Informatics in Biology, Health, and Food

Interdisciplinary Explorations in Life Science

Volume 2. Number 1. Jun. 2025 DOI:10.22034/ibhf.2025.508452.1022

Original Article

Modeling the 3D structure of Glutathione S-transferase protein isolated from *Shigella dysanteriae*

Hadis Tavafi

Department of Biology, Malayer University, Malayer, Iran.

Received: 2025/02/23 **Accepted:** 2025/04/14 **Online Published:** 2025/04/14

Abstract

Considering that proteins are functional molecules of living cells, having knowledge of how they function can be effective. Among the important and effective factors in the function of proteins is their three-dimensional structure. Glutathione S-transferase enzyme is one of the proteins present in living cells that participates in the transformation and detoxification of xenobiotic compounds. In this study, the 3-dimensional structure of the Glutathione S-transferase protein isolated from *Shigella dysanteriae*, which has not been determined experimentally, was simulated by aligning with *E. coli* (strain K12) sequences with the Swiss model program. The alignment result showed that the *GST* gene has 84% similarity compared to the human gene. The results also showed that leucine was the constituent amino acid of this protein, which accounted for a greater amount of the protein composition than other amino acids. In order to examine the quality of modeling, Root Mean Square (RMS) was calculated, which was 0.47 angstroms in the model in question, which was less than 1, indicating the suitability of the designed model. By determining and predicting the structure and modeling of enzymes, it is possible to study the interactions between residues and their substrates and effectively use bioinformatics modeling methods in the field of drug and vaccine manufacturing.

Keywords: Glutathione S- transferase, *Shigella dysanteriae*, *E.coli*, Swiss model.

Cite this article: Tavafi H. Modeling the 3D structure of Glutathione S-transferase protein isolated from *Shigella dysenteriae*. *Informatics in Biology, Health, and Food*. 2025;2(1):25-33.
Copyright©: The Authors. Published by Shandiz Institute of Higher Education
Corresponding author: Hadis Tavafi **Email**: hadistavafi@yahoo.com

انفورماتیک در زیست‌شناسی، بهداشت و غذا

کاوش‌های بین رشته‌ای در علوم زیستی

دوره ۲. شماره ۱. خرداد ۱۴۰۴ DOI:10.22034/ibhf.2025.508452.1022

مقاله پژوهشی

مدل‌سازی ساختار سه بعدی پروتئین گلوتاتیون اس–ترانسفراز جدا شده از *شیگلا دیسانتری*

حدیث طوافی

گروه زیست شناسی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران .

دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۵ **پذیرش:** ۱۴۰۴ /۱/۲۵ **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۴/۱/۲۵

چکیده

باتوجه به اینکه پروتئین‌ها، مولکول‌های عملکردی سلول‌های زنده می‌باشند، داشتن آگاهی از نحوه‌ی عملکرد آن‌ها می‌تواند مؤثر باشد. از جمله عوامل مهم و مؤثر در عملکرد پروتئین‌ها، ساختار سه بعدی آن‌ها می‌باشد. آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز، یکی از پروتئین‌های موجود در سلول‌های زنده می‌باشد که در عمل انتقال دادن و سم‌زدایی ترکیبات بیگانه زیست شرکت دارد. در این مطالعه، ساختار سه بعدی پروتئین گلوتاتیون اس ترانسفراز جدا شده از *شیگلا دیسانتری* که به روش تجربی تعیین ساختار نشده است با کمک همترازی با توالی‌های *اشرشیا کلی سویه* K12 با برنامه‌ی Swiss model شبیه سازی شد. نتیجه‌ی همترازی انجام شده نشان داد که ژن گلوتاتیون اس ترانسفراز در مقایسه با ژن انسانی ۸۴ درصد شباهت را دارد. هچنین نتایج نشان دادند که لوسین، اسید آمینه سازنده‌ی این پروتئین بود که نسبت به سایر اسید آمینه‌های دیگر، میزان بیشتری از ترکیب پروتئین را به خود اختصاص داده بود. به منظور بررسی کیفیت مدلسازی، مقدار میانگین مربعی محاسبه شد، که در مدل مورد نظر ۰/۴۷ آنگستروم بود که این مقدار کمتر از ۱ بود که نشان دهنده مناسب بودن مدل طراحی شده می‌باشد. با تعیین و پیش‌بینی ساختار و مدل‌سازی آنزیم‌ها می‌توان به بررسی برهمکنش‌های بین دنباله‌ها وسوبسترای آن‌ها پرداخت و در زمینه‌ی ساخت داروها و واکسن‌ها از روش‌های مدل‌سازی بیوانفورماتیکی استفاده مؤثر کرد.

کلمات کلیدی: *اشرشیا کلی* ، *شیگلا دیسانتری*، گلوتاتیون اس-ترانسفراز، Swiss model

Cite this article: Tavafi H. Modeling the 3D structure of Glutathione S-transferase protein isolated from *Shigella dysenteriae*. *Informatics in Biology, Health, and Food*. 2025;2(1):25-33.
Copyright©: The Authors. Published by Shandiz Institute of Higher Education
Corresponding authors: Hadis Tavafi **Email**: hadistavafi@yahoo.com

مقدمه

آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز از جمله ایزوآنزیم‌هایی است که در ارگانیسم‌های مختلف مانند میکروب‌ها، حشرات، گیاهان، ماهی‌ها، پرندگان و پستانداران، شناسایی شده است. گلوتاتیون اس-ترانسفراز خانواده‌ای از آنزیم‌های فاز II هستند که نقش مهمی در سلول‌های یوکاریوت‌های عالی در اتصال، انتقال دادن و سم‌زدایی تنوعی از ترکیبات الکترون دوست اگزوژن و اندوژن بازی می کنند. این ترکیبات شامل سرطان‌زاهای شیمیایی، داروهای درمانی و محصولات استرس اکسیداتیو می باشند (۱،۲).

در *اشرشیا کلی* و پروتوباکترهای دیگر، گلوتاتیون و آنزیم‌های وابسته به گلوتاتیون، در تنوعی از پروسه‌های متابولیکی دخالت دارند و علیه استرس‌های اکسیداتیو، عمل حفاظتی را انجام می-دهند. این آنزیم‌ها معمولا به صورت دایمر و مجموعه‌ای از گلوتاتیون اس-ترانسفرازهای هترودایمریک و همودایمریک شناسایی شده‌اند و فرم فعال آن‌ها به شمار می آیند. سوبستراهای شناخته شده‌ی گلوتاتیون اس ترانسفراز، اغلب مواد شیمیایی سنتتیک بیگانه زیست می‌باشند (۳).

خانواده‌ی گلوتاتیون اس-ترانسفراز، شامل سه ابرخانواده پروتئین-های سیتوزولیک، میتوکندریایی و میکروزومالی می‌باشند. اعضای ابرخانواده گلوتاتیون اس ترانسفراز فوق العاده در توالی‌های اسید آمینه‌ای، متنوع هستند و بخش بزرگی از توالی‌ها در پایگاه داده عمومی قرار دارند که عملکرد آن‌ها شناخته نشده است، بنابراین یکی از راه‌های که می‌توان عملکرد جزئی آنها را پیش‌بینی کرد، تعیین ساختار و مدل‌سازی آن‌ها می باشد. توالی پروتئینی و ساختار پروتئینی از جمله معیارهای مهم طبقه‌بندی برای این سه ابرخانواده می باشد. بر اساس توالی‌های این سه ابرخانواده، گلوتاتیون اس-ترانسفرازهای سیتوزولیک پستانداران، شش کلاس مجزا را از لحاظ تکاملی تشکیل می‌دهند که عبارتند از کلاس‌های آلفا، مو، پی ، سیگما، تتا و زتا. بررسی‌ها نشان می‌دهندکه شناسایی اعضای جدید خانواده‌ی ژنی گلوتاتیون اس-ترانسفراز، براساس شباهت توالی نسبت به ویژگی سوبسترایی، بیشتر کاربرد دارد (۴).

یکی از مهمترین ویژگی آنزیم‌های گلوتاتیون اس-ترانسفراز، ساختار حفاظت شده‌ی آن‌ها است که در بین تمام کلاس‌های مربوطه دیده می شود (۵). با توجه به ساختارهای شناخته شده از گلوتاتیون اس-ترانسفراز در همه‌ی کلاس‌ها، دیده شده است که آنزیم‌ها، همو دایمر می باشند که هر مونومر در یک ساختار دو دومینی پیچ خورده‌اند. دومین انتهای N دارای بیشترین جایگاه اتصال گلوتاتیون می‌باشد در حالی‌که به طور برجسته، دومین انتهای C در اتصال به سوبستراهای آب‌گریز دخالت دارد. همترازی‌های چندگانه از توالی‌های گلوتاتیون اس-ترانسفراز، نشان داده اند که بیشتر دنباله‌های حفاظت شده در آنزیم‌های کلاس‌های آلفا، و مو و پی می‌باشند که در باکتری‌ها و کلاس‌های تتا دیده نشده است (۶).

در این مطالعه با استفاده از ساختار تعیین شده‌ی گلوتاتیون اس ترانسفراز در *اشرشیا کلی* به عنوان الگوی مدل برای تعیین و پیش‌بینی ساختار سه بعدی گلوتاتیون اس-ترانسفراز در *شیگلا دیسانتری* استفاده شد و با استفاده از برنامه Swiss-model و برنامه Alignment mode و نرم افزار Swiss- Pdb viewer ساختار سه بعدی پروتئین مذکور، مدل‌سازی گردید.

مواد و روش‌ها

با توجه به هدف مطالعه، به منظور تعیین و پیش‌بینی ساختار سه بعدی پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز در باکتری *شیگلا دیسانتری*، بخش‌های مختلف توالی ژن گلوتاتیون اس-ترانسفراز در باکتری *اشرشیا کلی* که تعیین توالی و تعیین ساختار شده است، به عنوان الگوی مدل‌سازی انتخاب شد و مشخصات ژنی و توالی اسید آمینه‌ای و سایر ویژگی‌های این آنزیم از بانک اطلاعاتی NCBI و اطلاعات موجود در Gene bank این پایگاه و بانک اطلاعاتی Uniprot استخراج گردید (۸، ۷).

در این مطالعه از آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز *شیگلا دیسانتری* سروتایپ ۱ سویه‌ی sd197، که تعیین توالی شده ولی تعیین ساختار نشده است، برای مدلسازی استفاده شد. با استفاده از برنامه‌ی PFAM، کلاس، خانواده و دومین‌های پروتئین را می توان مورد بررسی قرار داد، همچنین برای مشاهده‌ی ساختار دوم و سوم پروتئین‌ها از سایت Uniprot نیز استفاده گردید (۹و۷). به منظور یافتن توالی مشابه با ژن مذکور (ژن های انسانی با بیش از ۵۰ درصد تشابه) و نیز پروتئین‌های دارای ساختار مشابه با پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز، فرمت FASTA پروتئین و ژن از برنامه‌ی Blastn و Blastp در پایگاه داده NCBI همترازی صورت گرفت (۸). همچنین برای یافتن توالی مشابه، می توان با فرمت FASTA پروتئین را در سایت Uniprot نیز Blast نمود. برای تعیین الگوی مناسب به منظور مدل‌سازی پروتئین گلوتاتیون اس ترانسفراز، از الگوی پیشنهادی سایت Uniprot (آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز متعلق به *اشرشیا کلی* سویهK12 (P0A9D2) استفاده گردید (۷). پروتئین الگو باید کد Protein Data Bank)PDB) داشته باشد. بدین منظور از بانک اطلاعاتی PDB استفاده گردید (۱۰). برای اطمینان از انتخاب

الگوی مناسب، از سایت Swiss- model که به صورت خودکار الگو را جستجو می کند و نتایج را با الگوی بدست آمده از طریق Blast مقایسه می کند، استفاده شد. طراحی مدل با استفاده از برنامه‌ی Swiss- model و Alignment mode صورت گرفت و با استفاده از این برنامه، توالی پروتئین هدف و پروتئین الگو و همچنین فایل PDB پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز باکتری *اشرشیا کلی* وارد گردید و Swiss- model، مدل پیشنهادی را ارائه داد. ساختار سه بعدی پروتئین در نرم افزار Swiss PDB Viewer بررسی شد و پارامترهای مختلف برای تغییر در عملکرد پروتئین مورد بررسی قرار گرفت (۱۱). به منظور صحت آزمون مدل‌سازی از برنامه‌ی SPDBV_4.04_PC استفاده شد. همچنین برای تعیین توالی‌های عملکردی، از سایت Pro site استفاده شد (۱۲). در نهایت برای رسم درخت فیلوژنی از برنامه‌ی Mega 5 به روش Neighbor joining و با استفاده از Boostrap 1000 استفاده شد.

نتایج

به منظور بررسی مشخصات ژن مورد نظر (گلوتاتیون اس-ترانسفراز)، جدا شده از *شیگلا دیسانتری* سروتایپ ۱ سویه‌ی *sd197* ، از بانک اطلاعاتی NCBI استفاده گردید. این ژن با شماره‌ی شناسایی ۳۷۹۵۷۶۹ در جایگاه توالی NC_007606.1 در NCBI مشخص شده است. ژن مذکور دارای ۶۰۶ جفت باز می‌باشد که در فاصله‌ی بین بازهای ۱۶۹۳۸۷۸ تا ۱۶۹۴۴۸۳ از ژنوم قرار گرفته است. ژن گلوتاتیون اس-ترانسفراز در یک قطعه‌ی ژنی در فاصله بین بازهای ۱۶۹۰۳۲۹ تا ۱۶۹۶۷۲۳ قرار دارد که ژن‌های مربوط به پروتئین‌های پرمئاز انتقال دهنده‌ی تری پپتید tppB[1] و پریودکسامین کیناز[2] pdxk در نزدیکترین محل و در دو طرف آن قرار دارند.

در بررسی نواحی ژنومی، نسخه‌ها و محصولات ژنی آن (گلوتاتیون اس-ترانسفراز)، بخش‌های کد کننده شامل PRK 10542 (به طول ۲۰۱ باز و در موقعیت فاصله ای ۱ تا ۲۰۱)، گلوتاتیون اس-ترانسفراز N_Beta (به طول ۷۸ و در موقعیت فاصله‌ای ۱ تا ۷۸) و گلوتاتیون اس ترانسفراز C_Beta (به طول ۱۰۵ و در موقعیت فاصله‌ای ۹۱ تا ۱۰۵) می باشند، که گلوتاتیون اس-ترانسفراز N_Beta و PRK 10542 همپوشانی دارند. همچنین نواحی اتصالی (Chemical binding) G- site (GSH binding site) و H- site (Substrate binding pocket) به ترتیب در فاصله جایگاه ۱۰ تا ۶۶ و ۱۰۲ تا ۱۶۷ قرار دارند و نواحی اتصالی (Polypeptide binding) رابط دومین انتهای C- ، رابط دومین انتهای N –و رابط دایمری به ترتیب در جایگاه‌های ۷ تا ۷۵، ۹۱ تا ۱۹۴ و ۹۲ تا ۱۲۸ قرار گرفته‌اند.

با استفاده از روش همترازی، تشابهات بین ژن‌های انسانی و ژن کد کننده‌ی گلوتاتیون اس-ترانسفراز در *شیگلا دیسانتری* سروتایپ ۱ سویه ی *sd197* با استفاده از فرمت FASTA ژن مذکور و برنامه BLASTn و با انتخاب گزینه انسانی نشان داده شد (شکل ۱).

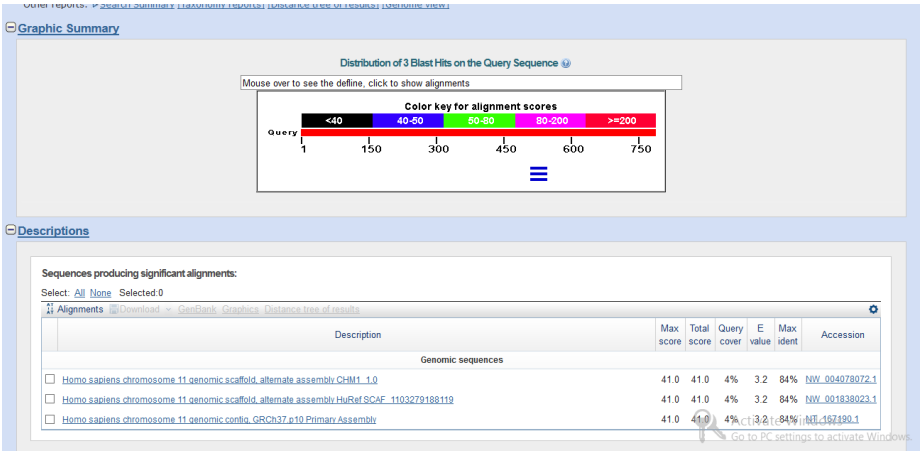
نتیجه‌ی همترازی انجام شده نشان داد که ژن گلوتاتیون اس-ترانسفراز در مقایسه با ژن انسانی Homo sapiens chromosome 11 genomic scaffold, alternate assembly CHM1_1.1 ۸۴ درصد شباهت را نشان داد.

تکامل را می‌توان یک روند انشعاب دانست، روندی که به موجب آن جمعیت‌هایی از موجودات زنده با گذر زمان تغییر می‌کنند و در اثر تغییرات به شاخه‌های جداگانه‌ای گونه‌زایی می‌کنند و یا به واسطه‌ی انقراض از میان می‌روند. این روند را می‌توان توسط یک درخت فیلوژنتیکی به تصویر کشید. به منظور رسم درخت ژنی برای پروتئین‌های گلوتاتیون اس-ترانسفراز، از باکتری‌های *Escherichia coli O55:H7* ،*Shigella dysenteriae Sd197* ،*Escherichia coli Xuzhou21 str. RM12579* ،*Escherichia coli O157:H7 str. Sakai* ،*Pseudomonas aeruginosa PAO1 chromosome* ،*Enterobacter cloacae subsp. cloacae* و *Enterobacter cloacae subsp. ENHKU01* استفاده گردید. از روش Neighbor joining و برنامه MEGA5 و Bootstrsp 1000 برای رسم درخت فیبوژنی استفاده شد.

نتیجه‌ی همترازی انجام شده نشان داد که ژن گلوتاتیون اس-ترانسفراز در مقایسه با ژن انسانی Homo sapiens chromosome 11 genomic scaffold, alternate assembly CHM1_1.1 ۸۴ درصد شباهت را نشان داد.

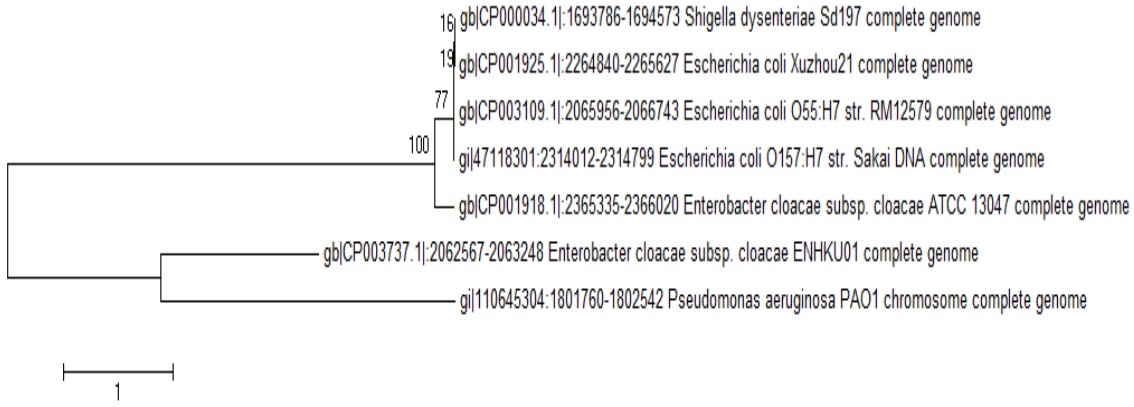
[1] Tripeptide transporter permease

[2] Pyridoxamine kinase



شکل ۱. همترازی انجام شده برای ژن‌هایی با منشاء انسانی دارای شباهت بیش از ۵۰ درصد با ژن گلوتاتیون اس-ترانسفراز.

Figure 1. Alignment performed for genes of human origin with more than 50% similarity to the *gst* gene.



شکل ۲. درخت فیلوژنی رسم شده برای پروتئین‌های گلوتاتیون اس-ترانسفراز

Figure 2**.** Phylogeny tree drawn for glutathione S-transferase proteins.

با استفاده از سایت Uniprot و با توجه به ویژگی‌های ژن مورد مطالعه، ژن گلوتاتیون اس-ترانسفراز، کد کننده‌ی پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز می‌باشد، که دارای فعالیت ترانسفرازی است. شباهت توالی این پروتئین به ابرخانواده گلوتاتیون اس-ترانسفراز تعلق دارد (شکل ۳).

این پروتئین با کد Uniprot (Q32FD8)، دارای ۲۰۱ اسید آمینه و وزن مولکولی ۲۲۸۶۸ دالتون می باشد. لوسین از ترکیبات سازنده‌ی این پروتئین (اسیدهای آمینه) می‌باشد که نسبت به سایر اسید آمینه‌های دیگر، میزان بیشتری از ترکیب پروتئین را به خود اختصاص می‌دهد. با استفاده از سایت Predict Protein ساختار اول و دوم پروتئین مذکور به دست آمد. در ساختار دوم پروتئین بیشتر فرم مارپیچ دیده می‌شود. پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز از دو دومین انتهای N- و C- تشکیل شده است که مولکول گلوتاتیون، در بین این دو دومین قرار می‌گیرد. دنباله‌های مهم از لحاظ عملکردی در دومین انتهای N- وجود دارند. شکل ۴، نمایی از دومین‌های پروتئین مذکور است که با استفاده از سایت PFAM، نشان داده شده است.

Names and origin

Protein names	*Submitted name:* Glutathionine S-transferase EMBL ABB61967.1
Gene names	Name: **gst** EMBL ABB61967.1 Ordered Locus Names:SDY_1858 EMBL ABB61967.1
Organism	**Shigella dysenteriae serotype 1 (strain Sd197)** [Reference proteome] [HAMAP] EMBL ABB61967.1
Taxonomic identifier	300267 [NCBI]
Taxonomic lineage	Bacteria › Proteobacteria › Gammaproteobacteria › Enterobacteriales › Enterobacteriaceae › Shigella ›

Taxonomic classification of the source organism.

Protein attributes

Sequence length	201 AA.
Sequence status	Complete.
Protein existence	Inferred from homology

General annotation (Comments)

Sequence similarities	Belongs to the GST superfamily. RuleBase RU003494

Ontologies

Keywords

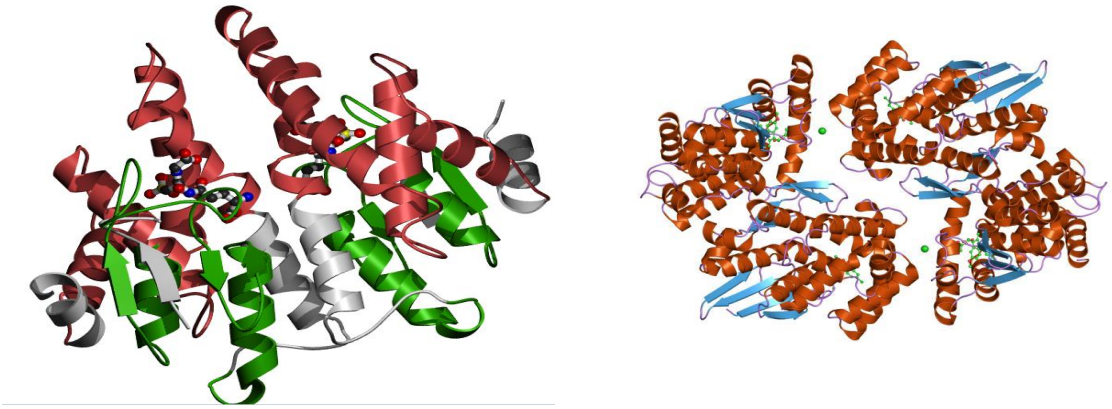
Molecular function	Transferase EMBL ABB61967.1
Technical term	Complete proteome Reference proteome

Gene Ontology (GO)

Molecular_function	transferase activity

شکل ۳. مشخصات پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز.

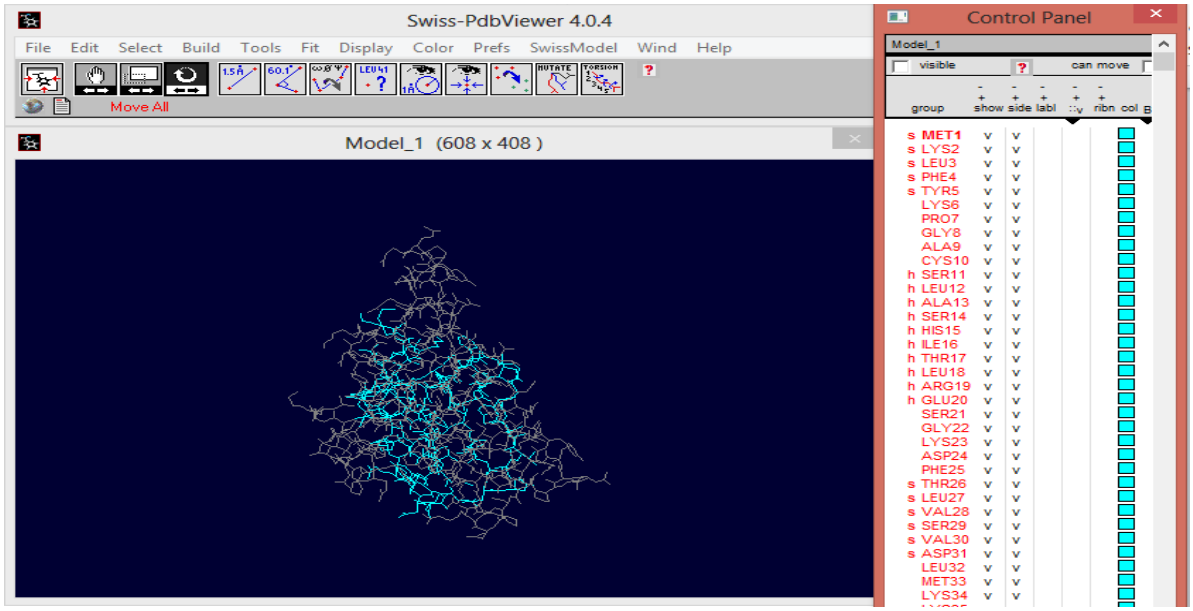
Figure 3. Glutathione S-transferase protein profile.



شکل ۴. ساختار سه بعدی دومین C- ترمینال پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز گرفته شده از سایت PFAM.

Figure 4. Three-dimensional structure of the C-terminal domain of the glutathione S-transferase protein taken from the PFAM site.

با توجه به شکل ۴، با استفاده از نرم افزار Swiss PDB Viewer گروه‌های عملکردی (گروه‌های اسید آمینه) و شکل‌های فضایی پروتئین‌های مورد نظر، بررسی شد. نواحی آبی رنگ در شکل ۵ نشان دهنده‌ی نواحی عملکردی و مهم پروتئین می‌باشد که اگر جهشی در آن اتفاق بیافتد، باعث تغییر عملکرد پروتئین می‌شود.



شکل۵. نواحی عملکردی و مهم پروتئین.

Figure 5. Functional and important regions of the protein.

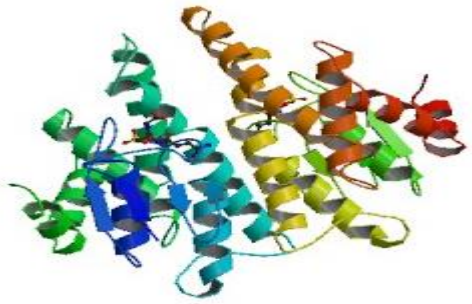
به منظور یافتن پروتئین‌های مشابه از لحاظ ساختاری، از hssp Database استفاده گردید. اما با توجه به اینکه این پایگاه داده، تشابه ساختارهایی را نشان می‌دهد که تعیین ساختار شده اند، بنابراین در راستای اطلاعات تشابه ساختاری پروتئین هدف گلوتاتیون اس-ترانسفراز از باکتری *شیگلا دیسانتری* سروتایپ ۱ سویه‌ی *sd197* با سایر پروتئین‌ها به ما اطلاعات نمی‌دهد. با توجه به اینکه پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز شیگلا با پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز از باکتری *اشرشیا کلی سویه K12* مشابه است و این پروتئین به عنوان الگوی مدل‌سازی انتخاب شده است، از این پروتئین استفاده کرده و پنج پروتئین که از لحاظ ساختاری با پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز تشابه ساختاری داشتند از پایگاه داده‌ی مذکور، گرفته شد (۱۳). این پروتئین با پروتئین‌های گلوتاتیون اس-ترانسفراز از باکتری‌های *Escherichia coli O139:H28 (strain E24377A)* *Escherichia coli O9:H4 (strain HS)* ، *Escherichia coli (strain ATCC 8739 / DSM 1576 / Crooks)* ، *Escherichia coli O157:H7 str. EC4196* ،*Escherichia coli 53638* صد درصد تشابه ساختاری دارد.

به منظور یافتن الگوی مناسب برای مدل‌سازی پروتئین مذکور، از برنامه‌ی BlastP در بانک اطلاعاتی Uniprot، جهت یافتن پروتئینی که دارای تشابه ساختاری با پروتئین هدف باشد، استفاده گردید. با استفاده از نتایج حاصله از همترازی دوتایی BlastP در سایت Uniport، زنجیره ی A/B پروتئین جدا شده از *اشرشیا کلی* (سویه K12) با کد Uniprot، P0A9D2 بیشترین درصد تشابه را با پروتین هدف نشان داد و به عنوان پروتئین الگو انتخاب گردید. این پروتئین بوسیله ی اشعه ایکس (X) تعیین ساختار شده است.

از دیگر ویژگی‌های پروتئین الگو، داشتن فعالیت ترانسفرازی می‌باشد. با توجه به اطلاعات بدست آمده از سایت Uniprot (PDBe View)، نشان داده شده است که زنجیره‌های پروتئین مذکور از جمله ترکیبات سیتوپلاسمیک است که در پروسه‌ی کاتابولیکی بیگانه‌زیست‌ها شرکت دارند.

مدلینگ انجام شده برای پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز جدا شده از *شیگلا دیسانتری* سروتایپ ۱ سویه‌ی sd197، با استفاده از سایت Swiss-model ، برنامه Alignment mode انجام شد. توالی پروتئین مورد نظر و کد PDB پروتئین الگو در Swiss-model وارد گردید و برای زنجیره‌ی A/B شکل زیر را نمایه کرد و فایل PDB آن پیوست شد (شکل ۶). با استفاده از نرم‌افزار SPDBV_4.04_PC ، روی هم‌افتادگی مدل‌سازی انجام شده و الگوی مورد استفاده مورد بررسی قرار گرفت که در شکل ۷ آورده شده اند. به منظور بررسی کیفیت مدل‌سازی، ساختار پروتئین‌های الگو و هدف روی هم قرار داده شد (از طریق

Magic fit) و سپس مقدار میانگین مربع (RMS)[1] محاسبه شد، که در مدل مورد نظر ۰/۴۷ آنگستروم بود که این مقدار کمتر از یک (≤۱) نشان دهنده مناسب بودن مدل طراحی شده می‌باشد.

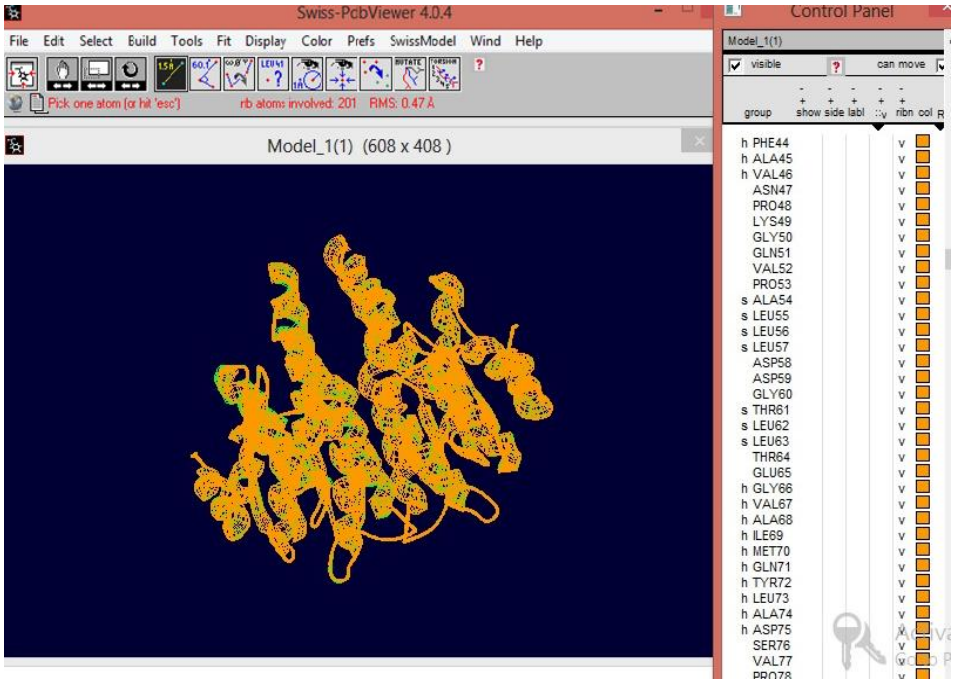


شکل ۶. ساختار سه بعدی مدل‌سازی زنجیره ی A/B پروتئین الگو در سایت Swiss model.

Figure 6. 3D structure modeling of the A/B chain of the template protein on the Swiss model site.

بحث

با در دست داشتن و شناسایی نواحی مهم و عملکردی یک پروتئین، می‌توان با تغییر دادن برخی از عوامل (اسید آمینه) باعث تغییر ساختار عملکردی پروتئین (ساختار سه بعدی پروتئین) شد. حال این تغییرات ممکن است در راستای بهینه شدن عملکرد شود و یا اینکه منجر به از بین رفتن عملکرد پروتئین گردد (۱). پروتئین مورد بررسی دارای دو دومین Soluble glutathione S-transferase N- and C-terminal می‌باشد. آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز، گلوتاتیون احیا را به گلوتاتیون غیر احیا تبدیل می‌کند که در بیشتر آنزیم‌های گلوتاتیون اس ترانسفراز، این فرایند توسط اسید آمینه‌ی تیروزین در ناحیه‌ی H- binding از سولفور گلوتاتیون اس-ترانسفراز انجام می شود. این آنزیم‌ها حمله‌ی هسته دوستی را بوسیله ی گلوتاتیون احیا (گلوتاتیون اس-ترانسفراز) بر ترکیبات غیر قطبی که دارای اتم کربن، نیتروژن و سولفور الکترون دوست هستند، کاتالیز می‌کنند (۲).



شکل ۷. مقایسه ساختار سه بعدی پروتئین گلوتاتیون اس-ترانسفراز در *اشرشیا کلی* به عنوان الگو (سبز) و *شیگلا* (نارنجی).

Figure 7. Comparison of the three-dimensional structure of the glutathione S-transferase protein in *E.coli* as a model (green) and *Shigella* (orange).

دنباله سرین به عنوان دنباله افزایش دهنده‌ی خاصیت هسته دوستی عمل می‌کند و آنالیزهای مهندسی پروتئینی نیز تأیید می‌کنند که دنباله سرین در N- ترمینال برای فعالیت کاتالیتیکی در این پروتئین‌ها ضروری می‌باشند. دومین انتهای N- در اتصال

[1] Root Mean Square

این آنزیم، در اتصال گلوتاتیون از طریق دومین شبه تیوردوکسین[1] شرکت دارد، در حالی‌که دومین انتهای C- ، شامل چندین مارپیچ آلفای آبگریز می‌باشد که به طور اختصاصی به سوبستراهای آبگریز متصل می‌شود (۵).

همانطور که ذکر شد، در دومین C- ترمینال دارای چندین مارپیچ آبگریز وجود دارد که دارای اسید آمینه‌های سرین، آلانین، هیستیدین، آرژنین و گلوتامین می‌باشد که از جمله اسید آمینه-های باردار هستند، حال اگر این اسید آمینه‌ها توسط اسید آمینه-ای بدون بار مثل گلایسین جایگزین شوند، مارپیچ پروتئین به هم خورده و می تواند تغییر آرایش دهد و اتصال آن به سوبسترایش کاهش یابد. گلوتاتیون اس-ترانسفرازها از جمله آنزیم‌هایی هستند که برای عملکردشان به اسید آمینه متیونین نیاز دارند، حال اگر جهشی در این اسید آمینه ایجاد گردد، باعث اختلال در عملکرد پروتئین می‌شود. از جمله اسید آمینه‌هایی که در ساختار صفحه‌ی بتا قرار دارند،

تیروزین، والین، سرین و آسپارتات هستند که اگر یکی از این اسید آمینه‌ها حذف شوند و یا تغییر کند ساختار بتا تغییر می‌کند مثلا اگر آسپارتات به آلانین تبدیل گردد، این ساختار تغیر کرده و نواحی آبگریز ممکن است در معرض قرار گرفته و به دلیل تغییر ساختار پروتئین، عملکرد پروتئین نیز تغییر کند (۶).

نتیجه‌گیری

با توجه به اختلافات زیاد در توالی‌ها و ویژگی‌های کاتالیتیکی گلوتاتیون اس-ترانسفراز های باکتریایی، بررسی‌های مهندسی پروتئین، احتمالا تکنیکی برای انتخاب بررسی‌های جزئی عملکرد آنزیم‌های گلوتاتیون اس-ترانسفراز باکتریایی در آینده‌ای نزدیک خواهد بود. بنابراین با تعیین ساختار و مدل‌سازی آنزیم‌ها می‌توان، دیدگاه بهتر و گسترده‌تری در بررسی برهمکنش‌های بین دنباله‌ها و سوبسترای آن‌ها و هم چنین پیش‌بینی ساختاری و عملکردی آن‌ها با آنزیم‌های مشابه تعیین ساختار شده در گونه‌های دیگر، کسب کرد.

تقدیر و تشکر

در این مطالعه لازم است، از زحمات خانم دکتر محبوبه ضرابی، دانشیار گروه بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا (س) تشکر و قدردانی گردد.

Refrances

1.Mazari AMA, Zhang L, Ye ZW, Zhang J, et al. The multifaceted role of glutathione S-transferases in health and disease. Biomolecules. 2023;13(4):688. doi:10.3390/biom13040688.
2. Koirala BKS, Moural T, Zhu F. Functional and structural diversity of insect glutathione S-transferases in xenobiotic adaptation. *Int J Biol Sci*. 2022;18:5713–23. doi:10.7150/ijbs.77141.
3. Potęga A. Glutathione-mediated conjugation of anticancer drugs: an overview of reaction mechanisms and biological significance for drug detoxification and bioactivation. *Molecules*. 2022;27(16):5252. doi:10.3390/molecules27165252.
4. Singh RR, Reindl KM. Glutathione S-transferases in cancer. *Antioxidants*. 2021;10(5):701. doi:10.3390/antiox10050701.
5. Reinemer P, Prade L, Hof P, et al. Three-dimensional structure of glutathione S-transferase from Arabidopsis thaliana at 2.2 Å resolution: structural characterization of herbicide-conjugating plant glutathione S-transferases and a novel active site architecture. *J Mol Biol*. 1996;255(2):289–309. doi:10.1006/jmbi.1996.0024.
6. Oakley A. Glutathione transferases: a structural perspective. *Drug Metab Rev*. 2011;43(2):138–51. doi:10.3109/03602532.2011.558093.
7. http://www.uniprot.org/
8. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein
9.http://pfam.sanger.ac.uk/
10.http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1tvn
11. http:// spdbv.vital-it.ch
12. http:// prosite.expasy.org
13. http://srs.ebi.ac.uk/srsbin/cgi-bin.

[1] Thioredoxin- like