

شناسایی *In Silico* ژن‌های دخیل در بیوسنتز توکوفرول در گیاه عدس (*Lens culinaris*)

عاطفه مجیدی^۱، علیرضا عباسی^۲، سجاد رشیدی منفرد^۳

۱- دانشجو و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۳- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۵)

چکیده

توکوفرول‌ها (ویتامین E)، گروهی از ترکیبات آلی هستند که فعالیت‌های حیاتی را در سلول‌های گیاهی فراهم می‌کنند؛ دستگاه فتوسنتزی را از خسارت اکسیداتیو نوری در امان نگه می‌دارند و باعث حفاظت غشای کلروپلاست از پروکسیداسیون لیپید می‌شوند؛ همچنین وجود آنها در تغذیه انسانی ضروری است. در این تحقیق، شش ژن دخیل در بیوسنتز توکوفرول‌ها شامل *VTE5*، *HPPD/PDS1*، *HPT/VTE2*، *VTE3/APG1/IE35*، *TC/VTE1*، γ -*TMT/VTE4* و فرآورده‌های این ژن‌ها به کمک پایگاه‌های اطلاعاتی و نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک، به صورت *In Silico* در گیاه عدس شناسایی شدند که می‌توان پس از شناسایی و جداسازی ژن‌ها، آنها را برای اهداف اصلاحی عدس از طریق بهنژادی سنتی یا روش‌های نوین زیست فناوری به کار برد. ترسیم درخت فیلوژنتیکی با برنامه MEGA 7 نشان داد که اکثر این ژن‌ها در گیاه عدس با گیاهان هم‌خانواده خود مانند نخود و یونجه هومولوژی بالایی دارند. پیش‌بینی حضور دمین‌های حفاظت‌شده مشخص کرد که پروتئین HPPD دارای دو دمین و یک زیردمین و پروتئین‌های γ -TMT و VTE3 هر کدام دارای یک دمین حفاظت‌شده می‌باشند. نتایج حاصل از توصیف پروتئین‌ها با استفاده از ابزار ProtParam تعیین کرد که بالاترین فراوانی از نظر ترکیب اسیدهای آمینه، به لوسین، سرین و گلايسین و کمترین فراوانی، به دو اسید آمینه سلنوسیسستین و پیرولیزین تعلق داشت. با استفاده از برنامه DeepLoc-1.0 پیش‌بینی شد که به‌غیر از پروتئین HPPD که محلول در سیتوپلاسم است، پنج پروتئین دیگر در فضای بین دو غشا پلاستیدها قرار می‌گیرند.

واژه‌های کلیدی: بیوانفورماتیک، پروتئین، ژن، عدس، ویتامین E.

In Silico identification of genes involved in tocopherol biosynthesis in lentil (*Lens culinaris*) plant

Atefeh Majidi¹, Alireza Abbasi², Sajad Rashidi-Monfared³

1,2. Department of Agronomy and Plant Breeding, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Iran. 3. Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

(Received: February 8, 2020 - Accepted: May 25, 2020)

ABSTRACT

Tocopherols (Vitamin E) are an important group of organic compounds that realize vital activities in plant cells. They protect the photosynthetic system from photooxidation damages and prevent the lipid peroxidation of the chloroplast membrane. The presence of this plant organic compound in human nutrition is essential. In this research, six genes involved in the biosynthesis pathway of vitamin E including HPPD/ PDS1, VTE5, HPT/ VTE2, VTE3/ APG1/ IE35, TC/ VTE1, γ -TMT/ VTE4 and their products are identified in lentil plant using databases and bioinformatics software. After this identification, genes are implemented for breeding purposes of lentil through traditional breeding or modern biotechnology methods. According to the phylogenetic tree obtained by the MEGA 7 program, it was observed that most of these genes in the lentil have high homology to legume plants such as chickpea and alfalfa. In addition, the prediction of the presence of conserved domains revealed that the HPPD protein had two domains and one subdomain, and each of the proteins γ -TMT and VTE3 had only one conserved domain. Moreover, the results of the proteins description using ProtParam tool showed that the highest frequency with respect to the amino acids belonged to leucine, serine and glycine; by contrast, selenocysteine and pyrrolisine had the lowest frequency. The use of the DeepLoc-1.0 program predicted that only HPPD proteins were soluble in the cytoplasm, while five other proteins were located in the intermembrane space.

Keywords: Bioinformatics, gene, lentil, protein, vitamin E.

* Corresponding author E-mail: rezabbasi@ut.ac.ir

مقدمه

γ و δ) در گیاهان یافت شده‌اند (Mène-Saffrané & DellaPenna, 2010).

HGA پیش‌ماده همه انواع ویتامین E است و توسط p-هیدرووکسی فنیل پیرووات دی‌اکسیژناز (HPPD)، از مسیر شیکیمات تولید می‌شود (Mène-Saffrané & Pellaud, 2017). زنجیره جانبی پرنیل، توسط گرانیل‌گرانیل دی‌فسفات (GGPP) تحت کاتالیزور گرانیل‌گرانیل پیروفسفات سنتاز (GGPPS) از مسیر متیل اریتریتول فسفات (MEP) تولید می‌شود (Ruiz-Sola et al., 2016; Mène-Saffrané and Pellaud, 2017). برای سنتز توکوفرول، نیاز به کاهش GGPP به فایتیل پیروفسفات (PPP) توسط یک گرانیل‌گرانیل ردوکتاز (GGR) است. در دانه‌ها و برگ‌های آرابیدوپسیس، سنتز توکوفرول بیشتر به فیتول کیناز VTE5^γ و فایتیل فسفات کیناز VTE6^δ بستگی دارد که به‌طور پیوسته فیتول را به فایتیل پیروفسفات فسفوریله می‌کند (Valentin et al., 2006; Vom Dorp et al., 2015). در برگ‌های سالم، فیتول مورد استفاده برای سنتز توکوفرول اغلب از هیدرولیز کلروفیل تشکیل شده‌است (Vom Dorp et al., 2015).

گام مهم در بیوسنتز توکوکرومانول، تغلیظ HGA با یک زنجیره جانبی ایزوپرنوئیدی است که به‌وسیله پرنیل ترانسفراز انجام می‌گیرد. سنتز توکوفرول توسط یک هموجنتیسات فایتیل ترانسفراز (HPT) آغاز می‌شود (Mène-Saffrané and Pellaud, 2017)؛ متیل فایتیل بنزوکوئینون حاصل به‌وسیله متیل ترانسفراز (MT) متیله می‌شود تا دی متیل فایتیل بنزوکوئینون را تشکیل دهد که هر دو فرم به‌وسیله

عدس (*Lens culinaris*) گیاهی از خانواده Fabaceae که بعد از سویا در میان حبوبات، بیشترین پروتئین (حدود ۲۵ درصد) و کمترین روغن را دارد و به علت وجود پروتئین بالا، مواد معدنی، فیبر و کربوهیدرات‌ها، منبع غذایی مهمی برای انسان است. ساقه، کاه و کلش و پوسته غلاف این گیاه دارای ارزش غذایی بالایی است و برای مصرف دام‌های اهلی مناسب است (Muehlbauer et al., 2006; Yadav et al., 2007; Srivastava & Vasishta, 2012).

توکوفرول‌ها (ویتامین E)، گروهی از ترکیبات آلی هستند که به‌صورت مولکول‌های محلول در چربی، در ناحیه چربی‌دوست غشای سلولی قرار می‌گیرند. فعالیت بیولوژیکی هر یک از مشتقات ویتامین E، معیار توانایی یا استفاده کارکردی آن است (Mène-Saffrané & DellaPenna, 2010). ویتامین E تنها در موجودات فتوسنتز کننده و برخی از سیانوباکتری‌ها تولید می‌شود؛ بنابراین منبع تامین آن در انسان، مصرف گیاهان است (Arango & Heise, 1998). توکوفرول در حفاظت دستگاه فتوسنتزی در برابر خسارت اکسیداتیو و حفاظت اسیدهای چرب غیراشباع از پروکسیداسیون لیپید در غشاهای کلروپلاست نقش دارد (Hugly & Somerville, 1992). ویتامین E عملکردهای حیاتی متعددی شامل دفع فیزیکی اکسیژن منفرد، پاکسازی شیمیایی گونه‌های فعال اکسیژن متعدد و رادیکال‌های آزاد را در انسان انجام می‌دهد؛ همچنین یک آنتی‌اکسیدان قطع‌کننده زنجیره برای حفاظت اسیدهای چرب غیراشباع از پراکسیداسیون لیپید است (Fryer, 1993; Bramley et al., 2000).

واحد ساختاری اصلی ویتامین E شامل یک حلقه کرومانول قطبی (۲-متیل-۶-هیدرووکسی کرومانول) مشتق شده از مسیر شیکیمات و یک زنجیره جانبی هیدروفوبیک ۱۶ کربنه از گروه پرنیل است که از مسیر غیر مولونات مستقر در پلاستید مشتق می‌شود (Spitzer & Schweigert, 2007). بر پایه تعداد و موقعیت گروه متیل موجود در گروه سر کرومانول، چهار فرم متفاوت از توکوفرول‌ها (α, β, γ, δ-tocopherols) وجود دارد.

¹ p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase

² Geranylgeranyl pyrophosphate

³ Geranylgeranyl pyrophosphate synthase

⁴ Methyl erythritol phosphate

⁵ Phytol pyrophosphate

⁶ Geranylgeranyl reductase

⁷ Phytol kinase

⁸ Phytol phosphate kinase

⁹ Homogentisate phytoltransferase

¹ Methyltransferase

الگو در آزمایشات PCR اثر می‌گذارد، برای محاسبه محتوای GC از برنامه آنلاین Science Buddies استفاده شد (<https://www.sciencebuddies.org>).

هم‌ردیفی توالی‌ها و روابط فیلوژنتیکی

جستجو به منظور شناسایی توالی پروتئین‌های مشابه با استفاده از برنامه BLASTP انجام شد و پروتئین‌های با همسانی بالا انتخاب شدند و هم‌ردیفی چندگانه به وسیله برنامه ClustalW2 انجام شد (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>).

برای پی‌بردن به رابطه فیلوژنتیکی بین پروتئین‌های مورد نظر و پروتئین‌های مشابه، ترسیم درخت فیلوژنتیکی با استفاده از برنامه MEGA 7 و روش Neighbor joining انجام شد (Kumar *et al.*, 2016).

خصوصیات پروتئین‌ها

برای تعیین نقش مولکولی پروتئین‌ها و شناسایی دامین‌های حفاظت‌شده، از برنامه آنلاین InterProScan استفاده شد که منبع تجزیه و تحلیل عملکردی توالی پروتئین با طبقه بندی آن‌ها به خانواده‌ها و پیش‌بینی حضور دامین‌ها است. با استفاده از این برنامه، وجود دامین‌های عملکردی پروتئین‌های مورد نظر و همچنین عملکرد مولکولی و فرایند بیولوژیکی پروتئین‌ها پیش‌بینی شدند (<https://www.ebi.ac.uk/interpro>). همچنین جستجو توالی پروتئینی مورد نظر در کتابخانه موتیف سایت GenomeNet، با استفاده از ابزار MOTIF Search جهت شناسایی موتیف‌های حفاظت شده انجام شد (<https://www.genome.jp/tools/motif/>). برای تعیین خصوصیات ساختار اولیه پروتئین‌ها از ابزار ProtParam سایت ExPASy استفاده شد تا نقطه ایزوالکتریک^۷، وزن مولکولی^۸، فراوانی اسیدهای آمینه، تعداد اسیدآمینه با بار مثبت و منفی، میانگین آب‌گریزی کل^۹ و شاخص ناپایداری^{۱۰} بررسی شود (<https://web.expasy.org/protparam>).

توکوفرول سایکلاز (TC) به ترتیب به دلتا توکوفرول و گاما توکوفرول تبدیل می‌شوند (شکل ۱). این ایزوform‌ها توسط گاما توکوفرول متیل ترانسفراز (γ -TMT) متیله می‌شوند و به ترتیب به بتا توکوفرول و آلفا توکوفرول تبدیل می‌شوند (Mene-Saffrane & Pellaud, 2017).

با توجه به تاثیر توکوفرول در گیاه و انسان، بررسی و مطالعه ژن‌های مرتبط با بیوسنتز توکوفرول اهمیت خاصی پیدا می‌کند. در حال حاضر در پایگاه NCBI، هیچ توالی نوکلئوتیدی از شش ژن مذکور در این مسیر برای گیاه عدس به ثبت نرسیده است که می‌توان پس از شناسایی و جداسازی ژن‌ها، آن‌ها را برای اهداف اصلاحی عدس از طریق بهنژادی سنتی یا روش‌های نوین زیست فناوری به کار برد.

مواد و روش‌ها

سرهمبندی خوانش‌ها و شناسایی بیوانفورماتیکی ژن‌ها

در این پژوهش، برای شناسایی شش ژن *HPT/VTE2*، *VTE5*، *HPPD/PDS1*، *TMT/VTE4*، *TC/VTE1*، *VTE3/APG1/IE35* به جستجو در کتابخانه^۳ Reads گیاه عدس موجود در پایگاه اطلاعاتی^۴ SRA^۵NCBI پرداخته شد (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/>). با استفاده از برنامه Codon Code Aligner v.5.0.1 سرهمبندی خوانش‌ها صورت گرفت و نهایتاً ترجمه توالی توافقی خروجی این نرم‌افزار با استفاده از برنامه آنلاین ORF finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) انجام شد. صحت ژن‌های شناسایی شده و کامل بودن توالی ORF آن‌ها با استفاده از برنامه BLASTP مورد بررسی قرار گرفت. از آنجا که محتوای GC بر پایداری DNA، ساختار ثانویه mRNA و بر دمای اتصال DNA

¹ Tocopherol cyclase

² γ -tocopherol methyl transferase

³ Express Sequence Tag; EST

⁴ National Center for Biotechnology Information

⁵ Sequence Read Archive

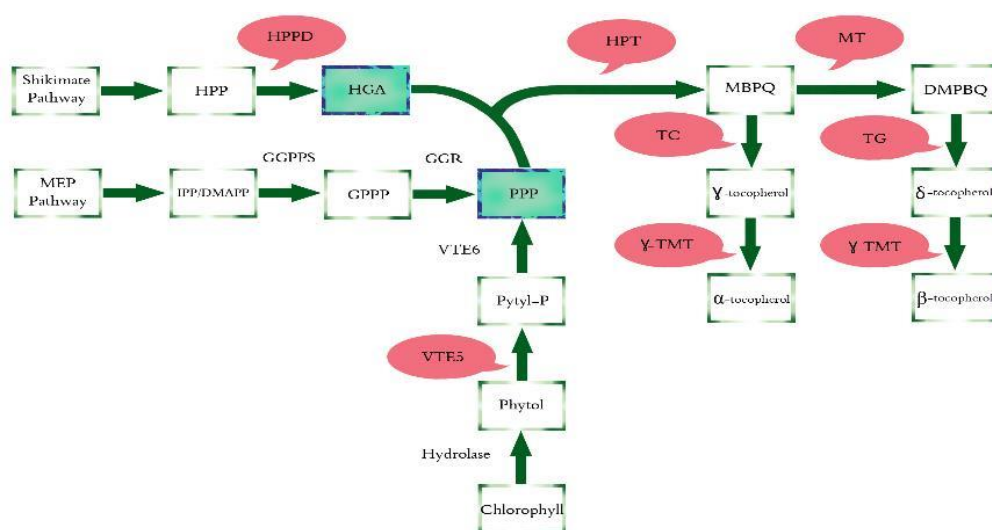
⁶ Reads

⁷ Isoelectric point; pI

⁸ Molecular Weight; Mw

⁹ Grand average of hydropathicity; GRAVY

¹⁰ Instability index



شکل ۱- مسیر بیوسنتز توکوفرول در گیاهان. هموجنتیسیک اسید (HGA); گرانیل گرانیل پیروفسفات (GGPP); فایتیل پیروفسفات (PPP); دی‌متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP); ۲،۳-دی‌متیل-۶-فایتیل-۱،۴-بنزوکینول (DMPBQ); ۴-هیدروکسی فینیل پیرووات (HPP); ایزوپنتیل پیروفسفات (IPP); ۲-متیل-۶-فایتیل-۴،۱-بنزوکینول (MPBQ); p-هیدروکسی فینیل پیرووات دی‌اکسیژناز (HPPD); هموجنتیسیک اسید فایتیل ترانسفراز (HPT یا VTE2); گرانیل گرانیل پیروفسفات سنتاز (GGPPS); گرانیل گرانیل ردوکتاز (GGR); گاما توکوفرول متیل ترانسفراز (γ -TMT یا VTE4)؛ متیل ترانسفراز (MT یا VTE3)؛ توکوفرول سایکلاز (TC یا VTE1)؛ فیتول کیناز (VTE5)؛ فایتیل فسفات کیناز (VTE6) (Mene-Saffrane and Pellaud, 2017).

Figure 1. Tocopherol biosynthesis pathway in plants. homogentisic acid (HGA); geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP); phytol pyrophosphate (PPP); dimethylallyl pyrophosphate (DMAPP); 2,3-dimethyl-6-phytyl-1,4 benzoquinol (DMPBQ); 4-hydroxyphenylpyruvate (HPP); isopentenyl pyrophosphate (IPP); 2-methyl-6-phytyl-1,4-benzoquinol (MPBQ); p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD); homogentisic acid Phytol transferase (HPT/VTE2); Geranylgeranyl pyrophosphate synthase (GGPPS); geranylgeranyl reductase (GGR); γ -tocopherol methyltransferase (γ -TMT /VTE4); methyltransferase (MT/VTE3); tocopherol cyclase (TC/VTE1); phytol kinase (VTE5); phytol phosphate kinase (VTE6) (Mene-Saffrane and Pellaud, 2017).

موجود در پایگاه اطلاعاتی SRA NCBI مشخص شد که تعداد Readها برای هر ژن به این صورت است: *HPPD* (PDS1): ۷۹۴، *VTE5*: ۸۲۳، *HPT* (VTE2): ۲۹۹۰، *VTE3* (APG1/IE35): ۱۸۸۷، *TC* (VTE1): ۲۶۱۱، γ -TMT (VTE4): ۷۶۲. توالی توافقی حاصل از نرم‌افزار ORF finder در شش قالب خوانش آشکار برای هر شش ژن ترجمه شد و بلندترین ORF با ویژگی‌های زیر برای هر یک از آنها انتخاب شد (جدول ۱). به‌طور مثال، توالی کد کننده ژن *HPPD* از نوکلئوتید ۱۲۶ تا ۱۴۳۳ به طول ۱۳۰۸ در رشته مثبت شناسایی شدند و طول پروتئین پیش‌بینی شده آن ۴۳۵ اسید آمینه است. محتوای GC را می‌توان در طراحی پرایمر برای واکنش‌های PCR، طراحی

از آن‌جا که برنامه آنالیز DeepLoc-1.0 یک الگوریتم پیش‌بینی را با تکیه بر اطلاعات توالی ارائه می‌دهد و تمام توالی پروتئینی را پردازش می‌کند و مناطق پروتئینی مهم برای محل قرارگیری درون سلولی^۱ را شناسایی می‌کند، جهت پیش‌بینی مکانیزم محل قرارگیری پروتئین‌های یوکاریوتی درون سلول؛ از این برنامه استفاده شد (<http://www.cbs.dtu.dk/services/DeepLoc>).

نتایج و بحث

در نتیجه جستجو در کتابخانه Reads گیاه عدس

¹ protein subcellular localization

پیش‌بینی ساختار سنجاق سری برای mRNA و ... استفاده کرد.

جدول ۱- ویژگی‌های ORF‌های انتخاب شده و محتوای GC آن‌ها
 Table 1. Features of selected ORFs and their GC content.

Gene	Label	Strand	Frame	Start	Stop	Length (nt aa)	%G-C content
<i>HPPD</i>	ORF5	+	3	126	1433	1308 435	49.7
<i>VTE5</i>	ORF3	+	3	84	1010	927 308	42.1
<i>HPT</i>	ORF2	+	2	311	1396	1086 361	40.9
<i>VTE3</i>	ORF1	+	1	241	1278	1038 345	43.4
<i>TC</i>	ORF1	+	1	109	1587	1479 492	44
<i>γ-TMT</i>	ORF4	+	3	15	1070	1056 351	44.4

توالی پروتئین‌ها با برنامه Clustal Omega نشان داد که هومولوژی بالایی بین پروتئین‌های پیش‌بینی شده و ده پروتئین مشابه دیگر از ژن‌های شناسایی شده در خانواده حبوبات وجود دارد (شکل ۲).

جستجوی توالی پروتئین‌های ترجمه شده شش ژن مسیر بیوسنتزی توکوفرول در مقابل مجموعه نوکلئوتیدی (n/r) Non-redundant ۱۰۰ Hit توانست ۱۰۰ را در نتیجه BLASTP نشان دهد. هم‌ردیفی چندگانه

45	<i>HPPD.Ac</i>	-----MGKQTENE-----	KEKEAQLKQPAPAGEFKLVGYANFVRTNPWSDRFQVK
46	<i>HPPD.Bn</i>	-----MGHENAAVS-----	ESQHHDDAASAASPGFKLVGFSKFVRKNPKSKDFKVK
38	<i>HPPD.Gm</i>	-----	MCNEIQAQAQAQAQPGFKLVGFKNFVRTNPKSDFQVN
40	<i>HPPD.Ls</i>	-----	MGTEAKPSNVAGEQTGSFAKLVGFNNFVRTNPKSDFKSVK
52	<i>HPPD.Cm</i>	-----	MGKEAENVRASSEEAASAAAAAERVNAASESEFKLVGFKNFVRMNPKSDRFKVK
115	<i>HPPD.Zj</i>	YPPASRRRV----	HSLHFSPEPERRSETETMGNENPAVDFKLVGFSNFVRSNPKSDFRFKVK
32	<i>HPPD.Mt</i>	-----	MANETHNQTFGFKLVGCKNFVRTNPKTDRFKVK
31	<i>HPPD.Ca</i>	-----	MGTIETQTGFKLVGFNNFVRTNPKSDFRFKVK
32	<i>HPPD.Lc</i>	-----	MGNETENQTFGFKLVGFKNFVRTNPKSDFRFKVK
85	<i>HPPD.Tp</i>	FPPHYKYCATHNTNTKLF--	TTKMAIETETQTAQTGFKLLGFKNFVRANPKSDFRFKVK
36	<i>HPPD.Ts</i>	-----	MAIETETQNTQTFGFKLVGFNNFVRANPKSDFRFKVK
Glyoxa			
**** :*. * ** *			
105	<i>HPPD.Ac</i> ⁴	RFHHVEFWCSDATNAALRFSWGLGMTLSAKSDLSTGNLTHASYLLRSGQLNFLFSAPYSP	
106	<i>HPPD.Bn</i>	RFHHIEFWCGDATNVARRFSWGLGMRFSAKSDLSTGNMVASHYLLTSGDLRFLFTAPYSP	
98	<i>HPPD.Gm</i>	RFHHIEFWCTDATNASRRFSWGLGMPIVAKSDLSTGNQIHASYLLRSGDLSFLFSAPYSP	
100	<i>HPPD.Ls</i>	RFHHIEFWCSDATNTARRFSWGLGMPIVAKSDLSTGNATHASYLLRSGQLNFLFTAPYSP	
112	<i>HPPD.Cm</i>	RFHHIEYWCDDATNTARRFSWGLGMPIVAKSDLSTGNLTHASYLLRSGQLCFLFTAPYSP	
175	<i>HPPD.Zj</i>	RFHHIEYWCDDATNTARRFSWGLGMPIVAKSDLSTGNQVHASVYLLRSGDLFLFTAPYSP	
92	<i>HPPD.Mt</i>	RFHHIEFWCTDATNTARRFSWGLGMPIVAKSDLSTGNLTHASYLLRSGDLNFLFTAAYSP	
91	<i>HPPD.Ca</i>	RFHHIEFWCPDATNTARRFSWGLGMPIVAKSDLSTGNQTHASYLLRSGDLNFLFTAAYSP	
92	<i>HPPD.Lc</i>	RFHHIEFWCADATNTARRFSWGLGMPIVAKSDLSTGNSTHASYLLRSGDLNFLFSAAYSP	
145	<i>HPPD.Tp</i>	RFHHIEFWCTDATNTARRFSWGLGMPIVAKSDLSTGNLKHASYLLRSGDLNFLFSAAYSP	
146	<i>HPPD.Ts</i>	RFHHIEFWCTDATNTARRFSWGLGMPIVAKSDLSTGNLKHASYLLRSGDLNFLFSAAYSP	
***** .*** ** ** * ***** ***** * ** * ** *			
Glyoxa			
Glyoxalase_5			
165	<i>HPPD.Ac</i>	SIAVANQLSPASTAAVPTFDRSACLAFSLHGLVRAIAIEVEDAAAAAFSASVAHGARPS	
162	<i>HPPD.Bn</i>	SLSAG----ETSTASIPSFHDVSCRFFSSHGLGVRVAIEVEDAESAFSISVANGAVPS	
156	<i>HPPD.Gm</i>	SLSAG--SSAASSASIPSFDAATCLAFAAKHGFGVRAIAIEVEDAEAAAFSASVAKGAEP	
157	<i>HPPD.Ls</i>	SISS--AVTSTTASIPSFSDHDCRNFTASHGLAVRSVAIEVEDAEIAFVSVSHGAKPS	
172	<i>HPPD.Cm</i>	SIAAAQNLSPASTASIPSFDAACRFAFSHGLGVRVAIEVEDAEIAFRTSVAHGAKPS	
233	<i>HPPD.Zj</i>	SIASL--SQSPNSASIPSFDAACRFAFSHGLGVRVAIEVEDAEIAFRTSVAHGAKPS	
149	<i>HPPD.Mt</i>	SISL---SSPSSTASIPSFDAACRFAFSHGLGVRVAIEVEDAEIAFRTSVAHGAKPS	
148	<i>HPPD.Ca</i>	SISL---SAPHPTASIPSFDAACRFAFSHGLGVRVAIEVEDAEIAFRTSVAHGAKPS	
149	<i>HPPD.Lc</i>	SISL---SSPSSTASIPSFDAACRFAFSHGLGVRVAIEVEDAEIAFRTSVAHGAKPS	
202	<i>HPPD.Tp</i>	SISL---SSPSSTASIPSFDAACRFAFSHGLGVRVAIEVEDAEIAFRTSVAHGAKPS	
153	<i>HPPD.Ts</i>	SISL---SSPSSTASIPSFDAACRFAFSHGLGVRVAIEVEDAEIAFRTSVAHGAKPS	
:: :. * ** * ** * ***** ** * ** *			
Glyoxalase_5			
219	<i>HPPD.Ac</i>	SPPVPLD-DHAVIAEVQLYGDVVLRYVSVKSCNS----	SPNPNEFLPGFEPVEES-ASF
210	<i>HPPD.Bn</i>	SPPVPLD-DHAVIAEVQLYGDVVLRYVSVKSCNS----	VNFLPGFESVDDTS-SF
214	<i>HPPD.Gm</i>	SPPVPLD-DHAVIAEVQLYGDVVLRYVSVKSCNS----	APHADPSRWFLPGFEEAASSSFP
211	<i>HPPD.Ls</i>	SSPITLGNNDVVLSEVKLYGDVVLRYVSVKSCNS----	GISNPLPGFEPVEKTSFP
230	<i>HPPD.Cm</i>	SPPVPLD-DHAVIAEVQLYGDVVLRYVSVKSCNS----	SDNPDSWFLPGFESVP--SSF
287	<i>HPPD.Zj</i>	SPPLSLD-DRVAIAEVQLYGDVVLRYVSVKSCNS----	SDNPDSWFLPGFESVP--SSF
202	<i>HPPD.Mt</i>	SPPVVLE-NGVKLAIEVRLFGDVVLRVSYNPNPNQ----	QNLFLPGFETLSESSNS
205	<i>HPPD.Ca</i>	SPPVVLD-NRVKLAIEVQLYGDVVLRYVSYNPNPNQ----	SNPNPNHWFLPGFEPVEETSSNQ
206	<i>HPPD.Lc</i>	SPPVVLD-NRVKLAIEVQLYGDVVLRYVSYNPNPNQ----	SEPNPDQWFLPGFEPVSESSQS
261	<i>HPPD.Tp</i>	APPVNLE-NGVKLAIEVRLYGDVVLRVSYNPNPNQ----	QNPDPNHWFLPGFESVSESSNS
208	<i>HPPD.Ts</i>	SPPVNLE-NGVKLAIEVRLYGDVVLRVSYNPNPNQ----	QNPDPNHWFLPGFESVSESSNS
:: :. * ** * ** * ***** ** * ** *			
Glyoxa			
279	<i>HPPD.Ac</i>	PLDYGLRRLDHA VGNVPELAPMVEYVKKFTGFHEFAEFTAEDVGTTESGLNSLVLASND	

270 HPPD.Bn PLDYGIRRLDHAVGNVPELGPALTYLAGFTGFHQAFAEFTADDVGTAESEGLNSAVLANNDE
 274 HPPD.Gm ELDYGIRRLDHAVGNVPELAPAVRYLKGFSGFHEFAEFTAEVDGTSEGLNSVVLANNSE
 271 HPPD.Ls DLDYGIRRLDHAVGNVPELAPAVDYVKSITGFHEFAEFTAEVDGTSEGLNSVVLACNSE
 290 HPPD.Cm PLDFGIRRLDHAVGNVPELGPVSYLKGFTGFHEFAEFTAEVDGTSEGLNSVVLANNNE
 347 HPPD.Zj PLDFGIRRLDHAVGNVPELGPVSYVKGFTGFHEFAEFTAEVDGTSDSGLNSVVLANNDE
 259 HPPD.Mt SLDFGIRQLDHANGNVPSELSSALKYIKQFTGFHDFAEFTAEDV--ESGLNAVVALANNDE
 265 HPPD.Ca SIDFGIQLRDHAVGNVPELSSALNYVKQFTGFHEFAEFTAEVDGTSEGLNSVVLANNNE
 266 HPPD.Lc SLDFGIRRLDHAVGNVPELSSAIKYLKFTGFHEFAEFTAEVDGTAESGLNSAVLANNEE
 321 HPPD.Tp SLDFGIRRLDHAVGNVPELSSALKYLKFTGFHEFAEFTAEVDGTSEGLNSVVLANNNE
 268 HPPD.Ts SLDFGIRRLDHAVGNVPELSSALKYLKFTGFHEFAEFTAEVDGTSEGLNSVVLANNNE

.*:..**** * : * : ..****.* : ..****.*

Glyoxa

339 HPPD.Ac MVLLPMNEPVFGTKRKSQIQTYLEHNEGQGVQHLALMSEDFRTLREMRSSVGGGFQM
 330 HPPD.Bn MVLLPVNEPVHGTKRKSQIQTFLEHNEGAGLQHLALMSEDFRTLREMRKRSGVGGGDFM
 334 HPPD.Gm TVLLPLNEPVYGTKRKSQIETYLEHNEGAGVQHLALVTHDIFRTLREMRKRSLGGGFEM
 331 HPPD.Ls MVLLPMNEPVYGTKRKSQIQTYLEHNEGAGVQHLALASEDFRTLREMRKRSGVGGGFEM
 350 HPPD.Cm MVLLPLNEPVYGTKRKSQIQTYLEHNEGAGVQHLALVSEDFRTLREMRKRSGVGGGFEM
 407 HPPD.Zj MVLLPLNEPVFGTKRKSQIQTYLEHNEGAGLQHLALVSEDFRTLREMRKRSGVGGGFEM
 319 HPPD.Mt TVLLPLCEPVYGTKRKSTIETYLEHNEGAGFQHLALASEDFRTLREMRKRSGVGGGFEM
 325 HPPD.Ca TVLLPMNEPVYGTKRKSQIQTYLEHNEGAGLQHLALMSNDFRTLREMRKRSGVGGGFEM
 326 HPPD.Lc TVLLPINEPVYGTKRKSQIETYLEHNEGAGLQHLALVSEDFRTLREMRKRSGVGGGFEM
 381 HPPD.Tp TVLFPMPNEPVYGTKRKSQIETYLEHNEGAGLQHLALKSEDFRTLREMRKRSGVGGGFEM
 328 HPPD.Ts TVLFPMPNEPVYGTKRKSQIETYLEHNEGAGLQHLALKSEDFRTLREMRKRSGVGGGFEM

.*:..**** * : * : ..****.* : ..****.*

399 HPPD.Ac PSPPPTYRNLKNRAGDVLTDQIKICEELGILVDRDDQGTLQIFTKPVGDRPTIFIEI
 390 HPPD.Bn PSPPPTYKNLKKRIGDVLSDQIRECEELGILVDRDDQGTLQIFTKPLGDRPTIFIEI
 394 HPPD.Gm PSPPPTYANLHNRAADVLTVDQIKQCEELGILVDRDDQGTLQIFTKPVGDRPTIFIEI
 391 HPPD.Ls PSPPPTYRNLKNRVGDVLTDEEIKICEELGILVDRDDQGTLQIFTKPVGDRPTIFIEI
 410 HPPD.Cm PSPPPTYKNLKSAGDVLTDQIKICEELGILVDRDDQGTLQIFTKPVGDRPTIFIEI
 467 HPPD.Zj PSPPPTYRNLKNRAGDVLTDQIKICEELGILVDRDDQGTLQIFTKPVGDRPTIFIEI
 379 HPPD.Mt PSPPPTYRNLKNRVGDVLTDEEIKICEELGILVDRDDQGTLQIFTKPIGDRPTIFIEI
 385 HPPD.Ca PSPPPTYSNLKKRVGDVLTDEEIKICEELGILVDRDDQGTLQIFTKPVGDRPTIFIEI
 386 HPPD.Lc PSPPPTYRNLKNRVGDVLTDEEIKICEELGILVDRDDQGTLQIFTKPVGDRPTIFIEI
 441 HPPD.Tp PSPPPTYRNLKNRVGDVLTDEEIKICEELGILVDRDDQGTLQIFTKPIGDRPTIFIEI
 388 HPPD.Ts PSPPPTYRNLKNRVGDVLTDEEIKICEELGILVDRDDQGTLQIFTKPIGDRPTIFIEI

**** * : * : ..****.* : ..****.*

453 HPPD.Ac IQRVGCILKDDDEGKAYQKGGCGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLEVKRITPAT-A
 440 HPPD.Bn IQRVGCMLKDEEGKVYQKGGCGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLEAKQLVG-----
 443 HPPD.Gm IQRIGCMVDEEGKVYQKGCAGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLEAKRTA-----
 446 HPPD.Ls IQRVGCMLKDEEGKVYQKGCAGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLEARTTTEPTAAA
 465 HPPD.Cm IQRVGCMMKNEEGKEYQKGGCGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLEAKRVAEPHVS
 521 HPPD.Zj IQRVGCMLKDEEGKVYQKGCAGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLEAKRVAEADAA-
 428 HPPD.Mt IQRVGCMLKDEEGKEYQKGGCGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLETRRTA-----
 434 HPPD.Ca IQRVGCMLKDEEGKEYQKGGCGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLEIKRTA-----
 435 HPPD.Lc IQRVGCMLKDEEGKEYQKGGCGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLETRRTA-----
 490 HPPD.Tp IQRVGCMLKDEEGKEYQKGGCGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLETKRAA-----
 437 HPPD.Ts IQRVGCMLKDEEGKEYQKGGCGGFGKGNFSELFSIEEYKLTLETKRTA-----

**** * : * : ..****.* : ..****.*

شکل ۲- الف

148 VTE5.Bn RNVISQRLSRKLVHILSGLLFLVSWPIFASKEARYFTALVPLVNCVRLVNVGLSISPSNS
 158 VTE5.Pa RNLIKQSLSRKLVHILSGLLFLVSWPIFSTSTARSYFALLVPLVNCVRLVNVGLSISPSNS
 159 VTE5.Rc RNLLQQLSRKLVHILSGLLFLVSWPIFSTSTEARFYFASVPLVNLRLVNVGLSISPSNS
 150 VTE5.Dz KQLIQQLSRKLVHILSGLLFLVSWPIFSTSTEARFYFASVPLVNLRLVNVGLSISPSNS
 169 VTE5.Sl RKLIEQNL SRKLVHILSGLLFLVSWPIFVSGRARYFAAVVPLVNLRLVNVGLSISPSNS
 76 VTE5.Gs RAPPSPGLSRKLVHILSGLLFLVSWPIFNSPKARYFAAFVPLVNLRLVNVGLSISPSNS
 152 VTE5.Va RNILHQGLSRKLVHILSGLLFLVSWPIFNSPKARYFAAFVPLVNLRLVNVGLSISPSNS
 152 VTE5.Vr RNILHQGLSRKLVHILSGLLFLVSWPIFNSPKARYFAAFVPLVNLRLVNVGLSISPSNS
 158 VTE5.Ca KNILNQGLSRKLVHILSGLLFLVSWPIFNSPKARYFAAFVPLVNLRLVNVGLSISPSNS
 157 VET5.Lc RNVIDQGLSRKLVHILSGLLFLVSWPIFNSSEARYFAAFVPLVNLRLVNVGLSISPSNS
 155 VTE5.Mt RNVIDQGLSRKLVHILSGLLFLVSWPIFNSLEARYFAAFVPLVNLRLVNVGLSISPSNS

.*:..**** * : * : ..****.* : ..****.*

208 VTE5.Bn TLIKSVTREGRPEELLRGPFLYVLLVLSAVFFWRDPSPIGMISLAMMCGGDGIADIMGRK
 218 VTE5.Pa GLIKSVTRDGNPEELLRGPFLYVLLVLSALFFWRDPSPIGMISLAMMCGGDGIADIMGRK
 219 VTE5.Rc GLIKSVTREGNPKELLRGPFLYVLLVLSALVFWRESPTGVISLAMMCGGDGIADIMGRK
 210 VTE5.Dz GLIKSVTREGNPKELLRGPFLYVLLVLSALVFWRESPTGVISLAMMCGGDGIADIMGRK
 229 VTE5.Sl GLIKSVTREGKPEELLRGPFLYVLLVLSAVLFWRESPTGVISLAMMCGGDGIADIVGRK
 136 VTE5.Gs GLIKSVTREGDPEELLRGPFLYVLLVLSALVFWRESPTGVISLAMMCGGDGIADIVGRK
 212 VTE5.Va GLIKSLTREGDPQELLRGPFLYVLLVLSALVFWRESPTGVISLAMMCGGDGIADIVGRK
 212 VTE5.Vr GLIKSLTREGDPQELLRGPFLYVLLVLSALVFWRESPTGVISLAMMCGGDGIADIVGRK
 218 VTE5.Ca GLIKSVTRKGDPEELLRGPFLYVLLVLSALVFWRQSPVVISLAMMCGGDGIADIVGRK
 217 VET5.Lc GLIKSVTRKGDPEELLRGPFLYVLLVLSALVFWRQSPVVISLAMMCGGDGIADIVGRK
 215 VTE5.Mt GLIKSVTRKGDPEELLRGPFLYVLLVLSALVFWRESPTGVISLAMMCGGDGIADIVGRK

.*:..**** * : * : ..****.* : ..****.*

268 VTE5.Bn FGSQKIPYNPRKSLAGSISMFIFGFIISIGLLYYYSSLGYLHMNWETTFTKVAIVSMVAT
 278 VTE5.Pa FGSVKIPYNQSKSWAGSISMLFGLVLSGLMLYYYSSALGYFQLDWSSTLQVAAVSMVAT
 279 VTE5.Rc FGSKIPYNHRKSWAGSISMFVFGFLISGLMLYYYSSALGYFQLDWSSTLQVAAVSMVAT
 270 VTE5.Dz FGSSKLPYNQSKSWAGSISMFVFGFISMGMLYYYSSALGYFQLDWSSTLQVAAVSMVAT
 289 VTE5.Sl FGSTKLPYNQKSLVGLSISMFVFGFLVLSIGMLYYYSSALGYFQLDWSSTLQVAAVSMVAT

196 VTE5.Gs YGSLKIPYNQHKSLAGSMSMLVFGFLVSGMLYYYSVLGHVQLDWASTVPRVAFISFVAT
 272 VTE5.Va YGSIKIPYNQNKSWIGSISMLVFGFLVSGILCYYSVLGHVQLDWASTVPRVAFISLVAT
 272 VTE5.Vr YGSIKIPYNQNKSWVGSISMLVFGFLVSGILCYYSVLGHVQLDWASTVPRVAFISFVAT
 278 VTE5.Ca YGSMKIPYNQKKS WAGSISMLIFGFLVSGMLYYYSALGHVQFDWVNIVPRVALVSIVAT
 277 VET5.Lc YGSIKIPYNQKKS WAGSIAMFIFGFLVSGMLYYYSALGHVEFNWDNILPRVAFVSIVAT
 275 VTE5.Mt YGSMKIPYNQKKS WAGSIAMLIFGFLVSGMLYYYSALGHVQFDLWNIVPRVAFVSFVAT
 .***.*** ** *.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***

299 VTE5.Bn LVESLPITDQIDDNVSVPLATIMAAYVSFGY-
 309 VTE5.Pa VVESLPISVVDDNLSVPFASILAAAYLSFNV-
 310 VTE5.Rc VVESLPITKVVDDNISVPLASMAAAAYFSFSL-
 301 VTE5.Dz VVESLPITKLVDNISVPLATMVAAYLSFRS-
 320 VTE5.Sl MVESLPITGMVDDNISVPLVSMVVASLAFAY-
 227 VTE5.Gs LVESLPITKVIDDNISVPLATMVVAFFTFHH-
 302 VTE5.Va IVESLPITEIVDDNISVPLVTMAVAFFTFH--
 304 VTE5.Vr VVESLPITEIVDDNISVPLVTMAVAFSLFSNS
 309 VTE5.Ca VVESLPITDVDDNISVPLATIAVAFFTFHH-
 308 VET5.Lc VVESLPITEIVDDNISVPLVTMALAFFVFHH-
 306 VTE5.Mt VVESLPITEVDDNISVPLVTMAVFTLTFHH-
 .*****.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***

شکل ۲- ب



166 HPT.Me ILNALDAFYRFSRPHTVIGTALSILSVSLLAVEKLSDLSPFFFTGVLEAVVAALLMNIYI
 169 HPT.Jc VLNALDAFYRFSRPHTVIGTALSILSVSLLAVEKLSDLSPFFFTGVLEAVVAALLMNIYI
 164 HPT.Zj VKNGLDAFYRFSRPHTVIGTALSIVSLLAVEKLSDFSPFFFTGVLEAVVAALFMNIYI
 165 HPT.Qs FKNALDAFYRFSRPHTVIGTALSIVSLLAVEKLSDISPLFFFTGVLEAVVAALFMNIYI
 171 HPT.Lc VKNSLDALYRFSRPHTVIGTALSIVSLLAVEKLSDISPLFFFTGVLEAVVAALFMNIYI
 170 HPT.Mt VKNSLDAFYRFSRPHTVIGTALSIVSLLAAEKLSDISPLFFFTGVLEAVVAALFMNIYI
 178 HPT.Ad VKNSLDAFYRFSRPHTVIGTALSIVSLLAVQKSSDISPLFFFTGVLEAVVAALFMNIYI
 166 HPT.Ct VKNSLDAFYRFSRPHTVIGTALSIVSLLALEKLSDISPMFFFTGVLEAVVAALFMNIYI
 165 HPT.Vr VKNSLDAFYRFSRPHTVIGTALSIVSLLAVEKISDISPLFFFTGVLEAVVAALFMNIYI
 95 HPT.Gs VKNSLDAFYRFSRPHTVIGTALSIVSLLAVEKISDISPLFFFTGVLEAVVAALFMNIYI
 170 HPT.Gm VKNSLDAFYRFSRPHTVIGTALSIVSLLAVDKISDISPLFFFTGVLEAVVAALFMNIYI
 .*****.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***

226 HPT.Me VGLNQLTDIEIDKVNKPYLPLASGEYSVIGVMIAFSMMSFWLGVVGSWPLFWALFV
 229 HPT.Jc VGLNQLSDIEIDKVNKPYLPLASGEYSTGTGVLIVTSFWMISFWLGVVGSWPLFWALFV
 224 HPT.Zj VGLNQLYDIDIDKVNKPYLPLASGEYSVRTGIMIVSSSISMSFFLGWVGSWPLFWALFI
 225 HPT.Qs VGLNQLSDIDIDKVNKPYLPLASGEYSVGTGMIVTFSILSFWLGWVGSWPLFWALFI
 231 HPT.Lc VGLNQLSDVEIDKVNKPYLPLASGEYSFATGAIIVASSILSFWLGWVGSWPLFWALFI
 230 HPT.Mt VGLNQLSDVEIDKVNKPYLPLASGEYSFATGAIIVSSSILSFWLAWVGSWPLFWALFI
 238 HPT.Ad VGLNQLSDIEIDKVNKPYLPLASGEYSIGTGVITIVASFLLSFWLGWVGSWPLFWALFI
 226 HPT.Ct VGLNQLSDVEIDKVNKPYLPLASGEYSFSGTGVITIVASFVLSFWLWCWVGSWPLFWALFV
 225 HPT.Vr VGLNQLSDVEIDKVNKPYLPLASGEYSFSGTGVAVIVSSSILSFGLSWVGSWPLFWALFV
 155 HPT.Gs VGLNQLSDVEIDKVNKPYLPLASGEYSFETGVITIVASFILSFWLGVVGSWPLFWALFV
 230 HPT.Gm VGSNQLFDVEIYKVNKPYLPLASGEYSFETGVITIVASFILSFWLGVVGSWPLFWALFE
 .*****.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***

286 HPT.Me SFVLGTAYSINPLLRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYGRPAVFSRPLI
 289 HPT.Jc SFVLGTAYSINPLLRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYRRAAVFSRPLI
 284 HPT.Zj SFMLGTAYSIKLPLMRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYKRPAVFSRPLI
 285 HPT.Qs SFVLGTAYSINPLLRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYKRPPVFSRPLI
 291 HPT.Lc SFVLGTAYSINPLLRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYKRPAVFSRPLI
 290 HPT.Mt SFVLGTAYSINPLLRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYKRPPVFSRPLI
 298 HPT.Ad SFVLGTAYSINPLLRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYKRPPVFSRPLI
 286 HPT.Ct SFVLGTAYSINPLLRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYKRPAVFSRPLI
 285 HPT.Vr SFVLGTAYSINPLLRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYKRPPVFSRPLI
 215 HPT.Gs SFVLGTAYSINPLLRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYKRPPVFSRPLI
 290 HPT.Gm IFVLGTAYSINPLLRWKRFAVVAAMCILA VRAVIVQLAFYLMQTHVYKRPPVFSRPLI
 .*****.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***

345 HPT.Me FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIEGDKIFGIRSFTVRLGQERVFWT-CISLLEIAYGVAIL
 348 HPT.Jc FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIEGDKIFGIRSFTVRLGQERVFWT-CISLLEIAYGVAIL
 343 HPT.Zj FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIDGDKIYQISFTVRLGQKRVFWI-CISLLEMAYGVAIM
 344 HPT.Qs FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIDGDKIYGIRSFVRLGQQRVFWI-CISLLEMAYTVALL
 351 HPT.Lc FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIEGDRIFGIRSFVRLGQKRVFWILCLPFLELAYGVVALV
 349 HPT.Mt FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIEGDKIFGIRSFVRLGQKRVFWI-CVTLLELAYGVSLV
 357 HPT.Ad FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIEGDRIFGIRSFVRLGQQRVFWI-CVSLLEVAYGVALM
 345 HPT.Ct FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIEGDKIFGIRSFVRLGQKRVFWI-CVSLLEIAYGVVALM
 344 HPT.Vr FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIEGDKIFGIRSFVRLGQKRVFWI-CVTLLEIAYGVALL
 274 HPT.Gs FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIEGDKVFGIQSFSVRLGQKRVFWI-CVTLLEIAYGVALL
 349 HPT.Gm FATAFMSFFSVVIALFKDIPDIEGDKVFGIQSFSVRLSQQKRVFWI-CVTLLEIAYGVALL
 .*****.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***

405 HPT.Me VGAASSTWSKCITVLGHAILASILWNRKASVDLKS KAITS CYMFIWKLKYAEYLLIPL
 408 HPT.Jc VGAASSTWSKCITVVGHAILAAILWNRKASVDLKS KAITS CYMFIWKLKYAEYLLIPL
 403 HPT.Zj VGASSGYFWSKIITVLGHAILASILWNRKASVDLKS KAITS SYMFIWKLKYAEYLLIPL
 404 HPT.Qs VGIASSLWSKLLTVVGHITILASVLWNRKASVDLKS KAITS SYMFIWKLKYAEYLLIPL
 361 HPT.Lc VGVNIFFPME-----
 409 HPT.Mt VGATSSCLWSKIITVLSGHAVLASILFNHAKASVDLKS KAITS SYMFIWKLKYAEYFLIPL
 417 HPT.Ad VGAASPCLSKIITVVGHAAMALILWFRKASVDLKS KAITS SYMFIWKLKYAEYLLIPL
 405 HPT.Ct VGAASPCLSKAITGAGHAVLASLLWYQAKSVDLNTKASITS SYMFIWKLKYAEYLLIPL

404 HPT.Vr VGASSPCLWSKIFTGLGHAVLAAILWYQAKSVDLKSKASITSFYMFIVKLFYAEYLLIPF
 299 HPT.Gs VGAASPCLWSKIFTGARRWVILIN-----
 409 HPT.Gm VGAASPCLWSKIFTGLGHAVLASILWFHAKSVDLKSKASITSFYMFIVKLFYAEYLLIPF

شکل ۲- پ

105 VTE3.Sp LAPICSI----STSRPASQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{PCMT}
 116 VTE3.Ca VAPKCSSSSLSASRPTSQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{Met_10}
 111 VTE3.Lc LVPKCSSSV---SSSRPSSQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{GidB}
 113 VTE3.Mt IVVRSSSSV---SSSRPSSQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{Methyltran}
 107 VTE3.Rc1 LAPSCSI----SSSRPASQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{RetA}
 109 VTE3.Cc VVPKCSV----SASRPSSQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{Met_10}
 108 VTE3.Gm VVPKCSV----SASRPTSQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{MTS}
 108 VTE3.Vr VLPKCSL----SASRPSSQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{GidB}
 108 VTE3.Ac LAPKCSA----SASRPASQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{Methyltran}
 101 VTE3.Cm MAPKCSV----SASRPASQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{RetA}
 108 VTE3.Rc2 IAPKCSL----SASRPASQPRFIQHKKEAFWYRFLSIVYDHVINPGHWTE^{PCMT}

165 VTE3.Sp PADLNDRNLTVDVGGGTGFTTLGIVKHVDAKNVTILDQSPHQLAKAKEKE^{Met_10}
 176 VTE3.Ca PADLNHRDMIVVDVGGGTGFTTLGIVKSVDAKNVTILDQSPHQLAKAKQKEPLKDC^{MTS}
 171 VTE3.Lc PAELTDRNMLVVDVGGGTGFTTLGIVKHVDAKNVTILDQSPHQLAKAKEKE^{GidB}
 173 VTE3.Mt PAELTDRNMIIVVDVGGGTGFTTLGIVKHVDAKNVTILDQSPHQLAKAKEKE^{Methyltran}
 167 VTE3.Rc1 PADLYDRNMTVDVGGGTGFTTLGIVKHVDAKNVTILDQSPHQLAKAKQKEPLKDC^{Ubc_meth}
 169 VTE3.Cc PADLSDRNMIIVLDVGGGTGFTTLGIVKHVDAKNVTILDQSPHQLARAKQKEPLKDC^{Ubc_meth}
 168 VTE3.Gm PADLNDRNMIIVVDVGGGTGFTTLGIVKHVDAKNVTILDQSPHQLAKAKQKEPLKDC^{Ubc_meth}
 168 VTE3.Vr PADLNRRNMLVVDVGGGTGFTTLGIVKHVDAKNVTILDQSPHQLAKAKQKEPLKDC^{Ubc_meth}
 168 VTE3.Ac PADLSDRNMIIVVDVGGGTGFTTLGIVKHVDAKNVTILDQSPHQLAKAKQKEPLKDC^{Ubc_meth}
 161 VTE3.Cm PADLSDRNMIIVVDVGGGTGFTTLGIVKHVDAKNVTILDQSPHQLAKAKQKEALKDC^{Met_10}
 168 VTE3.Rc2 PADLSDRNMLVVDVGGGTGFTTLGIVKHVDAKNVTILDQSPHQLAKAKQKEPLKDC^{RetA}

217 VTE3.Sp GDAEDLPFSTDYADRYVSAGS-----IEYWPDPQRGIREAYRVLKPGGKAC^{Methyltran}
 228 VTE3.Ca GDAEDLPFRTDYADRYVSAGS-----IEYWPDPQRGIKEAYRVLKLGKAC^{Methyltran}
 223 VTE3.Lc GDAEDLPFKTDYADRYVSAGS-----IEYWPDPQRGIKEAYRVLKIGGKAC^{Methyltran}
 225 VTE3.Mt GDAEDLPFRTDYADRYVSAGS-----IEYWPDPQRGIKEAYRVLKFGGKAC^{Methyltran}
 219 VTE3.Rc1 GDAEDLPFPTDYADRYVSAGS-----IEYWPDPQRGIKEAYRVLKIGGKAC^{Methyltran}
 221 VTE3.Cc GDAEDLPFRTDYADRYVSAGS-----IEYWPDPQRGIKEAYRVLKIGGKAC^{Methyltran}
 220 VTE3.Gm GDAEDLPFRTDYADRYVSAGS-----IEYWPDPQRGIKEAYRVLKLGAKAC^{Methyltran}
 220 VTE3.Vr GDAEDLPFRTDYADRYVSAGS-----IEYWPDPQRGIKEAYRVLKLGKAC^{Methyltran}
 228 VTE3.Ac GDAEDLPFCTDYADRYVSAGRICICNFLSIEYWPDPQRGVKEAYRVLKLGKAC^{Methyltran}
 213 VTE3.Cm GDAEDLPFPTDYADRYVSAGS-----IEYWPDPQRGIKEAYRVLKLGKAC^{Methyltran}
 220 VTE3.Rc2 GDAEDLPFPTDYADRYVSAGS-----IEYWPDPQRGIREAYRVLKLGKAC^{Methyltran}

277 VTE3.Sp PTFWLSRFFADVWMLFPKKEEYIEWFEKAGFTDVQLKKIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Methyltran}
 288 VTE3.Ca PTFWLSRFFADVWMLFPTEEEYIEWFQKAGFKDVQLKRIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Ubc_meth}
 283 VTE3.Lc PTFWLSRFFADVWMLFPTEEEYIEWFTKAGFKNVQLKRIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Ubc_meth}
 285 VTE3.Mt PTFWLSRFFADVWMLFPKKEEYIEWFTKAGFKDVQLKRIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Methyltran}
 279 VTE3.Rc1 PTFWLSRFFADVWMLFPKKEEYIEWFQKAGFKDVQLKRIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Methyltran}
 281 VTE3.Cc PTFWLSRFFADVWMLFPKKEEYIEWFQKAGFKDVQLKRIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Methyltran}
 280 VTE3.Gm PTFWLSRFFADVWMLFPKKEEYIEWFQKAGFKDVQLKRIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Methyltran}
 280 VTE3.Vr PTFWLSRFFADVWMLFPKKEEYIDWFQKAGFKDVQLKRIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Methyltran}
 288 VTE3.Ac PTFWLSRFFADAWMLFPKKEEYIEWFQKAGFKDVQLKRIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Methyltran}
 273 VTE3.Cm PTFWLSRFFADVWMLFPKKEEYIQWFKNAGFTDVQLKRIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Methyltran}
 280 VTE3.Rc2 PTFWLSRFFADVWMLFPKKEEYIEWFQKAGFKDVQLKRIGPKWYRGVRRHGLIMGCS^{Methyltran}

337 VTE3.Sp VKSTPGDSPLQLGPKAEDVTKPVNPFVFLMRFLLGATAATYVVLVPIYMWVKDQV^{Methyltran}
 348 VTE3.Ca VKPASGDSPLQLGPKKEEDVEKPIKPVVFLRFLGTLAAAWFVLIPIYMWKDKQIV^{Methyltran}
 343 VTE3.Lc VKPASGDSPLQLGPKKEEDVEKPVDPFVFLPRFILGVLAAAWFVSLVPIYMWKDKQIV^{Methyltran}
 345 VTE3.Mt VKPASGDSPLQLGPKKEEDVEKPVNPLVFLRFLGTLAAASWVLIPIYMWKDKQIV^{Methyltran}
 339 VTE3.Rc1 VKPLSGDSPLQLGPKAEDVKKPVNPFVFLMRFLLGATAATYVVLVPIYMWKDKQIV^{Methyltran}
 341 VTE3.Cc VKPASGDSPLQLGPKKEEDVEKPVNPFVFLMRFLLGATAATYVVLVPIYMWKDKQIV^{Methyltran}
 340 VTE3.Gm VKPASGDSPLQLGPKKEEDVEKSVNPFVFLRFLGALAAATWVFLVPIYMWKDKQIV^{Methyltran}
 340 VTE3.Vr VKPASGDSPLQLGPKKEEDVEKPVNPFVFLMRFLLGALAAATWVFLVPIYMWKDKQIV^{Methyltran}
 348 VTE3.Ac VKPASGDSPLQLGPKAEDVSKPTNPFVFLMRFILGAMAATYVVLVPIYMWKDKQIV^{Methyltran}
 333 VTE3.Cm VKPSSGDSPLQLGPKKEEDVSKPVNPFVFLRFLGAMAATYVVLVPIYMWKDKQIV^{Methyltran}
 340 VTE3.Rc2 VKPASGDSPLQLGPKKEEDVSKPVNPFVFLRFLGAMAATYVVLVPIYMWKDKQIV^{Methyltran}

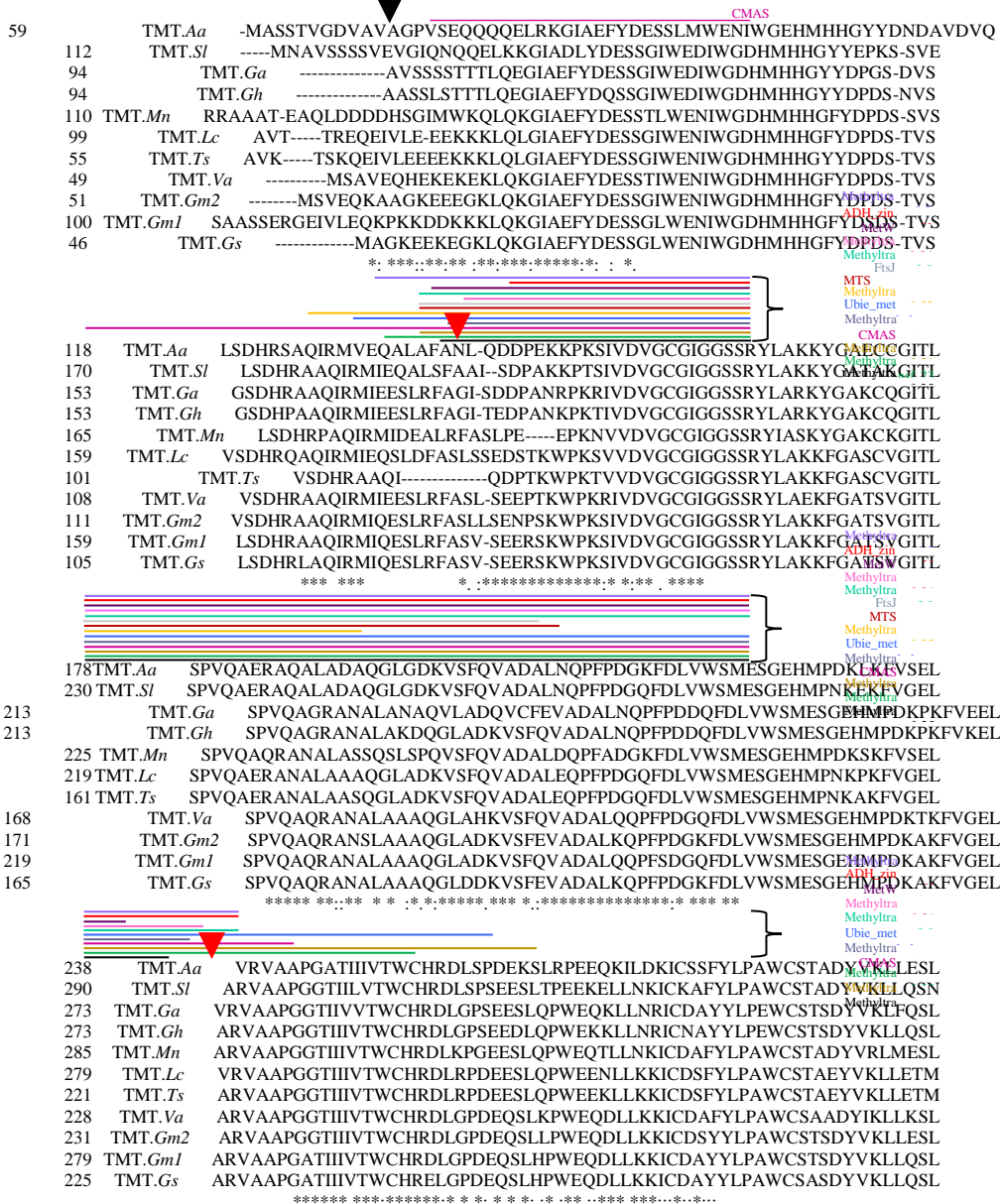
شکل ۲- ت

94 TC.Bn SIPRASASISTNSDSSPSGNAINSEAISVKPVYVTPPPNRELRTPHSGYHFDGTARK^{Tocopher}
 84 TC.Mt --I-----AHNSHTEQQSQSSKPIYSPTPPNRQLRTPHSGYHFDGTARKFF
 96 TC.Lc --ALNSV----S---SHTDPIEDNQSQSPKPIYSPTPPNRQLRTPHSGYHFDGTARKFF
 92 TC.Jp --A--H---N---SHTDPIQDKQSQSSKPIYSPTPPNRQLRTPHSGYHFDGTARKFF
 56 TC.Ad --ATP-----KARPILCTAKTQSQPTPPPTYSPTPPNRQLRTPHSG-----SARKFF
 97 TC.Vr --AHASV----SDTVPLQNT-PQTTPSLTVKPTYSPTPPNRDLRTPHSGYHFDGTARKFF
 85 TC.Gs --ARSFF----SDTVPIDNK-EKEQLVTSVKPTYSPTPPNRHLRTPHSGYHFDGTRKFF
 88 TC.Cc --VRSSV----SDTVPIDKN-QKEQ----LKPNSYSPTPPNRDLRTPHSGYHFDGTARKFF

454 TC.Mt QACKDTCFGILKLLWERRYDGSKGKILDDVTSDMAALEVGGGPWFNTWKGKTS-TPPVL
 466 TC.Lc QACKDTCFGNLKLLWERRYDGSKGKILDDVKSDMAALEVGGGPWFNTWKGKTS-TPPVL
 511 TC.Tp QACKDTCFGILKLLWERRYDGSKGKILDDVTSDMAALEVGGGPWFNTWKGKTS-TPPVL
 426 TC.Ad PACKDTCFGILKLIWERRYDGSKGKILDDVSSNMAALEVGGGPWFSPWKQTS-TPAVL
 467 TC.Vr PACKDTCFGILKLMWERRYDGSKGKILNVSNNMAALEVGGGPWFNTWKGKTS-TPAAL
 456 TC.Gs PACKDTCFGDLKLMWERRYDGSKGKILDDVSSNMAALEVGGGPWFNTWKGKTS-TPAAL
 458 TC.Cc PACKDTCFGILKLLWERRYDGSKGKILDDVSSNMAALEVGGGPWFNTWKGKTS-TPAVL
 477 TC.Mn PVCKDTCFAVLKLIWERRKFDGSGKGKILDDVTSDMAAAEVGGGPWFNTWKGKTA-TPESV
 466 TC.Pp PACKDTCFGELKLIWERRYDGSKGKILDDVKSNNMAAEVGGGPWFNTWKGKTS-TPELL
 476 TC.Jc PACKDTCFGDLKLIWERRYDGTGKMILDDVTSDMAAEVGGGPWFNTWKGKTT-TPELL

490 TC.Bn KRSLQVPLDLESVFGWVPFFKPPGL-
 479 TC.Mt SRAIGLPVDVDGLYNLFLFKPPGL-
 492 TC.Lc QRAIGLPIDVESIYNLFLFKPPGFL
 494 TMT.Ga -----AVSSSTTLQEGIAEFYDESSGIWEDIWGDHMHGYYDPGS-DVS
 451 TC.Ad KRALELPIDVDGFFNAVPLFKPPGL-
 492 TC.Vr RSALQLPIDVDSIFNLVPLFKPPGL-
 481 TC.Gs SRVLELPIDVEGIFNPVPLFKPPGL-
 483TC.Cc SRALQLPIDVEGIFNNIPLFKPPGL-
 502 TC.Mn RQALNVPVDVEGFFNLAFFKPPGL-
 491 TC.Pp SRALRVPVDVEGAYNLVPLFKPPGL-
 501 TC.Jc NRALNVPVDVEGIFNPLFKPPGL-

شکل ۲- ث



298 TMT.Aa SLQDIKADWSGNVAPFWPAVIKTSLSWKGITSLLRSGWKTIRGAMVPLMIEGFKKDII
 350 TMT.Sl SLQDIKAEDWSENVAPFWPAVIKTSLSWKGFTSVLRSGWKTIKAAALAMPLMIEGYKKGLI
 333 TMT.Ga SLQDIKAGDWTENVAPFWPAVIRSAITWKGFTSLLRSGLKTIKGALVPLMIEGFQKGV
 333 TMT.Gh SLQDIKAADWTENVAPFWPAVIRSAITWKGFTSLLRSGLKTIKGALVPLMIQGYQKGV
 345 TMT.Mn SLQDIKAADWSQYVAPFWPAVIRSAITWKGFTSLLRAGRKTIRGALAMPLMIEGYKKDLI
 339 TMT.Lc SLQDIKADWSPFVAPFWPAVIRSAITWKGFTSILRSGLKTIKGALAMPLMIEGFRRKGV
 281 TMT.Ts SLQDIKADWSPFVAPFWPAVIRSAITWKGFTSILRSGLKTIKGAFAMPLMIEGFRRKGV
 288 TMT.Va SLQDIKADWSPFVAPFWPAVIRSAITWNGLTSLLRSGVKTIKGALAMPLMIKGYKKGLI
 291 TMT.Gm2 SLQDIKADWSPFVAPFWPAVIRSAITWNGLTSLLRSGLKTIKGALAMPLMIKGYKKDLI
 339 TMT.Gm1 SLQDIKADWSPFVAPFWPAVIRSAITWNGLTSLLRSGVKTIKGALAMPLMIEGYKKDLI
 285 TMT.Gs SLQDIKADWSPFVAPFWPAVIRSAITWNGLTSLLRSGLKAIGALAMPLMIKGYKKDLI
 ***** ** ***** ** ***** ** ***** ** ***** ** ***** ** ***** ** ***** ** *****

309 TMT.Aa KFSIITCRKPE----
 361 TMT.Sl KFAIITCRKPE----
 345 TMT.Ga KFAIITCRKPAE----
 344 TMT.Gh KFAIITCRKPE----
 357 TMT.Mn KFAIITCRKPHQ----
 351 TMT.Lc KFAIITCRKPEN----
 297 TMT.Ts KFSIITCRKPEQEGQ
 299 TMT.Va KFSIITCRKPE----
 302 TMT.Gm2 KFSIITCRKPE----
 350 TMT.Gm1 KFAIITCRKPE----
 296 TMT.Gs KFAIITCRKPE----
 ** ** ** **

شکل ۲- ج

شکل ۲- هم‌ردیفی چندگانه توالی پروتئین‌های HPPD (الف)، VTE5 (ب)، HPT (پ)، VTE3 (ت)، TC (ث) و γ -TMT (ج) در عدس با ده پروتئین مشابه دیگر توسط برنامه Clustal Omega. ستاره‌ها معرف اسیدآمینه‌های حفاظت‌شده در بین تمام پروتئین‌های گیاهی هستند و شکاف‌ها نشان‌دهنده هم‌ردیفی بهینه بین تمام توالی‌های مقایسه شده می‌باشد. با استفاده از نرم‌افزار InterProScan محدوده اسیدآمینه دمین‌ها، زیردمین‌ها و خانواده‌های پروتئینی به ترتیب توسط مثلث‌های قرمز و آبی، سبز و سیاه و موتیف‌ها توسط خطوط رنگی با استفاده از ابزار MOTIF Search مشخص شده‌اند.

Figure 2. Multiple sequence alignment of HPPD (a), VTE5 (b), HPT (c), VTE3 (d), TC (e) and γ -TMT (f) in lentil with ten similar proteins by Clustal Omega program. The asterisks indicate the residues conserved among all the aligned plant proteins. Gaps demonstrate optimal alignment among all compared sequences. Using the InterProScan software, the amino acid range of domains, subdomains and protein families are shown respectively by the red, blue, green and black triangles. Motifs are marked by color lines using the MOTIF Search tool.

زیردمین Glyoxalase/fosfomycinresistance/dioxygenase از اسیدآمینه ۲۱۴ تا ۳۶۸ مشخص شد (شکل ۲- الف). پروتئین VTE3 در محدوده اسیدآمینه ۲۶۷-۷۶ متعلق به بالاخانواده S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase می‌باشد و دارای یک دمین از اسیدآمینه ۷۳ تا ۲۸۲ با دو عملکرد SAM-binding و Methyltransferase type 11 و methyltransferase MPBQ/MBSQ است (شکل ۲- ت). دامنه اسیدآمینه ۳۵۰-۶۸ در پروتئین γ -TMT همانند پروتئین VTE3 مربوط به بالاخانواده S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase می‌باشد و این پروتئین دارای یک دمین حفاظت‌شده Methyltransferase type 11 از اسیدآمینه ۱۳۳ تا ۲۳۱ است (شکل ۲- ج). همچنین برنامه MOTIF Search نشان داد که پروتئین‌های HPPD، HPT، VTE3، TC و γ -TMT به ترتیب سه،

نتایج بررسی هومولوژی بین پروتئین‌های شناسایی شده و ده پروتئین مشابه آن‌ها بعد از هم‌ردیفی با برنامه Clustal Omega و با E-value کمتر از یک نشان داد که پروتئین‌های پیش‌بینی شده HPPD، VTE5، HPT، VTE3، TC و γ -TMT در گیاه عدس، به ترتیب هومولوژی ۱۰۰، ۹۹، ۱۰۰، ۸۰، ۸۲ و ۱۰۰ درصدی با همین پروتئین‌ها در گیاهان نخود، نخود، یونجه، یونجه، شبدر، شبدر دارند (شکل ۳).

جهت پیش‌بینی حضور دمین‌های عملکردی پروتئین‌های مورد نظر و خانواده‌های پروتئینی آن‌ها نیز از برنامه InterProScan استفاده شد. برای پروتئین HPPD مشخص شد از اسیدآمینه نه تا ۴۳۳ متعلق به بالاخانواده Glyoxalase/Bleomycin resistance protein/Dihydroxybiphenyl dioxygenase است و دو دمین Vicinal oxygen chelate (VOC) در محدوده اسیدآمینه ۱۳۷-۳۳ و ۳۷۴-۲۱۴ و یک

یک، یک، ۱۲ و ۱۵ موتیف حفاظت‌شده دارند که در جدول ۲ گفته شده است و عملکرد مولکولی پروتئین‌های پیش‌بینی‌شده و فرایندهای زیستی که پروتئین‌ها

در آن‌ها دخیل‌اند برنامه‌ی InterProScan در جدول ۳ خلاصه شده است.

جدول ۳- تعیین عملکرد مولکولی و فرایندهای زیستی با برنامه InterProScan

Table 3. Determination of the molecular function and biological process of proteins with InterProScan program

Protein	Biological Process	Molecular Function
HPPD	metabolic - Aromatic amino acid family process - Oxidation-reduction process	-4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase activity - Oxidoreductase activity, acting on single donors with incorporation of molecular oxygen
VTE5	None predicted.	None predicted.
HPT	None predicted.	Transferase activity, transferring alkyl or aryl (other than methyl) groups
VTE3	Methylation	Methyltransferase activity
TC	None predicted.	Tocopherol cyclase activity
γ -TMT	Methylation	Methyltransferase activity

این موضوع حاکی از آن است که به این پروتئین فقط در زمان خاصی در سلول نیاز است و اگر شاخص ناپایداری پایین‌تر از ۴۰ باشد، پروتئین پایدارتر است و به‌صورت دائم مورد استفاده قرار می‌گیرد (جدول ۴).

ترکیب اسیدهای آمینه در ساختار اولیه پروتئین‌ها نشان داد که بالاترین فراوانی متعلق به لوسین، سرین، گلیسین و کمترین فراوانی متعلق به دو اسید آمینه سلنوسیستین و پیرولیزین است. شاخص ناپایداری بالای ۴۰ نشان می‌دهد که پروتئین عمر بالایی ندارد.

جدول ۴- تعیین خصوصیات ساختار اولیه پروتئین‌ها با ابزار ProtParam

Table 4. Characterization of primary structure of proteins with the ProtParam tool

Protein	Mw (KDa)	pI	aa composition (%)		number of charged residues		II	GRAVY
			max	Min	negatively	positively		
HPPD	48.11943	5.31	Ser (9)	Pyl & Sec (0)	58	45	41.54	-0.363
VTE5	34.47431	9.66	Leu (11.7)	Pyl & Sec (0)	20	29	41.32	0.380
HPT	40.06685	8.83	Leu (11.6)	Pyl & Sec (0)	23	29	44.66	0.467
VTE3	38.70770	9.09	Leu (8.4)	Pyl & Sec (0)	37	45	39.59	-0.242
TC	55.24714	6.34	Gly (9.1)	Pyl & Sec (0)	51	48	36.58	-0.463
γ -TMT	39.04769	6.27	Ser (10)	Pyl & Sec (0)	40	37	56.82	-0.148

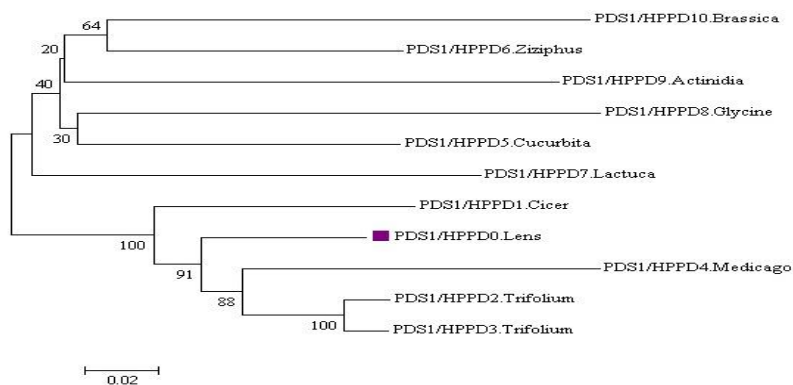
که به‌صورت محلول در سیتوپلاسم است، پنج پروتئین دیگر در فضای بین دو غشا پلاستیدها قرار می‌گیرند (جدول ۵).

پیش‌بینی نتایج حاصل از مکانیزم محل قرارگیری پروتئین‌ها در سلول‌های یوکاریوتی برنامه آنالیز DeepLoc-1.0 نشان داد که به غیر از پروتئین HPPD

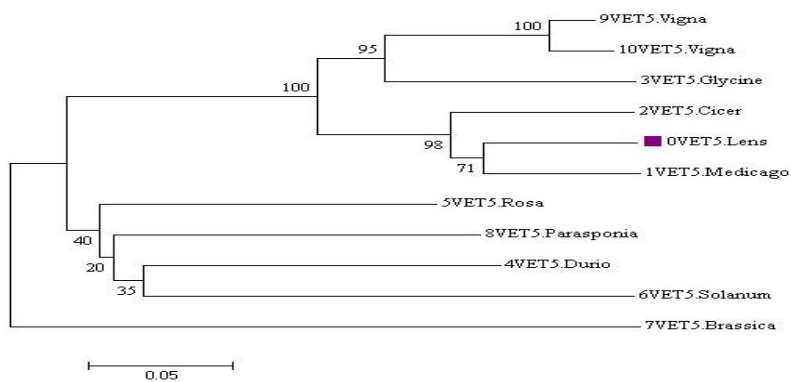
جدول ۵- تعیین محل استقرار پروتئین‌ها در سلول با برنامه DeepLoc-1.0

Table 5. Determination of proteins subcellular localization with DeepLoc-1.0 program

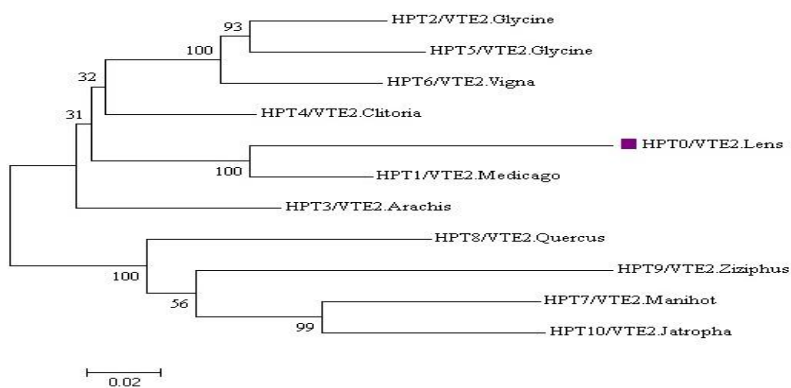
Protein	Localization	Type
HPPD	Cytoplasm	Soluble
VTE5	Plastid	Membrane
HPT	plastid	Membrane (integral component of membrane)
VTE3	Plastid	Membrane
TC	Plastid	Membrane
γ -TMT	Plastid	Membrane



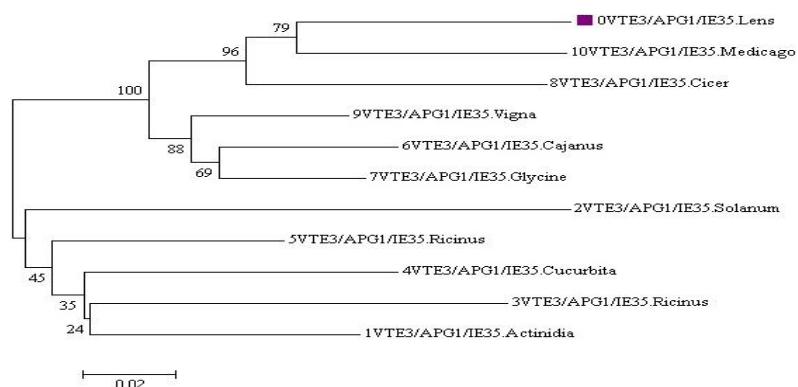
شکل ۳-الف



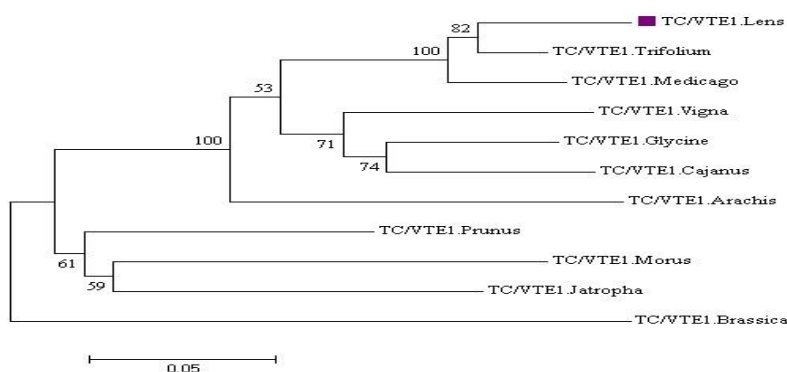
شکل ۳-ب



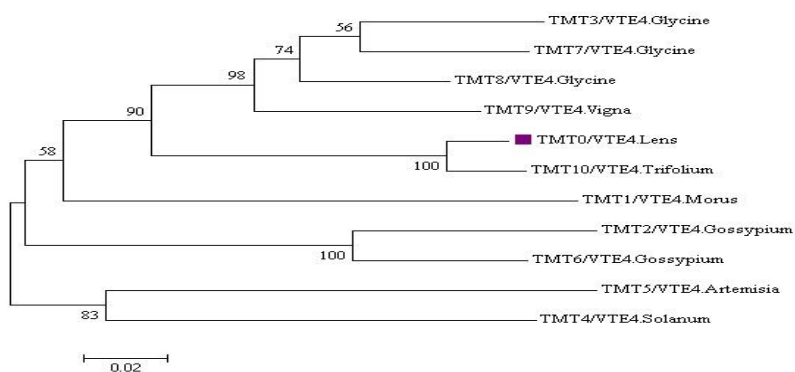
شکل ۳-پ



شکل ۳-ت



شکل ۳-ث



شکل ۳-ج

شکل ۳- آنالیز فیلوژنتیکی پروتئین‌های HPPD (الف)، VTE5 (ب)، HPT (پ)، VTE3 (ت)، TC (ث) و γ -TMT (ج) در عدس که توسط نرم افزار MEGA 7 با مربع‌های قرمز مشخص شده‌است.

Figure 3. Phylogenetic analysis of HPPD (a), VTE5 (b), HPT (c), VTE3 (d), TC (e) and γ -TMT (f) in lentil, by the MEGA 7 software with red squares is shown.

REFERENCES

- Arango, Y. & Heise, K. P. (1998). Localization of α -tocopherol synthesis in chromoplast envelope membranes of *Capsicum annuum* L. fruits. *Journal of Experimental Botany*, 49(324), 1259-1262.
- Bao, R., Huang, L., Andrade, J., Tan, W., Kibbe, W. A., Jiang, H., & Feng, G. (2014). Review of current methods, applications, and data management for the bioinformatics analysis of whole exome sequencing. *Cancer Informatics*, 13, CIN-S13779.

- Bramley, P. M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F. J., Manios, Y., Roxborough, H. E., Schuch, W., Sheehy, P. J. & Wagner, K. H. (2000). Vitamin E: A critical review. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 80, 913-938.
- Fryer, M. J. (1993). Evidence for the photoprotective effects of vitamin E. *Photochemistry and Photobiology*, 58(2), 304-312.
- Gill, R. W. & Sanseau, P. (2000). Rapid in silico cloning of genes using expressed sequence tags (ESTs). *Biotechnology Annual Review*, 5, 25-44.
- Hugly, S. & Somerville, C. (1992). A role for membrane lipid polyunsaturation in chloroplast biogenesis at low temperature. *Plant Physiology*, 99(1), 197-202.
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Mène-Saffrané, L. & DellaPenna, D. (2010). Biosynthesis, regulation and functions of tocochromanols in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(5), 301-309.
- Mene-Saffrane, L. & Pellaud, S. (2017). Current strategies for vitamin E biofortification of crops. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 189-197.
- Muehlbauer, F. J., Cho, S., Sarker, A., McPhee, K. E., Coyne, C. J., Rajesh, P. N. & Ford, R. (2006). Application of biotechnology in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stress. *Euphytica*, 147(1-2), 149-165.
- Ruiz-Sola, M. Á., Coman, D., Beck, G., Barja, M. V., Colinas, M., Graf, A. & Grussem, W. (2016). Arabidopsis Geranylgeranyl Diphosphate Synthase 11 is a hub isozyme required for the production of most photosynthesis-related isoprenoids. *New Phytologist*, 209(1), 252-264.
- Spitzer, V. & Schweigert, F. (2007). Vitamin basics. The facts about vitamins in nutrition. *DSM Nutritional Products Ltd, Germany*.
- Srivastava, R. P. & Vasishtha, H. (2012). Saponins and lectins of Indian chickpeas (*Cicer arietinum*) and lentils (*Lens culinaris*). *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*, 25(1), 44-47.
- Valentin, H. E., Lincoln, K., Moshiri, F., Jensen, P. K., Qi, Q., Venkatesh, T. V., Karunanandaa, B., Baszsis, S. R., Norris, S. R., Savidge, B., Gruys, K. J. & Last, R. L. (2006). The Arabidopsis vitamin E pathway gene5-1 mutant reveals a critical role for phytyl kinase in seed tocopherol biosynthesis. *The Plant Cell*, 18(1), 212-224.
- Vom Dorp, K., Hölzl, G., Plohm, C., Eisenhut, M., Abraham, M., Weber, A. P. M., Hanson, A. D. & Dörmann, P. (2015). Remobilization of phytyl from chlorophyll degradation is essential for tocopherol synthesis and growth of Arabidopsis. *The Plant Cell*, 27(10), 2846-2859.
- Yadav, S. S., McNeil, D. & Stevenson, P. C. (Eds.). (2007). *Lentil: An ancient crop for modern times*. Springer Science & Business Media.