بررسی بیوانفورماتیکی پروموتر اورتولوگ ژن *FT* در گلسرخیان

مصطفی خوشحال سرمست (۱)، اسمائیل ابراهیمی (۲)، مائده عقدایی (۳) حسن صالحی (٤)

۱- دانشجوی دکتری ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد و٤- دانشیار بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز ۲- استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

مهمترین تغییر نموی در چرخه زندگی گیاهان شروع گلدهی می باشد. بسیاری از گونه‌های گیاهی در رابطه با توانایی گلدهی طوری تکامل یافته اند که گلدهی خود را در پاسخ به تغییرات محیطی مانند تغییر طول روز یا دما تنظیم کنند. ژن Flowering Locus T یا FT یک پروتئین اتصال فسفاتیدیل اتانول آمین می باشد، که در شرایط طول روز بلند تحت تاثیر ژن CO در برگها فعال شده و پس از انتقال به مریستم انتهایی نقش کلیدی در تولید جوانه گل بازی می کند. انتقال این ژن به گیاهان باعث تسریع گلدهی شده است، بنابراین بررسی پروموتر این ژن با مقایسه Cis-elementهای موجود، جهت بالا بردن آگاهی و نحوه عملکرد آنها حائز اهمیت می باشد. با به‌دست آوردن CDS ژن FT از NCBI، حدود ۱۵۰۰ جفت باز از پروموتر این ژن از سایت Phytozome گرفته شده و با استفاده از دو سایت Plant CARE و PLACE آنالیز مربوط به پروموتر آن انجام شد. ۲۱ مورد جعبه TATA به عنوان Core promoter در بالا دست ژن FT وجود داشت. حدود ۱۷ مورد Cis-element پاسخ دهنده به نور و ریتم سیرکادین در این پروموتر مشاهده شد که بیانگر این است که به طور عمده عامل‌های رونویسی درگیر در مکانیسم‌های نوری به این نواحی Cis-element متصل می شوند. اگرچه که P-box به عنوان Cis-element پاسخ به هورمون جیبرلیک اسید و MBS به عنوان Cis-element اتصال به عامل رونویسی MYB، درگیر در تنش‌های محیطی مثل خشکی و شوری نیز در این پروموتر وجود دارد. استفاده از این گونه پروموترها جهت استفاده در کاست های ژنی در بالا دست ژن های مؤثر در گلدهی، نه تنها در تسریع گلدهی بلکه در مطالعات فیزیولوژیک نیز حائز اهمیت می باشد. از طرفی با تسریع و تاخیر زمان گلدهی با استفاده از پروموتر یا ژن خاص به ویژه در گیاهان تراریخت (دارای ژنهای مقاومت به یک آفت کش یا آنتی بیوتیک یا ژن‌های مؤثر در نابود کردن آفت خاص و غیره) امکان انتقال دانه گرده این گیاهان به گیاهان مجاور خود را به حداقل می رسانیم. با توجه به مشکل جهانی گرم شدن کره زمین و تغییر در رفتار گلدهی گیاهان، استفاده از این گونه پروموتر ها در مدیریت تنظیم زمان گلدهی در گیاهان حائز اهمیت خواهد بود.

کلمات کلیدی: آنالیز پروموتر، بیوانفورماتیک، گلدهی، FT

مقدمه

گلدهی یک از کلیدی ترین تغییرات در چرخه زندگی گیاه می باشد. چهار مسیر عمده شناخته شده در رابطه با گلدهی مربووط به مسیر های خود انگیز، مسیر فتوپریودی، مسیر بهاره سازی، مسیر جیبرلیک اسید می باشد که هر مسیر گلدهی، تحت تاثر یکسری از ژن های مخصوص در همان مسیر می باشند. این ژن ها به طور سلسله وار ژن های پایین دست خود را ترغیب یا متوقف می نما یند. آنالیز پروموتر ژن های دخیل در گلدهی درک ما را در رابطه با فیزیولوژی گلدهی همچنین شناخت عامل های رونویسی متنوع که در بیشتر موارد به نقاط Cis-element ویژه خود در بالا دست ژن متصل می شوند بالا خواهد برد. با توجه به اینکه ژنوم گیاه هلو از تیره گلسرخیان توالی یابی شده می توان با آنالیز کارکردی نقش این ژن ها را یافته و در مرحله بعد با انتقال ژ های مناسب به گیاهان ارقامی دارای زود گلده یا دیر گلده، گیاهان دارای عملکرد بالاتر و مقاوم به تنشهای زنده و غیر زنده تولید نمود. بیوانفورماتیک حوزهای از علم است که در آن زیست شناسی، آمار، کامپیوتر و فناوری اطلاعات با هم آمیخته شده و یک نظام علمی را ایجاد نموده. هدف نهایی کشف چشم انداز های جدید زیست شناختی و ایجاد دور نمایی کلی ست که بتوان در آن جرئیات اصول زیست شناختی را از هم تمییز داد (Vassilev et al., 2005). نقش بیو انفورماتیک در پشتیبانی از علوم زیستی برای جمع آوری تفسیر و مدیریت مقادیر زیادی از داده ها زیست شناختی امکان پذیر شده است. این داه ها در قالب توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ، دومین های پروتئینی و ساختار های پروتئینی و الگو های بیان ژن های مسیر های متابولیکی و بیو شیمیایی می باشد (Dagostino et al, 2005).

مواد و روش ها:

پس از انتخاب ژن FT ابتدا این ژن در گیاه آرابیدوپسیس انتخاب و پس از انجام بلاست در NCBI پارالوگ های آن در گیا هان دیگر شناسایی و ژن FT مربوط به **Rosa chinensis** انتخاب شد و توالی CDS کامل آن بدست آمد. برای بدست آوردن توالی های بالا دست کدون AUG (کدون شروع) وارد سایت Phytozome با آدرس http://www.phytozome.net/ شده و پس از انتخاب گیاه هلو (به دلیل هم تیره بودن با ورد) CDS ژن مورد نظر را وارد و برای گرفتن پروموتر این ژن ۱۵۰۰ جفت باز بالا دست ژن را انتخاب می کنیم و بعد از بدست آوردن توالی پروموتری وارد سایت Plant CARE با آدرس http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/ و سایت PLACE با شده و آنالیز پروموتر را انجام داده و عناصر عمگر سیس را از این سایت ها استخراج نموده و کارکرد آنها را بررسی می نماییم

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از آنالیز پروموتر ژن FT بیانگر این است که عمده عناصر عملگر سیس مانند G-box، GAG-motif، Sp1، I-box، AE-box، GT1-motif، AF1 binding site-۳، TCT-motif و GA-motif به عنوان عناصر پاسخ دهنده به واکنشهای نوری عمل می کنند. بنابراین واضح می باشد که عمده فاکتور های رونویسی که به این عناصر عمگر سیس اتصال می یابند درگیر در واکنش های نوری و فتوسنتزی خواهند بود. اگر چه که در برخی نقاط عناصر عملگر سیس پاسخ به جیبرلیک اسید (P-box) و پاسخ های دفاعی (TC-rich repeats) نیز دیده می شود. توالی موتیف CAAT-box به تعداد ۲۳ عدد به عنوان ناحیه enhancer به همراه TA-rich region عمل می کنند و جعبه TATA نیز به تعداد ٦۱ عدد به عنوان core promoter فعال می باشد. شناسایی عناصر عملگر سیس با توالی های موتیف ویژه که در یک مکانیزم خاص فعال میباشند این توانایی را به ما خواهد دارد که ثا جدا سازی این موتیف های ویژه به وسیله مهندسی ژنتیک (in silico)و ادغام آنها با عناصر عملگر سیس دیگر توانایی تولید گیاهانی را بدست آوریم که به طور همزمان به چند تنش مختلف پاسخ می دهند یا اینکه یک ژن را مجبور کنیم که به یک تنش خاص بیشتر پاسخ نشان دهد.

Bioinformatical evaluation of FLT gene ortholog promoter in rosaceae

M.K. Sarmast[1], E. Ebrahimi[2], M. Aghdaei[1] and H. Salehi[1]
[1]Ph.D., M.Sc., Students and Associate Professor of Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
[2]Assistant Professor, Department of Crop Production and Plant Breeding, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Abstract
The major developmental change in the plant life cycle is the initiation of flowering. Many plant species have evolved the ability to regulate flowering in response to environmental variables such as changes in day-length or temperature. FT is a ***phosphatidylethanolamine*** binding / protein binding that produced in LD by CO gene in leaves and then transfer to apical meristem for inducing floral meristem. FT cause precocious flowering in plants. Hence promoter analyses in FT gene with comparison of cis-element increase our information about its function. With getting of FT gene CDS from NCBI, about 1500 bp upstream of FT gene received by Phytozome cite and then analyzed with Plant CARE and PLACE cites. 21 TATA-box as a core promoter was in FT upstream. About 17 light responding cis-elements and circadian rhythm cis-elements received in FT upstream, demonstrate that this cis-elements involve with the light transcription factors. However P-Box involved as a gibberellin-responsive element and MBS involved as a MYB binding site in drought-inducibility. These promoters might be used for gene cassettes in upstream the flowering genes, which not only induce flowering but also is suitable for physiological studies. Moreover, we it would be enable to delay or induce flowering with specific promoter or gene in GMs plants (containing pesticide resistance genes or genes that enable the destroy of a specific pest) for avoiding the gene flow. With respect of global warming and changing flowering habit, using these promoters for managing flowering time will be essential.
Key words: Promoter analysis, Bioinformatic, Flowering, FT
Vassilev, D., J. Leunissen, A. Atanassov, A. Nenov and G. Dimov, 2005. Application of bioinformatics in plant breeding. *Biotechnol. Bitechnol. Eq*. 19: 139-152.
D'Agostino, D., M. Aversano and M. L. Chiusano, 2005. ParPEST: A pipeline for EST data analysis based on parallel Computing. *BMC Bioinformatics* 6: 1-9.