinformatic, aliphatic index, linalool synthase, isoelectric point