دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی گسترده ژنومی و آنالیز الگوی بیان خانواده ژنی *HSP90* در گیاه آلوروپوس لیتورالیس تحت تنش شوری

سیدحمیدرضا هاشمی‌پطرودی[۱]، قربانعلی نعمت‌زاده[۲]، سمیرا محمدی[۳] و مارکوس کولمن[۴]

۱- استادیار گروه مهندسی ژنتیک و بیولوژی، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: shr.hashemi@sanru.ac.ir)
۲- استاد گروه مهندسی ژنتیک و بیولوژی، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۴- گروه ژنتیک مولکولی، مؤسسه ژنتیک گیاهی و تحقیقات گیاهان زراعی لیبنیز (IPK)، آلمان

تاریخ دریافت ۹۷/۱۱/۲۳ تاریخ پذیرش ۹۸/۵/۱۵
صفحه: ۱۳۴ تا ۱۴۳

چکیده

پروتئین‌های شوک حرارتی ۹۰ کیلو دالتونی (HSP90)، یک چاپرون مولکولی وابسته به ATP می‌باشند که توالی آن‌ها از درجه حفاظت‌شدگی بسیار بالایی در باکتری‌ها تا یوکاریوت‌ها برخوردار می‌باشند. در گیاهان، پروتئین‌های HSP90، برای کنترل رشد و نمو طبیعی گیاه و همچنین پاسخ دفاعی در برابر محرک‌های زیست‌محیطی مورد نیاز می‌باشند. گرچه مطالعات متعددی در مورد نقش فیزیولوژیکی HSP90ها در گیاهان وجود دارد، با این حال شناخت ما از مکانیسم‌های دفاعی پروتئین‌های HSP90 در پاسخ به تنش، نقش آن‌ها به‌عنوان چاپرون‌های مولکولی و برهم‌کنش‌های مولکولی آن‌ها با دیگر پروتئین‌ها و کوچاپرون‌ها محدود می‌باشد. بنابراین، در مطالعه حاضر، با آنالیز جامعی از خانواده ژنی *HSP90* در گیاه هالوفیت *Aeluropus littoralis*، ٤ ژن *HSP90* در این گیاه شناسایی و با استفاده از آنالیز پیش‌بینی جایگاه سلولی مشخص شد که این ژن‌ها در بخش‌های مختلف سلولی فعال می‌باشند. با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی مختلفی، ٤٥ ژن *HSP90* نیز در سایر گونه‌های آرابیدوپسیس، برنج، ذرت، سویا و*Brachypodium distachyon* شناسایی گردید. ٤٩ ژن *HSP90* مورد بررسی، از نظر فیلوژنتیکی در سه گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند. آنالیز ساختارهای ژنی و ترکیب موتیف‌ها نشان داد که این ژن‌ها در هر گروه تقریباً از حفاظت‌شدگی بالایی برخوردارند، که بیانگر این است که اعضای هر گروه ممکن است دارای کارکردهای یکسانی باشند. بر اساس داده‌های RNA-seq، ژن *AlHSP90.4* فعال در سیتوپلاسم با سطح بیان ۱/۳، بیشترین بیان را در بافت ریشه تحت شرایط تنش شوری و بازیابی به نمایش گذاشت. حداقل سطح بیان، نیز در ژن *AlHSP90.3* واقع در شبکه آندوپلاسمی، در پاسخ به تنش شوری و در شرایط بازیابی در بافت برگی مشاهده گردید. یافته‌های این بررسی، ضمن ارائه خصوصیات عملکردی ژن‌های *AlHSP90*، اطلاعات پایه‌ای را برای تحقیقات آتی در مورد کارکرد بیولوژیکی این ژن‌ها مهیا می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: آلوروپوس لیتورالیس، آنالیز بیان، آنالیز فیلوژنتیکی، پروتئین شوک حرارتی، HSP90

مقدمه

گیاهان در طول دوره رشد و نمو خود، اغلب در معرض تنش‌های غیرزیستی مختلفی، مانند شوری، خشکی، شدت نور بالا، شوک حرارتی، سرما و آلودگی‌های شیمیایی قرار می‌گیرند. این تنش‌ها با تأثیر بر روی گیاهان، سبب آسیب سلولی و القای واکنش‌های زیادی مانند پاسخ اسمزی و تنش اکسیداتیو می‌شوند (۳۹). گیاهان متنوع، پاسخ‌ها یا مکانیسم‌های دفاعی خاصی را برای مقابله با محیط‌های تحت تنش توسعه داده‌اند. یک مورد از این پاسخ‌ها، القای ژن‌های شوک حرارتی است که پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP[۱]ها) را برای بقای سلول‌های تحت تنش کد می‌نمایند (۳۴).

HSPها بر اساس وزن مولکولی خود، به پنج دسته اصلی به‌نام‌های HSP100 (یعنی ۱۰۰ کیلودالتون)، HSP90، HSP70، HSP60 و small HSP (sHSP) تقسیم می‌شوند. پروتئین‌های شوک حرارتی ۹۰ کیلو دالتونی یا HSP90، یک چاپرون مولکولی وابسته به ATP می‌باشند که توالی آن‌ها از درجه حفاظت‌شدگی بسیار بالایی در باکتری‌ها تا یوکاریوت‌ها و همولوگ‌های موجود در موجودات مختلف برخوردار هستند (۳۰). ساختار مرکزی پروتئین‌های HSP90، شامل یک دمین اتصال به ATP در انتهای آمینی، یک دمین میانی و یک دمین دایمریزاسیون[۲] در انتهای کربوکسیلی می‌باشند (۳۰).

یکی از ویژگی‌های قابل توجه HSP90ها در یوکاریوت‌ها، دارا بودن یک دمین اتصال‌دهنده طویل و پر انرژی[۳] بین انتهای آمینی و دمین میانی می‌باشد (۱۱).

پروتئین‌های HSP90 در تنظیم و حفظ سازگاری انواعی از پروتئین‌ها و همچنین حفاظت از سلول‌های طبیعی در برابر محرک‌های تنش نقش دارند (۳۱). در قارچ‌ها و در حیوانات، HSP90ها نقش‌های گسترده‌ای را در انتقال سیگنال تنش، مانند تاخوردگی گیرنده‌های هورمون‌های استروئیدی، پروتئین کینازها، فاکتورهای رونویسی و همچنین فعال‌سازی یک سوبسترا برای شروع انتقال سیگنال تنش ایفا می‌نمایند (۲۰،۳۵،۴۶). مطالعات اخیر در مورد HSP90های گیاهی بیشتر روی آنالیز تکاملی و عملکردهای فیزیولوژیکی متمرکز شده است (۱،۴۰،۴۱). در بسیاری از گیاهان، تعدادی از ژن‌های HSP90 شناسایی شده‌اند که تحت تنش‌های شوری، گرما، خشکی و فلزات سنگین به‌شدت بیان می‌شوند (۱۰،۴۲). بیش‌بیان ژن‌های *AtHSP90-2* در سیتوزول، *AtHSP90-5* در کلروپلاست و *AtHSP90-7* در شبکه آندوپلاسمی، تحمل آرابیدوپسیس را در برابر تنش‌های شوری و خشکی کاهش، اما تحمل به غلظت بالای کلسیم را افزایش دادند (۳۶). القای ژن‌های پاسخگو به آبسیزیک اسید با بیش‌بیان *AtHSP90-2* سیتوزولی به تأخیر افتاد، اما با

1- Heat shock proteins 2- Dimerization 3- Highly charged

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-11-17]
[DOI: 10.29252/jcb.11.31.134]

بیش‌بیان ژن‌های *AtHSP90-5* و *AtHSP90-7* در شرایط تنش شوری و خشکی به‌شدت بیان شد. این امر نشان می‌دهد که در آرابیدوپسیس، HSP90ها با چیدمان‌های مختلف سلولی، ممکن است از طریق مکانیسم‌های عملکردی متفاوت و احتمالاً از طریق مسیرهای وابسته به آبسیزیک اسید یا کلسیم برای پاسخگویی به تنش‌های غیرزیستی مشارکت داشته باشند (۳۶).

اخیراً آنالیز پروتئومیکس و فسفوپروتئومیکس در گیاهان، نشان داد که تعدادی از پروتئین‌های HSP90 تحت هر دو تنش خشکی و شوری القاء می‌شوند و احتمالاً در انتقال سیگنال در طول پاسخ به تنش درگیر هستند (۱۳،۲۶،۴۳). سیستم HSP90 در گیاهان متفاوت از حیوانات می‌باشد. گیاهان با دارا بودن یک بخش سلولی اضافی به‌نام پلاستید، قادرند پاسخ‌های مولکولی سریعی را برای مقابله با تغییرات ناگهانی زیست‌محیطی اعمال کنند (۲۴). با وجود شناخت پروتئین‌های HSP90 در گیاهان، با این حال، مطالعات محدودی در خصوص درک مکانیسم‌های دفاعی آن‌ها در پاسخ به تنش و برهم‌کنش‌های مولکولی آن‌ها با دیگر پروتئین‌ها و کوچاپرون‌ها[1] صورت گرفته است (۳۲).

با توجه به تعیین‌توالی ژنوم گیاه هالوفیت آلوروپوس لیتورالیس (*Aeluropus littoralis*) در پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان (منتشر نشده)، فرصتی برای تجزیه و تحلیل و شناخت ژن‌های *HSP90* در یک گونه متحمل به تنش، فراهم گردید. گیاه آلوروپوس لیتورالیس گیاهی است تک‌لپه از خانواده گندمیان که علاوه‌بر تحمل به شوری به طیف وسیعی از شرایط سخت محیطی متحمل می‌باشد (۱۶،۱۷،۱۸،۲۲). بنابراین این گیاه می‌تواند به‌عنوان یک منبع ژنتیکی حاوی ژن‌های متحمل به تنش‌های غیرزیستی برای اصلاح گیاهان زراعی در نظر گرفته شود (۴،۸،۹،۱۴،۱۵).

برای تعیین رابطه ساختار-عملکرد ژن‌های *HSP90* در این گیاه، آنالیز جامعی از سازمان‌دهی ژنوم، ساختار ژنی و پروفایل‌های بیان این ژن‌ها در دو بافت برگ و ریشه و پاسخ‌های آن‌ها تحت تنش شوری و بازیابی صورت گرفت. همچنین شباهت‌ها و تفاوت‌های بین پروتئین‌های HSP90 در آلوروپوس و آرابیدوپسیس و روابط تکاملی بین این پروتئین‌ها در گونه‌های دیگر نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شناسایی و بازیابی توالی‌های HSP90

ابتدا توالی‌های ژنومی، پروتئینی و CDS[2] ژن‌های *HSP90* برنج و آرابیدوپسیس، به‌ترتیب از پایگاه‌های اطلاعاتی RGAP (http://rice.plantbiology.msu.edu/) و TAIR (https://www.arabidopsis.org/) دریافت شدند. اطلاعات ژنوم مرجع گیاه آلوروپوس لیتورالیس نیز در پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان موجود می‌باشد. این اطلاعات شامل ۱۵،۹۱۶ مدل ژن پیش‌بینی شده بوده که از تعیین‌توالی کامل ژنوم (WGS)[3] آلوروپوس در سیستم Illumina HiSeq 2500 به‌دست آمده است (منتشر نشده).

برای شناسایی اعضای خانواده ژنی *HSP90* در گیاه آلوروپوس لیتورالیس، آنالیز جستجوی tBLASTN با استفاده از توالی‌های پروتئینی HSP90 آرابیدوپسیس و برنج به‌عنوان query در توالی ژنوم آلوروپوس به‌صورت Local BLAST در نرم‌افزارBioEdit با E-value کمتر از 1E-10 انجام شد (۱۲). سپس تمام توالی‌های پروتئینی دریافت و توالی‌های تکراری حذف گردید. در ادامه، توالی‌ها به‌صورت دستی برای تأیید حضور دمین‌های HATPase و HSP90 با استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی InterProScan (https://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence-search) و Pfam (http://pfam.xfam.org/) مورد آنالیز اولیه قرار گرفتند (۶،۲۱). سپس توالی‌های CDS و ژنومی این خانواده شناسایی گردید.

توالی‌های پروتئینی HSP90 ذرت، سویا و *Brachypodium distachyon* نیز از پایگاه اطلاعاتی Phytozome (https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/) جمع‌آوری شدند. سپس توالی‌های پروتئینی به‌دست آمده با استفاده از پایگاه Pfam مورد بررسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین‌ها

برای پیش‌بینی جایگاه سلولی پروتئین‌های HSP90 آلوروپوس و آرابیدوپسیس، از برنامه WoLF PSORT (https://wolfpsort.hgc.jp/) استفاده گردید (۱۹). نقاط ایزوالکتریک (PI) و وزن مولکولی (MW) پروتئین‌ها نیز با استفاده از ابزار ProtParam از پایگاه اطلاعاتی آنلاین (https://web.expasy.org/protparam/) برآورد شد (۷).

شناسایی ساختار اگزون-اینترون

با استفاده از توالی‌های CDS و ژنومی آلوروپوس و آرابیدوپسیس، ساختار اگزون-اینترون ژن‌های *HSP90* در این گیاهان با استفاده از برنامه GSDS (http://gsds.cbi.pku.edu.cn/) ترسیم گردید.

شناسایی موتیف‌ها

شناسایی موتیف‌های حفاظت‌شده در توالی‌های پروتئینی HSP90 آلوروپوس و آرابیدوپسیس، با برنامه MEME (http://meme-suite.org/tools/meme/) انجام گردید (۲). پارامترهای مورد استفاده شامل تعداد تکرار صفر یا یک برای هر توالی، شناسایی حداکثر ۱۰ موتیف، و حداقل و حداکثر طول موتیف‌ها به‌ترتیب ۶ و ۵۰ اسیدآمینه بود. لوگوی این موتیف‌ها توسط برنامه MEME ترسیم گردید و سپس انوتیشن آن‌ها در نرم‌افزار PSSMSearch (http://slim.ucd.ie/pssmsearch/) مورد بررسی قرار گرفت (۲۵).

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی با ژن‌های اورتولوگ در دیگر گیاهان زراعی

روابط تکاملی میان ژن‌های *HSP90* در گونه‌های آلوروپوس، آرابیدوپسیس، برنج، ذرت، سویا و

1- Co-chaperones
2- Coding sequence
3- Whole-genome sequencing

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-11-17]
[DOI: 10.29252/jcb.11.31.134]

B. distachyon به کمک توالی‌های پروتئینی حاصل از آن‌ها بررسی شد. ابتدا آنالیز هم‌ردیفی چندگانه با نرم‌افزار ClustalW (۳۸) انجام و در نهایت درخت فیلوژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار MEGA 6.0 (۳۷) بر مبنای روش اتصال همسایه[1] (NJ) با آزمون بوت‌استرپ[2] (۵) با تکرار ۱۰۰۰ برای اطمینان از صحت گروه‌بندی ترسیم گردید.

آنالیز بیان ژن‌های HSP90 در بافت‌های برگ و ریشه آلوروپوس

برای آنالیز الگوی بیان ژن‌های *HSP90* آلوروپوس از داده‌های RNA-seq استفاده شد. برای به‌دست آوردن داده‌های RNA-seq این گیاه، تنش شوری در غلظت ۶۰۰ میلی‌مولار بر روی گیاهان دو ماهه اعمال شد. سپس در زمان یک هفته پس از اعمال تنش شوری، نمونه‌برداری از دو بافت برگ و ریشه صورت گرفت. در ادامه، گیاهان باقیمانده به محیط هیدروپونیک فاقد نمک منتقل و از بافت‌های برگ و ریشه گیاهان بازیابی شده در مدت زمان یک هفته پس از انتقال به شرایط بازیابی، نمونه‌برداری صورت پذیرفت. فرآیند توالی‌یابی در دستگاه HiSeq 2500 شرکت Illumina صورت پذیرفت. آنالیز تفاوت بیان ژن‌ها به‌صورت Log2FC در شرایط تنش شوری و بازیابی با استفاده از نرم‌افزار CLC Genomics Workbench Version 6.5 (www.clcbio.com) بررسی گردید. بدین ترتیب که پس از تشکیل ماتریس بیان ژن که حاوی ژن‌ها و سطح بیان آن‌ها می‌باشد، بیان ژن‌های کاندید مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت نتایج حاصله در نمودار Heatmap ترسیم شده توسط نرم‌افزار Clustvis (https://biit.cs.ut.ee/clustvis/) ارائه گردید (۲۸).

نتایج و بحث

شناسایی ژن‌های *HSP90* در آلوروپوس لیتورالیس و سایر گونه‌های گیاهی

جهت شناسایی ژن‌های *HSP90* بالقوه در ژنوم آلوروپوس لیتورالیس، آنالیز همولوژی بر مبنای پروتئین‌های HSP90 آرابیدوپسیس و برنج با ژنوم آلوروپوس، منجر به شناسایی ۴ ژن گردید که در ۴ کانتیگ مختلف قرار داشتند. برای نام‌گذاری این ژن‌های *HSP90*، پیشوند Al قرار گرفته و به‌صورت *AlHSP90.1* تا *AlHSP90.4* نام‌گذاری شدند (جدول ۱). نتایج بررسی پروتئین‌ها در پایگاه InterProScan، نشان داد تمام پروتئین‌ها به خانواده پروتئینی HSP90 با شناسه IPR001404 تعلق دارند. با بررسی این پروتئین‌ها در پایگاه Pfam، دمین‌های اختصاصی HSP90 (PF00183) و HATPase_c (PF02518) مشاهده گردید. همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است ژن *AlHSP90.4* دارای دو دمین HSP90 می‌باشد. دمین HATPase_c متعلق به ابرخانواده اتصال به ATP[3]، شامل خانواده‌های پروتئینی متنوعی مانند DNA توپوایزومراز II، چاپرون‌های مولکولی HSP90، آنزیم‌های مسئول تعمیر بازهای اشتباه[4] DNA، ATPaseهای شبیه فیتوکروم و هیستیدین کینازها می‌باشند (۳). در بررسی پروتئین‌های HSP90 در سایت ScanProsite، نیز به جز AlHSP90.4 بقیه پروتئین‌ها دارای جایگاه حفاظت‌شده HSP90 (با شناسه PS00298) با توالی YsHKEVFLRE بودند.

برای بررسی روابط تکاملی ژن‌های *HSP90* در گیاهان، در مجموع، ۴۵ ژن *HSP90* شناسایی گردید که ۷ مورد به آرابیدوپسیس، ۸ مورد به برنج، ۹ مورد به ذرت، ۱۳ مورد به سویا و ۸ مورد به *B. distachyon* تعلق داشت. با بررسی در پایگاه Pfam، حضور دمین‌های اختصاصی HSP90 و HATPase_c تأیید گردید.

تجزیه و تحلیل خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین‌ها

طول توالی کدکننده ژن‌های *AlHSP90*، از ۱۸۳۰ جفت‌باز در ژن *AlHSP90.2* تا ۲۴۲۱ جفت‌باز در ژن *AlHSP90.3* متغیر بود. طول پروتئین‌ها نیز از ۶۰۹ تا ۸۰۶ آمینواسید متغیر بود. وزن مولکولی آن‌ها نیز در محدوده ۶۹/۹۲ تا ۹۲/۴۸ کیلودالتون بود (جدول ۱).

طول پروتئین‌های AtHSP90 از ۶۹۹ (AtHSP90.3 و AtHSP90.4) تا ۸۲۳ اسیدآمینه (AtHSP90.7) و طول توالی‌های کدکننده این پروتئین‌ها از ۲۱۰۰ تا ۲۴۷۲ جفت‌باز متغیر بود. وزن مولکولی پروتئین‌ها نیز بین ۸۰/۰۵ (AtHSP90.3) تا ۹۴/۲۰ کیلودالتون متغیر بود (جدول ۱).

دامنه نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌های AlHSP90 بیشتر اسیدی بوده و تنها یک پروتئین (AlHSP90.2) دارای نقطه ایزوالکتریک قلیایی (۷/۵) می‌باشد. نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌های AtHSP90 نیز اسیدی بوده و کمترین و بیشترین نقطه ایزوالکتریک با ۴/۹۳ در AtHSP90.5 و ۵/۲۶ در AtHSP90.6 مشاهده شد (جدول ۱).

مکان‌یابی سلولی یکی از ویژگی‌های کلیدی در بررسی کارکرد پروتئین می‌باشد و می‌تواند در فعالیت سلولی مشارکت داشته باشد و به‌طور کارآمدی در انتخاب جایگاه درست سلولی عمل کند (۴۵). آنالیزهای *In silico* با استفاده از نرم‌افزار پیش‌بینی جایگاه سلولی پروتئین‌ها، جایگاه احتمالی هر پروتئین را پیش‌بینی کرد. پروتئین‌های AlHSP90.1 و AlHSP90.2 با اطمینان بالا در کلروپلاست، AlHSP90.3 در شبکه آندوپلاسمی و AlHSP90.4 در سیتوپلاسم یا هسته، فعال هستند. همچنین مشخص شد که احتمالاً پروتئین‌های AtHSP90.1 تا AtHSP90.4 در سیتوپلاسم یا هسته، AtHSP90.5 در کلروپلاست، AtHSP90.6 در میتوکندری و AlHSP90.4 در شبکه آندوپلاسمی، فعال می‌باشند (جدول ۱).

شناسایی ساختار اگزون-اینترون

بررسی ساختار ژنی می‌تواند شواهد بیشتری جهت تأیید روابط فیلوژنتیکی ارائه نماید. زیرا وجود اینترون فرآیند مهمی در تکامل ژنوم و یک مقیاس تطبیقی برای تکامل گونه می‌باشد (۲۹). در این تحقیق، ساختار اگزون-اینترون ژن‌های *AlHSP90* و *AtHSP90* با استفاده از پایگاه GSDS، ترسیم گردید. در بین ژن‌های *AlHSP90*، ژن *AlHSP90.1* با ۱۹ اگزون کوتاه و ۱۸ اینترون دارای بیشترین تعداد اگزون و اینترون بود. ژن *AlHSP90.4* نیز با ۴ اگزون و ۳ اینترون دارای کمترین تعداد اگزون و اینترون بود. در میان ژن‌های *AtHSP90*، ژن *AtHSP90.6* با ۲۰ اگزون کوتاه و ۱۹ اینترون دارای بیشترین تعداد اگزون و اینترون، و ژن‌های

1- Neighbor-Joining 2- Bootstrap 3- ATP binding superfamily 4- Mismach

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-11-17]

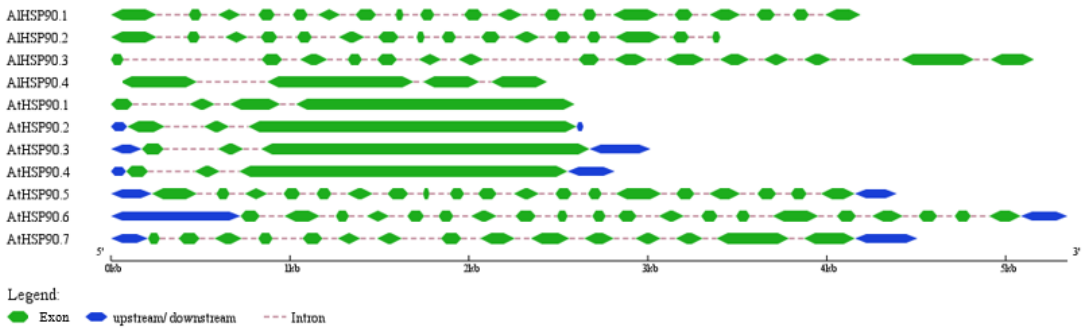
[DOI: 10.29252/jcb.11.31.134]

AtHSP90.2، *AtHSP90.3* و *AtHSP90.4* با ۳ اگزون و ۲ اینترون دارای کمترین تعداد اگزون و اینترون بودند (شکل ۱).

جدول ۱- تعیین‌مشخصه ژن‌های *HSP90* در ژنوم آلوروپوس لیتورالیس و آرابیدوپسیس تالیانا

Table 1. Genomic characteristics of *HSP90* genes in *Aeluropus littoralis* and *Arabidopsis thaliana*

نام ژن Gene Name	شماره ژن Gene ID	طول پروتئین Protein length (aa)	طول ژن Gene length (bp)	طول CDS CDS length (bp)	وزن مولکولی Molecular weight (kDa)	نقطه ایزوالکتریک Isoelectric point	جایگاه سلولی Subcellular localization	سازماندهی دمین Domain organization
AlHSP90.1	Alg920	780	4189	2343	87.83	4.99	chlo: 13.5, chlo_mito: 7.5	
AlHSP90.2	Alg14596	609	3405	1830	69.92	7.50	chlo: 11.5, chlo_mito: 6.5, nucl: 2	
AlHSP90.3	Alg13107	806	5158	2421	92.48	4.89	E.R.: 14	
AlHSP90.4	Alg2525	628	2437	1887	72.10	5.05	cyto: 7.5, cyto_nucl: 6.5, nucl: 4.5, chlo: 1, cysk: 1	
AtHSP90.1	At5g52640	700	2591	2103	80.63	4.96	cyto: 8, nucl: 3, chlo: 2, plas: 1	
AtHSP90.2	At5g56030	728	2640	2187	83.13	4.94	cyto: 6, nucl: 2, plas: 2, mito: 1, vacu: 1, E.R.: 1, golg: 1	
AtHSP90.3	At5g56010	699	3015	2100	80.05	4.95	cyto: 7, plas: 2, nucl: 1, mito: 1, E.R.: 1, pero: 1, golg: 1	
AtHSP90.4	At5g56000	699	2815	2100	80.14	4.96	cyto: 7, nucl: 2, mito: 1, plas: 1, E.R.: 1, pero: 1, golg: 1	
AtHSP90.5	At2g04030	780	4391	2343	88.66	4.93	chlo: 13, nucl: 1	
AtHSP90.6	At3g07770	799	5345	2400	90.57	5.26	mito: 9.5, chlo_mito: 6.5, chlo: 2.5, nucl: 2	
AtHSP90.7	At4g24190	823	4507	2472	94.20	4.94	E.R.: 14	



شکل ۱- ساختار ژنی ژن‌های *HSP90* در آلوروپوس و آرابیدوپسیس. جعبه‌های سبز و آبی به‌ترتیب معرف ناحیه‌های اگزون و UTR ´5 و ´3 UTR، و نقطه‌چین نشان‌دهنده اینترون‌ها می‌باشد. طول جعبه‌ها و نقطه‌چین‌ها بر اساس طول ژن‌ها مقیاس شده‌اند.

Figure 1. Gene structure of *HSP90* genes in *A. littoralis* and *A. thaliana*. Green and blue boxes indicate the exon and upstream/downstream UTR regions, respectively, while dashed lines indicate introns. The lengths of the boxes and dashed lines were scaled based on the length of the genes.

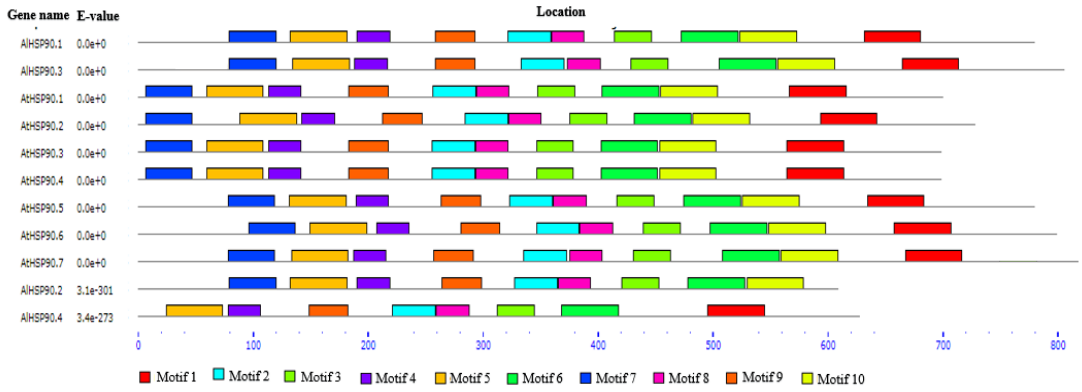
شناسایی موتیف‌ها

جهت بررسی بیشتر تنوع بین توالی‌های آمینواسیدی AlHSP90 و AtHSP90 با برنامه MEME، ۱۰ موتیف متمایز شناسایی شد (شکل ۲). تمام پروتئین‌ها به جز AlHSP90.2 و AlHSP90.4، دارای ترکیب موتیف مشترکی بودند که احتمالاً نشان‌دهنده کارکرد مشابه آن‌ها می‌باشد. تعداد، پراکنش و حفاظت‌شدگی برخی دمین‌ها، دلالت بر نقش حیاتی آن‌ها در کارکردشان دارد. موتیف ۱ در تمام پروتئین‌ها به جز AlHSP90.2 حضور داشتند و موتیف ۷ و ۱۰ فقط در پروتئین AlHSP90.4 غایب بودند (شکل ۲).

موتیف لوگوی موتیف‌ها در شکل ۳ ارائه شده است. در بررسی انوتیشن این ۱۰ موتیف مشخص شد که موتیف ۱ دارای کارکرد HSP90AA4P[1] با P-value (3.8e-09)، موتیف ۲ دارای کارکرد HSP90AB1[2] با P-value (3.8e-09)، موتیف ۳ دارای کارکردPKNOX1[3] با P-value (4.7e-07)، موتیف ۴ دارای کارکرد STAM[4] با P-value (2.4e-06)، موتیف ۵ دارای کارکرد TRP1[5] با P-value (1.0e-08)، موتیف ۶ دارای کارکرد EFCAB13[6] با P-value (2.0e-06)، موتیف ۷ دارای کارکرد TERF1[7] با P-value (2.0e-06)، موتیف ۸ دارای کارکرد GPS1[8] با P-value (5.7e-07)، موتیف ۹ دارای کارکرد USP34[9] با P-value (2.4e-06) و موتیف ۱۰ دارای کارکرد PNPLA8[10] با P-value (2.8e-07) می‌باشد.

1- HSP 90-alpha A4
2- Heat shock protein HSP 90-beta
3- Homeobox protein PKNOX1
4- Signal transducing adapter molecule1
5- Heat shock protein 75 kDa, mitochondrial
6- EF-hand calcium-binding domain-containing protein 13
7- Telomeric repeat-binding factor 1
8- COP9 signalosome complex subunit 1
9- Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 34
10- Calcium-independent phospholipase A2-gamma

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-11-17]
[DOI: 10.29252/jcb.11.31.134]



شکل ۲- موتیف‌های حفاظت‌شده پروتئین‌های HSP90 در آلوروپوس و آرابیدوپسیس. موتیف‌های شناسایی شده با شماره‌های ۱ تا ۱۰ با رنگ‌های مختلف و اندازه موتیف در پایین شکل، E- value و اسامی اعضای AlHSP90 و AtHSP90 در سمت چپ شکل نشان داده شده است.

Figure 2. Conserved motifs of HSP90 Proteins in *A. littoralis* and *A. thaliana*. The identified motifs were numbered from 1 to 10 with different colures, the motif sizes were indicated at the bottom of the figure, and the E-value and names of the AlHSP90 and AtHSP90 members were shown on the left side of the figure.

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی با ژن‌های اورتولوگ در دیگرگیاهان زراعی

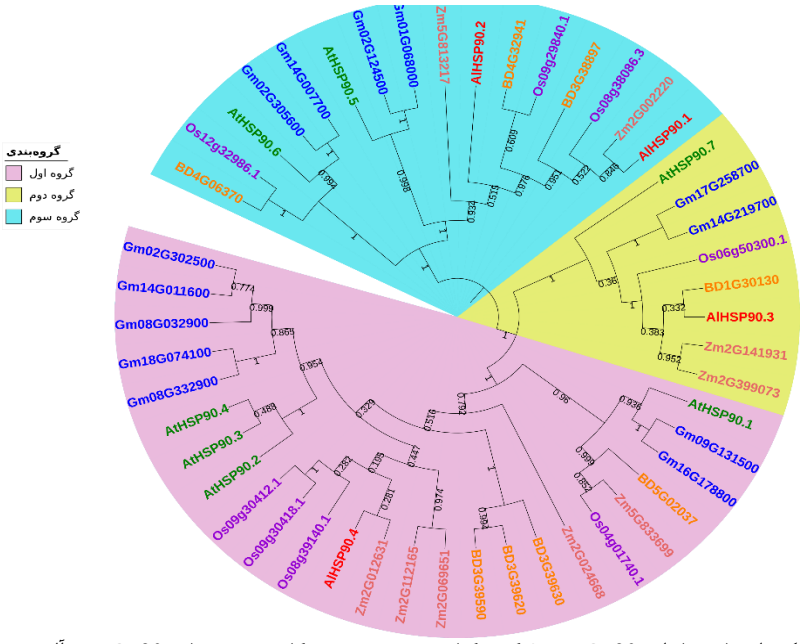
جهت بررسی روابط تکاملی ژن‌های *HSP90* در گونه‌های آلوروپوس، آرابیدوپسیس، برنج، ذرت، سویا و *B. distachyon*، توالی‌های آمینواسیدی ۴۹ پروتئین شناسایی شده ابتدا مورد آنالیز هم‌ردیفی چندگانه قرار گرفته، سپس درخت فیلوژنتیکی بر مبنای روش اتصال همسایه ترسیم گردید (شکل ۴). در نهایت، این ژن‌ها در ۳ گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند. توزیع ژن‌های *HSP90* در گونه‌های مختلف، تفاوت اندکی و الگوهای منحصر به فردی در هر گروه به نمایش گذاشت. از ۴۹ ژن *HSP90* در این بررسی، ۲۵ ژن در گروه اول، ۸ ژن در گروه دوم و ۱۶ ژن در گروه سوم قرار گرفت (شکل ۴). این یافته‌ها مطابق با مطالعات قبلی بود (۴۱،۴۴). نتایج نشان داد که ژن‌های واقع در هر گروه دارای ساختارهای اگزون-اینترون مشابه می‌باشند، در حالی که ژن‌های موجود در گروه‌های مختلف، ظاهری متفاوت از نظر ساختارهای اگزون-اینترن دارا بودند. علاوه‌بر این، این الگو در داخل گونه‌ها نیز مشاهده گردید. با استفاده از آنالیز مکان‌یابی سلولی، ژن‌های *HSP90* فعال در هسته یا سیتوپلاسم در گروه اول واقع شدند. در گروه دوم، تقریباً ژن‌های فعال در شبکه آندوپلاسمی قرار گرفتند. ژن‌های واقع در گروه سوم نیز تقریباً در کلروپلاست یا میتوکندری فعال می‌باشند. بر اساس ساختار اگزون-اینترون و مکان‌یابی سلولی، می‌توان به قابل اعتماد بودن این طبقه‌بندی تکاملی در پروتئین‌های HSP90 گیاهی اطمینان حاصل کرد (۴۴).

شکل ۳- موتیف لوگو توالی‌های HSP90 در آلوروپوس و آرابیدوپسیس. اندازه هر اسیدآمینه، بیانگر فراوانی آن در دمین مربوطه می‌باشد.

Figure 3. Motif logos of HSP90 sequences in *A. littoralis* and *A. thaliana*. The height of the residue shows the relative frequency of each residue at that position.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-11-17]

[DOI: 10.29252/jcb.11.31.134]



شکل ۴- روابط فیلوژنتیکی اعضای خانواده HSP90 در ۶ گونه گیاهی. هم‌ردیفی چندگانه پروتئین‌های HSP90 در آلوروپوس لیتورالیس (Al)، آرابیدوپسیس تالیانا (At)، برنج (Os)، ذرت (Zm) سویا (Gm) و *B. distachyon* (Bd) انجام و درخت فیلوژنتیکی به کمک نرم‌افزار MEGA 6.0 بر مبنای روش اتصال همسایه ترسیم گردید. مقادیر بوت استرپ روی شاخه‌های انتخابی نشان داده شده است.

Figure 4. Phylogenetic relationships of HSP90 family members from six plant species. Multiple alignment of HSP90 proteins from *A. littoralis* (Al), *A. thaliana* (At), *Oryza sativa* (Os), *Zea mays* (Zm), *Glycine max* (Gm) and *B. distachyon* (Bd) was performed using Clustal W, and a phylogenetic tree was constructed using by the Neighbor-Joining method using MEGA 6.0. Bootstrap values are shown on selected branches.

آنالیز ترانسکریپتومیکس

به‌منظور بررسی الگوی بیان این خانواده ژنی، آنالیز ترانسکریپتوم گیاه آلوروپوس لیتورالیس در دو بافت برگ و ریشه، در شرایط تنش شوری و بازیابی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصله در مقیاس log2FC در نمودار Heatmap ارائه گردید (شکل ۵). در این تحقیق، بیان ژن به‌صورت افزایش‌بیان یا کاهش‌بیان[1] مشاهده شد. ژن *AlHSP90.4* با مقدار بیان ۱/۳، در شرایط تنش شوری و بازیابی در بافت ریشه (بیان ۲/۵ برابری نسبت به شاهد)، بیشترین بیان را داشت. بعد از آن ژن *AlHSP90.2* دارای بیشترین مقدار بیان (۰/۷۴)، در شرایط تنش شوری در بافت برگی بود. بیشترین کاهش بیان نیز در ژن *AlHSP90.3* در شرایط تنش شوری و بازیابی در بافت برگی مشاهده گردید.

همان‌گونه که در نمودار Heatmap (شکل ۵) نشان داده شده است، الگوی متفاوتی در بیان ژن‌های *AlHSP90* مشاهده شد. این الگوی بیان متفاوت با توجه به وجود دمین‌های مشابه، می‌تواند به‌دلیل وجود عملکردهای مولکولی متفاوت و نیز مکانیسم‌های تنظیمی مختلف در کنترل فعالیت این ژن‌ها باشد.

خانواده ژنی *HSP90* در گیاهان دارای کارکردهای متنوعی می‌باشند و آن‌ها در گستره وسیعی از فرآیندهای بیولوژیکی، به‌خصوص در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مشارکت دارند (۳۶). علاوه بر این، تحقیقات قبلی نشان داده است که این ژن‌ها، مکانیسم‌های پاسخگویی متنوعی در پاسخ به تنش‌های مختلف به نمایش می‌گذارند (۲۷،۳۶).

در این بررسی، ژن *AlHSP90.4* با داشتن دو دمین HSP90 که بر اساس مکان‌یابی سلولی در سیتوپلاسم فعال می‌باشد، در شرایط تنش شوری و بازیابی در بافت ریشه بیشترین بیان را نشان داد. ژانگ و همکاران (۴۴) با مشاهده روند افزایشی بیان ژن‌های *Bradi3g39620* و *Bradi5g02307* در پاسخ به تنش اسمزی عنوان نمودند که افزایش بیان این دو ژن *HSP90* سیتوپلاسمی ممکن است با آزادسازی فاکتورهای رونویسی نسبی که بیان ژن پایین‌دست تحمل به تنش را فعال می‌کنند، از طریق مسیر پیام‌دهی ABA در پاسخ به تنش اسمزی، مشارکت داشته باشند. علاوه‌بر این، ژن‌های *OsHSP90-2* و *OsHSP90-4* نیز در مواجهه با تنش‌های شوری، خشکی، سرما و گرما افزایش بیان نشان دادند (۳۳) که با نتایج این بررسی مطابقت دارند.

در این مطالعه بر اساس مکان‌یابی سلولی و طبقه‌بندی تکاملی، ژن *AlHSP90.3* در شبکه آندوپلاسمی فعال می‌باشد. توزیع تکاملی این ژن با *AtHSP90.7* مشابه بود. الگوی بیانی این ژن در پاسخ به تنش شوری و تحت شرایط

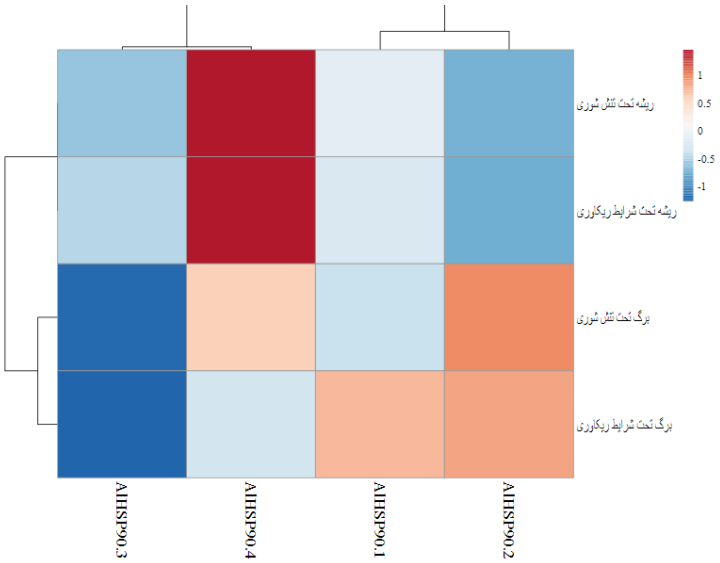
1- Up or down regulation

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-11-17]
[DOI: 10.29252/jcb.11.31.134]

بازیابی در بافت برگی کمترین بیان را نشان داد. در بررسی دیگری نشان داده شده است که *AtHSP90.7* در مقایسه با *AtHSP90.2* در پاسخ به تنش شوری و خشکی نیز حساسیت کمتری را نشان داد (۳۶). افزایش پروتئین HSP90 در شبکه آندوپلاسمی می‌تواند تغییر و هدف‌گیری ترانسپورترهای یونی غشای پلاسمایی و واکوئلی را با کم کردن سدیم سیتوزولی برای مقابله با تنش شوری کاهش دهد (۲۳). علاوه‌بر این، افزایش پروتئین HSP90، بخصوص در کلروپلاست یا شبکه آندوپلاسمی می‌تواند منجر به یک هومئوستازی کلی شود، یا با تغییر سیستم ورود و خروج اندامکی یا هومئوستازی پروتئین، تحمل به تنش‌های اسمزی و شوری نرمال را افزایش دهد (۳۶). این نتایج نشان می‌دهد که سطح پروتئین HSP90 در گیاه برای هومئوستازی پروتئین‌های تحمل و یا پاسخ به تنش، حیاتی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب به شماره T234/96 انجام گردید و بدینوسیله نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان جهت استفاده از امکانات آزمایشگاهی و حمایت‌های مالی در راستای تأمین هزینه‌های این تحقیق، نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشند.



شکل ۵- نمایش Heatmap و خوشه‌بندی سلسله مراتبی ژن‌های *HSP90* آلوروپوس لیتورالیس در دو بافت برگ و ریشه تحت شرایط تنش شوری و بازیابی

Figure 5. Heat map representation and hierarchical clustering of *A. littoralis HSP90* genes in leaf and root tissues under salinity stress and recovery conditions

منابع

1. Agarwal, G., V. Garg, H. Kudapa, D. Doddamani, L.T. Pazhamala, A.W. Khan, M. Thudi, S.H. Lee and R.K. Varshney. 2016. Genome-wide dissection of *AP2/ERF* and *HSP90* gene families in five legumes and expression profiles in chickpea and pigeonpea. Plant biotechnology journal, 14(7): 1563-1577.
2. Bailey, T.L., M. Boden, F.A. Buske, M. Frith, C.E. Grant, L. Clementi, J. Ren, W.W. Li and W.S. Noble. 2009. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. Nucleic acids research, 37: 202-208.
3. Dutta, R. and M. Inouye. 2000. GHKL, an emergent ATPase/kinase superfamily. Trends in biochemical sciences, 25(1): 24-28.
4. Faraji, S., H. Najafi-Zarrini, S. Hashemi-Petroudi and G. Ranjbar. 2017. *AlGLYI* gene implicated in salt stress response from halophyte *Aeluropus littoralis*. Russian Journal of Plant Physiology, 64(6): 850-860.
5. Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution, 39(4): 783-791.
6. Finn, R.D., P. Coggill, R.Y. Eberhardt, S.R. Eddy, J. Mistry, A.L. Mitchell, S.C. Potter, M. Punta, M. Qureshi and A. Sangrador-Vegas. 2015. The Pfam protein families database: towards a more sustainable future. Nucleic Acids Research, 44: 279-285.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-11-17]

[DOI: 10.29252/jcb.11.31.134]

7. Gasteiger, E., C. Hoogland, A. Gattiker, M.R. Wilkins, R.D. Appel and A. Bairoch. 2005. Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. In: Walker, J.M. (eds.) The proteomics protocols handbook. 571-607 pp., Humana Press, New York City, New York, United States.
8. Ghorbani, H., H. Samizadeh Lahiji and G.A. Nematzadeh. 2019. In Silico Characterization of Proteins Containing ARID-PHD Domain and Its Expression in *Aeluropus littoralis* Halophyte. Journal of Crop Breeding, 11(29): 143-152.
9. Ghorbani, H.R., H. Samizadeh Lahiji and G.A. Nematzadeh. 2017. Expression pattern analysis of transcription factors from *Aeluropus littoralis* in response to salt stress and recovery condition. Journal of Plant Molecular Breeding, 5(1): 19-30.
10. Grigorova, B., I. Vaseva, K. Demirevska and U. Feller. 2011. Combined drought and heat stress in wheat: changes in some heat shock proteins. Biologia Plantarum, 55(1): 105-111.
11. Hainzl, O., M.C. Lapina, J. Buchner and K. Richter. 2009. The charged linker region is an important regulator of Hsp90 function. Journal of Biological Chemistry, 284: 22559-22567.
12. Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41: 95-98.
13. Hao, P., J. Zhu, A. Gu, D. Lv, P. Ge, G. Chen, X. Li and Y. Yan. 2015. An integrative proteome analysis of different seedling organs in tolerant and sensitive wheat cultivars under drought stress and recovery. Proteomics, 15(9): 1544-1563.
14. Hashemi-Petroudi, S.H., H. Ghorbani and M. Kuhlmann. 2018. Isolation Phosphoglycerate Dehydrogenase gene from *Aeluropus littoralis* halophyte plant and functional analysis of T-DNA mutant in *Arabidopsis thaliana*. Crop bitechnology, 8(23): 79-92.
15. Hashemi-Petroudi, S.H., G.A. Nematzadeh, H. Askari and S. Ghahary. 2014. Involvement of Cytosine DNA methylation in different developmental stages of *Aeluropus littoralis*. Journal of Plant Molecular Breeding, 2(2): 56-67.
16. Hashemi-Petroudi, S.H., G.A. Nematzadeh, H. Askari and Y. Ghasemi. 2012. Pattern of DNA cytosine methylation in *Aeluropus littoralis* during temperature stress. Journal of Plant Molecular Breeding, 1(1): 16-24.
17. Hashemi-Petroudi, S.H., G.A. Nematzadeh and M. Kuhlmann. 2019. Identification and analysis of a *DEVIL* paralog gene cluster in *Aeluropus littoralis* by comparative genomic approach Crop bitechnology, 9(25): 79-92.
18. Hashemipetroudi, S., G. Nematzadeh, G. Ahmadian, A. Yamchi and M. Kuhlmann. 2016. Expression analysis of salt stress related expressed sequence tags (ESTs) from *Aeluropus littoralis* by quantitative real-time PCR. Bioscience Biotechnology Research Communications, 9(3): 445-456.
19. Horton, P., K.J. Park, T. Obayashi, N. Fujita, H. Harada, C. Adams-Collier and K. Nakai. 2007. WoLF PSORT: protein localization predictor. Nucleic acids research, 35: 585-587.
20. Jackson, S.E., C. Queitsch and D. Toft. 2004. Hsp90: from structure to phenotype. Nature Structural & Molecular Biology, 11: 1152-1155.
21. Jones, P., D. Binns, H.Y. Chang, M. Fraser, W. Li, C. McAnulla, H. McWilliam, J. Maslen, A. Mitchell and G. Nuka. 2014. InterProScan 5: genome-scale protein function classification. Bioinformatics, 30(9): 1236-1240.
22. Kaleybar Shahin, B., G. Nematzadeh, S.H.R. Hashemi, H. Askari and S. Kabirnataj. 2013. Physiological and Genetic Responses of Halophyte *Aeluropus Littoralis* to Salinity. Journal of Crop Breeding, 5(12): 15-29.
23. Klein, E.M., L. Mascheroni, A. Pompa, L. Ragni, T. Weimar, K.S. Lilley, P. Dupree and A. Vitale. 2006. Plant endoplasmin supports the protein secretory pathway and has a role in proliferating tissues. The Plant Journal, 48(5): 657-673.
24. Krishna, P. and G. Gloor. 2001. The Hsp90 family of proteins in *Arabidopsis thaliana*. Cell stress & chaperones, 6(3): 238-246.
25. Krystkowiak, I., J. Manguy and N.E. Davey. 2018. PSSMSearch: a server for modeling, visualization, proteome-wide discovery and annotation of protein motif specificity determinants. Nucleic acids research, 46: 235-241.
26. Lv, D.W., S. Subburaj, M. Cao, X. Yan, X. Li, R. Appels, D.F. Sun, W. Ma and Y.M. Yan. 2014. Proteome and phosphoproteome characterization reveals new response and defense mechanisms of *Brachypodium distachyon* leaves under salt stress. Molecular & Cellular Proteomics, 13(2): 632-652.
27. Marcu, M.G., M. Doyle, A. Bertolotti, D. Ron, L. Hendershot and L. Neckers. 2002. Heat shock protein 90 modulates the unfolded protein response by stabilizing IRE1α. Molecular and cellular biology, 22(24): 8506-8513.
28. Metsalu, T. and J. Vilo. 2015. ClustVis: a web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap. Nucleic acids research, 43: 566-570.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-11-17]

[DOI: 10.29252/jcb.11.31.134]

29. Moore, R.C. and M.D. Purugganan. 2003. The early stages of duplicate gene evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100(26): 15682-15687.
30. Pearl, L.H. and C. Prodromou. 2000. Structure and in vivo function of Hsp90. Current opinion in structural biology, 10(1): 46-51.
31. Picard, D. 2002. Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS, 59(10): 1640-1648.
32. Riggs, D.L., M.B. Cox, J. Cheung-Flynn, V. Prapapanich, P.E. Carrigan and D.F. Smith. 2004. Functional specificity of co-chaperone interactions with Hsp90 client proteins. Critical reviews in biochemistry and molecular biology, 39(5-6): 279-295.
33. Sangster, T.A., A. Bahrami, A. Wilczek, E. Watanabe, K. Schellenberg, C. McLellan, A. Kelley, S.W. Kong, C. Queitsch and S. Lindquist. 2007. Phenotypic diversity and altered environmental plasticity in *Arabidopsis thaliana* with reduced Hsp90 levels. PloS one, 2(7): e648.
34. Sangster, T.A. and C. Queitsch. 2005. The HSP90 chaperone complex, an emerging force in plant development and phenotypic plasticity. Current opinion in plant biology, 8(1): 86-92.
35. Shinozaki, F., M. Minami, T. Chiba, M. Suzuki, K. Yoshimatsu, Y. Ichikawa, K. Terasawa, Y. Emori, K. Matsumoto and T. Kurosaki. 2006. Depletion of Hsp90β induces multiple defects in B cell receptor signaling. Journal of Biological Chemistry, 281(24): 16361-16369.
36. Song, H., R. Zhao, P. Fan, X. Wang, X. Chen and Y. Li. 2009. Overexpression of *AtHsp90. 2*, *AtHsp90. 5* and *AtHsp90. 7* in *Arabidopsis thaliana* enhances plant sensitivity to salt and drought stresses. Planta, 229(4): 955-964.
37. Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular biology and evolution, 30(12): 2725-2729.
38. Thompson, J.D., T.J. Gibson and D.G. Higgins. 2003. Multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. Current protocols in bioinformatics, 1: 2-3.
39. Wang, W., B. Vinocur, O. Shoseyov and A. Altman. 2004. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. Trends in plant science, 9(5): 244-252.
40. Xu, Z.S., Z.Y. Li, Y. Chen, M. Chen, L.C. Li and Y.Z. Ma. 2012. Heat shock protein 90 in plants: molecular mechanisms and roles in stress responses. International journal of molecular sciences, 13(12): 15706-15723.
41. Zhang, J., J. Li, B. Liu, L. Zhang, J. Chen and M. Lu. 2013. Genome-wide analysis of the Populus *Hsp90* gene family reveals differential expression patterns, localization, and heat stress responses. BMC genomics, 14(1): 532.
42. Zhang, L., Y. Fan, F. Shi, S. Qin and B. Liu. 2012. Molecular cloning, characterization, and expression analysis of a cytosolic *HSP90* gene from *Haematococcus pluvialis*. Journal of applied phycology, 24(6): 1601-1612.
43. Zhang, M., C.Y. Ma, D.W. Lv, S.M. Zhen, X.H. Li and Y.M. Yan. 2014. Comparative phosphoproteome analysis of the developing grains in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under well-watered and water-deficit conditions. Journal of proteome research, 13(10): 4281-4297.
44. Zhang, M., Z. Shen, G. Meng, Y. Lu and Y. Wang. 2017. Genome-wide analysis of the *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv. *Hsp90* gene family reveals molecular evolution and expression profiling under drought and salt stresses. PloS one, 12(12): e0189187.
45. Zhang, S., X. Xia, J. Shen, Y. Zhou and Z. Sun. 2008. DBMLoc: a Database of proteins with multiple subcellular localizations. BMC bioinformatics, 9(1): 127.
46. Zuehlke, A. and J.L. Johnson. 2010. Hsp90 and co-chaperones twist the functions of diverse client proteins. Biopolymers: Original Research on Biomolecules, 93(3): 211-217.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-11-17]

[DOI: 10.29252/jcb.11.31.134]

Analysis of Expression Pattern of Genome and Analysis of *HSP90* Gene Family in *Aeluropus littoralis* under Salinity Stress

Seyyed Hamidreza Hashemi-Petroudi[1], Ghorbanali Nematzadeh[2], Samira Mohammadi[3] and Markus Kuhlmann[4]

1- Assistant Professor, Department of Genetic Engineering and Biology, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT), Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU) (Corresponding author: shr.hashemi@sanru.ac.ir)
2- Professor, of Genetic Engineering and Biology, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT), Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU)
3- PhD candidate in Plant Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU)
4- RG Abiotic Stress Genomics/ RG Heterosis, Department Molecular Genetics, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK). Germany
Received: February 12, 2019 Accepted: August 6, 2019

Abstract

HSP90 protein is an ATP-dependent molecular chaperone that is evolutionarily conserved in bacteria to higher eukaryotes. In plants, HSP90s are required for control of normal plant growth and development, as well as immune responses to environmental stimuli. Although there are several studies explaining the physiological role of HSP90s in plants, our understanding of their stress response molecular mechanisms, their roles as molecular chaperones, and their molecular interactions with other clients and co-chaperones are still unclear. Therefore the present study aimed to perform a comprehensive analysis of the *HSP90* gene family in halophyte plant *Aeluropus littoralis.* Subcellular localization analysis showed that four identified *AlHSP90* gene were localized in different subcellular compartments. Based on different bioinformatics tools, 45 *HSP90* homologus genes were identifed from Arabidopsis, rice, maize, soybeen and *Brachypodium distachyon* species. 49 genes of *HSP90* were phylogenetically clustered into three major groups. Gene structure and motif composition revealed that these genes were relatively conservative in each group, suggesting that members of the same group may also have conserved functions. Based on RNA-seq data, *AlHSP90.4* gene localized in cytoplasm with expression levels of 1.3 was expressed more in root tissue under salinity stress and recovery. The least expression level was observed in *AlHSP90.3* gene localized in ER in root tissue under salinity stress and recovery. The findings of this study reveal the functional characteristics of the *AlHSP90* genes and provide basic information for future research on the their biological functions.

Keywords: *Aeluropus littoralis*, Expression Analysis, Heat Shock Protein, HSP90, Phylogenetic Analysis

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-11-17]

[DOI: 10.29252/jcb.11.31.134]