

Analysis of proteins mediated in the barley drought tolerance through bioinformatics tools

Mahsa Sepahpour 

M.Sc. Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail address: Mahsasepahpour@yahoo.com

Mahmoud Toorchi 

*Corresponding author. Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail address: mtoorchi@tabrizu.ac.ir

Ebrahim Dorani 

Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail address: uliaie@tabrizu.ac.ir

Abstract

Objective

Barley, due to its vital biochemical composition, is the fourth most important cereal crop after corn, wheat, and rice. Drought stress is a major environmental factor limiting the productivity of field crops, including barley. One of the most significant mechanisms for coping with stressful conditions is the regulation of gene expression at the protein level. This research focused on selected proteins involved in biochemical pathways related to drought stress, previously identified through omics approaches, and utilized for bioinformatics analysis. Bioinformatics tools improve the efficiency and reduce the cost of protein investigations, aiding in the prediction of their functions as key macromolecules in tolerance to abiotic stresses, including drought.

Materials and Methods

The amino acid sequences of drought stress tolerance-related proteins in barley were obtained from the Swiss-Prot/UniProtKB database. The physicochemical properties of these proteins were determined using ProtParam software. TMHMM software was used to identify transmembrane regions. To investigate the post-translational modifications of proteins, the Prosite secondary database was searched using ScanProsite software. Protein domains related to drought stress were identified using the InterProScan tool within the InterPro database. Additionally, the CDD software was employed to identify unique domains.

Results

In this study, 17 proteins associated with drought stress tolerance in barley were selected. Among them, three proteins — HVA22, Low temperature-induced protein, and Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel — demonstrated significant roles in barley's drought stress response. Protein Q07764 is a regulatory protein with two transmembrane regions that plays a critical role in barley's drought tolerance. Protein P68179, with the lowest molecular weight, has two transmembrane regions and one proteolipid membrane potential modulator domain, contributing to drought stress tolerance through lignification. Protein Q7X9R6, with the highest molecular weight and four transmembrane regions, is a calcium-sensitive protein involved in signal transduction, adaptation, and defense pathways in barley.

Conclusions

Among all the evaluated proteins, P68179, Q07764, and Q7X9R6 were identified as the most effective in combating drought stress. These proteins possess multiple transmembrane regions and domains, acting as crucial channels in the accumulation of compatible osmolytes in vacuoles. Their significant roles make them prime candidates for enhancing drought stress tolerance in barley.

Keywords: domain, *In silico*, physico-chemical properties

Paper Type: Research Paper.

Citation: Sepahpour M, Toorchi M, Dorani E (2025) Analysis of proteins mediated in the barley drought tolerance through bioinformatics tools. *Agricultural Biotechnology Journal* 17(1), 45-70.

Agricultural Biotechnology Journal 17(1), 45-70.

DOI: 10.22103/jab.2024.20607.1553

Received: October 24, 2024.

Received in revised form: December 27, 2024.

Accepted: December 28, 2024.


Published online: January 30, 2025.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.




© the authors

تجزیه و تحلیل پروتئین‌های درگیر در تحمل جو به تنش خشکی با ابزارهای بیوانفورماتیکی

مهسا سپه پور 


کارشناسی ارشد، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه:

mahsasepahpour@yahoo.com

محمود تورچی 

*نویسنده مسئول، استاد، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه:

mtoorchi@tabrizu.ac.ir

ابراهیم دورانی 

استاد، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: uliaie@tabrizu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۰۳ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۱۰/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۰۸

چکیده

هدف: جو به دلیل وجود اجزای حیاتی بیوشیمیایی، چهارمین غله دانه ریز مهم بعد از ذرت، گندم و برنج می‌باشد. سازوکارهای زیادی برای مقابله با شرایط تنش‌زا مانند خشکی وجود دارد که از جمله مهم‌ترین این سازوکارها می‌توان به تنظیم بیان ژن در سطح پروتئین اشاره کرد. در این پژوهش تعدادی از پروتئین‌های جو که در مسیرهای بیوشیمیایی مرتبط با تنش خشکی دخیل هستند و قبلاً با رهیافت‌های امیک شناسایی شده‌اند، انتخاب و جهت بررسی بیوانفورماتیکی مورد استفاده قرار گرفتند. ابزارهای بیوانفورماتیک سرعت و هزینه بررسی پروتئین‌ها و پیشگویی کارکرد آنها به عنوان مهم‌ترین ماکرو مولکول‌های زیستی در تحمل به تنش‌های غیر زیستی از جمله خشکی را افزایش داده است.

مواد و روش‌ها: ابتدا اطلاعات توالی پروتئین‌های مربوط به تنش خشکی در جو از پایگاه داده Swiss-Prot/UniProtKB

دریافت شدند. خصوصیات فیزیکیوشیمیایی این پروتئین‌ها با استفاده از نرم‌افزار ProtParam، تعیین شد. برای شناسایی نواحی درون غشایی از نرم افزار TMHMM استفاده گردید. به منظور بررسی تغییرات پس ترجمه‌ای پروتئین‌ها از جست و جو در پایگاه داده ثانویه PROSITE توسط نرم‌افزار ScanProsite استفاده شد. شناسایی دمین‌های پروتئینی برای تعدادی از پروتئین‌های پاسخ

دهنده به تنش خشکی برنامه InterProscan، صورت گرفت. در این پژوهش همچنین نرم افزار CDD برای شناسایی برخی دمین‌های خاص استفاده شد.

نتایج: در این مطالعه ۱۷ پروتئین برای مقابله با تحمل به تنش خشکی در جو انتخاب شد که از این میان سه پروتئین HVA22، Low temperature-induced و Putative cyclic nucleotide calmodulin-regulated ion channel نقش موثری در پاسخ به تنش خشکی در جو نشان داده‌اند. پروتئین Q07764 یک پروتئین تنظیم‌کننده با ۲ ناحیه غشایی است که نقش مهمی در تحمل جو به تنش خشکی دارد. پروتئین P68179 با کمترین وزن مولکولی و ۲ ناحیه درون غشایی و یک دمین به عنوان تعدیل‌کننده پتانسیل غشای پروتئولیبیدی در تحمل جو به تنش خشکی از طریق چوبی شدن نقش دارد. پروتئین Q7X9R6 با بیشترین وزن مولکولی و ۴ ناحیه درون غشایی یکی از پروتئین‌های حساس به کلسیم است که در انتقال علامت، سازگاری و مسیرهای دفاعی جو نقش دارد.

نتیجه‌گیری: از میان پروتئین‌های مورد ارزیابی، بهترین نتایج مربوط به ۳ پروتئین P68179، Q07764 و Q7X9R6 می‌باشد. این پروتئین‌ها با دارا بودن دمین‌ها و نواحی درون غشایی متعدد می‌توانند به عنوان مهمترین پروتئین‌های درگیر در تحمل تنش خشکی در جو در نظر گرفته شوند. بدین ترتیب که به دلیل داشتن نواحی درون غشایی متعدد به عنوان کلنال در تجمع اسمولیت‌های سازگار در واکوئل‌ها می‌توانند ایفای نقش کرده و تحمل به خشکی را بهبود بخشند.

کلیدواژه‌ها: این سیلیکو، دمین، خصوصیات فیزیکوشیمیایی

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: سپه پور مهسا، تورچی محمود، دورانی ابراهیم (۱۴۰۳) تجزیه و تحلیل پروتئین‌های درگیر در تحمل جو به تنش خشکی با ابزارهای بیوانفورماتیکی. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۷(۱)، ۴۵-۷۰.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant

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



© the authors

مقدمه

پروتئین‌ها برای فرآیندهای حیاتی در سیستم زنده ضروری هستند و دخالت آنها در فرایندهای بیولوژیکی برای وجود و بقای ارگانیسم‌ها بسیار مهم است. توالی زنجیره‌های جانبی یک پروتئین همه چیزهایی را که در مورد یک پروتئین خاص منحصر به فرد است، از جمله عملکرد بیولوژیکی و ساختار سه بعدی خاص آن را تعیین می‌کند. تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای توالی‌ها و ساختارهای پروتئینی، اساس بیوانفورماتیک برای حصول نتایج کارکردی در مطالعات زیست‌شناسی است (Richardson 1981). با بررسی

توالی آمینواسیدی پروتئین‌ها، اطلاعات زیادی از جمله خواص فیزیکوشیمیایی پروتئین‌ها، تغییرات پس ترجمه‌ای، دمین‌ها و دیگر خصوصیات قابل پیش بینی می‌باشد که برآورد هر کدام از این صفات در آزمایشگاه با صرف وقت و هزینه زیادی همراه است. از طرفی دیگر به دنبال گسترش علوم و امکانات آزمایشگاهی، اطلاعات حاصل از نتایج آزمایش‌ها روز به روز در حال افزایش است. چنین حجم وسیعی از اطلاعات به دست آمده از آزمایشات زیستی زمانی مفید خواهد بود که به خوبی پردازش شده باشند. به همین دلیل استفاده از علوم ریاضیات و کامپیوتر به یک جز اساسی و بنیادی در پژوهش‌های مدرن زیست‌شناسی تبدیل گشته است. به این ترتیب اوایل سال ۱۹۷۵ بود که رشته بیوانفورماتیک و به دنبال آن زیست‌شناسی محاسباتی با هدف استفاده از روش‌های مدیریت سیستم‌های داده در مطالعات زیست‌شناسی شکل گرفت (Mohammadabadi et al. 2024). بیوانفورماتیک از رشته‌هایی مانند؛ ریاضیات کاربردی، علوم کامپیوتر و آمار مشتق شده است که ماکرو مولکول‌های زیستی مثل DNA، RNA و پروتئین را مفهوم بندی می‌کند. بیوانفورماتیک داده‌ها را بگونه‌ای سازمان‌دهی می‌کند که اطلاعات موجود به راحتی در دسترس باشند. همچنین در بیوانفورماتیک از ابزارها و منابع برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و تفسیر نتایج به شیوه بیولوژیکی استفاده می‌شود (Luscombe et al. 2001). علاوه بر این، اپی ژنوم شامل مکانیسم‌های مختلفی است، به عنوان مثال متیلاسیون DNA، بازسازی مجدد، اصلاحات دم هیستون، microRNAهای کروماتین و RNAهای طولانی غیر کد کننده، با عوامل محیطی مانند تغذیه، عوامل بیماری‌زا، آب و هوا برهمکنش دارند تا برنامه بیان ژن‌ها و ظهور فنوتیپ‌های خاص تاثیر بگذارند (Barazandeh et al. 2016; Mohammadinejad et al. 2022; Mohammadabadi et al. 2023; Safaei et al. 2024). ممکن است برهمکنش‌های چند سطحی بین ژنوم، اپی ژنوم و عوامل محیطی رخ دهد (Shahsavari et al. 2022; Jafari Ahmadabadi et al. 2023). علاوه بر این، شواهد متعددی حاکی از تاثیر تنوع اپی ژنوم بر سلامت و تولید است (Safaei et al. 2022; Bordbar et al., 2022). همچنین اطلاعات به دست آمده از تجزیه و تحلیل داده‌های بیولوژیکی توسط بیوانفورماتیک، در تراز کردن توالی‌ها در بانک‌های اطلاعاتی برای یافتن شباهت‌ها و تفاوت‌های ژنتیکی، پیش بینی ساختار و عملکرد محصولات ژنی (Saadatabadi et al. 2023; Nejad et al. 2024; Shokri et al. 2023) و به یافتن رابطه فیلوژنتیکی بین ژن‌ها و توالی پروتئین کمک می‌کند (Mohammadabadi et al. 2024). نظر به اهمیت مطالعه زیست‌شناسی در زمینه علوم گیاهی، منابع مختلف بیوانفورماتیک مانند ابزارها، سرورها و پایگاه‌های داده زیست‌شناسی توسعه داده می‌شود (Kumar & Shanker 2018). با استفاده از کامپیوتر، نرم افزارهای کامپیوتری و بانک‌های اطلاعاتی سعی می‌شود به مسائل زیست‌شناسی بخصوص در زمینه‌های سلولی و مولکولی پاسخ داده شود. از طرفی تغییرات مولکولی مهمی تحت شرایط خاص در سلول‌های زنده رخ می‌دهد که یکی از این موارد مهم تنش‌های محیطی است. با اطلاع از اهمیت پروتئین‌های درگیر در تحمل به خشکی می‌توان نسبت به شناسایی ژن‌های کد کننده این پروتئین‌ها و در نهایت مهندسی ژنتیک جو جهت بیان آن‌ها استفاده نمود (Turhan & Baser 2004). تنش‌های غیرزیستی مثل خشکی، عامل اصلی محدود کننده در دستیابی به تولید و بهره‌وری مطلوب محصولات مختلف مثل جو است. اگرچه، جو یک محصول نسبتاً مقاوم به تنش‌های غیر زیستی است، اما تنش‌های غیر

زیستی بر تولید و بهره‌وری جو تأثیر می‌گذارد. مکانیسم‌های زیادی برای مقابله با شرایط تنش‌زا مانند خشکی وجود دارد که از جمله مهم‌ترین این سازوکارها می‌توان به تنظیم بیان ژن در سطح پروتئین اشاره کرد (Rani et al. 2018). در مطالعه‌ای (Ashoub et al. 2013) پاسخ سازگاری گونه‌های جو مصر به تنش خشکی با استفاده از الکتروفورز ژل (DIGE) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تغییرات در پروتئین‌های مربوط به تعادل انرژی و چاپرون‌ها مشخص‌ترین ویژگی‌ها برای توضیح تفاوت بین ارقام مقاوم و حساس به خشکی بودند. تغییرات بیشتر در سطوح پروتئین‌های دخیل در متابولیسم، رونویسی و سنتز پروتئین نیز نشان داده شده است. در پژوهش دیگری (Akbulak & Filiz 2020) تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک ژن‌های ناقل پرولین (*ProT*) گوجه‌فرنگی و پروفایل‌های بیان آن‌ها تحت تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز راه‌انداز ژن‌های *SIPROT* نشان داد که آنها حاوی مکان‌های اتصال فاکتورهای رونویسی زیادی در عناصر *cis*، مانند *bHLH*، *bZIP*، *Hox*، *Dof*، *MYB*، *WRKY* و *AP2/ERF* هستند. یافته‌های این تحقیق می‌تواند به درک ژن‌های *SIPROT* و متابولیسم پرولین در گیاهان کمک کند. عبدلی نسب و همکاران (۱۳۹۹) پروتئین‌های *LEA* درگیر در تحمل به تنش خشکی در جو و برنج را مورد تجزیه بیوانفورماتیکی قرار دادند. توالی‌های پروتئین‌های گفته‌شده از پایگاه‌های اطلاعاتی استخراج و با نرم‌افزار *ClustalW* درخت فیلوژنی آن‌ها رسم شد. اطلاعات مربوط به خصوصیات توالی‌ها، موتیف، پیش‌بینی جایگاه درون‌سلولی، تجزیه باندهای هیدروژنی و غیر هیدروژنی و بررسی فعالیت بیولوژیکی و مولکولی به دست آمد. این پژوهشگران، پروتئین‌ها را در هفت گروه مجزا قرار دادند که دهیدرین‌ها بیشترین تعداد آنها را در بر گرفتند (Abdoli Nasab & Mortezaei 2021). پروتئین *HVA22*، پروتئین غشایی پایین دستی ناشی از *ABA* است که به طور منفی *PCD* ناشی از *GA* را در سلول‌های آلئورون جو تنظیم می‌کند (Casaretto & Ho 2003). بیان ژن *HVA22* جو با وضعیت خواب بذر در ارتباط است (Shen et al. 2001). در پژوهش حاضر تعدادی از پروتئین‌های جو که در مکانیسم‌های مرتبط با تنش خشکی دخیل هستند و قبلاً با رهیافت پروتئومیک شناسایی شده‌اند، انتخاب و جهت بررسی بیوانفورماتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. هدف اصلی در این پژوهش تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی، تعیین دمین‌های پروتئینی، شناسایی نواحی درون‌غشایی و نیز تغییرات پس ترجمه‌ای پروتئین‌های درگیر در تنش خشکی جو می‌باشد. تحقیقات بسیار معدودی در زمینه تحقیقات تحمل به خشکی جو با ابزارهای بیوانفورماتیک انجام شده و این مطالعه در راستای تکمیل نقش پروتئین‌های مرتبط با تحمل به خشکی جو بوده است.

مواد و روش‌ها

پروتئین‌های مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل در این مقاله طی چند مرحله از داده پایگاه *Uniprot* استخراج شدند (Boutet et al. 2016). بدین ترتیب که ابتدا با جستجوی کلمه *drought* در این پایگاه داده پروتئین، لیستی از پروتئین‌های مرتبط با تنش خشکی در گیاهان مختلف دریافت شد. در مرحله بعد کلید واژه *barley* نیز به جستجو اضافه شد و در نتیجه زیر

مجموعه ای از پروتئین های قبلی که در جو شناسایی شده بودند در خروجی ارایه شد. در نهایت این لیست با پروتئین هایی که با روش پروتئومیکس تحت شرایط تنش خشکی قبلا شناسایی شده بودند مورد مقایسه قرار گرفت. از آنجاییکه پروتئین های شناسایی شده با رهیافت پروتئومیکس معتبرترین پروتئین ها از نظر بیان می باشند و همه تغییرات پس از نسخه برداری و پس از ترجمه را پشت سر گذاشته اند بنابراین این دسته از پروتئین ها از بالاترین اعتبار از نظر بیان تحت شرایط خشکی محسوب می شوند و این لیست برای ادامه تجزیه های بیوانفورماتیکی مورد استفاده قرار گرفت. لیست این پروتئین ها در جدول ۱ ارائه شده است.

خصوصیات فیزیوشیمیایی این پروتئین ها با استفاده از نرم افزار ProtParam بررسی گردید (Wilkins et al. 1999). توالی های پروتئینی با فرمت FASTA به برنامه ارائه شدند (Kirchmair et al. 2008). این نرم افزار پارامترهای پروتئینی شامل وزن مولکولی، نقطه ایزو الکتریک، نیمه عمر پروتئین ها و شاخص ناپایداری را به صورت تئوری و براساس خواص ذاتی اسید های آمینه تشکیل دهنده آنها محاسبه می کند. دو شاخص وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک پارامترهای اساسی در الکتروفورز دو بعدی برای شناسایی پروتئین محسوب می شوند (Kirchmair et al. 2008). پروتئینی که شاخص ناپایداری آن کوچکتر از ۴۰ باشد به عنوان پایدار پیش بینی می شود. نیمه عمر پیش بینی زمانی است که طول می کشد تا نیمی از مقدار پروتئین موجود در یک سلول پس از سنتز آن در سلول ناپدید شود (Kyte and Doolittle 1982). برای شناسایی نواحی درون غشایی از نرم افزار TMHMM استفاده گردید (Attwood et al. 2002).

به منظور بررسی تغییرات پس ترجمه ای پروتئین ها از جست و جو در پایگاه اطلاعات ثانویه PROSITE توسط نرم افزار ScanProsite استفاده شد. این نرم افزار توالی پروتئینی را با الگوهای موجود در PROSITE مقایسه کرده و موتیف، الگو یا پروفایل های موجود در توالی و تغییرات پس ترجمه ای محتمل را پیش بینی می کند (Blom et al. 2004). برای شناسایی دمین های پروتئینی برای تعدادی از پروتئین های پاسخ دهنده به تنش خشکی از برنامه InterProScan استفاده شد (Zdobnov & Apweiler 2001). نرم افزار CDD برای شناسایی دمین های خاص باقیمانده استفاده شد. این برنامه که توسط سایت NCBI مدیریت می شود، اغلب با مکان و خصوصیات مکان های عملکردی، مانند مکان های فعال یا مکان های اتصال کوفاکتورها، اسیدهای نوکلئیک، یون ها و پلی پپتیدها همراه می شود. (Marchler-Bauer et al. 2010). دمین های پروتئینی، نواحی فشرده ای از ساختار پروتئین هستند که اغلب عملکرد مشخصی را منتقل می کنند. ساختار دمین ها، یا ترتیب دمین ها در یک پروتئین، اغلب به عنوان یک سطح اساسی از پیچیدگی عملکردی پروتئین در نظر گرفته می شود (Moore et al. 2008).

جدول ۱. لیست پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش خشکی در جو

Table 1. List of proteins responding to drought stress in barley

شماره ردیف Line number	منبع Reference	نام پروتئین Protein name	شماره دسترسی Accession number	نقش Role
1	(Shen et al. 1993)	Protein HVA22	Q07764	عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Molecular functions and biological processes
2	(Dunn et al. 1991)	Protein BLT4	P25307	عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Molecular functions and biological processes
3	(Goldstein & Miller 1991)	Protein farnesyltransferase subunit beta	A0A023ZSJ7	فعالیت‌های کاتالیزوری و کوفاکتوری و عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Catalytic and cofactor activities and molecular functions and biological processes
4	(Goddard et al. 1993)	Low temperature-induced protein	P68179	عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Molecular functions and biological processes
5	(Liu et al. 1998)	RING-type E3 ubiquitin transferase	A0A023ZS55	فعالیت‌های کاتالیزوری و کوفاکتوری و عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Catalytic and cofactor activities and molecular functions and biological processes
6	(Wang et al. 2022)	Dehydration responsive element binding protein 1	E3SUY8	عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Molecular functions and biological processes
7	(Skinner et al. 2006)	HvZFP16-1	Q2VGB8	لیگاند Ligand

Table 1 Continued

8	(Cai et al. 2017)	CONSTANS-like protein	A0A2D1WB71	عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Molecular functions and biological processes
9	(Liu et al. 1998)	Late embryogenesis abundant protein	B5TWC9	محافظت سلول در برابر تنش غیر زیستی، رشد و تقسیم سلولی Cell protection against abiotic stress, cell growth and division
10	(Hughes et al. 2017)	Epidermal patterning factor-like protein	A0A1X9Y2F0	عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Molecular functions and biological processes
11	(Steggmaier et al. 1998)	Putative syntaxin-related protein	A0A023ZT67	عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Molecular functions and biological processes
12	(Mayer et al. 2012)	SNF1-type serine-threonine protein kinase	M0XX02	عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Molecular functions and biological processes
13	(Xu ZS et al. 2009)	AP2/EREBP-like protein	Q4ZGK0	عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Molecular functions and biological processes
14	(Knox et al. 2010)	CBF protein 4	C1IJC2	عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی Molecular functions and biological processes
15	(Wang et al. 2022)	NF-YB1	R4NEG5	عملکردهای مولکولی Molecular functions
16	(Mayer et al. 2012)	HVA1	B5TWD0	محافظت سلول در برابر تنش غیر زیستی Cell protection against abiotic stress
17	(Köhler et al. 1999)	Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel protein	Q7X9R6	عملکردهای مولکولی Molecular functions

نتایج و بحث

تعیین خصوصیات فیزیکیوشیمیایی پروتئین‌های گیاه جو: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌هایی که در جو تحت تنش خشکی دارای تغییرات بیان قابل ملاحظه ای بودند توسط نرم افزار ProtParam برآورد و در جدول ۲ آورده شده است. پروتئین BLT4 ناپایدارترین پروتئین در گیر در تنش خشکی در گیاه جو از نظر خصوصیات فیزیکیوشیمیایی با وزن مولکولی ۱۳/۵۵ کیلودالتون و با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول می‌باشد. خانواده ژن جو *blt4* پروتئین‌های انتقال چربی غیر اختصاصی را کد می‌کند و نشان داده شده است که بوسیله محلی سازی درجا در سلول‌های اپیدرمی برگ‌ها بیان می‌شود (White et al. 1994). پروتئین farnesyltransferase subunit beta یک پروتئین پایدار با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول و وزن مولکولی ۵۱/۱۳۹ کیلودالتون است. فارنسیلاسیون پروتئین یکی از انواع اصلاح پرنیلاسیون است که برای محلی سازی مناسب بسیاری از پروتئین‌ها در انتقال علامت از جمله پروتئین‌های Ras مورد نیاز است (Benetka et al. 2006). کمترین وزن مولکولی پروتئین‌های درگیر در تنش خشکی در گیاه جو متعلق به پروتئین دمای پایین induced protein با وزن مولکولی ۵/۹۳ کیلودالتون، پایدار و با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول می‌باشد. پروتئین RING-type E3 ubiquitin transferase یک پروتئین ناپایدار با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول و وزن مولکولی ۲۹/۵۲ کیلودالتون می‌باشد. لیگازهای پروتئین یوبی کوئیتین یا (E3s) همراه با آنزیم‌های فعال کننده یوبی کوئیتین (E1) و کونژوگه کننده یوبی کوئیتین (E2) اتصال کووالانسی یوبی کوئیتین به پروتئین‌های هدف را کاتالیز می‌کنند (Borden et al. 1995). Dehydration responsive element binding protein 1 یک پروتئین پایدار با وزن مولکولی ۱۹/۸۴ کیلودالتون و نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول است. اتصال عنصر پاسخگو به کم آبی (DREB) بیان بسیاری از ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش را تنظیم می‌کند و از این رو نقشی اساسی در پاسخ‌های تنش غیرزیستی و تحمل گیاهان دارد. خانواده فاکتور رونویسی اتصال دهنده عنصر پاسخگو به کم آبی (DREB) متعلق به ابرخانواده پروتئین اتصال دهنده عنصر پاسخگو به AP2/APETALA2/اتیلین (AP2/EREBP) است. ژن‌های *DREB* از یک دمین AP2 متصل به DNA بسیار حفاظت‌شده تشکیل شده‌اند. اعضای خانواده ژن *DREB* به دلیل نقش‌های تنظیمی خود در تنش‌های غیرزیستی مختلف مانند خشکی، شوری، گرما و سرما شناخته می‌شوند (Dhatterwal et al. 2019). پروتئین CONSTANS-like protein کمترین نیمه عمر برابر ۳ دقیقه در سلول بعد از تولید را دارد. دارای شاخص وزن مولکولی ۸/۹۷ کیلودالتون می‌باشد و شاخص پایداری ۴۶/۹۶ است. CONSTANS-like protein پروتئین‌های (COL)² جزء علامت‌دهی مهم در مسیر دوره نوری و مسیر تنظیم گلدهی هستند (Cai et al. 2017).

¹. Dehydration responsive element binding

². CONSTANS-LIKE

جدول ۲. خصوصیات فیزیوشیمیایی پروتئین‌های جو تحت تنش خشکی برآورد شده توسط برنامه

ProtParam

Table 2. Physicochemical properties of barley proteins under drought stress estimated by ProtParam program

شماره ردیف Line number	نام پروتئین Protein name	وزن مولکولی (کیلودالتون) Molecular Weight (KDa)	نقطه ایزو الکتریک ^۱ <i>pI</i>	شاخص ناپایداری (II) Instability Index (II)	نیمه عمر Half - Life
1	Protein HVA22	15.56	8.67	31.41	>20H
2	Protein BLT4	13.55	11.75	70.73	>20H
3	Protein farnesyltransferase subunit beta	51.139	5.00	39.16	>20H
4	Low temperature-induced protein	5.93	5.89	33.12	>20H
5	RING-type E3 ubiquitin transferase	29.52	8.32	41.72	>20H
6	Dehydration responsive element binding protein 1	19.84	5.35	37.99	>20H
7	HvZFP16-1	19.30	8.53	38.98	>20H
8	CONSTANS-like protein	8.97	6.04	46.96	3Min
9	Late embryogenesis abundant protein	21.93	8.83	15.56	>20H
10	Epidermal patterning factor-like protein	10.96	8.78	55.62	>20H
11	Putative syntaxin-related protein	31.58	8.88	37.38	>20H
12	SNF1-type serine-threonine protein kinase	41.93	5.96	50.62	>20H
13	AP2/EREBP-like protein	30.33	6.11	42.95	>20H
14	CBF protein 4	24.54	8.40	59.32	>20H
15	NF-YB1	17.58	6.29	37.89	>20H
16	HVA1	21.81	9.02	17.80	>20H
17	Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel protein	65.91	9.58	48.88	>20H

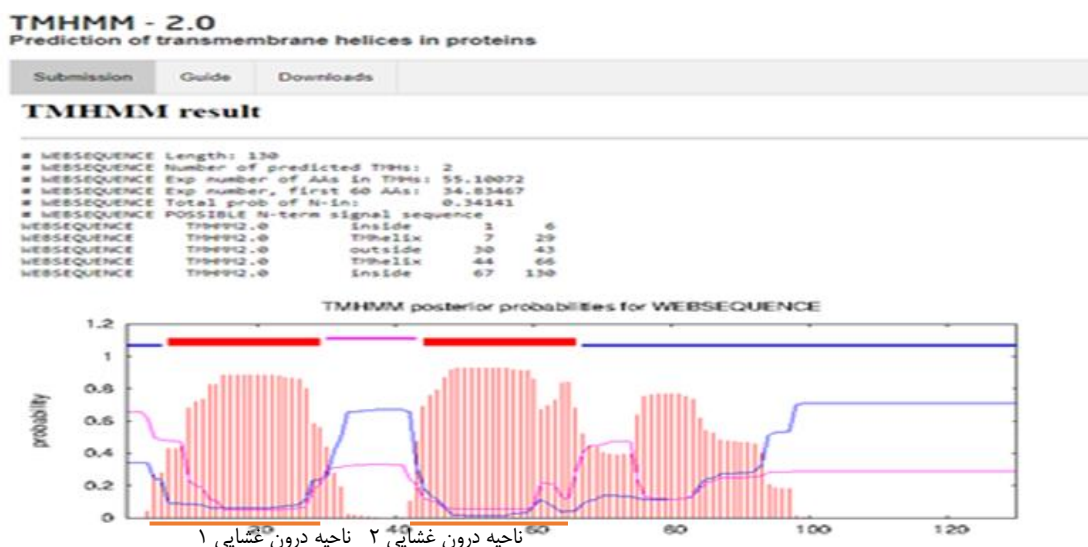
^۱. نقطه ایزو الکتریک، نقطه‌ای در شیب گرادیان PH که بار الکتریکی پروتئین در آن برابر صفر می‌باشد.

پروتئین‌های فراوان در مرحله جنین‌زایی دیررس^۴ (LEA) پروتئین‌های ذاتاً بی‌نظم^۵ (IDPs) هستند که اغلب با تحمل خشکی مرتبط هستند (Darling et al. 2019). protein kinase SNF1-type serine-threonine یک پروتئین ناپایدار با وزن مولکولی ۴۱/۹۳ کیلودالتون و با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول است. پروتئین کیناز SNF1 مخمر بسیار محافظت شده است و نقش‌های محوری در رشد و پاسخ‌های متابولیکی به تنش سلولی دارد (Slocombe et al. 2002). CBF protein 4 یک پروتئین ناپایدار با وزن مولکولی ۲۴/۵۴ کیلودالتون و نیمه عمر بیشتر از ۲۰ ساعت در سلول می‌باشد. پروتئین NF-YB1 یک پروتئین پایدار با وزن مولکولی ۱۷/۵۸ کیلودالتون و با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول می‌باشد. پروتئین^۶ (NF-YB) یک خانواده چند ژنی در گیاهان را شامل می‌شود که نقش مهمی در رشد، توسعه و پاسخ به تنش محیطی دارد (Liang et al. 2012). پروتئین HVA1، پروتئینی پایدار با وزن مولکولی ۲۱/۸۱ کیلودالتون و با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول می‌باشد. در میان تنش‌های مختلف، تنش خشکی و گرمایی به شدت بر رشد و بهره‌وری گندم تأثیر می‌گذارد. HVA1، عضوی از گروه ۳ پروتئین LEA، به خوبی شناخته شده است که در برابر تنش خشکی محافظت می‌کند (Sivamani et al. 2000). بیشترین وزن مولکولی مربوط به پروتئین Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel ۶۵/۹۱ کیلودالتون و با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول جزو پروتئین‌های ناپایدار می‌باشد.

شناسایی نواحی درون غشایی پروتئین‌ها: در این بررسی توسط نرم‌افزار TMHMM، همانطور که در شکل ۱ دیده می‌شود، دو ناحیه درون غشایی شناسایی شده است. از میان ۱۷ پروتئین تحمل به خشکی جو، تنها پنج پروتئین دارای ناحیه درون غشایی بودند. در بررسی قسمت‌های درون غشایی پروتئین Low temperature-induced با استفاده از نرم‌افزار TMHMM مشخص شد که این پروتئین دارای دو ناحیه درون غشایی است (شکل ۲). پروتئین LT⁷ یک پروتئین غشایی با طول تقریباً ۵۴ اسید آمینه در گیاه جو شناسایی شده است. تحمل دمای پایین در غلات به یک سیستم بسیار یکپارچه از ژن‌های ساختاری، تنظیمی و رشدی وابسته است. حساسیت دوره نوری^۸ (PP) به گیاهان اجازه می‌دهد تا تحمل LT را برای مدت طولانی تری تحت شرایط روز کوتاه^۳ (SD) در مقایسه با محیط‌های روز طولانی^۴ (White et al. 1994) حفظ کنند (Mahfoofi et al. 2001). در بررسی پروتئین Epidermal patterning factor-like protein با نرم‌افزار TMHMM، یک ناحیه درون غشایی شناسایی شد (شکل ۳). Niwa, et al (2013) در طی بررسی‌هایی دریافتند که رشد روزنه‌ای در اپیدرم آرابیدوپسیس به طور مثبت و منفی توسط خانواده‌ای از پپتیدهای غنی از Cys، مانند فاکتورهای الگوی اپیدرمی (EPFLs) تنظیم می‌شود. اعضای خانواده فاکتورهای

4. Late Embryogenesis Abundant
5. intrinsically disordered proteins
6. NUCLEAR FACTOR-Y subunit B
7. Low temperature
8. photoperiod

الگوی اپیدرمی (EPFL) نقش‌های متنوعی در رشد و نمو گیاه از جمله هدایت گل آذین و طول ساقه ایفا می‌کنند (Niwa et al. ,2013).



شکل ۱. نتایج بررسی پروتئین HVA22 با نرم‌افزار TMHMM

Figure 1. Results of HVA22 protein analysis with TMHMM software

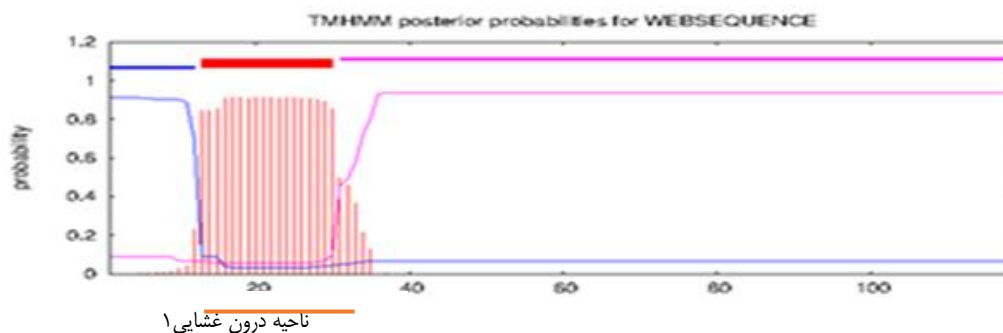


شکل ۲. نتایج بررسی پروتئین Low temperature-induced توسط نرم‌افزار TMHMM

Figure 2. The results of low temperature-induced protein analysis by TMHMM software

TMHMM result

```
# WEBSEQUENCE Length: 119
# WEBSEQUENCE Number of predicted TMs: 1
# WEBSEQUENCE Exp number of AAs in TMs: 18.1481
# WEBSEQUENCE Exp number, first 60 AAs: 18.1446
# WEBSEQUENCE Total prob of N-in: 0.91208
# WEBSEQUENCE POSSIBLE N-term signal sequence
# WEBSEQUENCE Tm99v2.0 inside 1 12
# WEBSEQUENCE Tm99v2.0 Tm-helix 13 30
# WEBSEQUENCE Tm99v2.0 outside 31 119
```

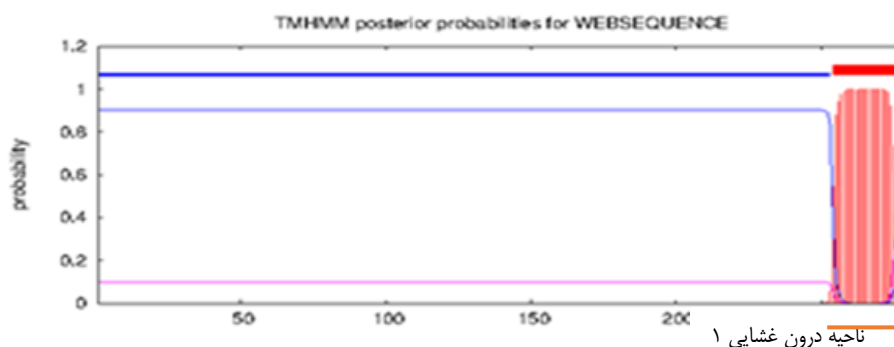


شکل ۳. نتایج بررسی Epidermal patterning factor-like protein با نرم افزار TMHMM
Figure 3. The results of Epidermal patterning factor-like protein with TMHMM software

در بررسی پروتئین Putative syntaxin-related با نرم افزار TMHMM، یک ناحیه درون غشایی شناسایی شد (شکل ۳). پروتئین های کانال و ترشحی نقش اصلی را در ورود و خروج مواد به داخل سلول و خارج از سلول دارند به همین دلیل سیستم ترشحی گیاه عامل مهمی برای مقاومت در محیط پیرامونی سلول است. این سیستم نه تنها در دفاع از پاتوژن، بلکه در فرآیندهای رشد بنیادی و همچنین سازگاری با تنش نقش دارد (Lipka et al. 2007).

TMHMM result

```
# WEBSEQUENCE Length: 279
# WEBSEQUENCE Number of predicted TMs: 1
# WEBSEQUENCE Exp number of AAs in TMs: 21.9748
# WEBSEQUENCE Exp number, first 60 AAs: 0.00126
# WEBSEQUENCE Total prob of N-in: 0.90148
# WEBSEQUENCE Tm99v2.0 inside 1 253
# WEBSEQUENCE Tm99v2.0 Tm-helix 254 276
# WEBSEQUENCE Tm99v2.0 outside 277 279
```



شکل ۴. نتایج بررسی پروتئین Putative syntaxin-related توسط نرم افزار TMHMM
Figure 4. The results of Putative syntaxin-related protein analysis by TMHMM software

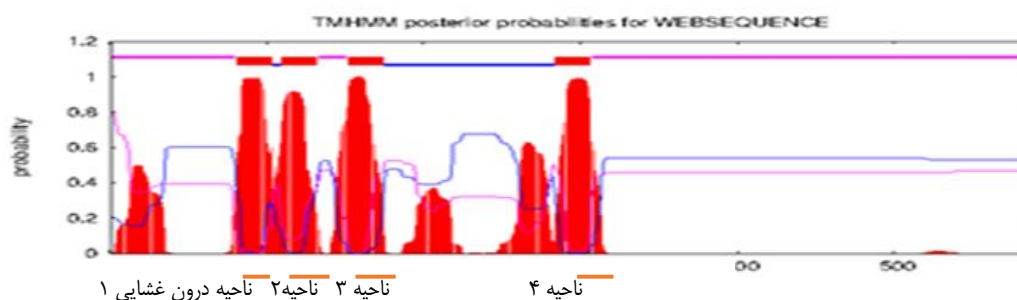
در بررسی قسمت‌های درون غشایی Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel protein با استفاده از نرم‌افزار TMHMM مشخص شد که این پروتئین دارای چهار ناحیه درون غشایی است (شکل ۵). در صورت داشتن یک ناحیه درون غشایی انتهای آمینی پروتئین، این پروتئین‌ها به عنوان پروتئین‌های ترشحی عمل می‌کنند ولی اگر چند ناحیه درون غشایی در یک پروتئین وجود داشته باشد چنین پروتئین‌هایی نقش ورود و خروج مواد را به عهده دارند. طی بررسی‌های Köhler et al. (1999) بر روی گیاه آرابیدوپسیس مشخص شد که یک دمین اتصال نوکلئوتیدی حلقوی فرضی (CNBD) که حاوی چندین باقیمانده است که در CNBD های دیگر ثابت هستند، در انتهای کربوکسی قرار دارد. این دمین با محل اتصال کالمودولین (CaM) پیش‌بینی شده همپوشانی دارد، که نشان‌دهنده تعامل بین نوکلئوتید حلقوی و تنظیم CaM است (Köhler et al. 1999).

TMHMM result

```

# WEBSEQUENCE Length: 587
# WEBSEQUENCE Number of predicted TMs: 4
# WEBSEQUENCE Exp number of AAs in TMs: 117.29408
# WEBSEQUENCE Exp number, first 60 AAs: 10.6078
# WEBSEQUENCE Total prob of N-in: 0.20930
# WEBSEQUENCE POSSIBLE N-term signal sequence
WEBSEQUENCE Tm99912.0 outside 1 50
WEBSEQUENCE Tm99912.0 Tmhelix 81 103
WEBSEQUENCE Tm99912.0 inside 104 109
WEBSEQUENCE Tm99912.0 Tmhelix 110 132
WEBSEQUENCE Tm99912.0 outside 133 151
WEBSEQUENCE Tm99912.0 Tmhelix 152 174
WEBSEQUENCE Tm99912.0 inside 175 263
WEBSEQUENCE Tm99912.0 Tmhelix 264 306
WEBSEQUENCE Tm99912.0 outside 307 587

```



شکل ۵. نتایج بررسی پروتئین putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel با نرم‌افزار TMHMM

Figure 5. The results of putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel protein investigation with TMHMM software

بررسی تغییرات پس ترجمه‌ای و دمین‌های پروتئینی: نتایج حاصل از بررسی پروتئین Low temperature-induced برای شناسایی تغییرات پس ترجمه‌ای با نرم‌افزار ScanProsite در جدول ۳ ارائه شده است. در این پروتئین، یک الگو تشخیص داده شد. با توجه به تغییرات پس ترجمه‌ای متنوعی که در این پروتئین‌ها قبل از ایفای نقش تحت تنش خشکی وجود داشت، این پروتئین‌ها برای تجزیه و تحلیل انتخاب شدند.

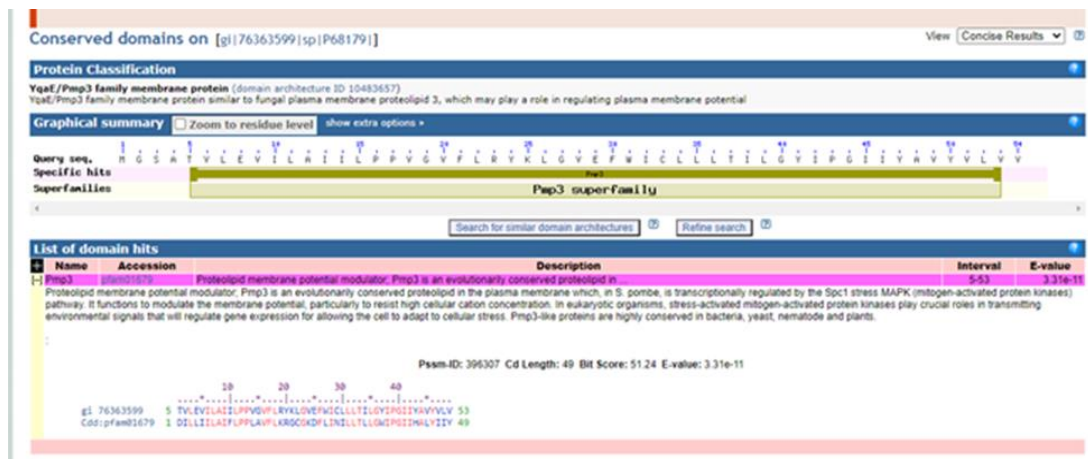
جدول ۳. الگوهای شناسایی شده توسط نرم افزار ScanProsite در پروتئین Low temperature-induced

Table 3. Patterns detected by ScanProsite software in Low temperature-induced

نام پروتئین Protein name	الگوهای شناسایی شده Identified patterns	پروفایل‌های شناسایی شده Identified profiles
Low temperature-induced (54 aa)	Uncharacterized protein family UPF0057 signature : UPF0057 Position: 10 – 25	-

شکل ۶ نتایج حاصل از بررسی پروتئین Low temperature-induced با نرم‌افزار CDD را نشان می‌دهد. در این پروتئین از اسیدآمینه شماره ۵ تا ۵۳ یک دمین شناسایی شد که در شکل ۶ با نوارقهوه ای رنگ مشخص شده است. این دمین با عنوان Proteolipid membrane potential modulator از خانواده Pmp3 می‌باشد. پروتئولپید ۳ غشای پلاسمایی از پلی پپتیدهای آگریز کوچک فراوانی با دو ماریچ آلفا شده تشکیل شده است به همین دلیل یک پروتئین پایدار می‌باشد. اثر اولیه تنش‌های غیرزیستی بر دیواره سلولی و غشای پلاسمایی که رابط بین سلول و محیط خارجی است اعمال می‌شود. غشای پلاسمایی نقش مهمی در سالم نگه داشتن سلول، حفظ اسمز سلولی و انتقال علامت دارد. در گیاهان، یک دیواره سلولی سفت و سخت که عمدتاً از سلولز، همی سلولز و پکتین تشکیل شده است، پروتئین غشایی را احاطه کرده است که پایداری و ایمنی را در برابر هرگونه آسیب مکانیکی فراهم می‌کند (Lamers et al. 2020). تنش‌های غیرزیستی مختلف، مانند دمای شدید، شوری و خشکی، با فعال کردن آنزیم‌های مختلف، مانند فسفولیپازها، باعث تخریب متمایز لیپیدهای غشا (به طور عمده فسفولیپیدها) می‌شوند. علاوه بر کاهش مقدار، ترکیب لیپیدهای غشایی (به عنوان مثال، طول زنجیره آسیل چرب، درجه اشباع نشدن) در پاسخ به استرس تغییر می‌کند. باعث می‌شود غشا یکپارچگی و نفوذپذیری خود را از دست بدهد زیرا لیپیدها اجزای ساختاری اصلی غشاها هستند و نقش مهمی در حفظ ثبات، یکپارچگی و نفوذپذیری غشا ایفا می‌کنند، حتی تغییرات جزئی در لیپیدها می‌تواند بر خواص فیزیکی غشاء تأثیر بگذارد (Wang et al. 2020). بنابراین، بازسازی لیپید غشا یکی از استراتژی‌های کارآمدی است که توسط گیاهان برای مقابله با تنش‌های غیرزیستی اتخاذ شده است (Liu et al. 2019). پروتئین Pmp3 به عنوان تعدیل کننده پتانسیل غشای پلاسمایی برای حفظ هموستاز یون سلولی شناخته شده است (Lyons et al. 1979).

براساس نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل الگوها و پروفایل‌ها توسط نرم‌افزار ScanProsite برای پروتئین HvZFP16-1، یک پروفایل و یک الگو شناسایی شد (جدول ۴). نتایج حاصل از بررسی پروتئین (HvZFP16-1) ZFP16-1 با نرم‌افزار CDD نشان می‌دهد که در این پروتئین یک دمین در دو جایگاه مختلف شناسایی شده است (شکل ۷). دمین شناسایی شده با عنوان C2H2-type zinc finger از خانواده zf-C2H2_6 می‌باشد. پروتئین‌های انگشت روی نقش مهمی در بسیاری از عملکردهای سلولی از جمله تنظیم رونویسی، اتصال RNA، تنظیم آپوپتوز و برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین دارند.



شکل ۶. نتایج حاصل از بررسی پروتئین Low temperature-induced با نرم افزار CDD

Figure 6. The results of low temperature-induced protein analysis with CDD software

جدول ۴. الگوها و پروفایل‌های شناسایی شده توسط نرم افزار ScanProsite در پروتئین ZFP16-1

(HvZFP16-1)

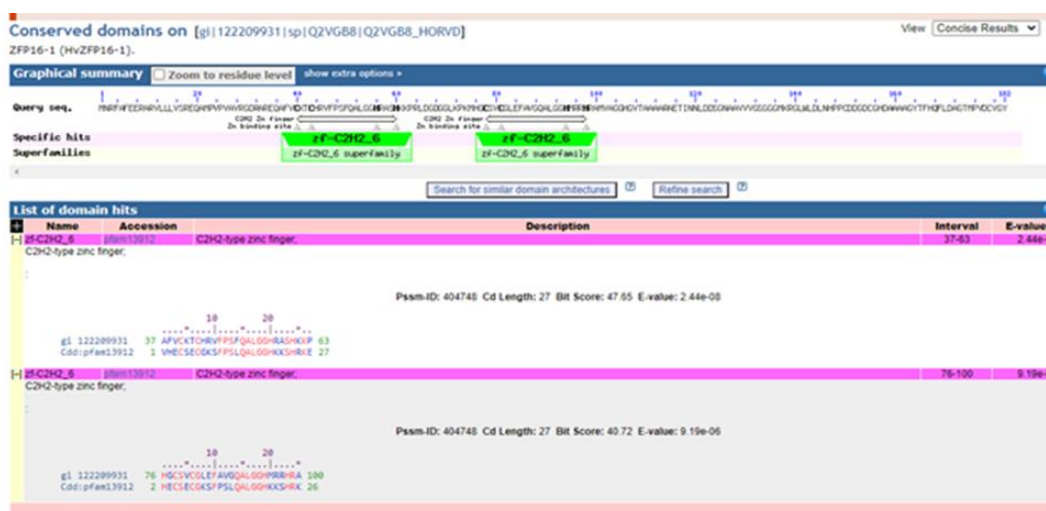
Table 4. Patterns and profiles identified by ScanProsite software in ZFP16-1 protein (HvZFP16-1)

پروفایل‌های شناسایی شده Identified profiles	الگوهای شناسایی شده Identified patterns	نام پروتئین Protein name
Zinc finger C2H2 type domain profile : ZINC_FINGER_C2H2_2 Position: 38 – 65	Zinc finger C2H2 type domain signature : ZINC_FINGER_C2H2_1 Position: 40 - 60	ZFP16-1 (HvZFP16-1) (182 aa)

آنها به چندین نوع مختلف از جمله C2H2، C2C2، C2HC، C2C2C2C2 و C2HCC2C2 که بر اساس تعداد و ترتیب Cys و باقیمانده‌های آن که یون روی را در ساختار ثانویه انگشت متصل می‌کنند، طبقه بندی می‌شوند. در میان انواع مختلف انگشت روی، پروتئین‌های انگشت روی نوع C2H2 یکی از بهترین و فراوان‌ترین پروتئین‌های مورد مطالعه در یوکاریوت‌ها هستند. پروتئین‌های انگشت روی نوع C2H2 حاوی یکی از بهترین ویژگی‌های موتیف‌های اتصال به DNA هستند که در یوکاریوت‌ها یافت می‌شود. این موتیف عمدتاً از حدود ۳۰ اسید آمینه تشکیل شده است و شامل دو Cys حفظ شده و دو باقیمانده His حفظ شده است که به صورت چهار وجهی به یک یون روی متصل شده‌اند (Laity et al. 2001; Pabo et al. 2001).

پروتئین 1 Dehydration responsive element binding جزو پروتئین‌های اتصال دهنده عنصر پاسخگو به کم آبی (DREB1) است که تغییراتی را در برخی از نقش‌های حفاظت شده و عملکرد بیولوژیکی در گونه‌های مختلف نشان می‌دهند (Xu et al. 2009). نتایج حاصل از بررسی این پروتئین با نرم افزار ScanProsite در جدول ۵ ارائه شده است. شکل ۸ نتایج حاصل از بررسی Dehydration responsive element binding protein 1 با نرم افزار CDD را نشان می‌دهد.

دمین‌های شناسایی شده تحت عناوین APETALA2 and DNA-binding domain in plant proteins such as EREBPs از خانواده AP2 و [وظایف ناشناخته] Uncharacterized protein از خانواده COG4719 می‌باشند.



شکل ۷. نتایج حاصل از بررسی پروتئین ZFP16-1 (HvZFP16-1) توسط نرم‌افزار CDD

Figure 7. The results of examining ZFP16-1 (HvZFP16-1) protein by CDD software

جدول ۵. الگوها و پروفایل‌های شناسایی شده توسط نرم‌افزار ScanProsite در پروتئین responsive element binding 1

Table 5. Patterns and profiles detected by ScanProsite software in protein Dehydration responsive element binding 1

پروفایل‌های شناسایی شده Identified profiles	الگوهای شناسایی شده Identified patterns	نام پروتئین Protein name
AP2/ERF domain profile : AP2_ERF Position: 76 – 133	-	Dehydration responsive element binding protein 1. (278 aa)

ژن $AP2^9$ هویت مریستم، مشخصات اندام گل و رشد پوشش بذر را تنظیم می‌کند. اگرچه $AP2$ دمین MADS را ندارد اما حاوی دو نسخه از یک موتیف $nove1$ است که دمین $AP2$ نامیده می‌شود. ناحیه مرکزی دمین $AP2$ یک مارپیچ آمفی‌پاتیک را تشکیل می‌دهد که واسطه برهمکنش پروتئین-پروتئین است. وجود یک ناحیه اسیدی و غنی از سرین در خارج از دمین $AP2$ به عنوان یک تنظیم کننده رونویسی در نظر گرفته شده است (Jofuku et al. 1994). کالمودولین یکی از گسترده‌ترین پروتئین‌های حساس به Ca^{2+} است که در انتقال علامت‌های Ca^{2+} نقش دارد. پس از برهمکنش با Ca^{2+} ، CaM دستخوش تغییرات ساختاری می‌شود و فعالیت‌های طیف متنوعی از پروتئین‌های اتصال دهنده به اندامک را تحت تاثیر قرار می‌دهد. CaM نه تنها به عنوان حسگر Ca^{2+} عمل می‌کند، بلکه با تعدیل فعالیت Ca^{2+} -ATPases، سطوح درون سلولی آن را نیز تنظیم می‌کند (Virdi

⁹. APETALA2

Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion پروتئین (et al. 2015). نتایج حاصل از بررسی پروتئین channel توسط نرم افزار ScanProsite در (جدول ۶) ارائه شده است.



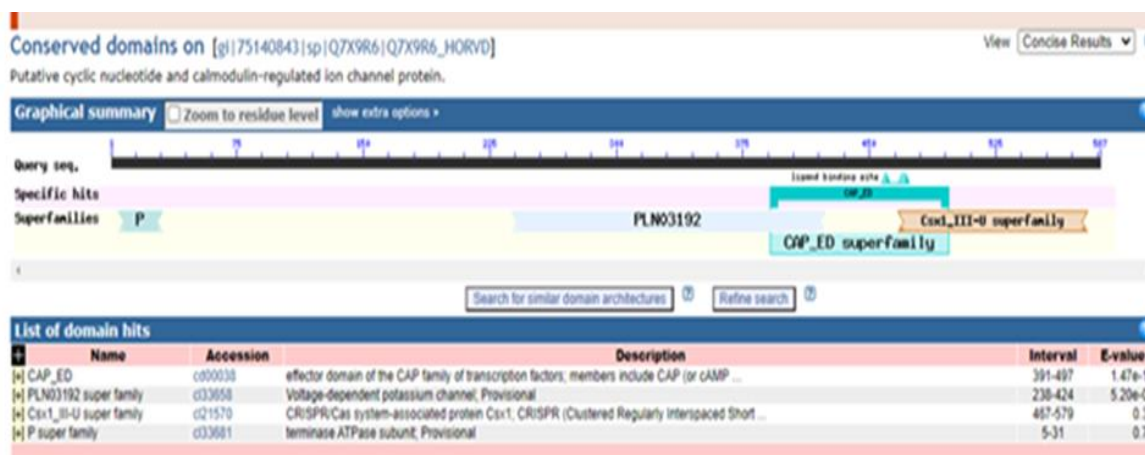
شکل ۸. نتایج حاصل از بررسی پروتئین Dehydration responsive element binding 1 با نرم افزار CDD
 Figure 8. The results of examining Dehydration responsive element binding 1 protein with CDD software

جدول ۶. الگوها و پروفایل‌های شناسایی شده توسط نرم افزار ScanProsite در پروتئین Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel
 Table 6. Patterns and profiles detected by ScanProsite software in Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel proteins

نام پروتئین Protein name	الگوهای شناسایی شده Identified patterns	پروفایل‌های شناسایی شده Identified profiles
Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel (587 aa)	-	cAMP/cGMP binding motif profile : CNMP_BINDING_3 Position: 391 - 479

نتایج حاصل از بررسی پروتئین Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel با نرم افزار CDD در شکل ۹ نشان داده شده است. در این پروتئین توسط این نرم افزار چهار دمین شناسایی شد. دمین اول با عنوان Voltage-dependent potassium channel، دمین دوم CAP_ED، دمین سوم CRISPR/Cas system-associated، دمین چهارم PLN03192، دمین پنجم terminase ATPase subunit از خانواده P می‌باشند. یک پروتئین جدید است که برای مقابله با تنش اکسیداتیو ضروری است. خشکی صرفاً یک تنش اسمزی نیست بلکه یک تنش اکسیداتیو نیز محسوب می‌شود. Csx1 بیان اکثر ژن‌های ناشی از تنش اکسیداتیو، از جمله بیشتر ژن‌های تنظیم شده توسط *Spcl* و *Atf1* را کنترل می‌کند (Rodríguez-Gabriel et al. 2003). کانال‌های پتاسیم (K^+) پروتئین‌های غشایی در همه جا

هستند که برای تنظیم دقیق خواص الکتریکی در سلول‌های تحریک پذیر مهم هستند. هر زیرواحد از یک کانال K^+ تترامر شامل یک دامنه آبریز حفاظت شده با شش بخش فرضی است (Goldstein & Miller 1991). ATPase های نوع P یک ابرخانواده بزرگ از پمپ‌های ATP را تشکیل می‌دهند که در انتقال غشایی لایه‌های باردار نقش دارند. ویژگی متمایز آنها تشکیل یک واسطه فسفریله در طول چرخه واکنش (از این رو نوع P) است (Møller et al. 1996).



شکل ۹. نتایج حاصل از بررسی پروتئین Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel توسط نرم‌افزار CDD

Figure 9. The results of the investigation of Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel protein by CDD software

نتیجه گیری: پروتئین HVA22 با وجود ۲ ناحیه درون غشایی به عنوان یک پروتئین تنظیم‌کننده مهم پایین‌دستی ABA است که در مهار مرگ برنامه ریزی شده سلولی با واسطه GA نقش داشته و ضمن انتقال و زیکولی تأثیری مثبت در تحمل جو به تنش خشکی دارد. پروتئین Low temperature-induced با کمترین وزن مولکولی و ۲ ناحیه درون غشایی و یک دمین با عنوان Proteolipid membrane potential modulator یک پلی پپتید آبریز است و در سالم نگه داشتن سلول، حفظ اسمزی و انتقال علامت در تحمل غلات از جمله جو به تنش خشکی نقش ایفا می‌کند. پروتئین Putative cyclic nucleotide and calmodulin-regulated ion channel با بیشترین وزن مولکولی و ۴ ناحیه درون غشایی می‌باشد. از آنجایی که پروتئین کالمادولین یکی از پروتئین‌های حساس به کلسیم است بنابراین در مسیر علامت دهی مرتبط با تنش خشکی و فعال شدن مسیرهای دفاعی و سازگاری در جو نقش دارد. با اطلاعات حاصل از بررسی‌های بیوانفورماتیکی روی گیاه جو به عنوان گیاهی مقاوم به تنش می‌توان نسبت به مهندسی پروتئین اسید آمینه‌های آبریز و آبدوست اقدام و ضمن تغییر در پیوند‌های هیدروژنی، بار یونی و نیروهای واندروالس با تغییر ساختار فضایی پروتئین‌های مورد نظر در راستای تحمل به خشکی جو گام برداشت.

سپاسگزاری: از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز به خاطر حمایت مادی و معنوی در اجرای پژوهش حاضر

سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- جعفری احمدآبادی سید علی اصغر، عسکری همت حشمت‌اله، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۲) تاثیر شاهدانه بر بیان ژن *DLKI* در بافت قلب بره‌های کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۱)، ۲۱۷-۲۳۴.
- شکری سمیرا، خضری امین، محمدآبادی محمدرضا، خیرالدین حمید (۱۴۰۲) بررسی بیان ژن *MYH7* در بافت‌های ران، دست و راسته بره‌های پرواری نژاد کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۲)، ۲۱۷-۲۳۶.
- عبدلی نسب مریم، مرتضوی مجتبی (۱۴۰۰) مطالعه بیوانفورماتیک پروتئین‌های LEA درگیر در تحمل به تنش خشکی در جو (*Hordium vulgare* L.) و برنج (*Oryza sativa* L.). مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۳(۱)، ۱۸۲-۱۵۹.
- محمدآبادی محمدرضا، خیرالدین حمید، آفاناسکو ولودیمیر، و همکاران (۱۴۰۳) نقش هوش مصنوعی در ژنومیکس. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۶(۲)، ۲۷۹-۱۹۵.
- محمدآبادی محمدرضا، گلکار افروز، عسکری حسنی مجید (۱۴۰۲) اثر رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر بیان ژن فاکتور ۱ رشد شبه انسولین در بافت شکمبه گوسفند کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۴)، ۲۳۹-۲۵۶.

References

- Abdoli Nasab M, Mortezaei M (2021) Bioinformatics study of LEA proteins involved in tolerance to drought stress in barley (*Hordium vulgare* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *Agric Biotechnol J* 13(1), 159-182 (In Persian).
- Akbudak MA, Filiz E (2020) Genome-wide investigation of proline transporter (ProT) gene family in tomato: Bioinformatics and expression analyses in response to drought stress. *Plant Physiol Biochem* 157, 13-22.
- Ashoub A, Beckhaus T, Berberich T, et al. (2013) Comparative analysis of barley leaf proteome as affected by drought stress. *Planta* 237, 771-781.
- Attwood TK, Blythe MJ, Flower DR, et al. (2002) PRINTS and PRINTS-S shed light on protein ancestry. *Nucleic Acids Res* 30, 239-241.
- Barazandeh A, Mohammadabadi MR, Ghaderi-Zefrehei M, Nezamabadipour H (2016) Predicting CpG Islands and Their Relationship with Genomic Feature in Cattle by Hidden Markov Model Algorithm. *Iran J Appl Anim Sci* 6 (3), 571-579.
- Benetka W, Koranda M, Eisenhaber F (2006) Protein prenylation: An (almost) comprehensive overview on discovery history, enzymology, and significance in physiology and disease. *Monatsh. Für Chem* 137, 1241-1281.

- Blom N, Sicheritz PT, Gupta R, et al. (2004) Prediction of post-translational glycosylation and phosphorylation of proteins from the amino acid sequence. *Proteomics* 4 (6), 1633-1649.
- Bordbar F, Mohammadabadi M, Jensen J, et al. (2022) Identification of candidate genes regulating carcass depth and hind leg circumference in simmental beef cattle using Illumina Bovine Beadchip and next-generation sequencing. *Animals* 12 (9), e1103
- Borden K, Boddy M, Lally J, et al. (1995) The solution structure of the RING finger domain from the acute promyelocytic leukaemia proto-oncoprotein PML. *EMBO J* 14, 1532-1541.
- Boutet E, Lieberherr D, Tognolli M, et al. (2016) UniProtKB/Swiss-Prot, the manually annotated section of the UniProt KnowledgeBase: how to use the entry view. *Methods Mol Biol* 1374, 23-54.
- Cai D, Liu H, Sang N, et al. (2017) Identification and characterization of CONSTANS-like (COL) gene family in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *PLoS One* 12, e0179038.
- Casaretto J, Ho T-hD (2003) The transcription factors HvABI5 and HvVP1 are required for the abscisic acid induction of gene expression in barley aleurone cells. *The Plant Cell* 15, 271-284.
- Darling AL, Zaslavsky BY, Uversky VN (2019) Intrinsic disorder-based emergence in cellular biology: Physiological and pathological liquid-liquid phase transitions in cells. *Polymers* 11, e990.
- Dhatterwal P, Basu S, Mehrotra S, et al. (2019) Genome wide analysis of W-box element in *Arabidopsis thaliana* reveals TGAC motif with genes down regulated by heat and salinity. *Sci Rep* 9, e1681.
- Dunn MA, Hughes MA, Zhang L, et al. (1991) Nucleotide sequence and molecular analysis of the low temperature induced cereal gene, BLT4. *Mol Gen Genet* 229(3), 389-394.
- Goddard NJ, Dunn MA, Zhang L, et al. (1993) Molecular analysis and spatial expression pattern of a low-temperature-specific barley gene, blt101. *Plant Mol Biol* 23(4), 871-879.
- Goldstein SA, Miller C (1991) Site-specific mutations in a minimal voltage-dependent K⁺ channel alter ion selectivity and open-channel block. *Neuron* 7, 403-408.
- Hughes J, Hepworth C, Dutton C, et al. (2017) Reducing Stomatal Density in Barley Improves Drought Tolerance without Impacting on Yield. *Plant Physiol* 174(2), 776-787.
- Jafari Ahmadabadi SAA, Askari-Hemmat H, Mohammadabadi M, et al. (2023) The effect of Cannabis seed on DLK1 gene expression in heart tissue of Kermani lambs. *Agric Biotechnol J* 15(1), 217-234 (In Persian).
- Jofuku KD, Den Boer B, Van Montagu M, et al. (1994) Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene APETALA2. *The Plant Cell* 6, 1211-1225.

- Kirchmair J, Markt P, Distinto S, et al. (2008) Evaluation of the performance of 3D virtual screening protocols: RMSD comparisons, enrichment assessments, and decoy selection—what can we learn from earlier mistakes? *J Comput Aid Mol Des* 22, 213-228.
- Knox AK, Dhillon T, Cheng H, et al. (2010) CBF gene copy number variation at Frost Resistance-2 is associated with levels of freezing tolerance in temperate-climate cereals. *Theor Appl Genet* 121(1), 21-35.
- Köhler C, Merkle T, Neuhaus G (1999) Characterisation of a novel gene family of putative cyclic nucleotide-and calmodulin-regulated ion channels in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 18, 97-104.
- Kumar S, Shanker A (2018) Bioinformatics Resources for the stress biology of plants. In Book: *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants* pp. 367-386.
- Kyte J, Doolittle RF (1982) A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J Mol Biol* 157(1), 105-132.
- Laity JH, Lee BM, Wright PE (2001) Zinc finger proteins: new insights into structural and functional diversity. *Curr Opin Struc Boil* 11, 39-46.
- Lamers J, van der Meer T, Testerink C (2020) How plants sense and respond to stressful environments. *Plant Physiol.* 182, 1624-1635.
- Liang M, Hole D, Wu J, et al. (2012) Expression and functional analysis of nuclear factory, subunit B genes in barley. *Planta* 235, 779-791.
- Lipka V, Kwon C, Panstruga R (2007) SNARE-ware: the role of SNARE-domain proteins in plant biology. *Annu Rev Cell Dev Biol* 23, 147-174.
- Liu J, Shabala S, Shabala L, et al. (2019) Tissue-specific regulation of Na⁺ and K⁺ transporters explains genotypic differences in salinity stress tolerance in rice. *Front. Plant Sci* 10, e1361.
- Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, et al. (1998) Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought-and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10(8), 1391-1406.
- Luscombe NM, Greenbaum D, Gerstein M (2001) What is bioinformatics? A proposed definition and overview of the field. *Method Inform Med* 40, 346-358.
- Lyons J, Graham D, Raison JK (1979) Low temperature stress in crop plants: the role of the membrane. Elsevier. pp. 565.
- Mahfoozi S, Limin A, Fowler D (2001) Developmental regulation of low-temperature tolerance in winter wheat. *Ann Bot* 87, 751-757.
- Marchler-Bauer A, Lu S, Anderson JB, et al. (2010) CDD: a Conserved Domain Database for the functional annotation of proteins. *Nucleic Acids Res* 39, D225-D229.

- Mayer KF, Waugh R, Brown JW, et al. (2012) A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature* 491(7426), 711-716.
- Mohammadabadi M, Golkar A, Askari Hesni M (2023) The effect of fennel (*Foeniculum vulgare*) on insulin-like growth factor 1 gene expression in the rumen tissue of Kermani sheep. *Agric Biotechnol J* 15(4), 239-256 (In Persian).
- Mohammadabadi M, Kheyroodin H, Afanasenko V, et al. (2024) The role of artificial intelligence in genomics. *Agric Biotechnol J* 16(2), 195-279 (In Persian).
- Mohammadinejad F, Mohammadabadi M, Roudbari Z, Sadkowski T (2022) Identification of Key Genes and Biological Pathways Associated with Skeletal Muscle Maturation and Hypertrophy in *Bos taurus*, *Ovis aries*, and *Sus scrofa*. *Animals* 12(24), e3471 (In Persian).
- Møller JV, Juul B, le Maire M (1996) Structural organization, ion transport, and energy transduction of P-type ATPases. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr* 1286, 1-51.
- Moore AD, Björklund ÅK, Ekman D, et al. (2008) Arrangements in the modular evolution of proteins. *Trends Biochem Sci* 33(9), 444-451.
- Nejad FM, M Mohammadabadi, Z Roudbari, et al. (2024) Network visualization of genes involved in skeletal muscle myogenesis in livestock animals. *BMC Genomics* 25(1), e294
- Niwa T, Kondo T, Nishizawa M, et al. (2013) Epidermal patterning factor like5 peptide represses stomatal development by inhibiting meristemoid maintenance in *Arabidopsis thaliana*. *Biosci Biotechnol Biochem* 77, 1287-1295.
- Pabo CO, Peisach E, Grant RA (2001) Design and selection of novel Cys2His2 zinc finger proteins. *Annu Rev Biochem* 70, 313-340.
- Rani S, Chaudhary A, Rani K (2018) Management strategies for abiotic stresses in barley. *Wheat Barley Res* 10, 151-165.
- Richardson JS (1981) The anatomy and taxonomy of protein structure. *Adv Protein Chem* 34, 167-339.
- Rodríguez-Gabriel MA, Burns G, McDonald WH, et al. (2003) RNA-binding protein Csx1 mediates global control of gene expression in response to oxidative stress. *EMBO J* 22, 6256-6266.
- Moller S, Croning MDR, Apweiler R (2001) Evaluation of methods for the prediction of membrane spanning regions. *Bioinformatics* 17(7), 646-653.
- Saadatabadi LM, Mohammadabadi M, Nanaei HA, et al. (2023) Unraveling candidate genes related to heat tolerance and immune response traits in some native sheep using whole genome sequencing data. *Small Rumin Res* 225, e107018.

- Safaei SMH, Dadpasand M, Mohammadabadi M, et al. (2022) An Origanum majorana Leaf Diet Influences Myogenin Gene Expression, Performance, and Carcass Characteristics in Lambs. *Animals* 13(1), e14
- Safaei SMH, Mohammadabadi M, Moradi B, et al. (2024) Role of fennel (*foeniculum vulgare*) seed powder in increasing testosterone and IGF1 gene expression in the testis of lamb. *Gene Express* 23(2), 98-105.
- Séverine D, Chiara G, Frédérique L, et al. (2021) Expasy, the Swiss bioinformatics resource portal, as designed by its users. *Nucleic Acids Res* 49(W1), W216-W227.
- Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2022) Effect of Fennel (*Foeniculum Vulgare*) Seed Powder Consumption on Insulin-like Growth Factor 1 Gene Expression in the Liver Tissue of Growing Lambs. *Gene Expr* 21(2), 21-26.
- Shen Q, Chen C-N, Brands A, et al. (2001) The stress-and abscisic acid-induced barley gene HVA22: developmental regulation and homologues in diverse organisms. *Plant Mol Biol* 45, 327-340.
- Shen Q, Uknes SJ, Ho TH (1993) Hormone response complex in a novel abscisic acid and cycloheximide-inducible barley gene. *J Biol Chem* 268(31), 23652-23660.
- Shokri S, Khezri A, Mohammadabadi M, Kheyrodin H (2023) The expression of MYH7 gene in femur, humeral muscle and back muscle tissues of fattening lambs of the Kermani breed. *Agric Biotechnol J* 15(2), 217-236 (In Persian).
- Sigrist CJA, Bridge A, Le Mercier P (2020) A potential role for integrins in host cell entry by SARS-CoV-2. *Antiviral Res* 177, e104759.
- Sivamani E, Bahieldin A, Wraith JM, et al. (2000) Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley HVA1 gene. *Plant Sci* 155, 1-9.
- Skinner JS, Szucs P, von Zitzewitz J, et al. (2006) Mapping of barley homologs to genes that regulate low temperature tolerance in *Arabidopsis*. *Theor Appl Genet* 112(5), 832-842.
- Slocombe SP, Laurie S, Bertini L, et al. (2002) Identification of SnIP1, a novel protein that interacts with SNF1-related protein kinase (SnRK1). *Plant Mol Biol* 49, 31-44.
- Stegmaier M, Yang B, Yoo JS, et al. (1998) Three novel proteins of the syntaxin/SNAP-25 family. *J Biol Chem* 273(51), 34171-34179.
- Turhan H, Baser I (2004) In vitro and in vivo water stress in sunflower (*Helianthus Annuus* L.)/Estrés Hídrico En Girasol (*Helianthus annuus* L.) En Las Condiciones in vitro E in vivo/stress D'eau Du Tournesol (*Helianthus annus* L.) Dans Les Conditions in vitro Et in vivo. *Helia* 27, 227-236.

- Virdi AS, Singh S, Singh P (2015) Abiotic stress responses in plants: roles of calmodulin-regulated proteins. *Front. Plant Sci* 6, e809.
- Wang H, Lu S, Guan X, et al. (2022) Dehydration-responsive element binding protein 1C, 1E, and 1G promote stress tolerance to chilling, heat, drought, and salt in rice. *Front Plant Sci* 13, e851731.
- Wang J, Chitsaz F, Derbyshire - MK, et al. (2023) The conserved domain database in 2023. *Nucleic Acids Res* 51(D), D384-D388.
- Wang Y, Zhang X, Huang G, et al. (2020) Dynamic changes in membrane lipid composition of leaves of winter wheat seedlings in response to PEG-induced water stress. *BMC Plant Biol* 20, 1-15.
- White TC, Simmonds D, Donaldson P, et al. (1994) Regulation of BN115, a low-temperature-responsive gene from winter *Brassica napus*. *Plant Physiol* 106, 917-928.
- Wilkins MR, Gasteiger E, Bairoch A, et al. (1999) Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. *Methods Mol Biol* 112, 531-552.
- Xu Z-S, Ni Z-Y, Li Z-Y, et al. (2009) Isolation and functional characterization of HvDREB1—a gene encoding a dehydration-responsive element binding protein in *Hordeum vulgare*. *J Plant Res* 122, 121-130.
- Zdobnov EM, Apweiler R (2001) InterProScan—an integration platform for the signature-recognition methods in InterPro. *Bioinformatics* 17, 847-848.