



PHÂN TÍCH IN SILICO CÁC GENE MÃ HÓA GLUTAMATE DEHYDROGENASE Ở CÂY ĐẬU COVE (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cao Phi Bằng^{1*}

¹Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ

Ngày nhận bài: 20/5/2020; Ngày chỉnh sửa: 16/6/2020; Ngày duyệt đăng: 17/6/2020

Tóm tắt

Enzyme glutamate dehydrogenase (GDH, EC 1.4.1.2~4) xúc tác phản ứng thuận nghịch khử amin hóa glutamate tới α -ketoglutarate hoặc 2-oxoglutarate. Enzym này đóng vai trò quan trọng trong sự trao đổi amino acid của thực vật. Năm gene mã hóa GDH đã được xác định trong hệ gene của cây Đậu cove. Các gene này được chia thành hai nhóm, nhóm I (NADPH-GDH) có hai gene (PvGDH₄ và PvGDH₅) và nhóm II (NADH-GDH) có ba gene (PvGDH₁, PvGDH₂ và PvGDH₃). Các gene này có các đặc điểm cấu trúc, hóa lý không giống nhau. Các protein chia sẻ motif bảo tồn gắn cơ chất đặc hiệu α -ketoglutarate và motif gắn đặc hiệu coenzym NAD(P)H. Ngoài ra, các protein nhóm II còn có motif bảo tồn tín hiệu khu trú ti thể ở đầu N. Các gene GDH của cây Đậu cove biểu hiện khác nhau ở các mô khác nhau. Bốn gene PvGDH₁, PvGDH₃, PvGDH₄ và PvGDH₅ biểu hiện ở tất cả các mô ở tất cả các giai đoạn phát triển được nghiên cứu. Các kết quả nghiên cứu này là nền tảng cho các nghiên cứu xa hơn về chức năng và ứng dụng các GDH của cây Đậu cove.

Từ khóa: Glutamate dehydrogenase, biểu hiện gen, cây phá hệ, đặc trưng của gen, Đậu cove.

1. Đặt vấn đề

Đậu cove (*Phaseolus vulgaris* L.) là loài cây có nhiều giá trị dinh dưỡng, kinh tế và sinh thái. Hạt Đậu cove chứa nhiều protein, giàu năng lượng, khoáng, vitamin và xơ nên có giá trị dinh dưỡng cao [1]. Nhờ vào các giá trị trên, cây Đậu cove được trồng rộng rãi trên thế giới [2].

Glutamate dehydrogenase (GDH, EC 1.4.1.2~4) là enzyme xúc tác phản ứng thuận nghịch khử amin hóa glutamate tới α -ketoglutarate hoặc 2-oxoglutarate nhờ sử dụng NADH hoặc NADPH như là coenzyme [3]. GDH có ở khắp các sinh vật

từ vi khuẩn đến các sinh vật nhân chuẩn. Ở thực vật, enzyme này rất phong phú và có mặt ở nhiều cơ quan, định khu ở ti thể, lục lạp và dịch bào [3]. Glutamate dehydrogenase tham gia vào quá trình đồng hóa NH₄⁺ ở thực vật cùng với hệ thống GS/GOGAT. Enzyme này tham gia vào sự cân bằng glutamate nội mô, amino acid giữ vai trò trung tâm trong nhiều quá trình trao đổi chất [4-5]. Các GDH thường liên quan tới tính chống chịu của thực vật thông qua cân bằng N/C của thực vật [6]. Về cấu trúc, các GDH có mang hai vùng bảo thủ đặc trưng là vùng gắn glutamate và vùng gắn NAD(P) [7]. Nhiều nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng ở thực vật có ít nhất hai gene mã hóa cho GDH, một mã hóa cho dưới đơn

*Email: phibang.cao@hvu.edu.vn

vị a và một mã hóa cho dưới đơn vị b, hai dưới đơn vị này kết hợp với nhau theo các tỷ lệ khác nhau có thể tạo thành 7 dạng isozyme khác nhau [8]. Các họ GDH đã được phân tích ở *Arabidopsis* [9], ở lúa [10], ở cà chua [11]. Tuy nhiên, những nghiên cứu về sự điều hòa biểu hiện của các gene GDH còn chưa nhiều. Đến nay, sự biểu hiện của GDH được biết là có đáp ứng với các tác nhân bất lợi vô sinh như hạn, mặn, nhiệt độ, kim loại nặng và sự thiếu carbon [4, 12-13]. Rất gần đây, sự biểu hiện của các gene GDH trong quá trình chín của quả cà chua cũng được báo cáo [11-14]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu toàn diện về họ gene GDH trên quy mô hệ gene của cây Đậu cove, loài cây có khả năng cố định N₂.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi hướng tới việc xác định các gene mã hóa cho các GDH trong hệ gene của cây Đậu cove. Đồng thời chúng tôi trình bày các kết quả phân tích về các đặc tính hóa - lý và cấu trúc cũng như sự biểu hiện của các gene này thông qua phân tích kết quả RNAseq (giải trình tự ARN).

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Cơ sở dữ liệu về các trình tự hệ gene và RNAseq ở cây Đậu cove

Trong nghiên cứu này, trình tự hệ gene của cây Đậu cove được lưu trữ trên LIS-Legume

Information System (<https://legumeinfo.org/organism/Phaseolus/vulgaris>) được lấy từ Schmutz *et al.* (2014) [15]. Dữ liệu RNAseq được lấy từ O'Rourke *et al.* [16].

2.2. Xác định các gene thuộc họ GDH ở cây Đậu cove

Các GDH của cây Đậu cove được tìm kiếm bằng cách sử dụng các protein GDH của cây đậu tương [17] làm khuôn dò nhờ chương trình TBLASTN [18].

2.3. Xây dựng cây phả hệ

Các protein GDH của cây Đậu cove, đậu tương và *Arabidopsis* được sắp dãy bằng MAFFT [19]. Cây phả hệ được xây dựng nhờ phần mềm MEGA X theo phương pháp NJ, giá trị bootstraps bằng 1000 [20].

2.4. Phân tích các đặc điểm hóa - lý

Các đặc điểm vật lý, hóa học của các gene/protein được phân tích in silico bằng các công cụ trên server ExPASy [21]. Cấu trúc exon/intron được xây dựng nhờ GSDS 2.0 [22].

2.5. Phân tích in silico sự biểu hiện gene

Sự biểu hiện của các gene GDH ở cây Đậu cove được phân tích qua kết quả RNAseq của cây Đậu cove [23].

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

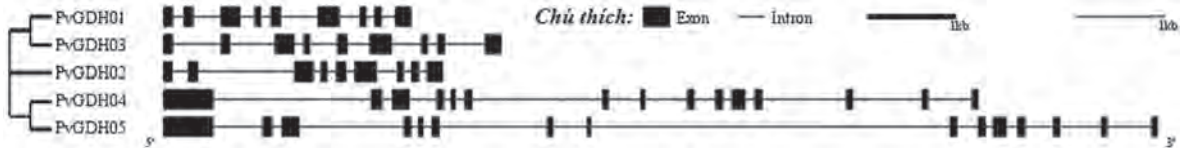
3.1. Xác định và phân tích đặc điểm các gene GDH ở cây Đậu cove

Bảng 1. Các gene thuộc họ GDH của cây Đậu cove và đặc điểm của chúng

Gene	Tên locus	Kích thước gene (bp)	Chiều dài protein (aa)	Khối lượng protein (kD)	pI	Nhiễm sắc thể	Số lượng intron
PvGDH01	Phvul.001G110500	2.783	411	44,63	6,61	01	8
PvGDH02	Phvul.003G225100	3.136	412	45,10	6,03	03	8
PvGDH03	Phvul.004G080200	3.788	411	44,57	6,15	04	8
PvGDH04	Phvul.010G141900	9.127	639	71,78	7,21	10	14
PvGDH05	Phvul.010G142000	11.136	629	70,34	6,43	10	14

Tổng số 5 gene mã hóa GDH đã được xác định trong hệ gene của cây Đậu cove (Bảng 1). Protein suy diễn của các gene này mang vùng bảo tồn Glu/Leu/Phe/Val dehydrogenase

(PF₀₂₈₁₂ và PF₀₀₂₀₈). Họ GDH của cây Đậu cove lớn hơn so với của cây *A. thaliana*, cây cà chua và cây lúa (cùng có 4 gene) [10-11][24] nhưng nhỏ hơn ở cây đậu tương (10 gene) [17].



Hình 1. Cấu trúc exon/intron của các gene GDH của cây Đậu cove

Các gene mã hóa GDH ở cây Đậu cove có chiều dài từ 2.783 pb đến 11.136 pb, mã hóa không liên tục, trong đó ba gene PvGDH₁, PvGDH₂ và PvGDH₃ có 8 intron trong khi hai gene PvGDH₄ và PvGDH₅ cùng có 14 intron (Hình 1). Các protein suy diễn có kích thước từ 411 đến 639 amino acid. Khối lượng protein suy diễn dao động từ 44,57

kD đến 71,78 kD. Các protein GDH của cây Đậu cove có tính axit yếu đến trung tính. Như vậy, các gene GDH của cây Đậu cove có đặc điểm tương đồng với các gene GDH ở một số loài khác như *Bryopsis maxima* [25], *Nicotiana plumbaginifolia* [26], *A. thaliana* [9], đặc biệt rất giống với ở loài đậu tương [17].

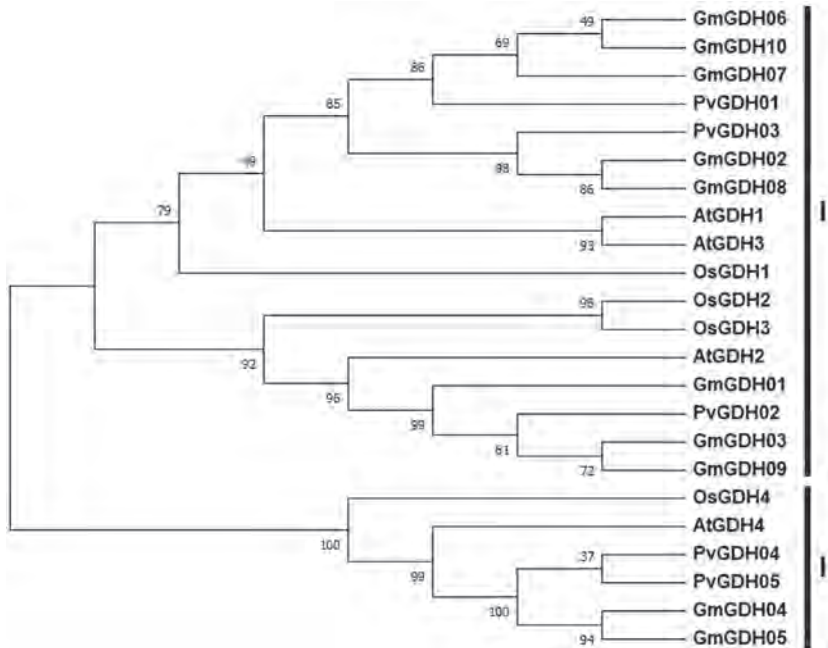
3.2. Phân tích cấu trúc và phân loại các GDH của cây Đậu cove

```
PvGDH02 MFLKAAATNANFQAKAKYLLGSDSK---LEKSLILPFREIRVECTIPKDDGTLVSYVGFRIQ
PvGDH03 MNALAAATNANFRLASRLLGSDSK---LEKSLILPFREIRVECTIPKDDGTLATVVGFRIQ
PvGDH01 MNALAAATNANFRLASRLLGSDSK---LEKSLILPFREIRVECTIPKDDGTLQSYVGFRIQ
PvGDH04 VEFIQAVQEAVALERVIKANSRYVNIMERLLEPERMIIFRVSVWDDRGVTHVNRGFRVQ
PvGDH05 VEFIQAVQEAVALERVIKANSRYVNIMERLLEPERMIIFRVSVWDDRGVTHVNRGFRVQ
* : * : * : : * : : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : :
PvGDH02 HDNARGPMKGGIRYHPEVDPDEVNALAQLMTWKTAVAMIPYGGARGGIGCNPALDSISEL
PvGDH03 HDNARGPMKGGIRYHPEVDPDEVNALAQLMTWKTAVAMIPYGGARGGIGCNPALDSISEL
PvGDH01 HDNARGPMKGGIRYHPEVDPDEVNALAQLMTWKTAVAMIPYGGARGGIGCNPALDSISEL
PvGDH04 YNQSMGPCRGGIRFHPFSMNLISVAKFLGFEQTLKNALSPLKLGGAAGGSDFDGPKGKSDNEI
PvGDH05 YNQSMGPCRGGIRFHPFSMNLISVAKFLGFEQTLKNALSPLKLGGAAGGSDFDGPKGKSDNEI
: : * : * : * : : * : : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : :
PvGDH02 ERLTRVFTQKIHDLIGVQDVPAPDMGTNAQTMAWILDEYSKFGHGSFAVVTGKPIDLGG
PvGDH03 ERLTRVFTQKIHDLIGVQDVPAPDMGTNAQTMAWILDEYSKFGHGSFAVVTGKPIDLGG
PvGDH01 ERLTRVFTQKIHDLIGVQDVPAPDMGTNAQTMAWILDEYSKFGHGSFAVVTGKPIDLGG
PvGDH04 NRFQCSFMSEMYVYLGPDKDLFSEEMGVGTREMGYLFGQYRRLAGHFQGSFTGPRIFWSG
PvGDH05 NRFQCSFMSEMYVYLGPDKDLFSEEMGVGTREMGYLFGQYRRLAGHFQGSFTGPRIFWSG
* : * : * : : * : : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : :
PvGDH02 SLGREAAATGLGVVFATEALFAEYKGISDHTPVIQGFQNVGVAWAASIVYERGGVIAISD
PvGDH03 SLGREDAATGRGVLFATEALLQEHCKSVSGQRFFVQGFVGNVQSMWAQVISEKGGKVAVSD
PvGDH01 SLGREDAATGRGVLFATEALLQEHCKSVSGQRFFVQGFVGNVQSMWAQVISEKGGKVAVSD
PvGDH04 SSLRPEATGYGLVFAQLMLADMNKELRGLRCVVGSGKILAMHVKLITAYGALPISVSD
PvGDH05 SSLRPEATGYGLVFAQLMLADMNKELRGLRCVVGSGKILAMHVKLITAYGALPISVSD
* : * : * : : * : : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : :
PvGDH02 IEGAIKNSGLIDI--PALLKHKDDGNQTLKDFPG---AEVMDPNELLVHCCDVLIPCAL
PvGDH03 VTGAIKNSGLIDI--PALLKHSRE-HRQVKGFBG---GDAIDPNSILVEDCDVLPAL
PvGDH01 IEGAIKNSGLIDI--PALLKHSRE-HRQVKGFBG---GDAIDPNSILVEDCDVLPAL
PvGDH04 SRGYLVDEDEGFDYIKISFLRDIKAQORSLRDYSKTYARSKYDEAKFWNERCDVAFACAS
PvGDH05 SRGYLVDEDEGFDYIKISFLRDIKAQORSLRDYSKTYARSKYDEAKFWNERCDVAFACAS
* : : * : * : * : : * : : : * : : : * : : : * : : : * : : : * : : :
PvGDH02 GGVINRENASIV---KAKFIEAANHTDPEADEILSKKGVIIIPDIYANAGGVTVSYFE
PvGDH03 GGVINRENANEI---KANFIVEAANHTDPEADEILSKKGVIIIPDIYANAGGVTVSYFE
PvGDH01 GGVINRENANEI---KANFIVEAANHTDPEADEILSKKGVIIIPDIYANAGGVTVSYFE
PvGDH04 QNEINQSDAINLVNSGCHLVEGSNMPCPEAVQILRKAASILVAFAMTAGAGGVVAGELE
PvGDH05 NHEIDQSDAINLVNSGCHLVEGSNMPCPEAVQILRKAASILVAFAMTAGAGGVVAGELE
: : : * : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : :
PvGDH02 VVQNIQGFVMWDEEKVNRELKRYNTRAFRDKTKMC---KIHNCDLRMGAFGLAVNRVA
PvGDH03 VVQNIQGFVMWDEEKVNRELRRYMTKGFQVVKEMC---QTHNCDLRMGAFGLAVNRVA
PvGDH01 VVQNIQGFVMWDEEKVNRELNNYTKAKFQVVKEMC---KSHCDLRMGAFGLAVNRVA
PvGDH04 LNHECSLMHNSPEDFESKLQEAQKQTYQRAIKAAATDFGYQKESPEALVHGAVISAFLLTS
PvGDH05 LNHECSLMHNSPEDFESKLQEAQKQTYQRAIKAAATDFGYQKESPEALVHGAVISAFLLTIA
: : : * : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : : * : * : : :
PvGDH02 RATVLRGWEA
PvGDH03 RATVLRGWEA
PvGDH01 RATVLRGWEA
PvGDH04 QAMTDQG-SV
PvGDH05 QAMTDQG-SI
* : * : *
```

Hình 2. Các motif bảo tồn của các PvGDH. Dấu ★ đánh dấu các amino acid bảo tồn, các amino acid tín hiệu định hướng protein vào trong ti thể được đóng khung nét đứt, vùng gắn a-ketoglutarate được đóng khung nét liền, vùng gắn NAD(P)H được tô nền xám

Phân tích sâu hơn trình tự amino acid các GDH của cây Đậu cove cho thấy chúng đều mang các motif bảo tồn đặc trưng (Hình 2). Ở đầu amin (N-terminal), ba GDH của cây Đậu cove có motif bảo tồn là peptide tín hiệu định hướng protein vào trong ti thể. Motif gắn đặc hiệu cơ chất α -ketoglutarate được phát hiện ở cả 5 PvGDH. Ở PvGDH₁,

PvGDH₂ và PvGDH₃ có motif gắn NADH (GxGx2Gx10G), trong khi hai protein còn lại có vùng gắn đặc hiệu NADPH (GxGx2Ax10G). Các motif bảo tồn này tương đồng cao với các GDH của một số loài thực vật khác như lúa [10] thuộc lá [26], cà chua [11], đậu tương [17].



Hình 3. Cây phả hệ được xây dựng từ các GDH của cây Đậu cove (Gm), cây *A. thaliana* (At), cây cà chua (Sl) và cây lúa (Os). Cây phả hệ được xây dựng với các tham biến: thuật toán Maximum Likelihood, mô hình Jones-Taylor-Thornton (JTT), phương pháp Bootstrap với 1000 lần lặp lại, giá trị bootstrap (%) được thể hiện trên mỗi nhánh (giá trị nhỏ hơn 50 không được thể hiện)

Cây phả hệ được xây dựng từ các protein GDH của Đậu cove và các loài Arabidopsis, lúa và đậu tương được trình bày ở Hình 3. Cây phả hệ gồm hai nhánh, trong đó nhánh lớn có ba gene của cây Đậu cove là PvGDH₁, PvGDH₂ và PvGDH₃. Hai gene còn lại nằm trên nhánh thứ hai. Căn cứ và cấu trúc cũng như cây phả hệ, có thể phân chia các GDH của cây đậu tương thành hai nhóm, nhóm I (gồm PvGDH₄ và PvGDH₅) và nhóm II (gồm

PvGDH₁, PvGDH₂ và PvGDH₃). Nhiều loài thực vật khác, các GDH cũng được phân chia thành hai nhóm tương ứng [10, 17, 24]. Sự phân chia các GDH thành hai nhóm khác nhau trên cây phả hệ phù hợp với cấu trúc của chúng, nhóm I gồm các protein có motif bảo thủ gắn NADPH (GxGx2Ax10G) trong khi nhóm II gồm các protein có motif bảo thủ gắn NADH (GxGx2Gx10G) như đã được chỉ ra ở trên.

3.3. Phân tích sự biểu hiện gene

Sự biểu hiện gene của các gene GDH đã được phân tích nhờ hệ dữ liệu RNAseq (giải trình tự các ARN thông tin) thu được từ các mô, cơ quan sinh dưỡng (Bảng 2) và sinh sản (Bảng 3) của cây Đậu cove.

Bảng 2. Sự biểu hiện của các gene GDH của cây Đậu cove trong các mô sinh dưỡng

Gene	Mô													
	YL	LF	LE	LI	YS	ST	RT	YR	RF	RE	RI	NE	NI	
PvGDH ₀₁	20	24	19	29	31	35	52	117	13	41	55	17	37	
PvGDH ₀₂	0	0	0	0	0	3	2	0	1	1	0	0	0	
PvGDH ₀₃	31	2	2	1	64	86	70	342	8	47	29	31	7	
PvGDH ₀₄	6	4	4	6	9	11	7	7	12	10	16	6	17	
PvGDH ₀₅	6	4	5	13	14	13	8	7	14	14	21	10	25	

Ghi chú: YL = Mô lá của cây ở giai đoạn lá chết thứ 2 hoàn chỉnh của cây đã được bón phân; LF = Mô lá của cây được tưới phân 21 ngày; LE = Mô lá của cây được ủ 21 ngày với rhizobium hữu hiệu; LI = Mô lá của cây được ủ 21 ngày với rhizobium vô hiệu; YS = Lóng thân phía trên lá mầm của cây ở giai đoạn lá chết thứ hai; ST = Chồi bao gồm mô phân sinh đỉnh của cây ở giai đoạn lá chết thứ hai; RT = Chóp rễ thu từ cây được tưới phân ở giai đoạn hai lá chết; YR = Rễ hoàn chỉnh thu từ cây được tưới phân ở giai đoạn hai lá chết; RE = Rễ hoàn chỉnh thu từ cây có nốt sần cố định hoạt động sau 21 ngày ủ; RI = Rễ hoàn chỉnh thu từ cây có nốt sần cố định bất hoạt sau 21 ngày ủ; NE = Nốt sần cố định hữu hiệu được thu sau 21 ngày ủ; NI = Nốt sần cố định vô hiệu được thu sau 21 ngày ủ.

Bảng 3. Sự biểu hiện của các gene GDH của cây Đậu cove trong các mô sinh sản

Gene	Mô								
	FY	PY	PH	P ₁	P ₂	SH	S ₁	S ₂	
PvGDH ₀₁	36	13	58	29	41	68	32	19	
PvGDH ₀₂	16	0	0	0	0	11	72	10	
PvGDH ₀₃	9	3	7	2	4	14	3	3	
PvGDH ₀₄	9	3	12	8	10	11	7	5	
PvGDH ₀₅	10	4	15	10	17	10	6	5	

Ghi chú: FY = Hoa non; PY = Vỏ quả non ở giai đoạn 1-4 ngày sau rụng hoa, mẫu chứa các phôi đang phát triển ở giai đoạn hình cầu; PH = Vỏ của quả dài gần 9 cm, hạt ở giai đoạn hình tim; P₁ = Vỏ của quả dài gần 10-11 cm, hạt ở giai đoạn 1; P₂ = Vỏ của quả dài gần 12-13 cm, hạt ở giai đoạn 2; SH = Hạt ở giai đoạn hình tim, dài 3-4 mm, nặng gần 7 mg; S₁ = Hạt ở giai đoạn 1, dài 6-7 mm, nặng gần 50 mg; S₂ = Hạt ở giai đoạn 2, dài 8-10 mm, nặng gần 140-150 mg

Tất cả các gene GDH của cây Đậu cove đều biểu hiện ở tất cả các loại mô nghiên cứu với mức độ biểu hiện khác nhau tùy từng gene và thay đổi tùy loại mô, ngoại trừ PvGDH₂, gene này không biểu hiện ở lá, thân mầm và vỏ quả. Nhìn tổng thể, gene PvGDH₁ biểu hiện mạnh nhất ở 12 trong tổng số 21 mô nghiên cứu. Đặc biệt, gene này biểu hiện mạnh nhất ở 7 trong tổng số 8 mô của cơ quan sinh sản. Trong khi đó, gene PvGDH₃ biểu hiện mạnh nhất so với các gene khác ở 7 trong tổng số 21 mô nghiên cứu. Khi so sánh sự biểu hiện gene giữa các mô, gene PvGDH₁ và PvGDH₃ biểu hiện mạnh nhất ở YR (Rễ hoàn chỉnh thu từ cây được tưới phân ở giai đoạn hai lá chét). Riêng gene PvGDH₂ biểu hiện mạnh nhất ở S₁ (hạt ở giai đoạn 1, dài 6-7 mm, nặng gần 50 mg). Hai gene PvGDH₄ và PvGDH₅ biểu hiện khá ổn định ở trong tất cả các loại mô. Các gene GDH biểu hiện khác nhau ở các mô khác nhau đã được báo cáo ở *Arabidopsis* [13], cà chua [11] và đậu tương [17].

4. Kết luận

Đã xác định được 5 gene mã hóa GDH trong hệ gene của cây Đậu cove, trong đó có hai gene thuộc nhóm I (nhóm NADPH-GDH) có 2 gene và nhóm II (nhóm NADH-GDH) có 3 gene. Hai gene nhóm I có 14 intron trong khi ba gene nhóm II có 8 intron. Các gene này mã hóa các protein có kích thước khá từ 411 amino acid đến 639 amino acid. Các GDH của cây Đậu cove được xếp vào hai nhóm giống như ở nhiều thực vật khác dựa trên phân tích cấu trúc và cây phả hệ. Các protein GDH đều chứa motif bảo tồn gắn cơ chất đặc hiệu α -ketoglutarate và coenzyme NAD(P)H. Các gene trong họ GDH của cây Đậu cove biểu hiện khác nhau ở các

mô khác nhau. Trong đó, ngoại trừ PvGDH₂, các gene còn lại biểu hiện trong tất cả các mô nghiên cứu. Những kết quả nghiên cứu về các gene PvGDH này cung cấp các thông tin về cấu trúc, phân loại, và vai trò của các gene GDH của cây Đậu cove, mở đường cho các nghiên cứu đầy đủ chức năng và ứng dụng của các gene này.

Tài liệu tham khảo

- [1] De Almeida Costa G.E., da Silva Queiroz-Monici K., Pissini Machado Reis S.M. & de Oliveira A.C. (2006). Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chemistry*, 94(3), 327-330.
- [2] Jones A.L. (1999). Phaseolus bean: Post-harvest operations. AGSI/FAOMEjia D. Rome: Centro Internacional de Agricultura Tropical, FAO, 1-24.
- [3] Dubois F., Tercé-Laforgue T., Gonzalez-Moro M.B., Estavillo J.M., Sangwan R., Gallais A., *et al.* (2003). Glutamate dehydrogenase in plants: is there a new story for an old enzyme?. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41(6-7), 565-576.
- [4] Forde B.G, Lea P.J. (2007). Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signalling. *J Exp Bot*, 58, 2339-2358.
- [5] Forde B.G. (2014). Glutamate signalling in roots. *J Exp Bot*, 65, 779-787.
- [6] Fontaine J.X., Tercé-Laforgue T., Armengaud P., Clement G., Renou J.P., Pelletier S, *et al.* (2012). Characterization of a NADH-dependent glutamate dehydrogenase mutant of *Arabidopsis* demonstrates the key role of this enzyme in root carbon and nitrogen metabolism. *Plant Cell*, 24, 4044-4065.
- [7] Baker P.J., Britton K.L., Engel P.C., Farrants G.W., Lilley K.S., Rice D.W., *et al.* (1992). Subunit assembly and active site location in the structure of glutamate dehydrogenase. *Proteins*, 12(1), 75-86.

- [8] Loulakakis K.A. & Roubelakis-Angelakis K.A. (1991). Plant NAD(H)-Glutamate Dehydrogenase Consists of Two Subunit Polypeptides and Their Participation in the Seven Isoenzymes Occurs in an Ordered Ratio. *Plant Physiol*, 97(1), 104-111.
- [9] Turano F.J., Thakkar S.S., Fang T. & Weisemann J.M. (1997). Characterization and expression of NAD(H)-dependent glutamate dehydrogenase genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 113, 1329-1341.
- [10] Qiu X., Xie W., Lian X. & Zhang Q. (2009). Molecular analyses of the rice glutamate dehydrogenase gene family and their response to nitrogen and phosphorus deprivation. *Plant Cell Rep*, 28(7), 1115-1126.
- [11] Ferraro G., Bortolotti S., Mortera P., Schlereth A., Stitt M., Carrari F., *et al.* (2012). Novel glutamate dehydrogenase genes show increased transcript and protein abundances in mature tomato fruits. *J Plant Physiol*, 169, 899-907.
- [12] Restivo F.M. (2004). Molecular cloning of glutamate dehydrogenase genes of *Nicotiana glauca*: structure analysis and regulation of their expression by physiological and stress conditions. *Plant Science*, 166(4), 971-982.
- [13] Miyashita Y. & Good A.G. (2008). NAD(H)-dependent glutamate dehydrogenase is essential for the survival of *Arabidopsis thaliana* during dark-induced carbon starvation. *J Exp Bot*, 59, 667-680.
- [14] Tsilikochrisos G., Tsaniklidis G., Delis C., Nikoloudakis N. & Aivalakis G. (2015). Glutamate dehydrogenase is differentially regulated in seeded and parthenocarpic tomato fruits during crop development and postharvest storage. *Scientia Horticulturae*, 181(0), 34-42.
- [15] Schmutz J, McClean PE, Mamidi S, Wu GA, Cannon SB, Grimwood J, *et al.* (2014). A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nat Genet*, 46(7), 707-713.
- [16] O'Rourke J, Iniguez L, Fu F, Bucciarelli B, Miller S, Jackson S, *et al.* (2014). An RNA-Seq based gene expression atlas of the common bean. *BMC Genomics*, 15(1), 866.
- [17] Cao Phi Bằng (2017). Phân tích in Silico họ gene Glutamate dehydrogenase ở cây đậu tương (*Glycine max* L.). *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology*, 33(2), 1-8.
- [18] McGinnis S. & Madden T.L. (2004). BLAST: at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 32(Web Server issue), W₂₀-5.
- [19] Katoh K. & Standley D.M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol*, 30(4), 772-780.
- [20] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M & Kumar S. (2011) MEGA₅: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*, 28(10), 2731-2739.
- [21] Gasteiger E., Hoogland C., Gattiker A., Wilkins M.R., Appel R.D. & Bairoch A. (2005). Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. *The proteomics protocols handbook*, Springer, 571-607.
- [22] Guo A.Y., Zhu Q.H., Chen X. & Luo J.C. (2007). GSDS: a gene structure display server. *Yi Chuan*, 29(8), 1023-1026.
- [23] Severin A.J., Woody J.L., Bolon Y.T., Joseph B., Diers B.W., Farmer A.D., *et al.* (2010). RNA-Seq Atlas of *Glycine max*: a guide to the soybean transcriptome. *BMC Plant Biol*, 10, 160.
- [24] Inokuchi R., Kuma K.I., Miyata T. & Okada M. (2002). Nitrogen-assimilating enzymes in land plants and algae: phylogenetic and physiological perspectives. *Physiol Plant*, 116, 1-11.
- [25] Inokuchi R., Motojima K., Yagi Y., Nakayama K. & Okada M. (1999). *Bryopsis maxima* (chlorophyta) glutamate dehydrogenase: multiple genes and isozymes. *Journal of Phycology*, 35(5), 1013-1024.
- [26] Ficarelli A., Tassi F. & Restivo F.M. (1999). Isolation and characterization of two cDNA clones encoding for glutamate dehydrogenase in *Nicotiana glauca*. *Plant Cell Physiol*, 40(3), 339-342.

IN SILICO ANALYSIS OF GLUTAMATE DEHYDROGENASE ENCODING GENES IN COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cao Phi Bằng¹

¹*Faculty of Natural Sciences, Hung Vuong University, Phu Tho*

Abstract

Glutamate dehydrogenases (GDH, EC 1.4.1.2~4) catalyze reversible deamination reaction of L-glutamate to 2-oxoglutarate or α -ketoglutarate (α -KG). These enzymes play an important role in amino acid metabolism in plants. Five GDH encoded genes were found in common bean genome. These GDHs were classified into two groups, the group I (NADPH-GDH) included two genes (PvGDH₄ and PvGDH₅) and the group II (NADH-GDH) had three genes (PvGDH₁, PvGDH₂ and PvGDH₃). These genes had different physico-chemical characteristics. All five PvGDH proteins shared the specific substrate (α -ketoglutarate)-binding motif and specific coenzyme (NAD(P)H)-binding motif. In addition, the group II proteins contained the mitochondrial target motif at N-terminal. The expression of common bean GDH genes was divergent in different tissues. Four genes PvGDH₁, PvGDH₃, PvGDH₄ and PvGDH₅ were expressed in all tissues at all studied development stages. These results are the basis for further research on the function and application of the GDH of common bean.

Keywords: *Glutamate dehydrogenase, gene expression, phylogenetic tree, gene characterization, common bean.*