



مقایسه ساختمان پمپ انتقال دهنده فلزات سنگین در گیاه فرآینباشتگر تالاسپی و گیاه مدل آرابیدوپسیس

اشرفی دهکردی، الهام* (دانشجوی کارشناسی ارشد، elhamashrafi@gmail.com)،

عالمزاده، عباس** (استادیار، alemzadeh@shirazu.ac.ir)

ابراهیمی، اسماعیل (استادیار، ebrahimie@shirazu.ac.ir)

دانشگاه شیراز، دانشکده کشاورزی، بخش زراعت و اصلاح نباتات، کد پستی: ۷۱۴۴۱۶۵۱۸۶

چکیده

در دهه گذشته ورود آلاینده‌هایی مانند فلزات سنگین به محیط زیست به حدی افزایش یافته است که به عنوان خطری جدی برای محیط زیست مطرح شده‌اند. با استفاده از برنامه‌های رایانه‌ای و بانک‌های اطلاعاتی توالی اسید آمینه‌ای و ساختار پروتئینی پمپ P_{1B} -ATPase در دو گیاه *Thlaspi caerulescens* به عنوان یک گیاه مدل فرآینباشتگر و گیاه *thaliana Arabidopsis* به عنوان گیاه مدل ژنتیکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با توجه به اینکه گیاهان فرآینباشتگر می‌توانند ۱۰ تا ۵۰۰ برابر بیشتر از گیاهان معمولی و حساس فلزات سنگین را در خود انباشته کنند، در این مطالعه ۳۳ خصوصیت مختلف، توالی‌های اسیدآمینه‌ای پمپ P_{1B} -ATPase مربوط به گیاه فرآینباشتگر *T. caerulescens* و گیاه مدل *A. thaliana* به منظور تعیین شباهت‌ها و تفاوت‌های این پمپ در گیاه فرآینباشتگر و *A. thaliana* مقایسه گردید. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که فراوانی عنصر گوگرد، اسید آمینه‌های سیستئین و گلوتامین و طول رشته پلی‌پپتیدی در گیاه فرآینباشتگر بیشتر از *A. thaliana* می‌باشد و فراوانی عنصر کربن و اسیدآمینه فنیل آلانین در *A. thaliana* بیشتر از *T. caerulescens* می‌باشد. توالی اسیدآمینه‌ای در گیاه فرآینباشتگر دارای بار مثبت و منفی بیشتری نسبت به گیاه آرابیدوپسیس بوده و از خاصیت آب‌دوستی بیشتری نیز برخوردار است. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که ساختار بیوشیمیایی این پمپ در گیاه فرآینباشتگر در مقایسه با یک گیاه حساس متفاوت است که می‌تواند یکی از دلایل تحمل بالای این گیاهان در مقایسه با سایر گیاهان باشد.

واژه‌های کلیدی: آرابیدوپسیس، بیوانفورماتیک، تالاسپی، گیاه پالایی، گیاهان فرآینباشتگر



مقدمه

امروزه بر اثر رشد جمعیت، توسعه فن آوری و تغییر در الگوی زندگی، آلاینده‌های زیادی توسط جوامع بشری وارد محیط زیست می‌گردد. از جمله این آلاینده‌ها می‌توان به فلزات سنگین اشاره کرد. ماندگاری و عدم تجزیه فلزات سنگین توسط فرآیندهای زیستی و تحرک بالای بعضی از آن‌ها همانند کادمیوم باعث ورود این عناصر مضر به فاز محلول شده و با ورود به گیاه و سپس زنجیره غذایی انسان و دام، سلامت این موجودات را به مخاطره می‌اندازد. اگر چه این عناصر در غلظت پایین برای رشد و نمو گیاهان مضر نیستند اما بسیاری از گیاهان در برابر غلظت‌های بالای فلزات سنگین بسیار حساس هستند. همچنین غلظت بالای فلزات سنگین در خاک سطحی علاوه بر این که باعث رشد ضعیف گیاهان می‌شود، می‌تواند با حرکت توسط رواناب و پراکنده شدن به همراه گرد و غبار باعث آلودگی محیط زیست شود (۳). یکی از راهکارهای زیستی که امروزه مورد توجه قرار گرفته است، تکنیک گیاه پالایی است که در این تکنیک از گیاهان به منظور پاک سازی خاک از فلزات سنگین استفاده می‌شود. هدف از این تکنیک افزایش انتقال آلاینده‌ها از خاک به بخش‌های هوایی گیاه است که در سال‌های اخیر توجه زیادی به کشف چگونگی انجام این فرآیند در گیاهان فرارنباشتگر شده است (۴).

به منظور انتقال فلزات از ریشه به شاخه ناقل‌های فلزی، یون‌های فلزی را از سیم‌پلاست ریشه به آپوپلاست آوند چوبی منتقل می‌کنند. بارگیری از طریق پمپ‌های $P_{1B}\text{-ATPase}$ که با انتقال فلزات بر خلاف شیب الکتروشیمیایی نقش مهمی در تعادل یونی، تحویل فلزات به پروتئین‌های هدف و سم‌زدایی فلزات دارند، انجام می‌شود. پمپ‌های $P_{1B}\text{-ATPase}$ ها یک زیر خانواده از $P\text{-ATPase}$ ها هستند که در انتقال فلزاتی مانند Pb و Cd ، Zn ، Cu ، Co ، از غشاء و در خلاف جهت شیب الکتروشیمیایی نقش دارند (۲).

مطالعه خصوصیات پمپ‌های پروتئینی $P_{1B}\text{-ATPase}$ در گیاهان فرارنباشتگر می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را در مورد ماهیت این پمپ‌ها و چگونگی ذخیره سازی غلظت بالای فلزات سنگین در این گیاهان را فراهم کند. به همین منظور در این مطالعه خصوصیات پروتئینی پمپ‌های $P_{1B}\text{-ATPase}$ مربوط به تالاسی به عنوان یک گیاه مدل در فرآیند گیاه پالایی و فرارنباشتگری فلزات سنگین و توالی اسید آمینه‌ای پمپ‌های $P_{1B}\text{-ATPase}$ مربوط به آرابیدوپسیس به عنوان یک گیاه حساس به فلزات سنگین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

توالی‌های اسید آمینه‌ای مربوط به هر یک از گیاهان نام برده را از بانک اطلاعاتی Expasy (www.expasy.com) و ویژگی‌های مختلف مربوط به هر یک از توالی‌ها از جمله اسم ژن، اسم پروتئین، خانواده پروتئینی و موقعیت درون سلولی از بانک‌های اطلاعاتی مختلف جمع‌آوری گردید.

با استفاده از نرم افزارهای بیوانفورماتیک و بانک‌های اطلاعاتی مختلف، ۳۳ ویژگی مربوط به ساختار اول از جمله طول، وزن، Isoelectric point، Aliphatic index، فراوانی عناصر تشکیل دهنده (کربن، نیتروژن، گوگرد، اکسیژن و هیدروژن)، فراوانی اسیدهای آمینه، آبگریزی و آبدوستی، بار مثبت و بار منفی هر توالی و فراوانی نسبی هر یک از ویژگی‌ها نیز به منظور استفاده در آنالیزهای آماری تعیین گردید. اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم‌افزارهای آماری و روش T-test مورد تجزیه قرار گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه آماری ۳۳ ویژگی مختلف توالی‌های اسید آمینه‌ای پمپ $P_{1B}\text{-ATPase}$ با استفاده از نرم افزارهای مختلف صورت گرفت و نتایج زیر حاصل شد. مقایسه فراوانی عناصر مختلف تشکیل دهنده توالی‌های پروتئینی پمپ $P_{1B}\text{-ATPase}$ بین گیاه فرارنباشتگر و آرابیدوپسیس نشان داد که فراوانی گوگرد در تالاسی بیشتر از آرابیدوپسیس و فراوانی کربن در آرابیدوپسیس بیشتر از گیاه فرارنباشتگر می‌باشد. مقایسه توالی‌ها، از نظر آبدوستی و آبگریزی و بار نشان داد که تفاوتی بین توالی‌های این دو گیاه از لحاظ ویژگی‌های ذکر شده وجود ندارد و مقایسه این توالی‌ها از نظر فراوانی اسیدهای آمینه نشان داد که فراوانی



اسیدهای آمینه سیستئین و گلوتامین در گیاه فرا انباشتگر بیشتر از آرابیدوپسیس می باشد و فراوانی فنیل آلانین در آرابیدوپسیس بیشتر از تالاسپی می باشد (جدول ۱).

همان طور که گفته شد تعداد معدودی از گیاهان قادر به تحمل سطوح بالای فلزات سنگین از طریق اتصال فلزات در ترکیبات پپتیدی مختلف از جمله Phytochelatins (PCs) و Metallothioneins (MTs) (از جمله ترکیبات پپتیدی درون سلولی هستند که با فلزات سنگین باند می شوند) می باشند (۵). نتایج حاصل از مقایسه نشان می دهد که فراوانی بالاتر اسید آمینه سیستئین در توالی پمپ P_{1B} -ATPase گیاه فرا انباشتگر نسبت به *A. thaliana* می تواند به علت ایجاد پیوندهای دی سولفیدی بیشتر و ساختار مقاوم تر پمپ باشد که این مورد در بعضی از پروتیین های مقاوم به درجه حرارت نیز دیده شده که این ساختار را دارند. همچنین بالا بودن فراوانی این اسید آمینه می تواند دلیل فراوانی بیشتر گوگرد در تالاسپی نسبت به آرابیدوپسیس نیز باشد چون سیستئین در ساختار خود دارای گوگرد می باشد. فراوانی اسید آمینه فنیل آلانین نیز در آرابیدوپسیس بیشتر از تالاسپی که این اختلاف در ارتباط با ترکیبات پپتیدی انتقال دهنده فلزات سنگین است که بالا بودن این اسید آمینه وجود ساختار PC را در آرابیدوپسیس تایید می کند. همچنین فنیل آلانین از جمله اسید آمینه های آروماتیک است که نمی تواند در ساختار MS وجود داشته باشد که سایر گزارشات نیز موید نتایج بدست آمده از این تحقیق می باشند (۵ و ۱). فراوانی اسید آمینه گلوتامین نیز در تالاسپی بیشتر از آرابیدوپسیس می باشد. طول توالی ها در تالاسپی بیشتر از آرابیدوپسیس است که طویل بودن توالی ها در پروتیین های مقاوم به درجه حرارت نیز دیده شده است (۵). فراوانی کربن در آرابیدوپسیس بیشتر از گیاه فرا انباشتگر می باشد که می تواند به خاطر وجود گروه های جانبی با تعداد کربن بیشتر در اسید آمینه های تشکیل دهنده توالی در آرابیدوپسیس باشد. توالی اسید آمینه ای در گیاه فرا انباشتگر دارای بار مثبت و منفی بیشتری نسبت به گیاه آرابیدوپسیس بوده و از خاصیت آب دوستی بیشتری نیز برخوردار است که می تواند دال بر قطبی بودن بیشتر این پمپ در گیاه فرا انباشتگر باشد.

جدول (۱) مقایسه ۳۳ ویژگی مختلف ما بین *A. thaliana* و *T.caerulsens*

	میانگین \pm انحراف معیار		P-Value
	<i>Arabidopsis</i>	<i>Thlaspi caerulsense</i>	
هیدروژن	0.05048 \pm 0.00222	0.5053278 \pm 0.0000823	NS
اکسیژن	0.09488 \pm 0.00246	0.097471 \pm 0.000197	NS
گوگرد	0.003074 \pm 0.00091	0.00447173 \pm 0.000003	0.05
نیتروژن	0.8562 \pm 0.00320	0.085077 \pm 0.000222	NS
کربن	0.31203 \pm 0.00286	0.307652 \pm 0.000111	0.05
آب گریز	0.5157 \pm 0.0484	0.44604 \pm 0.00238	NS
آب دوست	0.2494 \pm 0.0462	0.27403 \pm 0.00119	NS
منفی	0.1135 \pm 0.0254	0.13153 \pm 0.0019	NS
مثبت	0.1077 \pm 0.0173	0.127740 \pm 0.00059	NS
وزن (kDa)	128.586 \pm 0.122	100.5 \pm 20.7	NS
طول	931.1 \pm 189.4	1186 \pm 0	0.05
isoelectric point	6.98 \pm 1.30	6.900 \pm 0.0894	NS
Aliphatic index	96.73 \pm 9.07	89.625 \pm 0.412	NS
آلانین	0.0894 \pm 0.0136	0.07336 \pm 0.00119	NS
سیستئین	0.049325 \pm 0.0164	0.0232 \pm 0.000596	0.05
آسپارتیک اسید	0.142 \pm 0.181	0.051012 \pm 0.000596	NS
گلوتامیک اسید	0.0662 \pm 0.253	0.080523 \pm 0.000596	NS
فنیل آلانین	0.03053 \pm 0.00733	0.017285 \pm 0.000596	0.05
گلیسین	0.0785 \pm 0.0165	0.070405 \pm 0.000596	NS
هیستیدین	0.0343 \pm 0.0701	0.020658 \pm 0.000596	NS



ایزولوسین	0.0627±0.0158	0.063659±0.000569	NS
لیزین	0.0673±0.0220	0.09865±0.0119	NS
لوسین	0.0947±0.0130	0.085582±0.000596	NS
متیونین	0.02369±0.00481	0.01871±0.000596	NS
آسپارژین	0.03509±0.00594	0.03288±0.000000253	NS
پرولین	0.03593±0.00756	0.02782±0.00119	NS
گلوتامین	0.02488±0.00411	0.033305±0.000596	0.01
آرژنین	0.03974±0.00814	0.029089±0.000596	NS
سرین	0.0881±0.0209	0.09106±0.00119	NS
ترئونین	0.05374±0.00456	0.050169±0.000596	NS
والین	0.0910±0.0115	0.083052±0.000596	NS
تریپتوفان	0.00928±0.00254	0.00590±0.00000155	NS
تیروزین	0.01717±0.00607	0.017285±0.000596	NS



1. Chen, A., Komives, E., and Schroeder, J. An Improved Grafting Technique for Mature Arabidopsis Plants Demonstrates Long-Distance Shoot-to-Root Transport of Phytochelatins in Arabidopsis. *Plant Physiol.* (2006) 141: 108–120..
2. Cobbet, C.S., Hussain, D., and Haydon, M.J. Structural and functional relationships between heavy metal-transporting P-type ATPases in Arabidopsis. *New phytol.* (2003) 159: 315-321.
3. Lasat, M.M. Phytoextraction of toxic metals, a review of biological mechanisms. *Environ. Qual.* (2002) 31: 109–120.
4. Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar, A.N., Dushenkov, V., Ensley, B.D. Chet I., and Raskin, I. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnol.* (1995) 13: 468–474
5. Yang, X., Jin, X., Feng Y., and Islam, E. Molecular mechanisms and genetic basis of heavy metal tolerance/hyperaccumulation in plants. *Plant Biology.* (2005) 47: 1025-1035



Comparison of heavy metal transporter pump in hyperaccumulator plant *Thlaspi* and the model plant *Arabidopsis*

Ashrafi Dehkordi, Elham* (MS Student, elhamashrafi@gmail.com),

Alemzadeh, Abbas** (Assistant Professor, alemzadeh@shirazu.ac.ir)

Ebrahimie, Esmaeil (Assistant Professor, ebrahimie@shirazu.ac.ir)

Crop Production and Plant Breeding Department, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, 7144165186

Abstract

In recent years, the amounts of heavy metals have increased in natural ecosystems and make some problems for people's health. Some of these metals are essential at low concentrations, such as iron (Fe) and copper (Cu), but these metals become toxin in higher concentrations. The commonly used methods for dealing with heavy metal contamination are still extremely costly. *Thlaspi caerulescens* is a heavy metal hyperaccumulator plant species that is able to accumulate extremely high levels of heavy metal. *Thlaspi* has been the subject of research as a model plant to gain a better understanding of the mechanisms of heavy metal hyperaccumulation. P_{1B}-ATPase pumps play the critical role in taking up heavy metals from the soil. In this study, the protein structure of P_{1B}-ATPase pump in *Arabidopsis thaliana* as a model plant and *Thlaspi caerulescens* as a hyperaccumulator plant has been compared using computer software. The results revealed that frequency of sulfur, cysteine and glutamine residues in *T. caerulescens* are more than *A. thaliana* and the length of pump in *T. caerulescens* is longer than *A. thaliana*. The frequency of carbon and phenylalanine residue in *A. thaliana* is more than hyperaccumulator plant. The pump in *T. caerulescens* has more charge and is more hydrophilic. According to results, the biochemical properties of pump in *Thlaspi* as a hyperaccumulator plants is different from other usual plants.

Key word: *Arabidopsis thaliana*, Bioinformatic, *Thlaspi caerulescens*, Phytoremediation, Hyperaccumulate plants