

Identification of domain in some Drought-Tolerant Proteins of Sunflower (*Helianthus annuus*) Using Bioinformatics tools

Sara Majidiyan Namin¹, Mahmoud Toorchi^{1*} , Sahel Safavi¹

1. Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

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

Received: 30/Aug/2025
Accepted: 31/May/2026

How to cite:
Majidiyan Namin, S., Toorchi, M., & Safavi, S. (2026). Identification of domain in some Drought-Tolerant Proteins of Sunflower (*Helianthus annuus*) Using Bioinformatics tools. *Crop Biotechnology*, 15 (3), 13-29. (DOI: [10.30473/cb.2026.75637.2014](https://doi.org/10.30473/cb.2026.75637.2014))

ABSTRACT

One of the most important abiotic stresses is drought stress, which is particularly prevalent in late-season growth stages. It is considered one of the most common growth-limiting factors for plants in arid and semi-arid regions. Drought stress is one of the most critical environmental challenges, severely limiting plant growth and crop productivity by disrupting physiological processes dependent on water availability. To survive under drought conditions, plants employ multiple adaptive mechanisms, with changes in protein expression playing a key role. These changes are governed by physicochemical properties such as half-life, stability index, isoelectric point, molecular weight, and extinction coefficient, which influence protein function, folding, and stability under stress conditions. Additionally, the identification of motifs, conserved patterns, and functional domains provides crucial insights into protein modifications, interactions, and mechanistic adaptations enabling drought tolerance. Bioinformatics tools play an essential role in understanding these molecular changes. This study utilized ProtParam for physicochemical analysis, InterProScan and CDD for domain identification, ScanProsite for post-translational modification predictions, BLAST for sequence similarity assessments, and T-Coffee for conserved sequence alignment, ensuring a comprehensive evaluation of drought-responsive proteins. Based on previous proteomic studies, 18 proteins associated with drought stress were selected for analysis. Among them, 16 proteins exhibited a half-life exceeding 20 hours, with molecular weights ranging from 13 to 70 kDa. Fourteen proteins had stability index values below 40, indicating their structural stability under drought stress conditions. Two key proteins, α -tubulin and Elongation Factor TU (EF-TU), were examined in greater detail. α -tubulin forms a heterodimer with β -tubulin, known as $\alpha\beta$ -tubulin, which constitutes the primary component of microtubules, essential for cell division, intracellular transport, and cytoskeletal organization. This protein carries two motifs, TUBULIN_B_AUTOREG and TUBULIN, and two domains, Alpha-tubulin and PLN00221, both with functionally significant sites. EF-TU plays a pivotal role in protein elongation during translation, ensuring efficient amino acid incorporation into growing polypeptide chains. It contains two conserved motifs, G_TR_1 and G_TR_2, and consists of four domains: EF-Tu, EFTU-II, EFTU-III, and PLN03127, which contribute to its enzymatic activity. Sequence similarity analysis revealed conserved sequence blocks among proteins with 30-70% similarity, furthering the understanding of protein function and conservation under drought conditions. Additionally, the organelle-associated EF-TU protein exhibited greater resemblance to prokaryotic EF-TU than to eukaryotic EF-1 α , indicating its distinct adaptive traits. These findings emphasize the importance of bioinformatics-driven proteomic analysis in unraveling drought-responsive proteins, paving the way for genetic engineering and breeding strategies aimed at improving drought tolerance in crops. This study provides a foundation for further molecular research into drought-induced proteomic shifts and their role in enhancing plant resilience in challenging environments.

KEYWORDS

Bioinformatics, Domain, Motif, Pattern, Protein.



«مقاله پژوهشی»

شناسایی دمین در برخی از پروتئین‌های متحمل به خشکی آفتابگردان توسط ابزارهای بیوانفورماتیکی

سارا مجیدیان نمین^۱، محمود تورچی^{۱*} , ساحل صفوی^۱

چکیده

تنش خشکی یکی از عوامل محدودکننده اصلی در تولید محصولات کشاورزی است که فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه را در سطوح مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی از مهم‌ترین پاسخ‌های گیاهان به تنش خشکی، تغییر در بیان پروتئین‌هاست که به ویژگی‌های فیزیوشیمیایی مانند نیمه‌عمر، شاخص پایداری، نقطه ایزوالکتریک، وزن مولکولی و ضریب خاموشی وابسته است. علاوه بر این، شناسایی موتیف‌ها، الگوها و دامنه‌های پروتئینی امکان پیش‌بینی تغییرات ساختاری و عملکردی آن‌ها را فراهم می‌کند. در این مطالعه، ۱۸ پروتئین مرتبط با تنش خشکی براساس مطالعات قبلی پروتئومیک انتخاب شده و با ابزارهای بیوانفورماتیکی مورد تحلیل قرار گرفتند. خصوصیات فیزیوشیمیایی با نرم‌افزار ProtParam بررسی شد، دامنه‌ها با InterProScan و CDD شناسایی شدند، الگوهای احتمالی اصلاحات پساترجمه‌ای با ScanProsite ارزیابی گردید، شباهت با Blast تعیین شد و بلوک‌های حفاظتی از طریق هم‌ردیفی با T-Coffee شناسایی شدند. نتایج نشان داد که ۱۶ پروتئین نیمه‌عمری بیش از ۲۰ ساعت دارند، وزن مولکولی آن‌ها بین ۱۳ تا ۷۰ کیلو دالتون متغیر است و ۱۴ پروتئین دارای شاخص پایداری کمتر از ۴۰ بوده و پایدار تخمین زده شدند. بررسی دقیق‌تر روی α -توبولین و فاکتور طویل‌سازی Tu نشان داد که α -توبولین بخشی از میکروتوبول‌ها بوده و نقش کلیدی در رشد سلولی دارد. این پروتئین شامل الگوهای TUBULIN_B_AUTOREG و TUBULIN و دامنه‌های Alpha-tubulin و PLN00221 است. فاکتور طویل‌سازی TU دارای موتیف‌های G_TR_1 و G_TR_2 و چهار دامنه EFTU-II، EFTU-III و PLN03127 می‌باشد. تحلیل شباهت پروتئین‌ها نشان داد که توالی‌های دارای ۳۰ تا ۷۰ درصد شباهت می‌توانند در درک بهتر ساختار و عملکرد پروتئین کمک کنند.

واژه‌های کلیدی

الگو، بیوانفورماتیک، پروتئین، دمین، موتیف.

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

نویسنده مسئول:

محمود تورچی

رایانامه: mtoorchi@tabrizu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۱۰

استناد به این مقاله:

مجیدیان نمین، سارا؛ تورچی، محمود و صفوی، ساحل (۱۴۰۵). شناسایی دمین در برخی از پروتئین‌های متحمل به خشکی آفتابگردان توسط ابزارهای بیوانفورماتیکی، فصلنامه علمی زیست‌فناوری گیاهان زراعی، ۱۵ (۳)، ۱۳-۲۹.

(DOI: [10.30473/cb.2026.75637.2014](https://doi.org/10.30473/cb.2026.75637.2014))



مقدمه

نگرانی‌ها از تغییرات آب و هوایی جهان به علت افزایش کلی دما، تغییرات توزیع بارندگی و تشدید شرایط خشکسالی در مناطق نیمه خشک و خشک افزایش یافته است (Awasthi et al., 2014). تنش خشکی ناشی از کمبود آب باعث ایجاد اثرات مختلف مخرب بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و در نهایت عملکرد گیاه می‌شود (Sallam et al., 2019). پاسخ گیاه به تنش خشکی در سطح مولکولی توسط الگوهای بیان ژن، رونویسی و پس از رونویسی رخ می‌دهد (Khazaei et al., 2020). مطالعات متعددی با هدف کشف مکانیسم‌های مورد استفاده در گونه‌های متحمل به تنش و عناصری که تحمل را به گیاهان حساس القا می‌کنند انجام گرفته، اما ماهیت پیچیده و پلی‌ژنی صفات مرتبط با تحمل به تنش خشکی، اصلاح گیاهان برای تحمل به خشکی را با مشکل روبرو کرده است (Zandalinas et al., 2018). گیاهان طبیعی مقاوم به خشکی از به کارگیری انواع متابولیت‌ها و پروتئین‌های با وزن مولکولی کم برای خنثی کردن اثرات مضر تنش خشکی استفاده می‌کنند. برخی از پروتئین‌های به شدت هیدروفوبیک (آبدوست) نقش چند وجهی در حفاظت از سلول‌های گیاهی در شرایط تنش خشکی دارند. شواهد نشان می‌دهد که این پروتئین‌ها با افزایش ظرفیت نگهداری آب، تحمل به تنش خشکی را القا می‌کنند. افزایش محتوای کلروفیل، حفظ دستگاه فتوسنتزی، فعال کردن سم زدایی گونه‌های فعال اکسیژن و تجمع املاح سازگار از دیگر راهکارهای مؤثر برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی و توسعه محصولات مقاوم در برابر تنش خشکی برای تغذیه جمعیت در حال رشد در آینده نزدیک است (Riyazuddin et al., 2022). در سناریوی کنونی جهانی، تقریباً هر ارگانیسمی با تنش (زیستی یا غیرزیستی) مواجه می‌شود و تنش‌ها تأثیر جدی بر رشد و تکامل کلی موجودات دارد. علاوه بر این، بهره‌وری گیاهان نیز تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد. بنابراین زیست‌شناسی تنش کانون تحقیقات بسیاری از دانشمندان

بوده است و داده‌های انبوه تولید شده توسط آنها نیازمند مدیریت و ابزارهای تحلیل مناسب است. در دسترس بودن ابزارهای بیوانفورماتیکی از جمله نرم‌افزار، پایگاه‌های اطلاعاتی و منابع وب، تغییرات عمده‌ای در تحقیقات مرتبط با تنش ایجاد کرده است. این منابع به تجزیه و تحلیل و تفسیر بهتر داده‌های تولید شده از طریق آزمایش کمک می‌کند (Khalqi et al., 2024). بیوانفورماتیک نقش مهمی در توسعه ابزارها و تکنیک‌ها دارد که به درک ساختار و رابطه عملکردی ماکرو مولکول‌های زیستی کمک می‌کند و تاکنون ابزارها و تکنیک‌های مختلفی در زمینه بیوانفورماتیک برای حل بسیاری از مشکلات بیولوژیکی از جمله تنش گیاهان، توسعه یافته است (Kumar & Shanker, 2018). برآورد خواص فیزیکیوشیمیایی پروتئین‌ها، تغییرات پس ترجمه‌ای، دمین‌ها و دیگر خصوصیات قابل پیش‌بینی در آزمایشگاه با صرف وقت و هزینه زیادی همراه است. از طرف دیگر با 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 (Mohammadabadi et al., 2024). اطلاع از ساختار دیمینی در یک توالی پروتئینی مهم است چون نشانگر ساختار سه‌بعدی و شکل فضایی احتمالی پروتئین و در نهایت عملکرد سلولی یا بیوشیمیایی بالقوه‌ی آن است.

پیشینه پژوهش

Glaser و همکاران (۲۰۰۳) ابتدا ۵۳ همولوگ پروتئین Bcl-X_L²² را از پایگاه اطلاعاتی ProtoMap دریافت کردند و سپس با همدردی و نقشه کشی سطحی اطلاعات فیلوژنتیکی با استفاده از ابزار بیوانفورماتیک ConSurf، نواحی عملکردی پروتئین Bcl-X_L²² را مشخص کردند. سپس با استفاده از این روش، دو محل

دارند. اغلب دو یا چند دمین همپوشان به یک ناحیه از پروتئین تعلق دارند. پس برای تفسیر دمین‌های پروتئین روش‌های مناسبی لازم است که یکی از آنها CDD از سایت NCBI است که می‌تواند سازمان‌دهی دمین‌های مختلف پروتئینی را انجام دهد. بدین منظور نرم‌افزار CD Search از قسمت NCBI's Entrez قابل دسترسی است (Fong & Marchler-Bauer, 2008). حجتی و همکاران (Hojjati *et al.*, 2015) برای هم‌ردیف‌سازی چندگانه و ترسیم درخت فیلوژنی آنزیم سلولاز ابتدا توالی پروتئینی سلولاز مورد نظر را در پایگاه داده NCBI بلاست کردند. BLAST ابزاری است که به‌طور گسترده برای بررسی تشابهات توالی‌های DNA و پروتئین استفاده می‌شود (Altschul *et al.*, 1997). هم‌ردیف کردن توالی‌ها یکی از مراحل مهم در فرآیند ترسیم درخت فیلوژنتیکی است. برای تجزیه درخت ترسیم شده از روش بوت استرپ استفاده شد. در این روش به صورت آماری درخت‌های فیلوژنی با استفاده از روش نمونه برداری متعدد از داده‌های اولیه استفاده می‌شود (Naghavi *et al.*, 2012). در ادامه برای ترسیم درخت فیلوژنتیکی آنزیم از Clustal W برای هم‌ردیفی توالی‌ها و از MEGA 4.0 برای ساخت درخت فیلوژنی استفاده شد (Ashokan *et al.*, 2010). تفسیر و بررسی درست پروتئین‌ها نه تنها باعث جایگذاری پروتئین در گروه درست می‌شود بلکه از طرفی مانع پخش اطلاعات غلط و اشتباهات تفسیر در پایگاه داده‌های پروتئینی می‌گردد (Gilks *et al.*, 2005; Galperin *et al.*, 1998). جهت ساده سازی و راحتی تفاسیر پروتئینی، مدل‌های تکراری و مدل‌های مشابه خانواده‌ها، در سوپرخانواده‌های بزرگ گروه‌بندی شده‌اند. همانطوری که مکان‌یابی یا مشابهت شکلی یک پروتئین با پروتئین‌های شناخته شده دیگر می‌تواند ما را در مورد خصوصیات آن پروتئین راهنمایی کند، شناسایی ردپای دمین‌های محافظت شده نیز ممکن است راهنمایی برای شناسایی عملکردهای سلولی و مولکولی پروتئین باشد. از این گذشته مطالعه معماری دمین‌ها در خانواده پروتئین‌های چند دمینی اغلب تاریخچه تکاملی آن‌ها را مشخص می‌کند و ابزار مشترک

سطحی محافظت شده را یافتند، به‌طوری‌که محل اول متشکل از مناطق BH2، BH3 و BH1²³ بود و شیار اتصال پروتئین‌های آبدوست را تشکیل می‌دهد و محل دوم که توسط منطقه BH4 تشکیل شده بود با پروتئین CED-4²⁴ واکنش نشان می‌داد. بیان ژن HVA22 جو با وضعیت خواب بذر در ارتباط است (Shen *et al.*, 2001). پایگاه داده PROSITE شامل مجموعه بزرگی از داده‌های زیستی معنی‌دار از جمله الگوها یا عبارات منظم، موتیف‌های کوچک و پروفایل‌ها (ماتریس‌های وزنی) می‌باشد که همه این‌ها در راستای شناسایی دمین‌های پروتئینی بزرگ‌تر کاربرد دارند. همه اطلاعات ثبت شده از هم‌ردیفی‌های دستی و تحقیقات وسیع عملکردی، تاکسونومیک و ... به دست آمده‌اند. اطلاعات ثبت شده در PROSITE مجموعه‌ای با کیفیت بالا و حاصل تحقیقات اساسی و تفاسیر اطلاعات UniProtKB/Swiss-Prot می‌باشد (Bairoch *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2006). پایگاه داده InterProScan (Zdobnov *et al.*, 2001) ابزار دیگری است که دمین‌های پروتئینی مختلف را از پایگاه داده‌های دمینی شناسایی می‌کند. این نرم‌افزار با تکیه بر پایگاه داده ثانویه InterPro (Mulder *et al.*, 2005) امکان تحلیل دقیق ساختار و عملکرد انواع دمین‌های پروتئینی را فراهم می‌کند. همچنین برای بررسی تخصصی‌تر می‌توان از ابزار دیگری به نام CDD نیز بهره گرفت. 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 سه‌بعدی پروتئین‌ها را به دقت مورد بررسی قرار می‌دهد تا رابطه بین توالی / ساختار / عملکرد را پیدا کند. به عبارتی میتوان گفت CDD پایگاه داده محافظت شده برای توصیف عملکرد پروتئین‌هاست (Marchler-Bauer *et al.*, 2011). تعیین زیر خانواده‌های پروتئینی نیز با استفاده از CDD امکان‌پذیر است. دمین‌ها واحدهای تکاملی پروتئین‌ها هستند که به‌طور گسترده در طبقه بندی توالی‌های پروتئینی و پی بردن به عملکرد پروتئین کاربرد

2015). در این پژوهش مهمترین پروتئین‌های متأثر از تنش خشکی انتخاب و تجزیه و تحلیل‌های بیوانفورماتیکی روی آن‌ها انجام شده است. هدف اصلی در این پژوهش شناسایی دمین‌های حفاظت‌شده این پروتئین‌ها است. شناسایی دمین‌های پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش در تعیین عملکرد بیولوژیکی آن‌ها و سازوکار پاسخ به تنش خشکی بسیار حائز اهمیت است.

روش‌شناسی پژوهش

پروتئین‌های مورد بررسی

در این پژوهش برخی از مهم‌ترین پروتئین‌های درگیر در تنش خشکی که قبلاً با رهیافت پروتئومیک شناسایی شده‌اند (Ghaffari et al., 2013; Mohayeji et al., 2014) انتخاب و با نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند که لیست این پروتئین‌ها در جدول (۱) ارائه شده است.

در رده بندی توالی‌هاست (Marchler-Bauer et al., 2011). آنچه مسلم است این که گیاه در مقابل خشکی از خود عکس‌العمل نشان می‌دهد و این عکس‌العمل در سطح مولکولی شامل تغییرات پروتئینی می‌باشد. مهمترین مرحله در تبدیل یک زنجیره پپتیدی تازه ساخته شده به یک پروتئین فعال، تا خوردگی این زنجیره به یک ساختار سه‌بعدی و فشرده است. غیر از پروتئین‌های کوچک (کمتر از ۱۰۰ اسیدآمینو)، ساختار نهایی پروتئین به‌طور کلی شامل چندین دمین نسبتاً مستقل است. دمین‌ها با حدود ۵۰ اسیدآمینو یک زیر واحد مستقل از پروتئین هستند که در صورت جدا شدن از آن نیز می‌توانند فعالیت بیولوژیکی خود را حفظ کنند. دمین‌های پروتئینی را می‌توان به عنوان ساختارهای مجزا در کل ساختمان پروتئین تعریف کرد که توسط چندین زنجیره به هم مرتبط شده‌اند. این ساختارها هر کدام عمل خاصی را انجام می‌دهند. دمین‌های پروتئینی می‌توانند توضیحی برای چگونگی ارتباط واحدهای حیاتی درون سلول باشند (Kelley and Sternberg, 2009).

جدول ۱. لیست پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش خشکی در آفتابگردان و نقش بیولوژیکی آن‌ها
Table 1. List of proteins responding to drought stress in sunflower and their biological role

نقش Role	شماره دسترسی Access number	نام پروتئین Protein name
سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی	Q1KXS3	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی	P25460	40S ribosomal protein S11
سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی	A2Q5W0	Alpha-tubulin
کاهش اثرات سمی ROSها	D4NYE5	Ascorbate peroxidase 2-like protein
متابولیسم کربن و انرژی	Q9AXR6	ATP:citrate lyase
متابولیسم کربن و انرژی	A0A323	ATP synthase subunit a, chloroplastic
متابولیسم کربن و انرژی	Q2LGZ2	ATP synthase subunit gamma, chloroplastic
متابولیسم کربن و انرژی	P26360	ATP synthase subunit gamma, mitochondrial
کاهش اثرات سمی ROSها	P45739	Catalase
سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی	Q9ZT91	Elongation factor TU, mitochondrial
متابولیسم کربن و انرژی	P42896	Enolase
متابولیسم کربن و انرژی	P26301	Enolase 1
سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی	P05314	Ferredoxin--nitrite reductase, chloroplastic
فتوسنتز	Q42525	Hexokinase-1
متابولیسم کربن و انرژی	P29677	Mitochondrial-processing peptidase subunit alpha
کاهش اثرات سمی ROSها	Q949U7	Peroxioredoxin-2E, chloroplastic
کاهش اثرات سمی ROSها	Q6A199	Superoxide dismutase [Cu-Zn]
فتوسنتز	Q48917	UDP-sulfoquinovose synthase, chloroplastic

بررسی‌های دقیق‌تر، نرم‌افزار CDD (Conserved Domain Database) نیز برای شناسایی دمین‌ها استفاده شد.

بررسی شباهت‌های پروتئینی

برای بررسی شباهت‌های پروتئینی از نرم‌افزار BLAST استفاده شد. BLAST یا ابزار جست‌وجوی هم‌ردیفی موضعی پایه‌ای (Basic Local Alignment Search Tool) ابزاری است که سعی در پیدا کردن هم‌ردیفی موضعی بدون فاصله و بالاترین امتیاز در بین توالی‌های پروتئینی موجود در پایگاه‌های اطلاعاتی و توالی مورد بررسی دارد. این برنامه دارای بخش‌های مختلفی است که اگر هدف پیش‌بینی کنش و عملکرد پروتئین باشد توصیه می‌شود از BLASTp استفاده شود.

هم‌ردیفی چندگانه به روش سلسله‌مراتبی و شناسایی بلوک‌های حفاظت‌شده برای این منظور از برنامه T-Coffee استفاده شد. در این نرم‌افزار از ۲۰ الی ۳۰ توالی با طول تقریباً یکسان و با شباهت حدود ۳۰-۷۰ درصد برای هم‌ردیفی چندگانه استفاده شد.

یافته‌های پژوهش

تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین‌ها براساس نتایج حاصل از نرم‌افزار ProtParam، آسکوربات پراکسیداز در میان پروتئین‌های مؤثر در کاهش اثرات سمی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، دارای کمترین نیمه‌عمر (۳ دقیقه پس از تولید در سلول) است. با وجود این نیمه‌عمر کوتاه، شاخص ناپایداری کمتر از ۴۰ نشان‌دهنده پایداری نسبی این پروتئین است. وزن مولکولی نسبتاً پایین آن نیز به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاصش اشاره دارد. آسکوربات پراکسیداز، به عنوان یکی از پراکسیدازها، نقش کلیدی در متابولیسم پراکسید هیدروژن (H_2O_2) دارد و در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی، با فعالیت آنتی‌اکسیدانی

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پروتئین‌ها

در ابتدا پروتئین‌های مورد نظر براساس نقشی که در تنش خشکی ایفا می‌کردند به چهار گروه اصلی پروتئین‌های درگیر در ۱- کاهش اثرات سمی ROS، ۲- سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی، ۳- فتوسنتز و ۴- متابولیسم کربن و انرژی، تقسیم‌بندی شدند. سپس خصوصیات فیزیکوشیمیایی این پروتئین‌ها با استفاده از نرم‌افزار ProtParam تعیین شد. برای استفاده از این نرم‌افزار به صفحه اصلی نرم‌افزار از آدرس (<http://web.expasy.org/protparam/>) مراجعه و توالی‌های پروتئینی با فرمت FASTA به برنامه ارائه شد. برای تجزیه کل توالی، اطلاعات N-terminal و C-terminal خالی گذاشته شد.

بررسی تغییرات پس ترجمه‌ای در توالی

به‌منظور 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 پس ترجمه‌ای محتمل را پیش‌بینی می‌کند. برای دسترسی به این نرم‌افزار به آدرس (<http://www.expasy.org/prosite>) مراجعه و توالی‌های پروتئینی با فرمت FASTA به نرم‌افزار معرفی شد. گزینه [Exclude motifs with a high probability of occurrence](#) به‌منظور کنار گذاشتن نواحی پر تکرار از بررسی انتخاب شد.

شناسایی دمین‌های پروتئینی

شناسایی دمین‌های پروتئینی برای تعدادی از پروتئین‌های مشابه از بین پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش خشکی صورت گرفت. در ابتدا برای شناسایی دمین از نرم‌افزار InterProScan استفاده شد. پایگاه داده InterPro به ۱۶ پایگاه داده ثانویه دسترسی دارد و بزرگ‌ترین و اولین پایگاه اطلاعاتی است که در بررسی دمین‌های پروتئینی استفاده می‌شود. در این پژوهش برای

و اتصال هیدروفوبی با سطحی حدود $550 \text{ \AA}$ به هم متصل می‌شوند (Tainer *et al.*, 1982). جایگاه‌های فعال زیرواحدها مقابل یکدیگر قرار گرفته و عملکرد آنزیم را بهینه می‌سازند. این آنزیم تحت تغییرات پس‌ترجمه‌ای شامل درج یون‌های فلزی، دایمر شدن و تشکیل پیوند دی‌سولفیدی قرار می‌گیرد که برای حفظ ساختار و پایداری آن حیاتی هستند (Rakhit *et al.*, 2006). در بین پروتئین‌های درگیر در سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی پروتئین S8 زیر واحد 30S ریبوزوم پروتئینی پایدار بوده و نیمه عمر بالاتر از ۲۰ ساعت دارد. پروتئین S11 زیر واحد 40S ریبوزوم پروتئینی پایدار است که نیمه عمر بالاتر از ۲۰ ساعت دارد. هر دوی این پروتئین‌ها در ساختار ریبوزوم دخیل بوده و در سنتز پروتئین‌ها ایفای نقش می‌کنند. α -توبولین پروتئینی پایدار با نیمه‌عمر بیش از ۲۰ ساعت است که به‌عنوان یکی از اعضای ابرخانواده توبولین، نقش ساختاری و عملکردی کلیدی در تشکیل میکروتوبول‌های یوکاریوتی دارد (Keeling *et al.*, 1996). این پروتئین از فراوان‌ترین اجزای سلولی یوکاریوت‌ها بوده و در ساختارهایی مانند دوک‌های میتوزی و میوزی، اسکلت سیتوپلاسمی، مژک‌ها و تاژک‌ها نقش دارد. توبولین‌ها به‌عنوان پروتئین‌های بسیار حفاظت‌شده حتی در آرکئی‌ها و باکتری‌ها نیز شناسایی شده‌اند (Findeisen *et al.*, 2014). این ویژگی‌ها اهمیت حیاتی آن‌ها در پایداری و سازمان‌دهی سلولی را نشان می‌دهد. پروتئین Elongation Factor TU (EF-TU) با نیمه‌عمر بیش از ۲۰ ساعت، یکی از پایدارترین و فراوان‌ترین پروتئین‌های سلولی است که نقش حیاتی در طویل شدن زنجیره پلی‌پپتیدی طی ترجمه ایفا می‌کند (Miller *et al.*, 1977). این پروتئین با اتصال به aminoacyl-tRNA و تشکیل کمپلکس EF-TU.GTP، از هیدرولیز اتصال استری جلوگیری کرده و به‌طور اختصاصی tRNA شارژ شده را شناسایی می‌کند (Thompson *et al.*, 1986). EF-TU در تعامل با GTP، GDP، EF-Ts و ریبوزوم‌ها، فرایند

خود، در مهار رادیکال‌های آزاد نقش مهمی ایفا می‌کند (Shigeoka *et al.*, 2002). پروتئین کاتالاز با بیشترین وزن مولکولی در میان پروتئین‌های مقابله‌کننده با ROS، دارای نیمه‌عمر طولانی بیش از ۲۰ ساعت بوده و از پایداری بالایی برخوردار است. این آنزیم آنتی‌اکسیدان با تجزیه هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن، نقش مهمی در محافظت سلولی در برابر تنش‌های اکسیداتیو ایفا می‌کند (Bai *et al.*, 2001). کاتالاز در تمامی موجودات هوازی یافت می‌شود و نوع گیاهی آن اغلب دارای منگنز است (Chelikani *et al.*, 2004). پراکسی‌ردوکسین پروتئینی پایدار است که نیمه عمر بیشتر از ۲۰ ساعت دارد. پراکسی‌ردوکسین‌ها یکی از خانواده‌های رایج در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هستند که توسط فسفوریلاسیون، اولیگومریزاسیون و اکسایش و کاهش تنظیم می‌شوند. این آنزیم‌ها در سه گروه زیر رده بندی شده‌اند:

1- Cys Prxs, typical 2-Cys Prxs, atypical 2-Cys Prxs

هر سه دسته در متابولیسم‌های کاتالیتیک پایه و در جایگاه فعال مربوط به سیستمین مشترک هستند (Wood *et al.*, 2003). سوپراکسید دیسموتاز Cu-Zn(SOD) آنزیمی پایدار با نیمه‌عمر بیش از ۲۰ ساعت است که به صورت هومودایمر عمل کرده و در هر زیرواحد دارای یون‌های مس و روی می‌باشد (Banci *et al.*, 2002). این آنزیم با حذف رادیکال‌های سوپراکسید از سیتوپلاسم، نقش مهمی در محافظت سلولی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ایفا می‌کند (Rakhit *et al.*, 2006). واکنش‌های اکسایش و کاهش این آنزیم از طریق مکانیسم رفت و برگشت مرحله ای انجام می‌شود که منجر به تبدیل $O_2^{\cdot -}$ به H_2O_2 و در نهایت $O_2^{\cdot -}$ می‌گردد (Lippard *et al.*, 1994). تولید سوپراکسید در سلول‌ها می‌تواند به‌صورت طبیعی یا از طریق فعالیت آنزیم گزانتین اکسیداز صورت گیرد. SOD1 یوکاریوت‌ها به‌صورت یک هومودایمر پایدار عمل می‌کند که زیرواحدهای آن از طریق محور چرخان C2

ترجمه را تنظیم می‌کند و همچنین از طریق برهم‌کنش با گوانوزین‌پلی‌فسفات‌ها در مهار برگشت‌پذیر خود نقش دارد (Arai *et al.*, 1972). افزون بر نقش ترجمه‌ای، این پروتئین در غشای داخلی سلول نیز دیده شده و عملکرد ساختاری دارد (Cremers *et al.*, 1981) و در حالت خالص تمایل به تشکیل ساختارهای فیبری دارد (Weiser *et al.*, 1982). فردوکسین نیترا ردوکتاز، پروتئینی ناپایدار با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول است. این آنزیم جزو پروتئین‌های سیستم فتوسنتزی کاهش نیترا است و برای اولین بار به عنوان یک آنزیم وابسته با فردوکسین کلروپلاستی با کاتالیز شش الکترون از نیتريت به آمونیاک شناسایی شد (Vega *et al.*, 1980). از دیگر پروتئین‌های درگیر در تنش خشکی که دچار تغییر بیان می‌شود می‌توان به هگزوکیناز ۱ اشاره نمود. این پروتئین در فتوسنتز نقش داشته و نیمه عمر بیشتر از ۲۰ ساعت در سلول دارد و در لوله آزمایش نیز پایدار است. هگزوکیناز ۱ یک سنسور گلوکز است که مواد مغذی و سیگنال‌های هورمونی را برای کنترل بیان ژن و رشد گیاه در پاسخ به محرک‌های زیست محیطی کامل می‌کند (Cho *et al.*, 2006). UDP-sulfoquinovose synthase، پروتئینی پایدار با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت است که نقش کلیدی در سنتز گلیکوپپتید اسیدی SQDG دارد؛ ترکیبی که در غشاهای فتوسنتزی موجودات هوازی و غیرهوازی یافت می‌شود و از نظر بار الکتریکی با سایر گلیکوپپتیدها متفاوت است (Sato *et al.*, 2003). سنتز SQDG در دو مرحله انجام می‌شود؛ ابتدا تولید UDP-glucose و سپس اتصال سولفیت به آن توسط UDP-sulfoquinovose synthase که منجر به انتقال sulfoquinovose به دی‌اسیل‌گلیسرول می‌گردد. حضور این آنزیم برای انجام صحیح فتوسنتز ضروری است (Benning *et al.*, 1998). دسته چهارم از پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش خشکی، پروتئین‌های درگیر در متابولیسم کربن و انرژی است. ATP:citrate lyase پروتئین پایداری است که نیمه

عمر بیش از ۲۰ ساعت در سلول‌های زنده دارد. این پروتئین در مسیر تثبیت دی‌اکسید کربن نقش دارد. پروتئین ATP-synthase که در کلروپلاست و میتوکندری یافت می‌شود، نقش حیاتی در تولید انرژی سلولی دارد و از دو بخش F_0 و F_1 به همراه زیرواحدهای α ، β و γ تشکیل شده است (Walker *et al.*, 1982). زیرواحد α در کلروپلاست پروتئینی پایدار با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت است، در حالی که زیرواحد γ کلروپلاستی ناپایدار بوده و نیمه عمر آن تنها ۳ دقیقه است (Cozens *et al.*, 1987). در مقابل، زیرواحد γ میتوکندریایی پایدار و دارای نیمه عمر طولانی است. حرکت چرخشی زیرواحد γ نسبت به هگزامرهای $\alpha_3\beta_3$ در پاسخ به عبور پروتون‌ها، عملکرد این کمپلکس را به عنوان یک موتور مولکولی طبیعی برجسته می‌سازد، هرچند مکانیزم دقیق آن هنوز مورد بررسی است. انولاز و انولاز ۱ پروتئین‌هایی پایدار با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت هستند که واکنش دهیدراسیون برگشت‌پذیر ۲-فسفوگلیسیرات به فسفو انول پیرووات را کاتالیز می‌کنند (Dennis & Blakeley, 2000). این واکنش در مسیر گلیکولیز نقش کلیدی دارد و تولید انرژی را تسهیل می‌کند. در شرایط تنش، القای انولاز ممکن است برای تولید NADH و NADPH جهت حمایت از سیستم آنتی‌اکسیدانی ضروری باشد (Kultz, 2005). زیرواحد آلفای پپتیدازهای پردازشگر میتوکندری (MPP) پروتئینی پایدار با نیمه عمر بیش از ۲۰ ساعت است که به عنوان بخشی از یک هترودایمر با زیرواحد β ، نقش حیاتی در شکافت توالی‌های سیگنال N-ترمینال پروتئین‌های واردشونده به میتوکندری ایفا می‌کند (Taylor *et al.*, 2001). این اندوپپتیدازهای فلزی با شناسایی جایگاه‌های خاص شامل آرژنین در موقعیت ۲- و اسید آمینه آروماتیک در موقعیت ۱+، برش دقیقی را انجام می‌دهند که برای انتقال و پردازش صحیح پروتئین‌ها ضروری است. ساختار بلوری آن‌ها نیز ویژگی‌های منحصر به فردی در تعامل با توالی‌های سیگنال نشان می‌دهد.

جدول ۲. خصوصیات فیزیکی شیمیایی پروتئین‌های درگیر در کاهش اثرات سمی ROSها

Table 2. Physico-chemical properties of proteins involved in reducing the toxic effects of ROS

نام پروتئین	وزن مولکولی	نقطه ایزوالکتریک تئوری	شاخص ناپایداری	نیمه عمر
Protein name	Molecular weight (kD)	The isoelectric point of theory	Instability index	Half life
Ascorbate peroxidase 2-like protein	13.22	4.61	24.63	3 min
Catalase	56.75	6.60	37.28	>20hours
Peroxioredoxin-2E, chloroplastic	24.68	9.12	37.18	>20hours
Superoxide dismutase [Cu-Zn]	15.41	5.61	15.58	>20hours

جدول ۳. خصوصیات فیزیکی شیمیایی پروتئین‌های درگیر در سنتز پروتئین، رشد و تقسیم سلولی تحت تنش خشکی

Table 3. Physico-chemical characteristics of proteins involved in protein synthesis, growth and cell division under drought stress

نام پروتئین	وزن مولکولی	نقطه ایزوالکتریک تئوری	شاخص ناپایداری	نیمه عمر
Protein name	Molecular weight (kD)	The isoelectric point of theory	Instability index	Half life
30S ribosomal protein S8, chloroplastic	15.68	11.30	49.78	>20hours
40S ribosomal protein S11	17.68	10.59	31.72	>20hours
Alpha-tubulin	49.86	4.94	34.35	>20hours
Elongation factor TU, mitochondrial	49.40	6.25	38.81	>20hours
Ferredoxin-nitrite reductase, chloroplastic	66.39	6.50	42.61	>20hours

جدول ۴. خصوصیات فیزیکی شیمیایی پروتئین‌های درگیر در دگستوسنتز تحت تنش خشکی

Table 4. Physico-chemical properties of proteins involved in dextosynthesis under drought stress

نام پروتئین	وزن مولکولی	نقطه ایزوالکتریک تئوری	شاخص ناپایداری	نیمه عمر
Protein name	Molecular weight (kD)	The isoelectric point of theory	Instability index	Half life
Hexokinase-1	53.70	5.76	37.51	>20hours
UDP-sulfoquinovose synthase, chloroplastic	53.11	8.41	37.74	>20hours

جدول ۵. خصوصیات فیزیکی شیمیایی پروتئین‌های درگیر در متابولیسم کربن و انرژی تحت تنش خشکی

Table 5. Physico-chemical properties of proteins involved in carbon and energy metabolism under drought stress

نام پروتئین	وزن مولکولی	نقطه ایزوالکتریک تئوری	شاخص ناپایداری	نیمه عمر
Protein name	Molecular weight (kD)	The isoelectric point of theory	Instability index	Half life
ATP:citrate lyase	65.73	7.11	32.05	>20hours
ATP synthase subunit a, chloroplastic	26.68	5.24	21.38	>20hours
ATP synthase subunit gamma, chloroplastic	13.02	4.64	50.90	3min
ATP synthase subunit gamma, mitochondrial	35.57	9.09	59.25	>20hours
Enolase 1	48.06	5.20	34.34	>20hours
Enolase	47.91	5.56	32.93	>20hours
Mitochondrial-processing peptidase subunit alpha	54.67	5.71	35.19	>20hours

بررسی تغییرات پس ترجمه‌ای و دامین‌های پروتئینی

توبولین‌ها اجزای اصلی میکروتوبول‌ها هستند. این پروتئین‌ها دایمرهایی از دو زیر واحد مرتبط (α و β) می‌باشند. با بررسی پروتئین α -توبولین به وسیله نرم‌افزار ScanProsite دو الگو با نام‌های Tubulin-beta mRNA Position: (1-4) autoregulation signal و (142-148) Position: Tubulin subunits alpha, beta, and gamma signature شناسایی شدند. الگوی اول نشان می‌دهد که mRNA مربوط به β -توبولین از طریق ترجمه

محصولاتش دچار خودتنظیمی شده و پایداری خاصی پیدا می‌کند، به‌طوری‌که توالی N-ترمینال شامل Met-Arg-Glu-Ile برای این تنظیم حیاتی است و هرگونه جهش در آن (به جز Glu به Asp) یا جابه‌جایی آن به نواحی داخلی، این اثر را از بین می‌برد (Cleveland, 1988). الگوی دوم شامل اتصال دو مولکول GTP به جایگاه‌های N و E توبولین است که در جایگاه E، GTP طی اتصال به میکروتوبول هیدرولیز می‌شود. ناحیه‌ای غنی از گلايسین (GGGTGSG) در نزدیکی این جایگاه برای کنترل دسترسی به نوکلئوتیدها ضروری است و در α و -

می‌گیرد که نقش مهمی در پایداری ساختار دارند (Kikkawa *et al.*, 2000). مارپیچ H12 همچنین محل اصلی تعامل با پروتئین‌های موتور مانند kinesin است و در غلظت‌های بالا می‌تواند موجب بی‌ثباتی اتصال آن‌ها شود. اتصال نوکلئوتیدها نیز در بالای هر مونومر، با GTP در α -توبولین و GDP در β -توبولین انجام می‌شود و از طریق لوپ T7 با زیرواحد بعدی تعامل دارد. این ساختارها در مدل‌های بلوری به‌صورت سه‌بعدی قابل مشاهده‌اند.

EF-TU (protein synthesis elongation factor Tu) همانگونه که از اسمش پیداست یک عامل مهم در طول شدن پروتئین در هنگام سنتز است و نقش کلیدی در سنتز پروتئین در باکتری‌ها، اندامک‌هایی مثل میتوکندری و همچنین گیاهان ایفا می‌کند. همولوگ سیتوسولی EF-TU در گیاهان EF-1 α نام دارد. نتایج حاصل از بررسی پروتئین Elongation factor TU با نرم‌افزار ScanProsite در جدول (۶) ارائه شده است. در این پروتئین یک الگو و یک پروفایل تشخیص داده شد. حلقه P در GTPases نقش کلیدی در اتصال و هیدرولیز نوکلئوتید گوانین دارد و با تغییر GDP به GTP، عملکردی شبیه کلید مولکولی در فرآیندهایی مانند تقسیم سلولی و ترجمه ایفا می‌کند (Leipe *et al.*, 2002). دمین G شامل پنج موتیف حفاظت‌شده (G1-G5) است که اتصال GTP را تنظیم می‌کنند؛ موتیف‌های G4 و G5 پایه اتصال گوانین و G1 تثبیت‌کننده فسفات‌ها هستند. تغییرات ساختاری در نواحی G2 و G3 حضور γ -فسفات را حس می‌کنند. در EF-TU، پروفایل tr-Type دمین G با ناحیه G2 در هیدرولیز GTP به GDP مشارکت دارد (Kuhle *et al.*, 2014).

β توبولین با Gly آغاز می‌شود، در حالی که در γ -توبولین با Ala یا Ser شروع می‌شود (Hesse *et al.*, 1987). بررسی α -tubulin با نرم‌افزار CDD نشان داد که این پروتئین دارای دمی‌نی مشترک در خانواده توبولین شامل α ، β ، γ ، δ و ϵ است که جایگاه‌های عملکردی مهمی مانند اتصال نوکلئوتید (۱۳ اسیدآمینه) و تعامل با دمین‌های α و β را در بر دارد. دمین دوم با نام PLN00221 کل زنجیره α -tubulin را پوشش می‌دهد. α -توبولین به‌همراه β -توبولین در تشکیل هتروداایمر $\alpha\beta$ /توبولین شرکت می‌کند که واحد اصلی ساختار منحنی میکروتوبول‌هاست (Kabsch *et al.*, 1993). بررسی ساختار $\alpha\beta$ /توبولین توسط کریستالوگرافی الکترون نشان داده است که α - و β -توبولین دارای سه دمین مشابه هستند: دمین N-ترمینال با جایگاه اتصال GTP، دمین میانی، و دمین تاجی سطحی (Nogales *et al.*, 1998). جایگاه اتصال α -توبولین به GTP شامل پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های آمینی و هیدروکسیل GTP با Asn206 و Asn228 است که بسته‌بندی دقیق نوکلئوتید را تضمین می‌کند (Lowe *et al.*, 2001). در نبود این پیوندها، نواحی آبگریز مانند Ile16، Val131، Val221، Leu227 و Tyr224 به‌هم نزدیک می‌شوند. تعاملات ریبوز و فسفات نیز از طریق لوپ‌های T1 و T4 و موتیف‌های گلیسینی برقرار می‌شود. جایگاه اتصال عنصر روی در α -توبولین بین زیرواحدهای α قرار دارد و توسط لوپ M و مارپیچ‌های H12 و H5 احاطه شده است. اسیدآمینه‌های His283، Glu284، Glu417 و His192 در این اتصال نقش دارند (Lowe *et al.*, 2001). اتصالات جانبی بین پروتوفیل‌مانت‌های میکروتوبول عمدتاً از طریق تعامل لوپ M و مارپیچ‌های H12 و H5 بین زیر واحدهای α -توبولین صورت

جدول ۶. الگوها و پروفایل‌های شناسایی‌شده توسط نرم‌افزار ScanProsite در پروتئین EF-TU

Table 6. Patterns and profiles identified by ScanProsite software in the protein Elongation factor TU

نام پروتئین Protein name	الگوهای شناسایی شده Identified patterns	پروفایل‌های شناسایی شده Identified profiles
Elongation factor TU, mitochondrial (454aa)	Translational (tr)-type guanine nucleotide-G_TR_1 :binding (G) domain signature 106-121(Position:	Translational (tr)-type guanine nucleotide_binding (G) domain profile: G_TR_2 Position:(65-261)

ساختار کروی و استوانه ای تشکیل شده است که با اتصالات پپتیدی انعطاف پذیر مانند مهره در یک رشته به هم متصل شده‌اند. دمین‌های EF-TU در آرایشی مثلثی A ($30 \times 50 \times 75$) قرار گرفته‌اند که با ایجاد یک حفره مرکزی و انعطاف‌پذیری بالا، عملکرد مولکول در سنتر پروتئین را بهینه می‌سازد (Deveret et al., 1987). اتصال بین EFTU-II و EFTU-III از طریق دو پیوند هیدروژنی محکم برقرار است، در حالی که دمین EF-Tu با EFTU-III تماس سطحی دارد. جایگاه اتصال نوکلئوتید در شکاف انتهای کربوکسیل صفحه β از دمین اول قرار دارد و چهار حلقه در تشخیص گوانین، فسفات و یون Mg^{2+} نقش دارند. برخی اسیدآمینه‌های این حلقه‌ها به شدت حفاظت شده‌اند و به عنوان اثر انگشت پروتئین‌های GTP-binding شناخته می‌شوند. دمین EFTU-II ($209-299$) توسط ۱۶۸ پپتید طولانی و انعطاف پذیر با یک ماریچ واحد در وسط ($204-207$) به دمین EF-Tu متصل شده است و خود دمین از ۷ زنجیره β ی آنتی پارالل که به شکل یک شبکه β چیده شده‌اند تشکیل شده است. سه تا از اتصالات حلقه ای از سطح بشکه نسبتاً برآمده هستند. دمین EFTU-III (اسیدآمینه $393-300$) یک دمین کلا متشکل از β است و از شش زنجیره β که به صورت آنتی پارالل تشکیل یک بشکه β را داده‌اند تشکیل شده است. این دمین با کش آمدن زنجیره وسطی به دمین EFTU-II متصل شده است. دمین EFTU-III و دمین EF-Tu ارتباط بسیار محکم و قوی از خود نشان می‌دهند. آرژنین ۳۷۳ با یک پیوند هیدروژنی به متیونین ۹۱ و گلوتامین ۳۱۵ با اتصال یونی به لیزین ۸۹ متصل است. همچنین تعاملات غیر قطبی بین تیروزین ۳۰۹ و قسمت آلفاتیک لیزین ۸۹ زنجیره جانبی برقرار است. این چهار اسیدآمینه در بیشتر توالی‌های پروتئین EF-TU حفاظت شده هستند. خوشه‌هایی از چهار اسیدآمینه فنیل آلانین در هسته آگریز این دمین EFTU-III دفن شده است. این زنجیره‌های جانبی با شبکه‌های زوج پروانه‌ای آروماتیک به حفظ ثبات ساختار سلول کمک می‌کند (Burley & Petsko, 1985). ساختار دوم پروتئین EF-TU بر پایه پیوندهای هیدروژنی زنجیره اصلی و با الگوریتم Kabsch و Sander تعیین می‌شود که

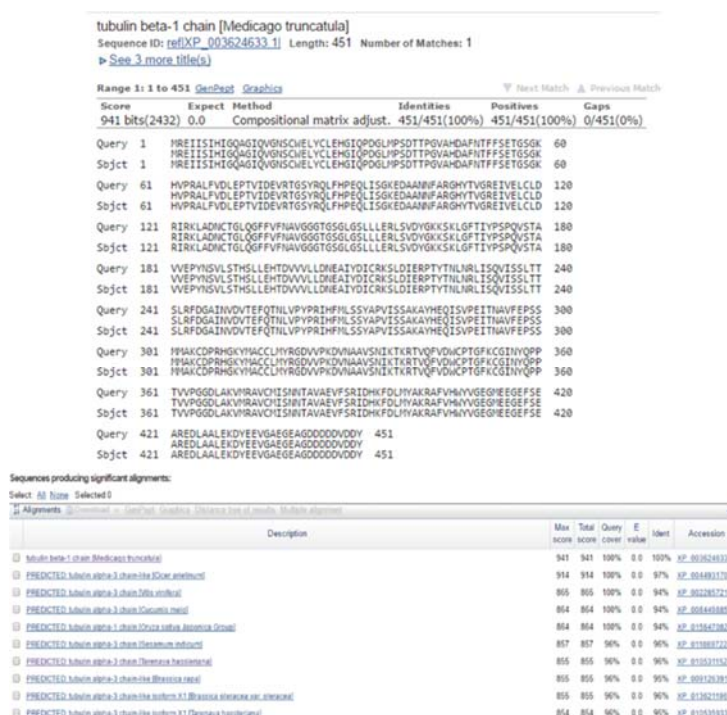
نرم‌افزار CDD چهار دمین در پروتئین EF-TU شناسایی کرده است که شامل EF-Tu، EFTU-II، EFTU-III و دمین شرطی PLN03127 می‌باشند. دمین EF-Tu جایگاه‌های اتصال GTP/Mg^{2+} ، تعامل با GEF، نواحی تعویض و جعبه‌های G1-G5 را در بر دارد، در حالی که EFTU-III در اتصال با tRNA شارژ شده و EF-TS نقش دارد و EFTU-II با $16S-rRNA$ و tRNA تعامل دارد. این ساختارها در کنار هم عملکرد EF-TU را به عنوان یک GTPase سه‌دمینی در مرحله طویل شدن ترجمه تضمین می‌کنند (Krab et al., 1998). تغییرات ساختاری وابسته به هیدرولیز GTP، عملکرد دقیق این پروتئین را تنظیم می‌کند. دمین GTPase مرکزی پروتئین EF-TU در ناحیه N-ترمینال قرار دارد و با نام‌های دمین G، کاتالپتیک یا آلفا/بتا شناخته می‌شود که شامل حدود ۲۰۰ اسیدآمینه است و از ۶ رشته (5β موازی و ۱ غیرموازی) با ۷ ماریچ α تشکیل شده است (Kjeldgaard et al., 1992). این دمین نقش کلیدی در اتصال GDP دارد و ۴۰ اسیدآمینه ابتدای آن برای این عملکرد ضروری‌اند. در فرآیند ترجمه، EF-TU پس از هیدرولیز GTP، جایگاه A ریبوزوم را برای ورود tRNA آزاد می‌کند (Nilsson et al., 2005). این تعامل برای دقت و تنظیم مرحله طویل شدن ترجمه حیاتی است. دمین‌های غیرکاتالیزوری EFTU-II و EFTU-III هر کدام از حدود ۱۰۰ اسیدآمینه و رشته‌های β غیرموازی تشکیل شده‌اند و در ساختار سه‌دمینی EF-TU نقش دارند (Kjeldgaard et al., 1992). EF-TU در دو حالت ساختاری دیده می‌شود: فرم فشرده با تعامل قوی بین دمین‌ها و تمایل بالا به tRNA، و فرم باز با تعامل ضعیف و تمایل پایین. در *E. coli*، EF-TU یک مونومر با وزن 43200 دالتون است که ۵ درصد پروتئین‌های سلولی را تشکیل می‌دهد و دارای سه دمین مشخص است. دمین آلفا/بتا جایگاه فعال GDP را شامل می‌شود و به عنوان یک بلوک ساختمانی مشترک در پروتئین‌های GTP-binding شناخته شده است (Suck & Kabsch, 1981; Pai et al., 1989, 1990). دمین‌های EFTU-II و EFTU-III هر دو شبکه‌های β آنتی پارالل دارند (Kjeldgaard et al., 1992). سه دمین مربوط به پروتئین EF-TU از

گیاه افزایش می‌یابد (Ristic *et al.*, 1991; Bhadula *et al.*, 2001; Momcilovic & Ristic, 2007; Bukovnik *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2004; Chung *et al.*, 2009). این یافته‌ها نقش کلیدی EF-TU در مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی را تأیید می‌کنند.

بررسی شباهت‌ها و همردیفی چندگانه به روش سلسله مراتبی برای شناسایی بلوک‌های حفاظت‌شده

نتایج تحلیل BLASTp برای α -توبولین در سه بخش ارائه شد که نشان‌دهنده شباهت بسیار بالا با توالی‌های دیگر بود؛ از جمله تطابق ۱۰۰ درصد با پروتئین tubulin beta-1 chain در *Medicago truncatula* که بیانگر عملکرد و توالی مشابه آن‌هاست. رنگ‌بندی نتایج (قرمز، صورتی، سبز) میزان تشابه را نشان داد و Score بالای ۵۰ و E-value کمتر از ۰/۰۰۰۱ از نظر آماری معنادار بودند. این داده‌ها تطابق عملکردی و ساختاری α -توبولین با سایر ایزوتیپ‌ها را تأیید می‌کنند.

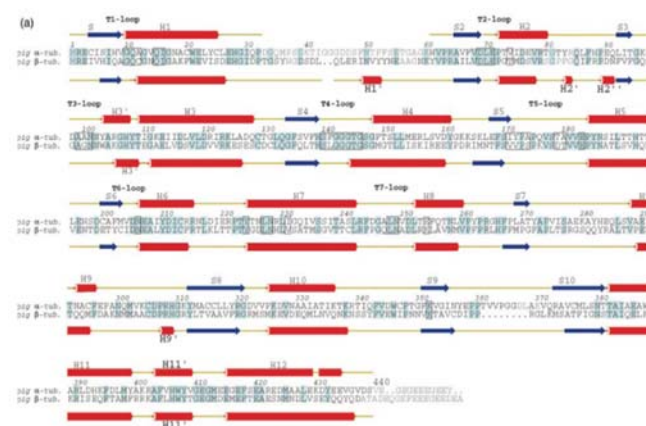
الگوهای آن به‌وضوح قابل مشاهده‌اند (Kjeldgaard *et al.*, 1992). در ابتدا EF-TU و EF-Ts به‌عنوان پروتئین‌های حساس و مقاوم به حرارت شناخته شدند، اما مطالعات بعدی نشان داد EF-TU در حضور نوکلئوتیدها و GTP/GDP مقاومت حرارتی بالایی دارد (Rao *et al.*, 1998; Caldas *et al.*, 2004). این ویژگی در پایداری عملکرد آن در شرایط مختلف نقش مهمی دارد. پروتئین EF-TU علاوه بر نقش اصلی خود در انتقال tRNA-آمینو اسیل به جایگاه A ریبوزوم در طول سنتز پروتئین، عملکردهای چندگانه‌ای در سلول دارد؛ از جمله نقش چپروی در محافظت از پروتئین‌های دناتوره‌شده، تحریک فعالیت دی‌سولفید ایزومراز، مشارکت در ایمنی ذاتی گیاهان، و ایفای نقش در رونویسی RNA در باکتری‌های آلوده به فاژ (Nilsson *et al.*, 2005). همچنین EF-TU می‌تواند جایگزین EF-1 α در تخریب پروتئین‌های مسدودکننده-Nترمینال شود. بیان ژن EF-TU در گیاهان تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند گرما، خشکی، شوری و نور تنظیم می‌شود و با تجمع آن در شرایط تنش، تحمل



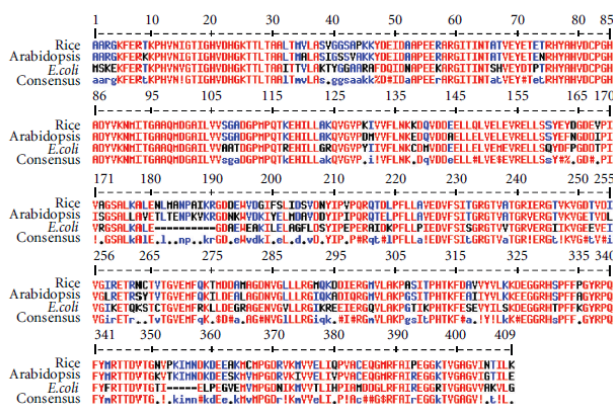
شکل ۱. نتایج α -توبولین در Blastp
Figure 1. Results α -tubulin in Blastp

بلوک برای اتصال به نوکلئوتید ضروری می‌باشد (Hesse *et al.*, 1987). مطالعه هم‌ردیفی دستی از شش عضو ابر خانواده توبولین توسط Paul و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که اعضای ابرخانواده توبولین دارای همولوژی و شباهت بالایی در توالی هستند. در این هم‌ردیفی، تغییرات حذفی و اضافی در توالی‌های ϵ و δ نسبت به α و β مشاهده شد. همچنین لوپ‌های T1-T7 به‌عنوان نواحی تماس مستقیم با اسیدآمینه‌ها شناسایی شدند. پروتئین EF-TU در میتوکندری، کلروپلاست و باکتری‌ها شباهت بالایی دارد و منشأ آن به اندوسیمبیوز سیانوباکتری‌ها با یوکاریوت‌ها بازمی‌گردد. در گیاهان عالی، EF-TU پلاسمیدی توسط ژنوم هسته‌ای کد شده و به پلاستید منتقل می‌شود (Fu *et al.*, 2012).

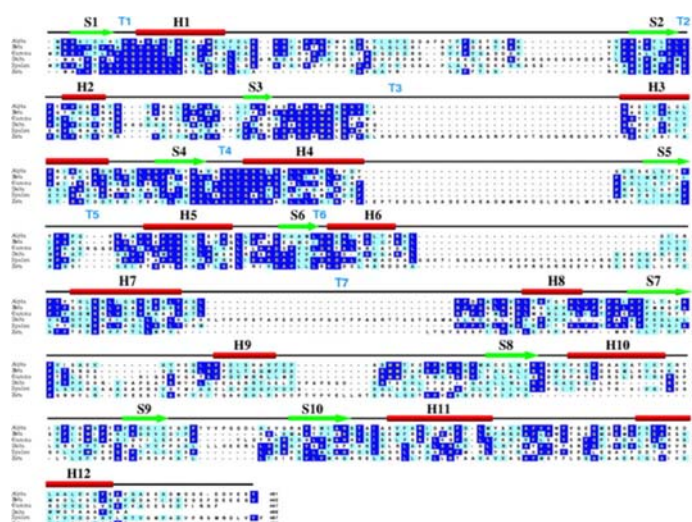
Lowe و همکاران (۲۰۰۱) در طی بررسی توالی α -توبولین دریافته‌اند که این پروتئین با پروتئین β -توبولین شباهت بالایی داشته و بسیاری از جایگاه‌های حفاظت‌شده در هر دوی اینها مشترک است. به‌منظور بررسی بلوک‌های حفاظت‌شده در پروتئین α -توبولین، ۲۲ توالی به‌دست‌آمده از برنامه BLASTp که شباهت بین ۳۰-۷۰ درصد را نشان می‌دادند به نرم‌افزار T-Coffee ارائه شد. در آن بلوک حفاظت‌شده شناسایی شده با علامت فلش به نمایش درآمده است. طبق نتایج به‌دست‌آمده بلوک حفاظت‌شده‌ای با حدود ۳۰ اسیدآمینه در بین پروتئین‌های خانواده توبولین وجود دارد که در همین اول این پروتئین‌ها واقع شده و وظیفه اتصال به نوکلئوتید را برعهده دارد. توالی GGGTGS در این



شکل ۲. مقایسه توالی‌های α - و β -توبولین
Figure 2. Comparison of α - and β -tubulin sequences



شکل ۳. هم‌ردیفی دستی از شش عضو ابرخانواده توبولین
Figure 3. Manual alignment of six members of the tubulin superfamily



شکل ۴. هم‌ردیفی توالی‌های آمینواسیدی EF-TU در نرم‌افزار BLASTp

Figure 4. Alignment of EF-TU amino acid sequences in BLASTp software

پروتئین‌ها می‌تواند ژن‌ها و سازوکارهای کلیدی دخیل در تحمل خشکی را مشخص سازد. همچنین نتایج این پژوهش می‌تواند در انتخاب ژن‌های هدف برای برنامه‌های مهندسی ژنتیک برای تحمل به خشکی آفتابگردان، طراحی پروتئین‌های مقاوم، تقویت مسیرهای سیگنال‌دهی و بهبود سامانه‌های آنتی‌اکسیدانی مرتبط با خشکی مفید باشد و چشم‌انداز توسعه ارقام گیاهی با تحمل بالاتر به خشکی را هموارتر کند. پیشنهاد می‌شود از ابزارهای بیوانفورماتیکی برای تحلیل سایر خصوصیات مولکولی و برهم‌کنش پروتئین‌های مرتبط با تنش خشکی نیز استفاده شود.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج این مطالعه نشان داد تنش خشکی تأثیر قابل‌توجهی بر بیان پروتئین‌های مرتبط با رشد، تقسیم سلولی و سنتز پروتئین دارد و یکی از عوامل محدودکننده اصلی در توسعه گیاهان محسوب می‌شود. بررسی بیوانفورماتیکی پروتئین‌های α -توبولین و EF-TU نشان داد که این دو پروتئین دارای ساختارهای پیچیده، دمین‌های عملکردی متعدد و شباهت‌های قابل‌توجهی با اعضای هم‌خانواده خود هستند. EF-TU به‌عنوان یک GTPase چنددیمینی، نقش کلیدی در طویل شدن ترجمه و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کند و α -توبولین نیز در ساختار میکروتوبول‌ها و تنظیم رشد سلولی نقش دارد. تمرکز بر شناسایی دمین‌های عملکردی و مسیرهای مولکولی این

References

- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schaffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D.J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25, 3389-3402.
- Ashokan, K.V., Mundaganur, D.S., & Mundaganur, Y.D. (2010). Catalase: Phylogenetic Characterization to explore protein cluster, *Journal of Research in Bioinformatics*, 1, 001-008.
- Awasthi, R., Kaushal, N. Vadez, V. Turner, N.C. Berger, J. Siddique, K.H.M., & Nayyar, H. (2014). Individual and combined effects of transient drought and heat stress on carbon assimilation and seed filling in chickpea. *Functional Plant Biology*, 41, 1148-1167.
- Bai, J., & Cederbaum, A. I. (2001). Mitochondrial catalase and oxidative injury. 2001. *Biological Signals and Receptors*, 10 (3-4), 189-199.
- Bairoch, A., Boeckmann, B., Ferro, S., & Gasteiger, E. (2004). Swiss-Prot: juggling between evolution and stability. *Brief Bioinformatics*, 5, 39-55.

- 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.
- Benning, C. (1998). Biosynthesis and function of the sulfolipid sulfoquinovosyl diacylglycerol, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 53- 75.
- Bhadula, S. K., Elthon, T. E., Habben, J. E., Helentjaris, T. G., Jiao, S., & Ristic, Z. (2001). Heat-stress induced synthesis of chloroplast protein synthesis elongation factor (EF-Tu) in a heat-tolerant maize line. *Planta*, 212 (3), 359- 366.
- Burley, S. K., & Petsko, G. A. (1985). Aromatic-aromatic interaction: A mechanism of protein structure stabilization. *Science*, 229, 23- 28.
- Bukovnik, U., Fu, J., Bennett, M., Prasad, P. V. V., & Ristic, Z. (2009). Heat tolerance and expression of protein synthesis elongation factors EF-Tu and EF-1 α in spring wheat. *Functional Plant Biology*, 36 (3), 234-241.
- Caldas, T. D., Yaagoubi, A. El., & Richarme, G. (1998). Chaperone properties of bacterial elongation factor EF-Tu. *Journal of Biological Chemistry*, 273(19), 11478-11482.
- Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(2), 192- 208.
- Cho, Y., H., Yoo, S. D., & Sheen, J. (2006). Regulatory Functions of Nuclear Hexokinase I Complex in Glucose Signaling. *Cell*, 127, 579-589.
- Cleveland, D.W. (1988). Autoregulated instability of tubulin mRNAs: A novel eukaryotic regulatory mechanism. *Trends Biochemistry Sciences*, 13, 339- 343.
- Cozens, A.L., & Walker, J.E. (1987). The Organization and sequence of the genes for ATP Synthase subunits in the *Cyanobacterium synechococcus* 6301 Support for an endosymbiotic origin of chloroplasts. *Journal of Molecular Biology*, 194, 359-383.
- Cremers, A. F. M., Bosch, L., Mellema, J. E., & Sam, B. P. (1981). Characterization of regular polymerization products of elongation factor Tu from *Escherichia coli* by electron microscopy and image processing. *Journal Molecular Biology*, 153, 477-486.
- Chung, E., Cho, C. W., So, H. A., Yun, B. H., & Lee, J. H. (2009). Differential expression of soybean SLTI100 gene encoding translation elongation factor 1A by abiotic stresses. *Journal of Plant Biotechnology*, 36 (3), 255-260.
- Dennis, D. T., Blakeley, S. D., Buchanan, B. B., Jones, R. L., & Gruissem, W. (2000). "Carbohydrate metabolism" in biochemistry and molecular biology of plants. *American Society of Plant Physiologists*, 676-728.
- Dever, T. E., Glymias, M. J., & Merrick, W. C. (1987). GTP-binding domain: Three consensus sequence elements with distinct spacing. *Proceeding of the National Academy of the sciences of the United States of America*, 84, 1814-1818.
- Dure III, L. (1993). Structural motifs in LEA proteins, in plant responses to cellular dehydration during environmental stress. *American Society of Plant Physiologist*, 91-103.
- Entrez [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>].
- Findeisen, P., Muhlhausen, S., Dempewolf, S., Hertzog, J., Zietlow, A., Carlomagno, T., & Kollmar, M. (2014). Six subgroups and extensive recent duplications characterize the evolution of the eukaryotic tubulin protein family. *Genome Biology*, 6(9), 2274-2288.
- Fong, J. H., & Marchler-Bauer, A. (2008). Protein subfamily assignment using the conserved domain database. *BMC Research Notes*, 1, 114.
- Fulda, S., Mikkat, S., Stegmann, H., & Horn, R. (2011). Physiology and proteomics of drought stress acclimation in sunflower. *Plant Biology*, 13, 632- 642.
- Galperin, M. Y., & Koonin, E. V. (1998). Sources of systematic error in functional annotation of genomes: domain rearrangement, nonorthologous gene displacement and operon disruption. *In Silico Biology*, 1, 55- 67.
- Gilks, W. R., Audit, B., De Angelis, D., Tsoka, S., & Ouzounis, C. A. (2005). Percolation of annotation errors through hierarchically structured protein sequence databases. *Mathematical Biosciences*, 193, 223- 234.
- Ghaffari, M., Toorchi, M., Valizadeh, M., & Komatsu, S. (2013). Differential response of root proteome to drought stress in drought sensitive and tolerant sunflower inbred lines. *Functional Plant Biology*, 40, 609-617.
- 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.
- Hesse, J., Thierauf, M., & Ponstingl, H. (1987). Tubulin sequence region beta 155-174 is involved in binding exchangeable guanosine triphosphate. *Journal of Biology Chemistry*, 262, 15472-15475.

- Hojjati, F., Shahbani Zahiri, H., & Akbari Noghabi, K. (2015). In Silico Charecterization of the Cellulase from Rumen of Camel. *1st international and 9th National Biotechnology Congress of Islamic Republic of Iran*.
- Kabsch, W., & Sander, C. (1983). Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features. *Biopolymers*, 22, 2577-2637.
- Keeling, P. J., & Doolittle, W. F. (1996). Alpha-tubulin from early-diverging eukaryotic lineages and the evolution of the tubulin family. *Molecular Biology and Evolution*, 13(10), 1297-1305.
- Kelley, L. A., & Sternberg, M. J. (2015). Partial protein domains: evolutionary insights and bioinformatics challenges. *Genome Biology*, 16(1), 100.
- Khalqi, M., Radmanesh, P., Darvishzadeh, R., Karimzadeh, Q., Alipour, H., Soufimalaki, S., Hatamimaleki, H., & Kahrizi, D. (2024). The role of bioinformatics in plant breeding for abiotic stresses. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 3(4), 609-654. <https://doi.org/10.22126/cbb.2025.11610.1099> . (in Persian)
- Khazaei, Z., Esmailpour, B., & Estaji, A. (2020). Ameliorative effects of ascorbic acid on tolerance to drought stress on pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26, 1649-1662.
- Kjeldgaard, M., & Nyborg, J. (1992). Refined Structure of Elongation Factor EF-Tu from *Escherichia coli*. *Division of Biostructural Chemistry*.
- Kikkawa, M., Okada, Y., & Hirokawa, N. (2000). 15 Å resolution model of the monomeric kinesin motor KIF1A. *Cell*, 100, 241-252.
- Krab, I. M., & Parmeggiani, A. (1998). "EF-Tu a GTPase odyssey" *Biochimica et Biophysica Acta*, 1443 (1-2), 1-22.
- Kuhle, B., & Ficner, R. (2014). eIF5B employs a novel domain release mechanism to catalyze ribosomal subunit joining. *EMBO Journal*, 33, 1177-1191.
- Kultz, D. (2005). Molecular and evolutionary basis of the cellular stress response. *Annual Review of Plant Physiology*, 67, 225- 57.
- Kumar, S., & Shanker, A. (2018). Bioinformatics Resources for the Stress Biology of Plants. In: Vats, S. (eds) *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. Springer, Singapore.
- Leipe D. D., Wolf Y. I., Koonin E.V. and Aravind L. (2002). Classification and evolution of P-loop GTPases and related ATPases. *Journal of Molecular Biology*, 317, 41- 72.
- Lippard, S. J. (1994). Principles of Bioinorganic Chemistry, *University Science Books*.
- Löwe, J., Li, H., Downing, K. H., & Nogales, E. (2001). Refined structure of $\alpha\beta$ -tubulin at 3.5 Å resolution. *Journal of molecular biology*, 313(5), 1045-1057.
- Marchler-Bauer, A., Lu, S., 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. (2010). CDD: a Conserved Domain Database for the functional annotation of proteins. *Nucleic acids research*, 39(suppl_1), D225-D229.
- Miller, D. L., & Weissbach, H. (1977). Factors involved in the transfer of aminoacyl-tRNA to the ribosome. In: *Molecular Mechanisms of Protein Biosynthesis* (Weissbach, H. & Petska, S., eds), Academic Press, New York.
- Mohayeji, M., Capriotti, A. L., Cavaliere, CH., Piovesana, S., Samperi, R., Stampachiachiere, S., Toorchi, M., & Lagana A. (2014). Heterosis profile of sunflower leaves: A label free proteomics approach. *Journal of Proteomics*, 99, 101-110.
- Momcilovic, I., & Ristic, Z. (2007). "Expression of chloroplast protein synthesis elongation factor, EF-Tu, in two lines of maize with contrasting tolerance to heat stress during early stages of plant development". *Journal of Plant Physiology*, 164(1), 90- 99.
- Mulder, N. J., Apweiler, R., Attwood, T. K., Bairoch, A., Bateman, A., Binns, D., Bradley, P., Bork, P., Bucher, P., Cerutti, L., Copley, R., Courcelle, 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, L., 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). InterPro, progress and status in 2005. *Nucleic Acids Research*, 33, 201-205.
- Naghavi, M., Malboobi, M., & Rashidi Monfared, S. (1391), *Bioinformatics*, University of Tehran, 1391.
- Natali, L. N., Giordani, T. G., & Cavallini, A. C. (2003). Sequence variability of a dehydrin gene within *Helianthus annuus*. *TAG. Theoretical and applied genetics*, 106, 811- 818.
- Nilsson, J., & Nissen, P. (2005). Elongation factors on the ribosome. *Current Opinion in Structural Biology*, 15(3), 349- 54.
- Nogales, E., Wolf, S. G., & Downing, K. H. (1998). Structure of the alpha beta tubulin dimer by electron crystallography. *Nature*, 391, 199- 203.

- Pai, E. F., Kabsch, W., Krenzel, U., Holmes, K. C., John, J., & Wittinghofer, A. (1989). Structure of the guanine-nucleotide-binding domain of the Ha- ras oncogene product p21 in the triphosphate conformation. *Nature*, 341, 209- 214.
- Pai, E. F., Krenzel, U., Petsko, G. A., Goody, R. S., Kabsch, W., & Wittinghofer, A. (1990). Refined crystal structure of the triphosphate conformation of H-ras p21 at 1.35 Å resolution: implications for the mechanism of GTP hydrolysis. *EMBO Journal*, 9, 2351- 2359.
- Paul, G., Mc, K., Sue, V., & Keith, G. (2001). The extended tubulin superfamily. *Journal of Cell Science*, 114, 2723- 2733.
- Rao, D., Momcilovic, I., Kobayashi, S., Callegari, E., & Ristic, Z. (2004). Chaperone activity of recombinant maize chloroplast protein synthesis elongation factor, EF-Tu. *European Journal of Biochemistry*, 271(18), 3684-3692.
- Rakhit, R., & Chakrabartty, A. (2006). Structure, folding, and misfolding of Cu-Zn superoxide dismutase in amyotrophic lateral sclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1025-1037.
- Ristic, Z., Gifford, D. J., & Cass, D. D. (1991). "Heat shock proteins in two lines of *Zea mays* L. that differ in drought and heat resistance". *Plant Physiology*, 97(4), 1430-1434.
- Riyazuddin, R., Nisha, N., Singh, K., Verma, R., & Gupta, R. (2022). Involvement of dehydrin proteins in mitigating the negative effects of drought stress in plants. *Plant Cell Reports*, 41(3), 519-533.
- Sallam, A., Alqudah, A., Dawood, M., Baenziger, P., & Borner, A. (2019). Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology. *Breeding and Genetics Research*. 20(3137), 1-36.
- Sato, N., Sugimoto, K., Meguro, A., & Tsuzuki, M. (2003). Identification of a Gene for UDP-sulfoquinovose synthase of a Green Alga, *Chlamydomonas reinhardtii*, and Its Phylogeny. *DNA Research*, 10, 229- 237.
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., & Yoshimura, K. (2002). Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of experimental botany*, 53(372), 1305-1319.
- Singh, B. N., Mishra, R. N., & Agarwal, P. K. (2004). A pea chloroplast translation elongation factor that is regulated by abiotic factors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 320(2): 523- 530.
- Suck, D., & Kabsch, W. (1981). X-ray determination of the GDP binding site of *Escherichia coli* elongation factor Tu by substitution with ppGpp. *FEBS Letters*, 126, 120-122.
- Tainer, J. A., Getzoff, E. D., Beem, K.M., Richardson, J.S., & Richardson, D.C. (1982). Determination and analysis of the 2 Å-structure of copper, zinc superoxide dismutase. *Journal of Molecular Biology*, 160, 181-217.
- Taylor, A. B., Smith, B. S., Kitada, S., Kojima, K., Miyaura, H., Otwinowski, Z., Ito, A., & Deisenhofer, J. (2001). Crystal structures of mitochondrial processing peptidase reveal the mode for specific cleavage of import signal sequences. *Cell Press*, 9(7), 615- 625.
- Thompson, R. C, Dix, D. B., & Karim, A. M. (1986). The reaction of ribosomes with elongation factor Tu. GDP complexes. *The Journal of Biological Chemistry*, 261, 4868-4874.
- Vega, J.M., Cardenas, J., & Losada, M. (1980). Ferredoxin-Nitrite Reductase. *Methods in Enzymology*, 69.
- Walker, J. E., Saraste, M., Runswick, M. J., & Gay, N. (1982). Distantly related sequences in the a- and f-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The EMBO Journal*, 8, 945- 951.
- Weiser, J., Mikulik, K., Zizka, Z., Stastn, J., Janda, I., & Jirbnovi, A. (1982). Isolation and characterization of *Streptomyces aureofaciens* protein-synthesis elongation factor Tu in an aggregated state. *European Journal of Biochemistry*, 129, 127- 132.
- Wood, Z. A., Schröder, E., Harris, J. R., & Poole, L. B. (2003). Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. *Trends in biochemical sciences*, 28(1), 32-40.
- Wu, C. H., Apweiler, R., Bairoch, A., Natale, D. A., Barker, W. C., Boeckmann, B., Ferro, S., Gasteiger, E., Huang, H., & Lopez, R. (2006). The Universal Protein Resource (UniProt): an expanding universe of protein information. *Nucleic Acids Research*, 34, 187- 191.
- Zandalinas, S.I., Mittler, R., Balfagón, D., Arbona, V., & Gómez-Cadenas, A. (2018). Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia Plantarum*, 162(1), 2-12.
- Zdobnov, E. M., & Apweiler, R. (2001). InterProScan –an integration platform for the signature-recognition methods in InterPro. *Bioinformatics*, 17, 847- 848.