

آنالیز ناحیه پرموتوری ژن GAI در دو گونه هلو و خیار در شرایط *in silico*

پریناز جعفرپور^{۱*}، علیرضا فرخزاد^۱، ابوالفضل علیرضالوا^۱، مهدی محسنی آذر^۱، راحله قاسم‌زاده^۲ و احد هدایتی^۱

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

* نویسنده مسئول: parinazjaffarpour.94@gmail.com

چکیده

پروتئین GAI یکی از پروتئین‌های دخیل در مسیر انتقال پیام هورمون جیبرلین بوده و نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به هورمون جیبرلین در گیاهان بر عهده دارد. این ژن در صفات مربوط به رشد و نمو، تمایز، گل‌دهی و جوانه‌زنی و تنش‌ها دخیل است. آنالیز ناحیه پرموتوری و افزایش اطلاعات در زمینه نحوه بیان شدن این ژن و عوامل مؤثر در افزایش یا کاهش بیان این ژن برای درک مکانیسم و نحوه کار آن بسیار مفید خواهد بود. در این مقاله بررسی توالی ناحیه پرموتوری این ژن در دو گیاه چوبی (هلو) و علفی (خیار) برای یافتن سیس‌المنت‌ها (Cis-Elements) و موتیف‌های مربوط به عوامل رونویسی (Transcription Factor) و یافتن تفاوت بین آن‌ها به صورت *in silico* انجام گرفت. آنالیز داده‌ها بیانگر وجود ۵۵ عنصر تنظیمی پاسخ به هورمون (CGTCA-motif و GARE-motif و TCA-element و ABRE و TGA-element) به ترتیب بیانگر پاسخ به هورمون‌های متیل جاسمونات و جیبرلین و سالیسیلیک اسید و آبسزیک اسید و اکسین بود.

کلمات کلیدی: بیوانفورماتیک، ژن GAI، پرموتور، هورمون

مقدمه

هورمون جیبرلین یکی از هورمون‌های مهم گیاهی بوده و نقش مهمی در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه و نیز در پاسخ به تنش در گیاهان دارد. ژن GAI یکی از ژن‌های مهمی می‌باشد 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 پروتئین شده و مانع از تجزیه شدن توسط پروتئاز می‌گردد و این تغییر باعث به وجود آمدن گیاهان پاکوتاه یا نیمه پاکوتاه در گیاهان می‌شود (Murase et al., 2008). گیاهان خیار و هلو از جمله گیاهانی می‌باشند که اخیراً تعیین توالی شده و گزینه‌ی مناسبی برای اغلب تحقیقات بیوانفورماتیکی می‌باشند. ناحیه پرموتوری یک ژن ناحیه ایست که برای شروع رونویسی از ژن لازم است. برای شروع رونویسی ابتدا باید مجموعه پیش آغاز که شامل تجمع RNA polymerase و عوامل رونویسی می‌باشد، به وجود بیاید. در کنار این پرموتورها، توالی تنظیمی دیگری وجود دارد که افزایشدهنده یا Enhancer می‌باشند و کمک می‌کنند تا رونویسی ژن کنترل شود تا میزان رونویسی کم یا زیاد شود. آنالیز ناحیه پرموتور این ژن در گونه‌های مختلف چوبی و علفی برای یافتن عوامل مؤثر بر افزایش یا کاهش بیان این ژن حائز اهمیت می‌باشد. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی ناحیه پرموتوری ژن GAI در گیاهان چوبی و علفی و بررسی موتیف‌های موجود در توالی پرموتور آن و بررسی عوامل تأثیر گزار در میزان بیان آن و اختلاف موجود در این گیاهان با استفاده از آنالیزهای *in silico* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

گونه‌های مورد مطالعه به گونه‌ای انتخاب شدند که شامل گونه چوبی (هلو) و علفی (خیار) می‌باشند، در ابتدا توالی ناحیه پرموتوری ژن GAI در گیاهان مختلف از سایت phytozom استخراج گردید طی آن ۲۰۰۰ نوکلئوتید از توالی ناحیه پرموتور انتخاب شد و در سایت PLANCARE جهت جستجوی موتیف‌ها و cis-element های موجود در این توالی‌ها وارد

¹ - Signal transduction

شد. موتیف‌های موجود در هر گونه و تعداد موتیف‌ها در جدول شماره ۱ آورده شده است. نام موتیف، عملکرد موتیف و توالی آن در هر گیاه در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱- مشخصات گیاهان و موتیف‌های موجود در پروموتور آن‌ها

Plant name	Prunus persica	Cucumis sativus	Motif action
Motif name			
CGTCA-motif	۰	۳	ایزومر سیس از عناصر تنظیم‌کننده درگیر در پاسخ به هورمون متیل جاسمونات
G-Box	۴	۴	ایزومر سیس از عناصر تنظیم‌کننده درگیر در پاسخ به نور
HSE	۰	۱	ایزومر سیس از عناصر تنظیم‌کننده درگیر در پاسخ به تنش حرارتی
MBS	۱	۱	MYB جایگاه اتصال درگیر در تنش خشک‌سالی
MBSII	۱	۰	MYB جایگاه اتصال درگیر در ژن‌های تنظیم‌کننده بیوسنتز فلاونوئید
Skn-1_motif	۰	۲	عناصر تنظیم‌کننده درگیر در بیوسنتز آندوسپرم
TGACG-motif	۰	۳	ایزومر سیس از عناصر تنظیم‌کننده درگیر در پاسخ به هورمون متیل جاسمونات
ARE	۴	۱	ایزومر سیس، از عناصر تنظیم‌کننده برای القای بی‌هوازی در مواقع ضروری
Box-W1	۰	۱	عناصر پاسخ‌دهنده به ایستاتور قارچ
GARE-motif	۲	۱	عناصر پاسخ‌دهنده به هورمون جیبرلین
LTR	۰	۱	ایزومر سیس از عناصر تنظیم‌کننده درگیر در پاسخ تنش‌های حرارتی پایین
I-box	۳	۲	بخشی از عناصر پاسخ‌دهنده به نور
TC-rich repeats	۰	۲	ایزومر سیس از عناصر تنظیم‌کننده درگیر در پاسخ به تنش‌های دفاعی
Box 4	۴	۳	بخشی از یک ماژول DNA درگیر در پاسخ به نور
EIRE	۱	۰	عناصر پاسخ‌دهنده به هورمون اتیلن
TCA-element	۲	۲	ایزومر سیس از عناصر تنظیم‌کننده درگیر در پاسخ به هورمون اسید سالسیلیک
ABRE	۵	۱	ایزومر سیس از عناصر تنظیم‌کننده درگیر در پاسخ به هورمون ابسیزیک اسید
Unnamed_2	۰	۰	سایت پروتئینی متصل به تک رشته DNA (ssDBP-1 و -۲)
TCT-motif	۰	۰	بخشی از عناصر پاسخ‌دهنده به نور
TATA-box	۳۹	۸۶	از عناصر پروموتور در اطراف هسته برای شروع رونویسی
CAAT-box	۲۹	۲۴	سیس المنت‌های متداول در پروموتور و مناطق افزاینده
as-2-box	۱	۰	عناصر درگیر در بیان ساقه‌های خاص و نور
TGA-element	۰	۱	عناصر پاسخ‌دهنده به هورمون اکسین

جدول ۲- مشخصات توالی و عملکرد موتیف‌های گیاه خیار و هلو

نام موتیف	توالی موتیف	عملکرد موتیف
CGTCA-motif	CGTCA	cis-acting regulatory element involved in the MeJA-responsiveness
G-Box	CACGTG	cis-acting regulatory element involved in light responsiveness
HSE	AAAAAATTC	cis-acting element involved in heat stress responsiveness
MBS	CAACTG	MYB binding site involved in drought-inducibility
MBSII	AAAAGTTAGTTA	MYB binding site involved in flavonoid biosynthetic genes regulation
Skn-1_motif	GTCAT	cis-acting regulatory element required for endosperm expression
TGACG-motif	TGACG	cis-acting regulatory element involved in the MeJA-responsiveness
ARE	TGGTTT	cis-acting regulatory element essential for the anaerobic induction
Box-W1	TTGACC	fungal elicitor responsive element
GARE-motif	AAACAGA	gibberellin-responsive element
LTR	CCGAAA	cis-acting element involved in low-temperature responsiveness
I-box	CTCTTATGCT	part of a light responsive element
TC-rich repeats	ATTTTCTCCA	cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
BOX-4	ATTAAT	part of a conserved DNA module involved in light responsiveness
EIRE	ATTTCAAA	ethylene-responsive element
TCA-element	CCATCTTTTT- CAGAAAAGGA	cis-acting element involved in salicylic acid responsiveness
ABRE	CACGTG- TACGTG	cis-acting element involved in the abscisic acid responsiveness
Unnamed__2	CCACGTCACCG	single-strand DNA-binding proteins site (ssDBP-1 and -2)
TCT- motif	TCTTAC	part of a light responsive element
TATA-box	TATAAATT-	core promoter element around -30 of transcription start
CAAT-box	CAAT	common cis-acting element in promoter and enhancer regions
as-2-box	GATAatGATG	involved in shoot-specific expression and light responsiveness
TGA-element	AACGAC	auxin-responsive element

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از آنالیز پرموتور ژن GAI در دو گونه چوبی (هلو) و علفی (خیار) نشان داد انواع موتیف‌های هورمونی مانند موتیف‌های CGTCA-motif, GARE-motif, TCA-element, ABRE و TGA-element وجود دارد که به ترتیب بیانگر پاسخ به هورمون‌های متیل جاسمونات و جیبرلین و سالیسیلیک اسید و آبسزیک اسید و اکسین می‌باشد، این در حالی است که ناحیه پرموتوری ژن GAI در هلو از تنوع هورمونی کمتری برخوردار می‌باشد. اما وجود ۵ برابری موتیف ABRE که مربوط به آبسزیک اسید می‌باشد برای مقابله با تنش خشکی در هلو حائز اهمیت می‌باشد. موتیف HSE که در پاسخ به تنش حرارتی است در خیار وجود داشت درحالی‌که در هلو مشاهده نشد. وجود موتیف MBSII در درخت هلو بیانگر وجود جایگاه

های درگیر در ژن‌های تنظیم‌کننده بیوسنتز فلاونوئید است. موتیف‌های Skn-1-motif و TGACG-motif فقط در هلو بود که به ترتیب بیانگر وجود عوامل دخیل در سنتز آندوسپرم و پاسخ به متیل جاسمونات بودند. موتیف ARE در هلو ۴ برابر خیار بود این موتیف در پاسخ به تنش‌های غیر هوزاری نقش دارد. موتیف as-2-Box نیز فقط در هلو یافت شد که در پاسخ به پاکوتاهی و نور تأثیرگذارند. تفاوت موتیف‌های پروموتور دو گونه در یک ژن مشترک حاکی از عملکرد متفاوت گونه‌ها در بیان یک ژن مشترک می‌باشد، و یک ژن می‌تواند در گونه‌های مختلف، در شرایط محیطی خاص فنوتیپ متفاوتی نشان دهند.

منابع

- Ashok Kumar, H.G. and Murthy, H.N. 2004. Effect of sugars and amino acids on androgenesis of (*Cucumis sativus* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 78: 201- 208.
- Dill, A., Thomas, S.G., J. Hu., Steber, C.M. and Sun, T.P. 2004. The Arabidopsis F-box protein SLEEPY1 targets gibberellin signaling repressors for gibberellin-induced degradation. *Plant Cell*, 16:1392-1405.
- Goodstein, D. M., Shu, S., Howson, R., Neupane, R., Hayes, R. D., Fazo, J. and Rokhsar, D. S. 2012. Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. *Nucleic acids research*, 40(D1), D1178-D1186.
- Keshavarzi, M., Jafari Haghghi, B. and Bagheri. A. 2013. The evaluation of auxin and gibberellin hormone on quantitative and qualitative characteristics of forage corn. *Journal of plant ecophysiology*, 5(15); 26-35 (in Persian).
- Lescot, M., Déhais, P., Thijs, G., Marchal, K., Moreau, Y., Van de Peer, Y. and Rombauts, S. 2002. PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic acids research*, 30(1), 325-327.
- Murase, K., Hirano, Y., Sun, T.P. and Hakoshima, T. 2008. Gibberellin induced DELLA recognition by the gibberellin receptor GID1. *Nature*, 456:459-463.
- Tavakkol Afshar, R., Rashidi, S. and Majnon Hoseini., N. 2008. Abscisic acid and cytokinin effect on improving seed germination and vigor decline of two cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L) in drought stress. *Plant breeding and crop biotechnology*, 39(1): 179-194. (in Persian).
- Zhu, J. and Zhang, M.Q. 2000. Cluster function and promoter analysis of yeast expression array. *Pacific Symposium on Biocomputing* .Vol:5-(0) p: 476-487.

Analysis of the Promoter Region of GAI Gene in Two Woody and Herbaceous Species in Terms of *in Silico*

Jaffarpour Parinaz^{*1}, Farokhzad Alireza¹, Alirezalu Abolfazl¹, Mohseniazar Mahdi¹, Ghasemzade Rahele² and Hedayati Ahad¹

¹ Department of Horticultural Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

² Department of plant Breeding and Biotechnology, Urmia University, Urmia, Iran

*Corresponding Author: parinazjaffarpour.94@gmail.com

Abstract

GAI protein is one of the proteins involved in signal transduction pathways of GA hormone and plays a main regulatory role in expression of GA response genes in plants. This gene involve in some different process of growth and differentiation, flowering, germination and response to stresses. Analysis of promoter region for understanding factors and regulatory mechanisms of up/down expression of this gene will be very useful. In this study, the sequence of the promoter region of GAI gene in dicotyledonous woody and herbaceous plants was investigated for finding cis-elements and motifs of transcription factors and recognizing the differences between two species in terms of *in silico*. Data analysis showed 5 regulatory hormone response elements (CGTCA-motif, GARE-motif, TCA-element, ABRE and TGA-element) for methyl jasmonate, GA, SA, ABA and auxin respectively.

Keywords: Bioinformatics, GAI gene, Promoters, Hormones

