Archive of SID

تأثیر جهش ژن *RecQsim* گیاه ارابیدوپسیس بر سرعت رشد و حساسیت گیاه به اشعه ماورای بنفش و مایتومایسین- سی

محمد باقر باقریه نجار[1*] و عمران عالیشاه[2]

[1] گرگان، دانشگاه گلستان، گروه زیست شناسی

[2] گرگان، موسسه تحقیقات پنبه کشور

تاریخ دریافت: ۸۶/۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۱۰

چکیده

هلیکازهای خانواده RecQ در طیف وسیعی از موجودات مختلف از باکتریها گرفته تا انسان یافت می شود و در اغلب فرآیندهای مولکولی یاخته مرتبط با DNA از جمله همانندسازی و نوترکیبی DNA نقش اساسی ایفا می‌کند. یکی از اعضای این خانواده که منحصراً در گیاهان یافت شده است *RecQsim* نام دارد. در این تحقیق خصوصیات فنوتیپی گیاهان اربیدوپسیس تالیانا (*Arabidopsis thaliana*) رقم واسیلوسکیا جهش یافته‌ای که ژن *RecQsim* در آنها توسط یک جهش الحاقی از کار افتاده مورد بررسی قرار گرفته است. گیاهان جهش یافته *recQsim* که در شرایط استاندارد رشد داده شده از نظر طی کردن مراحل نموی اختلاف چندانی با گیاهان وحشی نداشته ولی سرعت رشد آنها نسب به گیاه وحشی افزایش یافته بود و این نشان می‌دهد که ژن یاد شده برای طی شدن مراحل نموی گیاه ضروری نیست. لیکن حساسیت گیاهان جهش یافته *recQsim* نسبت به اشعه ماورای بنفش در مقایسه با گیاهان وحشی بیشتر بود. به علاوه در مقایسه با گیاهان شاهد، گیاهان جهش یافته *recQsim* در پاسخ به ماده جهش زای متیل متان سولفونیت شبیه به انواع وحشی عمل کردند اما نسبت به ماده جهش زای مایتومایسین- سی حساسیت بیشتری در مقایسه با آنها از خود نشان دادند. این نتایج پیشنهاد می کند ژن *RecQsim* اربیدوپسیس در ترمیم برخی از صدمات وارده به DNA نقش اساسی بر عهده دارد. با مطالعه دقیق تر نقش ژن فوق احتمالاً مسیرهای نوین انتقال سیگنال در تنش ژنوتوکسیک آشکار خواهد گردید.

واژه های کلیدی: هلیکاز، RecQ ,*Arabidopsis thaliana* ،مایتومایسین سی، متیل متان سولفونیت، اشعه ماورای بنفش

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۱۷۱-۲۳۲۲۸۰۶، پست الکترونیکی: mb.bagherieh@gu.ac.ir

مقدمه

مطالعه ژنهای دخیل در متابولیسم DNA از نظر درک صحیح مکانیزم های کنترل کننده ترمیم صدمات وارده به DNA در گیاهان و انسان بسیار با اهمیت است. یکی از خانواده های ژنی که اعضای آن در فرآیندهای سلولی مرتبط با متابولیسم مولکول نقش اساسی ایفاء می کند *RecQ* نام دارد. تا به امروز خصوصیات بیوشیمیایی حداقل ۵ عضو از خانواده RecQ (*BLM, WRN, RecQ, Sgs1, RecQL*) مورد مطالعه دقیق قرار گرفته است(۶، ۷، ۱۰ و ۱۲). تمامی این اعضا قادرند مارپیچ دو رشته ای DNA را همراه با صرف ATP در جهت ´۳ به ´۵ باز کنند (۱). به علاوه در *E.coli* نشان داده شده که پروتئین RecQ می تواند از انجام فرآیند نوترکیبی نا خواسته DNA جلوگیری کند (۷ و ۱۷). به نظر می‌رسد اعضای این خانواده با کنترل میزان ایجاد جهش پایدار در مقابله با عوامل جهش زا می توانند در پایداری قدرت تطابق ژنتیکی گیاه تأثیر به سزایی داشته باشند (۳ و ۸).

www.SID.ir

Archive of SID

در انسان جهش در ژنهای متعلق به خانواده *RecQ* با بروز اختلال در کنترل نوترکیبی DNA و از آن طریق با افزایش احتمال بروز سرطان و پیری زودرس افراد بیمار همراه است (۱، ٦ و ۲۰). فنوتیپ سلولهای مخمری که تنها ژن متعلق به خانواده *RecQ* در آنها از کار افتاده بود با جزئیات فراوان قبلاً مورد بررسی قرار گرفته است. غیر فعال شدن این ژن در سلولهای مخمر با ایجاد حساسیت سلولها به مواد جهش زای متیل متان سولفونیت (MMS) و هیدروکسی اوره (HU) و همچنین افزایش فراوانی نوترکیبی DNA همراه است (۱۵ و ۱٦). برخی از اعضای خانواده RecQ کشف شده در سایر موجودات زنده از جمله ژن BLM انسانی و ژن RecQl4A اربیدوپسیس قادرند جایگزین ژن *SGS1* مخمر شوند (۱ و ۱۲).

در گیاه مدل اربیدوپسیس هفت ژن متعلق به خانواده *RecQ* کشف شده است *(AtRecQl1, 2, 3, 4A, 4B, 5* and *RecQsim)* که در تمام آنها حوزه هلیکازی حفاظت شده مرکزی مشاهده می‌گردد (٤ و ۸). از بین این ژنها ژن *RecQsim* دارای یک قطعه الحاقی به طول تقریبی ۱۰۰ آمینواسید است که در اواسط حوزه هلیکازی قرار گرفته است (٤ و ۸). به علت وجود این قطعه الحاقی برخی پیشنهاد کردند که این ژن فعالیت هلیکازی خود را احتمالاً از دست داده است (۸). مطالعات قبلی نشان دادند که این ژن در بافتهای مختلف گیاه بیان می گردد و یک ژن کاذب نیست. به علاوه وقتی ژن *RecQsim* اربیدوپسیس به سلولهای مخمر جهش یافته *sgs1* انتقال داده شد، قادر بود تا حساسیت سلولهای *sgs1* به MMS و میزان نوترکیبی افزایش یافته آن را تا حدودی کاهش دهد (۳ و ٤). این پدیده حاکی از این است که ژن *RecQsim* اربیدوپسیس علی رغم اینکه در وسط دامین هلیکازی دارای یک قطعه اضافی است قادر است عملی شبیه به عمل همولوگ خود در مخمر ایفاء نماید. وجود این ژن و بیان آن در بافتهای مختلف گیاه برنج و کلزا این احتمال را تقویت می‌کند که ژن *RecQsim* دارای نقش حفاظت شده تکاملی است.

جهت روشن شدن نقش این ژن، گیاهان جهش یافته ای که در آنها ژن فوق توسط یک قطعه الحاقی از کار افتاده است جداسازی شد (۲). در اینجا فنوتیپ گیاهان جهش یافته مورد مطالعه قرار گرفته است. این مطالعات نشان دادند جهش در ژن *RecQsim* دوره زندگی گیاه را کوتاه تر کرده، حساسیت آن را نسبت به عوامل صدمه زننده به DNA همچون اشعه ماورای بنفش و مایتومایسین–سی افزایش می دهد.

مواد و روشها

گیاهان استفاده شده و شرایط رشد آنها: در کلیه آزمایشات مذکور در این تحقیق از گیاه *Arabidopsis thaliana* رقم واسیلوسکیا (Wassilewskija, WS) استفاده شد که از مخزن بذر دانشگاه ناتینگهام انگلستان تهیه شده بودند. جهت کشت بذرها در محیط آگار، سطح بذرها توسط محلول حاوی ۲۰ درصد مایع سفید کننده (bleach) و ۸۰ درصد اتانول ۹٦ درصد به مدت ۱۵ دقیقه سترون گردیده و پس از دو بار شستشو با اتانول ۹٦ درصد ، خشک شده و بر روی محیط کشت آگار سترون حاوی محلول غذایی موراشیج و اسکوگ (MS) مطابق روشی که قبلا شرح داده شد (۳) کشت داده شدند. پلیت محتوی بذرها به مدت ٤ روز در دمای ۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا جوانه زنی به صورت یکنواخت انجام شود. سپس پلیتها به اطاقک رشد منتقل گردیده و تحت شرایط نوری ۱٦ ساعت روشنایی با شدت ٦۰ $\mu molm^{-2}s^{-1}$ و هشت ساعت تاریکی در دمای ۲۱ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ٦۵ درصد قرار گرفتند.

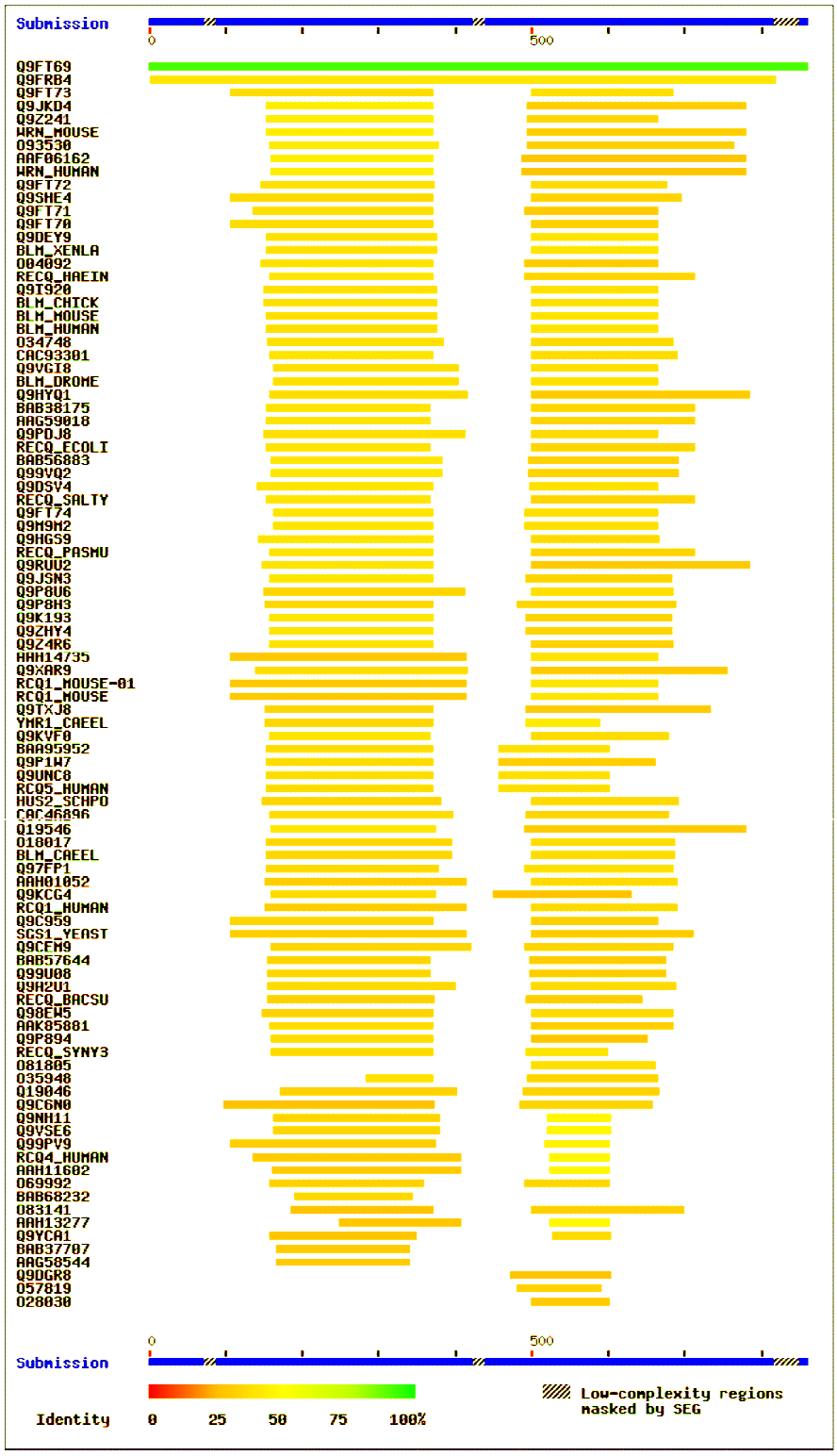
جهت اندازه گیری سرعت رشد ریشه ها، بلافاصله پس از جوانه زنی بذرها ، پلیتها به صورت عمودی قرار گرفتند تا ریشه ها بر روی سطح محیط کشت رشد کنند.

جهت کشت گیاهان در خاک، بذرها در آب معمولی خیسانده شده و برای مدت ٤ روز در دمای ۵ درجه سانتی

www.SID.ir

Archive of SID

گراد قرار داده شدند.



شکل ۱- پروتئین RecQsim مختص گیاهان است. نتایج جستجو در پایگاههای اطلاعاتی موجود با استفاده از الگوریتم TBLASTN نشان داده شده است. تصویر شماتیک توالی استفاده شده در جستجو در بالا آمده است. شماره ها مختص پروتئینهای مختلف هستند. Q9FT69 و Q9FRB4 به ترتیب مربوط به ژن RecQsim در اربیدوپسیس و برنج هستند.

www.SID.ir

Archive of SID

سپس به طور مستقیم به خاک گلدان منتقل گردیده و به اتاقک رشد با شرایط مذکور در بالا منتقل شدند.

تیمار های اعمال شده : اشعه ماورای بنفش: گیاهان ده روزه رشد یافته بر روی محیط کشت آگار در معرض ٤٠٠ میلی ژول بر سانتیمتر مربع اشعه ماورای بنفش (UV-C) تولید شده توسط دستگاه UV–استراتلینکر (UV-stratlinker) مدل ۱۸۰۰ ساخت کمپانی استراتژن (Stratgene) قرار گرفتند. سپس به مدت ٤٨ ساعت جهت سپری کردن دوره ترمیم و بازیافت تحت شرایط نوری آبی به اطاقک رشد با شرایط مذکور در بالا منتقل شدند.

متیل متان سولفونیت (MMS) و مایتومایسین سی (MMC) : گیاهچه های وحشی و جهش یافته برای مدت ۹ روز بر روی محیط کشت آگار رشد داده شدند. سپس در محیط سترون به پلیتهای چند حفره‌ای حاوی ۳۰۰ مایکرو لیتر محیط کشت مایع حاوی ۱۰ میلی مولار (MMC) و یا ٦٠ پی پی ام (MMS) منتقل گردیدند. تیمار شاهد فقط حاوی محیط کشت مایع بود. پلیتهای فوق برای مدت ۱۲ روز در اطاقک رشد با شرایط استاندارد قرار داده شدند و پس از آن عکس برداری از گیاهان انجام شد و وزن تر گیاهان محاسبه گردید.

محاسبات آماری: در تمام آزمایشهای کمی حداقل از ٤ تکرار استفاده شد و پس از محاسبه میانگین و خطای استاندارد، اختلاف میانگینها توسط آزمون *t*-test دو طرفه (Two tailed student *t*-test)در سطح ۹۵ درصد مورد تأیید قرار گرفت.

نتایج

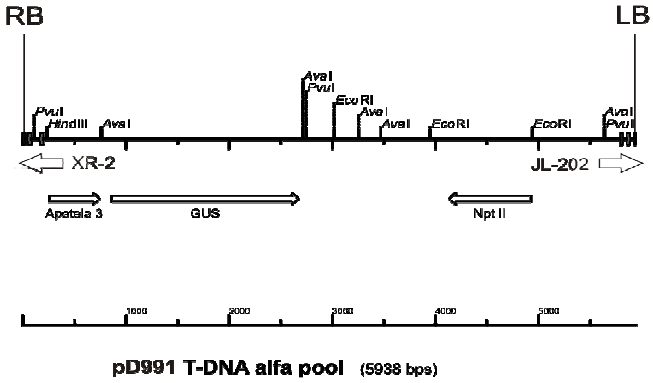
ژن *RecQsim* مختص گیاهان است: جهت بررسی وجود احتمالی قطعه الحاقی موجود در ژن *RecQsim* اربیدوپسیس در سایر موجودات زنده قطعه ای به طول ۸۵۰ آمینواسید از پروتئین RecQsim اربیدوپسیس که حاوی بخش الحاقی درون حوزه هلیکازی بود انتخاب گردید و در BLAST پایگاههای اطلاعاتی موجود مورد استفاده قرار گرفت. نمای تصویری نتیجه جستجوی مذکور در شکل ۱ آورده شده و نشان می دهد بخشهای مربوط به دامین هلیکازی پروتئین RecQsim در بسیاری از موجودات زنده از جمله انسان و موش موجود است، لیکن قسمت الحاقی مذکور فقط در همولوگهای گیاهی پروتئین RecQsim به طورکامل مشاهده می‌گردد.

جهش در ژن *RecQsim* اربیدوپسیس سرعت رشد گیاه را افزایش می‌دهد: به منظور مطالعه نقش ژن *RecQsim* ، گیاهان جهش یافته‌ای که در آنها ژن *RecQsim* توسط یک جهش الحاقی از کار افتاده بود از مجموعه موجود در دانشگاه ویسکانزین (ایالات متحده) جداسازی گردید. خصوصیات مولکولی T-DNA استفاده شده (با طول تقریبی ٦ کیلوباز) جهت ایجاد جهش الحاقی به صورت طرح‌واره در شکل ۲ نشان داده شده و جزئیات مراحل جداسازی گیاهان جهش یافته فوق در جای دیگری شرح داده شده است (۲). برای مطالعه نقش ژن *RecQsim* گیاهان جهش یافته فوق در کنار گیاهان وحشی در شرایط استاندارد رشد داده شدند و فنوتیپ گیاهان حاصله با دقت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این آزمایش نشان داد گیاهان جهش یافته رشد سریع تری نسبت به گیاهان وحشی دارند (شکل ۳ –الف) و به رشد سریع خود ادامه می دهند تا در نهایت زودتر از گیاهان وحشی پیر شوند (شکل ۳–ب). جهت اندازه گیری تفاوت سرعت رشد گیاهان جهش یافته *recQsim* نسبت به گیاهان وحشی، طول ریشه های گیاهان جهش یافته و وحشی رشد یافته در سطح محیط کشت آگار جامد در فواصل زمانی مشخص اندازه گیری شد و نتایج حاصله در شکل ۳–ج آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهند که در فاصله بین ۳ تا ۱۱ روز پس از جوانه زنی سرعت رشد ریشه گیاهان جهش یافته *recQsim* از رشد ریشه گیاهان وحشی پیشی می‌گیرد و پس از گذشت ۱۱ روز، اختلاف در سرعت رشد آنها از نظر آماری معنی‌دار می‌شود (*t*-test, $p \leq 0.05$, $n=320$).

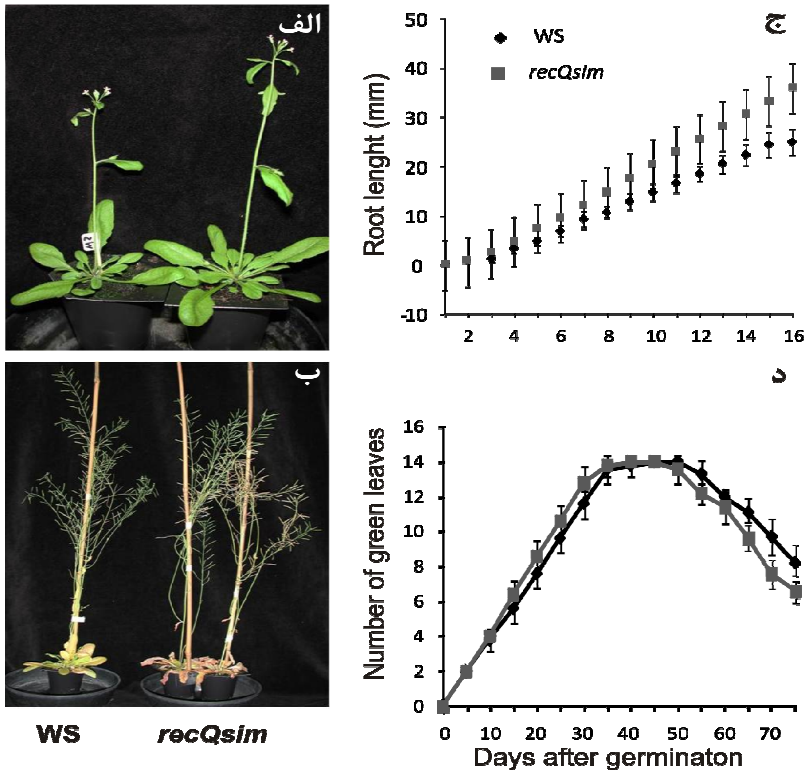
www.SID.ir

Archive of SID

رشد سرعت تولید برگهای طوقه‌ای (rosette) و سرعت زرد شدن آنها در گیاهان وحشی و جهش یافته در شرایط استاندارد و در محیط خاک اندازه گیری شد و نتایج حاصله در شکل ۳-د نشان داده شده است. این نتایج تایید می‌کند که گیاهان جهش یافته *recQsim* در مقایسه با گیاهان وحشی رشد سریع تری در شرایط استاندارد دارند و به همین نسبت در یک فاصله زمانی تقریبی پنج روزه پیری آنها زودتر آغاز می‌گردد.



شکل ۲- تصویر شماتیک T-DNA استفاده شده جهت تولید جهش الحاقی در ژن RecQsim. LB : انتهای چپ، RB: انتهای راست، JL 202 و XR-2 پرایمرهای استفاده شده جهت جداسازی گیاهان جهش یافته هستند. NPT2 (neomycin phosphoteransferase 2) : ژن مقاومت به کانامایسین و GUS :ژن گالاکتورونیداز. Apetala3: بخشی از پروموتور یک ژن گیاهی. سایتهای برش آنزیمی در قطعه T-DNA نشان داده شده است.طول قطعه T-DNA در پایین نشان داده شده است.

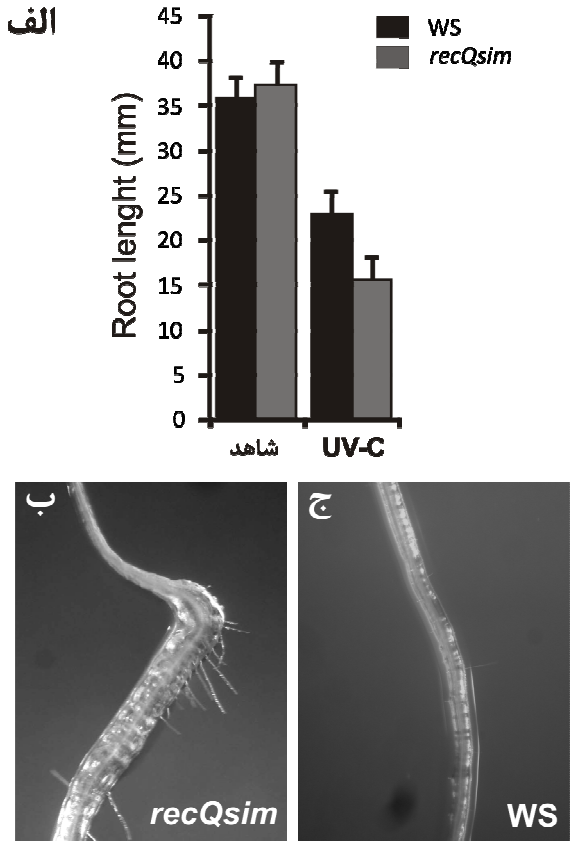


شکل ۳- رشد سریع و پیری زود رس گیاهان جهش یافته *recQsim* الف و ب) فنوتیپ ظاهری گیاهان جهش یافته و وحشی (WS) به ترتیب در ۲٤ روز و ٦٥ روز پس از جوانه زنی رشد یافته در شرایط استاندارد. ج) مقایسه رشد ریشه گیاهان جهش یافته با گیاهان وحشی آنگونه که در مواد و روشها شرح داده شد. د) اندازه گیری سرعت رشد و پیری برگهای روزت گیاهان وحشی و جهش یافته. میانگین حداقل ٤ تکرار و خطای استاندارد نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

حساسیت بیشتر گیاهان جهش یافته *recQsim* نسبت به اشعه ماورای بنفش: با توجه به افزایش سرعت رشد گیاه جهش یافته در شرایط استاندارد و در نظر گرفتن اینکه مطالعات قبلی نشان دادند ژن *RecQsim* اربیدوپسیس می‌تواند در ترمیم صدمات وارده به سلولهای مخمر توسط ماده جهش زای متیل متان سولفونیت (MMS) تا حدودی جایگزین ژن همولوگ خود گردد، در این تحقیق تلاش گردید تا نقش ژن *RecQsim* در پاسخ گیاه به برخی عوامل صدمه زننده به DNA مورد بررسی قرار گیرد. گیاهان وحشی و جهش یافته *RecQsim* رشد یافته در محیط آگار آن‌گونه که در بخش مواد و روشها شرح داده شد، تحت تابش اشعه ماورای بنفش قرار گرفته و پس از گذشت ٤٨ ساعت از قرار گرفتن گیاهان در شرایط نور آبی (جهت بازیافت گیاهان) به اتاقک رشد با شرایط استاندارد منتقل گردید و پس از گذشت یک هفته طول ریشه آنها با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج حاصل در شکل ٤-الف آورده شده و نشان می دهد که همان گونه که انتظار می رفت رشد ریشه گیاهان وحشی و جهش یافته پس از تیمار با اشعه ماورای بنفش کاهش یافت؛ لیکن طول ریشه گیاهان وحشی پس از تیمار با اشعه ماورای بنفش از گیاهان جهش یافته بیشتر بود. جهت تعیین دلیل کاهش رشد ریشه گیاهان جهش یافته پس از تیمار اشعه ماورای بنفش منطقه مریستمی ریشه با دقت بیشتری مورد بررسی قرار گرفت ومشخص گردید در بیش از ٦٠ درصد از ریشه های گیاهان جهش یافته پس از تیمار با اشعه ماورای بنفش ساختمان نامعمول مشاهده می گردد (شکل ٤-ب و ج). در این گیاهان با ساختمان ریشه نامعمول ضخامت ریشه افزایش یافته و رشد طولی آن کاهش یافته بود. به علاوه تارهای کشنده به صورت متراکم تولید شده بودند. این داده‌ها نشان می‌دهند پس از تیمار با اشعه ماورای بنفش احتمالاً تقسیم سلولی پری سنتریک (در جهت طولی) در منطقه مریستمی نوک ریشه کاهش یافته است. در ضمن ساختمانهایی شبیه آنچه در شکل ٤-ب برای گیاهان جهش یافته نشان داده شد در مورد گیاهان وحشی هم با فراوانی بسیار کمتر (حدود ۱۰ درصد) مشاهده گردید.



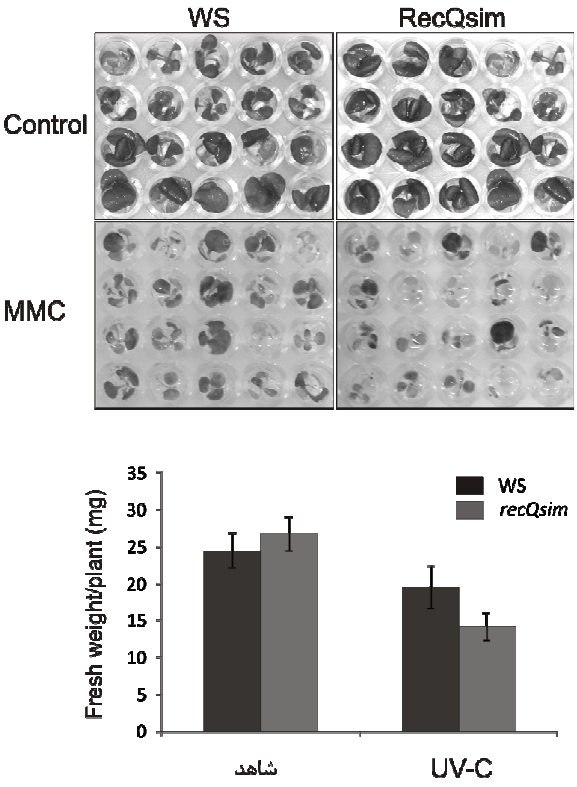
شکل ٤- تأثیر اشعه ماورای بنفش بر گیاهان جهش یافته *recQsim* و وحشی. گیاهان ده روزه رشد یافته بر روی محیط کشت آگار آن گونه که در بخش مواد و روشها ذکر گردید در معرض اشعه ماورای بنفش (UV-C) قرار گرفتند و پس از گذشت ۹ روز (۲ روز ترمیم در نور آبی و ۷ روز نور سفید) طول ریشه ها اندازه گیری گردید و عکس برداری انجام شد میانگین و خطای استاندارد نشان داده شده است.

حساسیت بیشتر گیاهان جهش یافته *recQsim* به مایتومایسین سی: جهت تعیین پاسخ گیاه به مواد شیمیایی صدمه زننده به DNA دو ماده شیمیایی متیل متان سولفونیت (MMS) و مایتومایسین سی (MMC) مورد آزمایش قرار گرفتند. گیاهان ۹ روزه رشد یافته در محیط آگار به پلیتهای حاوی محلول غذایی مایع دارای غلظتهای مختلف MMS یا MMC منتقل گردیده و در اتاقک رشد با شرایط استاندارد قرار داده شدند. پس از گذشت ۱۲ روز

www.SID.ir

Archive of SID

عکس برداری انجام شد و وزن تر گیاهان اندازه گیری گردید. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد حساسیت گیاهان جهش یافته تیمار شده با MMS شبیه حساسیت گیاهان وحشی به ماده فوق الذکر است (داده ها نشان داده نشده‌اند). لیکن رشد گیاهان جهش یافته در مقایسه با گیاهان وحشی نسبت به ماده MMC افزایش یافته بود (شکل ۵).



شکل ۵- تأثیرماده مایتومایسین سی بر روی رشد گیاهان جهش یافته *recQsim* و وحشی. گیاهان ۹ روزه رشد یافته در محیط آگار به پلیتهای حاوی محلول غذایی مایع دارای ۱۰ میلی مولار MMC منتقل گردیده و در اتاقک رشد با شرایط استاندارد قرار داده شدند. پس از گذشت ۱۲ روز عکس برداری انجام شد و وزن تر گیاهان اندازه گیری گردید. میانگین و خطای استاندارد نشان داده شده است.

بحث

مطالعات قبلی نشان دادند که ژن *RecQsim* به همراه قسمت الحاقی نامعمول خود در گیاهان تک لپه و دو لپه وجود دارد (۲ و ٤). لیکن مشخص نبود ژن فوق در سایر موجودات زنده نیز دارای همولوگهای حقیقی باشد. این نتایج نشان داد قطعه الحاقی فوق فقط در گیاهان وجود دارد. با توجه به شباهت فراوان بخش الحاقی موجود در ژن *RecQsim* در گیاه اربیدوپسیس، برنج و کلزا (۲) و عدم شباهت توالی قطعه الحاقی به سایر ژنهای موجود در ژنوم گیاهان فوق، بعید به نظر می‌رسد که قطعه الحاقی فوق در اثر نوترکیبی تصادفی در ژنوم این گیاهان ایجاد شده باشد. از طرف دیگر عدم تشخیص یک حوزه شناخته شده در بخش الحاقی فوق الذکر پیش بینی هرگونه عملی را برای قطعه الحاقی مشکل می‌سازد.

علی رغم شباهت فراوان همولوگهای *RecQsim* در اربیدوپسیس، برنج و کلزا تفاوتهای آشکاری نیز بین آنها وجود دارد. به عنوان مثال سیگنال پپتیدی انتقال پروتئین به هسته موجود در گیاه اربیدوپسیس در گیاه برنج مشاهده نمی‌گردد (٤، ۸، ١٤ و ١٩). شاید این پدیده حاکی از این باشد که ژن *RecQsim* به محل دیگری غیر از هسته سلول هدایت می‌شود که همچون کلروپلاست حاوی DNA است. جهت تست این فرضیه تعیین محل دقیق قرار گرفتن پروتئین در سلول با استفاده از برساخته‌های گزارشگر حاوی ترکیباتی همچون پروتئین فلورسنت سبز Green florescent protein (GFP) الزامی است.

نتایج ارائه شده در این مقاله نشان دادند که در صورت غیر فعال شدن ژن *RecQsim* گیاه هنوز قادر به ادامه حیات است و فعالیتهای رشد و نمو گیاه مختل نمی‌گردد. این احتمال وجود دارد که سایر همولوگهای متعلق به خانواده *RecQ* در اربیدوپسیس بتوانند عدم حضور پروتئین RecQsim را تا حدودی جبران کنند. بنابراین مطالعه سطح بیان ژن سایر اعضای خانواده RecQ در گیاه جهش یافته *recQsim* بسیار جالب توجه خواهد بود. از طرف دیگر این احتمال وجود دارد که ژن *RecQsim* در مراحل اولیه رشد خصوصاً هنگامی که گیاه در شرایط رشد استاندارد قرار دارد چندان ضروری نباشد و فقط در شرایط تنش نقش آن مشخص گردد. این تحقیق همچنین نشان داد که

www.SID.ir

Archive of SID

در شرایط استاندارد رشد گیاهان جهش یافته در مراحل اولیه سرعت بیشتری نسبت به گیاهان وحشی دارند و به همین ترتیب زودتر نیز پیر می شوند. اما هنگامی که گیاه تحت تیمار صدمه زننده به DNA قرار گیرد رشد کمتری نسبت به گیاه وحشی دارد. با در نظر گرفتن ساختمان پروتئینی اعضای خانواده RecQ احتمال دارد ژن *RecQsim* یک عامل کنترل کننده تمامیت DNA (check point protein) باشد که در مراحل اولیه رشد گیاهان و زمانی که گیاه با تنش خاصی مواجه نشده است چندان ضروری نیست و حتی حذف آن به علت حذف یک مرحله کنترلی در تقسیم سلولی (cell division checkpoint) باعث گردد که سرعت انجام تقسیم سلولی و در نتیجه سرعت رشد گیاه افزایش یابد. مطابق این سناریو هنگامی که گیاه در شرایط نامناسب محیطی قرار گیرد به علت مختل شدن احتمالی مرحله کنترلی تقسیم سلولی (checkpoint) وعدم توانایی در ترمیم صدمات وارده به DNA رشد کمتری نسبت به گیاه وحشی خواهد داشت (۹). هر گونه اظهار نظر قطعی در این خصوص منوط به بررسی بیشتر از جمله تعیین پروتئینهای اندرکنش دهنده با RecQsim در سلول گیاهی می‌باشد.

در این مقاله نشان داده شد که حساسیت گیاهان جهش یافته نسبت به ماده جهش زای MMS شبیه گیاه وحشی است؛ در حالی که حساسیت آنها نسبت به ماده MMC بیشتر از گیاه وحشی است. با توجه به اینکه ماده MMS یک عامل الکیله کننده DNA است که اغلب ۷-متیل گوانین و یا ۳-متیل آدنین تولید می کند. در حالی که ۷ متیل گوانین صدمه خاصی در متابولیسم DNA تولید نمی‌کند، ۳ متیل آدنین قادر است همانند سازی و رونویسی را مختل کند (۱۱ و ۱۸) ولی ماده MMC اغلب بین رشته‌های مختلف DNA اتصال برقرار می‌کند (۵ و ۱۳) می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً حساسیت گیاه جهش یافته *recQsim* به نوع ماده جهش زا به ماهیت جهش ایجاد شده بستگی داشته باشد. برای بررسی این فرضیه می‌توان صدمات وارد شده به DNA در تیمارهای اعمال شده را مستقیماً اندازه گیری کرد.

منابع

1. Bachrati, C.Z. and Hichson, I.D. 2003. RecQ helicases: suppressors of tumorigenesis and premature aging. Biochem. J. 347, 557-606.
2. Bagherieh-Najjar, M.B, Navabpour,S, Hille, J., and. Dijkwel, P.P. 2007. Isolation and molecular characterization of the *RecQsim* gene in Arabidopsis, rice (*Oryza sativa*) and rape (*Brassica napus*). Int. J. Plant Production 1, 23-33.
3. Bagherieh-Najjar, M.B., de Vries, O.M.H., Hille, J., and Dijkwel, P.P. 2005. Arabidopsis RecQl4A suppresses homologous recombination and modulates DNA damage responses. Plant J. 43, 789–798
4. Bagherieh-Najjar, M.B., de Vries, O.M.H., Kroon, J.T.M., Wright, E.L., Elborough, K.M., Hille, J., and Dijkwel, P.P. 2003. *Arabidopsis* RecQsim, a plant-specific member of the RecQ helicase family, can suppress the MMS hypersensitivity of the yeast *sgs1* mutant. Plant Mol. Biol. 52, 273-284
5. De Silva, I.U., McHugh, P.J., Clingen, P.H. and Hartley, J.A. 2000. Defining the roles of nucleotide excision repair and recombination in the repair of DNA interstrand cross-links in mammalian cells. Mol. Cell Biol. 20: 7980-7990.
6. Ellis, N.A., Groden, J., Ye, T.Z., Straughen, J., Lennon, D.J., Ciocci, S., Proytcheva, M., and German, J. 1995. The Bloom's syndrome gene product is homologous to RecQ helicases. Cell 83, 655-666.
7. Hanada, K., Ukita, T., Kohno, Y., Saito, K., Kato, J., and Ikeda, H. 1997. RecQ DNA helicase is a suppressor of illegitimate recombination in *Escherichia coli*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94 -3865.
8. Hartung, F., Plchova, H., and Puchta, H. 2000. Molecular characterization of *RecQ* homologues in *Arabidopsis thaliana*. Nucleic Acids Res. 28, 4 -4

www.SID.ir

Archive of SID

9. Jackson, S.P. 2002. Sensing and repairing DNA double-strand breaks. Carcinogenesis 23, 687-696.

10. Karow, J., Wu, L. and Hickson, I. 2000. RecQ family helicases: roles in cancer and aging. Curr. Opin. Gen & Dev. 10: 32-38.

11. Khanna, K. K. and Jackson, S. P. 2001. DNA double strand breaks: Signaling, repair and the cancer connection. Nat. Genet 27, 247-254.

12. Kusano, K., Berres, M.E., and Engels, W.R. 1999. Evolution of the RECQ family of helicases: A Drosophila homolog, Dmblm, is similar to the human Bloom syndrome gene. Genetics 151, 1027-1039.

13. Lowndes, N.F., and Murguia, J.R. 2000. Sensing and responding to DNA damage. Curr. Opin. Genet. Dev. 10, 17-25.

14. Morozov, V., Mushegian, A.R., Koonin, E.V., and Bork, P. 1997. A putative nucleic acid-binding domain in Bloom's and Werner's syndrome helicases. Trends Biochem Sci. 11, 417-428.

15. Mullen J., Kaliraman, V., Ibrahim, S. and Brill, S. 2001. Requirement for Three Novel Protein Complexes in the Absence of the Sgs1 DNA Helicase in *Saccharomces cerevisiae*. Genetics 157: 103-118.

16. Myung, K., Datta, A., Clark, C. and Kolodner, R.D. 2001. SGS1, the *Saccharomyces cerevsiae* homologue of BLM and WRN, suppresses genome instability and homologous recombination. Nature-Genetics. 27: 113-116.

17. Nakayama, H., Nakayama, K., Nakayama, R., Irino, N., Nakayama, Y., and Hanawalt, P.C. 1984. Isolation and genetic characterization of a thymineless death-resistant mutant of *Escherichia coli* K12; identification of a new mutation *recQ1* that blocks the RecF recombination pathway. Mol. Gen. Genet. 195, 474-480.

18. Tercero, J.A., and Diffley, J.F., 2001. Regulation of DNA replication fork progression through damaged DNA by the Mec1/Rad53 check point. Nature 412: 553-557.

19. von Kobbe, C., Thoma, N.H., Czyzewski, B.K., Pavletich, N.P., and Bohr, V.A. 2003. Werner syndrome protein contains three structure-specific DNA binding domains. J Biol Chem. 278, 2997-3006.

20. Yu, C.E., Oshima, J., Fu, Y.H., Wijsman, E.M., Hisama, F., Alisch, R., Matthews, S., Nakura, J., Miki, T., Ouais, S., Martin, G.M., Mulligan, J., and Schellenberg, G.D. 1996. Positional cloning of the Werner's syndrome gene. Science 272, 258-262.

www.SID.ir

Archive of SID

Arabidopsis *RecQsim* gene's Mutation Effect on Growth Rate and Plant Hypersensitivity to UV-Light and Mitomycin C

Bagherieh-Najjar M.B.[1] and Alishah O.[2]

[1] **Biology Dept., Golestan University, Gorgan, I.R. of IRAN**

[2] **Cotton Research Institute, Gorgan, I.R. of IRAN**

Abstract

RecQ helicases play crucial roles in DNA related processes such as replication and recombination. They are found in a wide range of organisms including bacteria and human. The RecQsim gene is a member of the RecQ family unique to plants. Here, we report on phenotypic analysis of a recQsim mutant of Arabidopsis thaliana in which the RecQsim gene is knocked out by insertional mutagenesis. Under standard growth conditions, *recQsim* mutant plants grew relatively faster than the wild type and did not exhibit any obvious developmental defects, suggesting that the *RecQsim* gene is not essential for plant development. The mutant seedlings, however, were found to be more sensitive to ultraviolet light compared with the wild type plants. The wild type and the *recQsim* mutant seedlings were not different in response to the genotoxic agent methyl methanesulfonate; however, the mutant plants were more sensitive to the genotoxic agent mitomycin C than the wild type. Thus, the Arabidopsis *RecQsim* gene might be involved in modulation of plant responses to DNA damage. Further detailed functional analysis of *RecQsim* may reveal novel pathways in signal transduction of genotoxic stress.

Keywords: DNA helicases, *Arabidopsis thaliana*, mitomycin C, methyl methanesulfonate, UV-irradiation

www.SID.ir