

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

هدی السادات عقیلی^{۱*}، حسین مرادی^۲

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی- بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

^۲عضو هیئت 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 لینالول سنتاز می‌باشد. نخست از پایگاه اطلاعاتی NCBI، توالی‌های پروتئینی لینالول سنتاز مربوط به این گونه‌ها دریافت شد؛ سپس همردیفی توالی‌ها، با نرم‌افزار CLC Genomics Workbench 5.5.2 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 اسید آمینه می‌باشند. بیشترین وزن مربوط به *Clarkia concinna*، کمترین وزن مربوط به *Rosa rugosa* 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 نسل‌های متفاوت می‌باشد.

کلمات کلیدی: بیوانفورماتیک، شاخص آلیفاتیک، لینالول سنتاز، نقطه ایزوالکتریک

مقدمه

متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند: (۱) ترپن‌ها (۲) فنل‌ها (۳) آلکالوئیدها (Rispaal et al., 2005). همه ترپنوئیدها از اتصال واحدهای ایزوپنتیل دی‌فسفات (IDP) و ایزومر آلیلی آن دی‌متیل‌آلیل‌دی‌فسفات (DMADP) سنتز می‌شوند (Cheng et al., 2007). معمولاً ترپنوئیدها بر اساس تعداد واحدهای ایزوپرنوئید موجود در ساختارشان به چندین دسته از جمله مونوترپنوئیدها، دی‌ترپنوئیدها، تری‌ترپنوئیدها، تترا‌ترپنوئیدها، سزکوئی‌ترپنوئیدها تقسیم می‌شوند (Cseke et al., 1998).

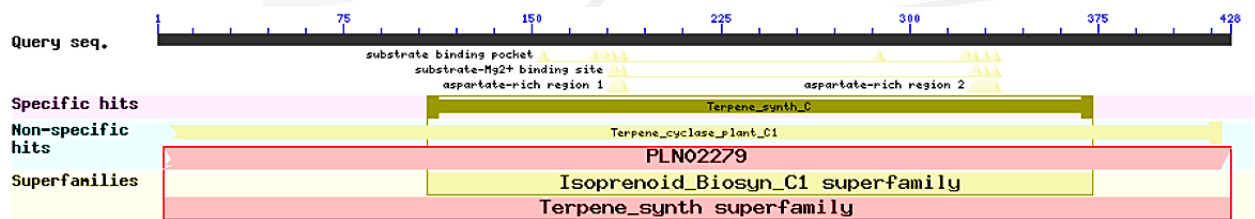
مونوترپن‌ها، یکی از مهمترین گروه ترپن‌ها است. لینالول (C₁₀H₁₈O) یک مونوترپن طبیعی است که در گیاهان توسط لینالول سنتاز از پیش‌ساز عمومی مونوترپن‌ها یعنی ژرانیل‌دی‌فسفات تولید می‌شود (الیاسی و مجدی، ۱۳۹۲). لینالول ترکیبی با بوی معطر بوده که در بسیاری از گل‌ها و گیاهان معطر یافت می‌شود و به دلیل بوی معطر، 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 لینالول سنتاز در بسیاری از گونه‌های گیاهی مانند درمنه (Jia et al., 1999)، ریحان (*Ocimum basilicum*) (Iijima et al., 2004)، سیب (*Malus domestica*) (et al., 2013)، آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) (Aubourg et al., 2004) جداسازی و توالی‌یابی گردیده است. در این مطالعه با استفاده از نرم‌افزارها و روش‌های بیوانفورماتیکی رابطه تکاملی این ژن بین گیاه *Rosa rugosa* و چند گیاه دیگر به‌منظور بررسی میزان شباهت‌ها و شناسایی نواحی حفظ‌شده، دومین‌ها و خانواده پروتئینی آن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش

توالی‌های کامل آمینواسیدی لینالول مربوط به گیاه *Rosa rugosa* و چند گیاه دیگر از پایگاه اطلاعاتی NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) یافت شد. پروتئین‌های لینالول سنتاز 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 Workbench 5.5.2 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

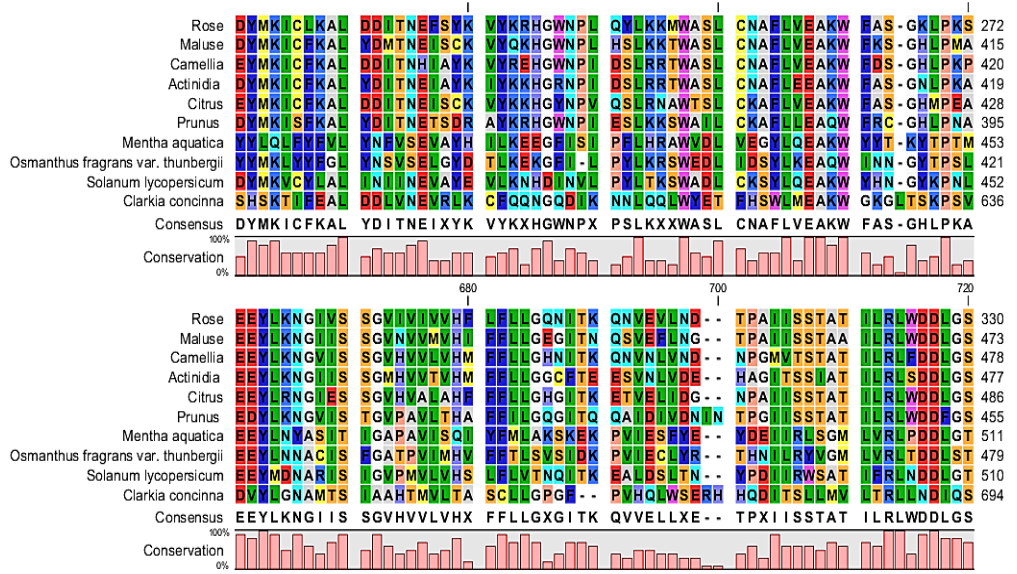
در بررسی‌های حاصل از بلاست (شکل ۱) مشخص شد که لینالول سنتاز بیشترین حفاظت را با دومین‌های ترپن‌سیکلاز گروه یک و آنزیم‌های سنتز کننده ترپن دارد. ترپن‌سیکلازهای گروه یک دارای دومین حفظ شده می‌باشد که شامل یک گروه متنوع از ترپن‌سیکلازهای گیاهی مونومریک می‌باشد که ژرانیل‌دی‌فسفات را به مونوترپن‌ها، فARNسیل‌دی‌فسفات را به سزکویی‌ترپن‌ها و ژرانیل‌ژرانیل‌دی‌فسفات را به دی‌ترپن‌ها تبدیل می‌کند. همچنین بررسی فیلوژنی آنزیم لینالول سنتاز در ۱۰ خانواده گیاهی در این پژوهش نشان داد که این آنزیم در خانواده Rosaceae روابط فیلوژنی نزدیکتری با خانواده‌های Theaceae, Rutaceae, Actinidiaceae دارد که این موضوع نشان دهنده درجه بالای حفاظت این پروتئین‌ها در بین این 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 ۸۷۱ - ۴۲۸ اسید آمینه است. بیشترین وزن مربوط به *Clarkia concinna*، کمترین وزن مربوط به *Rosa rugosa* 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 لینالول سنتاز 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 حفاظت 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 اسید آمینه ۴۲۸ - ۸۷۱ و در بررسی‌های فیلوژنی نزدیکی بین جنس‌های داخل خانواده را نشان داد. بنابراین نزدیکی بین جنس‌ها نشان دهنده قابلیت حفاظت بالایی این منطقه یا دومین در نسل‌های متفاوت می‌باشد.



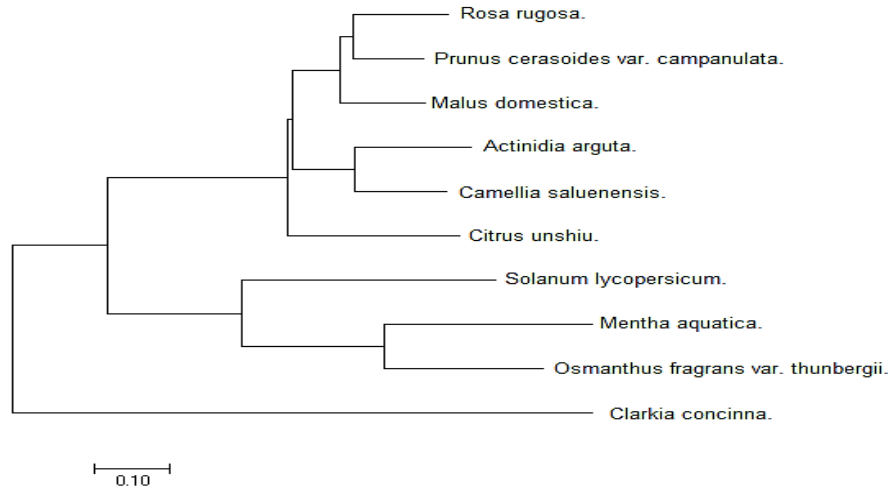
شکل ۱- دومین‌های حفظ شده لینالول سنتاز موجود در گیاه *Rosa rugosa*

H6UQ81	H6UQ81_ROSRU	92	FFVISQ--G-----TNTWLNLLKEVAKTIFENVQSLHONELVQSKWNKLEGLA	138
L017G3	L017G3_MALDO	233	FFVSSFGQT-----NRRWLNILQIVAKTDLRMVSLHOKVAVLSSKWNKLEGLA	281
A0A068B6C1	A0A068B6C1_9ROSA	242	FFATNSRGT-----NRRWLNILQIVAKTDFSMVSLHOKVAVLSSKWNKLEGLA	290
Q1XBUS	Q1XBUS_SOLLC	272	YI5IYE--R-----MSNANPLLELAKLDFMNVVATHQODRISKWNKLEGLA	318
A0A140KFH3	A0A140KFH3_9ERIC	240	FLSDDK--N-----PSEWENVLQELKGMDFMNVVATHQODRISKWNKLEGLA	296
A0A097ZLN9	A0A097ZLN9_CITUN	248	VFI5NFQGE-----RLLHVKELKGMDFMNVVATHQODRISKWNKLEGLA	294
D4N3A0	D4N3A0_ACTAR	239	FNYDCK--G-----QNGWNVNLELAKLDFMNVVATHQODRISKWNKLEGLA	285
C0KY88	C0KY88_9LAMI	240	FDMYKQD-----RHMNQVLELAKLDFMNVVATHQODRISKWNKLEGLA	288
Q9ZPN5	Q9ZPN5_CLACO	446	WEEIIASGALWFGKSSYLRLSCLHKNLQELKGMDFMNVVATHQODRISKWNKLEGLA	505
* * * * *				
H6UQ81	H6UQ81_ROSRU	139	VELKFAHQPLKQWYIWSMCLTDPKLSSEEVVELLHPISFYIYLDIDFDWYGHLELTP	198
L017G3	L017G3_MALDO	282	VELKFAHQPLKQWYIWSMCLTDPKLSSEEVVELLHPISFYIYLDIDFDWYGHLELTP	341
A0A068B6C1	A0A068B6C1_9ROSA	291	VELKFAHQPLKQWYIWSMCLTDPKLSSEEVVELLHPISFYIYLDIDFDWYGHLELTP	350
Q1XBUS	Q1XBUS_SOLLC	319	EKLPFSDILVENMFWAVLALFEPQHSYERLLIVVIVSIIIDIDFDWYGHLELTP	378
A0A140KFH3	A0A140KFH3_9ERIC	287	VELKFAHQPLKQWYIWSMCLTDPKLSSEEVVELLHPISFYIYLDIDFDWYGHLELTP	346
A0A097ZLN9	A0A097ZLN9_CITUN	295	EKLPFSDILVENMFWAVLALFEPQHSYERLLIVVIVSIIIDIDFDWYGHLELTP	354
D4N3A0	D4N3A0_ACTAR	286	VELKFAHQPLKQWYIWSMCLTDPKLSSEEVVELLHPISFYIYLDIDFDWYGHLELTP	345
C0KY88	C0KY88_9LAMI	289	EKLPFSDILVENMFWAVLALFEPQHSYERLLIVVIVSIIIDIDFDWYGHLELTP	348
Q9ZPN5	Q9ZPN5_CLACO	506	---MGFGREKTYGYYAFAAACLFLPWSSDVLLVLAARAVITVADDFWESMDDEKLL	564
* * * * *				
H6UQ81	H6UQ81_ROSRU	199	EAVNRWDITADHLPDYMZICLKLDDITNEFSYVYRRHGWNPLQKGMWASLCAHAF	258
L017G3	L017G3_MALDO	342	EAVNRWDITADHLPDYMZICLKLDDITNEFSYVYRRHGWNPLQKGMWASLCAHAF	401
A0A068B6C1	A0A068B6C1_9ROSA	351	EAVNRWDITADHLPDYMZICLKLDDITNEFSYVYRRHGWNPLQKGMWASLCAHAF	410
Q1XBUS	Q1XBUS_SOLLC	379	EAVNRWDITADHLPDYMZICLKLDDITNEFSYVYRRHGWNPLQKGMWASLCAHAF	438
A0A140KFH3	A0A140KFH3_9ERIC	347	EAVNRWDITADHLPDYMZICLKLDDITNEFSYVYRRHGWNPLQKGMWASLCAHAF	406
A0A097ZLN9	A0A097ZLN9_CITUN	355	EAVNRWDITADHLPDYMZICLKLDDITNEFSYVYRRHGWNPLQKGMWASLCAHAF	414
D4N3A0	D4N3A0_ACTAR	346	EAVNRWDITADHLPDYMZICLKLDDITNEFSYVYRRHGWNPLQKGMWASLCAHAF	405
C0KY88	C0KY88_9LAMI	349	EAVNRWDITADHLPDYMZICLKLDDITNEFSYVYRRHGWNPLQKGMWASLCAHAF	407
Q9ZPN5	Q9ZPN5_CLACO	565	DAVRRWDIAGELG---SHSKTIFFAADDLVNVRLLCFVNGQDIKNNLQQLNYITFHS	621
* * * * *				
H6UQ81	H6UQ81_ROSRU	259	VELKWFAS--GKLKSEEMKIKIVSSVIVVWVHFLFLGONLTKQNEVLNDLPAIIS	317
L017G3	L017G3_MALDO	402	VELKWFAS--GHLMAEAFMKGIISSVIVVWVHFLFLGEGINQSEFLNGDPAIIS	460
A0A068B6C1	A0A068B6C1_9ROSA	411	VELKWFAS--GHLKAEEDMKGIISSVIVVWVHFLFLGQGKQKSEFLNETPAIIS	469
Q1XBUS	Q1XBUS_SOLLC	439	QELKWFAS--GKPNLEMDKARISGVPVVLVHSLFLVINOIKFAVDSITNYPDIR	497
A0A140KFH3	A0A140KFH3_9ERIC	407	VELKWFAS--GHLKPEEEDMKGIISSVIVVWVHFLFLGHNITKQNLVNDNPGVITS	465
A0A097ZLN9	A0A097ZLN9_CITUN	415	VELKWFAS--GHMEAEAFMKGIISSVIVVWVHFLFLGHGKTEKTEVLDIGHPAIISS	473
D4N3A0	D4N3A0_ACTAR	406	VELKWFAS--GNLKAEMDKGIISS--MHVVLVHMFLLGGCTEESVNLVDEHAGITSS	464
C0KY88	C0KY88_9LAMI	408	KELKWFAS--GYTSLSEELMAGIISF--ATPVLVHVFVTLVSVSDKEVLECLYRTHNLLRY	466
Q9ZPN5	Q9ZPN5_CLACO	622	VELKWFAS--GKPNLEMDKARISGVPVVLVHSLFLVINOIKFAVDSITNYPDIR	681
* * * * *				
H6UQ81	H6UQ81_ROSRU	318	TATILRLWDLGSAKDENDQDSDGSSYVRCVLEQGGCSIEEAREKIVNMSDENWKLNRE	377
L017G3	L017G3_MALDO	461	TATILRLWDLGSAKDENDQDSDGSSYVRCVLEQGGCSIEEAREKIVNMSDENWKLNRE	520
A0A068B6C1	A0A068B6C1_9ROSA	470	TATILRLWDLGSAKDENDQDSDGSSYVRCVLEQGGCSIEEAREKIVNMSDENWKLNRE	529
Q1XBUS	Q1XBUS_SOLLC	498	SATILRLWDLGSSDELKRDSDVSKSQCMNE--GASEEELIHFIEFLIETWALNTA	556
A0A140KFH3	A0A140KFH3_9ERIC	466	TATILRLWDLGSAKDENDQDSDGSSYVRCVLEQGGCSIEEAREKIVNMSDENWKLNRE	525
A0A097ZLN9	A0A097ZLN9_CITUN	474	TATILRLWDLGSAKDENDQDSDGSSYVRCVLEQGGCSIEEAREKIVNMSDENWKLNRE	533
D4N3A0	D4N3A0_ACTAR	465	TATILRLWDLGSAKDENDQDSDGSSYVRCVLEQGGCSIEEAREKIVNMSDENWKLNRE	524
C0KY88	C0KY88_9LAMI	467	VGMVVRITDIDSSSGMNRDELMTELEWKE--SAREEAGQHRIRFLKIKVQKNEK	525
Q9ZPN5	Q9ZPN5_CLACO	682	LMVILRLWDLGSAKDENDQDSDGSSYVRCVLEQGGCSIEEAREKIVNMSDENWKLNRE	740
* * * * *				

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



شکل ۳- قسمتی از نواحی حفظ شده حاصل از هم‌ردیفی توالی‌های لینالول سنتاز در گیاهان مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار CLC Genomics Workbench 5.5.2



شکل ۴- درخت فیلوژنی مربوط به پروتئین لینالول سنتاز در گیاه *Rosa rugosa* و چند گیاه دیگر

جدول ۱- خصوصیات مهم لینالول سنتاز (طول برحسب اسیدآمینه و وزن برحسب کیلو دالتن می‌باشد)

نام گونه	طول	وزن	نقطه ایزوالکتریک	شاخص آلیفاتیک
<i>Rosa rugosa</i>	۴۲۸	۴۹	۵/۸۷	۹۰/۶۷۸
<i>Malus domestica</i>	۵۶۷	۶۴/۶۰۷	۵/۹۴	۸۷/۳۷۲
<i>Citrus ushiu</i>	۵۸۸	۶۷/۳۹	۶/۷۴	۸۶/۱۲۲
<i>Camellia saluenensis</i>	۵۷۵	۶۶/۰۶۷	۶/۲۸	۸۴/۶۰۹
<i>Actinidia arguta</i>	۵۷۴	۶۶/۱۱۹	۵/۸۶	۸۱/۹۱۶
<i>Mentha aquatica</i>	۶۰۶	۷۰/۵۳۴	۵/۸۳	۸۹/۸۱۸
<i>Prunus cerasoides</i>	۵۶۱	۶۴/۵۲۶	۵/۶۳	۹۰/۰۷۱
<i>Clarkia concinna</i>	۸۷۱	۹۹/۵۸۷	۶/۸۵	۸۹/۲۰۸
<i>Osmanthus fragrans</i>	۵۷۶	۶۷/۲۹۲	۵/۵	۸۶/۸۵۸
<i>Solanum lycopersicum</i>	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.
- Alyasyr, M., Majidi, 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. (1998).** Structure and evolution of linalool synthase. *Molecular Biology and Evolution*, 15(11): 1491-1498.
- 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 Moradi²

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 ۵/۵/۷ 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

