مقاله مروری آنتی‌اکسیدان

گلوتاتیون S-ترانسفرازها و عملکرد آن‌ها به‌عنوان یک ابرخانواده پروتئینی در گیاهان

مریم شهبازی[۱*]، امین کرمی[۲]، محمد سعید پذیرنده[۳]، زهرا سادات شبر[۴]

[۱] گروه محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

[۲] گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه تهران،

[۳] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

[۴] گروه زیست‌شناسی سامانه‌ها، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AERRO)

(تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۰۸/۰۷، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۲/۱۸)

چکیده

گلوتاتیون S-ترانسفراز (GST) از بزرگترین خانواده‌های پروتئینی چند ژنی است که در تمام گونه‌های گیاهی و سایر موجودات زنده حضور دارند. تاکنون برای GSTsها که در شرایط تنش و محرک‌های درونی و بیرونی بسیار القاپذیر هستند، نقش‌های متعددی در گیاهان از جمله دخالت در متابولیسم ثانویه، رشدونمو، از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی مقابله با تنش‌های محیطی مانند خشکی، حرارت بالا، شوری و همچنین سم‌زدایی علف‌کش‌ها شناخته شده است. این آنزیم‌ها با اتصال گلوتاتیون به انواع سوبستراها مانند اندوبیوتیک‌ها و زنوبیوتیک‌ها منجر به سم‌زدایی سلولی می‌شوند. اغلب GSTها آنزیم‌های محلول سیتوپلاسمی بوده ولی ایزوفرم‌های میتوکندریایی و میکروزومال هم در گیاهان و حیوانات شناخته شده‌اند. در این مقاله بخشی از مهم‌ترین یافته‌های اخیر درباره تکامل GST، فراوانی و ویژگی‌های ساختاری با تأکید بر نقش‌های آن‌ها در گیاهان ارائه می‌شود. همچنین به جدیدترین کاربردهای این خانواده پروتئینی در بیوتکنولوژی و محیط‌زیست اشاره خواهد شد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، بیوتکنولوژی، رشدونمو، سم‌زدایی، گلوتاتیون S ترانسفراز، متابولیسم ثانویه

مقدمه

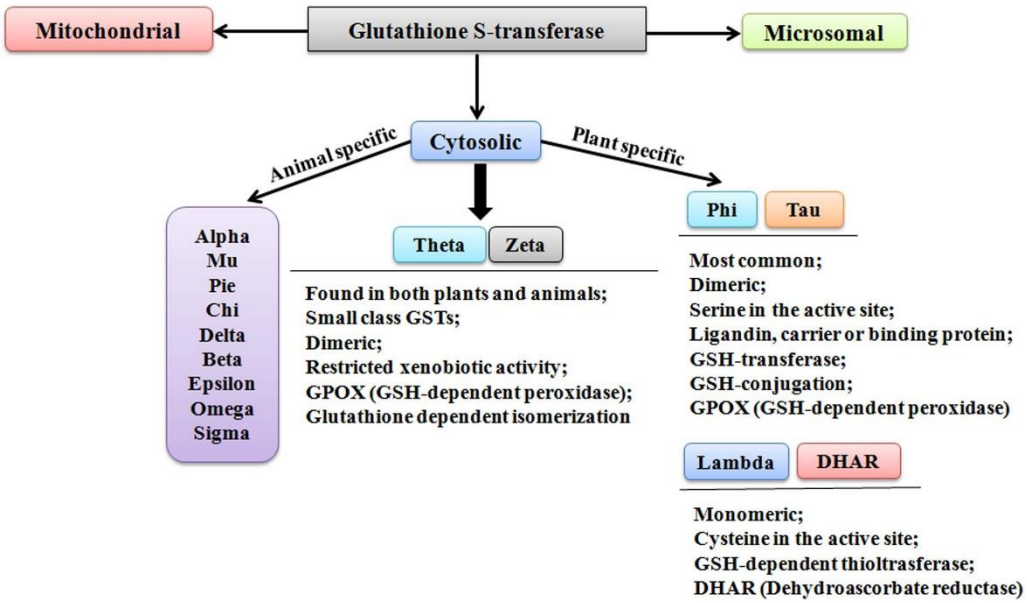
آنزیم‌های گلوتاتیون S-ترانسفراز نزدیک به دو درصد پروتئین‌های قابل‌حل در گیاهان را تشکیل می‌دهند (Scalla and Roulet, 2002). این آنزیم‌ها برای اولین بار در سال ۱۹۷۰ در گیاه ذرت و در فرایند سم‌زدایی علف‌کش آترازین کشف شد (Frova, 2003). امروزه با توجه به عملکرد و نقش این خانواده بزرگ پروتئینی و براساس سوبستراهای مختلف، اطلاعات زیادی از حضور گسترده GSTها در سایر گیاهان مانند ذرت، گندم، توتون، کاج، سویا، آرابیدوپسیس، جو، میخک، سیب‌زمینی، نخود، سورگوم و نیشکر بدست آمده است. شناسایی، کلونینگ و طبقه‌بندی این آنزیم‌ها در تحقیقات گسترده‌تری سال‌های بعد صورت گرفته است. نام رایج «گلوتاتیونS-ترانسفراز» برای این پروتئین‌های با عملکردهای متعدد، نامی گمراه‌کننده است، زیرا در طی واکنش آنزیمی، بخش گلوتاتیونیل و نه اتم گوگرد منتقل می‌شود. علاوه بر این، همه GSTها به‌عنوان ترانسفراز عمل نمی‌کنند، در مواردی

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: maryam.shahbazi@gau.ac.ir

گلوتاتیون را به اپوکسیدها اضافه می‌کنند یا دی‌سولفید و پراکسید را احیا می‌کنند و یا ایزومریزاسیون را کاتالیز کنند. همچنین GSTها (GSTs; EC 2.5.1.1.8) آنزیم‌های کلیدی فاز II سم‌زدایی آنزیمی هستند که در پایین‌دست سیتوکروم P450 در متابولیسم سلولی فعالیت می‌کنند. آنزیم‌های GST اتصال تیول هسته دوست مربوط به گلوتاتیون احیا را به مرکز الکترون دوست ترکیبات درون‌زا (endogenous) و برون‌زا (exogenous) از جمله مواد سمی و سرطان‌زای محیطی، آفت‌کش‌ها، داروها کاتالیز می‌کنند (Vaish *et al.*, 2020).

ساختار GST، تنوع و جایگاه سلولی در گیاهان: به‌طور عمومی GSTهای محلول به هر دو صورت دایمرهای همو و هترو همراه با زیرواحدهایی با اندازه ۲۵ کیلودالتون فعال هستند. هر زیرواحد دایمر حاوی جایگاه‌های کاتالیتیک مستقل می‌باشد که از دو جزء (دمین ۱ و ۲) تشکیل شده و بین دو دمین یک رابط کوتاه با اندازه متغیر بین ۵ الی ۱۰ اسیدآمینه قرار دارد. دمین ۱ جایگاه اتصال برای گلوتاتیون (G-site) است که از یک سری اسیدهای آمینه موجود در دمین آمینو انتهایی پلی‌پپتید شکل گرفته است. دمین ۲ یک جایگاه اتصال برای سوبستراهای آب‌گریز (H-site) بوده که از اسیدهای آمینه موجود در دمین کربوکسیل انتهایی شکل گرفته است. این دو جایگاه با هم مرکز فعالیت آنزیمی را تشکیل می‌دهند. دمین ۲ از لحاظ توالی و ساختار بسیار متغیر بوده که بیانگر تنوع سوبستراهای آب‌گریز بسیاری است که با دسته‌های مختلف GST در ارتباط هستند، اما دمین ۱ بسیار حفظ شده و به‌طور خاص در ارتباط با فعالیت‌های کاتالیتیکی مربوط به گلوتاتیون است. در مجموع GSTها براساس شباهت توالی، ایمونولوژی، ویژگی‌های کینتیکی شامل نوع اسیدآمینه در جایگاه اتصال و ساختار ژنومی به دسته‌های مختلف تقسیم‌بندی می‌شوند. هفت دسته مشخص از این آنزیم شامل فی(Phi)، تا (Tau)، لامبدا (Lambda)، دی‌هیدرو آسکوربات ردوکتاز (DHARs)، تتا (Theta)، زتا (Zeta) و تتراکلروهیدروکوئینون دی‌هالوژناز (TCHQD) وجود دارد که چهار دسته اول فقط در گیاهان یافت می‌شوند. اسیدآمینه سرین در فعال‌سازی گلوتاتیون به‌صورت شکل‌گیری و پایداری تیول فعال‌شده گلوتاتیون در دمین ۱ نقش اساسی داشته و حضور آن در دسته‌های Phi, Tau, Zeta و Theta مشهود است (Armstrong, 1997). در دو دسته جدید DHAR و Lambda حضور اسیدآمینه سیستئین در شکل‌گیری دی‌سولفید گلوتاتیون دخیل هستند (Frova, 2006). GSTهای Theta و Zeta هم در گیاهان و هم در جانوران دیده می‌شوند. اخیراً یک دسته جدید از GST به نام Omega نیز گزارش شده است. مطالعات اخیر تعداد دسته‌های براساس ساختار جایگاه کاتالیتیکی تا ۱۴ دسته در گیاهان خشکی‌زی پیشنهاد می‌کنند (Sylvestre-Gonon *et al.*, 2019). در سال‌های اخیر وجود ژن‌های GST و ویژگی‌های مولکولی در گیاهان غیرآوندی از جمله خزه‌ها و نیز موجودات ابتدایی‌تر مثل قارچ‌ها و جلبک‌ها نیز گزارش شده است. تا به امروز در گیاهان، جانوران، قارچ‌ها و باکتری‌ها ۳۶ دسته گلوتاتیون S-ترانسفراز شناسایی شده است وساختار کریستالی بیش از ۲۰۰ گلوتاتیون S-ترانسفرازهای محلول در موجودات زنده تعیین شده است. قابل ذکر است که در بین گیاهان، سویا دارای بیشترین تعداد با ۱۰۱ GST می‌باشد.GSTهای گروه Tau و Phi در میان گیاهان بیشتر دیده می‌شوند. به‌طور استثنا گندم دارای GSTهای گروه Tau کمتری با هشت ژن GST است. دسته‌بندی خانواده‌های گلوتاتیون S-ترانسفراز در گیاهان و جانوران در شکل یک نمایش داده شده است (Kumar and Trivedi, 2018).

اغلب GSTها محلول در آب و سیتوسولی هستند(da Fonseca *et al.*, 2010). در گذشته و تا قبل از شناسایی دو آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز NtParA در هسته سلول‌های تنباکو و GTSU12 در هسته سلول‌های آرابیدوپسیس، تصور می‌شد که این آنزیم‌ها فقط در سیتوسول حضور دارند (Zettl *et al.*, 1994; Dixon and Edwards, 2009). امروزه گزارشاتی از حضور GSTها در سایر اندامک‌ها و بخش‌های سلولی از جمله کلروپلاست، میتوکندری‌ها (Kappa)، میکروزومال (MAPEG) و همچنین در شبکه آندوپلاسمی وجود دارد (Lallement *et al.*, 2014). گلوتاتیون S-ترانسفرازها از نظر



شکل ۱ - دسته‌بندی خانواده‌های گلوتاتیون S-ترانسفراز در گیاهان و جانوران (Kumar and Trivedi, 2018)

محل قرارگیری در سلول نیز دارای سه دسته‌بندی اصلی می‌باشند: گلوتاتیون S-ترانسفرازهای سیتوسولی، گلوتاتیون S-ترانسفرازهای میکروزومال و گلوتاتیون S-ترانسفرازهای میتوکندریایی که از بین این سه دسته، گلوتاتیون S-ترانسفرازهای سیتوسولی از نظر تعدادی بزرگتر از دو گروه دیگر هستند (شکل ۱).

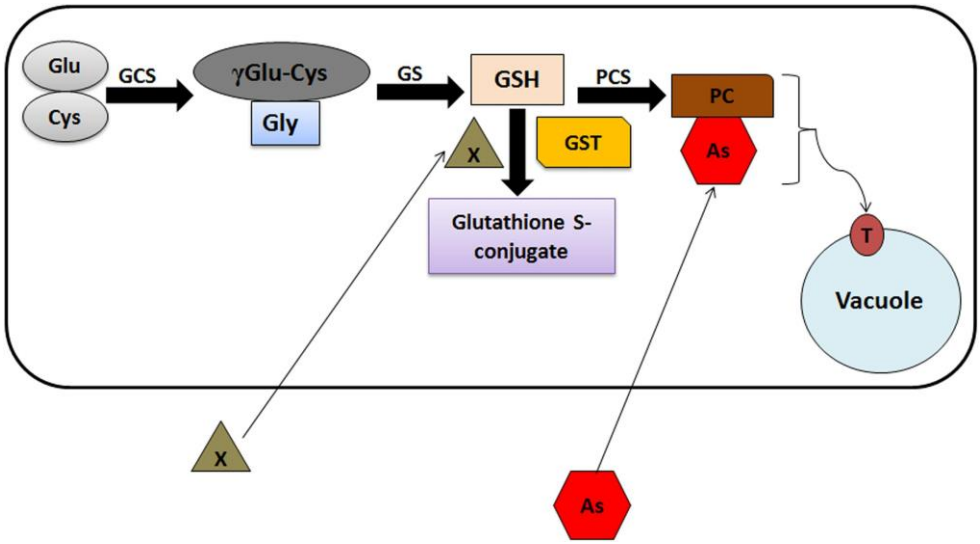
مکانیسم کاتالیتیک و فعالیت‌های لیگاندی GST در گیاهان: چنانچه ذکر شد آنزیم‌های GST اتصال تیول هسته دوست مربوط به گلوتاتیون احیا را به مرکز الکترون دوست ترکیبات داخلی و خارجی کاتالیز می‌کنند:

$$GSH + RX \longrightarrow GSR + HX$$

واکنش حاصل از ماده الکترون دوست و گلوتاتیون منجر به تولید ترکیبی می‌شود که نسبت به ترکیب مادری کمتر فعال است، بنابراین حلالیت زنوبیوتیک‌های آب‌گریز افزایش می‌یابد. مطالعات بر روی فعالیت آنزیمی GSTها نشان می‌دهد که واکنش گلوتاتیون و سوبسترا در یک مکانیسم تصادفی متوالی صورت گرفته که در آن دو سوبسترا به دو محصول تبدیل می‌شوند. در GSTهای متعلق به دسته‌های آلفا، مو، پی و سیگما، فعال‌سازی گلوتاتیون از طریق تعامل با تیروزین Tyr در فاصله پیوند H از گوگرد GSH انجام می‌شود. در آنزیم‌های دسته‌های دیگر، باقی‌مانده کاتالیزوری سیستئین Cys یا سرین Ser است (Sylvestre-Gonon *et al.*, 2019). ماهیت جایگاه G جهت اتصال و چرخش مناسب گلوتاتیون و همچنین ویژگی جایگاه H در اتصال به سوبسترا تعیین‌کننده تعداد واکنش‌های ممکن است. با استفاده از آزمون اسپکتروفتومتری می‌توان اتصال آنزیم و سوبسترا را در تغییرات جذب ۳۴۰ نانومتر ثبت کرد (Rezaei *et al.*, 2013).

زنوبیوتیک‌ها معمولاً دارای مراکز الکترون دوست می‌باشند که عمده فعالیت این مراکز مربوط به حضور اتم‌های کربن، نیتروژن و سولفور است. واکنش GST با زنوبیوتیک‌ها منجر به واکنش گلوتاتیونه‌شدن (S-glutathionylated) می‌شود و کمپلکس ایجادشده از لحاظ فعالیت ضعیف بوده و به راحتی در آب قابل‌حل است که مسیر سم‌زدایی را تسهیل می‌کند.

اغلب واکنش‌های ترکیب گلوتاتیون از نوع جابه‌جایی یک هالوژن از جایگاه الکترون‌دوست بر روی حلقه آروماتیک، هتروسیلیک و یا یک گروه آلکیل است. ترکیب گلوتاتیون با علف‌کش آترازین، فلورودیفن، پنتاکلرونیتروبنزن (PCNB)، پروپاکلر، کلریمورون اتیل و متیداتیون مثال‌هایی از این نوع واکنش هستند (Brown, 1990). در گیاهان ترکیب گلوتاتیونه با استفاده از یک کاست متصل به‌ATP (T) از سیتوسول وارد



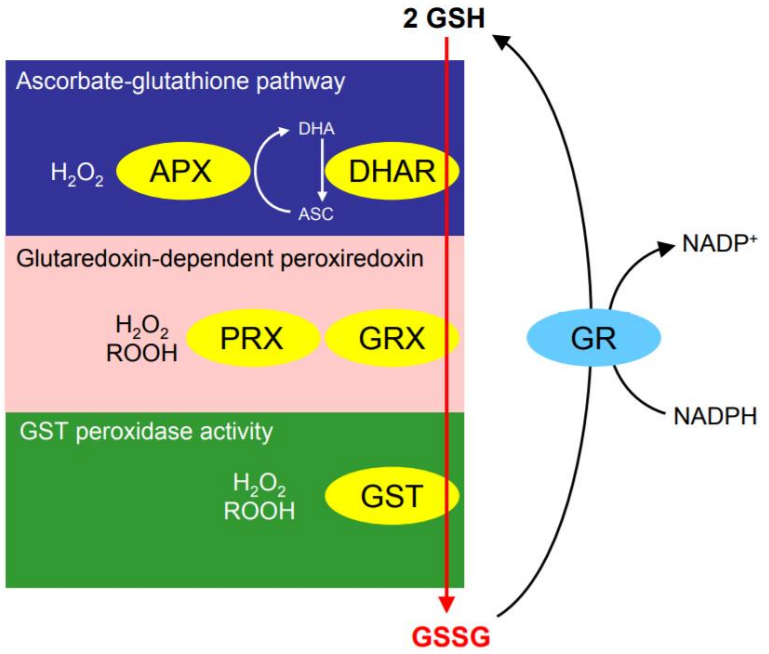
شکل ۲- مدل شماتیک عمل سم‌زدایی گلوتاتیون S-ترانسفراز. γGlu، گلوتامات؛ Cys، سیستئین؛ γECS، γ گلوتامیل سیستئین سنتاز؛ Gly، گلیسین؛ GS، گلوتاتیون سنتاز؛ GSH، گلوتاتیون؛ X، زنوبیوتیک؛ GST، گلوتاتیون S-ترانسفراز؛ PCS، فیتوکلئاتین؛ As، آرسنیک؛ PC-As، کمپلکس فیتوکلئاتین آرسنیک؛ T، ناقلین واکوئلی ABCC1/ABCC2 (Kumar and Trivedi, 2018)

واکوئل شده تا به فضای خارج سلولی هدایت شود (Kumar and Trivedi, 2018). تصویر شماتیک سم‌زدایی آرسنیک توسط GST در گیاهان در شکل ۲ به نمایش در آمده است. اگرچه دخالت اعضا خانواده گلوتاتیون S-ترانسفرازها در رشد و نمو گیاهان و تنش‌های غیر زیستی گزارش شده است (Nianiou-Obeidat *et al.*, 2017)، اما اطلاعات محدودی در مورد نقش این خانواده ژنی در تنش‌های ایجادشده با آرسنیک در دسترس می‌باشد. در میان دسته‌های مختلف این خانواده ژنی نقش دسته لامبدا در پاسخ به تنش‌های آرسنیکی گزارش شده است (Kumar *et al.*, 2013).

یکی از مهم‌ترین فعالیت‌های GSTها که بدون تشکیل ترکیب حدواسط شکل می‌گیرد، فعالیت پراکسیدازی آنها به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان است. در این نوع واکنش گلوتاتیون به‌عنوان عنصر هسته‌دوست با اکسیژن الکترون‌دوست، هایپراکسید واکنش داده و پس از احیاکردن این ترکیب از شدت سمیت این ترکیب می‌کاهد. نتیجه این فعالیت، حفاظت از سلول در برابر اثرهای منفی گونه‌های اکسیژن آزاد حاصل از واکنش‌های اکسیداتیو در تنش‌ها است. نسبت گلوتاتیون به فرم احیا (GSH) به گلوتاتیون به فرم اکسید یا گلوتاتیون دی‌سولفید (GSSG) در شرایط تنش کاهش می‌یابد و انواع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز در برقراری این تعادل در سلول نقش دارند. یکی از مهم‌ترین این آنزیم‌های پراکسیداز GSTها هستند که از بین رادیکال‌های آزاد اکسیژن، میزان پراکسید هیدروژن و سایر پراکسیدهای درون سلولی را تنظیم می‌کنند. اکسیداسیون گلوتاتیون یا به‌صورت مستقیم یا از طریق آسکوربات صورت می‌گیرد (Noctor *et al.*, 2011). آنزیم‌های دخیل در این چرخه تنظیمی در شکل ۳ نشان داده شده است.

اتصال گلوتاتیون به سوبسترا در اغلب موارد به سم‌زدایی منجر می‌شود، ولی در موارد نادری و در ارتباط با برخی اعضای خانواده GST و تعداد اندکی از سوبستراها این واکنش تولید محصولات سمی نیز می‌کند، در این حالت ترکیب گلوتاتیون و سوبسترا، بسیار فعال‌تر از ترکیبات مادری است. به‌عنوان مثال ترکیب گلوتاتیون و هالوآلکن‌ها منجر به تولید یون اپی‌سولفونیوم یا فرمالدئید، ترکیبی ناپایدار ولی اکسیداتیو می‌شود (Deponte, 2013).

همچنین آنزیم‌های GST دارای فعالیت‌های غیرکاتالیتیکی نیز هستند که تحت عنوان فعالیت‌های لیگاندی به شمار می‌آید.



شکل ۳- شمای ساده دخالت گلوتاتیون S-ترانسفراز در حفظ تعادل اکسید و احیا گلوتاتیون و متابولیسم پراکسید. اکسیداسیون گلوتاتیون به صورت مستقیم یا از طریق آسکوربات. APX، آسکوربات پراکسیداز؛ ASC، آسکوربات؛ DHA (R)، دهیدروآسکوربات ردوکتاز؛ GR، گلوتاتیون ردوکتاز؛ GRX، گلوتاردوکسین؛ GST، گلوتاتیون S-ترانسفراز؛ PRX، پرکسیدوردوکسین؛ ROOH، پراکسید آلی (Noctor *et al.*, 2011)

این آنزیم‌ها قابلیت اتصال به ترکیبات متنوعی از جمله بیلیروبین، آهن، نمک صفرایی، استروئید، رنگ‌ها و برخی داروها را دارند. این ویژگی سبب ذخیره و انتقال سریع این ترکیبات به گیرنده‌های اختصاصی و بخش‌های مختلف سلولی شده و مانع از آسیب‌رسانی سم‌های سلولی و ژنوتوکسیک‌ها به پروتئین‌ها و DNA می‌شود (Axarli *et al.*, 2004).

نقش‌ها و وظایف GSTها در گیاهان: برخی از مهم‌ترین وظایف GSTها در گیاهان شامل رشدونمو گیاه، دخالت در مقابله با تنش‌های زیستی و غیرزیستی، پیام‌رسانی هورمون‌ها، سیگنالینگ یاخته‌ای و تنظیم هومئوستازی اکسید و احیا، بیوسنتز و انتقال متابولیت‌های ثانویه مانند آنتوسیانین و همچنین کنترل مرگ یاخته‌ای (Apoptosis) است (Hu *et al.*, 2016; Chronopoulou *et al.*, 2017). GSTها، حمله گروه تیول ترکیب سه پپتیدی گلوتاتیون GSH (γ-Glu-Cys-Gly) به مولکول‌های الکترون‌دوست و سموم آب‌گریز راکاتالیز می‌کنند. واکنش گلوتاتیونه‌شدن برای انتخاب علف‌کش‌ها بسیار اهمیت دارد، زیرا گیاهان زراعی پهن برگ و باریک برگ دارای سطوح بالای فعالیت GST و متحمل در برابر علف‌کش‌ها هستند (Chronopoulou *et al.*, 2017). GSTها در متابولیسم درون‌زا چون خنثی‌سازی تنش‌های اکسیداتیو به‌عنوان پراکسیدازهای وابسته به گلوتاتیون، ایزومرازهای وابسته به GST، فعالیت‌های غیرکاتالیکتیکی به‌عنوان پروتئین‌های متصل به فلاونوئیدها، پروتئین‌های دخیل در سیگنالینگ تنش و تنظیم‌کننده مرگ یاخته‌ای نیز دخیل هستند ولی نقش اخیر آنها به‌طور دقیق مشخص نشده است. اگرچه بعضی از متابولیت‌های ثانویه مانند استروئیدها، لکوترپن‌ها، مواد فرّار گوگرددار و گلوکوزینولات‌ها به‌وسیله بعضی از ایزوزیم‌های GSTها ساخته می‌شوند (Nianiou-Obeidat *et al.*, 2017).

نقش GST در رشدونمو گیاهان: GSTها به هورمون‌هایی مانند اکسین و سیتوکینین متصل می‌شوند و می‌توانند سبب القای فعالیت فیتوهورمون‌هایی مانند اتیلن، اکسین، متیل جاسمونات، سالیسیلیک اسید و آبسیزیک اسید شوند (Shi *et*

al., 2014). GSTها با فعالیت لیگاندی در انتقال داخل سلولی اکسین‌ها شرکت می‌کنند (Gullner *et al.*, 2018). شواهد زیادی وجود دارد که GSTهای گیاهی در فرآیند رشد و تکامل گیاهی در شرایط *in vitro* و *in vivo* نقش مهمی‌ایفا می‌کنند (Gong *et al.*, 2005). در گیاه برنج کاربرد هورمون‌های گیاهی بیان تعداد زیادی از ژن‌های خانواده GST را تغییر می‌دهد (Jain *et al.*, 2010). گزارش‌هایی مبنی بر نقش GSTهای گروه لامبدا در روند رشد و تکامل اولیه مثل جوانه‌زنی بذرهای برنج وجود دارد، بطوریکه سرعت جوانه‌زنی بذر در لاین‌های با بیش‌بیانی ژن‌های GST حدود چهار برابر بیشتر از لاین‌های وحشی است (Kumar *et al.*, 2013). همچنین یک گروه از GSTها مربوط به دسته Tau در ارابیدوپسیس به نام *AtGSTU17* در توسعه جوانه‌زنی، افزایش طول هیپوکوتیل، تراکم آنتوسیانین و مهار سبزشدن وابسته به نور قرمز دور نقش دارد و بیان *AtGSTU17* توسط گیرنده‌های نوری مختلف به ویژه فیتوکروم A در شرایط نوری و توسط هورمون‌های گیاهی مختلف مثل اکسین و آبسیزیک اسید کنترل می‌شود (Jain *et al.*, 2010). بررسی نقش دو ژن *PpGST1* و *PpGST2* در رسیدگی میوه گلابی *Pyrus pyrifolia* نشان داد که این دو ژن طی نمو و رسیدگی میوه‌ها در پاسخ به قند گلوکز، سالیسیلیک اسید و اکسین نقش مهمی ایفا می‌کنند (Shi *et al.*, 2014).

GST در متابولیسم ثانویه گیاهی: GSTها در سنتز متابولیت‌های مختلف، سیگنالینگ و متابولیسم ثانویه در گیاهان نقش‌های مهمی ایفا می‌کنند. برای مثال در آرابیدوپسیس *AtGSTf12* در تراکم آنتوسیانین‌ها و پروآنتوسیانیدین نقش دارد، در حالیکه *AtGSTu20* پاسخ‌ها به دریافت نور را تعدیل می‌کنند. در آرابیدوپسیس *AtGSTf2* یک اتصال محکم بین فیتوآلکسین مشتق‌شده از ایندول و کامالکسین را برقرار می‌کند و احتمالاً به‌طور انتخابی در انتقال و اتصال Flavonol quercetin-3-O-rhamnoside به‌عنوان ترکیبات دفاعی گیاهی درگیر می‌شود و نقش تنظیم‌کنندگی خود را ایفا می‌کند (Dixon *et al.*, 2011). در حالیکه *AtGSTF6*، با کاتالیزکردن گلوتاتیون بر روی ایندول-۳-استونیتریل ترکیب دفاعی کامالکسین را سنتز می‌کند (Su *et al.*, 2011).

همچنین در گیاه انگور *Vitis vinifera*، فعالیت لیگاندی GSTها برای انتقال آنتوسیانین‌ها از سیتوسول به واکوئل‌ها لازم است و فعالیت GST و تراکم آنتوسیانین با تیمار ساکارز، جاسمونیک اسید و نور تقویت می‌شود (Conn *et al.*, 2008). مطالعه بر روی گلبرگ‌های نابالغ گیاه سیکلامن نیز نشان داد که گروهی از GSTها به نام *CkmGST3* در تجمیع آنتوسیانین‌ها در سیکلامن دخالت دارند (Kitamura *et al.*, 2012).

GST و مقاومت به علف‌کش‌ها: مقاومت محصولات زراعی به علف‌کش‌ها برای تولید در بخش کشاورزی از اهمیت بالایی برخوردار است و GSTها عمدتاً در تحمل به علف‌کش‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند. این پروتئین‌ها با تشکیل کمپلکس ترکیبی گلوتاتیون احیا (GSH) و GST در سم‌زدایی انواع مختلفی از علف‌کش‌ها مانند آلاکلور، فلورودیفن، گلایفوزیت، آترازین، متولاکلر، تیوکاربامات و غیره دخالت می‌کنند. گلایفوزیت یک علف‌کش گسترده اثر است که در کنترل علف‌های هرز غلات مورد استفاده قرار می‌گیرد. نقش GSTهای گروه Tau در *Vigna radiata* در سم‌زدایی گلایفوزیت و تحمل گیاه به این علف‌کش به اثبات رسیده است (Basantani *et al.*, 2011). گروه خاصی از GSTهای متعلق به گروه Phi با نام MHR-GSTF مسئول مقاومت به طیف وسیعی از علف‌کش‌ها می‌باشند. این گروه دارای فعالیت بالای هیدروپراکسیدازی هستند و با کاهش هیدور پراکسیدازهای سمی، نقش سم‌زدایی را ایفا می‌کنند (Georgakis *et al.*, 2020). دلیل مقاومت بعضی گیاهان تفاوت ویژگی‌های کاتالیتیک و سوبسترایی آن‌ها است. ویژگی MHR-GSTFها می‌تواند برای تولیدکنندگان محصولات کشاورزی مقاوم به علف‌کش جالب توجه باشد. در مطالعه مقایسه‌ای ساقه و ریشه ذرت در مورد اثر علف‌کش متولاکلر حاکی از بیان افزایش‌یافته ژن‌های GST به‌ویژه در ریشه است. شواهد جدیدی نشان می‌دهد که GSTها سیستم طبیعی دفاعی گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو حاصل از علف‌کش‌ها هستند و در

سال‌های اخیر بر این اساس محصولات تراریخته مقاوم به علف‌کش‌ها تولید و طراحی شده است (Georgakis *et al.*, 2020).

GST و عملکرد آن در برابر تنش‌ها: به‌طورکلی الیسیتورها ترکیباتی با منشاء زیستی و غیرزیستی هستند که از طریق القای سیستم دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه و پاسخ‌های دفاعی می‌شوند. پروتئین‌ها، الیگوساکاریدها، اسیدهای چرب و مشتقات آن‌ها می‌توانند نمونه‌هایی از الیسیتورهای خارجی باشند (Eder and Cosio, 1994). مطالعات پروتئومیکس و ژنومیکس نشان می‌دهند که ژنوتیپ‌های متحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نسبت به ژنوتیپ‌های حساس، فعالیت بیش‌تری در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌ویژه GST دارند و کاربرد بعضی از الیسیتورهای خارجی می‌تواند سبب افزایش فعالیت این آنزیم در سطح بیان ژن و یا فعالیت آنزیم شود (Rezaei *et al.*, 2013).

تنش‌های زیستی: شواهد زیادی بیانگر دخالت GSTهای گیاهی در مقابله با تنش‌های زیستی از جمله آلودگی‌های انگلی و پاسخ‌های دفاعی در مقابل گیاه‌خواران و یا پاتوژن‌ها است. GSTهای خانواده Tau به‌صورت ویژه در پاسخ‌های دفاعی نقش دارند و نقش دفاعی یکی از گروه‌های خانواده Tauهای *Glycine max* به نام *GmGSTU10-10* در پاسخ به ویروس موزائیک سویا (SMV) و افزایش بیان ژن این آنزیم به اثبات رسیده است (Skopelitou *et al.*, 2015). این آنزیم تنها آنزیم GST در بین ۲۵ ایزوآنزیم مختلف در سویا است که در آلودگی به ویروس موزائیک سویا SMV القا می‌شود (Babu *et al.*, 2008). عملکرد کاتالیتیکی آنزیم GmGSTU10-10 آنتی‌اکسیدانی با عمل هیدروپراکسیدازی است، واکنش‌های بسیار زیاد دیگری را نیز کاتالیز می‌کند و با سوبستراهای متعددی وارد واکنش می‌شود. به‌علاوه میزان اندک ثابت میکائیلیس- منتن (km) این آنزیم و میل ترکیبی زیاد آن به گلوتاتیون به فرم احیا (GSH) بیانگر آن است آنزیم GmGSTU10-10 در شرایط غلظت پائین GSH مانند آنچه که درتنش‌های اکسیداتیو رخ می‌دهد، بسیار کارآمد خواهد بود (Skopelitou *et al.*, 2015). یکی از GSTهای خانواده Tau از گیاه لوبیا *Phaseolus vulgaris* به نام PvGSTU3-3 که سوبسترای تخصصی دارد، با آلوده‌شدن گیاه به انگل *Uromyces appendiculatus* القا می‌شود و باخاصیت قوی کاتالیتیکی به‌عنوان یک هیدروپراکسیداز، تیول ترانسفراز و دهیدروآسکوربات ردوکتاز عمل می‌کند (Chronopoulou *et al.*, 2014). همچنین هنگامی که گیاه *Nicotiana benthamiana* به‌وسیله ویروس موزائیک بامبو (BaMV) آلوده می‌شود، سطوح بیان ژن‌های *NbGSTU1* و *NbGSTU3* که از GSTهای خانواده Tau هستند بالا می‌رود (Chen *et al.*, 2013). گروه‌های مختلفی از GST به‌طور قابل‌توجهی در مراحل اولیه آلودگی‌های باکتریایی، قارچی و ویروسی القا می‌شوند. مطالعات پروتئومیکس تجمع پروتئین‌های GST در گیاهان آلوده را تأیید کرد. علاوه بر این، مطالعات عملکردی نشان داد که بیان بیش از حد یا خاموش‌کردن GSTهای خاص می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی علائم بیماری و همچنین نرخ تکثیر پاتوژن را تغییر دهد. با این حال، اطلاعات بسیار محدودی در مورد عملکردهای متابولیکی دقیق ایزوزیم‌های GST در شرایط حضور پاتوژن و در مورد سوبستراهای درون‌زا وجود دارد. GSTها با فعالیت گلوتاتیون پراکسیدازی می‌توانند هیدروپراکسیدهای لیپیدی سمی را که در طول آلودگی جمع می‌شوند سم‌زدایی کنند. علاوه بر این، القای ژن‌های GST یا افزایش فعالیت‌های GST اغلب در گیاهانی که با میکروارگانیسم‌های مفید (باکتری‌ها و قارچ‌ها) تیمار شده‌اند باعث ایجاد پاسخ مقاومت سیستمیک (ISR) به آلودگی‌های بیماری‌زای بعدی شده است. تحقیقات بیشتری برای آشکارشدن عملکردهای متابولیکی دقیق ایزوزیم‌های GST در گیاهان آلوده و درک سهم آن‌ها در مقاومت به بیماری مورد نیاز است (Gullner *et al.*, 2018).

تنش‌های غیر زیستی: تنش‌های غیرزیستی مانند دمای بالا و پایین، شوری، خشکی، فلزات سنگین، پرتوهای فرابنفش و غیره به‌طور گسترده‌ای بر رشدونمو گیاهان اثر می‌گذارند، بنابراین گیاهان در طول تکامل به سیستم‌های دفاعی جهت

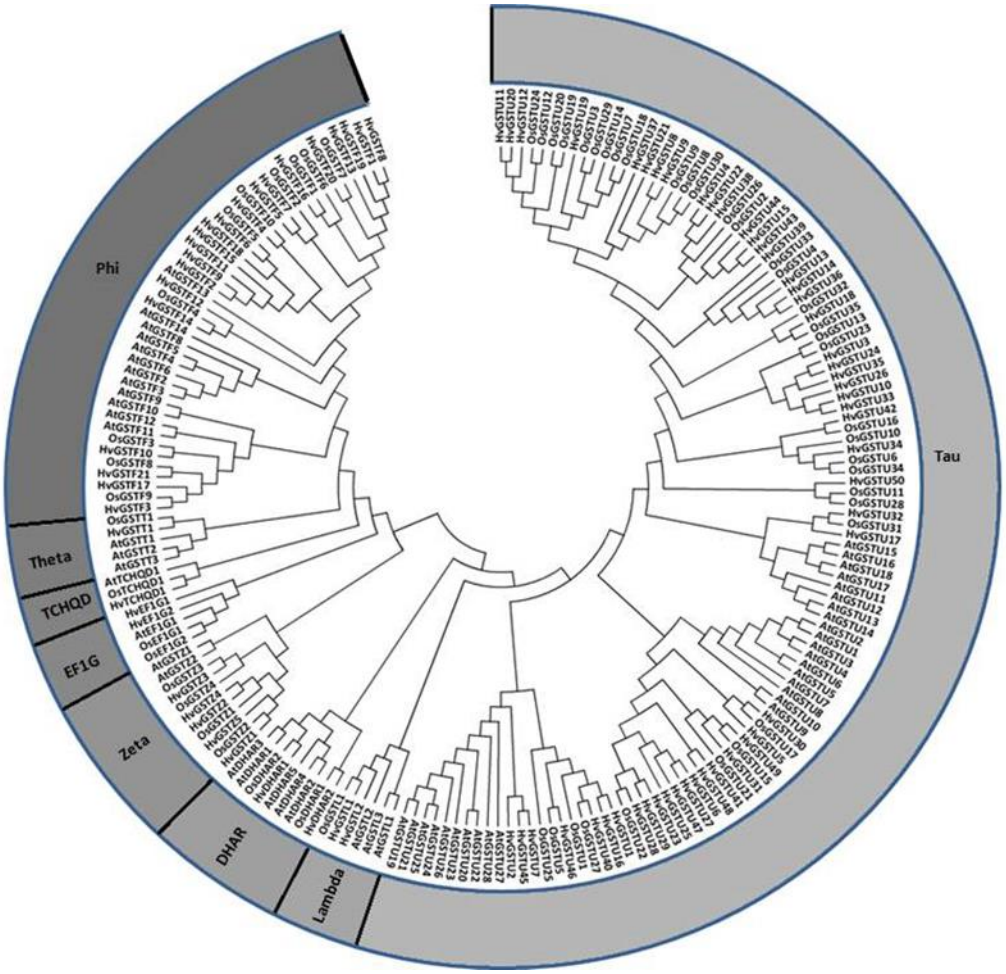
مقابله با این تنش‌ها مجهز شده‌اند. GSTها یکی از سازوکارهای دفاعی طبیعی داخلی گیاهان برای مقابله با تنش‌های غیرزیستی هستند و در این زمینه مطالعات گسترده‌ای صورت گرفته است. در پاسخ به بسیاری از محدودیت‌های محیطی، مطالعات اومیکس (ترانسکریپتومیکس یا پروتئومیکس) القا و افزایش بیان ژن در سطح mRNA یا پروتئین GSTها را در بسیاری از گونه‌ها بخوبی نشان می‌دهد (Sylvestre-Gonon *et al*., 2019). هنگامی که یکی از ژن‌های GST از گیاه گوجه‌فرنگی به نام *LeGSTU2* به آرابیدوپسیس کلون شد، لاین‌های تراریخته با بیش‌بیانی این ژن، قدرت جوانه‌زنی، طول ریشه و همچنین مقاومت به شوری و تنش اسمزی ناشی از NaCl و مانیتول بالاتری داشتند. این ژن *LeGSTU2* با فعالیت GST و همزمان افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز (POD) توان گیاه در تنظیم رادیکال‌های آزاد اکسیژن در افزایش تحمل به تنش را افزایش داد (Xu *et al.*, 2015). گیاهان تراریخته تنباکو با بیش‌بیانی ژن‌های GST از خانواده tau به نام‌های *CsGSTU1* و *CsGSTU2* گرفته از گیاه *Citrus sinensis* که مقاوم به علف‌کش فلورودیفن (fluorodifen) بودند، تحمل مناسبی به خشکی و شوری هنگامی که در محیط مانیتول ۸٪ و NaCl ۲۰۰ میلی‌مولار نیز از خود نشان دادند سازوکار حفاظتی در مقابل علف‌کش فلوردیفن اساساً ناشی از فعالیت اتصال‌دهنده گلوتاتیون احیا (GSH) در GSTها بوده به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها ارتباطی ندارد (Cicero *et al.*, 2015). در ارقام متحمل به خشکی گیاه جو زراعی (*Hordeum vulgare*) فعالیت آنزیمی GST و نیز بیان بعضی از ژن‌های GST نسبت به ژنوتیپ‌های حساس به‌صورت معنی‌دار در شرایط تنش خشکی بالاتر گزارش شده است (Rezaei *et al.*, 2013). مطالعات بسیاری نیز نشان داده است که تیمارهای شیمیایی مانند پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید می‌تواند سبب القای بیان و یا افزایش فعالیت GST در گیاهان شود (Szepesi *et al.*, 2008).

هنگامی‌که ژنوتیپ‌های ذرت در معرض سمیت با فلزات تیتانیوم، سلنیم و کادمیوم (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) قرار می‌گیرند فعالیت آنزیم GST به‌صورت معنی‌دار در برگ‌های تیمارهای مورد آزمایش بالاتر می‌رود. از آنجا که همراه با GST میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دیگر مانند SOD و POD نیز به‌صورت معنی‌دار در تمام ژنوتیپ‌ها بالاتر رفته است، نشان‌دهنده نقش GST در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز است (Lian *et al.*, 2020; El-Ramady *et al*., 2016).

تنظیم بیان ژن و ساختار ژنومی GST در گیاهان: GSTها در مراحل مختلف نمو گیاه از جنین‌زایی تا پیری حضور دارند که بیوسنتز و فعالیت آنزیم‌های مختلف GST در دو گیاه ذرت و برنج در بافت‌های متنوع خود شاهدی بر این ادعا است (Soranzo *et al.*, 2004). آنزیم‌های دسته Tau به‌طور عمده در بافت‌های هوایی و کالوس بیان شده در حالیکه در دسته Phi بیشترین بیان در بافت‌های رویشی مشاهده می‌گردد و دسته Zeta در اکثر بافت‌ها بیان می‌شوند ولی بیان آن‌ها در شرایط تنش محدود است. اختصاصی‌بودن بیان GSTها در بافت‌های گیاهی می‌تواند تحت‌تأثیر شرایط و تیمارهای مختلف تغییر کند به‌طوریکه به‌عنوان مثال، ژن *ZmGSTF2* که به‌طور معمول در ریشه‌های گیاه ذرت (*Zea mays*) بیان می‌شود، با اعمال تیمار علف‌کش بیان این آنزیم در شاخه و برگ نیز مشهود است (Taylor *et al.*, 2013).

تنظیم بیان ژن GSTها به‌طور عمده در سطح رونویسی صورت می‌گیرد البته گزارش‌های محدودی مبنی بر تنظیم بیان پس از رونویسی نیز موجود می‌باشد (Davies and Caseley, 1999). تنظیم بیان هر یک از زیرواحدها تعیین‌کننده گستره شکل‌گیری همودایمر و هترودایمرهای هر آنزیم است. در ذرت کاربرد ترکیبات ایمن‌کننده در برابر علف‌کش‌ها، موجب افزایش بیان ژن‌ها و القای سنتز دو زیرواحد ZmGSTF2 و ZmGSTF1 و تشکیل هترودایمر ZmGSTF1-2، یکی از ایزوزیم‌های اصلی GST می‌شود (Taylor *et al.*, 2013).

در قیاس با پروموتورهای موجود در GST پستانداران، گیاهان فاقد اجزای تنظیم‌کننده زنوبیوتیک‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و



شکل ۴- درخت فیلوژنی و رده‌بندی پروتئین‌های GST در گیاهان جو، برنج و آرابیدوپسیس. ساختار درخت فیلوژنی براساس هم‌ردیفی توالی‌های پروتئینی اعضای این خانواده پروتئینی با استفاده از نرم‌افزار MEGA4 به روش ClustalW و neighbor-joining به‌ترتیب برای ردیف‌آرایی و ترسیم درخت انجام شده است. شاخص Bootstrap پس از هزار مرتبه تکرار در درخت مذکور لحاظ شده است. اسامی مربوط به هر یک از دسته‌ها برروی شکل مشخص شده است (Rezaei *et al.*, 2013).

الکترون دوست‌ها می‌باشند. عامل ocs (octopine synthase) تنها جزء شناخته‌شده در پروموتور GSTهای موجود در سویا، گندم، توتون و آرابیدوپسیس است. به‌نظر می‌رسد این اجزاء فقط در شرایط تنش‌ها القاء می‌شوند، زیرا نه تنها به اکسین و سالیسیلیک اسید واکنش نشان داده بلکه در گیاهانی مانند آرابیدوپسیس، تنباکو و سویا به فلزات سنگین نیز حساس هستند (Chen and Singh, 1999). نمونه بارز پروموتور شناخته‌شده در GSTها مربوط به دسته Zeta در گیاه میخک است، این پروموتور دارای اجزای تنظیم‌کننده اتیلن می‌باشد (Maxson and Woodson, 1996). بعد از تکمیل پروژه ژنوم آرابیدوپسیس و برنج بسیاری از ژن‌های GST در این دو گیاه دسته‌بندی شده‌اند، دو دسته Tau و Phi بیشترین تعداد GST را به خود اختصاص داده که نتیجه دوبل‌شدن‌های متعدد طی تکامل در این دو دسته می‌باشد. به‌طوری‌که شباهت اسید آمینه‌های موجود در هر دسته بین ۵۰ تا ۶۰ درصد است (Wagner *et al.*, 2002). مطالعه بر روی ESTهای موجود در بانک‌های اطلاعاتی Genbank/EMBL/DDBJ ۶۱ ژن GST شامل Tau (۴۰)، Phi (۱۶)، Zeta (۳) و Theta (۲) در گیاه برنج مشاهده گردید (Soranzo *et al.*, 2004). نتایج حاصل از مطالعه رضایی و همکاران (۲۰۱۳) براساس هم‌ردیف‌سازی توالی‌های مربوط خانواده GST در گیاه جو، برنج و آربیدوپسیس نشان داد که ۸۴ عضو خانواده ژنی GST جو در

هشت دسته مختلف از این آنزیم وجود دارد. از هشت دسته موجود در گیاه جو، بزرگترین گروه متعلق به گروه Tau با ۵۰ عضو است و گروه Phi با ۲۱ عضو در رده بعدی است. پنج عضو از گروه Zeta و دو عضو از گروه‌های DHAR و EF1G و LAMBDA وجود دارند و از هر کدام از گروه‌های TETA، TCHQD نیز یک عضو دیده می‌شود. دمین‌های حفاظت‌شده هشت رده GST گیاهان برنج، جو و آرابیدوپسیس در شکل ۴ نشان داده شده است (Rezaei *et al*, 2013).

راز تکامل GSTها: GSTها از نظر تکاملی پروتئین‌هایی بسیار قدیمی هستند. ساختار GSTها در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها تا به حال از طریق کریستالوگرافی و پراش پرتو ایکس مشخص شده است و نشان از ساختار بسیار حفظ‌شده این پروتئین‌ها در طول تکامل دارد (Dixon and Edwards, 2009). تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک نشان می‌دهد که تمام گلوتاتیون S–ترانسفرازهای محلول از یک ژن پیش‌ساز اجدادی، از طریق هر دو مسیر همگرا و واگرا به وجود آمده‌اند (Mohsenzadeh *et al.*, 2011). فرآیند دوبل‌شدن ساختار ژنومی نیز در درون گونه‌ها مکرر اتفاق افتاده و به‌نظر می‌رسد در تکامل ژن‌های GST دوبل‌شدن نقشی مهم و اساسی داشته است. در بسیاری از موارد و مطالعه گیاهان میخک، آرابیدوپسیس و گندم با دوبل‌شدن ژن، یک نقش و عملکرد جدید برای ژن مربوطه به وجود می‌آید (Soranzo *et al.*, 2004). در گیاه جو نیز تکامل اعضای خانواده GST براساس دوبل‌شدن شکل گرفته و عملکردهای جدیدی برای برخی اعضا به وجود آمده است (Jain *et al.*, 2010). از سوی دیگر، دمین انتهایی آمین در آنزیم‌های گلوتاتیون S–ترانسفراز در انتقال گلوتاتیون‌های تیوله بسیار اهمیت دارد. این گلوتاتیون‌های تیوله با استخلاف‌های آبگریزی که در دمین انتهایی کربوکسیل دارند، وارد واکنش شده و منجر به غیرفعال شدن مواد سمی به‌عنوان سوبسترا می‌شوند. لذا تعیین الگوی این دمین، از عوامل مهم در شناسایی اعضای این خانواده است. شواهد مطالعات ساختار ژنومی بیانگر آن است که تکامل مربوط به این دمین که مسئول اتصال به گلوتاتیون می‌باشد، براساس تغییراتی مانند معاوضه (exchange) دمین و جهش‌زایی شکل گرفته است (Rezaei *et al*, 2013).

چشم‌انداز آینده در کاربردGSTها: کاربرد GSTها در متابولیزه‌کردن و زیست‌پالایی آلاینده‌های زیستی مانند TNT، آنتراسن، کلرومکوآت کلرید به اثبات رسیده است. GSTهای دسته Tau آرابیدوپسیس مانند U24 و U25 فعالیت سم‌زدایی در برابر TNT را نشان داده‌اند. گیاه تراریخته آرابیدوپسیس با بیان افزایش‌یافته این GSTها در حذف TNT موجود در محیط به‌صورت قابل‌توجهی کارآمد بودند. بدیهی است این عملکرد در آینده می‌تواند در حذف این ترکیبات شیمیایی مضر توسط گیاهان کاربرد داشته باشد (Gunning *et al.*, 2014). از سوی دیگر پروتئین BphKLB400 از باکتری *Burkholderia xenovorans* LB400 که یک آنالوگ آنزیم GST در این باکتری است و می‌تواند با فعالیت کلرزدایی از ترکیبات سمی ارگانیک کلرینت‌شده، آن را کاتالیز کند. این باکتری با این قابلیت در بیوتکنولوژی محیطی و زیست‌پالایی مورد توجه قرار گیرد (McGuinness *et al.*, 2007).

جمع‌بندی

در این مقاله ویژگی‌های کلیدی خانواده چندژنی و بزرگ GSTهای گیاهی بررسی شد. بی‌تردید، تجزیه و تحلیل بیشتر این اَبَرخانواده پروتئینی، نمونه‌های دیگری از ویژگی‌های گسترده آن را در فیزیولوژی گیاهی مانند فتوسنتز، تنفس، سنتز متابولیت‌های ثانویه، نقش آنتی‌اکسیدانی و تحمل در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی، سم‌زدایی زنوبیوتیک‌ها و غیره نشان خواهد داد. اگرچه در این زمینه‌ها پژوهش‌های بسیاری صورت گرفته، ولی هنوز دامنه بسیار زیادی از سؤالات درباره نحوه تکامل خانواده بزرگ GSTهای گیاهی، دلیل و چگونگی میزان بالای پلی‌مورفیسم در GSTهای گیاهی،چگونگی دخالت این پروتئین‌ها در متابولیسم متابولیت‌های ثانویه، امکان وجود سوبستراهای شناخته نشده بجز زنوبیوتیک‌ها و رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) و سؤال‌های بسیار دیگری بدون جواب است و نیازمند پژوهش‌های گسترده آینده است. مسیر

کاربردهای وسیع اعضای این خانواده پروتئینی در حوزه نانوتکنولوژی، بیوتکنولوژی، تولید آنتی‌اکسیدان‌های غذایی، زیست‌پالایی وگیاه‌پالایی بسیار روشن است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری ارزشمند دکتر کاظم رضایی عضو هیات علمی دانشگاه ساسکاچوان کانادا و کارشناسان بخش تحقیقات فیزیولوژی مولکولی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی در شناسایی ساختار، فعالیت و عملکرد GST قدردانی می‌شود. همچنین نویسندگان مقاله مراتب سپاس خود را از قطب آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی و نیز انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران برای اختصاص یک شماره ویژه از مجله وزین فرآیند و کارکرد گیاهی به مبحث مهم آنتی‌اکسیدان‌ها اعلام می‌نمایند.

منابع

Armstrong, R. N. (1997) Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. Chemical Research in Toxicology 10: 2-18.

Axarli, I. A., Rigden, D. J. and Labrou, N. E. (2004) Characterization of the ligandin site of maize glutathione S-transferase I. Biochemical Journal 382: 885-893.

Babu, M., Gagarinova, A. G., Brandle, J. E. and Wang, A. (2008) Association of the transcriptional response of soybean plants withsoybean mosaic virus systemic infection. Journal of General Virology 89: 1069-1080.

Basantani, M., Srivastava, A. and Sen, S. (2011) Elevated antioxidant response and induction of tau-class glutathione S-transferase after glyphosate treatment in *Vigna radiata* (L.) Wilczek. Pesticide Biochemistry and Physiology 99: 111-117.

Brown, H. M. (1990) Mode of action, crop selectivity, and soil reactions of the sulfonylurea herbicides. Pesticide Science 29: 263-281.

Chen, I. H., Chiu, M. H., Cheng, S. F., Hsu, Y. H. and Tsai, Ch. (2013) The glutathione transferase of *Nicotiana benthamiana* Nb GSTU 4 plays a role in regulating the early replication of Bamboo mosaic virus. New Phytologist 199: 749-757.

Chen, W. and Singh, K. B. (1999) The auxin, hydrogen peroxide and salicylic acid induced expression of the Arabidopsis GST6 promoter is mediated in part by an ocs element. The Plant Journal 19: 667-677.

Chronopoulou, E., Ataya, F. S., Pouliou, F., Perperopoulou, F., Georgakis, N., Nianiou-Obeidat, I., Madesis, P., Ioannou, E. and Labrou, N. E. (2017) Structure, evolution and functional roles of plant glutathione transferases. Glutathione in plant growth, development, and stress tolerance. Springer 195-213.

Chronopoulou, E., Madesis, P., Tsaftaris, A. and Labrou, N. E. (2014) Cloning and characterization of a biotic-stress-inducible glutathione transferase from *Phaseolus vulgaris*. Applied Biochemistry and Biotechnology 172: 595-609.

Cicero, L. L., Madesis, P., Tsaftaris, A. and Piero, A. R. L. (2015) Tobacco plants over-expressing the sweet orange tau glutathione transferases (CsGSTUs) acquire tolerance to the diphenyl ether herbicide fluorodifen and to salt and drought stresses. Phytochemistry 116: 69-77.

Conn, S., Curtin, C., Bezier, A., Franco, C. and Zhang, W. (2008) Purification, molecular cloning, and characterization of glutathione S-transferases (GSTs) from pigmented *Vitis vinifera* L. cell suspension cultures as putative anthocyanin transport proteins. Journal of Experimental Botany 59: 3621-3634.

da Fonseca, R. R., Johnson, W. E., O'Brien, S. J., Vasconcelos, V. and Antunes, A. (2010) Molecular evolution and the role of oxidative stress in the expansion and functional diversification of cytosolic glutathione transferases. BMC Evolutionary Biology 10: 1-11.

Davies, J. and Caseley, J. C. (1999) Herbicide safeners: a review. Pesticide Science 55: 1043-1058.

Deponte, M. (2013) Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects 1830: 3217-3266.

Dixon, D. P. and Edwards, R. (2009) Selective binding of glutathione conjugates of fatty acid derivatives by plant glutathione transferases. Journal of Biological Chemistry 284: 21249-21256.

Dixon, D. P., Sellars, J. D. and Edwards, R. (2011) The Arabidopsis phi class glutathione transferase At GSTF2: binding and regulation by biologically active heterocyclic ligands. Biochemical Journal 438: 63-70.

Eder, J. and Cosio, E. G. (1994) Elicitors of plant defense responses. In: International Review of Cytology (eds. Jeon, K. W. and Jarvik, J.) Pp. 1-36. Academic Press.

Edwards, R., Dixon, D. P. and Walbot, V. (2009) Plant glutathione S-transferases: enzymes with multiple functions in sickness and in health. Trends in Plant Science 5: 193-198.

El-Ramady, H., Abdalla, N., Taha, H. S., Alshaal, T., El-Henawy, A., Salah, E. D. F., Shams, M. S., Youssef, S. M., Shalaby, T. and Bayoumi, Y. (2016) Selenium and nano-selenium in plant nutrition. Environmental Chemistry Letters 14: 123-147.

Frova, C. (2003) The plant glutathione transferase gene family: Genomic structure, functions, expression and evolution. Physiologia Plantarum 119: 469-479.

Frova, C. (2006) Glutathione transferases in the genomics era: new insights and perspectives. Biomolecular Engineering 23: 149-169.

Georgakis, N., Poudel, N., Papageorgiou, A. C. and Labrou, N. E. (2020) Comparative structural and functional analysis of phi class glutathione transferases involved in multiple-herbicide resistance of grass weeds and crops. Plant Physiology and Biochemistry 149: 266-276.

Gong, H., Jiao, Y., Hu, W. W. And Pua, E. C. (2005) Expression of glutathione-S-transferase and its role in plant growth and development *in vivo* and shoot morphogenesis *in vitro*. Plant Molecular Biology 57: 53-66.

Gullner, G., Komives, T., Kiraly, L. and Schroder, P. (2018) Glutathione S-transferase enzymes in plant-pathogen interactions. Frontiers in Plant Science 9: 1-19.

Gunning, V., Tzafestas, K., Sparrow, H., Johnston, E. J., Brentnall, A. S., Potts, J. R., Rylott, E. L. and Bruce, N. C. (2014) Arabidopsis glutathione transferases U24 and U25 exhibit a range of detoxification activities with the environmental pollutant and explosive, 2, 4, 6-trinitrotoluene. Plant Physiology 165: 854-865.

Hu, B., Zhao, J., Lai, B., Qin, Y., Wang, H. and Hu, G. (2016) LcGST4 is an anthocyanin-related glutathioneS-transferase gene in *Litchi chinensis* Sonn. Plant Cell Reports 35: 831-843.

Jain, M., Ghanashyam, C. and Bhattacharjee, A. (2010) Comprehensive expression analysis suggests overlapping and specific roles of rice glutathione S-transferase genes during development and stress responses. BMC Genomics 11: 1-17.

Kitamura, S., Akita, Y., Ishizaka, H., Narumi, I. and Tanaka, A. (2012) Molecular characterization of an anthocyanin-related glutathione S-transferase gene in cyclamen. Journal of Plant Physiology 169: 636-642.

Kumar, S., Asif, M. H., Chakrabarty, D., Tripathi, R. D., Dubey, R. S. and Trivedi, P. K. (2013) Expression of a rice Lambda class of glutathione S-transferase, OsGSTL2, in Arabidopsis provides tolerance to heavy metal and other abiotic stresses. Journal of Hazardous Materials 248: 228-237.

Kumar, S. and Trivedi, P. K. (2018) Glutathione S-Transferases: Role in combating abiotic stresses including arsenic detoxification in plants. Frontiers in Plant Science 9.

Lallement, P. A., Brouwer, B., Keech, O., Hecker, A. and Rouhier, N. (2014) The still mysterious roles of cysteine-containing glutathione transferases in plants. Frontiers in Pharmacology 5: 192.

Lian, J., Zhao, L., Wu, J., Xiong, H., Bao, Y., Zeb, A., Tang, J. and Liu, W. (2020) Foliar spray of TiO_2 nanoparticles prevails over root application in reducing Cd accumulation and mitigating Cd-induced phytotoxicity in maize (*Zea mays* L.). Chemosphere 239: 124794.

Maxson, J. and Woodson, W. (1996) Ethylene-responsive gene expression during carnation flower senescence. International Postharvest Science Conference Postharvest 96 464.

McGuinness, M., Mazurkiewicz, V., Brennan, E. and Dowling, D. (2007) Dechlorination of pesticides by a specific bacterial glutathione S-transferase, BphKLB400: potential for bioremediation. Engineering in Life Sciences 7: 611-615.

Mohsenzadeh, S., Esmaeili, M., Moosavi, F., Shahrtash, M., Saffari, B. and Mohabatkar, H. (2011) Plant glutathione S-transferase classification, structure and evolution. African Journal of Biotechnology 10: 8160-8165.

Nianiou-Obeidat, I., Madesis, P., Kissoudis, C., Voulgari, G., Chronopoulou, E., Tsaftaris, A. and Labrou, N. E. (2017) Plant glutathione transferase-mediated stress tolerance: functions and biotechnological applications. Plant Cell Reports 36: 791-805.

Noctor, G., Queval, G., Mhamdi, A., Chaouch, S. and Foyer, Ch. (2011) Glutathione. The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists 9.

Rezaei, M. K., Shobbar, Z. S., Shahbazi, M., Abedini, R. and Zare, S. (2013) Glutathione S-transferase (GST) family in barley: identification of members, enzyme activity, and gene expression pattern. Journal of Plant Physiology 170: 1277-1284.

Scalla, R. and Roulet, A. (2002) Cloning and characterization of a glutathione S-transferase induced by a herbicide safener in barley (*Hordeum vulgare*). Physiologia Plantarum 116: 336-344.

Shi, H. Y., Li, Z. H., Zhang, Y. X., Chen, L., Xiang, D. Y. and Zhang, Y. F. (2014) Two pear glutathione S-transferases genes are regulated during fruit development and involved in response to salicylic acid, auxin, and glucose signaling. PLoS One 9: e89926.

Skopelitou, K., Muleta, A. W., Papageorgiou, A. C., Chronopoulou, E. and Labrou, N. E. (2015) Catalytic features and crystal structure of a tau class glutathione transferase from *Glycine max* specifically upregulated in response to soybean mosaic virus infections. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics 1854: 166-177.

Soranzo, N., Gorla, M. S., Mizzi, L., De Toma, G. and Frova, C. (2004) Organisation and structural evolution of the rice glutathione S-transferase gene family. Molecular Genetics and Genomics 271: 511-521.

Su, T., Xu, J., Li, Y., Lei, L., Zhao, L., Yang, H., Feng, J., Liu, G. and Ren, D. (2011) Glutathione-indole-3-acetonitrile is required for camalexin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Cell 23: 364-380.

Sylvestre-Gonon, E., Law, S. R., Schwartz, M., Robe, K., Keech, O., Didierjean, C., Dubos, C., Rouhier, N. and Hecker, A. (2019) Functional, structural and biochemical features of plant serinyl-glutathione transferases. Frontiers in Plant Science 10: 608.

Szepesi, A., Csiszar, J., Galle, A., Gemes, K., Poor, P. and Tari, I. (2008) Effects of long-term salicylic acid pre-treatment on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. L.) salt stress tolerance: Changes in glutathione S-transferase activities and anthocyanin contents. Acta Agronomica Hungarica 56: 129-138.

Taylor, V. L., Cummins, I., Brazier-Hicks, M. and Edwards, R. (2013) Protective responses induced by herbicide safeners in wheat. Environmental and Experimental Botany 88: 93-99.

Vaish, S., Gupta, D., Mehrotra, R., Mehrotra, S. and Basantani, M. K. (2020) Glutathione S-transferase: a versatile protein family. 3 Biotech 10: 321.

Wagner, U., Edwards, R., Dixon, D. P. and Mauch, F. (2002) Probing the diversity of the Arabidopsis glutathione S-transferase gene family. Plant Molecular Biology 49: 515-532.

Xu, J., Xing, X. J., Tian, Y. S., Peng, R. H., Xue, Y., Zhao, W. and Yao, Q. H. (2015) Transgenic Arabidopsis plants expressing tomato glutathione S-transferase showed enhanced resistance to salt and drought stress. PloS One 10: e0136960.

Zettl, R., Schell, J. and Palme, K. (1994) Photoaffinity labeling of *Arabidopsis thaliana* plasma membrane vesicles by 5-azido-[7-3H] indole-3-acetic acid: identification of a glutathione S-transferase. Proceedings of the National Academy of Sciences 91: 689-693.

Glutathione-S transferases and their function as a protein superfamily in plants

Maryam Shahbazi [1]*, Amin Karami [2], Mohammad Saeed Pazirandeh[3], Zahra Sadat Shobbar[4]

[1] Department of Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
[2] Department of Plant Biology, Faculty of Biology, University of Tehran
[3] Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu Ali Sina University, Hamedan
[4] Systems Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AERRO)
(Received: 29/10/2021, Accepted: 08/05/2022)

Abstract

Glutathione s transferase (GST) is one of the largest protein and multigene families present in all plant species and other living organisms. With respect to these proteins, which are highly inducible to stress and internal and external stimuli, several functions in plants have been identified, including implication in secondary metabolism, growth and development, detoxification of herbicides, as well as coping with environmental stresses such as drought, heat, and salinity through antioxidant activity. These enzymes lead to cell detoxification by binding glutathione to a variety of substrates such as endobiotics and xenobiotics. Most GSTs are cytoplasmic soluble enzymes, but mitochondrial and microsomal isoforms are also have been known in plants and animals. This article presents some of the most important recent findings on the evolution of GST, its frequency and structural features, with an emphasis on their role in plants. Also, the latest applications of this family of proteins in environmental biotechnology will be mentioned**.**

Keywords: Antioxidant, Biotechnology, Detoxification, Glutathione S-transferase, Growth and development, Secondary metabolism

Corresponding author, Email: maryam.shahbazi@gau.ac.ir