WWW.IBP.IR iranian bioinformatics portal

نجمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران

3-5 آذر ماه 1386، سالن اجلاس سران

The 5th National Biotechnology Congress of Iran

24-26 Nov, 2007, Summit Meeting Conference Hall, Tehran- Iran

بررسی و مقایسه توالیهای اسیدآمینه ای زیرواحدهای گلوتنینی تیپهای x و y جایگاه ژنومی1D کنترل کننده کیفیت مطلوب نانوایی گندم نان

محمّدطاهر حلاجیان* و بهنام ناصریان خیایانی**

پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای-کرج

چکیده

یکی از صفات مورد توجه در اصلاح کیفی گندم نان، ارزش نانوایی است. پرولامین های گلوتن، کیفیت آرد گندم برای فرآیندهای تکنولوژیکی مختلف نظیر تهیه نان را تعیین می کنند. در بین پروتئین های گلوتنین، گروه گلوتنین با وزن مولکولی بالا و بویژه آللd جایگاه ژنومی1D با زیر واحدهای تیپهایx وy(5+10) در کیفیت نانوایی بیشترین اهمیت را دارند. در این بررسی، توالیهای اسیدآمینه ای زیرواحدهایx(2.2،2.1،2.2* و 5) و زیرواحدهایy(10و12) جایگاه ژنومی1D از سایتNCBI جستجو، استخراج و با استفاده از نرم افزارGenedoc با هم مقایسه و همردیف گردیدند و مشخص شد که در این زیرواحدها کمبودها، بیشبودها و موتاسیونهای نقطه ای تأثیرگذار بر عملکرد بیولوژیکی پروتئین ها اتفاق افتاده است. از مهمترین موتاسیونهای بیشبود و کمبود، بیشبود توالی185 اسیدآمینه ای زیرواحد*x2.2 و توالی 102 اسیدآمینه ای زیرواحدx2.2 در موقعیت486 توالی آمینواسیدی و حذف توالی شش اسیدآمینه ایIGQGQQ در موقعیت203 زیرواحدy10 بودند و از موتاسیون های نقطه ای مهم نیز می توان به تبدیل اسیدآمینه سرین به سیستئین در موقعیت118 زیرواحدx5 و تبدیل اسیدآمینه گلوتامین به هیستیدین در موقعیت626 زیرواحدx5 اشاره نمود. نهایتا، بر اساس شباهتها و اختلافات موجود در توالیهای زیرواحدهای تیپهایx وy، آغازگرهایSSR چندشکل در موتیف های تکراری طراحی گردید.

واژه های کلیدی: همردیف کردن، کیفیت نانوایی، گلوتنین، اسیدآمینه، موتاسیون، زیرواحد و گندم.

مقدمه

یکی از صفات مهم در اصلاح کیفی نان ارزش نانوایی است. پرولامین[1]های گلوتن (گلیادین و گلوتنین) کیفیت آرد گندم برای فرآیندهای تکنولوژیکی مختلف نظیر تهیه و پخت نان را تعیین می کنند. ارزش نانوایی بستگی مستقیم با استحکام گلوتن دارد و این صفت، با نوع پروتئین مرتبط بوده و مقدار پروتئین بذر در ارزش نانوایی بی تأثیر است. گلوتن گندم ترکیبی از دو خصوصیت فیزیکی است: خاصیت الاستیته یا کشسانی که با گلوتنینهای پلیمری و میزان چسبندگی که با گلیادینهای مونومری مرتبط است. پروتئین های گلوتنین خود از دو گروه متمایز(گلوتنین با وزن مولکولی بالا و گلوتنین با وزن مولکولی پایین) تشکیل شده اند(3). زیرواحدهای گلوتنینی با وزن مولکولی بالا(HMW)[2] تقریبا 10درصد گلوتن را تشکیل می دهند و سهم بسزایی در کیفیت مطلوب نانوایی دارند. آنها بر اساس ارزشهای تحرک پذیری و توالیهایشان به دو تیپx وy کلاس بندی می شوند. اجزای اسیدآمینه ای این زیرواحدها شامل گلایسین(14-19درصد)، گلوتامین(39-37) و پرولین(14-12) می باشند. پیش بینی ساختار زیرواحدهای گلوتنینی بویژه با وزن مولکولی بالا نشان می دهد که نواحی با انتهای آمینی و کربوکسیلی عمدتا مارپیچ آلفا هستند

1- Prolamin

2- High Molecular Weight

در حالیکه نواحی تکراری مرکزی، پیچشهای بتا با تکرار منظم را تشکیل می دهند. پیچشها درون موتیفهای تکراری و از طریق ارتباطات بین آنها تشکیل می شوند. تعداد و پراکنش صحیح اتصالات عرضی بر میزان الاستیته گلوتن تأثیر دارد و این نوع اختلافات می تواند مسؤل تنوع آللی در کیفیت نانوایی باشد(1). با توجه باینکه پروتئینهای زیرواحدهای گلوتنینی بویژه با وزن مولکولی بالا سرشار از گلوتامین و گلایسین می باشند، حذف ویا بیشبود توالی غنی از این اسیدآمینه ها در عملکرد بیولوژیکی آنها نقش بسزایی دارد. علاوه بر این موتاسیونهای بیشبود[1]، کمبود[2] و یا جایگزینی[3]، موتاسیونهای نقطه ای اساسی و کارکردی در بررسی توالیهای زیرواحدهای گلوتنینی قابل مشاهده می باشند. از جمله این موتاسیونها می توان به جایگزینی و یا تبدیل اسیدهای آمینه دخیل در ساختارهای نوع دوم و سوم پروتئین ها(مارپیچ آلفا و صفحه بتا) اشاره نمود.

مواد و روشها

توالیهای اسیدآمینه ای و نوکلئوتیدی زیرواحدهای گلوتنینی با وزن مولکولی بالا تیپهایx و y جایگاه ژنومی1D از سایت NCBI جستجو و استخراج گردیدند. در این بررسی، با استفاده از نرم افزار مولکولیGenedoc، توالیهای اسیدآمینه ای زیرواحدهایx5، x2.1، x2.2، x2.2 و توالیهای اسیدآمینه ای زیرواحدهایy10 و y12 بطور جداگانه و مستقلا مقایسه شدند و نواحی مشابه، موتیفهای تکراری، نواحی غیرتکراری و نواحی اختلاف شناسایی گردیدند.

نتایج و بحث

پس از مقایسه و آنالیز توالیهای اسیدآمینه ای زیرواحدهای گلوتنینی مورد بررسی و با استناد به مقالات شری و همکاران در سال(1990)(1) و جیانبلی و همکاران در سال2001(2) مشخص گردید که موتیفهای تکراری عمومی زیرواحدهای HMW تیپx شامل هگزاپپتیدهایPGQGQQ، GQQPGQ، GQQ(P)GYY، PGQWQQ و هپتاپپتیدهای(YPTSP(L,S)QQ(L، GQGQP(Q)GY، QGQQGQQ و موتیفهای تکراری عمومی زیرواحدهایHMW تیپy شامل هگزاپپتیدهایPG(E)QGQQ، QQP(S,L)GQG، GYYPTS، QQGHYP، GQQS(I)GQ و هپتاپپتیدهایGHYP(L)ASQ، GHYPTSL و YPTSL(P)QQ می باشند. از مقایسه توالیهای اسیدآمینه ای زیرواحدهایx و y می توان دریافت که هگزاپپتیدهایGYYPTS و PGQGQQ در هر دو مشترکند. هگزاپپتیدها غالبا در ردیفهای پشت سرهم رخ می دهند در حالیکه هپتاپپتیدها همیشه به سبک پراکنده در ژنوم رخ می دهند. در مقایسه توالیهای اسیدآمینه ای زیرواحدهای تیپy(10و12) مشخص

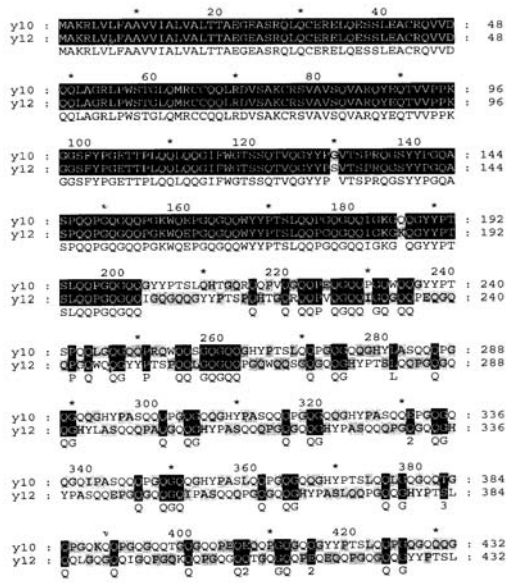
1- Insertion

2- Deletion

3- Substitution

4- Duplication

گردید که در موقعیتهای203 و 230 زیرواحد10، توالی اسیدآمینه ایIGQGQQ حذف شده و همچنین در موقعیت317 زیرواحد12، دو اسیدآمینه گلایسین و گلوتامین حذف گردیده اند(شکل 1). از موتاسیونهای نقطه ای مهم زیرواحدهای تیپy، جایگزینی اسیدآمینه متیونین بجای ترئونین در موقعیت546 زیرواحد12، جایگزینی اسیدآمینه لوسین بجای پرولین در زیرواحد12 و جایگزینی اسیدآمینه گلوتامین در جایگاه اسیدآمینه متیونین در موقعیت631 زیرواحد12 می باشند. در بررسی تغییرات تکاملی زیر واحدهای تیپx(2.1، 2.2،*2.2 و 5) مشخص شد که توالی شش اسیدآمینه ایSGQGQQ در موقعیت146 زیرواحد5 حذف گردیده، در موقعیت146 زیرواحد2.2 توالی GQQPEQGQQ جایگزین توالیGQKGQQPGQ گردیده است. در موقعیت486 زیرواحد*2.2 یک بیشبود(دوپلیکیشن)[4] بزرگ بطول185جفت باز و در همین موقعیت، در زیرواحد2.2، یک بیشبود102جفت بازی رخ داده است. در مقایسه زیرواحدهای2.2 و *2.2، در موقعیت664 زیرواحد2.2 بیشبود 131 جفت بازی اتفاق افتاده که این بیشبود در زیرواحد*2.2 با کمبود(حذفی) همراه گردیده و 131جفت باز را به51جفت باز تبدیل نموده است. در موقعیت667 زیرواحد*2.2، بیشبود توالی شش اسیدآمینه ای PGQWQQ رخ داده، درحالیکه در موقعیت668 زیرواحد2.2 و در موقعیت671 زیرواحد5 توالی شش اسیدآمینه ای PGQWQQ حذف گردیده است. در موقعیت683 در زیرواحد5 در قیاس با سایر زیرواحدها، توالیFSVAART جایگزین توالیSPLQLGQ شده است. از موتاسیونهای نقطه ای مهم می توان به جایگزینی اسیدآمینه سیستئین در جایگاه اسیدآمینه سرین در موقعیت118 زیرواحد5، جایگزینی اسیدآمینه پرولین بجای اسیدآمینه گلوتامین در موقعیت172 زیرواحدهای2.2،2.1 و *2.2، جایگزینی اسیدآمینه لوسین در جایگاه اسیدآمینه پرولین در موقعیت420 زیرواحد2.2، جایگزینی اسیدآمینه پرولین بجای اسیدآمینه سرین در موقعیتهای450 و 462 زیرواحد2.2، جایگزینی اسیدآمینه هیستیدین در جایگاه اسیدآمینه گلوتامین در موقعیت626 زیرواحد5، جایگزینی اسیدآمینه تریپتوفان بجای گلوتامین در موقعیت720 زیرواحد2.1 اشاره نمود. با استناد به بیشبودها، کمبودها و موتاسیونهای نقطه ای اساسی رخداده می توان به علت برتری آلل5+10 به آلل 2+12 و سایر آللها و نحوه و میزان تأثیر آن در کیفیت نانوایی گندم نان پی برد.



شکل1- همردیف کردن توالیهای زیرواحدهای گلوتنینی 10 و 12 تیپy جایگاه ژنومی1D

تشکر و قدردانی

از کلیه همکاران گروه پژوهشی کشاورزی هسته ای پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی وصنعتی کرج کـه مـرا در تهیـه ایـن مقاله یاری نمودند، کمال تشکر و امتنان را دارم.

منابع

1- Shewry P.R. and Tatham A.S.(1990). The prolamin storage proteins of cereal seed: structure and evolution. Biochem. J., 267, 1-12.

2- Gianibelli M.C., Larroque O.R., MacRitchie F. and Wrigley C.W.(2001). Biochemical, genetic and molecular characterization of wheat endosperm proteins. American Association of Cereal Chemists, Inc.

3- گرامی، ب.(1993). استفاده از روش الکتروفورز در اصلاح گندم. دپارتمان آگرونومی و علوم مرتعی دانشگاه کالیفرنیا در دیویس.

Study and Comparison of Amino Acid Sequences of x , y Types Glutenin Subunits in 1D Locus Controlling Favorable Baking Quality of Bread Wheat

M. T. Hallajian* and B. Naserian Khiyabani**

Agriculture, Medicine and Industrial Research School of Nuclear sciences and techniques Institute-Karaj

SUMMARY

Baking quality is one of important traits in qualitative improvement of bread wheat. Gluten prolamins determine wheat flour quality for different technological process such as bread making. Between gluten proteins, High Molecular Glutenin (HMW) group and specially, d allele in 1D locus with x-type and y-type subunits are very valuable in baking quality. In this study, amino acid sequences of x-type subunits (2.1, 2.2, 2.2*, 5) and y-type subunits (10, 12) related to 1D locus were searched, found and compared together using Genedoc software. After amino acid sequences alignment of y-type subunits and x-type subunits, it was characterized that deletion, insertion (duplication) and point mutations in these subunits involved in

biological function of proteins. most important insertion and deletion mutations were 185 amino acids sequence insertion of 2.2* subunit and 102 amino acids sequence insertion of x2.2 subunit in position 486 of amino acid sequence and six amino acid sequence deletion IGQGQQ in position 203 of y10 subunit. From important point mutations can be pointed to conversion of serine to cysteine in position 118 of x5 subunit and substitution of glutamine to histidine in position 626 of x5 subunit. Finally, polymorph SSR primers in repetitive domains were designed on similarities and differences in subunits of x and y types.
Key words: Alignment, Baking quality, Glutenin, Amino acid, Mutation, Subunit and Wheat.

WWW.IBP.IR iranian bioinformatics portal