تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی – ملکولی

دوره پنجم، شماره هفدهم، زمستان ۱۳۹۳

Research Article
مقاله تحقیقی

مطالعه فیلوژنتیکی و فیزیکوشیمیایی ژن *SOS1* در گونه‌های مختلف گیاهی

سیده فرزانه فاطمی*[۱]، حمید نجفی زرینی[۲]، پرویز حیدری[۳]

۱.کارشناس ارشد اصلاح نباتات، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲.استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳.دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

چکیده

سابقه و هدف: سیستم‌های SOS مهم‌ترین نقش را در تحمل شوری گیاه دارد. این سیستم در آرابیدوپسیس تالیانا به عنوان یک سیستم پیام‌رسانی سلول در مسیرهای تحمل به تنش شوری عمل می‌کند.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق با بررسی توالی ژن sos1 در آرابیدوبسیس از پایگاه Tair، EBI، NCBI، plantcare و EXPASY و هم‌چنین جهت بررسی روابط این ژن در سیزده گونه گیاهی مختلف، میزان همولوژی آن‌ها از لحاظ میزان تشابه با نرم افزارهای MEGA5، Bioedit و UPGMA تعیین گردید.

یافته‌ها: بر مبنای نتایج تجزیه کلاستر، توالی پروتئینی این ژن در سه گروه قرار گرفت. نتایج ماتریس تکاملی نشان داد بیشترین فاصله بین آرابیدوپسیس و آجیلوپس توچی و کم‌ترین فاصله بین گندم نان و آجیلوپس توچی وجود داشت. نتایج هم‌ردیف نمودن توالی پروتئینی نشان داد که توالی ژن *sos1* در این گیاهان، در ۱۵ اسید آمینه کاملاً مشابه است.

بحث: وجود ناحیه ABRE که در پاسخ به اسید آبسزیک فعال می‌شود و هم‌چنین جعبه CAAT که یک ناحیه جهت افزایش بیان ژن می‌باشد در همه نواحی پروموتوری گیاهان مورد مطالعه، حاکی از پتانسیل گیاهان حاوی ژن (*SOS1*) جهت مقابله با تنش‌های غیرزیستی می‌باشد.

نتیجه‌گیری: تشابه ۱۵ اسید آمینه در توالی پروتئینی در این گیاهان بیانگر ناحیه حفاظت شده در طی فرایند تکامل است و می‌تواند دارای نقش ساختاری مهمی در عملکرد پروتئین داشته باشد و توالی نوکلئوتیدی آن جهت طراحی پرایمر نیز پیشنهاد گردد.

کلمات کلیدی: شوری، *sos1*، آنالیز فیلوژنتیکی ، تجزیه کلاستر

مقدمه

شوری خاک یکی از عمده‌ترین تنش‌های غیرزیستی می‌باشد. غلظت بالای نمک در خاک، منجر به ایجاد شرایط کمبود آب[۱] شده که جذب آب و مواد غذایی را برای گیاه دشوار می‌سازد (۲). وجود یون های سدیم در خاک به دلیل ایجاد اثرات سوء بر میزان K^+، فعالیت آنزیم‌های سیتوسولی، فتوسنتز و متابولیسم، برای گیاه سمی است (۶). ژن‌های گوناگونی در پاسخ به این عوامل دخالت دارند که می‌توانند اثرات تنش را به حداقل رسانده و منجر به تنظیم محیط سلولی و تحمل گیاه شوند. تغییر نسبت یون موجود در گیاه به علت نفوذ یون سدیم از طریق مسیرهای جذب یون پتاسیم می‌باشد (۳). تنظیم هموستازی یون در درون سلول یکی از جنبه‌های مهم در مقاومت به تنش شوری محسوب می‌شود. سیستم SOS[۲] در

*نویسنده مسئول : فرزانه فاطمی

پست الکترونیکی: f.fatemi88@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۵/۰۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۸/۳۰

[۱] - dehydration

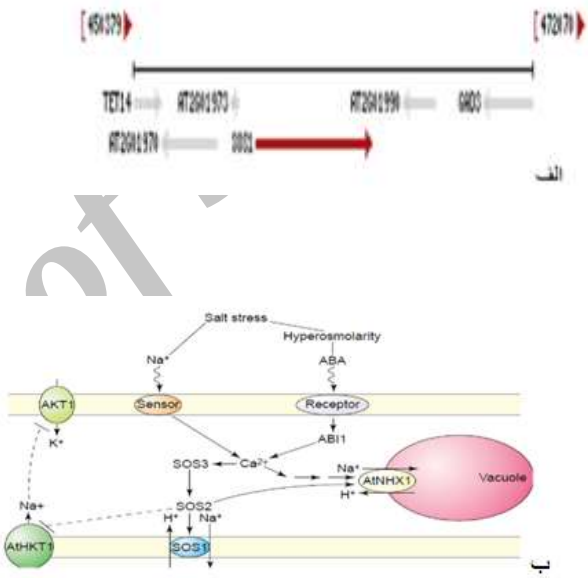
[2] - Salt overly sensitive

Archive of SID

www.SID.ir

گیاه آرابیدوپسیس تالیانا به عنوان یک سیستم پیام‌رسانی سلول در مسیرهای تحمل به تنش شوری عمل می‌کند (۹). آنالیز مولکولی موتان‌های SOS منجر به شناسایی سه پروتئین درگیر در این سیستم SOS3, SOS2, SOS1 شد که یک پیام کلسیم القا شده با تنش یونی را به هوموستازی یونی متصل می‌کند. SOS1 مهم‌ترین نقش را در تحمل شوری گیاه دارد. این ژن کد کننده یک آنتی پورتر پروتون/ سدیم واقع در غشای پلاسمایی است.

فعال‌سازی SOS1 به عنوان واسطه در خروج یون سدیم، در توزیع مجدد این یون در سراسر گیاه نقش دارد (۹،۸،۷) . وجود مکان ژنی SOS1 در آرابیدوبسیس در هموستازی یون Na^+ و K^+ ضروری بوده و فعال شدن آن منجر



شکل ۱- موقعیت ژن *sos1* بر روی کروموزوم شماره ۲ گیاه آرابیدوپسیس (الف)، مسیرهای پیام‌رسانی تنظیم کننده بیان و فعالیت‌های ناقلین یونی جهت حفظ غلظت ناچیز Na^+ در سیتوپلاسم تحت شرایط شوری (ب)

روش کار

جهت بررسی عملکردی ژن *sos1* در آرابیدوپسیس از پایگاه tair (http://www.arabidopsis.org) استفاده شد. شماره شناسه ژن sos1 از سایت EBI (http://www.ebi.ac.uk) تهیه شد و سپس بوسیله بلاست نمودن توالی‌های پروتیینی در پایگاه NCBI (http://www.ncbi.nlm.nig.gov) سایر توالی‌های همولوگ ژن *sos1* به‌دست آمد (جدول ۱). جهت هم‌ردیف کردن توالی‌ها و بررسی نقاط هم‌پوشان از نرم‌افزارهای Bioedit به ایجاد تعادل اسمزی در درون سلول و در نتیجه تسهیم یون سدیم به درون واکوئل می‌شود (۵). امروزه برای تجزیه و تحلیل، تفسیر اطلاعات و شناسایی روابط بین داده‌ها، از منابع و روش-های بیوانفورماتیک استفاده می‌شود. یکی از این حوزه‌ها، تجزیه مولکولی است که شامل همردیفی توالی‌ها، جست و جو در پایگاه‌های اطلاعاتی، شناسایی نگاره‌ها[1]، و ترسیم روابط تکاملی و مقایسه ژنومی است (۲). به دلیل اهمیت سیستم SOS به عنوان سیستم مؤثر در هوموستازی یونی(شکل ۱) ضروری است توالی این ژن و تشابه آن در گیاهان مختلف بررسی و مورد مقایسه قرار گیرد. از اهداف این تحقیق بررسی و مقایسه توالی ژن *sos1* و تعیین روابط فیلوژنتیکی و تکاملی این ژن در گیاهان مختلف با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی مربوطه می‌باشد.

و برای تعیین روابط تکاملی و محاسبه ماتریس فاصله از نرم‌افزار MEGA5 استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA با نرم‌افزار مربوطه صورت گرفت.

نام گیاه	شماره شناسه در پایگاهNCBI	طول توالی
Aegilops speltoides	CAX83736	1142
Aegilops tauschii	CAX83737	1142
Aeluropus littoralis	AEV89922.1	1139
Arabidopsis thaliana	AAD20091	1162
Brassica napus	ACA50526	1142
Chenopodium quinoa	ACN66494	1161
Limonium gmelinii	ACF05808	1151
Oryza sativa Japonica	AAW33875	1148
Populus trichocarpa	XP_002315837	1129
Solanum lycopersicum	BAL04564	1151
Triticum aestivum	CAX83738	1142
Triticum monococcum	CAX83735	1142
Triticum turgidum	ACB47885	1142
Vitis vinifera	ACY03274	1141

جدول۱- شماره شناسه و طول توالی ژن *sos1* در گیاهان مورد مطالعه (با استفاده از بلاست توالی پروتئینی در پایگاه NCBI) به منظور بررسی میزان شباهت و روابط تکاملی

جهت بررسی عناصر سیس[2] در نواحی پروموتوری ژن *SOS1* از سایت plantcare (http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html) استفاده گردید و همچنین خصوصیات فیزیکوشیمیایی، پیش بینی نواحی درون

[1] - Motif

[2] - cis element

www.SID.ir

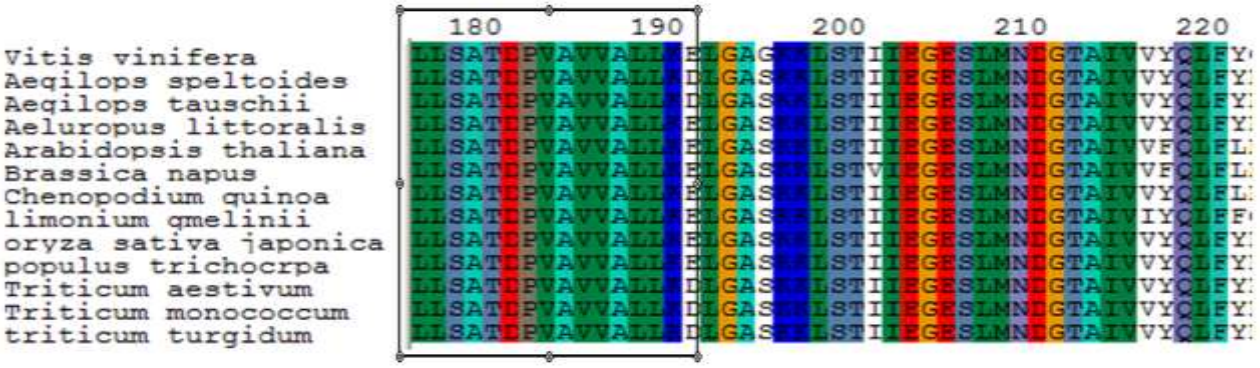
غشائی، جستجوی دمین‌ها و تغییرات پس از ترجمه از طریق سایت EXPASY (http://expasy.org) مورد آنالیز قرار گرفت.

بحث

بررسی خصوصیات ژن *sos1* در گیاه آرابیدپسیس نشان می‌دهد، این ژن بر روی کروموزوم ۱ و۲ قرار دارد و از اتصال ۱۲ ناحیه اگزونی و ۱۱ ناحیه اینترونی تشکیل شده است. بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نشان داد که ترکیب اسید آمینه این ژن متشکل از ۳۴٪ ترئونین، ۲۸٪ آلانین، ۱۹٪ گلیسین و ۱۸٪ سیستئین بود. ترئونین پروتئینی درون سلولی و قابل فسفریله شدن است و در محیط خارج سلولی نیز می‌تواند گلیکوزیله شود. تعیین میزان اسید آمینه‌ها، در تعیین ساختار پروتئینی و تکامل سلولی مهم می‌باشد. نقطه ایزوالکتریکی توالی اسید آمینه این ژن ۴/۷ می‌باشد که از خصوصیات مهم اسید آمینه می‌باشد که بر اساس آن قطبیت پروتئین مشخص می‌شود.

بررسی نواحی پروموتوری نشان داد که در نواحی آغاز رونویسی تفاوت‌هایی در توالی بازی وجود دارد. هم‌چنین ناحیه ABRE (با توالی CACGTG) که در پاسخ به اسید آبسزیک فعال می‌شود، در توالی پروموتوری ژن *sos1* در گیاه آرابیدوپسیس مشاهده شد. و هم‌چنین جعبه CAAT که یک ناحیه جهت افزایش بیان ژن می‌باشد در همه نواحی پروموتوری گیاهان مورد مطالعه مشاهده گردید البته در بعضی نمونه ها تفاوت‌های در توالی این ناحیه وجود داشت که نشان از پتانسیل گیاهان حاوی این ژن (SOS1) جهت مقابله با تنش‌های غیر زیستی دارد. با مطالعه دقیق نواحی تنظیم کننده در توالی‌های پرموتوری، امکان بررسی عملکرد ژن و میزان همبسته بودن با سایر ژن‌ها را در یک مسیر خاص فراهم می‌شود.

نتایج هم‌ردیف کردن توالی‌های پروتئینی برای ژن *sos1* نشان داد که بین گیاهان مورد مطالعه همولوژی وجود دارد و بزرگترین ناحیه حفاظت شده[1]، ۱۵ اسید آمینه طول داشت (شکل۲). نواحی حفاظت شده می‌تواند جهت بررسی روابط تکاملی ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفته و به‌عنوان یک جایگاه خاص در عملکرد و ساختار پروتئین باشند و هم‌چنین جهت طراحی پرایمر و شناسایی این ژن در سایر گیاهان توالی نوکلئوتیدی این ناحیه پیشنهاد می‌گردد. ماتریس تکاملی بر اساس همبستگی پواسون محاسبه شد ونتایج این ماتریس نشان داد که بین توالی پروتئینی ژن sos1 آرابیدوپسیس و آجیلوپس توچی بیشترین فاصله (۰/۵۴۲) و بین گندم نان و آجیلوپس توچی کمترین فا صله (۰/۰۰۴) وجود داشت.



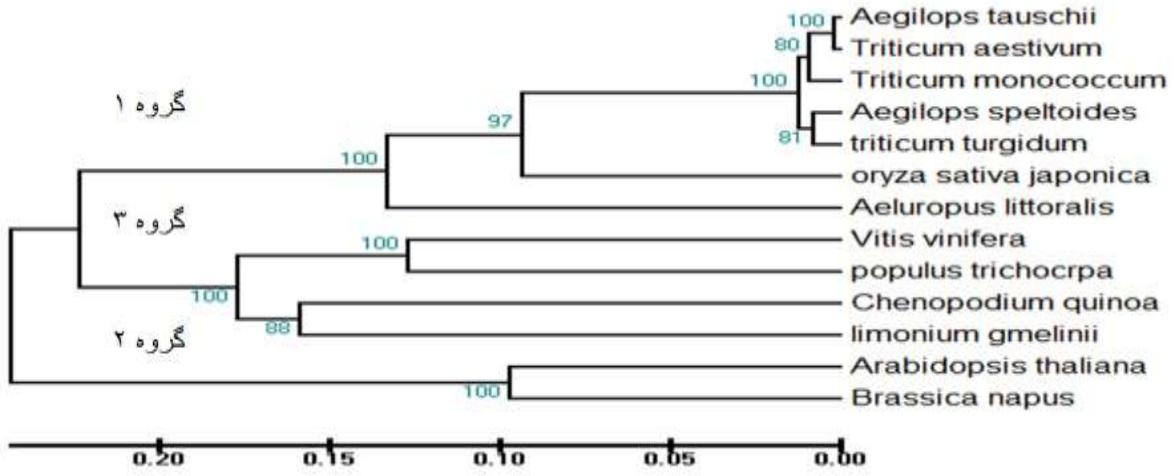
شکل۲- هم‌ردیف کردن توالی پروتئینی ژن *sos1* در گیاهان مورد مطالعه.

[1] -Conserved

www.SID.ir

Vitis vinifera												
Aegilops speltoides	0.413											
Aegilops tauschii	0.421	0.022										
Aeluropus littoralis	0.433	0.273	0.280									
Arabidopsis thaliana	0.423	0.519	0.532	0.552								
Brassica napus	0.400	0.487	0.500	0.511	0.194							
Chenopodium quinoa	0.334	0.474	0.477	0.494	0.485	0.459						
limonium gmelinii	0.369	0.471	0.474	0.494	0.519	0.482	0.317					
oryza sativa	0.394	0.183	0.192	0.217	0.499	0.467	0.449	0.450				
populus trichocrpa	0.253	0.424	0.431	0.446	0.424	0.410	0.340	0.373	0.403			
Triticum aestivum	0.418	0.020	0.004	0.277	0.527	0.496	0.473	0.470	0.190	0.427		
Triticum monococcum	0.414	0.022	0.019	0.280	0.523	0.493	0.471	0.470	0.190	0.425	0.017	
Triticum turgidum	0.413	0.016	0.031	0.266	0.511	0.482	0.476	0.470	0.179	0.421	0.029	0.027

جدول ۲- ماتریس برآورد تنوع تکاملی و فاصله ژنتیکی توالی‌های پروتئینی ژن *sos1* در بین گیاهان مورد مطالعه.



شکل ۳- گروه بندی بر اساس توالی اسید آمینه ژن *sos1* در گیاهان بااستفاده از تجزیه کلاستر با روش UPGMA .

تجزیه کلاستر بر اساس توالی پروتئینی ژن *sos1* در گیاهان مختلف نشان داد که گیاهان مورد مطالعه در سه گروه قرار دارند (شکل۳). طبق تجزیه کلاستر امکان بررسی روابط تکاملی فراهم می‌شود در گروه یک گیاهان خانواده گرامینه قرار گرفتند و بیشترین فاصله در این گروه بین آجیلوپس توچی و برنج وجود داشت. هم‌چنین نتایج این تجزیه وجود رابطه خویشاوندی بین جنس تریتیکوم و آجیلوپس را تأیید می‌کند. در گروه دوم بین گیاهان فاصله تنوعی زیادی مشاهده شد که بیشترین میزان بین توالی پروتئینی سیب زمینی و گیاه چنوپدیوم کاینوا وجود داشت. در گروه سوم گیاه کلزا و آرابیدوپسیس قرار گرفتند که نشان می‌دهد از نظر توالی پروتئینی نزدیک به هم می‌باشند.

نتیجه‌گیری

نتایج درخت فیلوژنتیکی بیانگر این موضوع است که بین گیاهان مطلق به یک خانواده فاصله ژنتیکی کمتری وجود دارد در واقع تکامل ژنتیکی فرایندی علمی است که امکان تعیین تاریخ تکامل گروه‌ها یا توالی‌ها را از طریق درخت‌های تکامل ژنتیکی فراهم می‌کند. در واقع با بررسی درخت فیلوژنتیکی امکان کشف عملکرد ژن، ردیابی منشاء ژن و مشخص کردن خویشاوندان یک موجود فراهم می‌شود.

سپاسگزاری

از گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه مازندران برای حمایت علمی و مالی این پروژه تشکر و قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

منابع

۱. نقوی م ر، ملبوبی م ع، رشیدی منفرد س. بیوانفورماتیک، داده پردازی زیستی، تهران: ۱۳۸۸، انتشارات دانشگاه تهران.

2. Blumwald E, Wolosin JM, Packer L. Na+/H+ exchange in the cyanobacterium Synechococcus 6311. BIOCHEM BIOPH RES CO, 1984; 122: 452–459.
3. Oh, Dong Ha, et al. Consequences of SOS1 deficiency: Intracellular physiology and transcription. Plant Signaling Behav, 2010; 766.
4. Lunde, C, Drew P. D, Jacobs A K and Tester M. Exclusion of Na via Sodium ATPase (PpENA) Ensures Normal Growth of Physcomitrella patens under Moderate Salt Stress. Plant Physiol, 2007; Vol. 144, pp. 1786–1796.
5. Mahajan S, Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: An overview. Arch. Biochem. Biophys, 2005; 444. 139–158.
6. Niu X, Bressan RA, Hasegawa PM and Pardo JM. Plant Physiol, 1995; 109, 735–742.
7. Shi H, Lee BH, Wu SJ, Zhu JK. Overexpression of a plasma membrane Na+ /H+ antiporter gene improves salt tolerance in Arabidopsis thaliana. Nat Biotechnol, 2003; 21: 81–85.
8. Shi H, Quintero FJ, Pardo JM, Zhu JK. The putative plasma membrane Na+ /H+ antiporter SOS1 controls long-distance Na+ transport in plants. Plant Cell, 2002; 14: 465–477.
9. Quintero FJ, Ohta M, Shi H, Zhu JK, Pardo JM. Reconstitution in yeast of the Arabidopsis SOS signaling pathway for Na+ homeostasis. Proc Natl Acad Sci USA, 2002; 99: 9061–9066.

Archive of SID

www.SID.ir