

توالی آمینواسیدی HMW-گلوتنین ارقام گلستان، خزر یک و نسل اول آنها

سیده مریم یوسف موسوی^۱، بهرام ملکی زنجانی^{۱*}، عباس بهاری^۲

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

۲. گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی، دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۱۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۳/۲۰)

HMW-glutenin amino acid sequence in Golestan, Khazar 1 cultivars and F₁ progenies

Seyyede Maryam Yousef Mousavi¹, Bahram Maleki Zanjani^{1*}, Abbas Bahari²

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

2. Research Institute of Modern Biological Techniques, University of Zanjan, Iran

(Received: Dec. 8, 2017 - Accepted: Jun. 10, 2018)

Abstract

Flour and dough properties are influenced by gluten protein and starch content during bread baking process. Gluten, the most important protein of Wheat endosperm, is composed of glutenin and gliadin. Identification of the cultivars genetic structure is one of the plant breeding requirements. So HMW-GS gene was sequenced for two varieties namely Khazar 1, Golestan and F₁ progenies. Amino acid sequence of parental varieties and F₁ progenies started with EGEAS sequence (these five amino acid well known as start amino acid sequences for HMW-GS). Results show that the number of amino acids in N-terminal and C-terminal of HMW-GS were equal in parents and F₁ progenies (with 104 and 42 amino acids respectively). Results also showed that the cysteine amino acid numbers in C-terminal for all three cases were the same, whereas the number of cysteines was different in N-terminal of HMW-GS. Phylogenetic tree was constructed based on amino acid sequence data of HMW-GS between parents and F₁ progenies as well as the number of HMW-GS amino acid sequences in NCBI database. Considering differences observed for Amino acid sequence of parental varieties and F₁, it can be concluded that the more variation in later generations could potentially be used in bread wheat breeding programs to improve bread- baking quality.

Keywords: Amino acid, cysteines, wheat, HMW-Glutenin, sequence.

چکیده

کیفیت گندم نان تحت تاثیر محتوای پروتئین و نشاسته دانه است که خواص آرد و خمیر را در فرایند پخت نان تعیین می‌کنند. ترکیب کلیدی آندوسپرم شامل پروتئین‌های گلوتن است. با توجه به اینکه یکی از ملزومات به‌نژادی و تولید ارقام پرمحصول، اطلاع از ساختار ژنتیکی منابع گیاهی می‌باشد، توالی نوکلئوتیدی نواحی کدکننده زیر واحد گلوتنین با وزن مولکولی بالا در ارقام گلستان، خزر یک و نسل F₁ آنها مورد بررسی قرار گرفت و تفاوت‌ها و شباهت‌هایی در توالی نوکلئوتیدی نمونه‌های مورد مطالعه آشکار گردید. توالی آمینواسیدی ارقام والدینی و F₁ حاصل از آنها با توالی EGEAS شروع می‌شود. این پنج آمینواسید به عنوان پنج آمینواسید آغازین ژن HMW-گلوتنین شناخته شده‌اند. نتایج نشان می‌دهد که تعداد آمینواسیدها در نواحی انتهایی N و C در ارقام والدینی و نسل F₁ باهم برابر و به ترتیب دارای ۱۰۴ عدد رزیدو و ۴۲ عدد رزیدو در نواحی انتهایی N و C هستند ولی در تعداد سیستئین‌های موجود در ناحیه N تفاوت وجود دارد. تعداد سیستئین‌های موجود در ناحیه C در هر سه مورد باهم برابر بوده و ۱ عدد می‌باشد. درخت فیلوژنتیکی بر اساس توالی آمینواسیدی ژن HMW-گلوتنین بین ارقام والدینی، نسل F₁ و تعدادی از توالی‌های موجود در پایگاه‌های داده رسم گردید. با توجه به اینکه تفاوت‌هایی در توالی آمینواسیدی نسل F₁ با والدین مشاهده گردید. امید است که در نسل‌های بعدی به تنوع بیشتری در رابطه با این پروتئین دست یابیم که در برنامه‌های اصلاحی گندم با هدف بهبود کیفیت نانوبی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آمینواسید، توالی، سیستئین‌ها، گندم، HMW-گلوتنین.

مقدمه

غلات میزان قابل توجهی از پروتئین‌ها و انرژی مورد نیاز انسان را تامین می‌کنند. غلات به طور مستقیم و غیر مستقیم در تغذیه انسان نقش دارند. متجاوز از یک سوم غله تولید شده در دنیا را گندم تشکیل می‌دهد که رایج‌ترین قوت غذایی بشر است. برخلاف سایر غلات، تنها گندم دارای ترکیب مناسبی از پروتئین‌های ذخیره‌ای برای تولید خمیر نان می‌باشد (Weibo et al., 2009).

گندم نان *Triticum aestivum* L. یکی از مهم ترین غلات جهان می‌باشد و نیز به عنوان یک منبع بزرگ انرژی، پروتئین و فیبر غذایی در رژیم غذایی انسان به شمار می‌رود و در اکثر نقاط دنیا کشت می‌شود. این گیاه به علت دارا بودن قابلیت سازگاری بالا با دامنه وسیعی از شرایط آب و هوایی و بهبود کیفیت دانه برای تولید آرد نان به یک محصول پایدار جهانی تبدیل شده است و همچنین به دلیل سهولت کشت، امکان نگهداری طولانی مدت، ارزش غذایی بالا و قابلیت مصرف در اشکال مختلف از جایگاه ویژه ای برخوردار است (Jia et al., 2013). کیفیت گندم به میزان زیادی تحت تاثیر محتوای پروتئین و نشاسته دانه است که خواص آرد و خمیر را تعیین می‌کنند. ترکیب کلیدی آندوسپرم شامل پروتئین‌های گلوتن است که از گلوتین و گلیادین تشکیل شده است (Deng et al., 2013).

گلوتن عامل کشش پذیری و توسعه پذیری خمیر گندم است و این خصوصیات پروتئین گلوتن را به عنوان یک عامل کلیدی در تعیین کیفیت نانوائی تبدیل کرده است. پروتئین‌های گلوتن در سه دهه‌ی گذشته جهت تعیین ساختارشان و ارتباط این ساختارها برای خصوصیات کاربردی در انواع محصولات مطالعه شده اند. ترکیب آمینواسیدی پروتئین‌های گلوتن غنی از گلوتامین و پرولین است از این رو این پروتئین‌ها منحصر به فرد هستند (Gianibelli et al., 2001).

دیدگاه مهم دیگر در مورد گلوتن حضور مقدار زیادی آمینواسید سیستئین است که خصوصیات کاربردی و ساختاری مهمی از طریق تشکیل پیوندهای دی‌سولفید درون مولکولی و بین مولکولی ایجاد می‌کند (Wieser, 2007). زیر واحد گلوتین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS)^۱ مهم‌ترین پروتئین ذخیره‌ای دانه گندم است که کیفیت نانوائی آرد گندم را تعیین می‌کند. این پروتئین تقریباً ۱۰٪ از کل پروتئین دانه گندم و ۱٪ از وزن دانه گندم معمولی را شامل می‌شود (Jiang et al., 2010).

HMW-GSها بر اساس اثرات ساختاریشان به عنوان تعیین کننده‌ای بزرگ در رابطه با کشش پذیری و چسبندگی خمیر و متعاقباً کیفیت فرآوری گندم نان و ماکارونی به شمار می‌روند، به همین دلیل این خانواده‌ی ژنی اشکال الی مختلف را که با خواص قوی یا ضعیف بودن خمیر مرتبط هستند کد می‌کنند (Jiang et al., 2010).

توانایی دستیابی سریع و دقیق به دانش ترکیب اسید نوکلئیک برای بسیاری از علوم زیستی ضروری می‌باشد (Pettersson et al., 2009). تکنولوژی‌های توالی‌یابی DNA ابزاری ضروری در بسیاری از رشته‌ها می‌باشند. تعداد زیادی از علوم مختلف از مزایای این تکنولوژی‌ها استفاده می‌کنند مانند باستان‌شناسی، ژنتیک، بیوتکنولوژی، بیولوژی مولکولی، پزشکی قانونی و ... توالی‌یابی DNA منجر به کشف‌های جدیدی شده است که تغییرات اساسی را در پایه‌های ادراکی بسیاری از زمینه‌ها ایجاد می‌کند و یک تحول قابل ملاحظه‌ای را به وجود آورده است (Franca et al., 2002).

امروزه تعیین توالی ژنوم و مطالعات بیوانفورماتیک به عنوان یک ابزار تحقیقاتی قابل قبول برای افزایش سرعت تحقیقات ژنتیکی و تجزیه و تحلیل ساختار و

1 High molecular weight glutenin subunit

اکتسابی است مانند گیرنده‌های سلولی T یا آنتی‌بادی‌ها آنتی‌ژن‌سیتی گفته می‌شود. آنتی‌ژن‌سیتی^۱ معمولاً در گذشته برای اشاره به آنچه که در حال حاضر به عنوان ایمنی شناخته شده است، مورد استفاده قرار می‌گرفت و این دو هنوز هم اغلب به جای یکدیگر استفاده می‌شوند. با این حال، به بیان دقیق‌تر، ایمنی به توانایی یک آنتی‌ژن برای القای پاسخ ایمنی تطبیقی اشاره دارد. بنابراین آنتی‌ژن ممکن است به طور خاص به یک گیرنده سلول T و B متصل شود، اما پاسخ ایمنی تطبیقی القا نمی‌کند. اگر آنتی‌ژن ایجاد واکنش کند، یک آنتی‌ژن ایمنی است که به عنوان یک ایمونوژن معرفی شده است (Bianco et al., 2005).

همچنین در نرم‌افزار CLC می‌توان بر اساس توالی آمینواسیدی یک نمودار برای بار الکتریکی یک پروتئین به صورت تابعی از pH ایجاد کرد. این امر به صورت منحصر به فرد برای یافتن بار الکتریکی ویژه‌ی پروتئین در pH خاص مفید است. به عنوان مثال این دانش و آگاهی می‌تواند در ارتباط با فوکوس ایزوالکتریک در بعد اول ژل الکتروفورز دو بعدی مورد استفاده قرار گیرد. نقطه ایزوالکتریک (pI) زمانی پیدا می‌شود که بار الکتریکی ویژه‌ی پروتئین صفر باشد. محاسبه‌ی شارژ الکتریکی هر گونه تغییرات پس از ترجمه را که ممکن است در پروتئین صورت بگیرد، شامل نمی‌شود (Doyle et al., 2011).

در پژوهش حاضر دو رقم گلستان و خزر به عنوان ارقام والدینی در یک تلاقی مورد استفاده قرار گرفتند. Akbari Rad و همکاران (2010) بیان کردند که رقم گلستان دارای بیشترین میزان درصد پروتئین (۱۳٪) و رقم خزر یک دارای کمترین میزان پروتئین (۱۱٪) می‌باشد. جهت بررسی توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژن HMW-گلوتئین دو رقم گلستان

عملکرد ژنوم گندم محسوب می‌شوند (Moolhuijzen et al., 2007). تجزیه توالی ناحیه‌ی کدکننده‌ی HMW-GS آشکار کرده است که ساختار اولیه‌ی HMW-GS‌های بالغ شامل یک ناحیه‌ی تکراری مرکزی است که بوسیله نواحی حفاظت شده‌ی انتهای N و انتهای C احاطه شده است (Shewry et al., 1995). نواحی تکراری به طور عمده از موتیف‌های تکراری تری‌پتیدی، هگزاپتیدی و نانوپتیدی تشکیل شده‌اند (Gianibelli and Solomon, 2003).

باند‌های دی‌سولفید که مابین رزیدوهای سیستئین در پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم ایجاد می‌شوند در ایجاد خصوصیات رئولوژیکی خمیر نان بحرانی هستند. تعیین تعداد رزیدوهای سیستئین در پروتئین خاص به‌ویژه در زیرواحدهای HMW-گلوتئین، یک کار مهم در ارزیابی اثرات گلوتئین گندم در کیفیت محصول نهایی به شمار می‌رود (Wang et al., 2015).

با توجه به توالی آمینواسیدی یک پروتئین می‌توان نواحی آنتی‌ژنی و آبگریزی پروتئینی را شناسایی کرد. نرم‌افزار ژنومیکی CLC می‌تواند با روش‌های مختلف و با استفاده از الگوریتم‌های متفاوت به شناسایی نواحی آنتی‌ژنی در توالی‌های پروتئینی کمک کند. الگوریتم ارائه شده در نرم‌افزار صرفاً به عنوان طرح شاخصی از آنتی‌ژنی در توالی است. همچنین این نرم‌افزار می‌تواند با روش‌های مختلف و با استفاده از الگوریتم‌های متفاوت، آبگریزی توالی‌های پروتئینی را محاسبه کند. بنابراین آبگریزی توالی‌ها را نیز می‌توان به صورت طرح‌ها و نمودارهای آبگریزی در طول توالی‌ها نشان داد (Swain et al., 2015).

به ظرفیت یک ساختار شیمیایی برای اتصال ویژه به یک گروه از محصولات خاص که دارای ایمنی

پرایمر Forward ۱ میکرولیتر، پرایمر Revers ۱ میکرولیتر، نمونه DNA (۴۰۰ نانوگرم) ۱ میکرولیتر و آب تزریقی (آب دو بار تقطیر) ۹/۵ میکرولیتر. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز نیز طی یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ به مدت ۵ دقیقه، مرحله دوم به صورت ۳۵ دوره شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۶۰ به مدت ۴۵ ثانیه و طولیل شدن در دمای ۷۲ به مدت ۱ دقیقه و ۵۰ ثانیه و مرحله سوم طولیل شدن نهایی در دمای ۷۲ به مدت ۸ دقیقه انجام گردید.

تکثیر ناحیه‌ی کد کننده‌ی ژن HMW-گلوتنین در ارقام والدینی و نسل F₁ با استفاده از فرایند PCR انجام گرفت و محصول PCR برای توالی‌یابی به شرکت ماکروژن (Macrogen.Co/South Korea) ارسال گردید. نتایج تعیین توالی P₁، P₂ و F₁ با کمک نرم‌افزار CLC مورد مقایسه قرار گرفت و رسم درخت فیلوژنتیکی، نمودار آبگریزی و شارژ الکتریکی نیز توسط این نرم‌افزار صورت گرفت.

نتایج و بحث

همانند سایر پروتئین‌های ذخیره‌ای، فعالیت زیرواحد گلوتنین با وزن مولکولی بالا نیز تهیه‌ی کربن، نیتروژن و منبع انرژی برای جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌باشد. جهش خاموشی در چنین ژن‌هایی برای گیاهان مرگ‌آور نیست، از این رو فشار گزینشی بر روی این ژن‌ها خیلی کمتر از سایر ژن‌های عملکردی در حین تکامل است (Liu and Xia, 2008) در نتیجه در این ژن‌ها جهش‌های بیشتری می‌تواند تجمع یابد و رخدادهای بیشتری در حین تکامل ثبت شود.

(P₁)، خزر یک (P₂) و نسل F₁ آنها مورد بررسی قرار گرفتند و گروه‌بندی ارقام والدینی و نسل F₁ و توالی‌های نوکلئوتیدی موجود در پایگاه NCBI با استفاده از تجزیه خوشه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

زمان و محل انجام آزمایش

این بخش از پژوهش در بهار سال ۱۳۹۴ تا تابستان ۱۳۹۵ به منظور مطالعه توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژن HMW-گلوتنین در ارقام گلستان و خزر یک و نسل اول حاصل از تلاقی این دو رقم در آزمایشگاه مهندسی ژنتیک پژوهشکده‌ی فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان انجام شد.

استخراج و طراحی پرایمرها

به دلیل طول نسبتاً بزرگ ژن HMW-گلوتنین به کمک هم‌ترازی توالی‌هایی از این ژن که در پایگاه‌های داده قابل دستیابی هستند، دو منطقه حفاظت شده در این ژن شناسایی گردید و با استفاده از نرم‌افزار CLC main workbench 5.5 برای این مناطق حفاظت شده طراحی پرایمر انجام شد. جدول (۱) توالی و دمای اتصال این دو جفت پرایمر را نشان می‌دهد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه Biorad در حجم واکنش ۲۵ میکرولیتر صورت گرفت. مواد تشکیل‌دهنده هر واکنش شامل موارد زیر بود: Master mix PCR red (2x) ۱۲/۵ میکرولیتر،

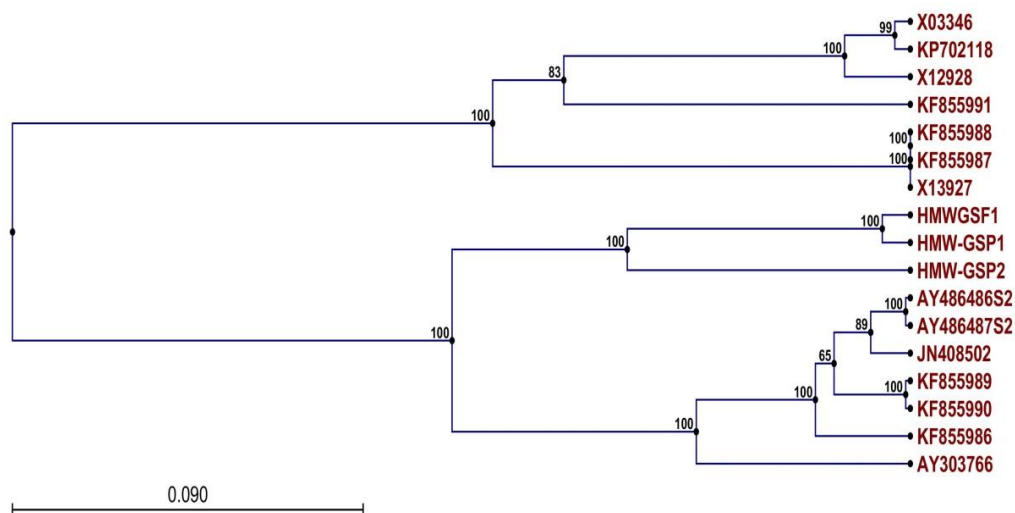
جدول ۱. آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن گلوتنین

آغازگر	توالی آغازگر	دمای اتصال
GLU1-fwd	ATGGCTAAGCGGC/TTRGTCCTCTTTG	66
GLU1-rev	CTTGTTGCCCTTGTCCTGAT	68
GLU2-fwd	GGCAACAGATAGGACAAGGACAACA	64
GLU2-rev	CTATCACTGGCTA/GGCCGACAATGCG	60

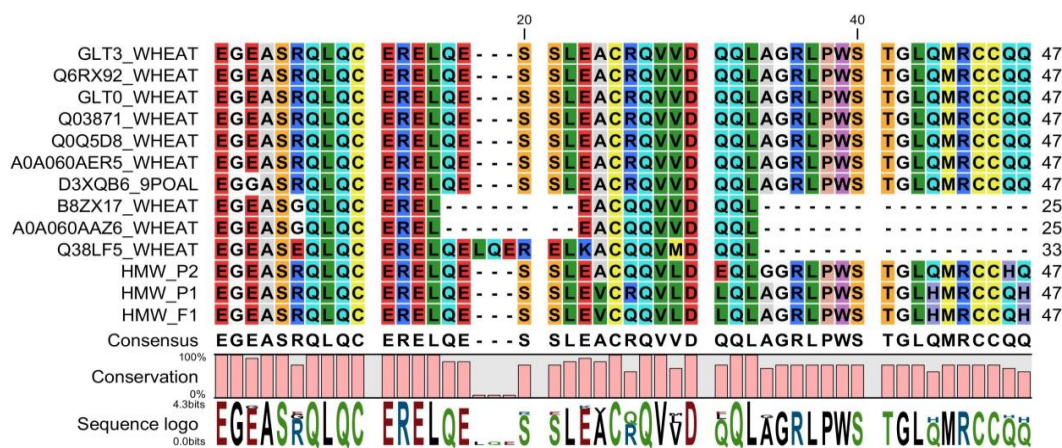
توجه به این گروه‌بندی F_1 در فاصله‌ی کمتری نسبت به P_1 قرار دارد و از این رو شباهت بیشتری با هم دارند.

توالی آمینو اسیدی ژن HMW-گلوتنین در ارقام والدینی و F_1 با توجه به توالی نوکلئوتیدی بدست آمده و با استفاده از نرم‌افزار CLC تعیین گردید. توالی‌های آمینواسیدی به‌دست آمده با یکسری از توالی‌های آمینواسیدی این ژن در پایگاه‌های داده مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت و الاین گردید (شکل ۲) که بخشی از هم‌ترازی مربوط به P_1 ، P_2 ، F_1 و توالی‌های موجود در پایگاه‌های داده را نشان می‌دهد.

توالی‌های نوکلئوتیدی به دست آمده با توالی‌های نوکلئوتیدی موجود در پایگاه NCBI مورد مقایسه قرار گرفت و توسط نرم‌افزار CLC هم‌ترازی بین این دو رقم و نسل F_1 حاصل از آنها انجام گردید و تفاوت‌هایی در توالی نوکلئوتیدی نمونه‌های مورد مطالعه مشاهده گردید و در نهایت درخت فیلوژنتیکی بر اساس توالی نوکلئوتیدی HMW-GS در ارقام گلستان، خزر یک، نسل F_1 و توالی‌های مربوط به این ژن که در پایگاه NCBI ثبت گردیده‌اند، رسم گردید (شکل ۱). بر اساس این گروه‌بندی ارقام والدینی و نسل F_1 در یک گروه قرار می‌گیرند و با



شکل ۱. درخت فیلوژنتیکی مابین دو رقم والدینی و F_1 بر اساس توالی نوکلئوتیدی که HMW-GSP2، HMW-GSP1 و HMWGSF1 به ترتیب نشانگر ارقام والدینی گلستان، خزر یک و F_1 می‌باشند.



شکل ۲. هم‌ترازی آمینواسیدی مابین دو رقم والدینی و F_1 که P_1 و P_2 به ترتیب نشانگر ارقام والدینی گلستان و خزر یک می‌باشند.

آوردند (Yan et al., 2002). در مطالعه‌ای دیگر تعداد آمینواسیدهای ناحیه‌ی حفاظت شده‌ی انتهایی C در گندم (*Triticum aestivum*)، آزیلوپس (*Aegilops Secale Aegilops caudate L. (tauschii)*، و *cereal L. Aegilops umbelluta* ۴۲ عدد گزارش شده است ولی تعداد آمینواسیدهای ناحیه‌ی N متفاوت بود (Feng et al., 2004). در بررسی دیگری نیز در نتایج مشابهی تعداد آمینواسیدها در نواحی انتهایی N و C به ترتیب ۱۰۴ و ۴۲ به دست آمد (Mihalik et al., 2012).

جدول ۲. تعداد آمینواسیدها در دو رقم والدینی و F₁

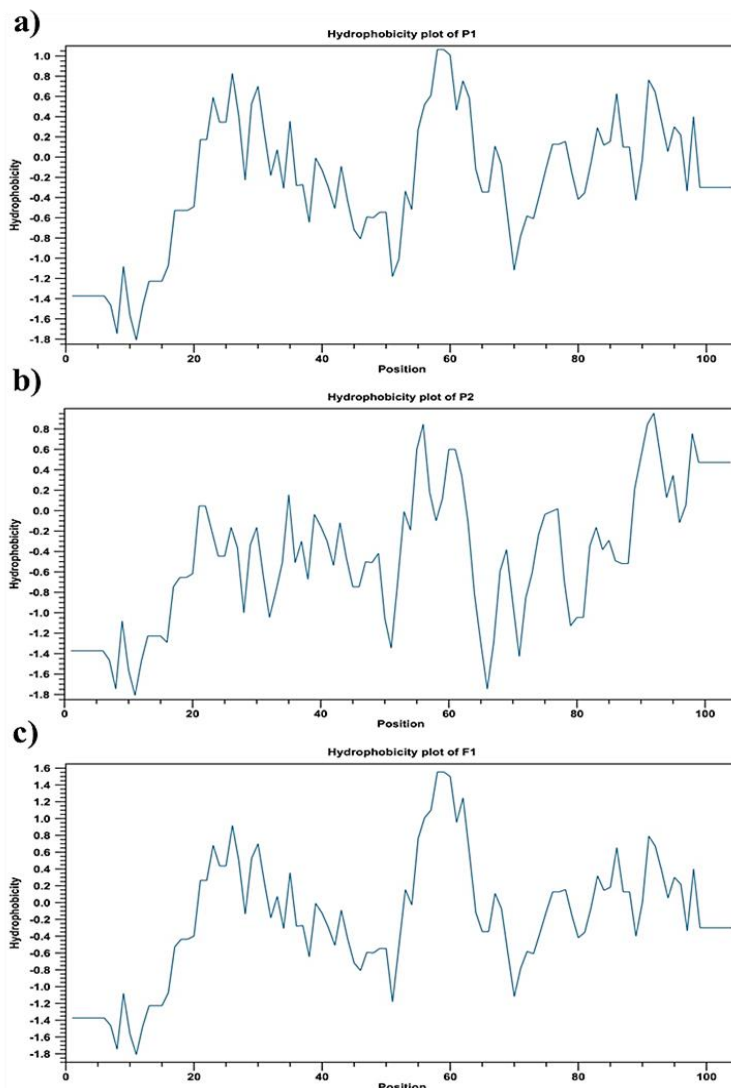
	تعداد آمینواسیدها		تعداد سیستئین‌ها	
	ناحیه‌ی انتهایی N	ناحیه‌ی انتهایی C	ناحیه‌ی انتهایی N	ناحیه‌ی انتهایی C
P ₁	104	42	5	1
P ₂	104	42	4	1
F ₁	104	42	5	1

P₁ و P₂ به ترتیب نشانگر ارقام والدینی گلستان و خزر یک می‌باشند.

تنوع در مقدار و اندازه‌ی پروتئین‌های پلیمری با توجه به نوع رقم ممکن است ناشی از تفاوت در ساختار، تعداد سیستئین و آب‌گریزی بین زیرواحدهای پروتئین‌های مختلف باشد (Shewry et al., 1992; Lindsay and Skerritt, 1998). نمودارهای شکل (۳) نمودار آب‌گریزی مربوط به توالی آمینواسیدی ناحیه‌ی انتهایی N را در دو رقم والدینی و نسل F₁ نشان می‌دهند. طبق نمودار آب‌گریزی هر دو رقم والدینی گلستان، خزر یک و نسل اول آنها، در بخش ابتدایی دارای میزان آب‌گریزی مشابهی هستند و در هر سه مورد در حدود اسید آمینه‌ی ۶۰ دارای بیشترین آب‌گریزی هستند و آب‌گریزی نسل F₁ نسبت به دو رقم والدینی بیشتر نشان داده شده است. البته P₂ در بخش انتهایی توالی اسیدآمینه‌ای نیز میزان آب‌گریزی بالا و برابر نشان می‌دهد که در دو مورد دیگر در بخش انتهایی توالی میزان آب‌گریزی متوسط و در حدود ۱ نشان داده شده است.

توالی آمینواسیدی ارقام والدینی و نسل F₁ آن‌ها با توالی EGEAS شروع می‌شود این پنج آمینواسید به عنوان پنج آمینواسید آغازین HMW-گلوتئین شناخته شده‌اند (Jiang et al., 2010). که در مطالعه‌ی توالی آمینواسیدی ژن HMW-گلوتئین در واریته‌های گندم و آزیلوپس (*Aegilops tauschii*)، ناحیه‌ی انتهایی N در واریته‌های گندم نیز با توالی EGEAS آغاز می‌شود (Yan et al., 2002). مطالعات نشان داده‌اند که ساختار اولیه‌ی HMW-گلوتئین از سه ناحیه تشکیل شده است که عبارتند از ناحیه‌ی غیر تکراری انتهایی N، ناحیه‌ی تکراری مرکزی و ناحیه‌ی غیر تکراری انتهایی C (Shewry et al., 1995). توزیع و تعداد رزیدوهای سیستئین در نواحی انتهایی N و C حفاظت‌شده هستند و ترکیب آمینواسیدهای سیستئین بر توانایی زیرواحد HMW-گلوتئین در ارتباط با یکدیگر یا با دیگر پروتئین‌های ذخیره‌ای جهت تشکیل پلیمرهای بزرگ گلوتن تاثیر می‌گذارند. چنین ترکیبی مقدار گلوتن گندم و متعاقب آن خصوصیات کاربردی خمیر را تعیین می‌کند (Payne et al., 1987; Shewry et al., 1995).

تعداد آمینواسیدها در نواحی حفاظت شده‌ی انتهایی N و انتهایی C و همچنین سیستئین‌های موجود در هر کدام از نواحی حفاظت‌شده در ارقام والدینی و نسل F₁ حاصل از آن‌ها در جدول (۲) آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که تعداد آمینواسیدها در نواحی انتهایی N و C در ارقام والدینی و نسل F₁ باهم برابر و به ترتیب دارای ۱۰۴ رزیدو و ۴۲ رزیدو در نواحی انتهایی N و C هستند ولی در تعداد سیستئین‌های موجود در ناحیه‌ی N تفاوت وجود دارد و تعداد سیستئین‌های موجود در ناحیه‌ی انتهایی C در هر سه مورد با هم برابر بوده و ۱ عدد می‌باشد. در مطالعاتی که بر روی توالی آمینواسیدی ژن HMW-گلوتئین در واریته‌های گندم و آزیلوپس (*Aegilops tauschii*) انجام گرفت، تعداد آمینواسیدهای ناحیه‌ی انتهایی N را ۱۰۴ و تعداد آمینواسیدهای ناحیه‌ی انتهایی C را ۴۲ عدد به دست

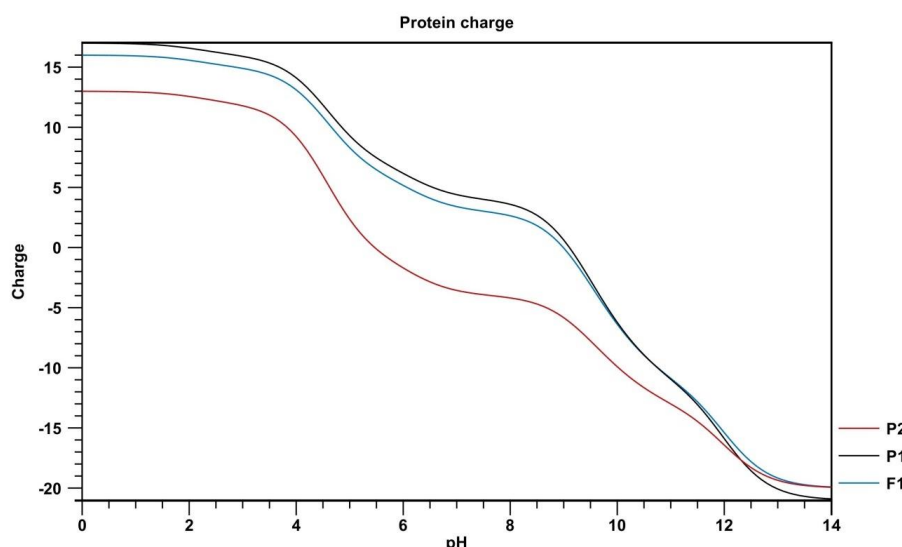


شکل ۳. نمودار آبگریزی مربوط به ناحیه‌ی انتهایی N در ارقام والدینی و نسل F_1 که a، b و c به ترتیب نشانگر ارقام والدینی گلستان، خزر یک و نسل F_1 می‌باشند.

طبق این نمودار، بار الکتریکی ویژه در رقم خزر یک در محدوده‌ی $pH = 5/5$ برابر صفر می‌باشد و بار الکتریکی ویژه در رقم گلستان و F_1 در محدوده‌ی $pH = 9$ برابر صفر می‌باشد، از این رو نتیجه می‌گیریم که نقطه‌ی ایزو الکتریک در رقم خزر یک در $pH = 5/5$ به دست می‌آید و در رقم گلستان و نسل F_1 نقطه‌ی ایزوالکتریک در $pH = 9$ به دست می‌آید. همچنین با توجه به شکل (۴) هرچه pH بالاتر می‌رود بار الکتریکی ویژه در هر دو رقم والدینی و همچنین نسل F_1 حاصل منفی‌تر می‌شود و بالعکس در pH های پایین بار الکتریکی ویژه در هر سه مورد بالاتر می‌رود.

نمودار بار الکتریکی یک پروتئین را می‌توان به صورت تابعی از pH ایجاد کرد. این امر به صورت منحصر به فرد برای یافتن بار الکتریکی ویژه‌ی پروتئین در pH خاص مفید است. به عنوان مثال می‌تواند در ارتباط با فوکوس ایزوالکتریک در بعد اول ژل الکتروفورز دو بعدی مورد استفاده قرار گیرد. نقطه ایزوالکتریک (pI) زمانی پیدا می‌شود که بار الکتریکی ویژه‌ی پروتئین صفر باشد (Doyle et al., 2011).

در شکل (۴) نمودار بار الکتریکی ویژه مربوط به دو رقم والدینی و نسل F_1 نشان داده شده است.



شکل ۴. نمودار شارژ الکتریکی یا بار الکتریکی ویژه‌ی دو رقم والدینی و نسل F_1 حاصل که P_1 و P_2 به ترتیب نشانگر ارقام والدینی گلستان و خزر یک می‌باشند.

که تنوع ژنتیکی مبنای همه گزینش‌هاست، امید است در نسل‌های بعدی تنوع بیشتری در رابطه با این پروتئین دست یابیم تا در برنامه‌های اصلاحی گندم با هدف بهبود کیفیت نانوائی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این پژوهش در پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان انجام گرفت که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

به‌طور کلی مطالعه‌ی توالی نوکلئوتیدی ارقام گلستان، خزر یک و نسل F_1 آنها نشان داد که تفاوت‌هایی در توالی نوکلئوتیدی نمونه‌های مورد مطالعه وجود دارد و متعاقباً تفاوت‌هایی نیز در توالی آمینواسیدی نسل F_1 با والدین مشاهده گردید. همچنین در نسل‌های بعدی با دستیابی به میزان بذر بیشتر می‌توان مقدار گلوتن گندم و کیفیت آرد گندم را تعیین کرد و میزان تنوع در این خصوصیات را نیز بررسی کرده و ارتباط آن را با میزان تنوع حاصل از تغییر در توالی آمینواسیدی بررسی کرد و از آنجایی

REFERENCES

- Akbari Rad M, Najafian G, Moghadam M, Khodarahmi M (2010) Study of genetic variation in baking quality related characteristics in bread wheat advanced lines and commercial cultivars. *Iran J. Crop Sci.* 12(2): 213-226.
- Bianco A, Kostarelos K, Partidos C D, Prato M (2005) Biomedical applications of functionalised carbon nanotubes. *Chem. Commun.* (5): 571-577.
- Deng Z, Hu S, Zheng F, Chen J, Zhang X, Chen J, Sun C, Zhang Y, Wang S, and Tian J (2013) Genetic dissection reveals effects of interaction between high-molecular-weight glutenin subunits and waxy alleles on dough-mixing properties in common wheat. *J. Genet.* 92(1): 69-79.
- Doyle A, Crosby S R, Burton D R, Lilley F, Murphy M F (2011) Actin bundling and polymerisation properties of eukaryotic elongation factor 1 alpha (eEF1A), histone H2A-H2B and lysozyme *in vitro*. *J. Struct. Biol.* 176(3): 370-378.
- Feng D, Chen F, Zhao S, Xia G M (2004) High Molecular-Weight Glutenin Subunit Genes in Decaploid

- Agropyron elongatum. Acta. Botanica. Sinica. 46(4): 489-496.
- Franca L T, Carrilho E, Kist T B (2002) A review of DNA sequencing techniques. Q. Rev. Biophys. 35(02): 169-200.
- Gianibelli M, Larroque O, MacRitchie F, Wrigley C (2001) Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits. Cereal. Chem. 78(6): 635-646.
- Gianibelli M, Solomon R (2003) A Novel y-type High M r Glutenin Subunit (12·4 t) Present in Triticum tauschii. J. Cereal. Sci. 37(2): 253-256.
- Jia J, Zhao S, Kong X, Li Y, Zhao G, He W, Appels R, Pfeifer M, Tao Y, Zhang X (2013) Aegilops tauschii draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation. Nature. 496(7443): 91-9.
- Jiang QT, Wei YM, Lu ZX, Pu Z, Lan XJ, Zheng YL (2010) Structural variation and evolutionary relationship of novel HMW glutenin subunits from Elymus glaucus. Hereditas. 147(3): 136-141.
- Lindsay M P, Skerritt J H (1998) Examination of the structure of the glutenin macropolymer in wheat flour and doughs by stepwise reduction. J. Agr. Food. Chem. 46(9): 3447-3457.
- Liu S, Gao X, Xia G (2008) Characterizing HMW-GS alleles of decaploid Agropyron elongatum in relation to evolution and wheat breeding. Theor. Appl. Genet. 116(3): 325-334.
- Mihalik D, Gregova E, Galuszka P, Ohnoutkova L, Klempova T, ONDREIČKOVÁ K, GUBIŠOVÁ M, GUBIŠ J, Kraic J (2012) Characterisation of a Novel High-Molecular-Weight Glutenin Subunit 1Dy12.3 from Hexaploid Wheat. Czech J. Genet. Plant Breed, 48(4): 157-16.
- Moolhuijzen P, Dunn D, Bellgard M, Carter M, Jia J, Kong X, Gill B, Feuillet C, Breen J, Appels R (2007) Wheat genome structure and function: genome sequence data and the International Wheat Genome Sequencing Consortium. Aust J. Agr. Res. 58(6): 470-47.
- Payne P I, Nightingale M A, Krattiger A F, Holt L M (1987) The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. J. Sci. Food. Agr. 40(1): 51-65.
- Pettersson E, Lundeberg J, Ahmadian A (2009) Generations of sequencing technologies. Genomics. 93(2): 105-111.
- Shewry P, Halford N, Tatham A (1992) High molecular weight subunits of wheat glutenin. J. Cereal. Sci. 15(2): 105-120.
- Shewry PR, Tatham AS, Barro F, Barcelo P, Lazzeri P (1995) Biotechnology of breadmaking: unraveling and manipulating the multi-protein gluten complex. Nat. Biotechnol. 13(11): 1185-119.
- Swain D, Rasal KD, Swain P, Pradhan P, Sundaray JK, Barman HK, Jayasankar P (2015) Comparative and evolutionary analysis of Growth Hormone (GH) protein of Cyprinids using computational approach. Int J. Fish. Aquat. Stud. 2(5): 191-197.
- Wang K, Ma J, Islam S, Yan Y, Appels R, Yan G, Ma W (2015) Detection of cysteine residue numbers in wheat gluten proteins by MALDI-TOF. Int J. Mass. Spectrom. 392: 91-95.
- Weibo J, Jin L, Fangli W, Aiguang G (2009) Cloning of high molecular weight gluten subunit promoter and study on its function in wheat. Braz. Arch. Biol. Technol. 52(2): 265-270.
- Wieser H (2007) Chemistry of gluten proteins. Food. Microbiol. 24(2): 115-119.
- Yan, Z., Wan, Y., Liu, K., Zheng, Y., Wang D (2002) Identification of a novel HMW glutenin subunit and comparison of its amino acid sequence with those of homologous subunits. Chinese. Sci. Bull. 47(3): 222-226.