Spring (2024) 13(45): 63-75
DOI: 10.30473/cb.2024.70089.1942
Received: 27, Dec. 2023 Accepted: 16, Mar. 2024

Crop Biotechnology Open Access

ORIGINAL ARTICLE

Bioinformatic analysis of physicochemical properties, post-translational modifications and domains of proteins involved in wheat salt tolerance

Arezoo Asl Alizade, Mahmoud Toorchi*, Ali Bandehagh

Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Correspondence
Mahmoud Toorchi
Email: mtoorchi@tabrizu.ac.ir

ABSTRACT

Salinity is one of the most important environmental stresses that disrupt the natural growth of plants. Plant use different mechanisms to cope with stress conditions, such as salinity, in which changes in protein expression is the most important one at molecular level. Changes in protein expression depends on their physicochemical changes such as half- life, stability index, iso-electric point, molecular weight, extinction coefficient etc. Furtermore, identification of motifs, patterns and protein domains make it possible to predict changes in the conformation, structure and proteins functions. In this research was selected a number of changed protein in expression under salinity stress in wheat based on the previous proteomic studies for further was selected bioinformatic analysis. Study Physicochemical properties of proteins by ProtParam software, identification of domains by InterProScan and CDD, identification patters for prediction of post translational modification by ScanProsite, similarity by Blast, alignment of similar proteins for identification of conserved block was performed by T-Coffee. Out of the 25 proteins associated with salinity stress, 20 proteins have a half-life more than 20 hours. The molecular weight of these proteins was varied between 13 to 117 kDa and 15 protein showed instability index of less than 40 and therefore classified as stable proteins. Investigation of proteins using TMHMM and Protscale softwares, it was found that Aquaporins, Plasma membrane intrinsic proteins, Plasma membrane ATPase and Rust resistance kinase Lr10 are highly hydrophobic proteins, whose major structure located inside the membranes. Out of 25 proteins, 8 proteins were selected and analyzed for identification of patterns, domains, structure and function. α-tubulin as a monomer participates with β-tubulin to make αβ-tubulin dimer. Tubulin create a major part of microtubules that are essential for cell growth and division. This protein consisted of one pattern, Tubulin subunits alpha, beta and gamma signature domain namly PLN00221. For the Triosphosphate isomerase protein, a domain called TIM, which is involved in the catalytic mechanism and for the Calmodulin protein a domain called PTZ00184 was identified which is a calcium binding domain. For the Putative glycine decarbixylase subunit a domain called PRK01202 has been identified that has carboxylase activity. For Cu/Zn superoxide dismutase protein the domain called as SOD is involved in the absorption of superoxide. For Fructose-bisphosphate aldolase protein, the catalytic converter domain was identified as PLV02455 and for Hsp 70- Hsp 90 organizing protein, STI1 domain was identified with ATPase property. For the 2- Cys peroxiredoxin BAS 1 protein, for the PRX-Typ 2 cys domain that plays an important role in regulating oxidation-cell reduction.

KEYWORDS

Data bank, half life, motif, pattern, transmembrane.

How to cite
Asl Alizade, A., Toorchi, M., & Bandehhagh, A. (2024). Bioinformatic analysis of physicochemical properties, post-translational modification and domains of proteins involved in wheat salt tolerance. *Crop Biotechnology*, *13*(45), 63-75.

© 2024, by the author(s). Published by Payame Noor University, Tehran, Iran.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

سال سیزدهم، شماره سوم، پیاپی چهل و پنجم، بهار ۱۴۰۲ (۷۵-۶۳)
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۶
DOI: 10.30473/cb.2024.70089.1942

نشریه علمی
زیست‌فناوری گیاهان زراعی

«مقاله پژوهشی»

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک خصوصیات فیزیکوشیمیایی، تغییرات پس‌ترجمه‌ای و دمینی پروتئین‌های درگیر در تحمل شوری گندم

آرزو اصل‌علیزاده، محمود تورچی*، علی بنده‌حق

گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

نویسنده مسئول:
محمود تورچی
رایانامه: mtoorchi@tabrizu.ac.ir

چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که باعث اختلال در رشد طبیعی گیاهان می‌شود. گیاه برای مقابله با شرایط تنش‌زا، از جمله تنش شوری مکانیسم‌های مختلفی را به کار می‌گیرد که از مهم‌ترین آنها در سطح مولکولی، تغییر در بیان پروتئین‌ها است. تغییر بیان پروتئین‌ها در گرو تغییرات فیزیکوشیمیایی آنها مثل نیمه عمر، شاخص پایداری، نقطه ایزوالکتریک، وزن مولکولی و ضریب خاموشی است. در این پژوهش تعدادی از پروتئین‌های دارای تغییر بیان تحت تنش شوری در گندم برای تجزیه و تحلیل‌های بیوانفورماتیکی استفاده شده است. از بین ۲۵ پروتئین مرتبط با تنش شوری مورد مطالعه، تعداد ۲۰ پروتئین دارای نیمه عمر بیشتر از ۲۰ ساعت بودند. وزن مولکولی این پروتئین‌ها بین ۱۳ تا ۱۱۷ کیلو دالتون بوده و ۱۵ پروتئین شاخص ناپایداری کمتر از ۴۰ داشته و پایدار برآورد شدند. از بین پروتئین‌های درگیر در تنش شوری گندم α- توبولین به عنوان یک مونومر به همراه β- توبولین در یک دایمر به نام αβ- توبولین شرکت می‌کند. توبولین، بخش عمده میکروتوبول‌ها را ایجاد می‌کند که برای رشد و تقسیم سلولی ضروری‌اند. این پروتئین دارای یک الگو به نام Tubulin subunits alpha, beta and gamma signature و یک دمین به نام PLN00221 می‌باشد. برای پروتئین تریوزفسفات‌ایزومراز، دمینی با نام TIM- like beta/ alpha barrel domains که در مکانیسم کاتالیزوری نقش دارد و برای پروتئین کالمودولین یک دمین به نام PTZ00184 شناسایی شد که دمین متصل شونده به کلسیم می‌باشد. برای پروتئینPutative glycine decarboxylse subunit دمینی به نام PRK01202 شناسایی شد که فعالیت کربوکسیلازی دارد. برای پروتئین 2-Cys proxiredoxin BAS 1 دمین PRX- Typ 2 cys شناسایی شد که نقش مهمی در تنظیم اکسیداسیون- احیای سلولی دارد. این پژوهش نشان داد که تنش شوری طیف وسیعی از پروتئین‌های با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بسیار متفاوت از هم را در بر می‌گیرد و شامل پروتئین‌های با وزن مولکولی سنگین و سبک، پایدار و ناپایدار، دارای نیمه عمر طولانی و کوتاه و دارای نقطه ایزوالکتریک متفاوت از هم می‌شود.

واژه‌های کلیدی

الگو، پایگاه داده، موتیف، نواحی درون غشایی، نیمه عمر.

استناد به این مقاله:

اصل علیزاده، آرزو؛ تورچی، محمود و بنده‌حق، علی (۱۴۰۳). تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک خصوصیات فیزیکوشیمیایی، تغییرات پس‌ترجمه‌ای و دمینی پروتئین‌های درگیر در تحمل شوری گندم. فصلنامه علمی زیست فناوری گیاهان زراعی، ۱۳(۴۵)، ۷۵-۶۳.

مقدمه

زنجیره اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده یک پروتئین، مشخص کننده یک مولکول پروتئینی خاص است که عملکردی ویژه دارد و خواص زیستی آن، ناشی از شکل سه بعدی القا شده توسط ردیف‌های اسیدآمینه در تعامل با محیط است و شکل سه‌بعدی نهایی مولکول پروتئین به طور انحصاری توسط توالی آن القا می‌گردد (کلاوری و نوتردام، ۲۰۱۱). تغییرات مولکولی مهمی تحت شرایط خاص در سلول‌های زنده رخ می‌دهد که یکی از آن شرایط خاص تنش‌های محیطی است (تورهان و باسر، ۲۰۰۴). تنش شوری یکی از مهمترین عوامل محدودکننده محیطی در تولید گندم است. گیاه برای مقابله با شرایط تنش‌زا، از جمله تنش شوری، مکانیسم‌های مختلفی را به کار می‌گیرد که از مهمترین آنها در سطح مولکولی، تغییر در بیان پروتئین‌ها است (دوروتی و رامانجولو، ۲۰۰۵).

تعداد توالی‌های موجود در UniProt هم اکنون به ۲۵۰۳۲۲۷۲۱ پروتئین رسیده است، از طرفی زیست‌شناسان هم با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی به همان نسبت سعی در تفسیر این اطلاعات انبوه دارند (کانتلی و همکاران، ۲۰۲۱). بنابراین فراخوانی این داده‌ها و تجزیه و تحلیل آن‌ها نه تنها اطلاعات با ارزشی از خصوصیات ساختاری و عملکردی پروتئین‌ها را ارائه می‌دهد بلکه هزینه کارهای آزمایشگاهی را نیز تا حد زیادی کاهش می‌دهد (باتمن و همکاران، ۲۰۰۴). UniPortKB/Swiss-Port توالی‌های پروتئینی با کیفیت مناسب و دسترسی آزاد به‌همراه اطلاعات عملکردی آنها را ارائه می‌دهد (بوتت و همکاران، ۲۰۱۶). یافتن ارتباط فیلوژنیک میان ژن‌ها و توالی پروتئین‌ها، (فلیسنر و همکاران، ۲۰۰۵) بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بیوشیمیایی (هانگ و همکاران، ۲۰۱۱)، عملکردی (مولدر و همکاران، ۲۰۰۵)، دمین ها (زدوبنو و آپیلر، ۲۰۰۱)، موتیف ها[1](کوویلون، ۲۰۰۵)، تاخوردگی ها[2](چانگ و بالدی، ۲۰۰۶)، تغییرات پس از ترجمه[3](هیلو و همکاران، ۲۰۰۷)، هم‌ردیفی توالی اسید های آمینه[4](آرنولد و همکاران، ۲۰۰۶) استفاده شده است. اکثر مدل‌های دمین پروتئینی در پایگاه‌های داده‌ای همچون Pfam[5] (فین و همکاران، ۲۰۱۰) و (لتونیک و همکاران، ۲۰۰۶) SMART[6]جمع‌آوری شده‌اند. روش های بیوانفورماتیکی براساس ابزارهای ساختاری و پایگاه‌های‌داده‌ای موجود می‌تواند تکمیل کننده نتایج آزمایشگاهی باشد و نقش کلیدی در مرتب‌سازی، سازماندهی و کاوش جزئیات دقیق داده های تجربی ایفا کند. داده های تجربی اغلب از روش های آزمایشگاهی ساختارهای سه بعدی پروتئین ها شامل کریستالوگرافی اشعه X و NMR[7] ستخراج می شوند. در حقیقت هدف نهایی بیوانفورماتیک فهم بهتر سلول زنده و چگونگی عمل سلول در سطح مولکولی است. با تجزیه و تحلیل توالی‌های مولکولی خام و همچنین داده‌های ساختاری، تحقیقات بیوانفورماتیک می‌تواند اطلاعات جدیدی درباره چشم انداز کلی سلول فراهم کند.

دمین ها واحد های تکاملی پروتئین ها هستند که به طور گسترده در طبقه‌بندی توالی‌های پروتئینی و پی بردن به عملکرد پروتئین کاربرد دارند. بررسی ساختار دمین در یک توالی پروتئینی خاص مهم است، زیرا نشانگر ساختار سه بعدی احتمالی پروتئین و عملکرد سلولی یا بیوشیمیایی بالقوه‌ی آن است. به همین علت بخش عمده‌ای از پایگاه داده‌ی Swiss-Prot به توصیف سازماندهی دمین‌های پروتئین‌ها اختصاص یافته است که با روش‌های موجود شناسایی یا پیش‌بینی شده‌اند (کلاوری و نوتردامی، ۲۰۱۱). برای ایجاد عملکردهای جدید در پروتئین ها و بازآرایی دمین‌ها و ایجاد دمین‌های جدید می‌توان واحدهای تکرار شونده روی ژن را دستکاری کرد (بورنبرگ و همکاران، ۲۰۰۵). دمین‌ها به رغم گوناگونی زیاد توالی توسط برچسب‌های چهارچوب توالی خود شان شناسایی می شوند. این برچسب‌های چهارچوب توالی، موتیف‌هایی در پروتئین هستند که به رغم میلیاردها سال تکامل انشقاقی هنوز قابل شناسایی می‌باشند. پایگاه‌داده ثانویه PROSITEدربرگیرنده تعدادی خانواده های پروتئینی، دمین ها، الگوها، موتیف‌ها و اطلاعات مربوط به آنها از نظر زیست شناختی و بیوتکنولوژی است (هیلو و همکاران، ۲۰۰۷). پایگاه داده دمین‌های محافظت شده NCBI (CDD) وسیله‌ای برای تفسیر توالی‌های پروتئینی است که قرارگیری دمین‌های محافظت شده و جایگاه فعالیت مربوط به دمین‌ها را بررسی کرده و ارائه می‌دهد. همچنین، ساختار سه بعدی پروتئین‌ها را مورد بررسی قرار می‌دهد تا رابطه بین توالی/ ساختار/ عملکرد را پیدا کند. به عبارتی می‌توان گفت CDD پایگاه داده محافظت شده برای توصیف

1. Motif
2. Fold
3. Post-translational modification
4. Protein sequence alignments
5Scaffold sequence signatures
6. Simple modular architecture research tool
7. Nuclear Magnetic Resonance

عملکرد پروتئین‌ها ست. تعیین زیرخانواده‌های پروتئینی نیز با ا ستفاده از CDD امکان‌پذیر اســت (مارچلر–بائر، ۲۰۱۱). عبدلی نســب و هم کاران (۱۳۹۹) پروتئین های LEA درگیر در تحمل به تنش خشــکی در جو و برنج را مورد تجزیه بیوانفورماتیکی قرار دادند. با نرم‌افزار ClustalW درخت فیلوژنی پروتئین ها رسم شد. اطلاعات مربوط به خصوصیات توالی‌ها، موتیف، پیش‌بینی جایگاه درون سلولی و بررســی فعالیت بیولوژیکی و مولکولی صــورت گرفت. گروه‌بندی پروتئین‌ها آنها را در هفت گروه مجزا قرار داد که دهیدرین‌ها بیشترین تعداد توالی‌ها را در بر گرفتند.

در این پژوهش، تعدادی از پروتئین‌های گندم که در مکانیسم‌های مرتبط با تنش شوری دخیل هستند و قبلاً با رهیافت پروتئومیک شــناســایی شــده اند، انتخاب و جهت بررســی بیوانفورماتیکی مورد اســتفاده قرار می‌گیرند هدف اصــلی در این پژوهش تعیین خصــوصــیات فیزیکوشــیمیایی، تعیین دمین‌های پروتئینی، همردیفی پروتئین‌ها با پروتئین‌های شــناخته شــده در پایگاه‌های اطلاعاتی پروتئینی جهت شــناخت عملکرد و ســاختار پروتئین و نیز شــناســایی نواحی درون غشــایی و نیز تغییرات پس ترجمه‌ای پروتئین‌های درگیر در تنش شوری گندم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ابتدا تعدادی از پروتئین‌های درگیر در تنش شوری گندم که با روش پروتئومیک شنا سایی شده بودند گزینش گردید (یدیز و تامام، ۲۰۰۷). برای مطالعه اطلاعات پروتئینی، پایگاه‌های اطــلاعــاتــی NCBI/Protein[۸]،UniProt/Kb و PDB[۹] مــورد بررسی قرار گرفت و در نهایت پروتئین های مشترک از داده پایگاه UniProt/Kb استخراج گردید و لیست آنها در جدول ۱ ارائه شده است.

خصــوصــیات فیزیکوشــیمیایی این پروتئین‌ها با اســتفاده از نرم‌افزار ProtParam تعیین شــد. این بر نا مه تخمین ویژگی های فیزیکوشــیمیایی پروتئین به روش *in silico* را امکان‌پذیر می‌ســازد (هوفر، ۲۰۱۱). این نرم افزار پارامتر های پروتئینی شــا مل وزن مولکولی، نقطه ایزوالکترونیک، شــاخص نا پا یداری و نیمه عمر پروتئین‌ها را به صورت تئوری و براساس خواص ذاتی اسیدهای‌آمینه تشکیل‌دهنده آنها محاسبه می‌کند (نوبل و بایلی، ۲۰۰۹).

جدول ۱. لیست پروتئین های پاسخ دهنده به تنش شوری در گندم

نقش	شماره دسترسی	نام پروتئین
کاهش اثرات سمی ROS ها	Q9M4T9	Cold-responsive LEA/RAB-related COR Protein
کاهش اثرات سمی ROS ها	Q8L807	Putative Glycine decarboxylase subunit
کاهش اثرات سمی ROS ها	A7VL25	Group3 late embryogenesis abundant protein
فتوسنتز	Q9SJQ9	Fructose-bisphsphate aldolase
متابولیسم کربن و انرژی	Q9FS79	Triosephosphat-isomerase
سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی	Q41834	Nucleic acid binding protein 1
کاهش اثرات سمی ROS ها	B3TLR9	Ras-related protein RIC1
کاهش اثرات سمی ROS ها	Q8S9H0	Temperature stress-induced lipocalin
کاهش اثرات سمی ROS ها	O24400	Cu/Zn superoxide dismutase
متابولیسم کربن و انرژی	Q41534	ATP synthase beta subunit
کاهش اثرات سمی ROS ها	M7ZKX9	Glutathione S-transerase DHAR2
سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی	Q00434	Oxygen-evolving enhancer protein 2, (OEF, 2) chloroplastic
کاهش اثرات سمی ROS ها	Q945R5	L-ascorbate peroxidase
متابولیسم کربن و انرژی	Q9SAW6	Ribulose-1,5- bisphospate carboxylase/oxygenase small subunit
کاهش اثرات سمی ROS ها	Q96468	2- Cys Peroxiredoxin BAS1, Chloroplastic
متابولیسم کربن و انرژی	P08823	RuBisCo large Subunit-binding protein
کاهش اثرات سمی ROS ها	F8RP11	Hsp 70-HSp 90 organizing protein
کاهش اثرات سمی ROS ها	Q7DMG9	Calmodulin
کاهش اثرات سمی ROS ها	A9UEB8	Aquaporin
کاهش اثرات سمی ROS ها	A7J2I3	Plasma membrance intrinsic protein
کاهش اثرات سمی ROS ها	P93604	Rust resistance kinase Lr10
کاهش اثرات سمی ROS ها	P83970	Plasma membrance ATPase
کاهش اثرات سمی ROS ها	P20973	Ubiquitin- activating enzyme E11
فتوسنتز	P04784	Chlorophll a-b binding protein, chloroplastic

1. National center for biotechnology information

2. Protein data bank

سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی	Q9ZRB7	Tubulin alpha chain

به منظور بررسی تغییرات پس ترجمه‌ای پروتئین‌ها از جستجو در داده پایگاه ثانویه PROSITE توسط نرم‌افزار ScanProsite استفاده شد. این نرم‌افزار توالی پروتئینی را با الگوهای موجود در PROSITE مقایسه کرده و موتیف، الگو یا پروفایل‌های موجود در توالی و تغییرات پس‌ترجمه‌ای محتمل را پیش‌بینی می‌کند (هیلو و همکاران، ۲۰۰۷). توالی‌های پروتئینی با فرمت FASTA به نرم‌افزار معرفی شد. گزینه Exclude motifs with a high probability of occurrence به منظور کنار گذاشتن نواحی پر تکرار از بررسی انتخاب شد. این نرم‌افزار امکان مقایسه پروتئین با فهرستی از الگوهای موجود در پایگاه اطلاعاتی PROSITE را فراهم کرده و در خروجی الگوهای شناسایی شده را با عبارت Hit by Pattern و پروفایل‌های شناسایی شده را با عبارت Hit by Profile نمایش می‌دهد.

شناسایی دمین‌های پروتئینی برای تعدادی از پروتئین‌های مشابه از بین پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش شوری صورت گرفت. در این پژوهش نرم‌افزار CDD (Conserved Domain Database) برای شناسایی دمین‌ها استفاده شد. این برنامه توسط NCBI پشتیبانی شده و تعدادی از دمین‌های مهم پروتئینی را در خود دارد. توالی کامل پروتئین مورد نظر با فرمت FASTA به این برنامه معرفی گردید. قبل از انجام جستوجو گزینه Expect Value Threshold که به طور پیش فرض روی ۰/۰۱ تنظیم شده است به ۰/۰۵ تغییر داده شد تا امکان شناسایی دمین‌های بیشتری فراهم گردد. با مراجعه به نتایج تصویری و متنی در خروجی برنامه و با توجه به E-Value ارائه شده برای هر دمین معنی‌دار بودن دمین‌های ارائه شده از نظر آماری مشخص شد (مارچلر-بایر، ۲۰۱۱).

نتایج و بحث

تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین‌ها

پروتئین‌های مورد مطالعه براساس نقشی که در تنش شوری ایفا می‌کردند به چهار گروه اصلی پروتئین‌های درگیر در کاهش اثرات سمی ROSها، رشد و تقسیم سلولی، فتوسنتز و متابولیسم کربن و انرژی تقسیم‌بندی شدند. با تجزیه و تحلیل نتایج ارائه شده توسط نرم‌افزار ProtParam به منظور تعیین خصوصیات فیزیکو شیمیایی پروتئین‌ها که در جداول ۱ تا ۴ آورده شده است می‌توان دریافت در بین پروتئین‌های درگیر در کاهش اثرات سمی ROSها، 2-Cys peroxiredoxin BAS1 دارای کمترین نیمه عمر بوده و نیمه عمر ۳ دقیقه در سلول بعد از تولید را دارد، این پروتئین به دلیل داشتن شاخص ناپایداری کمتر از ۴۰ پایدار است. این پروتئین جزو پراکسیدازها است. بسیاری از تنش‌های زیستی و غیرزیستی موجب تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌شوند. آنتی اکسیدان‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث مهار رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها می شوند که پراکسیدازها یکی از آنها هستند و نقش مهمی در متابولسیم H_2O_2 ایفا می‌کنند (شیگئوکا و همکاران، ۲۰۰۲).

پروتئین Hsp 70-Hsp90 organizing protein بیشترین وزن مولکولی را در بین پروتئین‌های درگیر در کاهش اثرات سمی ROSها دارد. این پروتئین ناپایدار بوده و نیمه عمر آن در سلول به بیشتر از ۲۰ ساعت می‌رسد (جدول۱). پروتئین‌های شوک حرارتی به عنوان محافظان مولکولی[1] عمل می‌کنند. اساساً این پروتئین ها در تا خوردن[2] و جابجایی پروتئین درون سلولی و همچنین هدایت پروتئین‌ها به سمت موا ضع نهایی آن‌ها شرکت دارند. پروتئین‌های شوک گرمایی نقش تعیین کننده در حفاظت گیاه علیه تنش برای برگرداندن پروتئین‌ها به شکل طبیعی اولیه آنها و در نتیجه هموستازی سلول بر عهده دارند (فلرر و همکاران، ۲۰۱۱) سوپراکسید دیسموتاز Cu-Zn (SOD) پروتئینی با پایداری نسبتاً زیاد است که نیمه عمری بالاتر از ۲۰ ساعت در سلول زنده دارد (جدول۱). سوپر اکسید دیسموتاز به شکل یک هومودیمر بوده و جایگاه فعال هر زیر واحد، دارای دو یون می باشد که یکی روی و دیگری مس است. ساختار سوپراکسید دیسموتاز Cu- Zn به خوبی عملکرد این آنزیم و نیز تعاملات بین زیر واحدهای آن را نمایش می‌دهد (بانچی و همکاران، ۲۰۰۲). سوپراکسید دیسموتاز Cu- Zn یک آنزیم با محافظت شدگی بالا می‌باشد که رادیکال‌های سوپر اکسید (O_2) را از سیتوپلاسم حذف می‌کند. فعالیت گزانتین اکسیداز روی گزانتین باعث تولید سوپراکسید می‌شود که یک فعالیت آنزیمی می‌باشد (راخیت و چاکراباتی، ۲۰۰۶). این آنزیم به عنوان اولین خط دفاعی در مقابل رادیکال‌های سوپراکسید عمل کرده و آنها را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. کالمودولین پروتئینی پایدار است که نیمه عمر بیشتر از ۲۰ ساعت دارد (جدول ۱). این پروتئین به عنوان گروهی از حسگرهای کلسیم، بسیاری از سیگنال‌ها را دریافت و آن‌ها را به

1. Molecular Chaperones

2. Folding

مسیرهای سیگنالینگ پایین دست از طریق اتصال و فعال‌سازی اهداف مختلف هدایت می‌کند (توتجا و سوپوری، ۲۰۰۸).

آکواپورین با وزن مولکولی ۲۱/۲۱ کیلودالتون پروتئینی پایدار است که نیمه عمر بالاتر از ۲۰ ساعت در سلول دارد (جدول ۱). آکواپورین‌ها، گروهی از پروتئین‌های مولد غشایی هستند که در غشای پلاسمایی یا تونوپلاست جای گرفته و از طریق ایجاد منافذ سلولی جذب آب را تسهیل می‌کنند. آکواپورین‌ها نقش اساسی در انتقال آب بین سلول‌ها دارند و در تنظیم جذب آب تحت تنش شوری نقش ایفا می‌کنند. پروتئین غشایی Plasma membrane intrinsic protein با وزن مولکولی ۲۹/۸۹ کیلو دالتون پروتئین پایداری است که نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول دارد (جدول۱-۳) و از پروتئین های دخیل در کاهش اثرات سمی ROSها در گندم می‌باشد. سازگاری به تنش شوری نیازمند ایجاد تغییراتی در جریان آب درون گیاه است و پروتئین‌های غشایی اجزای اصلی تنظیم کننده روابط آبی گیاه هستند. این پروتئین‌ها با ایجاد منافذ مخصوص آب، جذب اسمزی را تسهیل می‌کنند که به عنوان جایگزین برای انتشار آب از طریق غشاهای دو لایه لیپیدی است و در نتیجه نفوذپذیری غشا به آب افزایش می‌یابد (تیرمان و همکاران، ۲۰۰۲). پروتئینRust resistance kinase Lr10 یکی از اجزای آبشارهای پروتئین کینازی است که از تنظیم کننده‌های بسیار حفاظت شده در انواع فرایندهای سلولی مانند تمایز، تکثیر، رشد و مرگ می‌باشند و نقش مهمی در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و پاسخ‌های هورمونی از جمله علامت رسانی ROS ایفا می‌کنند (جوناک و همکاران، ۲۰۰۲). این پروتئین با وزن مولکولی ۷۱/۰۲ کیلو دالتون، پروتئینی ناپایدار بوده و در سلول نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت دارد (جدول ۱). پروتئین Plasma membrane ATPase نیز با وزن مولکولی ۱۰۴/۶۸ کیلو دالتون، پروتئینی پایدار و با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول است (جدول ۱-۳). و یکی از مهمترین پروتئین‌های تراغشایی موجود در غشای پلاسمایی گیاهان می‌باشد که در ایجاد و کنترل انتقالات از عرض غشا نقش مهمی ایفا می‌کند. این آنزیم با استفاده از انرژی هیدرولیز ATP یون H^+ را فعالانه به فضای آپوپلاستی هدایت می‌کند. عمل پمپ کردن پروتون به خارج، باعث ایجاد شیب الکتروشیمیایی در عرض غشا گردیده و این اختلاف غلظت یون زمینه لازم را برای فعالیت سایر ناقلین غشایی فراهم می‌آورد و باعث جذب مواد ضروری، دفع یون، آلاینده‌ها و سایر ترکیبات سمی از سلول می‌شود (توتجا و سوپروی، ۲۰۰۸).

Ubiquitin- activating enzyme E11 پروتئینی پایدار با وزن مولکولی ۱۱۷ کیلو دالتون است (جدول ۱) و از طریق اتصال به پروتئین‌های مشخصی که در طی تنش تولید شده‌اند، نهایتاً موجب تجزیه این پروتئین‌ها توسط کمپلکس پروتئازوم می‌شود. نقش یوبی کوئیتینه شدن در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیر زنده از قبیل تنش خشکی و شوری به اثبات رسیده است (استون، ۲۰۱۹).

در بین پروتئین‌های درگیر در سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی پروتئین OEF2 پایدار بوده و نیمه عمر بالاتر از ۲۰ ساعت دارد (جدول۲). این پروتئین در تنظیم متابولیسم کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه، نیتروژن و انرژی و نیز مسیر حذف رادیکال‌های فعال اکسیژن دخیل می‌باشد (کاروسو و همکاران، ۲۰۰۸). پروتئین Nucleic acid binding protein-1 پروتئینی ناپایدار بوده و نیمه عمری بالاتر از ۲۰ ساعت دارد (جدول ۲).

جدول ۲. خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین‌های درگیر در کاهش اثرات سمی ROSها در گندم تحت تنش شوری

نام پروتئین	وزن مولکولی(kD)	pI	II	نیمه عمر
2-Cys Peroxiredoxin BAS1, Chloroplastic	۲۳/۲۹	۵/۴۸	۲۹/۹۱	۳Min
Hsp 70-HSP 90 Organizing protein	۶۵/۰۹	۵/۷۸	۴۰/۷۰	> ۲H
Putative glycine decarboxylase subunit	۲۱/۲۴	۴/۹۹	۴۰/۱۲	> ۲H
Cu/Zn superoxide dismutase	۲۰/۲۵	۵/۳۵	۲۳/۹۶	> ۲H
Calmodulin	۱۶/۸۳	۴/۱۱	۲۳/۲۳	> ۲H
Aquaporin	۲۱/۲۱	۹/۳۰	۲۱/۶۳	> ۲H
Plasma membrane intrinsic protein	۲۹/۸۹	۹/۲۶	۳۲/۹۶	> ۲H
Rust resistance kinas Lr 10	۷۱/۰۲	۶/۳۴	۴۴/۵۷	> ۲H
Plasma membrane ATPase	۱۰۴/۶۸	۶/۳۸	۳۶/۱۹	> ۲H
Ubiquitin- activating enzyme E11	۱۱۷/۰۰	۵/۱۶	۳۵/۰۹	> ۲H

ادامه جدول ۲. خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین‌های درگیر در سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی در گندم تحت تنش شوری

نام پروتئین	وزن مولکولی (kD)	pI	II	نیمه عمر
Oxygen- evolving enhancer protein 2(OEF2)	۲۷/۲۶	۸/۸۴	۳۲/۵۶	> ۲h
Nucleic acid binding protein 1	۳۱/۱۱	۴/۶۰	۵۳/۹۸	> ۲h
Tubulin alpha chain	۴۹/۷۴	۴/۸۹	۳۶/۵۲	> ۲h

جدول ۳. خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین‌های درگیر در فتوسنتز در گندم تحت تنش شوری

نام پروتئین	وزن مولکولی (kD)	pI	II	نیمه عمر
Fructose- bisphosphate aldolase	۳۸/۳۸	۷/۰۱	۲۸/۴۴	> ۲h
UDP- Sulfoquinovose synthase, chloroplastic	۵۳/۱۱	۸/۴۱	۳۷/۷۴	> ۲h
Chlorophyll a-b binding protein, chloroplastic	۲۸/۲۶	۵/۶۷	۲۸/۹۹	> ۲h

این پروتئین به عناصر پاسخ دهنده به تنش‌های اسمزی متصل شده، باعث بیان چندین ژن می‌شود که در نهایت با اعمال تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک باعث ارائه پاسخ مناسب به تنش محیطی اعمال شده، می شود. آلفا توبولین پروتئینی پایدار با نیمه عمر بیشتر از ۲۰ ساعت می‌باشد (جدول۲). ابرخانواده پروتئینی توبولین که از زیرخانواده‌های α، βو δ- توبولین تشکیل شده است شامل پروتئین‌های بسیار حفاظت شده‌ای است که اجزای ساختاری و عملکردی اصلی میکروتوبول های یوکاریوتی را تشکیل می‌دهند (فیندرسن و همکاران، ۲۰۱۴).

از دیگر پروتئین‌های درگیر در تنش شوری که دچار تغییر بیان می‌شود می‌توان به Fructose- bisphosphate aldolase اشاره نمود. این پروتئین در فتوسنتز نقش داشته و نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول دارد (جدول۳) و در لوله آزمایش نیز پایدار است. این آنزیم واکنشی را کاتالیز می‌کند که نتیجه آن تشکیل ribulose-5- phosphate می‌باشد. سپس ribulose-5- phosphate فسفریله شده و RuBP را تشکیل می‌دهد و RuBP توسط RuBisCo استفاده شده و دوباره فاز اول که همان تثبیت کربن است، انجام می‌شود (تاموی و همکاران، ۲۰۰۳).

UDP– سالفوکووئینووز سینتاز پروتئینی پایدار بوده و نیمه عمر بیشتر از ۲۰ ساعت در سلول دارد (جدول ۳). گلیکو پپتید اسیدی، سالفوکوئینووسیل دی اسیل گلیسرول[2](SQDG) در غشاهای فتوسنتزی وجود دارد و متمایز از گلیکوپپتیدهای غیربردار دیگر مثل مونوگالاکتو سیل دی اسیل گلیسرول و دی گالاکتوسیل دی اسیل گلیسرول است و نه تنها در میان موجودات فتوسنتز کننده هوازی، بلکه در بین موجودات فتوسنتز کننده غیرهوازی هم وجود دارد (Sato *et al.*, 2003). Chlorophyll a-b binding protein, Chloroplastic پروتئینی پایدار با وزن مولکولی ۲۸/۲۶ کیلو دالتون است (جدول۳) که در واکنش‌های نوری فتوسنتز دخیل می‌باشد. این پروتئین در پایداری فتوسیستم II نقش دارد و جزئی از کمپلکس فتوسیستم II می‌باشد.

دسته چهارم از پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری در گندم، پروتئین‌های درگیر در متابولیسم کربن و انرژی است. ATP synthase beta subunit پروتئین پایداری است که نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول‌های زنده دارد (جدول۴). این پروتئین در کلروپلاست و میتوکندری یافت می‌شود و نقش اصلی را در تامین انرژی بر عهده دارد. زیرواحد بتا کلروپلاستی پروتئینی پایدار است و نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول دارد در حالیکه زیر واحد گاما همین پروتئین نه تنها مولکولی ناپایدار است بلکه نیمه عمر آن نیز فقط ۳ دقیقه در سلول می‌باشد (جدول ۴). زیر واحد گاما پروتئین ATP- سینتاز میتوکندریایی پروتئینی ناپایدار و با نیمه بیستر از ۲۰ ساعت در سلول است (جدول ۴). مجموعه ATP Synthase نقش مرکزی را در انتقال انرژی در سلول‌های زنده ایفا می‌کند.

پروتئین RubisCo large subunit- binding protein پروتئینی پایدار و با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول می‌باشد (جدول ۴). این پروتئین دارای زیرواحد RuBisCo large subunit- binding protein subunit alpha, Chloroplastic است که پروتئینی پایدار و با نیمه عمر ۳ دقیقه در سلول می‌باشد. روبیسکو، آنزیم کلیدی چرخه کالوین است و واکنش تبدیل دی-ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات و دی‌اکسید کربن به دو مولکول ۳-فسفودی گلیسرات را کاتالیز می‌کند. تنش‌های محیطی می‌توانند موجب غیرفعال شدن قابل برگشت یا غیر قابل برگشت روبیسکو

1.Sulfoquinovosyl diacylglycerol

شوند. روبیسکو غیرفعال شده غیرقابل برگشت بوسیله نسخه‌های جدید سنتز شده جایگزین می شود. به نظر می‌رسد که به واسطه ناپایدار بودن زیرواحدهای روبیسکو، بیان آن‌ها در گیاه تحت تنش افزایش یابد. میزان بیان زیرواحد بزرگ روبیسکو در شرایط تنش شوری افزایش می‌یابد. زیرواحدهای بزرگ روبیسکو می‌توانند توسط گونه‌های اکسیژنی فعال تشکیل شده در جایگاه اتصال یون فلزی شکسته شوند (هاجدوچ و همکاران، ۲۰۰۱). پروتئین Ribulose -1,5 -bisphosphte carboxylase/ oxygenase small subunit پروتئینی ناپایدار و با نیمه عمر بیشتر از ۲۰ ساعت در سلول می‌باشد (جدول۴). این پروتئین مربوط به زیرواحد کوچک روبیسکو است که در متابولیسم کربن نقش دارد.

آنزیم تریوز فسفات ایزومراز کلروپلاستی پروتئینی پایدار با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول می‌باشد (جدول۴). تریوز فسفات ایزومراز واکنش تبدیل دو طرفه دی هیدروکسی استون فسفات و دی‌گلیسرآلدهیدتری‌فسفات را کاتالیز می‌کند.

بررسی تغییرات پس ترجمه‌ای و دمین‌های پروتئینی

آلفا توبولین

توبولین‌ها اجزای اصلی میکروتوبول‌ها هستند. این پروتئین‌ها دایمرهایی از دو زیر واحد مرتبط (β,α) می‌باشند. با بررسی پروتئین α- توبولین به وسیله نرم‌افزار ScanProsite الگویی به نام Tubulin subunits alpha, beta and gamma signature شناسایی شد (جدول ۵). این الگو در زیرواحدهای توبولین وجود دارد. توبولین ها به دو مولکول GTP از دو طرف خود متصل می‌شوند (جایگاه‌های N و E). در جایگاه[1] E ,GTP در طول اتصال به میکروتوبول هیدرولیز می‌شود. نزدیک این جایگاه ناحیه‌ای ثابت و غنی از گلایسین (GGGTGSG) در دو زنجیره وجود دارد و برای کنترل دسترسی به نوکلئوتیدها در جایگاه اتصال آنها الزامی است (حسی و همکاران، ۱۹۸۷).

نتایج حاصل از بررسی این پروتئین با نرم‌افزار CDD در شکل ۱ نمایش داده شده است. دمین شناسایی شده با نام PLN00221 زنجیره مربوط به α-توبولین را نشان می‌دهد که از ابتدا تا انتهای توالی کشیده شده است.

پروتئین تریوز فسفات ایزومراز

تریوز فسفات ایزومراز یک دایمر است که از دو زیرواحد مشابه تشکیل شده است. هر زیر واحد دارای ۲۵۰ اسیدآمینه است. نتایج حاصل از بررسی آنزیم تریوز فسفات ایزومراز با نرم‌افزار ScanProsite در جدول ۶ ارائه شده است. در این پروتئین یک الگو و یک پروفایل تشخیص داده شد.

در پروتئین تریوز فسفات ایزومراز یک دمین شناسایی شده است. این دمین با عنوان TIM- like beta/ alpha barrel domains از خانواده triosephosphate isomerase می‌باشد. این دمین از ۲۵۰-۲۰۰ اسیدآمینه تشکیل شده است و سایت فعال این آنزیم در مرکز شبکه است. مطالعات نشان می‌دهد که یک لیزین در نزدیکی محل فعال آنزیم، برای عملکرد آنزیم بسیار مهم است (ناگاراجان و ناناجکار، ۲۰۲۰).

پروتئین Putative glycine decarboxylase subunit

نتایج حاصل از بررسی پروتئین Putative glycine decarboxylase subunit با نرم‌افزار ScanProsite در جدول ۷ ارائه شده است. در این پروتئین یک الگو و یک پروفایل تشخیص داده شد.

جدول ۷ و نتایج حاصل از بررسی پروتئین Putative glycine decarboxylase subunit با نرم افزار CDD را نشان می‌دهد. در این پروتئین یک دمین شناسایی شده است. این دمین با عنوان glycine cleavage system protein GcvH از خانواده Biotinyl- lipoyl- domains می‌باشد. خانواده بیوتین کربوکسیلازها از گروهی از آنزیم‌ها تشکیل شده‌اند که از یک گروه پروتئینی متصل به بیوتین، به عنوان کوفاکتور استفاده می‌کنند (جیتراپاکدی و والاسی، ۲۰۰۳).

پروتئین Cu/Zn superoxide dismutase

مکان سلولی این پروتئین‌ها بیانگر آن است که نقش بسیار مهم آنتی اکسیدانی در اندامک‌های سلولی که منبع اصلی ROS هستند، ایفا می‌کنند (هاشیموتو و همکاران، ۲۰۰۹). نتایج حاصل از بررسی این پروتئین با نرم‌افزار ScanProsite در جدول ۸ ارائه شده است.

دمین شناسایی شده با عنوان Copper/zinc superoxide dismutase (SOD) از خانواده Cu/Zn superoxide- dismutase می‌باشد.

1. Exchangeable

جدول ٤. خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین‌های درگیر در متابولیسم کربن و انرژی در گندم تحت تنش شوری

نام پروتئین	وزن مولکولی(kD)	pI	II	نیمه عمر
ATP synthase beta subunit	۵۹/۲۴	۵/۵۶	۳۳/۵۴	> ۲h
ATP synthase gamma subunit, chloroplastic	۱۳/۰۲	۴/۶۴	۵۰/۹۰	۳min
ATP synthase gamma subunit, mitochondrial	۳۵/۵۷	۹/۰۹	۵۹/۲۵	> ۲h
RuBisCo large subunit- binding protein	۵۷/۵۲	۴/۸۳	۲۷/۴۰	> ۲h
RuBisCo large subunit- binding protein subunit alpha, chloroplastic	۵۷/۳۹	۴/۸۳	۲۷/۷۸	۳min
Triosephosphate- isomerase	۲۶/۸۰	۵/۳۸	۲۶/۸۷	> ۲h
Ribulose- 1,5 -bisphosphate carboxylase/-oxygenase small subunit	۱۸/۵۳	۸/۸۳	۴۷/۰۹	> ۲h

جدول ۵. الگوها و پروفایل‌های شناسایی شده توسط نرم‌افزار ScanProsite در پروتئین Alpha tubulin

نام پروتئین	الگوهای شناسایی شده	پروفایل های شناسایی شده
Tubulin alpha chain (451 aa)	Tubulin subunits alpha, beta and gamma signature: TUBULIN Position: (142-148)	–

جدول ٦. الگوها و پروفایل‌های شناسایی شده توسط نرم‌افزار ScanProsite در پروتئین تریوز فسفات ایزومراز

نام پروتئین	الگوهای شناسایی شده	پروفایل های شناسایی شده
Triosephosphat- isomerase (253 aa)	Triosephosphat isomerase active site: TIM-1 Position: (164-174)	Triosephosphat isomerase (TIM) family profile: TIM-2 Position: (4- 247)

جدول ۷. الگوها و پروفایل‌های شناسایی‌شده توسط نرم‌افزار ScanProsite در پروتئین Putative glycine decarboxylase subunit

نام پروتئین	الگوهای شناسایی شده	پروفایل های شناسایی شده
Putative glycine decarboxylase subunit (201 aa)	2-oxo acid dehydrogenases acyltransferase component lipoyl binding site: LIPOYL Position: (81-110)	Biotinyl/lipoyl domain profile: BIOTINYLL- LIPOYL Psition: (56-141)

جدول ۸. الگوها و پروفایل‌های شناسایی شده توسط نرم‌افزار ScanProsite در پروتئینCu/Zn superoxide dismutase

نام پروتئین	الگوهای شناسایی شده	پروفایل های شناسایی شده
Cu/Zn superoxide dismutase (201 aa)	Copper/Zinc superoxide dismutase signature 1: SOD-CU-ZN-1 Position: (91-101) Copper/Zinc superoxide dismutase signature 2: SOD-CU-ZN-2 Position: (185-196)	–

پروتئین کالمودولین

سوپراکسید دیسموتازها، متالو- پروتئین‌های فراگیر هستند که با کا تالیزاسیون محلول سوپراکسید در اکسیژن مولکولی و پراکسیدهیدروژن از آسیب رادیکال‌های آزاد به واسطه اکسیژن جلوگیری می‌کنند. دامنه N ترمینال دمین شناسایی شده، در آزادسازی یون مس متصل‌شده در دامنه C ترمینال نقش دارد (Skopp *et al*., 2019).

براساس نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل الگوها و پروفایل‌ها توسط نرم‌افزار ScanProsite برای پروتئین کالمودولین، یک پروفایل و یک الگو شناسایی شد. این نتایج در جدول ۹ ارائه شده است.

دمین شناسایی شده دمین متصل شونده به کلسیم می‌باشد و دارای ساختار مارپیچ حلقه‌ای[1] است و به طور کلی به عنوان سوپرخانواده پروتئین Calmodulin شناخته می‌شوند. یافته‌ها نشان می‌دهد (لیو و ژائو، ۱۹۹۸). کالمودولین در ساختار خود دارای ۴ ناحیه اتصال به Ca^{2+} با دمین Calmodulin است.

پروتئین Fructose- bisphosphate aldolase

براساس نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل الگوها و پروفایل‌ها توسط نرم‌افزار ScanProsite برای پروتئین فروکتوز- بیس فسفات آلدولاز یک الگو شناسایی شد. این نتایج در جدول ۱۰ ارائه شده است.

جدول ۹. الگوها و پروفایل‌های شناسایی شده توسط نرم‌افزار ScanProsite در پروتئین کالمودولین

1. Helix- loop- helix

نام پروتئین	الگوهای شناسایی شده	پروفایل های شناسایی شده
Calmodulin (149 aa)	EF- hand calcium- binding domain: EF- HAND- 1 Position: (21-33, 57-69, 94-106,130-142)	EF- hand calcium- binding domain profile: EF-HAND- 2 Position: (8-43, 44-79, 81-116, 117-149)

جدول ۱۰. الگوها و پروفایل‌های شناسایی شده توسط نرم‌افزار ScanProsite در پروتئین Fructose- bisphosphate aldolase

نام پروتئین	الگوهای شناسایی شده	پروفایل های شناسایی شده
Fructose- bisphosphate aldolase 6, cytosolic (358 aa)	Fructose- bisphosphate aldolase class- I active site: ALDOLASE-CLASS-I Position: (217-227)	–

در پروتئین فروکتوز- بیس فسفات آلدولاز یک دمین شناسایی شده است. این دمین با عنوان Fructose- bisphosphate aldolase (PLN02455) از خانواده TIM superfamily می‌باشد. براساس تحقیقات روسلان و همکاران (روسلان و همکاران، ۲۰۱۷). مشخص شد که دمین شناسایی شده، یک دمین کاتالیتیکی متعلق به گروه کلاس 1 آلدولاز است که در انتهای N پروتئین حاوی ۱۰ اسیدآمینه می‌باشد که در سایت فعال فروکتوز- بیس فسفات محافظت شده است.

پروتئین Hsp 70- Hsp 90 Organizing Protein

پروتئین‌های شوک حرارتی در زمره چپرون‌های مولکولی بوده و باعث پایداری و بهبود پیچ خوردگی دوباره پروتئین‌هایی می‌گردد که در طی تنش‌های گوناگون باز و تجزیه شده‌اند. این پروتئین‌ها نقش تعیین کننده در حفاظت گیاه علیه تنش برای برگرداندن پروتئین‌ها به شکل طبیعی اولیه آنها و در نتیجه هموستازی سلول بر عهده دارند (وانگ و همکاران، ۲۰۰۴). نتایج حاصل از بررسی این پروتئین با نرم‌افزار ScasnProsite در جدول ۱۱ ارائه شده است.

در پروتئین شوک حرارتی دمین شناسایی شده با عنوان STI1 متعلق به خانواده STI1 می‌باشد. حفاظت شدگی دمین شناسایی شده، دلالت بر نقش حیاتی آن در کارکرد بیولوژیکی دارد. یک شیار در این دمین برای اتصال به پروتئین وجود دارد که با آمینوا سیدهای هیدروفوبیک واکنش می‌دهد (وانگ و همکاران، ۲۰۰۴).

پروتئین 2- Cys proxiredoxin BAS1, chloroplastic

نتایج حاصل از بررسی این پروتئین با نرم‌افزار ScanProsite در جدول ۱۲ ارائه شده است. پراکسی ردوکسین‌ها که به اختصار Prxs هم نامیده می‌شوند، یک خانواده پروتئینی فراگیر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هستند که سطح پراکسید تولید شده توسط سیتوکین‌ها را کنترل کرده و در نتیجه ترارسانی پیام را میانجیگری می‌کنند. Prxs به طور عمده در اندامک‌هایی نظیر کلروپلاست و میتوکندری مکان‌یابی شده‌اند. Prxها پراکسیدازهای مبتنی بر تیول هستند که قادر به مهار H_2O_2 می باشند. این آنزیم ها، کنترل و آغاز سیگنال‌دهی سلولی موثر بر فتوسنتز، بیان ژن‌های هسته‌ای وابسته به کلروپلاست و میتوکندری و فعال سازی آنزیم‌های چرخه کالوین را بر عهده دارند (دیتز، ۲۰۰۸). مورگان و ویل در مطالعه‌ای بیان کردند(مورگان و ویل، ۲۰۰۷)، اعضای خانواده Prx، پروتئین چند منظوره‌ای را رمزگذاری می‌کنند که می‌توانند به عنوان تنظیم‌کننده انتقال علامت، چپرون‌های مولکولی و تنظیم کننده پاسخ به آسیب به DNA تحت تنش اکسیداتیو در مخمر و گیاهان عمل کنند.

جدول ۱۱. لگوها و پروفایل‌های شناسایی شده توسط نرم‌افزار ScanProsite در پروتئین Hsp 70- Hsp 90 organizing

نام پروتئین	الگوهای شناسایی شده	پروفایل های شناسایی شده
Hsp70-Hsp 90 organizing protein (581 aa)	–	TPR repeat profile: TPR Position: (2-35, 36-69, 70-103, 253-286, 287-320, 332-365, 392-425, 426-459) TPR repeat region circular profile: TPR- REGION Position: (2-103, 253-493)

جدول ۱۲. الگوها و پروفایل‌های شناسایی شده توسط نرم‌افزار ScanProsite در پروتئین 2-Cys proxiredoxin BAS1, chloroplastic

نام پروتئین	الگوهای شناسایی شده	پروفایل های شناسایی شده
2-Cys proxiredoxin BAS1, chloroplastic (210 aa)	–	Thioredoxin domain profile: THIOREDOXIN-2 Position: (18-177)

پروتئین chloroplastic و 2-Cys proxiredoxin BAS1 توسط این نرم‌افزار یک دمین شناسایی شده است. این دمین با عنوان Peroxiredoxin Typical 2-Cys PRX subfamily (PRX) family از خانواده Thioredoxin-like می‌باشد. تیوردوکسین در گندم، جو و لگوم‌هایی چون Medicago truncatula، به عنوان پروتئین تنظیمی مرکزی در بذرها، عمل می‌نماید. اسیدآمینه والین، بیشترین اسیدآمینه موجود در این پروتئین می‌باشد (لی و همکاران، ۲۰۰۹).

نتیجه‌گیری

خصوصیات فیزیکو شیمیایی پروتئین‌های درگیر در تنش شوری نشان داد این تنش طیف وسیعی از پروتئین‌ها با ویژگی‌های بسیار متفاوت از هم را در بر می‌گیرد و شامل پروتئین های با وزن مولکولی سنگین و سبک، پایدار و ناپایدار، دارای نیمه عمر طولانی و کوتاه و دارای نقطه ایزوالکتریک متفاوت از هم می‌شود. خواص فیزیکوشیمیایی پروتئین ها اطلاعات خوبی از چگونگی عملکرد آنها در سیستم زنده ارایه می کند. امروزه با مهندسی پروتئین اسید امینه های آبگریز و آبدوست می توان بار یونی، پیوند هیدروژنی و نیروهای واندروالسی و در نهایت ساختار فضایی پروتئین را تغییر داده و از این تغییرات در تحمل گیاهان به تنش های مختلف محیطی بهره برد.

پروتئین آلفا توبولین به عنوان یک مونومر دارای یک الگو به نام TUBULIN و یک دمین به نام PLN00221 می باشد. توبولین، بخش عمده میکروتوبول‌ها را ایجاد می‌کند که برای رشد و تقسیم سلولی ضروری است. پروتئین تریوز فسفات ایزومراز کلروپلاستی به علت نیاز به انرژی جهت سمیت‌زدایی و باز سازی آسیب‌های ناشی از تخریب اکسیداتیو، نقش مهمی در تحمل به تنش شوری در گندم دارد. پروتئین Putative glycine decaboxylase به عنوان یکی از آنزیم‌های چرخه گلی اکسالات و نیز به دلیل مشارکت در بیوسنتز اسیدآمینه‌ها، از پروتئین‌های مهم برای افزایش توان تحمل گیاه گندم به تنش شوری می‌باشد. پروتئین Cn/Zn superoxide dismutase، پروتئینی با ۲۰۱ اسیدآمینه و وزن مولکولی ۲۰kDa می‌باشد. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی نشان داد که این پروتئین دارای دو الگو به نام‌های SOD- CU- ZN- 1 و SOD- CU-ZN-2 و یک دمین به نام Copper/ Zinc superoxide dismustase می‌باشد و از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم در تحمل به تنش شوری در گندم می‌باشد. بنابراین به نظر می رسد که تنش شوری تاثیر چشمگیری در تغییرات بیان پروتئین‌های مربوط به دفاع آنتی‌اکسیدانی داشته و به سبب آن یکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد گیاهی در گندم محسوب می‌شود. پروتئین فروکتوز بین فسفات آلدولاز به عنوان یکی از آنزیم‌های موثر در کاهش اثرات سمی ROSها، از پروتئین‌های مهم در تحمل گیاه گندم به تنش شوری می‌باشد. پروتئین شوک حرارتی Hsp 70- Hsp 90 organizing protein، پروتئینی است با ۵۸۱ اسیدآمینه و وزن مولکولی ۶۵kDa که از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم در تحمل تنش شوری در گندم می‌باشد. پروتئین 2- Cys peroxiredoxin BAS1، پروتئینی است با ۲۱۰ اسیدآمینه و وزن مولکولی ۲۳kDa که در تحمل به تنش شوری در گندم موثر می باشد.

منابع

Abdullinasab, M., & Mortezavi, 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. doi: 10.22103/jab.2021.15483.1208

Arnold, K., Bordoli, L., Kopp, J., Schwede, T. (2006). The SWISS-MODEL workplace: A web-based enviroment for protein structure homology modeling. *Bioinformatics*, *22*(2), 195-201.

Banci, L., Bertini, I., Cramaro, F., Del Conte, R., & Silvia Viezzoli, M. (2002). The solution structure of reduced dimeric copper zinc superoxide dismutase. *European Journal Biochemistry*, *269*: 1905-1915.

Bateman, A., Coin, L., Durbin, R., Finn, R. D., Hollich, V., Griffiths-Jones, S., Khanna, A., Marshall, M., Moxon, S., & Sonnhammer, E. L. (2004). The Pfam protein families databse. *Nucleic Acids Research*, *32*: 138-141.

Boutet, E., Lieberherr, D., Tognolli, M., Schneider, M., Bansal, P., Bridge, A.J., Poux, S., Bougueleret, L., & Xenarios, I. (2016). UniProtKB/Swiss-Prot, the manually annotated section of the UniProt KnowledgeBase: how to use the entry view. *Plant bioinformatics: methods and protocols*, pp.23-54.

Cantelli, G., Cochrane, G., & Brooksbank, C. (2021). The universal protein knowledgebase in 2021. *Nucleic Acids Research*, httpds://doi.org/10.1093/nar/gkaa1100.

Caruso, G., Cavaliere, C., Guarino, C., Gubbiotti, R., Foglia, P., & Lagana, A. (2008). Identification of changes in *Triticum durum* L. leaf proteome in response to salt stress by two-dimensional electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry, 391:* 381-390.

Chang, J., & Baldi, P. (2006). A machine learning information retrieval approach fold recognition. *Bioinformatics, 22*(12), 1456-1463.

Claverie, J.M., & Notredame, C. (2011). Bioinformatics for Dummies, 2nd Edition 18. Wiley Pub.

Dietz, K.J. (2008). Redox signal integration: from stimulus to networks and genes. *Plant Physiology, 133:* 459-468.

Dorothea, B., & Ramanjulu, S. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences, 24*(1): 23-58.

Fellerer, C., Schongruber, K., Soll, J., & Schwenkert, S. (2011). Cytosolic HSP90 cochaperones HOP and FKBP interact with freshly synthesized chloroplast preproteins of *Arabidopsis*. *Molecular Plant.* doi: 10.1093/mp/ssr037.Epud 2011 May 18.

Findeisen, P., Muhlhausen, S., Dempewolf, S., Hertzog, J., Zietlow, A., Carlomango, T., & Kollmar, M. (2014). six subgroupsand extensive recent duplications charscterize the evolution of the eukaryotic tubulin protein family. *Genome Biology, 6*(9): 2274-2288.

Finn, R. D., Bateman, A., Clements, J., Coggill, P., Eberhardt, R.Y., & Eddy, S.R. (2014). Pfam: the protin families database. *Nucleic Acids Research, 42*, 222-30.

Fleissner, R., Metzler, D., & Van Haeseler, A. (2005). Simultaneous statistical multiple alignment and phylogeny reconstruction. *Systematic Biology, 54*(4), 548-561.

Glaser, F., Pupko, T., Paz, I., Bell, R.E., Bechor-Shental, D., Martz, E., & Ben-Tal, N. (2003). ConSurf: Identification of functional regions in proteins by surface-mapping of phylogenetic information. *Bioinformatics Application Note, 19*(1), 163-164.

Hajduch, M., Rakwal, R., Agrawal, G.k., Yonekura, M., & Pretova, A. (2001). High-resolution two-dimensional electrophoresis separation of proteins from metal-stressed rice (*Oryza sativa* L.) leaves: Drastic reductions/fragmentation of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase and induction of stress-related proteins. *Electrophoresis, 22*, 2824-2831.

Hashimoto, M., Toorchi, M., Matsushita, K., Iwasaki, Y., & Komatsu, S. (2009). Proteome analysis of rice root plasma membrane and detection of cold stress responsive proteins. *Protein and Peptide Letters, 16*, 685-697.

Hesse, J., Thierauf, M., & Ponstingle, H. (1987). Tubulin sequence region beta 155-174 is involved in binding exchangeable guanosine triphosphate. *Journal of Biology Chemistry*, 262, 15472-15475.

Hoffer, I. (2011). How mmuch protein do parenteral amino acid mixtures provide? *The American Journal of Clinical Nutrition, 94*, 1396-1398.

Hulo, N., Bairoch, A., Bulliard, V., Cerutti, L., Cuche, B., De Castro, E., Lachaize, C., Langendijk-Genevaux, P.S., & Sigrist, ©.J.A. 2007. The 20 years of PROSITE. *Nucleic Acids Res. 36* (Database issue): D245–9. doi:10.1093/nar/gkm977

Jitrapakdee, S., & Wallace, J.C. (2003). The biotin enzyme family: conserved structural motifs and domain rearrangements. *Current Protein and Peptide Science, 4*(3), 217-229.

Jonak, C., Okresz, L., Bogre, L., & Hirt, H. (2002). Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signaling. *Current Opinion in Plant Biology, 5*, 415-424.

Letunic, I., Copley, R.R., Plis, B., Pinkert, S., Schultz, J., & Boork, P. (2006). SMART 5: Domains in the context of genomes and networks. *Nucleic Acids Research, 34*(1), 257-260.

Li, Y.C., Ren, J.P., Cho, M.J, Zhou, S.M., Kim, Y.B., & Buchanan, B.B. (2009). The level of expression of thioredoxin is linked to fundamental properties and applications of wheat seeds. *Molecular Plant, 3*: 430-441.

Liu, J., & Zhu, J.-K. (1998). A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance. *Science, 280*(5371), 1943-1945.

Marchler-Bauer, A., Anderson, J.B., Chitsaz, F., Derbyshire, M.K., DeWeese-Scott, C., Fong, J.H., Geer, L.Y., Geer, R.C., Gonzales, N. R., & Gwadz, M. (2009). CDD: specific functional annotation with the Conserved Domain Database. *Nucleic Acids Research, 37*, 205-210.

Morgan, B.A., & Veal, E.A. (2007). Functions of typical 2-Cys peroxiredoxins in yeast. *Subcell Biochemistry, 44*, 253-256.

Mulder, N.J., Apweiler, R., Attwood, T.K., Bairoch, A., Binns, D., Bradley, P., Bork, P., Bucher, P., Cerutti, L., Copley, R., Courceelle, E., Das, U.,

Durbin, R., Fleischmann, W., Gough, J., Haft, D., Harte, N., Hulo, N., Kahn, D., Kanapin, A., Krestyaninova, M., Lonsdale, D., Lopez, R., Letunic, I., Madera, M., Maslen, J., McDowall, J., Mitchell, A., Nikolskaya, A.N., Orchard, S., Pagni, M., Ponting, C.P., Quevillon, E., Selengut, J., Sigrist, C.J.A., Silventoinen, V., Studholme, D.J., Vaughan, R., & Wu, C.H. (2005). Inter Pro, progress and status in 2005. *Nucleic Acids Research, 33*(1), 201-205.

Nagarajan, D., Nanajkar, N. 2020. Encyclopedic Review Article. *Wiki Journal of Science*. doi: 10. 15347/wjs/2020.004.

Noble, J., & Bailey, M. (2009). Quantitation of protein. *Methods in Enzymology, 463*, 73-95.

Quevillon, E., Silventionen, V., Pillai, S., Harte, N., Mudler, N., Apweiler, R., & Lopez, R. (2005). InterProScan: protein domains identifier. *Nucleic Acids Research, 33*, 116-120.

Rakhit, R., & Chakrabartty, A. (2006). Structure, folding, and misfolding of Cu-Zn superoxide dismutase in amyotrophic lateral sclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular Basis of Disease, 1762* (11- 12), 1025-1037.

Roslan, H.A., Hossain, M.D., & Gerunsin, J. (2017). Molecular and 3D- Structural Characterization of Fructose-1, 6-Bisphosphate Aldolase Derived From Metroxylon Sagu. *Brazilian archives of Biology and Technology.*

Skopp, A., Stefanie, D., boyd, M., Liu. L., Duane, D., & Winkler, D. (2019). Copper-zinc superoxide dismutase (Sod 1) activation terminates interaction between its copper chaperone (Ccs) and the cytosolic metal-binding domain of the copper importer Ctr1. BioMetals. doi.org/10.1007/s 10534-0914-00206-3.

Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Tekeda, T., Yabuta, T., Yabuta, Y., & Yoshimura, K. (2002). Regulation and functon of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal Experimental Botany, 53*(372), 1305-1319.

Sato, K., Sato, M., & Nakano, A. (2003). Rer1p, a retrieval receptor for ER membrane proteins, recognizes transmembrane domains in multiple modes. *Molecular Biology of the Cell, 14*(9), 3605-16. DOI: 10.1091/mbc.e02-12-0777.

Stone, S. (2019). Role of the ubiquitin proteasome system in plant response to obiotic stress. *International Review of Cell and Molecular Biology, 343*, 65-110.

Tammam, A.M.F., & Hemeda, M. (2008). Study of salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar banysaifl. *Australian Journal of Crop Sciense, 1*(3), 115-125.

Tamoi, M., Nagaoka, M., Yabuta, Y., & Koizumi, N. (2003). Osmotic stress tolerance of transgenic tobacco expressing a gene encoding a membrane-located receptor-like protein from tobacco plants. *Plant Physiology, 131*, 454-462.

Turhan, H., & Baser, I. (2004). *In vitro* and *vivo* water stress in sunflower, *Helianthus annuus* L. *Helia, 27*, 227-236.

Tuteja, N., & Sopory, S.K. (2008). Chemical signaling under abiotic stress enviroment in plants. *Plant Signaling & Behavior, 3*(8),525-536.

Tyerman, S. D., Niemiets, C. M., & Bramley, H. (2002). Plant aquaporins: Multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant, Cell and Enviroment, 21*, 173-194.

Wang, W., Vinocur, B., Soseyov, O., & Altman, A. (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science, 9*, 244-252.

Yildiz, M. (2007). Two-dimensional electrophretic analysis of Soluble leaf proteins of a salt sensitive (*Triticum aestivum*) and a salt tolerant (*Triticum aestivum*) cultivar in response to NaCl stress. *Journal of Intergrative Plant Biology, 49*(7), 975-981.

Zdobnov, E.M., & Apweiler, R. (2001). InterProScan-an integration platform for the signature-recognition methods in InterPro. *Bioinformatics, 17*(9), 847-848.