



## Original Research Paper

## Phylogenetic, molecular and evolutionary study of PALM gene in sheep

Masoumeh Zare <sup>1</sup>, Abbas Safari <sup>1</sup>, Misagh Moridi <sup>1\*</sup>, Mahdi Nosratjou <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

<sup>2</sup>Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran

---

**Key Words**

Paralemmin Protein  
Protein structures  
Bioinformatics analysis  
Evolutionary process

---

**Abstract**

**Introduction:** Paralemmin, novel lipid-anchored membrane protein, involved in cell process formation.

**Materials & Methods:** In this study nucleotide and amino acid sequences of PALM gene in sheep and several other species, were obtained from the NCBI and BLAST databases. MotifScan software and Conserved Domain Database (CDD) to identify domains; PANTHER and ProDom servers to recognize motifs and potential performance of the Paralemmin protein and STRING software were applied to detect protein interactions with other proteins. Prediction of three-dimensional structure of protein was performed via I-TASSER and 2PHYRE software, and comparing the sequences and drawing phylogenetic tree, MEGA6 software was used.

**Results:** This protein has 3 motifs, which is involved in the regulation of cell shape, cytoskeleton organization and binding to protein kinase A and D3 Dopamine receptor. Prediction results of secondary and tertiary structures revealed the existence of coiled helix structure and its interaction with other proteins. Also phylogenetic results showed that under high selection pressure during the evolutionary process, PALM3 isoforms in all species have been isolated early rather than the other isoforms.

**Conclusion:** Considering to existence of three motifs in sequence of Paralemmin protein and its structural similarity with A chain of Tropomyosin protein in sheep, this protein plays key role in interaction with other proteins in the level of cell membrane.

---

\* Corresponding Author's email: [moridimisagh64@gmail.com](mailto:moridimisagh64@gmail.com)

Received: 12 January 2021; Reviewed: 16 February 2021; Revised: 19 April 2021; Accepted: 19 May 2021

(DOI): [10.22034/AEJ.2021.278971.2486](https://doi.org/10.22034/AEJ.2021.278971.2486)

## مقاله پژوهشی

## مطالعه فیلوژنی، مولکولی و تکاملی ژن PALM در گوسفند

معصومه زارع<sup>۱</sup>، عباس صفری<sup>۱</sup>، میثاق مریدی<sup>۱\*</sup>، مهدی نصرتجو<sup>۲</sup><sup>۱</sup> گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران<sup>۲</sup> گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

## چکیده

## کلمات کلیدی

**مقدمه:** هدف از این پژوهش بررسی ساختار مولکولی و تکاملی ژن پارالمین در گوسفند بود.

پروتئین پارالمین

ساختارهای پروتئینی

آنالیز بیوانفورماتیکی

روند تکاملی

**مواد و روش‌ها:** برای این منظور توالی نوکلئوتیدی و اسیدآمینهای ژن PALM در گوسفند و چندین گونه دیگر از بانک اطلاعاتی NCBI و BLAST به دست آمد. دامین‌های پروتئینی توسط نرم‌افزار MotifScan و CDD، و موتیف‌ها و عملکرد احتمالی پروتئین پارالمین در گوسفند توسط نرم‌افزارهای ProDam و PANTHER، و اثرات متقابل پروتئین پارالمین با دیگر پروتئین‌ها توسط نرم‌افزار STRING شناسایی شدند. پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین با استفاده از نرم‌افزارهای I-TASSER و PHYRE ۲ و جهت ترسیم درخت فیلوژنی، از نرم‌افزار MEGA6 استفاده شد.

**نتایج:** نتایج نشان داد که این پروتئین دارای ۳ موتیف دخیل در تنظیم شکل سلول و سازمان‌دهی اسکلت سلولی و باند شدن با پروتئین کیناز A و گیرنده دوپامین D3 هست. بررسی‌های بیوانفورماتیکی نشان داد که عملکرد این پروتئین در مسیرهای انتقال سیگنال گزارش شده است، که توسط یک سیگنال در تعامل با یک گیرنده، باعث تغییر در سطح یا فعالیت یک پیامبر ثانویه و در نهایت ایجاد تغییر در عملکرد سلول می‌شود. نتایج پیش‌بینی ساختار دوم و سوم پروتئین پارالمین، وجود مارپیچ‌های آلفا را نشان داد که موتیف‌های موجود در ساختار آن منجر به نقش این پروتئین در تعامل با دیگر پروتئین‌ها می‌شود. روند تکاملی ژن پالم و ایزوفرم‌های آن در گونه‌های مختلف نشان داد که ایزوفرم PALM3 در طی روند تکاملی، زودتر از دیگر ایزوفرم‌ها جدا شده است.

**بحث و نتیجه‌گیری:** با توجه به وجود سه موتیف در توالی پروتئین پارالمین و مشابهت ساختاری آن با زنجیره A پروتئین تروپومیوزین در گوسفند، این پروتئین نقش مهمی را در تعامل با دیگر پروتئین‌ها در سطح غشای سلولی ایفا می‌کند.

## مقدمه

جدول ۱: شماره شناسایی برای توالی نوکلئوتیدی و اسید آمینه‌ای ایزوفرم‌های پروتئین پارالمین در گونه‌های مختلف که در این مطالعه استفاده گردید

شماره دسترسی	توالی پروتئین		ایزوفرم	گونه
	توالی DNA	توالی پروتئین		
Gi2399855639	Np_075617.3		PALM1	موش
Gi93141031	Np_002570.2		PALM1	انسان
Gi612339351	Np_001161162.2		PALM1	ماکیان
Gi741933511	XP_010805572.1		PALM1	گاو
Gi426230941	XP_004009517.1		PALM1	گوسفند
Gi548475159	XP_005683344.1		PALM1	بز
Gi84490429	Np_001033725.1		PALM1	خوک
Gi560899761	Xp_006176305.1		PALM1	شتر
GI82617626	NP_001032370.1		PALM2	انسان
Gi27777697	Np_766456.1		PALM2	موش
GI743747368	XP_010968395.1		PALM2	شتر
GI545204412	Xp_005606068.1		PALM2	اسب
GI323690134	NP_001191124.1		PALM2	خوک
GI741936876	XP_010806533.1		PALM2	گاو
GI426222140	XP_004005259.1		PALM2	گوسفند
GI528906821	XP_005198905.1		PALM3	گاو
GI222537747	NP_001138500.1		PALM3	انسان
GI124430707	NP_083153.1		PALM3	موش
GI548471895	XP_005682317.1		PALM3	بز
GI426230474	XP_004009297.1		PALM3	گوسفند
GI54522105	XP_005611947.1		PALM3	اسب
GI545809027	XP_003123409.3		PALM3	خوک
GI743717525	XP_010952455.1		PALM3	شتر
GI478247093	NP_001264481.1		PALMD	ماکیان
GI78045541	NP_00103251.1		PALMD	گاو
GI89363042	NP_075734.3		PALMD	موش
GI743710529	XP_010948737.1		PALMD	شتر
GI84579917	NP_001033734.1		PALMD	خوک
GI548458983	XP_005678112.1		PALMD	بز
GI426216030	XP_004002272.1		PALMD	گوسفند

شناسایی و پیش‌بینی دامین‌ها و عملکرد پروتئین پارالمین: توالی‌های پروتئینی با مقایسه توالی نوکلئوتیدی ژن مورد نظر با پایگاه‌های اطلاعاتی NCBI، BLAST و UniProtKB به دست آمدند. به منظور شناسایی دامین‌های پروتئینی از وبسایت MotifScan ([https://myhits.sib.swiss/cgi-bin/motif\\_scan](https://myhits.sib.swiss/cgi-bin/motif_scan))، CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>) و pfam (<http://pfam>)

پارالمین به‌عنوان یک فسفو پروتئین در غشاء پلاسمایی دینامیک در روند شکل‌گیری سلول نقش دارد (۱). پارالمین یک پروتئین متصل به لیپید و از نوع اتصال یافته به سطح سیتوزولی غشای پلاسمایی توسط میریستات هست که با پیوند کووالانسی به اسیدهای چرب مانند میریستیک و پالمیتیک به دو طرف غشای پلاسمایی متصل می‌شود. این اتصال بدین‌صورت است که اسیدهای چرب مانند پالمیتیک و میریستیک موجود در سطح سیتوپلاسمی غشای سلولی از طریق خوشه سیستئین انتهایی کربوکسیل (موتیف CaaX) به اسید آمینه گلیسین انتهایی آمین پروتئین پارالمین متصل می‌شود (۲) با استفاده از آنالیز میکرواری، ژن این پروتئین از ژن‌هایی که به‌وسیله 6PAX در عدسی موش تنظیم می‌شوند توسط Chauhan و همکاران شناسایی شد (۳). Kutzleb و همکاران، به بررسی موقعیت سلولی و اندامکی پارالمین پرداختند و آن را یک پروتئین درگیر در کنترل شکل سلول در غدد آدرنال، مغز و کلیه موش معرفی کردند (۴). مطالعات فیلوژنتیک متعددی جهت مطالعه جمعیت‌های قوچ و میش در مناطق مختلف ایران صورت گرفته است (۵، ۶). اطلاعات اندکی در مورد ساختار و عملکرد پروتئین پارالمین در گوسفند و گاو وجود دارد، بنابراین هدف از این مطالعه ترسیم ساختارهای پروتئینی و پیش‌بینی عملکرد پروتئین و همچنین بررسی روند تکاملی ایزوفرم‌های مختلف آن با استفاده از تکنیک‌های بیوانفورماتیکی در گونه‌های مختلف حیوانات از جمله گوسفند و مقایسه آن‌ها با برخی از موجودات مختلف هست.

## مواد و روش‌ها

## جستجوی پایگاه‌های داده و شناسایی توالی اسید آمینه‌ای

**PALM در گوسفند و گاو:** با استفاده از بانک اطلاعاتی NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) BLAST و (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)، توالی نوکلئوتیدی و اسید آمینه‌ای ژن PALM (<https://www.uniprot.org/>) در گوسفند و چندین گونه دیگر (نام گونه‌ها به‌همراه شماره دسترسی در جدول ۱ ذکر شده است) به دست آمد. هم‌چنین به‌منظور تفسیر منطقی داده‌های مربوط به توالی پروتئینی و ایجاد کاتالوگ جامعی از اطلاعات پروتئینی از پایگاه اطلاعاتی UniProtKB استفاده و شناسایی ترکیبات اسید آمینه‌ای این پروتئین در گوسفند، در وبسایت GPMaw lite (<https://web.gpmaw.com/>) ProtParam و (<https://alphalyse.com/gpmaw/>) موجود در SwissProt (<https://www.expasy.org/protparam/>) موجود در (<https://www.uniprot.org/statistics/Swiss-Prot>) بررسی شد.

تمامی گونه‌ها و ایزوفرم‌ها ذکر شده است). جهت مقایسه توالی‌ها، آنالیز فیلوژنی و ترسیم درخت فیلوژنی، از نرم‌افزار MEGA6 (۸) و از روش Maximum Likelihood استفاده شد. ارزش‌های بوت استرپ با استفاده از ۱۰۰ بار نمونه‌گیری مجدد به دست آمده‌اند.

## نتایج

### شناسایی توالی ژن PALM در حیوانات مزرعه‌ای: مقایسه

ژن PALM در موجودات مختلف نشان داد که تعداد اگزون و اینترون در اکثر موجودات برابر است و هم‌چنین مقایسه موقعیت کروموزومی آن‌ها نشان داد که دارای طول تقریباً یکسانی هستند که مشخصات ژن PALM در برخی از گونه‌های مزرعه‌ای در جدول ۲ ارائه شده است. هم‌چنین با جستجو در پایگاه داده‌ای ژنوم با استفاده از توالی اسیدآمینه‌ای، این ژن در انسان و موش حاوی ۴ ایزوفرم (PALM1، PALM2، PALM3، PALMD) و در اکثر حیوانات مزرعه‌ای مانند گاو و گوسفند حاوی ۳ ایزوفرم (PALM2-akap2، PALMD و PALM) است. پروتئین پارالمین در اکثر موجودات دارای ۳۸۶ اسیدآمینه است که سه اسیدآمینه آخر (۳۸۴-۳۸۶) در طی بلوغ پروتئین حذف می‌شود و پروتئین بالغ دارای ۳۸۳ اسیدآمینه است. تغییرات پس از ترجمه این پروتئین که تغییر شیمیایی اسیدآمینه‌های منفرد در پلی‌پپتیداست، شامل استیلاسیون، افزوده شدن لیپید به پروتئین، متیلاسیون، فسفوریلاسیون و پرینیلایسون هستند (در جدول ۳ تغییرات پس از ترجمه اسیدآمینه‌ای پروتئین پارالمین در موجودات مختلف نشان داده شده است). شناسایی ترکیبات اسیدآمینه‌ای این پروتئین در گوسفند، در وب‌سایت GPMaw lite و ProtParam موجود در SwissProt، نشان داد، که این پروتئین دارای وزن مولکولی ۴۲۰۶۸/۶ دالتون، شاخص ناپایداری ۶۶/۱۴ و نیمه عمر ۳۰ ساعت در سلول پستانداران هست.

(pfam.xfam.org) استفاده شد. سپس برای شناسایی توالی‌های مشترک و توافقی (موتیف) در بین خانواده‌های پروتئینی و شناسایی عملکرد احتمالی پروتئین پارالمین از سرور ProDam (http://prodom.prabi.) و (http://pant) PANTHER و (http://prodcom/current/html/form.php) herdb.org/ و شناسایی اثرات متقابل با دیگر پروتئین‌ها با استفاده از نرم‌افزار STRING9.1 (Y) انجام شد. در مرحله بعد از نرم‌افزار T-COFFE (http://tcoffee.crg.cat/) برای شناسایی مناطق حفاظت شده که به دلیل اهمیت عملکردی و ساختمانی در طی تکامل حفاظت می‌شوند، استفاده شد.

### ترسیم ساختار دوم و سوم پروتئین پارالمین: برای یافتن

و پیش‌بینی قسمت‌های درون‌غشایی پروتئین، از نرم‌افزار TMHMM (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/) استفاده گردید. پیش‌بینی و نمایش ساختار دوم با استفاده از نرم‌افزار تحت وب PSIPRED (http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/)، HHpred (https://toolkit.tuebingen.mpg.de/tools/hhpred) و پیش‌بینی ساختار سوم پروتئین از نرم‌افزار PHYRE2 (http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index) استفاده و برای درستی و صحت نتایج این نرم‌افزارها برای ساختار دوم و سوم پروتئین مجدداً از نرم‌افزار I-TASSER (https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/) استفاده شد. هم‌چنین، برای پیش‌بینی جایگاه‌های اتصال لیگاند براساس ساختار سوم پیش‌بینی شده از وب‌سایت I-TASSER و 3DligandSite (http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/3dligandsite/) استفاده گردید.

### بررسی روند تکاملی ایزوفرم‌های پروتئینی پارالمین: با

استفاده از مطالعات بیوانفورماتیکی که شامل استفاده از بانک اطلاعاتی UniProtKB و NCBI بود، توالی اسیدآمینه‌ای ایزوفرم‌های مختلف پروتئین پارالمین (PALM1، PALM2، PALM3 و PALMD) در گونه‌های مختلفی از حیوانات شامل گاو، گوسفند، انسان، خوک، بز، شتر و پرندگان به دست آمد (شماره دسترسی، در جدول ۱ برای

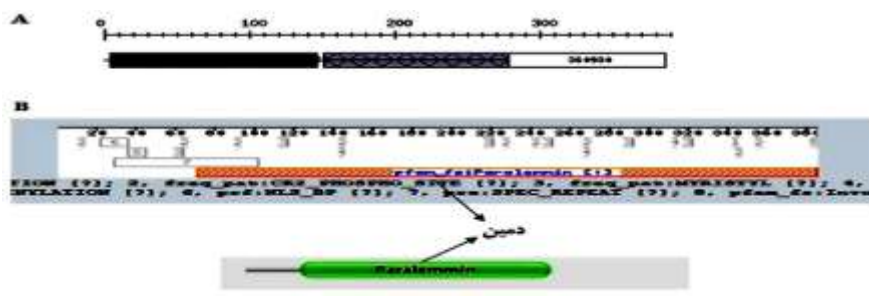
جدول ۲: خصوصیات ژن پارالمین در برخی از گونه‌ها، شامل تعداد اگزون‌ها و اینترون‌ها، شماره کروموزومی و موقعیت آن در ژنوم

گونه	اگزون	اینترون	کروموزوم	موقعیت
گوسفند	۱۰	۹	۵	۴۰۷۱۵۷۸۹-۴۰۶۹۶۷۳۴
گاو	۹	۸	۷	۴۴۹۴۰۸۰۳-۴۴۹۲۴۶۳۶
انسان	۹	۸	۱۳/۳p ۱۹	۷۴۸۳۳۰-۷۰۸۹۵۳
موش	۹	۸	۱c ۱۰	۷۹۸۲۰۹۱۵-۷۹۷۹۳۳۵۵
خوک	۸	۷	۲	۷۸۳۵۲۳۱۷-۷۸۳۳۳۷۸۰
ماکیان	۹	۸	۲۸	۲۶۸۷۷۲۰-۲۶۷۳۶۰۸

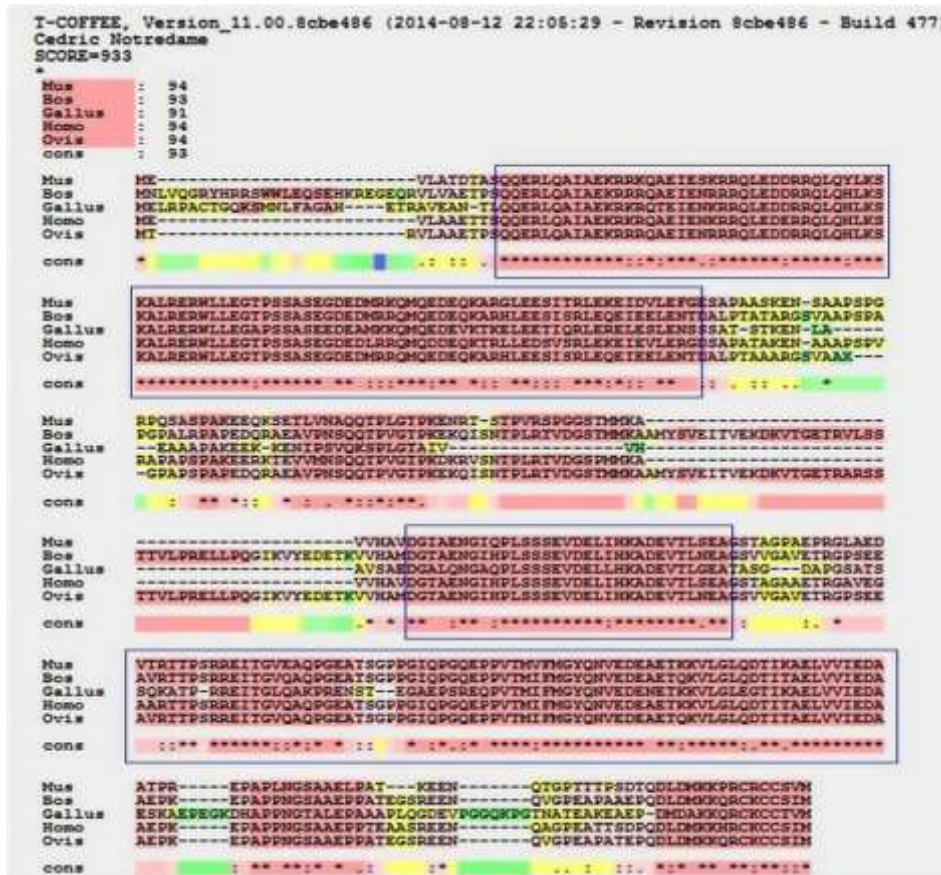
دسترسی؛ PF۰۳۲۸۵/۱۰) همخوانی دارد. نتایج نرم‌افزار ProDam، وجود ۳ توالی توافقی و مشترک در بین خانواده‌های پروتئینی (در اکثر موجودات شامل گاو، گوسفند، انسان و ماکیان) را نشان داد (موتیف PD۱۹۰۷۶۶ در موقعیت ۱۴۵-۴ اسیدآمینهای، موتیف PD۱۲۸۵۴۶ در موقعیت ۲۷۷-۱۵۲ و موتیف PD۳۶۰۹۳۰ در موقعیت ۳۸۵-۲۷۸). هم‌چنین نتایج نرم‌افزار T-Coffee، به‌منظور هم‌ردیفی چندگانه توالی‌های شناخته‌شده و پیدا کردن توالی‌های مشترک بین آن‌ها، مناطق حفاظت‌شده در این پروتئین را نشان داد (شکل ۲).

**شناسایی دمین‌های پروتئینی: ساختار پروتئینی ژن PALM**

در گونه‌های گاو و گوسفند در دو پایگاه سایت UniProtKB و Genecards مورد بررسی قرار گرفت و همان‌طور که در بخش مواد و روش‌ها به آن اشاره شد، از پایگاه MotifScan و CDD برای شناسایی دمین‌های پروتئینی استفاده گردید. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، یک دمین در نرم‌افزار MotifScan به‌عنوان، بهترین انطباق با علامت تعجب نشان داده شده است که در موقعیت ۳۸۵-۷۱ با امتیاز ۲۴۶/۹ و دارای ارزش E،  $2/4 \times 10^{-24}$  هست که با دمین موجود در وب سایت pfam در پایگاه داده EMBL-EBI با نام Paralemmin (شماره



شکل ۱: شماتیکی از موتیف (A) و دمین‌های (B) پروتئین پارالمین در گونه‌های مختلف



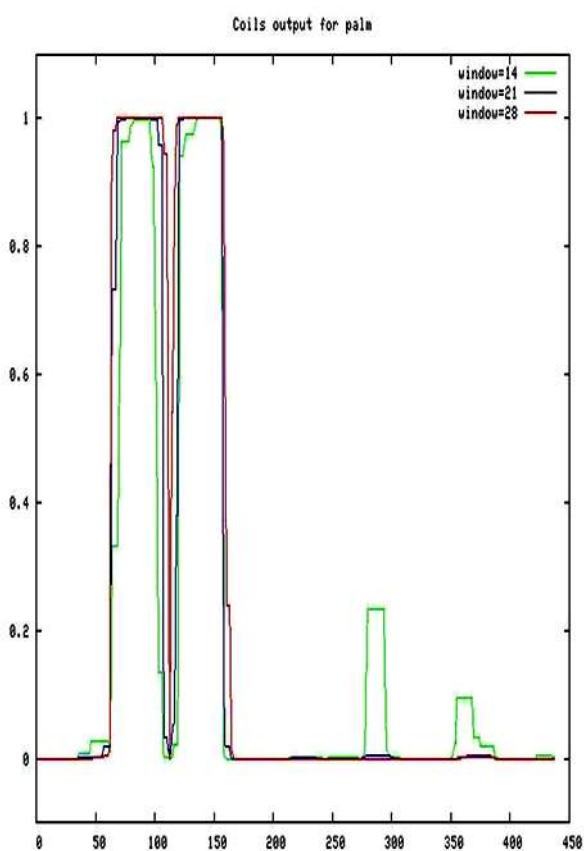
شکل ۲: مناطق محافظت شده پروتئین پارالمین بین گونه‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار T-Coffee





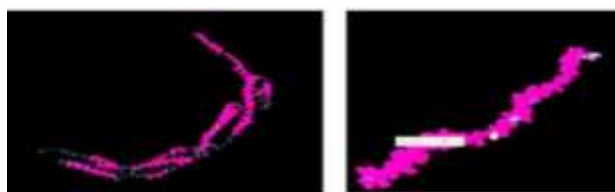
گلوتامیک و آلانین، کوفاکتور یون‌های فلزی روی و منیزیم هست (جدول ۵).

**روند تکاملی ژن PALM:** روابط تکاملی توالی‌های اسیدآمینه‌ای ایزوفرم‌های مختلف ژن PALM و ترسیم درخت فیلوژنی در گونه‌های انسان، موش، ماکیان، خوک، گوسفند، گاو، بز و سگ در شکل ۸ نشان داده شده است. همان‌طور که دیده می‌شود، درخت فیلوژنی بین همه اعضای خانواده PALM1، PALM2، PALM3، PALMD و PALM برای گونه‌های مختلف حیوانات دارای جد مشترک هست.



شکل ۶: توزیع مناطق متشکل از ساختار مارپیچ پیچ‌خورده در پروتئین پارالمین با استفاده از سرور COILS

نتایج نرم‌افزار Phyre2 نشان داد که، ساختار سوم پروتئین پارالمین در ۲۸۲ باقی‌مانده (۷۳ درصد توالی)، با اطمینان ۹۲/۲ درصد مشابه ساختار کریستالی زنجیره A پروتئین تروپومیوزین (c1c1gA) هست. نتایج نرم‌افزار I-TASSER برای پیش‌بینی ساختار سوم پروتئین پارالمین گوسفند (شکل ۵) نیز، با دقت  $C\text{-score} = -2/14$  و  $\text{Estimated TM-score} = 0.46/15$  و  $\text{Estimated RMSD} = 4 \pm 8/5 \text{ \AA}$  و  $0.0 \pm 46/15$ ، مشابه دمین سیتوپلاسمی تقسیم سلولی باکتریایی با نام پروتئینی 4uxvA هست.



شکل ۵: ساختار سوم پروتئین پارالمین در گوسفند با استفاده از سرورهای Phyre2 و Jmol (سمت راست) و I-TASSER (سمت چپ)

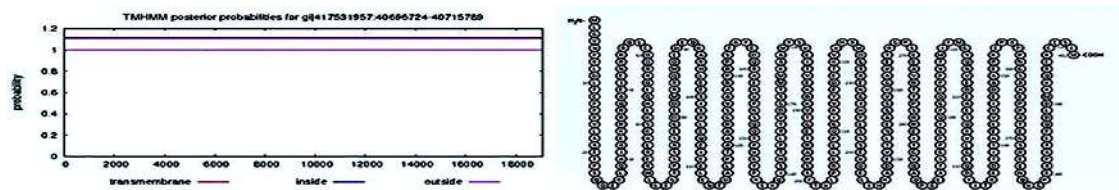
هم‌چنین پیش‌بینی ساختارهای پروتئین با مقایسه پروتئین‌های همولوگ و آنالوگ در نرم‌افزار Phyre2 نشان داد که با اطمینان ۹۲/۲ درصد مشابه زنجیره A پروتئین تروپومیوزین در خوک است، که این پروتئین در خوک دارای ۴ زنجیره (A، B، C و D) و دارای یک مارپیچ پیچ‌خورده طولانی به صورت یک‌رشته پیوسته پلیمریزاسیون است. نتایج نرم‌افزار HHpred، پروتئین پارالمین را از دیدگاه مشابهت در مارپیچ پیچ‌خورده با پروتئین تکرارهای غنی از لوسین در پلاسمودیوم آنوفل، چاپرون‌ها (HP0958)؛ و CT398 از کلامیدیا تراکوماتیس را مشابه نشان داد. براساس این نتایج، با استفاده از نرم‌افزار COILS (https://embnet.vital-it.ch/software/COILS\_form.html) حاوی مارپیچ‌های پیچ‌خورده در این پروتئین پیش‌بینی شد (شکل ۶). در رابطه با تعیین موقعیت این پروتئین با استفاده از نرم‌افزار TMHMM و PROTTER (https://wlab.ethz.ch/protter/start/)، نتایج نشان داد که همه قسمت‌های آن خارج سلولی و پروتئین پارالمین برای ایفای نقش خود در غشای پلاسمایی و کنترل شکل سلول، در خارج سلول قرار می‌گیرد (شکل ۷). هم‌چنین پیش‌بینی جایگاه‌های اتصال لیگاند در پروتئین پارالمین در گاو و گوسفند با استفاده از نرم‌افزار 3DLigandSite و SwissProt نشان داد که، جایگاه‌های اتصال لیگاند در پروتئین پارالمین در اسیدآمینه اسید

جدول ۴: پیش‌بینی عملکرد پروتئین پارالمین با استفاده از سرور PANTHER

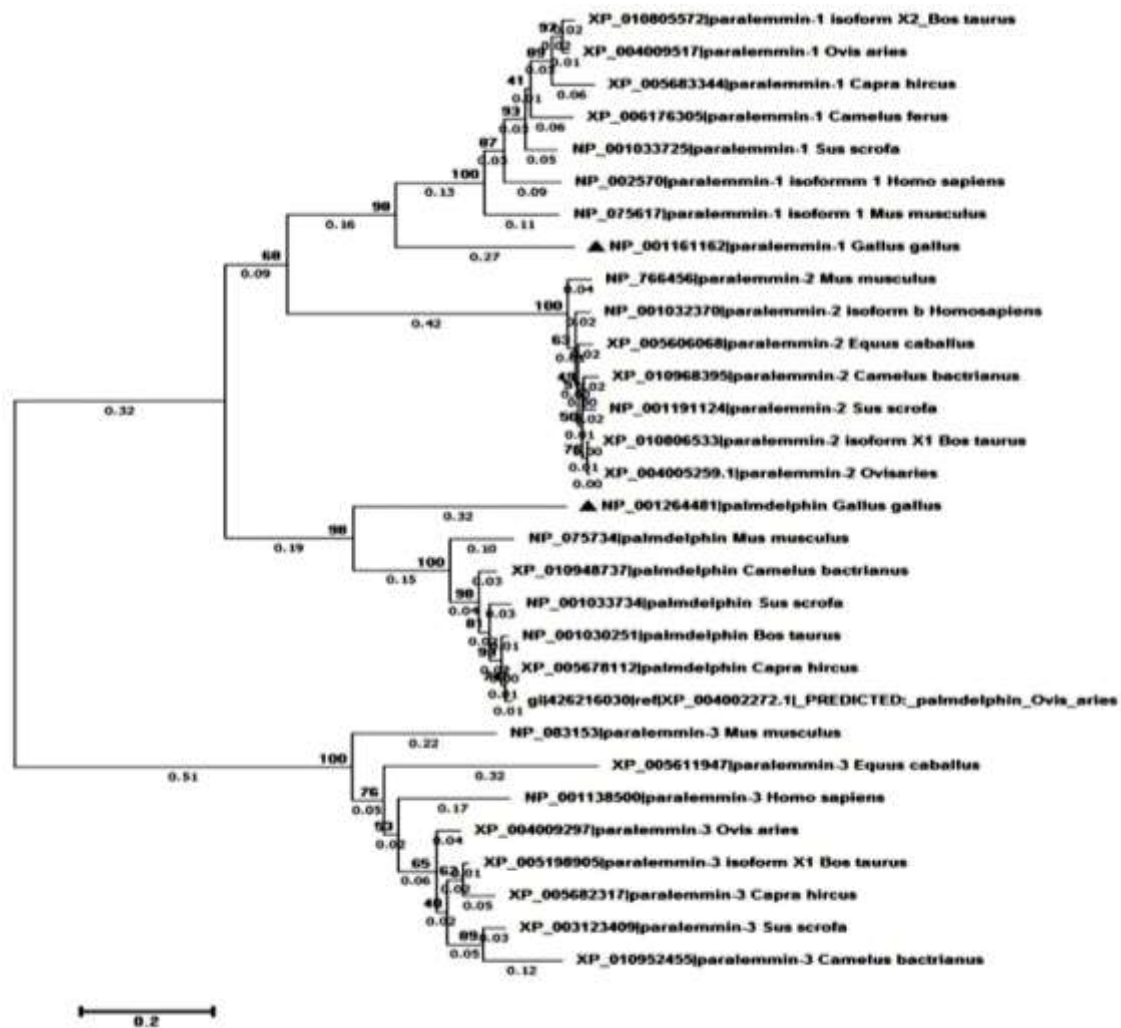
شماره دسترسی	نام ژن	خانواده/بالا خانواده	فرایند بیولوژیکی	گونه
UniProtKB=F1N1T2	F1N1T2	PARALEMIN-2 (PTHR10498:SF7)	انتقال پیام	گاو
UniProtK=G3MWK1	G3MWK1	PARALEMIN-2 (PTHR10498:SF7)	انتقال پیام	گاو
UniProtK=F1MZD8	Palmdelphin F1MZD8	PALMDELPHIN (PTHR10498:SF5)	انتقال پیام	گاو
UniProtK=F1N3Q4	F1N3Q4	PARALEMIN (PTHR10498:SF6)	انتقال پیام	گاو

جدول ۵: پیش‌بینی جایگاه‌های اتصال لیگاند با استفاده از سرورهای 3DLigandSite و SwissProt

Heterogeneous	پیش‌بینی جایگاه اتصال	MAMMOTH	ساختارها	لیگاندها	کلاستر
ZN	گلوتامیک اسید ۶۹	۱۱/۹	۱	۱	۵
ZN	گلوتامیک اسید ۶۹	۱۰/۲	۱	۱	۴
Mg	الانین	۹/۹	۱	۱	۳
Ca	اسپارژنین ۱۵۱ و ترونین ۱۵۲	۷/۷	۱	۱	۱
Ca	گلوتامین ۹۴	۷/۷	۱	۱	۲



شکل ۷: موقعیت غشائی پروتئین پارالمین با استفاده از سرورهای PROTTOR و TMHMM



شکل ۸: درخت فیلوژنی پروتئین پارالمین با استفاده از نرم‌افزار MEGA6 و به روش حداکثر درست‌نمایی. ▲: توالی پروتئینی

گونه پرندگان به‌عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شده است و نرخ جایگزینی اسید آمینه ۰/۲ است



## بحث

و انتقال سیگنال به واسطه کلسیم و اکسید نیتریک می‌شود. در گونه گوسفند تعامل ژن PALM با ژن‌های PAM و SLC38a7 (۱۰) و از طرفی نقش ژن SLC38 در انتقال گلوتامین گزارش شده است (۱۱). بنابراین، با توجه به این که گلوتامین یکی از میانجی‌گری‌های عصبی است (۱۲)، لذا فعالیت مداوم نورون‌ها می‌تواند باعث آزاد شدن گلوتامات از نورون‌های پیش‌سیناپسی و اتصال آن به گیرنده یونوتروپیک نورون پس‌سیناپسی شده و این امر منجر به وارد شدن پتاسیم به فضای خارج سلولی و در نهایت دپلاریزاسیون نورون‌های مجاور گردد. علاوه بر این با توجه به این که برآمدگی‌های پس‌سیناپسی یک جایگاه غالب برای پروتئین پارالمین محسوب می‌شود و تنظیم کردن عکس‌العمل غشای اسکلت سلولی برای حفظ، نگه‌داری و بازسازی فعال خصوصیات غشای پلاسمایی مانند فعل و انفعالات با غشای پیش‌سیناپسی (۱۳)، یا برای تغییر شکل سریع وابسته به اکتین ضروری است (۱۴)، می‌توان نتیجه گرفت به علت حضور این دو پروتئین در نورون‌های پس‌سیناپسی و پیش‌سیناپسی و همچنین فعل و انفعالات پارالمین با غشای پیش‌سیناپسی، احتمالاً این پروتئین در انتقال گلوتامین در تعامل بوده و لذا می‌توان نقش پارالمین در انتقال گلوتامین را گزارش کرد. با توجه به این که تروپومیوزین یک پروتئین رشته‌ای (پروتئین انقباضی) است که اغلب نقش ساختاری دارد، و همچنین با توجه به وجود پارالمین در جایگاه‌های فعال غشای پلاسمایی فیلوپدی و نقش آن در کنترل شکل سلول (۱۵، ۱۶، ۱۷)، بیان آن در مرحله بلوغ سلول‌های فیبری عدسی چشم و شکل‌دهی اسکلت سلول کورتیکول (۲، ۳)، می‌توان ادعان کرد که پروتئین پارالمین همانند زنجیره A پروتئین تروپومیوزین به‌عنوان یک پروتئین رشته‌ای انقباضی، در شکل‌گیری و یا تثبیت اشکال غشای پلاسمایی نقش مهمی را ایفا می‌کند. مطابق با نتایج Nuria و همکاران، پروتئین پارالمین، PALM و AKAP2 دارای مارپیچ‌های پیچ‌خورده هستند که با تاخوردگی دو یا سه مارپیچ آلفا روی هم تشکیل می‌شوند و در تعامل با دیگر پروتئین‌ها نقش دارد (۱). که این نتایج در کنار نتایج وجود سه موتیف در توالی پروتئینی، مشابهت با زنجیره A پروتئین تروپومیوزین و چاپرون‌ها، تأییدکننده وجود مارپیچ پیچ‌خورده در توالی پروتئین پارالمین گوسفند است که جزء مناطق عملکردی مهم بوده و نقش مهمی در تعامل با پروتئین‌های دیگر ایفا می‌کند. با توجه به این که برای افتراق بین این گونه‌ها لازم است حداقل یک گروه خارجی در بررسی فیلوتنتیک در کنار سایر توالی‌ها در نظر گرفته شود، نتایج نشان داد که در مطالعه حاضر پرندگان به‌عنوان گروه خارجی وابستگی کم‌تری به هر یک از گونه‌های دیگر در مقایسه با وابستگی آن‌ها با یکدیگر دارد و گروه خارجی محل صحیح ریشه درخت را در مسیر تکاملی روشن می‌کند. همچنین نتایج نشان داد که، ایزوفرم PALM3

در داخل مجرای شبکه آندوپلاسمی، پروتئین‌های تازه‌سنتز شده در مسیرهای متعددی دچار تغییرات بیش‌تری می‌شوند، به‌طوری‌که پس از حذف پپتیدراهنما، پلی‌پپتید تاخورد و پیوندهای دی‌سولفیدی ایجاد و بسیاری از پروتئین‌ها گلیکوزیله می‌شوند که اضافه شدن کنترل شده قند به پروتئین پارالمین در گوسفند، گاو و انسان، برای عملکرد صحیح این پروتئین ضروری است و این فرآیند گلیکوزیلاسیون بین دو اسیدآمین پیرولین و آلانین رخ می‌دهد. نمایش جزئیات انطباق دمین Paralemmin نشان داد که اکثر اسیدهای آمینه رایج در این دمین، محافظت شده و شامل اسیدهای آمینه گلوتامیک، پیرولین و گلایسین است. با توجه به این که پیرولین و گلایسین در پروتئین‌های رشته‌ای به مقدار فراوان دیده می‌شود، لذا می‌تواند نقش مهمی در ساختمان فضایی پروتئین‌ها برعهده داشته باشد. نتایج وجود ۳ توالی توافقی و مشترک در بین خانواده‌های پروتئینی را نشان داد. موتیف PD۱۹۰۷۶۶ که در بیش‌تر ایزوفرم‌های پروتئین پارالمین (PALMD، PALM3 و PALM) وجود دارد دارای عملکرد تنظیم شکل سلول، باند شدن با پروتئین کیناز A و باند شدن با گیرنده دوپامین D3 هست. موتیف دوم PD۱۲۸۵۴۶ دارای عملکرد سازمان‌دهی اسکلت سلولی و همچنین باند شدن با گیرنده دوپامین D3 است در حالی که موتیف سوم PD۲۶۰۹۳۰ در فعالیت کیناز، تنظیم شکل سلول و باند شدن با گیرنده دوپامین D3 نقش دارد که نتایج این بخش مطابق با مطالعات قبلی است (۹). همان‌طور که در شکل ۳ مشخص شده است، اکثر مناطق، حفاظت‌شدگی بالایی را نشان می‌دهند و بیش‌ترین مقدار توالی اسیدآمین‌های حفظ‌شده در گوسفند نسبت به چهار گونه دیگر (انسان، موش، گاو و ماکیان) مربوط به اسیدآمین ۱۰۰-۱۰ و ۳۳۶-۲۲۰ هست. که نتایج این بخش می‌تواند به‌عنوان معیاری برای تشخیص اعضای آن خانواده پروتئینی و پیش‌بینی عملکرد احتمالی پروتئین و همچنین جهت جداسازی ژن در موجودات دیگر استفاده شود. پروتئین پارالمین در مسیرهای انتقال سیگنال نقش دارد، که توسط یک سیگنال در تعامل با یک گیرنده باعث تغییر در سطح یا فعالیت یک پیامبر ثانویه و در نهایت ایجاد تغییر در عملکرد سلول می‌شود. این پروتئین در گاو و گوسفند در دو زمینه گیرنده‌های سطحی سلول مرتبط با انتقال پیام و آشارهای انتقال داخل سلولی درگیر است. در مورد اول شامل پروتئین‌های G جفت شده با گیرنده پروتئینی انتقال پیام، مسیرهای سیگنال با واسطه‌گری سایتوکین‌ها، مسیر سیگنال سرین/ ترئونین کیناز گیرنده پروتئین‌های گذرانده از غشا و مسیر سیگنال تیروزین کیناز گیرنده پروتئین‌های گذرانده از غشاء و در زمینه دوم، شامل آپوپتوز، مراحل MAPKKK، JAK-STAT

## تشکر و قدردانی

در این جا لازم است از مسئولین دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی که محیط مناسبی برای انجام این تحقیق فراهم نمودند، کمال تشکر و قدردانی شود.

## منابع

1. Andreu, N., Escarceller, M., Feather, S., Devriendt, K., Wolf, A. and Estivill, X., 2001. PALML: a novel paralemmin-related gene mapping on human chromosome 1p21. *Gene*. 278(1-2): 33-40.
2. Bagchi, M., Katar, M., Lo, W. and Maisel, K., 2003. Paralemmin of the lens. *J Cell Biochem*. 89(5): 917-921.
3. Chauhan, B.K., Reed, N.A., Zhang, W., Duncan, M.K., Kilimann, M.W. and Cvekl, A., 2002. Identification of genes downstream of Pax6 in the mouse lens using cDNA microarrays. *J Biol Chem*. 277(13): 11539-11548.
4. Kutzleb, C., Petrasch-Parwez, E. and Kilimann, M.W., 2006. Cellular and subcellular localization of paralemmin-1, a protein involved in cell shape control, in the rat brain, adrenal gland and kidney. *Histochem Cell Biol*. 127(1): 13-30.
5. Nikdel, K., Yousefi, S. and Asgari Jafarabadi, Q., 2010. A phylogenetic study of Tangsayad and Karayi wild sheep (*Ovis orientalis*) populations. *Journal of Animal Environment*. 2(2): 67-72. (In Persian)
6. Yousefi Siahkalroodi, S., Khederzadeh, S. and Montazami, Sh., 2010. Nucleotide variation study of wild sheep populations of the Tangsayad and Korayi guardianship regions using D-loop region and Cyt-b gene of mitochondrial genome. *Journal of Animal Environment*. 2(4): 25-30. (In Persian)
7. Szklarczyk, D., Gable, A.L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., Simonovic, M., Doncheva, N.T., Morris, J.H., Bork, P., Jensen, L.J. and Mering, C.V., 2019. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res*. 47(D1): D607-D613.
8. Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*. 30(12): 2725-2729.
9. Basile, M., Lin, R., Kabbani, N., Karpa, K., Kilimann, M., Simpson, I. and Kester, M., 2006. Paralemmin interacts with D3 dopamine receptors: implications for membrane localization and cAMP signaling. *Arch Biochem Biophys*. 446(1): 60-68.
10. Hagglund, M.G., Sreedharan, S., Nilsson, V.C., Shaik, J.H., Almkvist, I.M., Bäcklin, S., Wrangle, O. and Fredriksson, R., 2011. Identification of SLC38A7 (SNAT7) protein as a glutamine transporter expressed in neurons. *J Biol Chem*. 286(23): 20500-20511.
11. Kanai, Y. and Hediger, M.A., 2004. The glutamate/neutral amino acid transporter family SLC1: molecular, physiological and pharmacological aspects. *Pflugers Arch*. 447(5): 469-479.

با دیگر ایزوفرم‌ها دارای توالی متفاوتی بودند و در شاخه مجزایی قرار گرفت. ایزوفرم‌های PALM1، PALM2، PALMD و PALMD باهم روابط تکاملی نزدیک‌تری دارند. ایزوفرم PALMD، در یک شاخه و PALM1 و PALM2 در شاخه دیگر قرار می‌گیرد و در شاخه PALMD گونه ماکیان جدا از بقیه گونه‌ها (گوسفند، گاو، بز، خوک، موش، انسان و شتر)، قرار گرفته است. آخرین ایزوفرمی که جدا شده است PALM1 هست، که در این مرحله ابتدا ماکیان و در نهایت گاو و گوسفند و بز که با هم در یک زیرشاخه قرار گرفتند، جدا شده‌اند.

مطالعه حاضر نشان داد که ژن PALM در حیوانات مورد مطالعه، کد کننده یک پروتئین موجود در غشای پلاسمایی است و دمین شناسایی شده دارای اسید آمینه‌های محافظت‌شده‌ای همانند پرولین و گلایسین بوده و آنالیز این دمین‌ها برای کمک به فعالیت مورفوژنز و جستجو برای تعامل پروتئین‌ها می‌تواند مفید واقع شود. هم‌چنین وجود سه موتیف حفاظت شده در این پروتئین حاکی از نقش این ژن در تنظیم شکل سلول، باند شدن با پروتئین کیناز A، گیرنده دوپامین D3 و سازمان‌دهی اسکلت سلولی در بین خانواده‌های پروتئینی است. از دیگر نتایج این مطالعه، نقش این پروتئین در دو زمینه گیرنده‌های سطحی سلول مرتبط با انتقال پیام و آبشارهای انتقال داخل سلولی است. هم‌چنین به علت تعامل با ژن‌های PAM و SLC38a7، احتمالاً در نقل و انتقال گلوتامات در سلول‌های عصبی نقش داشته باشد. هم‌چنین پیش‌بینی ساختار دوم نشان داد که واحد اصلی ساختار دوم از نوع مارپیچ آلفا (helix) و پیچ مارپیچ (coil) هست، که توسط اتصالات متقاطع به هم متصل شده‌اند. هم‌چنین ساختار سوم پروتئین پارالمین مشابه زنجیره A پروتئین تروپومیوزین پیش‌بینی شد، که اغلب دارای نقش ساختاری است. از دیگر نتایج این مطالعه وجود مارپیچ‌های پیچ خورده در این پروتئین است که با تاخوردگی دو یا سه مارپیچ آلفا روی هم تشکیل می‌شوند و در تعامل با دیگر پروتئین‌ها نقش دارد که این نتایج شامل، وجود سه موتیف در توالی، مشابهت پارالمین با زنجیره A پروتئین تروپومیوزین و چاپرون‌ها، می‌تواند تائیدکننده وجود مارپیچ پیچ‌خورده در توالی پروتئین پارالمین گوسفند باشد که جزء مناطق عملکردی مهم بوده و نقش مهمی در تعامل با پروتئین‌های دیگر ایفا می‌کند. از طرفی روابط تکاملی بین ایزوفرم‌های پارالمین نشان داد که ایزوفرم PALM3 در طی روند تکاملی تحت فشار انتخاب بالا زودتر از ایزوفرم‌های دیگر جدا شده است. ایزوفرم‌های PALM1، PALM2، PALMD و PALMD با هم روابط تکاملی نزدیک‌تری داشته و دارای جد مشترک می‌باشند.

12. **Shahraki, A., Ghahghaei, A. and Zakeri, Z., 2011.** Glutamate transporters and excitotoxicity in nervous system. *J Gorgan Uni Med Sci.* 13(3): 1-15.
13. **Hagler, D.J. and Goda, Y., 1998.** Synaptic adhesion: the building blocks of memory? *Neuron.* 20(6): 1059-1062.
14. **Fischer, M., Kaech, S., Knutti, D. and Matus, A., 1998.** Rapid actin-based plasticity in dendritic spines. *Neuron.* 20(5): 847-854.
15. **Kutzleb, C., Sanders, G., Yamamoto, R., Wang, X., Lichte, B., Petrasch-Parwez, E. and Kilimann, M.W., 1998.** Paralemmin, a prenyl-palmitoyl-anchored phosphor protein abundant in neurons and implicated in plasma membrane dynamics and cell process formation. *J Cell Biol.* 143(3): 795-813.
16. **Gauthier-Campbell, C.; Brecht, D.; Murphy, T. and El-Husseini, A.D., 2004.** Regulation of dendritic branching and filopodia formation in hippocampal neurons by specific acylated protein motifs. *Mol Biol Cell.* 15(5): 2205-2217.
17. **Arstikaitis, P.; Gauthier-Campbell, C.; Carolina Gutierrez Herrera, R.; Huang, K.; Levinson, J.; Murphy, T.H.; Kilimann, M.W.; Sala, C.; Colicos, M.A. and El-Husseini, A., 2008.** Paralemmin-1, a modulator of filopodia induction is required for spine maturation. *Mol Biol Cell.* 19(5): 2026-2038.