

آنالیز بیوانفورماتیکی ناحیه پروموتوری ژن GAI در برخی گونه های چوبی (گردو و انگور)، دو لپه ای (سویا و آرابیدوپسیس) و تک لپه ای (برنج)

راحله قاسم زاده^{۱*}، پریناز جعفرپور^۲ و مهدی محسنی آذر^۲

۱- استادیار گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشگاه ارومیه

۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و کارشناس گروه علوم باغبانی، دانشگاه ارومیه

Email: (r.ghasemzade@urmia.ac.ir)

چکیده

بخش عمده ای از تنظیم بیان ژن های گیاهی مربوط به ناحیه پروموتوری می باشد. آنالیز ناحیه پروموتوری و افزایش اطلاعات در زمینه نحوه بیان و عوامل موثر در افزایش یا کاهش بیان ژن ها برای درک مکانیسم و نحوه کار آن بسیار مفید خواهد بود. در پژوهش حاضر ناحیه پروموتوری ژن GAI در برخی گونه های چوبی (گردو و انگور)، دو لپه ای (سویا و آرابیدوپسیس) و تک لپه ای (برنج) به صورت *in silico* مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز داده ها بیانگر وجود ۶ عنصر تنظیمی پاسخ به هورمونهای متیل جاسمونات، جیبرلین، سالیسیلیک اسید، آبسزیک اسید، اکسین و اتیلن بود. اکثر موتیف های پاسخ دهنده به هورمون متیل جاسمونات (CGTCA-motif و TGACG-motif) تقریباً در همه گونه ها یکسان بود. موتیف TCA-element در انگور ۴ برابر آرابیدوپسیس بود در حالیکه بقیه گونه ها این موتیف را نداشتند. GARE-motif به عنوان اصلی ترین موتیف درگیر در سنتز جیبرلین فقط در گیاهان چوبی یافت شد.

کلمات کلیدی: آنالیز پروموتور، بیوانفورماتیک، موتیف، هورمون

مقدمه و هدف

با ظهور علم بیولوژی مولکولی از اوایل دهه هفتاد میلادی، تحول جدیدی در اصلاح نژاد گیاهان به وجود آمد. شناخت مکانیسم های مولکولی درون سلولی و ژن های دخیل در این فرایندها باعث شده است تا روش های اصلاح تغییر پیدا کند [3]. ژن GAI یکی از ژن های مهمی می باشد که در مسیر انتقال پیام جیبرلین نقش دارد. جهش در ناحیه دامین DELLA این ژن و حذف قسمت N ترمینال آن باعث تغییر در کنفورماسیون پروتیین شده و مانع از تجزیه شدن توسط پروتئاز می گردد و این تغییر باعث به وجود آمدن گیاهان پاکوتاه یا نیمه پاکوتاه در گیاهان می شود [7]. گیاهان گردو و انگور و سویا و آرابیدوپسیس و برنج از جمله گیاهانی می باشند که اخیراً تعیین توالی شده و گزینه های مناسبی برای اغلب تحقیقات بیوانفورماتیکی می باشند. بخش عمده ای از تنظیم بیان ژن های گیاهی مربوط به ناحیه پروموتوری می باشد [6]. این ناحیه از عناصر تنظیمی Cis elements تشکیل شده اند و بیان ژن ها را تحت تاثیر قرار می دهند [8]. آنالیز ناحیه پروموتوری ژن ها در برخی گیاهان توسط محققین انجام گرفته است. زارع مهرجردی [2] به بررسی پروموتور ژن آلیناز آرابیدوپسیس و برنج پرداخت و موتیف های موجود در هر پروموتور و نقش آنها را شناسایی کرد و نشان داد که در هر دو گیاه Cis-element های پاسخ به نور و استرس های زیستی و غیر زیستی در پروموتور ژن آلیناز وجود دارد و نشان داد که احتمالاً بیان این آنزیم تحت تاثیر این عوامل می باشد. همچنین هدایتی و همکاران [4] به آنالیز ناحیه پروموتوری ژن H6H در گیاه *Brassica rapa* پرداخته و نشان دادند که نور یکی از عواملی است که باعث فعال شدن پروموتور این

¹ - Signal transduction

ژن می‌شود و تولید متابولیت ثانویه همچون آسکوپولامین را تحریک می‌کند و همچنین موتیف‌های درگیر در سنتز انواع هورمون‌ها (متیل جاسمونات و جیبرلین) نیز نشان‌دهنده تاثیر این هورمون‌ها در افزایش میزان آنزیم آسکوپولامین بود. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی ناحیه پروموتوری ژن جهش یافته GAI در گونه‌های مختلف چوبی (گردو وانگور) و دو لپه ای (سویا و آرابیدوپسیس) و تک لپه‌ای (برنج) و بررسی موتیف‌های موجود در توالی ناحیه پروموتوری آنها در شرایط *in silico* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

گونه‌های مورد مطالعه به گونه‌ای انتخاب شدند که شامل گونه چوبی (گردو وانگور)، دو لپه ای (سویا و آرابیدوپسیس) و تک لپه ای (برنج) باشند. در ابتدا توالی ناحیه پروموتوری ژن GAI در گیاهان مختلف از سایت phytozom استخراج گردید. ۲۰۰۰ نوکلئوتید از توالی ناحیه پروموتور انتخاب و در سایت PLANCARE جهت جستجوی موتیف‌ها و *cis-element* های موجود در این توالی‌ها وارد شد. موتیف‌های موجود در هر گونه و تعداد موتیف‌ها، نام موتیف، عملکرد موتیف و توالی آن در هر گیاه مشخص شد.

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از آنالیز پروموتور ژن GAI در گونه‌های مختلف (جدول ۱) نشان داد که اکثر موتیف‌های پاسخ دهنده به هورمون‌هایی مثل متیل جاسمونات (CGTCA-motif و TGACG-motif) تقریباً در همه گونه‌ها یکسان بود غیر از برنج و آرابیدوپسیس که دو برابر بقیه دارای این موتیف بوده‌اند. متیل جاسمونات یکی از هورمون‌های مهم در گیاه می‌باشد که برای مقابله با تنش‌های زنده مفید است. در تحقیقی که رجبی و همکاران [1] انجام دادند، برای تولید متابولیت ثانویه هایپریرسین در گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum*)، به محیط کشت MS متیل جاسمونات اضافه کردند و افزایش چشمگیری را در میزان این متابولیت ثانویه مشاهده کردند. همچنین موتیف HSE در آرابیدوپسیس ۳ برابر بقیه بود و گردو فاقد موتیف مقاومت به تنش دمایی بود. موتیف Box-W1 در پاسخ به بیماری‌های قارچی در تک لپه‌ای‌ها و گردو دیده شد که در تک لپه‌ای‌ها ۳ برابر گردو بود. موتیف LTR که در تنش سرمایی دخالت دارد در گیاهان چوبی و سویا وجود داشت در حالیکه در تک لپه‌ای‌ها این موتیف وجود نداشت. در میان موتیف‌های بررسی شده در هر گیاه، موتیف‌هایی نیز وجود دارد که مختص هر گیاه است و می‌توانند به دلیل انشعاب این چند گیاه از یکدیگر و در طی تکامل ایجاد شده باشند. موتیف AuxRR-core فقط در آرابیدوپسیس شناسایی شد و موتیف ABRE در انگور ۶ برابر دولپه‌ای‌ها بود در حالیکه تک لپه‌ای‌ها موتیف پاسخ دهنده به اسید آسبیزیک را نداشتند و این نشان‌دهنده تحمل زیاد انگور به تنش کم آبی است. موتیف TCA-element که پاسخ دهنده به اسید سالیسیلیک می‌باشد در انگور ۴ برابر آرابیدوپسیس بود در حالیکه بقیه گونه‌ها این موتیف را نداشتند. اسید سالیسیلیک در مقاومت به آفات نقش اساسی دارد. اصلی‌ترین موتیف‌های درگیر در سنتز جیبرلین (GARE-motif) فقط در گیاهان چوبی یافت شد. موتیف‌های ACA-motif و MRE فقط در تک لپه‌ای‌ها بودند و موتیف GARE-motif و Unnamed_2 فقط در گیاهان چوبی یافت شد و CCAAT-box و AuxRR-core فقط در دو لپه‌ای‌ها پیدا شد. موتیف ERE از عناصر پاسخ دهنده به هورمون اتیلن در تک لپه‌ای‌ها و گردو وجود نداشت. به نظر می‌رسد همانطور که در مورد سایر متابولیت‌های ثانویه مسیر بیوسنتزی در اثر نور، استرس‌های زنده و غیر زنده متاثر می‌شود [5]، در ارتباط با جیبرلین نیز به همین ترتیب بوده و بیان هورمون جیبرلین متاثر از این عوامل می‌باشد.

جدول ۱- مشخصات گیاهان و موتیف‌های موجود در پرموتور آنها

Plant name Motif name	<i>Vitic vinifera</i>	Juglans	<i>Arabidopsi s thaliana</i>	<i>Glycine max</i>	<i>Oryza sativa</i>	Sequence motife	Motif action
CGTCA- motif	۱	۱	۲	۱	۲	CGTCA	به هورمون ایزومر سیس از عناصر تنظیم کننده درگیر در پاسخ متیل جاسونات
G-Box	۶	۰	۶	۳	۱	CACGTG	ایزومر سیس از عناصر تنظیم کننده درگیر در پاسخ به نور
HSE	۱	۰	۳	۱	۲	AAAAAA TTTC	به تنش ایزومر سیس از عناصر تنظیم کننده درگیر در پاسخ حرارتی
MBS	۴	۰	۰	۱	۳	CAACTG	جایگاه اتصال درگیر در تنش خشکسالی MYB
Skn-1_motif	۲	۰	۴	۳	۳	GTCAT	عناصر تنظیم کننده درگیر در بیوسنتز آندوسپرم
TGACG- motif	۱	۱	۲	۱	۲	TGACG	سیس از عناصر تنظیم کننده درگیر در پاسخ به هورمون ایزومر متیل جاسونات
ARE	۲	۲	۲	۱	۱	TGGTTT	سیس، از عناصر تنظیم کننده برای القای بی هوازی در ایزومر مواقع ضروری
Box-W1	۰	۱	۰	۰	۲	TTGACC	پاسخ دهنده به الیستور قارچ عناصر
GARE-motif	۲	۱	۰	۰	۰	AAACAG A	عناصر پاسخ دهنده به هورمون جیبرلین
LTR	۱	۱	۰	۱	۰	CCGAAA	سیس از عناصر تنظیم کننده درگیر در پاسخ تنش های ایزومر حرارتی پایین
O2-site	۲	۱	۰	۰	۱	GATGATA TGG	به هورمون سیس از عناصر تنظیم کننده درگیر در پاسخ ایزومر zein
P-box	۰	۱	۱	۰	۰	CCTTTTG	عناصر پاسخ دهنده به هورمون جیبرلین
TC-rich repeats	۳	۲	۰	۰	۱	ATTTTCT CCA	به تنش های ایزومر سیس از عناصر تنظیم کننده درگیر در پاسخ دفاعی
ACA-motif	۰	۰	۰	۰	۱	ATCGACA GCCATT	(درگیر در پاسخ به نور gapA-CMA1) gapA یخشی از
MRE	۰	۰	۰	۰	۱	AACCTAA	که در پاسخگویی به نور درگیر است MYB سایت پیوند
AuxRR-core	۰	۰	۱	۰	۰	GGTCCAT	ایزومر سیس از عناصر تنظیم کننده درگیر در پاسخ به هورمون اکسین
CCAAT-box	۰	۰	۱	۰	۰	CAACGG	سایت MYBHv1 اتصال
ERE	۱	۰	۱	۱	۰	ATTTCAA A	عناصر پاسخ دهنده به هورمون اتیلن
TCA-element	۴	۰	۲	۰	۰	CCATCTT TTT- CAGAAA AGGA	ایزومر سیس از عناصر تنظیم کننده درگیر در پاسخ به هورمون اسید سالسیلیک
ABRE	۶	۰	۱	۱	۰	CACGTG- TACGTG	ایزومر سیس از عناصر تنظیم کننده درگیر در پاسخ به هورمون ابسیزیک اسید
Unnamed_2	۱	۰	۰	۰	۰	CCACGTC ACCG	سایت پروتئینی متصل به تک رشته DNA

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر انواعی از موتیف‌ها برای ناحیه پرموتوری ژن GAI در گیاهان مورد مطالعه مشخص شد. وجود موتیف‌های مشابه نشان دهنده تغییر پذیری بیان ژن GAI در واکنش به شرایط خاص از جمله تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌باشد. شناخت عناصر تنظیمی موجود در پرموتور، در انتخاب محرک مناسب جهت تولید متابولیت ثانویه و یا هورمون مورد نظر در گیاه موثر بوده و باعث صرفه جویی در وقت و هزینه برای آزمون مواد و محرک‌های مختلف برای افزایش بیان ژن می‌شود.

مراجع

۱. رجبی، ا.، عباسپور، ح. و مسعود سینکی، ج. (۱۳۹۵). بررسی اثر محرک‌های شیمیایی متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر تحریک تولید هایپرسین در گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum*). مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی، ۲۲(۶): ۴۱-۵۰.
۲. زارع مهرجردی، م. (۱۳۹۴). بررسی پرموتور ژن آلیناز آرابیدوپسیس و برنج. فصلنامه علمی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۷: ۸۲-۹۲.
۳. سیدی، س. م. (۱۳۹۶). کاربرد بیوتکنولوژی در علوم باغبانی: گذشته، حال و آینده. دهمین کنگره ملی علوم باغبانی ایران. ص ۵۷.
۴. هدایتی، ا.، جعفرپور، پ.، محسنی آذر، م. و همتی اصل، پ. (۱۳۹۶). آنالیز ناحیه پرموتوری ژن H6H در گیاه *Brassica rapa* در شرایط *in silico*. دهمین کنگره ملی علوم باغبانی ایران. ص ۳۲۳.
5. Akula, R., and Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11): 1720-1731.
6. Janaki, C., & Joshi, R. R. (2004). Motif detection in Arabidopsis: correlation with gene expression data. *In silico biology*, 4(2), 149-161.
7. Murase, K., Hirano, Y., Sun, T.P. and Hakoshima, T. (2008). Gibberellin induced DELLA recognition by the gibberellin receptor GID1. *Nature*, 456:459-463.
8. Rani, V. (2007). Computational methods to dissect cis-regulatory transcriptional networks. *Journal of biosciences*, 32: 1325-1330.