



Shahid Bahonar
University of Kerman



Iranian
Biotechnology Society

Bioinformatics study of LEA proteins involved in tolerance to drought stress in barley (*Hordium vulgare* L.) and rice (*Oryza sativa* L.)

Maryam Abdoli Nasab 

*Corresponding author: Assistant Professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. Email: m.abdolinasab@kgut.ac.ir

Mojtaba Mortezaei 

Assistant professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. Email: mortezavimm@gmail.com

Abstract

Objective

Late embryonic accumulating proteins (LEAs) are proteins that involved in reducing Cellular injuries associated with dehydration and preventing cellular proteins from aggregation due to osmotic stress and freezing. Increased expression of some genes encoding these proteins has led to increased resistance to stresses such as dehydration, cold and salinity in many plants. Analysis of biological data with the using of bioinformatics tools plays an important role in the study of genes and proteins and predicts their function in response to the stress.

Materials and methods

In this study, in order to study of LEA proteins in two important grasses (tolerant and sensitive to drought), the interest sequences are obtained from different data bases and the phylogeny tree are drawn using ClustalW software. After the investigation of classes in different groups, the short sequences deleted and some sequences were selected. The information about sequence characteristics, their motifs, prediction of intracellular location, analysis of hydrogen and non-hydrogen bands and prediction of biological process and molecular activity obtained using ProtParam, EXPASY, MEME and SMART, Wolf PSORT, PIC, WHAT IF databases and

Blast2GO software. The 3D structure of these proteins was modeled using Discovery studio, HyperChem, MODELLER v10 and SPDBV software.

Results

The results were grouped the proteins into seven distinct groups with the highest number of sequences in dehydrin group. Most proteins had small size with less than 30 kDa. Also, the most sequences showed high surface charge, because of their hydrophilicity and flexible structure to form a chaperone structure to protect the cell membrane from stress. The study of intracellular location showed that most of proteins are located in the cell nucleus. Also, the motif study demonstrated the conserved sequences among members of the same group. The prediction of molecular activity and biology indicated the role of these proteins in the tolerance to the stress including drought and protein folding through bindings or catalytic activity.

Conclusions

Barley as a stress-resistant plant mainly involved the dehydrin sequences and rice as a stress-sensitive plant mainly contains the LEA4 and LEA2 sequences.

Keywords: Barley, Bioinformatics studies, LEA proteins, Rice, Stress.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Abdoli Nasab M, Mortazavi M (2021) Bioinformatics study of LEA proteins involved in tolerance to drought stress in barley (*Hordium vulgare* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *Agricultural Biotechnology Journal* 13 (1), 159-182.

Agricultural Biotechnology Journal 13 (1), 159-182. DOI: 10.22103/jab.2021.15483.1208

Received: February 11, 2021.

Accepted: March 11, 2021.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant




Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian
Biotechnology Society.

© the authors


مطالعه بیوانفورماتیک پروتئین‌های LEA در گبر در تحمل به تنش خشکی در جو

(*Oryza sativa* L.) و برنج (*Hordum vulgare* L.)

مریم عبدلی نسب 

*نویسنده مسئول: استادیار گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی

صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران. رایانامه: m.abdolinasab@kgut.ac.ir

مجتبی مرتضوی 

استادیار گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری

پیشرفته، کرمان، ایران. رایانامه: mortezavimm@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۳

چکیده

هدف: پروتئین‌های تجمع‌کننده در اواخر دوره جنینی (LEA) در کاهش صدمات سلولی در هنگام کمبود آب و جلوگیری از توده‌ای شدن پروتئین‌های سلول در اثر تنش اسمزی و انجماد نقش دارند. افزایش بیان برخی ژن‌های کد کننده این پروتئین‌ها منجر به افزایش مقاومت به تنش‌هایی چون کم‌آبی، سرما و شوری در بسیاری از گیاهان شده است. تحلیل داده‌های زیستی با کمک ابزارهای بیوانفورماتیک، نقش مهمی در بررسی ژن‌ها و پروتئین‌ها و پیشگویی کارکرد آنها در پاسخ به تنش‌ها دارد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق به منظور مطالعه پروتئین‌های LEA در دو غله مهم جو و برنج (متحمل و حساس به تنش)، توالی‌های مذکور از پایگاه‌های اطلاعاتی استخراج و با نرم‌افزار ClustalW درخت فیلوژنی رسم شد. پس از بررسی کلاس‌های مختلف LEA در گروه‌های حاصله، پروتئین‌ها با طول کوتاه حذف و تعدادی از پروتئین‌های مختلف مربوط به کلاس‌های پروتئینی متفاوت انتخاب گردید. اطلاعات مربوط به خصوصیات توالی‌ها، موتیف آنها، پیش‌بینی جایگاه درون سلولی و آنالیز باندهای هیدروژنی و غیر هیدروژنی و بررسی فعالیت بیولوژیکی و مولکولی با استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی ProtParam، EXPASY، MEME، SMART، WoLF PSORT، WHAT IF، PIC و نرم‌افزار Blast2GO به دست آمد. ساختار سه بعدی این پروتئین‌ها با استفاده از نرم‌افزار Discovery Studio، HyperChem، MODELLER v.10، SPDBV مدل‌سازی گردید.

نتایج: گروه‌بندی پروتئین‌ها را در هفت گروه مجزا قرار داد که دهیدرین‌ها بیشترین تعداد توالی را در بر گرفتند. اکثر پروتئین‌ها کوچک بوده و دارای وزن مولکولی کمتر از ۳۰ کیلودالتون می‌باشد. همچنین عموم توالی‌ها دارای بار سطحی بالا می‌باشند که دلیلی بر آب‌دوستی و ساختار قابل انعطاف آنها جهت تشکیل ساختار چپرونی برای محافظت در برابر تنش می‌باشد. جایگاه درون سلولی آنها نشان داد که این پروتئین‌ها در محل هسته سلول قرار دارند. بر سی موتیف‌ها در گروه‌های مختلف نشانگر حضور مکان‌های حفاظت شده در بین اعضای یک گروه می‌باشد. پیش‌بینی فعالیت مولکولی و بیولوژی توالی‌ها، بیانگر نقش این پروتئین‌ها به تفکیک گروه‌های حاصله در مقاومت به تنش‌ها از جمله تنش خشکی و فولدینگ از طریق فعالیت بایندینگ و یا کاتالیک می‌باشد.

نتیجه‌گیری: گیاه جو به عنوان گیاه مقاوم به تنش عمدتاً دارای توالی‌های دهیدرین و گیاه برنج به عنوان گیاه حساس به تنش عمدتاً توالی‌های LEA4 و LEA2 را در بر دارند.

کلیدواژه‌ها: برنج، پروتئین‌های LEA، تنش، جو، مطالعات بیوانفورماتیک.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: عبدلی نسب مریم، مرتضوی مجتبی (۱۴۰۰) مطالعه بیوانفورماتیک پروتئین‌های LEA درگیر در تحمل به تنش خشکی در جو (*Hordum vulgare* L.) و برنج (*Oryza sativa* L.). مجله بیوتکنولوژی کشاورزی،

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant



Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian
Biotechnology Society.

© the authors

مقدمه

در اواخر دهه ۸۰ میلادی مطالعات و بررسی‌های به عمل آمده روشن نمود که مکانیسم‌های مولکولی در زمره مهم‌ترین فرایندهای ژنتیکی (مشمول بر همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها) هستند (Mohammadabadi and Tohidinejad 2017). نیاز به بیان ژن توسط محیطی که در آن رشد می‌کند کنترل می‌شود و در صورت عدم نیاز به فرآورده ژن، آن ژن به صورت خاموش و غیرفعال باقی خواهد ماند (Ahsani et al. 2019). اطلاعات به دست آمده از تحلیل داده‌های زیستی به وسیله علم بیوانفورماتیک، در به خط کردن توالی‌ها در بانک‌های اطلاعاتی برای یافتن شباهت‌ها و تفاوت‌های ژنی، پیش‌گویی ساختار و عمل‌کرد محصولات ژن‌ها و یافتن ارتباط فیلوژنتیک میان ژن‌ها و توالی‌های پروتئینی کمک می‌کند (Hadizadeh et al., 2013; Hadizadeh et al., 2014).

خشکی یکی از عوامل محدودکننده مهم محیطی است که تولید و عملکرد گیاهان زراعی را در بسیاری از مناطق خشک و نیمه‌خشک مانند ایران تحت تأثیر قرار می‌دهد (Allagulova et al. 2003). مقاومت به خشکی صفت پیچیده‌ای است که بروز آن به عمل و عکس‌العمل میان صفات مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بستگی دارد. یک گروه بزرگ از ژن‌هایی که توسط تنش تنظیم می‌شوند با آزمایش جنین‌هایی که در خلال رسیدگی دانه به صورت طبیعی خشک می‌شوند، کشف شده است. این ژن‌ها پروتئین‌های معروف به پروتئین‌های LEA^۱ (پروتئین‌های فراوان در مراحل پایانی جنین‌زایی) را رمزسازی می‌کنند و انتظار می‌رود که در محافظت از غشای سلول ایفای نقش نمایند (Battaglia & Covarrubias 2013). پروتئین‌های LEA خانواده بزرگ و متنوعی در سراسر سلسله گیاهی هستند (Gao et al. 2016). خانواده‌های ژنی LEA در چندین محصول از جمله برنج و ذرت و برخی بی‌مهرگان و میکروارگانیسم‌ها شناسایی شده‌اند (Sasaki et al. 2014). پروتئین‌های LEA با وزن مولکولی کم دارای اسیدهای آمینه هیدروفیلی بوده و با موتیف‌های تکراری، ساختاری بی‌نظم در شکل طبیعی تشکیل می‌دهند. پروتئین‌های LEA به حداقل هشت خانواده در پایگاه داده Pfam بر اساس توالی اولیه و همولوگ طبقه‌بندی می‌شوند: LEA-1، LEA-2، LEA-3، LEA-4، LEA-5، LEA-6، PVLEA18^۲ و SMPO^۳ (Cuming et al. 1979; Dure et al. 1989; Ingram & Bartels 1996). پروتئین‌های گروه ۱ یا ده‌دین‌ها دسته‌ای از پروتئین‌های LEA هستند که بهترین و بیشترین مطالعات بر روی آنها صورت گرفته است. حاوی ۲۰ آمینواسید (RKEQ [L/M] G [T/E] EGY [Q/K] EMGRKGG) ([L/E]) می‌باشند (Amara et al. 2014) و پیش‌بینی می‌شود که از یک مارپیچ آلفای آمفی‌پاتیکی، یک قطعه متصل به باقیمانده سرین و یک موتیف حفاظت‌شده که حاوی توالی DGYGNP در بخش N ترمینال خود است، تشکیل شده باشد (Close et al. 1993; Dure 1993). گروه LEA-2 حاوی یک توالی به نام K-segment (EKKGIMDKIKEKLP) می‌باشند که به عنوان چپرون برای محافظت از پروتئین‌ها در متابولیسم سلول عمل می‌کنند. پروتئین‌های LEA-3 حاوی یک قطعه ۱۱ آمینواسید (TAQ [A/S] AK [D/E] KT[S/Q] E) با ۱۳ تکرار می‌باشند. گروه LEA-4 شامل هیچ دنباله‌ای از تکرار موتیف نیست، اما دارای ساختار محافظت‌شده در انتهای N است که می‌تواند ساختار مارپیچ آلفا^۴ را شکل دهد. همولوژی باقیمانده آمینواسیدها پروتئین‌های گروه LEA-5 کم است، که نشان می‌دهد که این پروتئین‌ها احتمالاً در رسیدگی و بلوغ بذور در شرایط کم آبی دخیل هستند (Amara et al. 2014). آنالیز تجمع درون سلولی نشان می‌دهد که پروتئین‌های LEA عمدتاً در مناطق هسته‌ای و سیتوپلاسم قرار دارند (Zhang et al. 2002). اگر چه عمدتاً در دانه‌های گیاهی مشاهده می‌شوند، اما در نهال‌ها، جوانه و ریشه گیاهان نیز شناسایی شده‌اند و در مقایسه با دیگر پروتئین‌های درگیر در تحمل به خشکی، هیچ فعالیت آنزیمی ظاهری نداشته و احتمالاً به عنوان محافظ بیومولکول‌ها و غشاها عمل می‌کنند (Chen et al. 2002). برخی مطالعات نشان داده است که پروتئین‌های

1. Late Embryogenesis Abundant Proteins
2. *Phaseolus vulgaris* LEA
3. Seed maturation protein
4. α -helical

LEA مشخصی تحت شرایط استرس به عنوان محافظ آنزیمها از تجمع القا شده عمل می‌کنند، این حفاظت ممکن است به دلیل پر شدن فضای خالی توسط پروتئین‌های LEA باشد که تحت عنوان پوشش محافظ مولکولی عملکردی نامیده شده و میزان برخورد بین پروتئین‌های رسوب شده را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، پروتئین‌های LEA به جداسازی یون‌های کلسیم و فلز (که در مسیرهای سیگنالینگ در گیاهان شرکت می‌کنند) (Krüger et al. 2002) و یا به شکل‌گیری حالت شیشه‌ای (Shimizu, et al. 2010) کمک می‌کنند. این یافته‌ها حاکی از آن است که پروتئین LEA در حفاظت از گیاهان از کم آبی نقش مهمی ایفا می‌کنند (Liabg et al. 2016). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که غلات نسبت به سایر گیاهان در برابر خشکسالی مقاوم‌تر هستند. در بررسی تجزیه و تحلیل ژنومی ۳۰ توالی پروتئینی LEA در آلوچینی (*Prunus mume*) نشان داده شد که ژن‌های مربوطه بر روی همه کروموزوم‌ها به جز کروموزوم شماره ۳ توزیع یافته و به هشت خانواده (LEA1, LEA2, LEA3, LEA4, LEA5, PvLEA18, SMPO, و دهیدرین) گروه‌بندی شدند. بیش از ۷۰ درصد توالی‌ها به گروه دهیدرین تعلق داشتند (Du et al. 2013). در بررسی پروتئین‌های LEA در سیب‌زمینی، تجزیه و تحلیل فیلوژنی، توالی‌های مربوطه را در نه گروه مجزا قرار داد. برخی از این پروتئین‌ها به عنوان ارتولوگ پروتئین‌های LEA برنج و آراییدوپسیس شناخته شدند (Charfeddine et al. 2015). در بررسی دومن پاسخ به تنش و واکنش فوق حساسیت (WHY)^۵ مشخص شد که دومن مذکور در گروه پروتئین‌های LEA-2 در گیاهان و باکتری‌ها حضور داشته که القای مقاومت در برابر تنش‌های غیرزنده و زنده را باعث می‌گردد (Mertense et al. 2018). تجزیه و تحلیل ژنومی پنجاه و سه توالی پروتئین‌های LEA در صنوبر کالیفرنایی (*Populus trichocarpa*) آنها را در هشت گروه قرار داد که اکثریت دارای موتیف‌های تکراری خاص پروتئین‌های LEA می‌باشند. به جز گروه LEA2-1 و LEA2-3 مابقی هیدروفیل بودند. در بررسی ۲۴۲ توالی ژنی LEA در پنبه نشان داده شد که این ژن‌ها دارای اینترون کم بوده و در سرتاسر کروموزوم‌ها توزیع شده‌اند. آنالیز آنتولوژی ژنی^۶ نشان داد که ژن‌های مربوطه در مقاومت به تنش و پاسخ‌های دفاعی مرتبط دخیل می‌باشند و اکثریت در پروموتورشان دارای توالی‌های ABRE، MBS، W-BOX و عناصر TAC می‌باشند که از لحاظ کارکردی در مقاومت به تنش خشکی نقش دارند (Magwanga et al. 2018).

با توجه به ناشناخته بودن مکانیسم القای مقاومت توسط پروتئین‌های LEA، مطالعه ساختاری و دومن‌های عملکردی این پروتئین‌ها در گونه‌های مقاوم و حساس به خشکی و بررسی تفاوت بین آنها پنجره‌ای را در خصوص شناسایی مکانیسم و القای مقاومت توسط این پروتئین‌ها و انتقال ژن‌ها مربوطه از طریق مهندسی ژنتیک فراهم خواهد کرد. از جمله مهم‌ترین غلات می‌توان به جو و برنج اشاره کرد که برای تغذیه جمعیت جهانی از اهمیت بالایی برخوردار هستند. گیاه جو با داشتن تحمل نسبی در برابر خشکی، نسبت به سایر غلات در مناطقی با کمبود بارندگی و سایر محدودیت‌های خاک قادر به رشد و تولید محصول می‌باشد. در مطالعه

⁵. Water Stress and Hypersensitive response (WHY) domain

⁶. Gene ontology

حاضر ساختار و عملکرد گروه‌های مختلف پروتئین‌های LEA دو گیاه مقاوم و حساس به خشکی (جو و برنج) بررسی و مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

توالی نوکلئوتیدی و پروتئینی تعداد ۶۲ توالی مربوط به پروتئین‌های LEA در گیاه جو (*Hordeum vulgare*)، ۱۲ توالی گیاه برنج زیرگونه هندی (*Oryza sativa indica*) و ۲۰ توالی گیاه برنج زیر گونه ژاپنی (*Oryza sativa japonica*) از پایگاه‌های اطلاعاتی NCBI و UNIPROT دریافت گردید و با استفاده از نرم افزار ClustalW گروه‌بندی شد. از گروه‌های حاصله مربوط به یک کلاس پروتئینی LEA، تعدادی توالی انتخاب و جهت ادامه کار با استفاده از نرم افزار MEGA7 گروه‌بندی گردید. تعداد آمینواسید، وزن مولکولی، شاخص PI، شاخص بی‌ثباتی^۷ به منظور تعیین ثبات پروتئین، تعداد و ترکیب اتمی آمینواسیدها، نیمه‌عمر پروتئین^۸ میانگین میزان هیدروپاتیسیته^۹ (GRAVY) و شاخص آلیفاتیک^{۱۰} در ProtParam و سایت EXPASY محاسبه گردید. با استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی MEME و SMART اطلاعات مربوط به موتیف‌ها به دست آمد. پیش‌بینی موقعیت مکانی پروتئین‌ها درون سلول با استفاده از پایگاه اطلاعاتی WoLF PSORT تخمین زده شد. آنالیز باندهای هیدروژنی و غیرهیدروژنی با استفاده از نرم‌افزارهای PIC و WHAT IF انجام گرفت. جهت تعیین ساختار پروتئین‌ها از پایگاه‌های اطلاعاتی SWISS-MODEL و I-TASSER و جهت مشاهده مدل ساختاری از نرم‌افزارهای PYMOL و SPDBV استفاده گردید. پیش‌بینی فعالیت بیولوژیکی و مولکولی پروتئین‌ها با نرم افزار Blast2GO 5.2 انجام شد.

نتایج و بحث

گروه‌بندی توالی‌ها: در گروه‌بندی توالی‌های مربوط به گیاه جو تعداد ۱۳ گروه تشخیص داده شد (شکل a۱). در بررسی گروه‌های حاصل مشخص گردید توالی‌های قرار گرفته در یک گروه مشابهت زیادی از نظر کلاس پروتئینی LEA دارند. در نهایت تعداد ۳۲ توالی از گروه‌های حاصل جهت ادامه کار انتخاب گردید. در گروه‌بندی توالی پروتئین‌های مربوط به گونه‌های برنج هندی (*Oryza sativa indica*) تعداد چهار گروه تشکیل شد (شکل b۱) که تعداد پنج توالی به عنوان نماینده گروه‌ها جهت ادامه کار انتخاب گردید. در گروه‌بندی توالی‌های مربوط به گونه‌های برنج ژاپنی (*Oryza sativa japonica*) تعداد پنج گروه تشکیل (شکل

7. instability index (II)

8. Half life

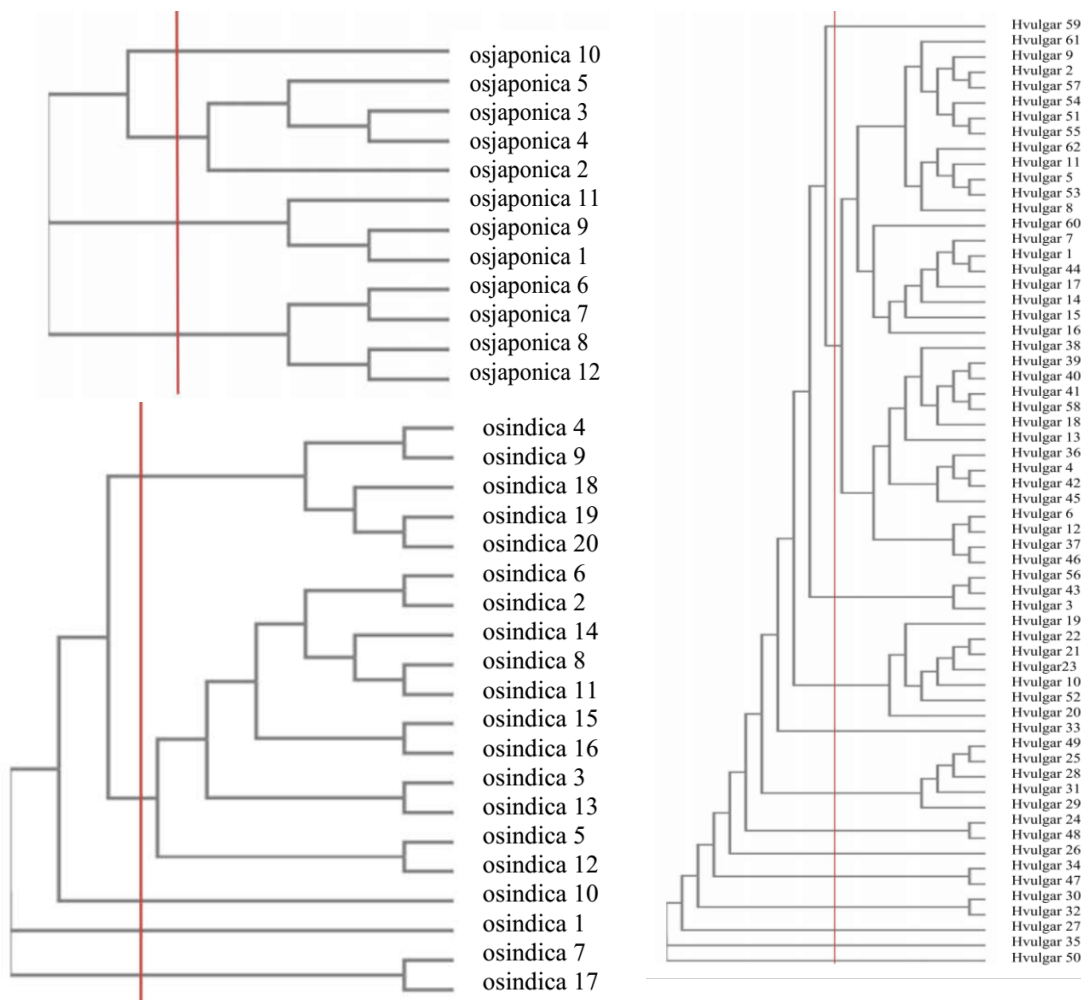
9. Grand average of hydropathicity

10. Aliphatic index

(c) و از گروه‌های حاصل تعداد ۱۰ توالی جهت ادامه کار انتخاب گردید. نتایج گروه‌بندی توالی‌های انتخاب نشان دادند که پروتئین‌های گروه‌های مشابه LEA با کمترین اختلاف در یک گروه واقع شدند (شکل ۲). درخت کلاستر از محل بیشترین فاصله بین گروه‌ها برش داده شد (Everitt et al. 2011). بر اساس گروه‌بندی پروتئین‌های LEA (Hundermark & Hinch 2018)، خانواده دهیدرین‌ها (کلاس ۱ تا ۴) بیشترین توالی، SMPO و PVLEA18 با دو عضو کمترین تعداد توالی را در بر گرفتند. در بین دهیدرین‌ها کلاس یک بیشترین و کلاس سه کمترین تعداد توالی را شامل شدند. بیش از ۸۵ درصد توالی‌های پروتئینی مطالعه شده در جو در گروه دهیدرین‌ها و ۱۲/۵ درصد در گروه LEA-5 قرار گرفتند. دو توالی PVLEA18 در برنج زیرگروه هندی و ژاپنی و توالی SMPO در برنج زیر گروه ژاپنی واقع شدند.

مشخصات توالی‌های انتخاب شده: بر اساس داده‌های حاصل از پایگاه‌های اطلاعاتی اطلاعات مربوط به توالی‌های انتخابی از جمله شماره پروتئین، شناسه ثبت شده توالی پروتئین و توالی نوکلئوتیدی مربوطه در پایگاه اطلاعاتی NCBI، نوع و کلاس پروتئین و تعداد آمینواسید بر اساس داده‌های پایگاه‌های اطلاعاتی به دست آمد (جدول ۱). همچنین وزن مولکولی^{۱۱}، نقطه ایزوالکتریک محاسبه شده^{۱۲}، تعداد آمینواسیدهای با بار مثبت^{۱۳}، تعداد آمینواسیدهای با بار منفی^{۱۴}، شاخص ناپایداری^{۱۵}، شاخص آلفاتیک^{۱۶}، بیشترین میزان آب‌گریزی (GRAVY)^{۱۷}، تعداد دومن‌های پیش‌بینی شده با قطعیت^{۱۸}، تعداد دومن‌هایی که در پاسخ به تنش آبی و واکنش فوق حساسیت (WHY) نقش دارند و جایگاه ذخیره درون سلولی پروتئین^{۱۹} از پایگاه‌های اطلاعاتی مختلف استخراج و در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد اکثر پروتئین‌ها (۶۹/۸۷ درصد) کوچک بوده و دارای وزن مولکولی کمتر از ۳۰ کیلودالتون می‌باشد. کمترین وزن مولکولی در پروتئین‌های خانواده LEA-5، LEA-3 و PVLEA18 و بیشترین وزن مولکولی در دهیدرین‌ها مشاهده گردید. بار خالص پروتئین در هر pH مشخص با مقادیر pK گروه‌های یونیزه شده تعیین می‌شود. بار خالص پروتئین در نقطه ایزوالکتریک (pI) صفر، در pH های زیر pI مثبت و در pH بالاتر از pI منفی است. پروتئین‌ها کمترین حالیت را در نزدیکی pI خود دارند. دانستن pI یک پروتئین برای کار با پروتئین‌های گیاهی و طراحی آزمایش‌هایی که در آن حالیت پروتئین یک عامل حیاتی است، بسیار مفید می‌باشد (Righetti et al. 1981). تقریباً ۵۰ درصد توالی‌ها دارای $PI < 7$ می‌باشند که از جمله گروه‌های پروتئینی LEA-5، LEA-2، PVLEA18 و SMPO را شامل می‌گردد.

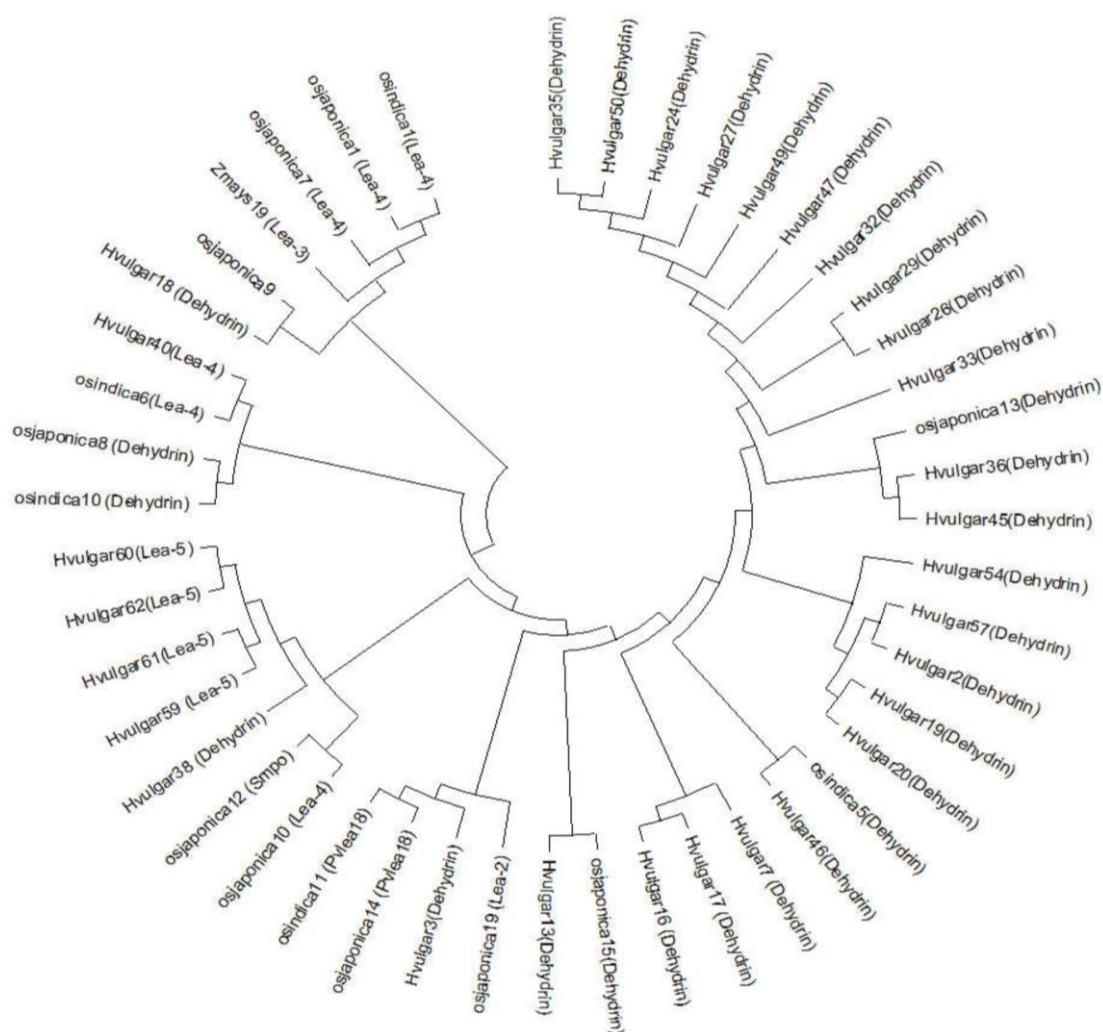
11. Molecular weight
12. Theoretical pI
13. Total number of positively charged residues
14. Total number of negatively charged residues
15. Instability index
16. Aliphatic index
17. Grand average of hydropathicity (GRAVY)
18. Confidently predicted domains (CFD)
19. Protein Subcellular Localization Prediction



شکل ۱. دندروگرام حاصل از گروه‌بندی به ترتیب ۶۲، ۱۲ و ۲۰ توالی مربوط به پروتئین‌های LEA در جو، برنج هندی و برنج ژاپنی

Figure 1. Dendrogram derived of grouping for 62, 12 and 20 LEA protein sequences in barley, Indian and Japanese rice, respectively.

محاسبه شاخص پایداری پروتئین‌ها نشان داد که بیش از ۸۷ درصد توالی‌های مورد مطالعه دارای مقدار شاخص پایداری بالای ۴۰ بوده و به نظر می‌رسد که ساختار پایدار داشته باشند. ارزیابی میانگین آب‌گریزی توالی پروتئین با مجموع میزان آب‌گریزی آمینواسیدهای موجود در توالی مشخص می‌گردد. مثبت بودن این شاخص نشان‌دهنده هیدروفیل بودن پروتئین می‌باشد. نتایج ما با نتایج Liang et al. (2016) در بررسی توالی‌های LEA مربوط به کلزا و Hundertmark et al. (2008) در بررسی توالی‌های LEA مربوط به آرابیدوسیس مطابقت دارد. اکثر پروتئین‌ها هیدروفیل هستند در این بین پروتئین‌های گروه LEA-5 و برخی دهیدرین‌ها با میزان GRAVY منفی‌تر هیدروفیلی بیشتری نشان دادند.



شکل ۲. دندروگرام حاصل از گروه‌بندی توالی‌های انتخاب شده مربوط به پروتئین‌های LEA در غلات مورد مطالعه

Figure 2. Dendrogram derived of grouping selected LEA protein sequences in studied cereals.

مطالعات Liang et al. (2016) و Hundertmark et al. (2008) نشان می‌دهد که پروتئین‌های گروه LEA-5 هیدروفیلی بیشتری دارند. نتایج نشان می‌دهد اکثریت قریب به اتفاق توالی‌ها دارای بار سطحی بالا می‌باشند که دلیلی بر آب‌دوستی و ساختار قابل انعطاف آنها می‌باشد. از جمله تشکیل ساختار چپرونی برای محافظت در برابر تنش خشکی (Liang et al. 2016). نتایج حاصل از WoLF PSORT برای پیش‌بینی جایگاه درون سلولی پروتئین‌های LEA مورد مطالعه نشان داد اکثریت این پروتئین‌ها در محل هسته سلول قرار دارند.

بررسی موتیف‌ها در گروه‌های پروتئینی مورد مطالعه: بررسی موتیف‌ها در گروه‌های مختلف پروتئینی نشانگر حضور مکان‌های حفاظت‌شده در بین اعضای یک گروه می‌باشد. در گروه دهیدرین‌ها تعداد سه موتیف مشاهده گردید. در اکثر توالی‌ها هر سه موتیف مشاهده گردید. در برخی توالی‌های جو دو و یا یک موتیف مشاهده گردید. در گروه توالی‌های LEA2 تعداد دو موتیف، در گروه توالی‌های LEA4، LEA5 و PvLEA تعداد سه موتیف مشاهده گردید. در گروه توالی‌های SMPO و LEA3 موتیف مشاهده نگردید (شکل ۳).

نتایج حاصل از آنالوژی ژن‌ها: پیش‌بینی اجزای سلولی پروتئین‌های گروه دهیدرین نشان داد که ۲۸ درصد در سلول، ۲۸ درصد در اجزای سلولی، ۲۵ درصد در غشا، ۸ درصد در ارگانل، ۸ درصد در اجزای ارگانل و ۳ درصد در اجزای غشا درگیر هستند. پیش‌بینی فعالیت مولکولی آن‌ها نشان داد که ۶۷ درصد در بایندینگ و ۳۳ درصد در فعالیت کاتالیکی دخالت دارند که شامل ۲۰ درصد فسفاتیدیل گلیسرول بایندینگ، ۲۰ درصد فسفاتیدیک اسید بایندینگ، ۲۰ درصد فسفاتیدیل اینوزیتول بایندینگ، ۲۰ درصد فسفاتیدیل سرین بایندینگ، ۱۰ درصد فعالیت اکسیدوردوکتاز و ۱۰ درصد فعالیت دی سولفید ایزومرازی دارند. پیش‌بینی فعالیت بیولوژی این پروتئین‌ها نشان داد که ۳۳ درصد در پاسخ به کمبود آب، ۳۳ درصد در سازگاری به سرما و ۳۳ درصد در پاسخ به آبسیزیک اسید نقش دارند (شکل ۴).

پیش‌بینی اجزای سلولی پروتئین‌های گروه LEA-2 نشان داد که ۵۰ درصد توالی‌ها در سلول و ۵۰ درصد در اجزای سلولی درگیر هستند. پیش‌بینی فعالیت مولکولی آنها نشان داد ۳۳ درصد در کوئین بایندینگ، ۳۳ درصد در بایندینگ یون مس و ۳۳ درصد فعالیت آمین اکسیدازی اولیه دارند. پیش‌بینی فعالیت بیولوژی این پروتئین‌ها نشان داد که ۵۰ درصد پروتئین‌ها در پاسخ به خشکی، ۲۵ درصد در فرایند متابولیکی آمین و ۲۵ درصد در اکسیداسیون-احیا نقش دارند (شکل ۵).

پیش‌بینی اجزای سلولی پروتئین‌های گروه LEA-3 نشان داد که همه توالی‌ها در میتوکندری درگیر هستند. اما پیش‌بینی خاصی از فعالیت مولکولی و فعالیت بیولوژی این پروتئین‌ها داده نشد (شکل ۶).

پیش‌بینی اجزای سلولی پروتئین‌های گروه LEA-4 نشان داد که ۳۱ درصد توالی‌ها در اجزای سلول، ۳۱ درصد در ارگانل، ۳۱ درصد در سلول و ۶ درصد در غشا درگیر هستند. پیش‌بینی فعالیت بیولوژی این پروتئین‌ها نشان داد که ۳۳ درصد پروتئین‌ها در پاسخ به انجماد، ۳۳ درصد در تنظیم مثبت پاسخ به تنش شوری و ۳۳ درصد در تنظیم مثبت پاسخ به کمبود آب نقش دارند. اما پیش‌بینی خاصی از فعالیت مولکولی این پروتئین‌ها داده نشد (شکل ۷).

جدول ۱. معرفی توالی‌های LEA مورد مطالعه (نام گونه و خانواده، شماره دسترسی پروتئین و نوکلئوتید، کلاس و نوع پروتئین و تعداد اسید آمینه)

Table 1. Introduction of the studied LEA sequences (species and family name, protein and nucleotide accession number, class and type of protein and amino acid number)

گونه Species	خانواده Family	نام عمومی Common name	شماره پروتئین Protein no.	شماره دسترسی نوکلئوتید Nucleotid Accession no	شماره دسترسی پروتئین Proteins Accession no.	شماره کلاس LEA Class no. LEAPdb (2010)	شماره کلاس LEA class no. Hundermark and Hinch (2008)	تعداد اسید آمین AA number
<i>Oryza sativa Japonica</i>	Poaceae	Rice	9	AP005172.4	BAC83841	8	LEA-2	368
			19	-----	NP_001043619	7	LEA-2	180
			14	AP008215.2	BAH94621	12	PVLEA18	112
			8	EF444534.1	ABS44866	2	Dehydrin	292
			15	-----	DH16B_ORYSJ	1	Dehydrin	164
			13	AP008217.2	BAF28201	1	Dehydrin	326
			12	AP008217	BAD61548	11	SMPO	277
			10	AP003506	BAD19162	6	LEA-4	471
			1	AP004018	A3AHG5	6	LEA-4	344
			7	---A3AHG5	ABF94178	6	LEA-4	400
<i>Oryza sativa Indica</i>	Poaceae	Rice	1	AP004018	A3AHG5	6	LEA-4	344
			7	---A3AHG5	ABF94178	6	LEA-4	400
			1	AP004018	A2XG55	6	LEA-4	299
			5	-----	A2ZDX9	1	Dehydrin	172
			11	-----	EAZ09524	12	PVLEA18	112
			10	CM000127.1	EAY87014	2	Dehydrin	333
			6	KX219625.1	APU66353	6	LEA-4	215
			5	AJ890140.1	CAI65404	2	Dehydrin	285
			5	AF043093.1	AAD02259	2	Dehydrin	153
			8	AF155129.1	AAD38400	2	Dehydrin	255
<i>Hordeum vulgare</i>	Poaceae	Barley	60	-----	Q02400	5	LEA-5	141
			7	AF043096.1	AAD02262	4	Dehydrin	133
			17	AY349246.1	AAQ55346	4	Dehydrin	574
			16	AY349240.1	AAQ55340	4	Dehydrin	333
			38	EF535810.1	ABS85196	4	Dehydrin	333
			40	FJ026802.1	ACH89911	6	LEA-4	518
			18	AY681974.1	AAT81473	3	Dehydrin	214
			13	AF181461.1	AAF01699	1	Dehydrin	107
			36	DQ885460.1	ABI34704	1	Dehydrin	232
			45	-----	Q9SPA6	1	Dehydrin	507
			46	KC963063.1	AGT62685	1	Dehydrin	486
			3	AF043089.1	AAD02255	1	Dehydrin	146
			19	AY895881.1	AAX14177	1	Dehydrin	155
			20	AY895883.1	AAX14179	1	Dehydrin	222
			33	AY895927.1	AAX14222	1	Dehydrin	222
			49	KC963091.1	AGT62713	1	Dehydrin	183
			29	AY895913.1	AAX14208	1	Dehydrin	191
			24	AY895905.1	AAX14200	1	Dehydrin	184
			26	AY895908.1	AAX14203	1	Dehydrin	191
			47	KC963088.1	AGT62710	1	Dehydrin	181
32	AY895925.1	AAX14220	1	Dehydrin	191			
27	AY895909.1	AAX14204	1	Dehydrin	194			
35	AY895929.1	AAX14224	1	Dehydrin	191			
50	KC963093.1	AGT62715	1	Dehydrin	191			

جدول ۲. اطلاعات مربوط به وزن مولکولی، نقطه ایزوالکتریک، بار الکتریکی آمینواسیدها، شاخص ناپایداری، شاخص آلیفاتیک، دومن و جایگاه درون سلولی توالی‌های LEA مورد مطالعه

Table 2. Information related to molecular weight, isoelectric point, charge of amino acids, instability index, aliphatic index, domain and subcellular positions of the studied LEA sequences

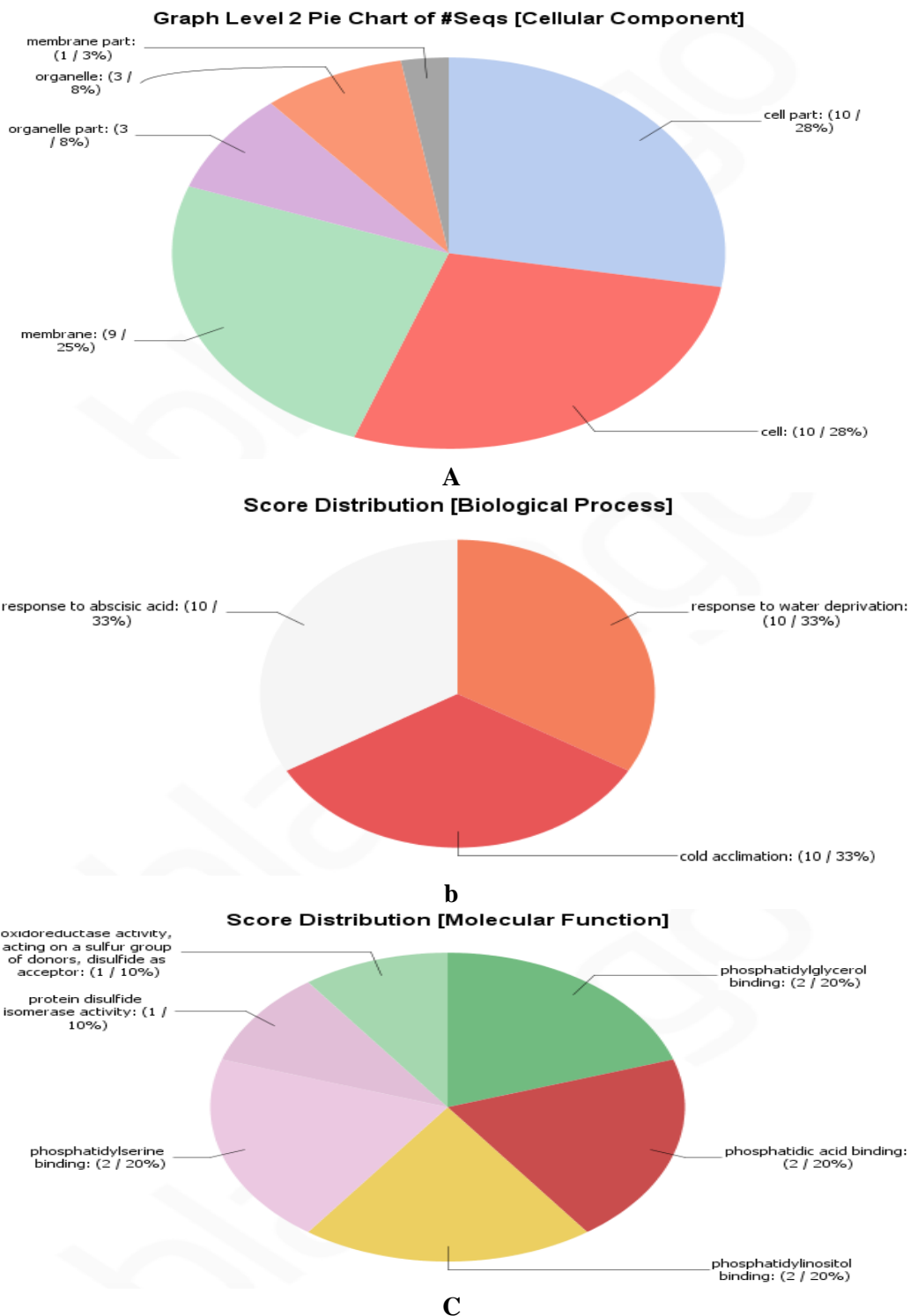
گونه	شماره پروتئین	شماره کلاس LEA class no. Hundermark and Hincha (2008)	وزن مولکولی	نقطه ایزوالکتریک	بار منفی	بار مثبت	شاخص ناپایداری	شاخص آلیفاتیک	شاخص آبگریزی	تعداد دومن	تعداد پاسخ به تنش	جایگاه زیر سلولی
Species	LEA Protein no.		Molecular weight	Theoretical pI	Neg. charge	Pos. charge	Instability index	Aliphatic index	GRAVY	CFD no.	WHY Domain No.	Subcellular location
	9	LEA-2	41079.73	4.98	58	38	27.62	88.70	-0.295	3	2	Cyto
<i>Oryza sativa Japonica</i>	19	LEA-2	19751.37	4.79	31	21	24.72	88.22	-0.255	2	1	Cyto
	14	PVLEA18	11890.02	5.88	14	11	30.36	54.11	-0.880	1	0	Nucl
	8	Dehydrin	31089.44	5.66	58	43	62.98	54.90	-1.077	4	0	Nucl
	15	Dehydrin	16537.01	9.27	14	18	24.32	32.26	-1.033	4	0	Nucl
	13	Dehydrin	31251.58	8.95	18	21	16.81	34.42	-0.687	9	0	Nucl
	12	SMPO	27921.39	4.17	42	19	25.57	73.54	-0.295	6	0	Cyto
	10	LEA-4	47315.54	6.39	68	64	22.55	49.94	-0.791	11	0	Nucl
	1	LEA-4	36791.20	6.39	66	64	15.28	50.29	-1.009	5	0	Pero
	7	LEA-4	41859.93	8.26	77	79	27.73	51.02	-1.043	8	0	Extr
<i>Oryza sativa Indica</i>	1	LEA-4	35661.96	6.01	64	60	15.57	51.05	-0.992	5	0	Pero
	5	Dehydrin	17325.88	9.19	15	18	14.17	25.52	-1.076	3	0	Nucl
	11	PVLEA18	11939.09	6.02	14	12	31.32	53.21	-0.914	1	0	Mito
	10	Dehydrin	31061.38	5.66	58	43	62.98	54.25	-1.086	4	0	Nucl
	6	LEA-4	22141.16	9.14	31	36	11.94	38.19	-0.996	3	0	Mito
	59	LEA-5	9972.73	5.49	18	16	41.83	37.85	-1.372	1	0	Nucl
	61	LEA-5	9961.75	6.33	16	16	47.88	37.85	-1.376	1	0	Nucl
	2	Dehydrin	14427.66	8.00	18	19	35.09	38.39	-1.069	3	0	Nucl
	57	Dehydrin	14441.69	8.00	18	19	36.02	38.39	-1.069	3	0	Nucl
	54	Dehydrin	14239.70	9.59	15	21	44.13	40.79	-1.043	2	0	Nucl
	62	LEA-5	16896.41	5.58	33	28	33.98	30.65	-1.551	1	0	Nucl
	5	Dehydrin	27725.87	5.21	59	43	55.52	62.00	-1.093	5	0	Nucl
<i>Hordeum vulgare</i>	8	Dehydrin	14239.47	6.59	18	17	34.81	42.34	-0.905	2	0	Nucl
	60	LEA-5	14604.89	5.38	29	23	37.86	32.33	-1.479	2	0	Nucl
	7	Dehydrin	58505.79	6.65	59	49	2.58	28.92	-1.161	10	0	Nucl
	17	Dehydrin	33949.21	6.67	33	27	0.51	27.30	-1.197	7	0	Nucl
	16	Dehydrin	33980.22	6.63	34	28	0.56	27.30	-1.212	5	0	Nucl
	38	Dehydrin	52220.50	6.95	68	66	21.58	47.51	-0.843	7	0	Nucl
	40	LEA-4	21937.88	8.83	29	32	15.56	38.27	-1.046	3	0	Nucl
	18	Dehydrin	12050.20	6.84	31	30	37.26	23.74	-2.206	2	0	Nucl
	13	Dehydrin	23461.69	6.26	27	23	31.31	51.90	-0.738	4	0	Nucl
	36	Dehydrin	47872.90	8.97	24	28	-8.16	32.41	-0.715	8	0	Nucl
45	Dehydrin	46156.07	8.80	25	28	-6.89	32.20	-0.748	9	0	Nucl	
46	Dehydrin	15127.64	9.52	15	20	34.94	30.89	-1.151	4	0	Nucl	
3	Dehydrin	15714.00	8.07	16	17	15.03	31.55	-1.103	4	0	Nucl	
19	Dehydrin	22287.95	8.72	15	17	10.79	23.78	-1.071	4	0	Nucl	
20	Dehydrin	22214.90	8.72	15	17	10.11	24.68	-1.036	4	0	Nucl	
33	Dehydrin	18229.76	8.04	16	17	18.26	32.08	-0.967	5	0	Nucl	
49	Dehydrin	18882.53	8.81	15	17	12.35	33.30	-0.884	5	0	Nucl	
29	Dehydrin	18338.93	9.10	15	18	16.68	32.45	-0.955	5	0	Nucl	
24	Dehydrin	18982.59	9.10	15	18	10.77	31.73	-0.959	5	0	Nucl	
26	Dehydrin	18093.75	9.30	14	18	16.47	32.43	-0.948	5	0	Nucl	
47	Dehydrin	18896.56	9.30	14	18	13.70	31.26	-0.938	5	0	Nucl	
32	Dehydrin	19140.82	8.81	15	17	14.81	32.27	-0.891	5	0	Nucl	
27	Dehydrin	18968.62	9.10	15	18	14.24	31.26	-0.954	5	0	Nucl	
35	Dehydrin	18995.69	9.30	14	18	11.22	32.25	-0.942	5	0	Nucl	
50	Dehydrin	18996.67	9.10	15	18	12.06	32.25	-0.942	5	0	Nucl	



شکل ۳. توالی آمینواسیدی و وضعیت قرارگیری موتیف‌ها در گروه‌های LEA توالی‌های مورد مطالعه
Figure 3. Amino acid sequence and the status of motifs in the LEA groups of the studied sequences

پیش‌بینی اجزای سلولی پروتئین‌های گروه LEA-5 نشان داد که ۵۰ درصد توالی‌ها در اجزای سلول و ۵۰ درصد در سلول درگیر هستند. پیش‌بینی فعالیت بیولوژی این گروه پروتئینی نشان داد که همه پروتئین‌ها در پاسخ به آبسازیک اسید نقش دارند. اما پیش‌بینی خاصی از فعالیت مولکولی این پروتئین‌ها داده نشد (شکل ۸).

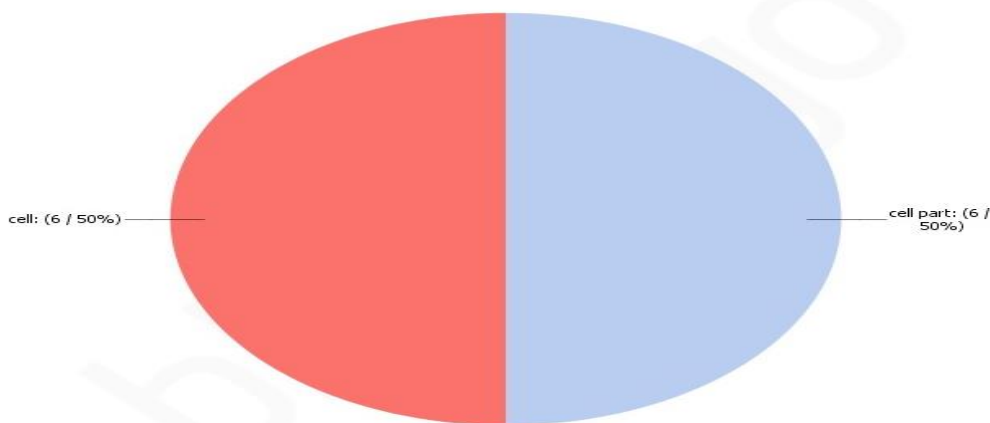
پیش‌بینی فعالیت مولکولی پروتئین‌های گروه PVLEA18 نشان داد که ۵۰ درصد توالی‌ها در باین‌دینگ پروتئین‌های غیرفولد شده و ۵۰ درصد در باین‌دینگ ATP نقش دارند. پیش‌بینی فعالیت بیولوژی این گروه پروتئینی نشان داد که ۵۰ درصد توالی‌ها در پاسخ به تنش و ۵۰ درصد در فولدینگ پروتئین دخالت دارند. اما پیش‌بینی خاصی از اجزای سلولی این پروتئین‌ها داده نشد (شکل ۹). در گروه SMPO هیچ فعالیت مشخصی نشان داده نشد.



شکل ۴. پیش‌بینی جزء سلولی (a)، فعالیت بیولوژی (b) و مولکولی (c) گروه دهیدرین توالی‌های مورد مطالعه

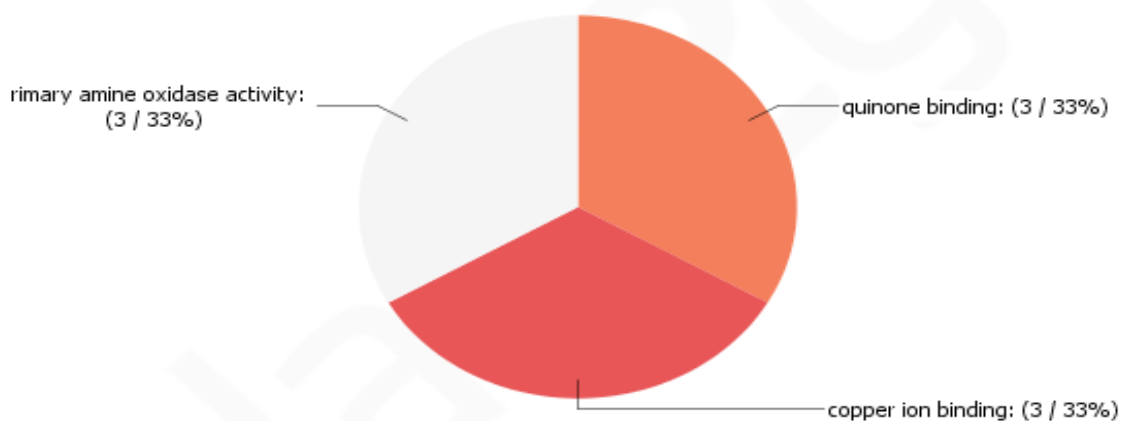
Figure 4. Prediction of cellular component (a), biological (b) and molecular activity (c) of the dehydrin group in the studied sequences

Graph Level 2 Pie Chart of #Seqs [Cellular Component]



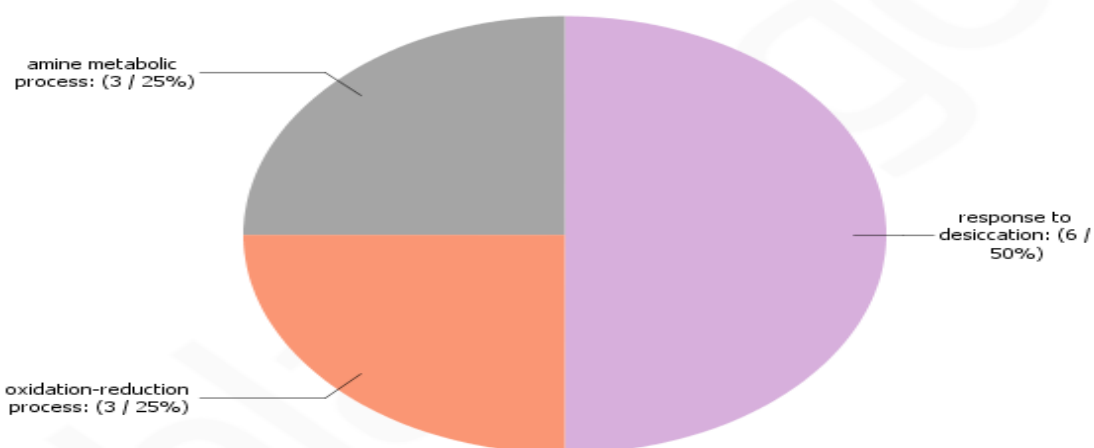
A

Score Distribution [Molecular Function]



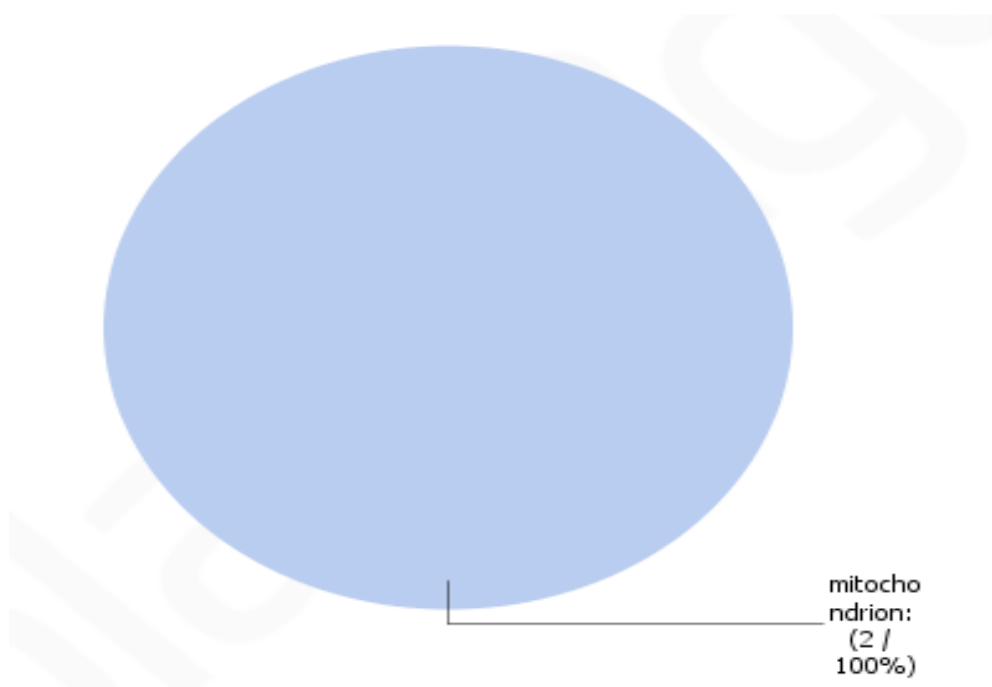
B

Score Distribution [Biological Process]



C

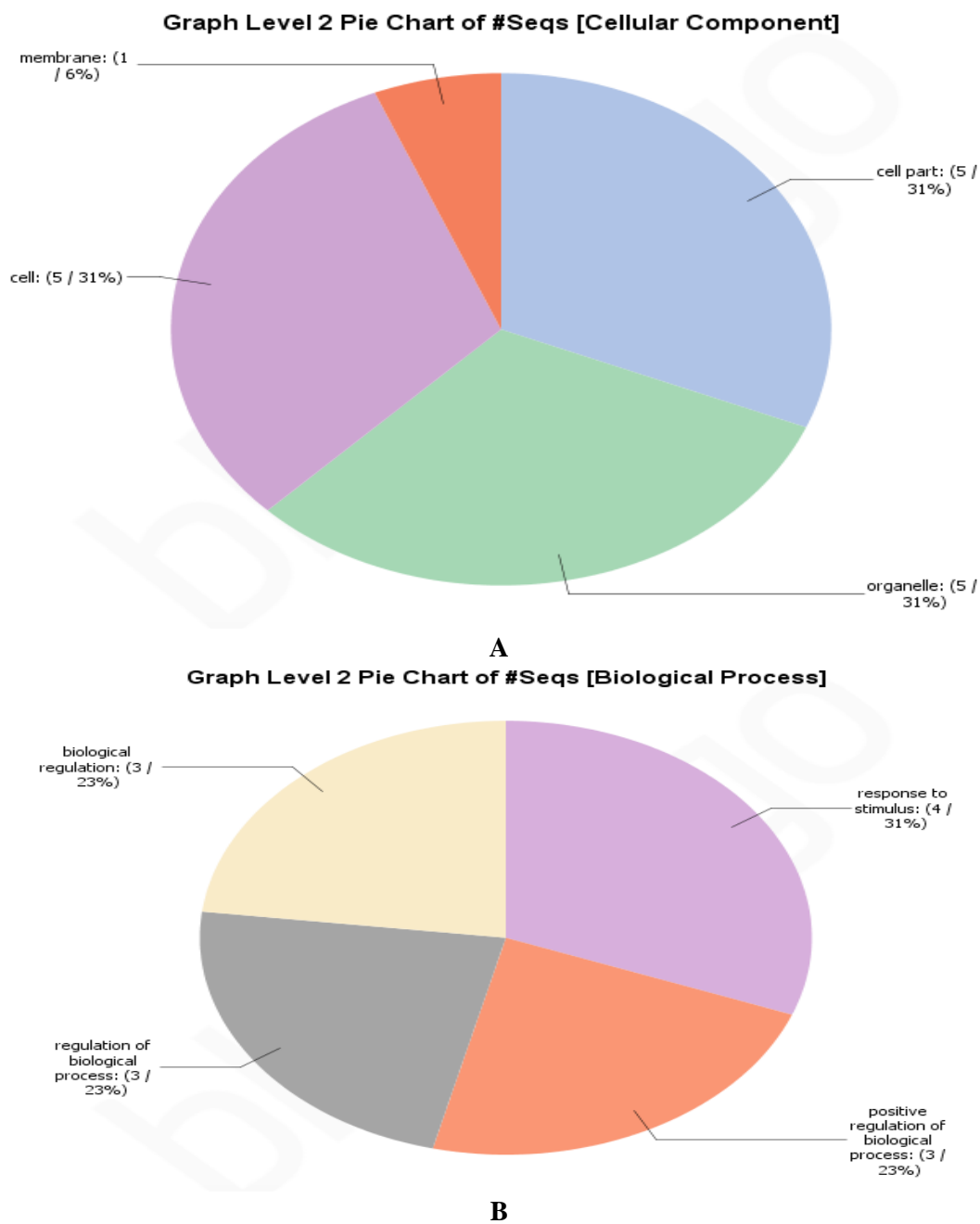
شکل ۵. پیش‌بینی جزء سلولی (a)، فعالیت بیولوژی (b) و مولکولی (c) گروه LEA-2 توالی‌های مورد مطالعه
Figure 5. Prediction of cellular component (a), biological (b) and molecular activity (c) of the LEA-2 group in the studied sequences



شکل ۶. پیش‌بینی جزء سلولی گروه LEA-3 توالی‌های مورد مطالعه
Figure 6. Prediction of cellular component of the LEA-3 group in the studied sequences

تعیین ساختار مولکولی پروتئین‌های LEA در جمعیت‌های مورد مطالعه: پیش‌بینی ساختار سه بعدی پروتئین‌ها

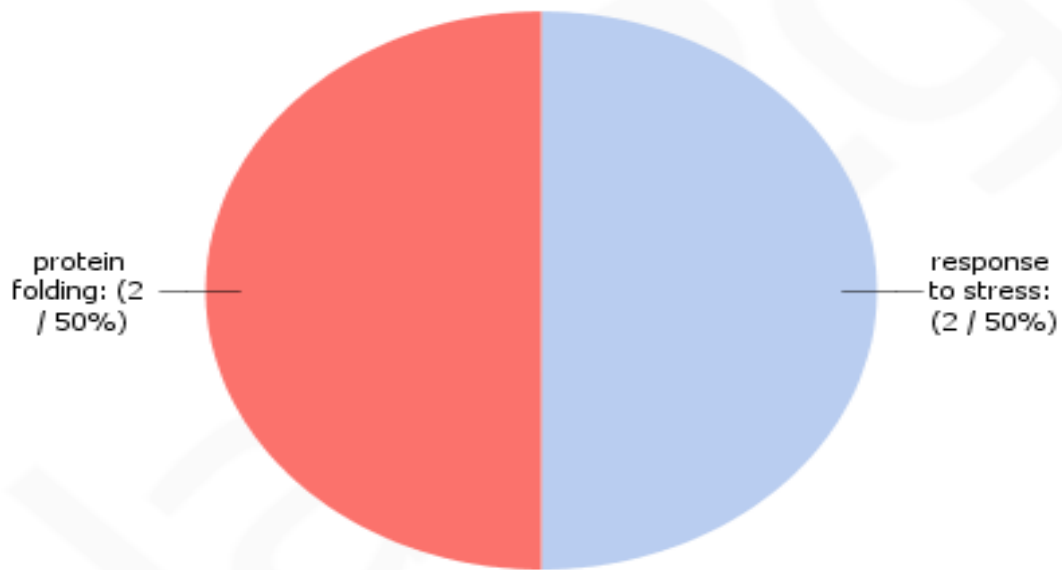
می‌تواند توسط مدل‌سازی همولوژیکی باشد که در آن توالی پروتئین با یک یا تعداد بیشتری از پروتئین‌ها که ساختار آنها از قبل شناخته شده و دارای شباهت هستند پیش‌بینی می‌گردد. وقتی ساختار یک پروتئین از یک خانواده ژنی به وسیله‌ی آزمایش تعیین می‌گردد، پروتئین‌های دیگر آن خانواده نیز می‌توانند بر اساس شباهت‌شان با ساختار پروتئین شناخته شده، مدل‌سازی شوند. پیش‌بینی ساختار مولکولی پروتئین‌های LEA مختلف در جو و برنج (شکل ۱۰) نشان می‌دهد در جو عمدتاً دارای ساختارهای صفحه‌ای بتا و در برنج مارپیچ آلفا می‌باشند.



شکل ۷. پیش‌بینی جزء سلولی (a) و فعالیت بیولوژی (b) گروه LEA-4 توالی‌های مورد مطالعه
Figure 7. Prediction of cellular component (a) and biological activity (b) of the LEA-4 group in the studied sequences



شکل ۸. پیش‌بینی جزء سلولی (a) و فعالیت بیولوژی (b) گروه LEA-5 توالی‌های مورد مطالعه
Figure 8. Prediction of cellular component (a) and biological activity (b) of the LEA-5 group in the studied sequences

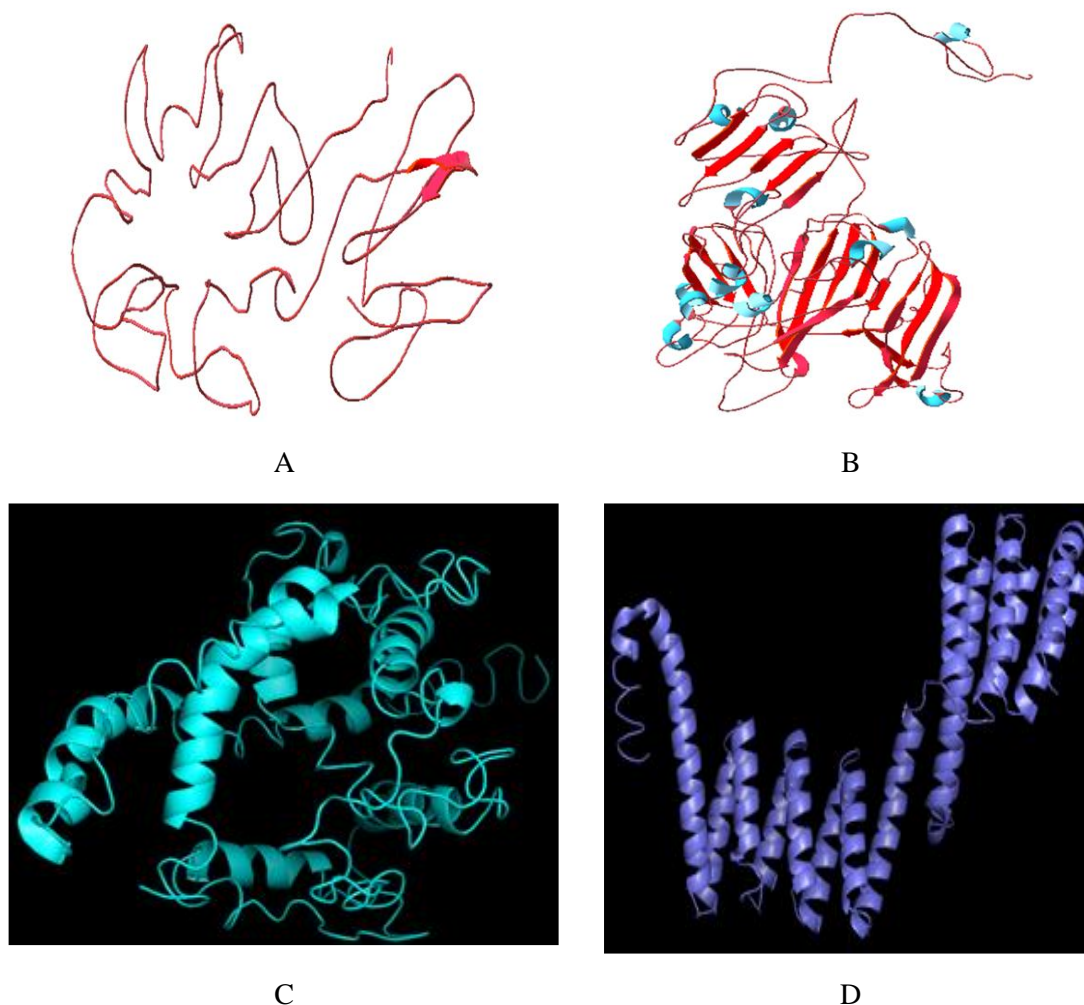


A



B

شکل ۹. پیش‌بینی جزء سلولی (a) و فعالیت مولکولی (b) گروه PVLEA18 توالی‌های مورد مطالعه
Figure 9. Prediction of cellular component (a) and molecular activity (b) of the PVLEA18 group in the studied sequences



شکل ۱۰. پیش‌بینی ساختار مولکولی پروتئین‌های LEA مختلف در جو (a و b)، برنج زیر گونه هندی (c) و ژاپنی (d)

Figure 10. Predicting the molecular structure of different LEA proteins in barley (a and b), indian (d) and japanese (d) rice

مشخصه خانواده پروتئین LEA و نقش آنها در تحمل به تنش خشکی در بسیاری از گیاهان ناشناخته است. در این مطالعه ما تعداد مختلف توالی‌های LEA را در دو غله مهم جو و برنج به عنوان غلات مقاوم و حساس به خشکی مورد مطالعه قرار دادیم. تجزیه و تحلیل پروتئین موتیف و ترکیب هر خانواده LEA تا حد زیادی متغیر بود، اگر چه برخی از مناطق غنی از اسیدآمینو تشخیص داده شده که مطابق مطالعات قبلی انجام شده در آراییدوپسیس (Hundertmark et al. 2008)، حبوبات (Battaglia et al. 2013) و پنبه (Magwanga et al. 2018) بود. همچنین توالی‌های متعلق به خانواده‌های مشابه، ساختار مشابه و ترکیب مشابه موتیف را نشان می‌دهند. پروتئین LEA با وجود ساختار نامنظم، نقش کلیدی را در سلول‌های گیاهی بازی می‌کند آنها توانایی تشکیل چپرون‌ها را با عناصر دیگر دارند (Goyal et al. 2005). انعطاف‌پذیری ساختار پروتئین‌های LEA، تداخل با دیگر ماکرومولکول‌ها مانند پروتئین‌های غشائی را منجر می‌گردد، از این رو پایداری غشای سلولی در هنگام تنش خشکی را باعث می‌شوند

(Olvera-Carrillo et al. 2011). این نتایج نشان می‌دهد که پروتئین‌های LEA دارای ویژگی‌های ذاتی است که آنها را قادر می‌سازد تا به عنوان واسطه انعطاف‌پذیر در حفاظت از مولکول‌های دیگر تحت تنش خشکی و دیگر انواع عوامل تنش‌ی غیرزیستی عمل کنند (Patil & Nakamura 2006). در رابطه با آنتولوژی ژنی، فرایندهای بیولوژی، عملکرد مولکولی و اجزای سلولی ویژگی‌های ژن‌ها یا محصولات ژنی به ما این امکان را می‌دهد که عملکرد مولکولی پروتئین‌ها را پیش‌بینی کنیم. این مطالعه نشان داد که عملکرد و جایگاه این توالی‌ها در بین گروه‌های مختلف پروتئین‌های LEA متغیر می‌باشد که بیانگر عملکرد آنها برای محافظت از غشاها و آنزیم‌ها برای حفظ فعالیت‌های سلولی تحت شرایط تنش خشکی می‌باشد (Tolte et al. 2010). یافته‌ها در این مطالعه در راستای گزارشات قبلی در آرابیدوپسیس (Hundertmark et al. 2008) و گوجه‌فرنگی (Cao 2014) است و تایید می‌کند که پروتئین LEA عمدتاً در مناطق زیر سلولی مانند کلروپلاست، هسته، سیتوپلاسم و میتوکندری واقع شده‌اند. جایگاه درون سلولی و نقش پروتئین LEA در سلول، کاملاً به یکدیگر مرتبط می‌باشد. اتصال به مولکول‌های مختلف مانند ATP، اتصال به پروتئین‌های غیرفولد شده، اتصال به یون مس، اتصال به پروتئین‌های کینون، اتصال به فسفاتیدیل گلیسرول، اتصال به فسفاتیدیک اسید، اتصال به فسفاتیدیل اینوزیتول، اتصال به فسفاتیدیل سرین، فعالیت اکسیدوردوکتازی و فعالیت دی‌سولفید ایزومرازی فعالیت‌های اصلی برای پروتئین LEA در جمعیت‌های مورد مطالعه به عنوان عملکرد مولکولی پیش‌بینی شد. اتصال پروتئین LEA به اسیدهای نوکلئیک به منظور محافظت از ساختارهای سلولی با تشکیل شبکه هیدروژنی نیز گزارش شده است که مربوط به نقش پروتئین‌های LEA در تحمل به تنش خشکی می‌باشد. علاوه بر این، گروه‌های پروتئینی LEA پایداری غشا را با ایجاد چپرون با فسفولیپید و سایر مولکول‌های قندی همان‌گونه که در غشاهای مدل تحت خشکی نشان داده شده بود افزایش می‌دهند (Tolte et al. 2010). عملکرد مولکولی پروتئین LEA در تنش خشکی ممکن است از طریق فعالیت بایندینگ آنها باشد (Magwanga et al. 2018). در بررسی دومین پاسخ به تنش و واکنش فوق حساسیت (WHY) مشخص شد که دومین مذکور در گروه پروتئین‌های LEA-2 حضور دارد این نتیجه با بررسی Mertens et al. (2018) منطبق می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی: نتایج نشان داد که گیاه جو به عنوان گیاه مقاوم به تنش عمدتاً دارای توالی‌های دهیدرین و گیاه برنج به عنوان گیاه حساس به تنش عمدتاً توالی‌های LEA4 و LEA2 را در بر دارند. اکثر پروتئین‌ها آب‌دوست با ساختار قابل انعطاف بوده که دلیلی بر آب‌دوستی و ساختار قابل انعطاف آنها جهت تشکیل ساختار چپرونی برای محافظت در برابر تنش می‌باشد. جایگاه درون سلولی آنها نشان داد که این پروتئین‌ها در محل هسته سلول قرار دارند. بررسی موتیف‌ها در گروه‌های مختلف نشانگر حضور مکان‌های حفاظت شده در بین اعضای یک گروه می‌باشد. پیش‌بینی فعالیت مولکولی و بیولوژی توالی‌ها بیانگر نقش این پروتئین‌ها به تفکیک گروه‌های حاصله در مقاومت به تنش‌ها از جمله تنش خشکی و فولدینگ از طریق فعالیت بایندینگ و یا کاتالیک می‌باشد. پروتئین‌های مورد مطالعه دارای تعداد زیادی بارهای مثبت و منفی سطحی می‌باشند. درک فعل و انفعالات الکترواستاتیک کمک می‌کند بسیاری از فرآیندهای مربوط به پروتئین‌ها قابل فهم باشند. شناسایی این بارهای سطحی و آنالیز آنها در مهندسی پروتئین‌ها

برای بهبود فعالیت، ثبات و برای قابلیت‌های جدید این پروتئین‌ها بسیار مهم است. این شناسایی فرصتی برای درک بیشتر روابط ساختار و عملکرد ایجاد می‌کند که ممکن است برای طراحی مولکول‌های جدید استفاده شود.

سپاسگزاری: این پژوهش در قالب طرح پژوهشی شماره ۷/ص/۹۷/۱۹۴ با استفاده از اعتبارات پژوهشی - پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران انجام شده است.

منابع

احسنی محمدرضا، محمدآبادی محمدرضا، اسدی فوزی و همکاران (۱۳۹۸) بیان ژن لپتین در بافت چربی زیرپوستی گاوهای هلشتاین با استفاده از Real Time PCR. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۱(۱)، ۱۵۰-۱۳۵.

هادی زاده مرتضی، محمدآبادی محمدرضا، نیازی علی و همکاران (۱۳۹۲). استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی در مطالعه اگزون شماره ۲ ژن GDF ۹ در بزهای تالی و بیتال. ژنتیک نوین ۸(۳)، ۲۸۸-۲۸۳.

هادی زاده مرتضی، نیازی علی، محمدآبادی محمدرضا و همکاران (۱۳۹۳). بررسی بیوانفورماتیکی اگزون شماره دو ژن BMP15 در بزهای تالی و بیتال. ژنتیک نوین ۹(۱)، ۱۲۰-۱۱۷.

References

- Ahsani MR, Mohammadabadi MR, Asadi Fozi M et al. (2019) Effect of Roasted Soybean and Canola Seeds on Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Gamma (PPARG) Gene Expression and Cattle Milk Characteristics. *Iran J Appl Anim Sci* 9, 635-642.
- Allagulova CR, Gimalov FR, Shakirova FM, Vakhitov VA (2003) The plant dehydrins: structure and putative functions. *Biochemistry (Mascow)* 68, 945-951.
- Amara I, Zaidi I, Masmoudi K, Ludevid MD et al (2014) Insights into Late Embryogenesis Abundant (LEA) Proteins in Plants: From Structure to the Functions. *Am J Plant Sci* 5, 3440-3455.
- Battaglia M, Covarrubias AA (2013) Late embryogenesis abundant (LEA) proteins in legumes. *Front Plant Sci* 4, 190.
- Cao J, Li X (2014) Identification and phylogenetic analysis of late embryogenesis abundant proteins family in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Planta* 241, 757-72.
- Chen ZQ, Liu Q, Zhu YS, Li YX (2002) Assessment on predicting methods for membrane-protein transmembrane regions, *Acta Biochem Biophys Sin* 34 (3), 285-290.
- Close TJRD (1993) Fenton and F. Moonan "A View of Plant Dehydrins Using Antibodies Specific to the Carboxy Terminal Peptide". *Plant Mol Bio* 23 (2), 279-286.
- Cuming AC, Lane BG (1979) Protein synthesis in imbibing wheat embryos. *Euro Biochem* 99, 217-224.
- Du D, Zhang Q, Cheng T et al (2013) Genome-wide identification and analysis of late embryogenesis abundant (LEA) genes in *Prunus mume*. *Mol Bio Rep* 40, 1937-1946.
- Dure L, Crouch M, Harada J et al (1989) Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plants. *Plant Mol Bio* 12, 475-486.
- Dure L (1993) Structural Motif in Lea Proteins, In: T. J. Close and E. A. Bray, Eds., *Plant Response to Cellular Dehydration during Environmental Stress, Current Topics in Plant Physiology*. American Society of Plant Physiologists Rockville 10, 91-103.

- Everitt BS, Landau S, Leese M, Stahl D (2011) Cluster analysis (5th edn) John Wiley & Sons, Inc., USA, pp: 95.
- Gao J, Lan T (2016) Functional characterization of the late embryogenesis abundant (LEA) protein gene family from *Pinus Tabuliformis* (Pinaceae) in *Escherichia Coli*. Science Report 6, 1-10.
- Goyal K, Walton LJ, Tunnacliffe A (2005) LEA proteins prevent protein aggregation due to water stress. Biochemistry Journal 388, 151–157.
- Hadizadeh M, Mohammadabadi MR, Niazi A et al. (2013) Use of bioinformatics tools to study exon 2 of GDF9 gene in Tali and Beetal goats. Modern Genetics Journal (MGJ) 8 (334), 283-288 (In Persian).
- Hadizadeh M, Niazi A, Mohammadabadi MR et al. (2014) Bioinformatics analysis of the BMP15 exon 2 in Tali and Beetal goats. Modern Genetics 9 (1), 117-120 (In Persian).
- Hundertmark M, Hinch DK (2008) LEA (Late embryogenesis abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*. BMC Genomics 9, 118.
- Ingram J, Bartels D (1996) The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 47, 377 -403.
- Krüger C, Berkowitz O, Stephan UW, Hell RA (2002) Metal-binding Member of the Late Embryogenesis Abundant Protein Family Transports Iron in the Phloem of *Ricinus communis* L. Journal of Biological Chemistry 277, 25062–25069.
- Liang Y, Xiong Z, Zheng J et al. (2016) Genome-wide identification, structural analysis and new insights into late embryogenesis abundant (LEA) gene family formation pattern in *Brassica napus*. Sci Rep 6, 24265.
- Magwanga RO, Lu P, Kirungu JN et al (2018) Characterization of the late embryogenesis abundant (LEA) proteins family and their role in drought stress tolerance in upland cotton. BMC Genetics 19, 6.
- Mertens J, Aliyu H, Cowan DA (2018) LEA proteins and the evolution of the WHY domain. Appl Environ Microbiology 539, 18.
- Mohammadabadi MR, Tohidinejad F (2017) Characteristics determination of Rheb gene and protein in Raini Cashmere goat. Iran J Appl Anim Sci 7, 289-295.
- Olvera-Carrillo Y, Luis RJ, Covarrubias AA (2011) Late embryogenesis abundant proteins: versatile players in the plant adaptation to water limiting environments. Plant Signal Behaviour 6(4), 586–589.
- Patil A, Nakamura H (2006) Disordered domains and high surface charge confer hubs with the ability to interact with multiple proteins in interaction networks. FEBS Letter 580, 2041–5.
- Righetti PG, Tudor G, Ek K (1981) Isoelectric points and molecular weights of proteins: A new table. J Chromatogr 220, 115-194.
- Sasaki K, Christov NK, Tsuda S, Imai R (2014) Identification of a novel LEA protein involved in freezing tolerance in wheat. Plant Cell Physiology 55, 136–47.
- Shimizu T, Kanamori Y et al (2010) Desiccation-induced structuralization and glass formation of group 3 late embryogenesis abundant protein model peptides. Biochemistry 49, 1093–1104.
- Tollet D, Hinch DK, Macherel DA (2010) mitochondrial late embryogenesis abundant protein stabilizes model membranes in the dry state. Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes 1798, 1926–33.
- Zhang JF, Deng XP, Mu XQ (2002) Plant aquaporin. Plant Physiol Commun 38 (1), 88–91.