



بررسی مسیر های بیوستتزی ترهالوز و ژنهای در گیر در این فرایند، در

گیاهان با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیک

جوادی سیده مهري**¹، عظیم خانی رقیه²، مرادی ابوبکر¹، تدینی راد رضا¹

1-دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه زنجان

2-گروه بیوتکنولوژی دانشگاه زنجان

چکیده:

یکی از نیازهای بنیادی موجود زنده این است که در برابر تغییرات محیطی به گونه ای خود را سازگار کند که بتواند زنده بماند، از جمله این تغییرات محیطی می توان به شوری فوق العاده بالا، گرمای خیلی زیادو بی آبی اشاره کرد. بعضی از موجودات وقتی که در چنین شرایط محیطی قرار می گیرند با بیوستتز ترکیبات مختلف از خود حفاظت می کنند. از جمله این ترکیبات، دی ساکارید ترهالوز می باشد که نقش های متعددی در موجودات مختلف ایفا می کند. به دلیل اهمیت این ترکیب در برابر تنشهای محیطی، در این مقاله بر آن شدیم که مسیرهای بیوستتزی این ترکیب را در گیاهان توسط ابزارهای بیوانفورماتیک از جمله بانکهای اطلاعاتی EMBL, KEEG, NCBI و نرم افزارهایی مانند CLUSTAL-X و Tree view, Genedoc, Genevestigator server و مورد بررسی قرار دهیم. همچنین آنالیز فیلوژنتیکی ژنهای درگیر در این مسیرها با استفاده از نرم افزار MEGA3 صورت گرفت..

واژه های کلیدی: مسیر های بیوستتز ترهالوز، NCBI، KEEG

مقدمه:

یکی از نیازهای بنیادی موجود زنده این است که در برابر تغییرات محیطی به گونه ای خود را سازگار کند که بتواند زنده بماند، از جمله این تغییرات محیطی می توان به شوری فوق العاده بالا، گرمای خیلی زیاد و بی آبی اشاره کرد. بعضی از موجودات مانند گیاهان وقتی که در چنین شرایط محیطی قرار می گیرند با بیوستتز ترکیبات مختلف از خود حفاظت می کنند. از جمله این ترکیبات، دی ساکارید ترهالوز می باشد. ترهالوز یک دی ساکارید غیر احیاء کننده است که از دو مولکول گلوکز که به وسیله پیوند $\alpha 1-\alpha 1$ به هم متصل شده اند. ترهالوز در گروهی از گونه های گیاهی که به Resurrection species معروف هستند مانند *Selaginella* و *Myrothammus flabellifolius* و *lepidophylla*، به مقدار زیاد تجمع می یابد و یک مولکول کلیدی، برای حفاظت از گیاه در برابر استرس، مخصوصا استرس خشکی، محسوب می شود(10). این قند در برخی از موجودات و غذاهای معمول مانند نان، سرکه، عسل و... وجود دارد. ترهالوز در موجودات مختلف نقشهای متعددی ایفا می کند از جمله: در پروکاریوتها به عنوان یک محافظ در برابر استرسهای اسموتیک ایفا ی نقش میکند و همچنین به عنوان یک منبع کربن خارجی مورد استفاده قرار می گیرد. در برخی از باکتریها در ساختمان گلیکولیپید دیواره سلولی وجود دارد. در مخمر به عنوان قند ذخیره ای و همچنین به عنوان یک نوع سازگار کننده موجود در برابر انواع استرس های غیر زنده محیطی مورد استفاده قرار می گیرد(4و8). همچنین در خون حشرات فراوان ترین قند محسوب میشود. با توجه به نقشهایی که در موجودات مختلف ایفا می کند برآن شدیم مسیرهای بیوستتز این ترکیب و ژنهای درگیر در این فرایند را در گیاهان، به توسط ابزارهای بیوانفورماتیک، که امروزه یکی از تکنیکهای بسیار با ارزش در بررسی های بیولوژیک محسوب می شود، بررسی کنیم.

مواد و روشها:



با انجام عملیات جستجو در *pubmed* و *pmc* بانک اطلاعاتی *NCBI*، موتور جستجوی *google scholar* و تمام مجله های الکترونیک موجود و قابل دسترس، در مورد مسیر های بیوستتزی ترهالوز اطلاعات گردآوری شد. همچنین بررسی شد تا مشخص شود که کدامیک از این مسیرهای بیوستتزی در گیاهان وجود دارد برای این کار از نرم افزار *BLASTP* که در بانک اطلاعاتی *NCBI* موجود است و توالیهای پروتئینی که توسط محققان در مقالات گزارش شده بود استفاده شد (2). [*E.coli* TPS[GenBank:16129848]، *S.coelicolor* ، *S.avermitilis* Ts[GeneBank:29829345]، TPP[GeneBank:16129849] *P.furiosus* ، *R..palustris* TreZ[GeneBank:39936708]، TreY[GeneBank:21224410] *P.acnes* TreP[GeneBank:50842587] ، TreT[GeneBank:18978114] تمام بررسی ها در برنج، آرآیدوپسیس و پنبه که اطلاعات توالی پروتئینی و نوکلئیکی ژنهای *TPS* و *TPP* این گیاهان در بانک اطلاعاتی *NCBI* موجود است، انجام شد. با بررسی که در بانک اطلاعاتی *NCBI* و با استفاده از لینک هایی مانند *Gene* و *Web site AMIGO* (<http://amigo.geneontology.org>) که اطلاعات *Gene Ontology* در اختیار ما می گذارد، اطلاعات در مورد نقش های مختلف ژنهای همولوگس *TPS*¹ و *TPP*² بدست آمده و همچنین توسط *Genevestigator serve* الگوی بیان ژنهای خانواده *TPS* در بافتهای خاص و مراحل نمو متفاوت بررسی شد. همچنین توسط نرم افزار های *CLUSTAL-X*، *Tree view* و *MEGA3* آنالیز فیلوژنتیکی در مورد ژنهای *TPS* و *TPP* انجام شد. نتایج آنالیز فیلوژنتیکی با استفاده از برنامه *MEGA3* در شکل 1 نمایش داده شده است. *Multiple Alignment* این ژنها توسط نرم افزار *CLUSTAL-X* و *CLUSTAL-W* انجام شد که به دلیل محدودیت در حجم مقاله از ارائه اشکال مربوطه پرهیز شده است.

بحث و نتیجه گیری :

با انجام این بررسی مشخص شد که 5 مسیر بیوستتزی برای ترهالوز در موجودات مختلف وجود دارد که عبارت است از: 1- *TPS/TPP Pathway*، 2- *Ts Pathway*، 3- *TreY/TreZ Pathway*، 4- *TreP Pathway* و 5- *TreT Pathway*. با استفاده از نتایج نرم افزار *BLAST* مشخص گردید که فقط یک مسیر بیوستتزی *TPS/TPP Pathway* در گیاهان موجود می باشد، این مسیر بیوستتزی شامل دو مرحله آنزیمی می باشد که توسط دو آنزیم *TPS* و *TPP* کاتالیز می شود و مشخص شد که چندین کپی همولوگس ژنهای *TPS* و *TPP* در این گیاهان وجود دارد. بررسی های *Gene Ontology* نشان داد که این ژنها در فرایندهایی مانند تقسیم دیواره سلولی، بیوستتزی اجزاء دیواره سلولی مانند سلولز و پکتین، نمو جنین، به عنوان تنظیم کننده در مسیر بیوستتزی قندها و بالاخره در بیوستتزی ترهالوز نقش دارند. و همچنین با نتایج بدست آمده از *Genevestigator serve* مشخص شد که ژنهای خانواده *TPS* در آرآیدوپسیس در بافتهای مختلف و در مراحل نمو متفاوت بیان می شوند، ژنهای *AtTPS1*، *AtTPS6*، *AtTPS7* و *AtTPS11* بیشترین سطح بیان را در بافت گل دارند و ژنهای *AtTPS2*، *AtTPS3*، *AtTPS4*، *AtTPS5* بیشترین سطح بیان را در بذر دارند و ژنهای *AtTPS9* و *AtTPS10* بیشتر در بافت ریشه بیان می شوند (11). و همچنین مشخص شد، در برنج نیز 5 ژن *TPS* (*OsTPS1-5*) وجود دارد ولی

¹ trehalose-6- Phosphate Synthase

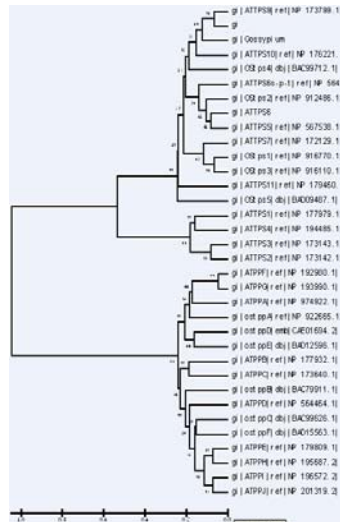
² rehalose- Phosphate Phpsphatase



بررسی هایی در مورد نقش این ژنها تاکنون انجام نشده است. در پنبه نیز اخیراً ژن TPS

ایزوله شده است و در بررسی انجام شده مشخص شده است که یک کپی از این ژن در ژنوم پنبه وجود دارد و گیاه پنبه را در مقابل استرس خشکی مقاوم می کند (7).

با استفاده از نتایج بدست آمده از آنالیز فیلوژنتیکی توسط نرم افزار های CLUSTAL-X، Tree view و Genedoc مشخص شد که که ژنهای درگیر در این مسیر بیوسنتز، در گیاهان به سه گروه تقسیم می شوند گروه اول ژنهایی که پروتئین حاصل از این ژنها فقط حاوی دومین TPS در انتهای N پروتئین هستند، در این گروه ژنهای AtTPS1-AtTPS4 قرار دارند. گروه دوم ژنهایی که پروتئین حاصل از این ژنها هم حاوی دومین TPS در انتهای N پروتئین هستند و هم شامل دومین TPP در انتهای C پروتئین می باشند، در این گروه ژنهای AtTPS5-AtTPS11 در آرکیدوپسیس و ژنهای OsTPS1-OsTPS5 و همچنین ژن TPS ایزوله شده در پنبه قرار دارند. گروه سوم ژنهایی هستند که فقط شامل دومین TPP در انتهای C پروتئین است، در این گروه ژنهای AtTPPA-AtTPPJ و OsTPPA-OsTPPF قرار دارند.



شکل 1- گروه بندی ژن های درگیر در مسیر

منابع

- 1-Avonce N, Leyman B, Mascorro-Gallardo O, Van Dijk P, Thevelein JM, Iturriaga G (2004) The Arabidopsis Trehalose-6-P Synthase AtTPS1 Gene Is a Regulator of Glucose, Abscisic Acid, and Stress Signalling. *Plant Physiol* 2004, 136:3649-59.
- 2-De Smet KA, Weston A, Brown IN, Young DB, Robertson BD (2000) Three pathways for trehalose biosynthesis in mycobacteria. *Microbiol*, 146:199-208.
- 3-Higashiyama T: Novel functions and applications of trehalose. *Pure Appl Chem* (2002), 74:1263-1269.
- 4-Horlacher R, Boss W (1997) Characterization of TreR, the major regulator of the *Escherichia coli* trehalose system. *J Biol Chem*, 272:13026-13032.
- 5-Jiang Y, Deyholos MK (2006) Comprehensive transcriptional profiling of NaCl-stressed Arabidopsis roots reveals novel classes of responsive genes. *BioMed Central*. 6:25e
- 6-Price J, Laxmi A, St Martin S, Jang J Ch (2004) Global transcriptional profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in Arabidopsis. *Plant Cell*, 16:2128-2150.
- 7-Sotirios AK, Argyrokastritis A, Loukas M, Eliopoulos E, Tsakas S, Kaltsikes P (2006) Isolation and characterization of drought-related trehalose 6-phosphate-synthase gene from cultivated cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *planta* 223:329-339



- 8-Strím AR, Kaasen I (1993) Trehalose metabolism in *Escherichia coli*: stress protection and stress regulation of gene expression. *Mol Microbiol*, 8:205-210.
- 9- Vogel G, Aeschbacher Muller J, Boller T, Wiemken A (1998) Trehalose-6-phosphate phosphatases from *Arabidopsis thaliana*: identification by functional complementation of the yeast tps2 mutant. *Plant J*, 13:673-683.
- 10-Wingler, A (2002) The function of trehalose biosynthesis in plants. *Phytochemistry* 60: 437-440.
- 11-Zimmermann P, Hirsch-Hoffmann M, Hennig L, Gruissem W (2004) GENEVESTIGATOR. *Arabidopsis* microarray database and analysis toolbox. *Plant Physiol*, 136:2621-2632.

Abstract:

One of the fundamental challenges for an organism is to survive changes in the physical environment-mainly extreme temperatures, salinity, or dehydration. Some organisms when exposed to extreme conditions evolved biosynthetic pathways for some active compounds, thus enabling survival. Among these compounds is trehalose. As many functions have been described for trehalose specially to protect against stress we have investigated the pathways exist for trehalose biosynthesis in plants using databases and gene banks and softwares like CLUSTAL – X, Tree view, Genedoc and Geneinvestigator server. Among 5 pathways found for biosynthesis of trehalose there is one pathway in plants. Based on phylogenetic analysis done using MEGA3 software genes involved in this pathway grouped into tree main group.