

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده کشاورزی  
گروه زراعت و اصلاح نباتات

**مطالعه بیوانفورماتیکی ژن‌های دخیل در مسیر جنین‌زایی میکروسپور در گیاهان  
تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای**

**فرشاد عرب انصاری**

اساتید راهنما

**دکتر شاهرخ قرن‌جیک**

**دکتر ناصر فرخی**

استاد مشاور

**مهندس مهدی رحیمی**

پایان نامه ارشد جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

شهریور ۱۳۹۳

تقدیم به پدر و مادرم

و به آنانکه اهل یافتن اند نه اهل یافتن،

آنانکه متواضعانه معترف اند

حقیقتی را یافته اند نه کل حقیقت را...

## شکر و قدردانی:

سپاس بی‌کران پروردگاری که هستی مان بخشد و به طریق علم و دانش، نمونه‌مان شود و به بهنیشی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه‌چینی از علم و معرفت را در میان ساخت.

بدون شک جایگاه و منزلت معلم، اجل از آن است که در مقام قدردانی از زحمات بی‌شائبه‌ی او، با زبان قاصر و دست ناتوان، چیزی بکاریم. اما از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تا این می‌کند و سلامت امانت‌هایی را که به دستش سپرده‌اند، تضمین؛ بر حسب و طیفه و از باب «من لم یشکر المنعم من المخلوقین لم یشکر الله عزوجل»:

از پدر و مادر عزیزم... این دو معلم بزرگوارم... که در تمام عرصه‌های زندگی یار و یاور بی‌چشم داشت برای من بوده‌اند؛ از اساتید راهنمای کراتقدر؛ جناب آقای دکتر شاهرخ قریب‌چیک و دکتر ناصر فرخی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از بیچ‌گلی در این عرصه بر من دریغ نمودند و زحمت راهنمایی این رساله را بر عهده گرفتند؛ از استاد محترم، جناب آقای مهندس مهدی رحیمی، که زحمت مشاوره این رساله را متقبل شدند؛ و از اساتید محترم؛ جناب آقای دکتر صد لویی و دکتر ممرآبادی که زحمت داوری این رساله را متقبل شدند؛ از کارشناس محترم آزمایشگاه زراعت و ژنتیک، جناب آقای مهندس حسین مطهری نژاد که شرایط مطلوب کار در آزمایشگاه را برای بنده و سایر دانشجویان فراهم نمودند؛ و در پایان از تمامی دوستان و عزیزان کمال شکر و قدردانی را دارم. سلامتی، موفقیت و طول عمر بابرکت این عزیزان را از خداوند متعال آرزو می‌کنم.

فرشاد عرب‌النصاری

شهریور ۹۳

## تعهد نامه

اینجانب **فرشاد عرب انصاری** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته **بیوتکنولوژی کشاورزی** دانشکده **کشاورزی** دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه **مطالعه بیوانفورماتیکی ژن‌های دخیل در مسیر جنین‌زایی میکروسپور در گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای** تحت راهنمایی **دکتر شاهرخ فرنجیک** و **دکتر ناصر فرخی** متعهد می‌شوم.

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهش‌های محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده ( یا بافتهای آنها ) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ: ۱۳۹۳/۶/۳۱

امضای دانشجو

### مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است ) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

## چکیده

به دلیل ماهیت هاپلوئیدی سلول‌های دانه گرده، جنین‌زایی میکروسپور (آندروژنز) روش ارزشمندی برای تولید هاپلوئیدهای مضاعف در جهت اهداف اصلاحی می‌باشد. جنین‌زایی میکروسپور بر اساس تغییر جهت میکروسپورها از مسیر نمو طبیعی دانه گرده به سمت مسیر جنین‌زایی می‌باشد، که می‌تواند توسط تیمارهای تنشی مختلفی القا شود. آندروژنز کارآمدی توسط ترکیبی از تنش گرسنگی و اسمزی، از طریق تیمار مانیتول بساک‌های حاوی میکروسپورهای مرحله اواسط تک‌هسته‌ای انتهایی تا تک‌هسته‌ای انتهایی اندکی قبل از نخستین میتوز دانه گرده در گیاهان القا می‌شود. در سطح مولکولی، برنامه‌ریزی مجدد میکروسپور به سمت مسیر آندروژنز توسط القا چندین ژن مشخص می‌شود. فرض اساسی این است که یک خوشه از ژن‌های هم‌بیان توسط عوامل رونویسی یکسانی تنظیم می‌شوند و ژن‌های این خوشه معین موتیف‌های تنظیمی مشترکی دارند. بر همین اساس، ما فرض نمودیم که ژن‌هایی که اتصال غیرمستقیمی با ژن‌های موردبررسی دارند ممکن است دارای موتیف‌های تنظیمی مشترکی باشند. در این مطالعه، شبکه هم‌بیانی ژن‌ها در آرآبیدوپسیس و برنج به ترتیب با استفاده از بانک اطلاعاتی ATTED-II و RiceFRIEND رسم گردید و سپس ۱۰۰۰ جفت باز بالادست ناحیه پروموتور این ژن‌ها در آرآبیدوپسیس و برنج به ترتیب از بانک اطلاعاتی TAIR و RAP-DB انتخاب شدند. برای اطمینان از بیان این ژن‌ها در جنین، الگوی بیان‌شان با استفاده از اطلاعات ریزآرایه نرم‌افزار Genevestigator مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس المنت‌های تنظیمی مشترک توسط بررسی ۱۰۰۰ جفت باز بالادست ژن‌های هم‌بیان با استفاده از نرم‌افزار Motif Sampler و بانک اطلاعاتی PLACE پیش‌بینی شدند. نتایج به‌دست‌آمده از نرم‌افزار Genevestigator نشان داد که تمام این ژن‌ها در طول جنین‌زایی بیان می‌شوند. سپس المنت‌های تنظیمی شناسایی شده با پاسخ به نور، تنش‌های زیستی و غیر زیستی، نمو گیاه و بیان ژن مرتبط می‌باشند که از جمله آن‌ها 10 promoter element، G-box، GT-1، I-box، Box A، AuxRE، JARE، ERE، GCC-box، EIRE، ABRE، MYC، MYB، CRT/DRE، GARE، P-box، PRE، Q-element، REalpha، BS1، RY repeat، S1F box، T-box، C-box، A-box، PolyA signal، SEF3، ARE و REbeta می‌باشند. این نتایج سپس المنت‌های تنظیمی را که احتمالاً در بیان و تنظیم ژن‌های هم‌بیان آرآبیدوپسیس و برنج در طول تیمار مانیتول و برنامه‌ریزی مجدد میکروسپور به سمت مسیر آندروژنز نقش دارند را نشان می‌دهد. از جمله ژن‌های هم‌بیان شناسایی شده در این تحقیق می‌توان به ژن‌های پروتئولیتیک (مانند 20S پروتئازوم، 26S پروتئازوم، FtsH متالوپروتئاز، سیستمین پروتئاز، آسپارتیک پروتئاز)، پروتئین‌های سنتز شده طی تنش (مانند گلوتاتیون S- ترانسفراز، Bax inhibitor-1، الکل دهیدروژناز ۱، کاتالاز ۱)، RIC2 مرتبط با Ras، کالمودولین، EF-hand

آرابینوگالاکتان، Myb، GRIM-19، SNARE-like، v-SNARE، اسید چرب دسچوراز ۲ و گلوتاردوکسین اشاره کرد که در کلاس‌های مختلفی قرار می‌گرفتند. علاوه بر این، ژن‌های هم‌بیان مشترک زیادی بین آرابیدوپسیس و برنج تشخیص داده شد که شامل آسپارتیک پروتئیناز، RNP-1 متصل شونده به RNA، خانواده انول کوآنزیم آ هیدراتاز/ ایزومراز، آدهید دهیدروژناز، ATP سیترات لیاز A-3، سیستئین پروتئاز، سیتوکروم P450، پروتئین کیناز سرین/ ترئونین WNK، پروتئین خانواده گالاکتوز اکسیداز، پروتئین خانواده آلفا/ بتا هیدرولاز، پروتئین خانواده تکرار غنی از لوسین (LRR)، پروتئین کیناز دومین کالمودولین، پروتئین خانواده لاکتات/ ملات دهیدروژناز، اکسیژناز وابسته به اگزوگلوکوتارات/ آهن، 20S پروتئازوم آلفا و بتا، 26S پروتئازوم، ایزوپنتیل دی فسفات ایزومراز، پروتئین خانواده شبه SNARE، بازدارنده Bax، پروتئین خانواده شبه تترا تریکوپپتید، EF-Hand، FtsH، پروتئاز، زیرواحد پروتئولیتیک Clp پروتئاز، مونو دهیدروآسکوربات ردوکتاز، چاپرون dnaJ، گلوکاتیون S- ترانسفراز، پروتئین خانواده متیل ترانسفراز وابسته به S- آدنوزیل-L- متیونین، انگشت روی، پروتئین خانواده Octicosapeptide/Phox/Bem1p، پروتئین کیناز مرتبط با ساکارز غیر تخمیری، جعبه F و پروتئین کیناز سرین/ ترئونین PBS1 می‌باشند. نتایج ما نشان می‌دهد که این ژن‌های هم‌بیان به احتمال زیاد کاندیداهایی برای توصیف عملکرد القا آندروژنز در محیط آزمایشگاهی در گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای می‌باشند.

**کلمات کلیدی:** جنین‌زایی میکروسپور، آندروژنز، تنش، مانیتول، ژن‌های هم‌بیان، سیس المنت‌های تنظیمی، موتیف، ATTED-II، RiceFRIEND، Genevestigator، Motif Sampler، PLACE، آرابیدوپسیس، برنج.

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	فصل اول: کلیات.....
۳	۱-۱- جنین‌زایی میکرو اسپور.....
۵	۲-۱- نقش تنش در جنین‌زایی میکرو اسپور.....
۵	۳-۱- کاربردهای جنین‌زایی و بلوغ درون شیشه‌ای میکرو اسپور.....
۶	۴-۱- بیوانفورماتیک.....
۸	۵-۱- ریز آرایه.....
۹	۶-۱- توالی‌های بیان شده برچسب‌دار (EST).....
۱۱	فصل دوم: بررسی منابع.....
۱۲	۱-۲- ژن‌های هم‌بیان.....
۱۳	۲-۲- بانک‌های اطلاعاتی ژن‌های هم‌بیان.....
۱۶	۳-۲- ضرورت آنالیز سیس‌المنت‌ها در مطالعات هم‌بیانی.....
۱۸	۴-۲- مروری بر مطالعات هم‌بیانی ژن‌ها در گیاهان.....
۲۱	فصل سوم: مواد و روش‌ها.....
۲۲	۱-۳- شناسایی ژن‌های دخیل در جنین‌زایی میکرو اسپور در آرآبیدوپسیس و برنج.....
۲۲	۲-۳- شناسایی ژن‌های هم‌بیان با ژن‌های همولوگ در آرآبیدوپسیس و برنج.....
۲۳	۳-۲-۱- انتخاب شرایط آزمایشی.....
۲۳	۳-۲-۱-۱- مستقل از شرایط.....
۲۳	۳-۲-۱-۲- وابسته به شرایط.....
۲۴	۳-۲-۲- سنجش هم‌بیانی ژن‌ها.....
۲۶	۳-۲-۳- نمایش شبکه ژن‌های هم‌بیان.....
۲۶	۳-۲-۳-۱- نمایش شبکه ژن‌های هم‌بیان در بانک اطلاعاتی ATTED-II.....
۲۷	۳-۲-۳-۲- نمایش شبکه ژن‌های هم‌بیان در بانک اطلاعاتی RiceFRIEND.....



۲۹.....	۴-۲-۳- بررسی میزان بیان ژن‌ها در جنین.....
۳۰.....	۵-۲-۳- شناسایی موتیف‌های مشترک در مجموعه ژن‌های هم‌بیان.....
۳۰.....	۱-۵-۲-۳- بانک اطلاعاتی PlantCARE (نرم‌افزار Motif Sampler).....
۳۳.....	۶-۲-۳- تشخیص عملکرد موتیف‌های تنظیمی.....
۳۳.....	۱-۶-۲-۳- بانک اطلاعاتی PLACE (نرم‌افزار Signal Scan).....
۳۵.....	فصل چهارم: نتایج و بحث.....
۳۶.....	۱-۴- نتایج.....
۳۶.....	۱-۱-۴- شناسایی ژن‌های دخیل در جنین‌زایی میکروسپور جو.....
۳۷.....	۲-۱-۴- شناسایی ژن‌های همولوگ EST‌های الفا آندروژنز جو در آرآبیدوپسیس و برنج.....
۳۸.....	۳-۱-۴- بررسی عملکرد برخی از ژن‌های هم‌بیان شناسایی شده در جنین‌زایی میکروسپور.....
۴۳.....	۱-۳-۱-۴- ژن بازدارنده <i>BAX1 (BI-1)</i> .....
۴۶.....	۲-۳-۱-۴- ژن‌های پروتئولیتیک.....
۴۸.....	۳-۳-۱-۴- ژن گلوکوتایون <i>S</i> - ترانسفراز ( <i>GST</i> ).....
۴۹.....	۴-۳-۱-۴- ژن الکل دهیدروژناز ۱ ( <i>ADH1</i> ).....
۵۰.....	۵-۳-۱-۴- <i>Ras GTPase</i> .....
۵۱.....	۶-۳-۱-۴- پروتئین کیناز وابسته به کلسیم / کالمودولین.....
۵۱.....	۷-۳-۱-۴- پروتئین متصل‌شونده به کلسیم خانواده <i>EF-hand</i> .....
۵۲.....	۸-۳-۱-۴- پروتئین‌های آرابینوگالاکتان ( <i>AGP</i> ).....
۵۳.....	۹-۳-۱-۴- عامل رونویسی <i>MYB</i> .....
۵۳.....	۱۰-۳-۱-۴- <i>SNARE-۱۷</i> ، واسطه مسیر انتقال وزیکول.....
۵۵.....	۱۱-۳-۱-۴- پکتین لیاز عامل بیماری‌زایی.....
۵۵.....	۱۲-۳-۱-۴- لیپازها.....
۵۶.....	۱۳-۳-۱-۴- ژن <i>GRIM-19</i> .....

۵۷.....	تیوردوکسین ۱۴-۳-۱-۴
۵۸.....	گلو تاردوکسین ۱۵-۳-۱-۴
۶۱.....	پروتئین اتوفاگوسیتوز شبه AUT1 ۱۶-۳-۱-۴
۶۳.....	Bcl-2-associated athanogene 7 (BAG7) ۱۷-۳-۱-۴
۶۴.....	NagB/RpiA/CoA transferase-like پروتئین بالاخانواده ۱۸-۳-۱-۴
۶۵.....	پروتئین شبه متالوتیونین ۲ ۱۹-۳-۱-۴
۶۵.....	پروتئین بالاخانواده SNARE-like ۲۰-۳-۱-۴
۶۶.....	پروتئین حاوی دومین لانگین ۲۱-۳-۱-۴
۶۷.....	پروتئین حاوی دومین ناحیه مرتبط با YbaK / پرولیل - tRNA سنتتاز ۲۲-۳-۱-۴
۶۸.....	سوپراکسید دیسموتاز ۲۳-۳-۱-۴
۶۸.....	کاتالاز ۲۴-۳-۱-۴
۶۹.....	پراکسیداز ۲۵-۳-۱-۴
۶۹.....	هم پراکسیداز ۲۶-۳-۱-۴
۷۰.....	فسفولیپید هیدروپروکسید گلو تاتیون پراکسیداز ۲۷-۳-۱-۴
۷۰.....	اسید چرب دساچوراز ۲ (FAD2) ۲۸-۳-۱-۴
۷۱.....	فایتوئین دساچوراز (PDS) ۲۹-۳-۱-۴
۷۲.....	ترانسلوکاز غشا داخلی ورودی میتوکندریایی، زیرواحد Tim17/22 ۳۰-۳-۱-۴
۷۳.....	پروتئین انگشت روی نوع Zim17 ۳۱-۳-۱-۴
۷۴.....	۴-۱-۴- ژن های هم بیان مشترک بین آرابیدوپسیس و برنج
۸۰.....	۵-۱-۴- شناسایی عناصر تنظیمی مشترک در مجموعه ژن های هم بیان
۸۰.....	۱-۵-۱-۴- موتیف های پاسخ دهنده به نور
۸۲.....	۲-۵-۱-۴- موتیف های مسئول دفاع گیاهی
۸۴.....	۳-۵-۱-۴- موتیف های پاسخ دهنده به تنش های غیر زیستی

---

۸۶.....	۴-۵-۱-۴- سایر عناصر شناسایی شده در مجموعه ژن‌های هم‌بیان.....
۹۵.....	۲-۴- بحث.....
۹۷.....	۳-۴- پیشنهادات.....
۹۹.....	منابع.....
۱۱۳.....	پیوست‌ها.....

## فهرست اشکال

صفحه	عنوان
۴.....	شکل ۱-۱- مسیره‌های گامتوفیتی و اسپوروفیتی در میکروسپور.....
۲۷.....	شکل ۱-۳- نمونه‌ای از رسم شبکه ژن‌های هم‌بیان توسط بانک اطلاعاتی ATTED-II.....
۲۸.....	شکل ۲-۳- نمایش گرافیکی شبکه ژن‌های هم‌بیان به شکل Hyper Tree.....
۳۰.....	شکل ۳-۳- بخشی از نمودار شدت بیان رسم شده به شکل Heatmap با استفاده از نرم‌افزار Genevestigator.....
۱۱۴.....	شکل پیوست-۱- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان گلوکاتیون S- ترانسفراز آرابیدوپسیس و برنج.....
۱۱۵.....	شکل پیوست-۲- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان 20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E1 آرابیدوپسیس و برنج.....
۱۱۶.....	شکل پیوست-۳- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان زیرواحد تنظیمی 26S پروتئازوم برنج.....
۱۱۷.....	شکل پیوست-۴- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان الکل دهیدروژناز ۱ و ۲ به ترتیب در آرابیدوپسیس و برنج.....
۱۱۸.....	شکل پیوست-۵- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان بازدارنده <i>BAX1 (BI-1)</i> آرابیدوپسیس و برنج.....
۱۱۹.....	شکل پیوست-۶- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان سیستمین پروتئاز خانواده Papain و سیستمین پروتئیناز ۱ به ترتیب در آرابیدوپسیس و برنج.....
۱۲۰.....	شکل پیوست-۷- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان <i>FtsH</i> پروتئاز آرابیدوپسیس و برنج.....
۱۲۱.....	شکل پیوست-۸- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان آسپارتیک پروتئیناز ۱ آرابیدوپسیس و برنج.....
۱۲۲.....	شکل پیوست-۹- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان A1B همولوگ RAB GTPase و پروتئین RIC2 مرتبط با Ras به ترتیب در آرابیدوپسیس و برنج.....
۱۲۳.....	شکل پیوست-۱۰- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان پروتئین کیناز ۲۳ تداخلی با CBL و پروتئین کیناز سرین/ ترئونین به ترتیب در آرابیدوپسیس و برنج.....

## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲- بانک‌های اطلاعاتی آنالیز هم‌بیانی ژن در گیاهان.....	۱۴
جدول ۱-۳- مقادیر پارامترهای تنظیم شده در نرم‌افزار Motif Sampler.....	۳۲
جدول ۱-۴- مشخصات ۱۰ توالی بیان شده برچسب‌دار (EST) القا شده در جنین‌زایی میکروسپور جو.....	۳۶
جدول ۲-۴- مشخصات ژن‌های همولوگ آرابیدوپسیس به دست آمده از پایگاه داده TAIR.....	۳۷
جدول ۳-۴- مشخصات ژن‌های همولوگ برنج به دست آمده از پایگاه داده MSU Rice Genome Annotation.....	۳۷
جدول ۴-۴- مشخصات برخی از ژن‌های هم‌بیان شناسایی شده در جنین‌زایی میکروسپور آرابیدوپسیس.....	۳۹
جدول ۵-۴- مشخصات برخی از ژن‌های هم‌بیان شناسایی شده در جنین‌زایی میکروسپور برنج.....	۴۰
جدول ۶-۴- فهرست ژن‌های هم‌بیان مشترک بین آرابیدوپسیس و برنج.....	۷۵
جدول ۷-۴- نقش کارکردی موتیف‌های شناسایی شده در مجموعه ژن‌های هم‌بیان.....	۸۹
جدول ۸-۴- موتیف‌های پاسخ‌دهنده به نور.....	۹۱
جدول ۹-۴- موتیف‌های مسئول دفاع گیاهی.....	۹۲
جدول ۱۰-۴- موتیف‌های پاسخ‌دهنده به تنش‌های غیرزیستی.....	۹۳
جدول ۱۱-۴- سایر عناصر شناسایی شده در مجموعه ژن‌های هم‌بیان.....	۹۴
جدول پیوست-۱- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان آسپارتیک پروتئیناز A1 آرابیدوپسیس.....	۱۲۴
جدول پیوست-۲- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان A1B همولوگ RAB GTPase آرابیدوپسیس.....	۱۲۵
جدول پیوست-۳- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان پروتئین کیناز ۲۳ تداخلی CBL آرابیدوپسیس.....	۱۲۶
جدول پیوست-۴- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان الکل دهیدروژناز ۱ آرابیدوپسیس.....	۱۲۶
جدول پیوست-۵- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان 20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E1 آرابیدوپسیس.....	۱۲۷
جدول پیوست-۶- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان بازدارنده <i>BAX1</i> ( <i>BI-1</i> ) آرابیدوپسیس.....	۱۲۸
جدول پیوست-۷- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان <i>FtsH</i> پروتئاز آرابیدوپسیس.....	۱۲۹
جدول پیوست-۸- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان سیستمین پروتئاز آرابیدوپسیس.....	۱۳۰
جدول پیوست-۹- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان گلوکاتیون-S- ترانسفراز آرابیدوپسیس.....	۱۳۱

- جدول پیوست-۱۰- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان گلوکاتایون- S- ترانسفراز برنج..... ۱۳۲
- جدول پیوست-۱۱- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان بازدارنده *BAX1 (BI-1)* برنج..... ۱۳۴
- جدول پیوست-۱۲- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان زیرواحد تنظیمی 26S پروتئازوم برنج..... ۱۳۶
- جدول پیوست-۱۳- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان سیستمین پروتئیناز ۱ برنج..... ۱۳۸
- جدول پیوست-۱۴- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان آسپارتیک پروتئیناز ۱ برنج..... ۱۳۹
- جدول پیوست-۱۵- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان پروتئین RIC2 مرتبط با Ras برنج..... ۱۴۲
- جدول پیوست-۱۶- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان *FtsH* پروتئاز برنج..... ۱۴۴
- جدول پیوست-۱۷- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان پروتئین کیناز سرین/ ترئونین برنج..... ۱۴۷
- جدول پیوست-۱۸- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان الکل دهیدروژناز ۲ برنج..... ۱۴۹
- جدول پیوست-۱۹- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان 20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E برنج..... ۱۵۱

فصل اول

کلیات





تولید گیاهان تراریخته از طریق بافت‌های هاپلوئید از اهداف با ارزش در مهندسی ژنتیک محسوب می‌شود، چراکه پس از انتقال ژن به بافت هاپلوئید و مضاعف کردن کروموزوم‌های آن، می‌توان گیاهان تراریخته کاملاً هموزیگوس برای ژن انتقال‌یافته را باززایی کرد. روش‌های متعددی جهت تولید گیاهان هاپلوئید و به دنبال آن گیاهان هاپلوئید مضاعف وجود دارد که یکی از این روش‌ها آندروژنز<sup>۱</sup> می‌باشد که به دو روش، کشت بساک و کشت میکروسپور انجام می‌شود. محققین از طریق هاپلوئیدهای مضاعف شده توانسته‌اند ارقام جدیدی از غلات به‌ویژه گندم، جو، ذرت و برنج را اصلاح و معرفی کنند. برای القا جنین‌زایی در میکروسپور، تیمارهای تنشی (تنش غذایی، دمای بالا یا پایین) به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند. تولید گیاهان هموزیگوس با استفاده از تکنیک کشت میکروسپور، به‌عنوان روشی مؤثر در تولید گیاهان هاپلوئید، می‌تواند علاوه بر صرفه‌جویی در هزینه‌ها، برنامه‌های به‌نژادی را تسریع و مکمل مناسبی برای روش‌های رایج به‌نژادی باشد.

نمونه دانه‌گرده را می‌توان به دو فرآیند اصلی، میکروسپورژنز<sup>۲</sup> و میکروگامتوژنز<sup>۳</sup> تقسیم نمود (بدینگر، ۱۹۹۲). در گیاهان، میکروسپورژنز با میوز سلول مادری دانه‌گرده شروع و با تشکیل میکروسپورهای هاپلوئید خاتمه می‌یابد. نخستین میتوز دانه‌گرده شروع میکروگامتوژنز است که طی آن یک تقسیم نامتقارن باعث تولید یک سلول زایشی فشرده می‌شود که در سیتوپلاسم سلول رویشی بزرگی قرار دارد (مک کورمیک، ۱۹۹۳). رویدادهایی که در طول مراحل بین میکروسپورژنز و میکروگامتوژنز رخ می‌دهد نقطه بحرانی در شروع مسیر نموی دانه‌گرده می‌باشد، چراکه اعمال یک تیمار تنش در نزدیکی نخستین میتوز دانه‌گرده برای تغییر جهت میکروسپورها به‌سوی مسیر جنین‌زایی میکروسپور (آندروژنز) ضروری می‌باشد (تاریو و همکاران، ۱۹۹۷).

تنظیم رونویسی ژن برای عملکرد و نمو همه موجودات ضروری است. سلول‌های زنده محصول برنامه‌های پیچیده بیان ژن هستند که رونویسی از ژن‌های بی‌شماری را در بر می‌گیرد. عوامل

---

1- Androgenesis

2- Microsporogenesis

3- Microgametogenesis

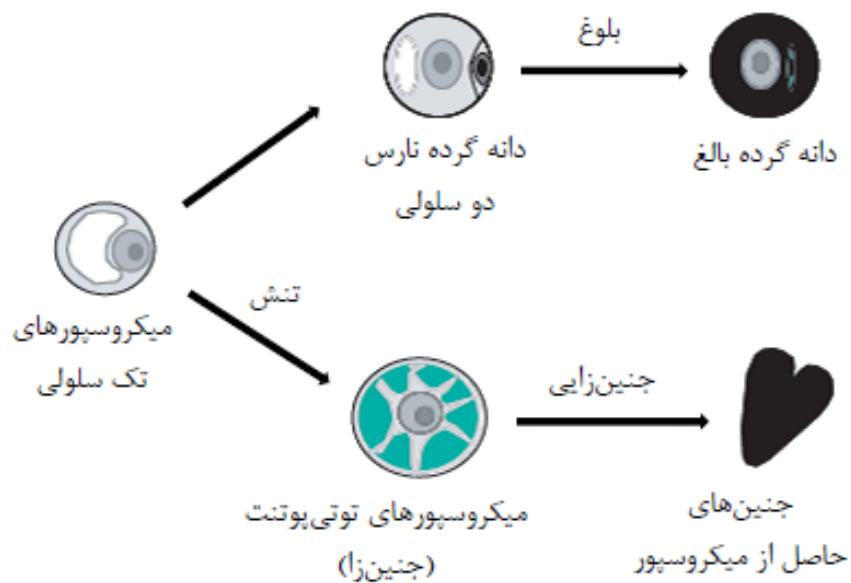
رونویسی متصل‌شونده به DNA یکی از اجزای مهم این شبکه هستند. رونویسی توسط برهمکنش بین عوامل رونویسی که معمولاً به عناصر همسوساز<sup>۱</sup> در پروموتور ژن‌ها متصل می‌شوند با برخی از کوفاکتورهای اضافی برای فعال کردن یا مهار رونویسی ژن در پاسخ به تغییر در محیط و نیز در طول نمو ایجاد می‌شود (ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰).

به‌طور کلی، جنین‌زایی میکروسیپور (آندروژنز) یک پدیده ناشی از تنش می‌باشد (مالیک و همکاران، ۲۰۰۷). آندروژنز کارآمدی توسط ترکیبی از تنش گرسنگی و اسمزی، از طریق تیمار مانیتول بساک‌های حاوی میکروسیپور های مرحله اواسط تک‌هسته‌ای انتهایی تا تک‌هسته‌ای انتهایی اندکی قبل از نخستین میتوز دانه‌گرده در گیاهان القا می‌شود (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۶). در این پژوهش، با استفاده از آنالیز ژن‌های هم‌بیان با ژن‌های 20S پروتئازوم آلفا، 26S پروتئازوم، الکل دهیدروژناز ۳ (*ADH3*)، بازدارنده *BAX1 (BI-1)*، سیستمین پروتئاز ۱، پروتئین رشته‌ای حساس به دما (FtsH)، گلوکاتایون S- ترانسفراز ۱ (*GST* کلاس phi)، فیتپسین (آسپارتیک پروتئاز)، پروتئین RIC2 مرتبط با Ras و یک ژن پروتئین کیناز و سپس پیدا کردن سیس المنت‌های مشترک در بالادست پروموتور این ژن‌ها و ژن‌های هم‌بیان‌شان به شناسایی ژن‌های کاندیدای جنین‌زایی میکروسیپور در نماینده گیاهان تک‌لپه‌ای (*Oryza sativa*) و دولپه‌ای (*Arabidopsis thaliana*) پرداخته شد. این مطالعه اولین گزارش پیرامون آنالیز ژن‌های هم‌بیان دخیل در جنین‌زایی میکروسیپور برای معرفی ژن‌های کاندیدا می‌باشد.

## ۱-۱- جنین‌زایی میکروسیپور

جنین‌زایی میکروسیپور شامل تغییر جهت نمو از مسیر بلوغ دانه‌گرده به سمت تولید جنین غیرزیگوتی می‌باشد. جنین‌هایی که در کشت میکروسیپور تولید می‌شوند می‌توانند به گیاهان هاپلوئید توسعه یابند (راقوان، ۱۹۸۶). اگرچه نتیجه نمو میکروسیپور در گیاه به‌طور طبیعی تمایز آن به دانه

گرده و انجام باروری است اما میکروسپوره‌های کشت‌شده در شرایط درون شیشه‌ای<sup>۱</sup> می‌توانند در صورت عدم اعمال تنش و کشت در یک محیط غنی از نظر مواد غذایی به دانه گرده رسیده تکامل یابند و یا با اعمال تنش به‌طور مکرر تقسیم و به جنین نمو یابند (شکل ۱-۱). به‌عبارت‌دیگر میکروسپورها چه در محیط طبیعی (داخل بساک‌ها) و چه در صورت ایزوله شدن و کشت درون شیشه‌ای (بدون اعمال تنش)، مسیر طبیعی نمو خود را طی و با انجام اولین تقسیم میتوز، دانه گرده نارس را تولید می‌نمایند که طی مجموعه‌ای از تغییرات فیزیولوژیک (از قبیل تجمع دانه‌های نشاسته و غیره) متورم و تشکیل دانه گرده رسیده را می‌دهد ولی در صورت تغییر برنامه میکروسپوره‌های ایزوله شده توسط تنش می‌توانیم تولید جنینی نماییم که قابل باززایی به گیاه هاپلوئید می‌باشد (شریعت پناهی و امامی میبدی، ۱۳۸۸).



شکل ۱-۱- مسیرهای گامتوفیتی و اسپوروفیتی در میکروسپور (شریعت پناهی و امامی میبدی، ۱۳۸۸).

## ۱-۲- نقش تنش در جنین‌زایی میکروسپور

جنین‌زایی میکروسپور به توانایی سلول‌های منفرد هاپلوئید (میکروسپور) در جهت تمایز و باززایی به یک گیاه کامل بعد از قرارگیری در معرض تنش اطلاق می‌شود. یک عامل تنش‌زا مانند جرقه‌ای عمل می‌نماید که پیام‌های لازم برای القا جنین‌زایی در میکروسپور را صادر می‌کند. این تنش‌ها از نظر وفور نسبی اعمال تنش به سه دسته مختلف تقسیم می‌شوند؛ تنش‌هایی که به فراوانی برای القا جنین‌زایی در میکروسپور مورد استفاده قرار می‌گیرند و شامل سرما، حرارت، کمبود مواد غذایی و کلشی‌سین می‌باشند، تنش‌هایی که کمتر مورد استفاده قرار گرفته‌اند که شامل اشعه گاما، تنش اتانول، تیمار سانتریفیوژ، کاهش فشار اتمسفر و آبسیزیک اسید می‌باشند. این تنش‌ها ممکن است برای القا جنین‌زایی در گونه‌هایی که سخت پاسخ‌ده هستند مؤثر باشد و تنش‌های متفرقه شامل اسیدیته بالا، الیگوساکارید کاراگینن<sup>۱</sup>، تنش‌های فلزات سنگین و القاکننده‌های شیمیایی می‌باشند (شریعت پناهی و امامی میبدی، ۱۳۸۸).

## ۱-۳- کاربردهای جنین‌زایی و بلوغ درون شیشه‌ای میکروسپور

کشت میکروسپور دارای کاربردهای زیادی از قبیل غلبه بر موانع تلاقی (نرعی می و خودناسازگاری)، ایجاد گیاهان نرعی می از طریق غیرفعال‌سازی یا کم‌توان نمودن آنزیم‌های دخیل در مرحله نمو میکروسپور به دانه گرده، حفظ گیاه نرعی می از طریق جنین‌زایی میکروسپور و امکان برگرداندن نر باروری از طریق بلوغ درون شیشه‌ای میکروسپور، انتقال ژن به میکروسپور با استفاده از سیستم‌های اختصاصی، نو ترکیبی مبتنی بر تشابه، امکان بررسی نمو گرده و گرده‌افشانی، جنین‌زایی، توتی‌پوتنسی، چرخه سلولی، تغییر فاز و نقش تنش در نمو در کنار تولید گیاهان هاپلوئید دابل است (شریعت پناهی و امامی میبدی، ۱۳۸۸).

---

1- Carrageenan oligosaccharides

#### ۱-۴- بیوانفورماتیک

رشد سریع مقدار داده‌های زیستی، مشکلاتی برای دانشمندان علوم زیستی و زیست‌فناوری جهت جمع‌آوری، ذخیره‌سازی و نگهداری اطلاعات ایجاد کرده، به‌گونه‌ای که شاید دیگر نتوان بدون بهره‌جستن از فناوری‌های نوین با این مسائل روبرو شد. پیشرفت‌های شگرف فناوری‌های اطلاعاتی و ارتباطی به‌ویژه اینترنت، راهکار مؤثری پیش روی دانشمندان و محققان قرار داده است. بیوانفورماتیک با سازمان‌دهی داده‌های زیستی به محقق اجازه می‌دهد به اطلاعات موجود دسترسی آسان و سریع داشته، به راحتی اطلاعات و یافته‌های جدید را به این مجموعه بیفزاید، همچنین ابزارهای مناسبی برای تجزیه و تحلیل داده‌ها به منظور استخراج الگوهای مفید در اختیار وی قرار می‌دهد. علاوه بر موارد مذکور، بیوانفورماتیک ابزار و سیستم‌های چندرسانه‌ای جهت مدل‌سازی و شبیه‌سازی ساختارهای پیچیده مولکولی و سیستم‌های زیستی را به محققین ارائه خواهد داد. تمرکز امروزی بر بیوانفورماتیک، بیانگر آغاز یک انتقال و تغییر اساسی و مهم در مطالعه سیستم‌های بیولوژیکی است که نتایج پایه‌ای و کاربردی در بر خواهد داشت. بیوانفورماتیک در تمام زمینه‌های زیستی مانند سلامتی بشر، کشاورزی، محیط‌زیست، صنایع سبز و فرآیندهای زیستی تأثیر گذاشته که در نهایت منجر به توسعه رویکردهای ژنتیکی به منظور طراحی داروهای جدید و مهندسی متابولیک جانداران برای تولید منابع تجدیدپذیر و همچنین تولید مواد و کالاهای شیمیایی با ویژگی‌های خاص حتی در عرصه فناوری اطلاعات خواهد شد (پرتال بیوانفورماتیک ایرانیان).

بیوانفورماتیک، طراحی سیستم‌های رایانه‌ای و مدل‌های ریاضی برای نگهداری، مدیریت و تحلیل مجموعه‌ی عظیمی از داده‌های زیستی و همچنین ارائه دانش زیستی می‌باشد.

بیوانفورماتیک شامل دو حوزه‌ی توسعه‌ی ابزارهای رایانه‌ای و پایگاه داده‌ها و کاربرد این ابزارها و پایگاه داده‌ها در ایجاد دانش بیولوژیک برای فهم بهتر سیستم‌های زنده می‌باشد که این حوزه‌ها مکمل یکدیگرند (پرتال بیوانفورماتیک ایرانیان). منظور از توسعه ابزارهای رایانه‌ای طراحی

نرم افزارهایی جهت تجزیه و تحلیل توالی ها، ساختارها و عملکردهای مولکولی می باشد. حوزه بررسی توالی ها شامل هم ترازی توالی<sup>۱</sup>، جستجو کردن پایگاه داده توالی، کشف الگو و موتیف<sup>۲</sup>، پیدا کردن ژن و پروموتور، بازسازی ارتباطات تکاملی و مقایسه ژنوم می باشد. بررسی های ساختاری شامل بررسی ساختار اسید نوکلئیک و پروتئین و مقایسه، طبقه بندی و پیش بینی ساختار آن ها می باشد. بررسی های عملکردی شامل بیان ژن، پیش بینی میان کنش پروتئین- پروتئین<sup>۳</sup> (PPI)، پیش بینی موقعیت سلولی پروتئین، بازسازی مسیرهای متابولیکی و شبیه سازی می باشد (پرتال بیوانفورماتیک ایرانیان). هدف نهایی بیوانفورماتیک این است که با در دست داشتن توالی DNA های یک سلول یا یک موجود زنده، تمام خصوصیات و رفتارهای آن را پیش بینی کند.

ابزارهای تحلیل کلان داده های زیستی، روش کار پژوهش های مهندسی ژنتیک، داروسازی و زیست شناسی را دگرگون کرده اند. فناوری های جدید بیوانفورماتیکی امکانات جدید و بسیار قوی را فراهم ساخته است؛ مثل بررسی همزمان میزان فعالیت هزاران ژن در سلول، تحلیل نحوه تعامل تعداد زیادی پروتئین و تحلیل خصوصیات هزاران سلول جهش یافته در آن واحد. این مسائل با به کارگیری روش های آماری پیشرفته و کلاستر بندی حل شده اند. دانش مربوط به این بخش تحت عنوان ژنومیکس کارکردی<sup>۴</sup> از زمینه های فعال تحقیقاتی در بیوانفورماتیک است. از دستاوردهای مهم در این زمینه می توان به پیش بینی نقش و کارکرد ژن ها در سلول بدون نیاز به تحلیل داده های پروتئینی اشاره کرد. در حال حاضر درک شبکه های تنظیم کننده ژنتیکی و فهم فرآیندهای تنظیمی در یک سلول در سطح ژنی، یک هدف مهم در زیست شناسی محاسباتی می باشد. از آنجاکه درک شهودی رفتار سیستم های تنظیمی مشکل است، استفاده از شبیه سازی و مدل سازی رایانه ای این شبکه ها، غیر قابل اجتناب است. شناسایی شبکه های تنظیم کننده ژنی، اطلاعاتی در مورد مسیرهای ژنی فراهم می کند. این اطلاعات می توانند کاربردهای زیادی در زیست شناسی مولکولی داشته باشند که از آن

---

1- Sequence alignment

2- Motif

3- Protein-Protein Interaction

4- Functional genomics

جمله می‌توان به شناسایی مسیرهای متابولیکی، شناسایی ژن‌های هم بیان، کشف ژن‌های کاندیدا و غیره اشاره کرد (پرتال بیوانفورماتیک ایرانیان).

روش‌های ژنومیکس کارکردی نظیر تولید و تجزیه و تحلیل توالی‌های EST<sup>۱</sup>، تکنولوژی ریزآرایه<sup>۲</sup> و توالی‌یابی RNA امکان شناسایی، بررسی بیان و مطالعه رونوشت‌های ژنی درگیر در شبکه‌های تنظیمی و متابولیکی را فراهم آورده‌اند (شاهین‌نیا و سید طباطبایی، ۱۳۹۲).

### ۱-۵- ریزآرایه

ریزآرایه تکنولوژی مولکولی قدرتمندی است که امکان مطالعه‌ی بیان هزاران ژن را به‌طور همزمان فراهم می‌کند و تصویر دقیقی از بیان ژن در سلول یا نمونه در زمان مطالعه به ما می‌دهد (روسو و همکاران، ۲۰۰۳). ریزآرایه مجموعه‌ای منظم از لکه‌های کوچک یا پروب‌ها می‌باشد که هر لکه<sup>۳</sup> حاوی نوع خاصی از اسیدهای نوکلئیک و نمایانگر ژن موردنظر می‌باشد که روی صفحه‌ای از جنس نایلون یا شیشه گذاشته می‌شود. مدل‌سازی شبکه‌های ژنی از داده‌های تجربی ریزآرایه، تشریح اعمال سلولی در سطح مولکولی را ساده‌تر می‌کند (پرتال بیوانفورماتیک ایرانیان). با این حال دسترسی به روش‌های تحلیلی و آماری قدرتمند به‌منظور شناسایی دقیق اختلافات در بیان ژن‌ها و همچنین حضور روش‌ها و نرم‌افزارهای پیشرفته جهت تحلیل نتایج حاصل از ریزآرایه‌ها امری ضروری و چالش‌برانگیز است (کلارک و همکاران، ۲۰۰۴). با این وجود روش ریزآرایه در مقایسه با روش‌هایی همچون نورترن و سادرن بلات امکان بررسی و مطالعه تعداد بیشتری ژن با اختصاصیت و سرعت دورگه‌سازی بالاتر را فراهم می‌سازد (نانینی و همکاران، ۲۰۰۹).

---

1- Expressed sequence tag  
2- Microarray  
3- Spot

## ۱-۶- توالی‌های بیان‌شده برچسب‌دار (EST)

ESTها توالی‌های کوتاه cDNA هستند که به‌وسیله توالی‌یابی انتهای ۵' یا ۳' همسانه‌های cDNA ایجاد می‌شوند. طول چنین قطعاتی که با استفاده از روش‌های توالی‌یابی حاصل می‌شوند در حدود ۲۰۰ تا ۵۰۰ نوکلئوتید است. با توجه به اینکه این قطعات DNA همسانه‌سازی شده مکمل mRNA هستند، لذا ESTها را می‌توان بخشی از ژن‌های بیان شده دانست. مشخصات این قطعات به‌عنوان توالی cDNA/mRNA یا مکمل معکوس mRNA در بانک‌های اطلاعاتی ثبت می‌شود (شاهین‌نیا و سید طباطبایی، ۱۳۹۲).

تجزیه و تحلیل توالی‌های EST می‌تواند سبب تسهیل شناسایی ژن و تعیین ساختار آن، شناسایی چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) و همچنین بررسی ترانسکریپتوم و پروتئوم شود. کشف ژن‌های فعال بر اساس توالی‌های EST نیازمند تلاش بسیاری است. توالی EST ممکن است حاوی قطعات ساده، توالی‌های تکراری و زائد همچون قطعات آداپتور و بخشی از توالی‌های ناقل استفاده شده باشد که بایستی قبل از تجزیه و تحلیل مشخص شوند. بزرگ‌ترین مجموعه داده‌های EST در مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی آمریکا (NCBI) قرار دارد (شاهین‌نیا و سید طباطبایی، ۱۳۹۲).





فصل دوم

بررسی منابع

در این فصل ابتدا به معرفی بانک‌های اطلاعاتی هم‌بیانی آرابیدوپسیس و برنج و مقایسه آن‌ها با یکدیگر و سپس به ضرورت آنالیز سیس‌المنت‌ها در مطالعات هم‌بیانی می‌پردازیم. در پایان نیز مروری بر برخی از مطالعات هم‌بیانی انجام شده در گیاهان خواهیم داشت.

## ۲-۱- ژن‌های هم‌بیان

آنالیز ژن‌های هم‌بیان<sup>۱</sup> ابزار قدرتمندی برای پیش‌بینی عملکرد ژن‌ها است. در حقیقت، آنالیز هم‌بیانی به این سؤال پاسخ می‌دهد که چه ژن‌هایی با ژن موردنظر ما الگوی بیان مشابهی دارند. ژن‌های دخیل در مسیرهای زیستی مرتبط اغلب به‌صورت هماهنگ بیان می‌شوند و بنابراین اطلاعات هم‌بیانی آن‌ها کلیدی برای فهم فرآیندهای زیستی می‌باشد (ایسن و همکاران، ۱۹۹۸). ژن‌هایی که هم‌بیانی بالایی دارند ممکن است در فرآیندهای زیستی ژن مورد بررسی<sup>۲</sup> نقش داشته باشند. اطلاعات هم‌بیانی ژن‌ها در روش‌های آزمایشی مانند هدف‌گیری ژنی<sup>۳</sup>، بررسی تنظیم بیان ژن و برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین (PPI) به کار می‌رود (شوماخر و پانچنکو، ۲۰۰۷).

شرکت AtGenExpress اطلاعات زیادی را برای *Arabidopsis thaliana* بر اساس ریزآرایه آفیمتریکس ATH1 تولید کرده است. بانک‌های اطلاعاتی مختلفی مانند GEO، NASC Array، Genevestigator و Array Express اطلاعات ژن‌ها را در دسترس عموم قرار می‌دهند. آنالیز هم‌بیانی می‌تواند بخش اعظمی از آزمایشات ریزآرایه را که در آن سطوح بیان ژن در شرایط شاهد و تیمار شده اندازه‌گیری شده‌اند و تغییرات سطوح بیان ژن‌ها مشخص شده‌اند را مورد بررسی قرار دهد. در آنالیز هم‌بیانی، اندازه‌گیری بیان ژن‌های به دست آمده از آزمایشات مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد تا قدرت آماری بهتری فراهم شود به این مفهوم که الگوهای بیان مشابه به‌جای محدود شدن به افزایش یا کاهش بیان تحت یک تیمار می‌توانند به‌صورت افزایش یا کاهش بیان در سراسر تیمارهای مختلف مشخص شوند. جنبه مهم دیگر آنالیز ژن‌های هم‌بیان این است که نمونه‌هایی که در آن‌ها بیان ژن

---

1- Co-expression genes  
2- Query gene  
3- Gene targeting

برای یک ژن معین تغییر نمی‌کند می‌تواند یک خط مبنا برای سایر نمونه‌هایی باشد که در آن‌ها بیان ژن برای آن ژن تغییر می‌کند (یوسادل و همکاران، ۲۰۰۹).

## ۲-۲- بانک‌های اطلاعاتی ژن‌های هم‌بیان

داده‌های ریزآرایه موجود در بانک‌های اطلاعاتی امکان محاسبه امتیازات هم‌بیانی ژن‌ها را در بسیاری از نمونه‌ها میسر می‌کند. چندین بانک اطلاعاتی هم‌بیانی برای تعدادی از گونه‌های گیاهی مدل مانند آرابیدوپسیس، صنوبر، جو و برنج ایجاد شده‌اند. از جمله بانک‌های اطلاعاتی هم‌بیانی آرابیدوپسیس می‌توان به ACT، ASIDB، ATTED-II، CSB.DB، CressExpress، GeneCAT، BAR و PED اشاره نمود. بانک‌های اطلاعاتی GeneCAT و BAR به ترتیب اطلاعات هم‌بیانی جو و صنوبر را نیز ارائه می‌دهند. از جمله بانک‌های اطلاعاتی هم‌بیانی اختصاصی برنج می‌توان به RiceFRIEND، OryzaExpress و ROAD اشاره نمود. بانک‌های اطلاعاتی PLANEX و PlaNet اطلاعات هم‌بیانی چندین گونه گیاهی از جمله آرابیدوپسیس و برنج را ارائه می‌دهند (جدول ۲-۱). این بانک‌های اطلاعاتی مستقیماً روی روابط ژن با ژن با استفاده از سنجش‌های هم‌بیانی تمرکز می‌کنند (یوسادل و همکاران، ۲۰۰۹).

جدول ۱-۲- بانک‌های اطلاعاتی آنالیز هم‌بیانی ژن در گیاهان

بانک اطلاعاتی	آدرس	گونه	منبع ریزآرایه	مستقل از شرایط	وابسته به شرایط	سنجش هم‌بیانی	خوشه‌بندی
<b>ACT</b>	<a href="http://www.arabidopsis.leeds.ac.uk/act/">http://www.arabidopsis.leeds.ac.uk/act/</a>	آرابیدوپسیس	NASCArrays	دارد	ندارد	PCC, P value, E value	Clique Finder
<b>ASIDB</b>	<a href="http://asidb.com">http://asidb.com</a>	آرابیدوپسیس	AtGenExpress	ندارد	دارد	Graph theory-based score	ندارد
<b>ATTED-II</b>	<a href="http://atted.jp">http://atted.jp</a>	آرابیدوپسیس	TAIR	دارد	دارد	Mutual rank, PCC	Network Drawer سلسله مراتبی
<b>BAR Expression Angler</b>	<a href="http://BAR.utoronto.ca">http://BAR.utoronto.ca</a>	آرابیدوپسیس و صنوبر	NASCArrays, BAR AtGenExpress, BAR	دارد	دارد	PCC	سلسله مراتبی
<b>CressExpress</b>	<a href="http://www.cressexpress.org">http://www.cressexpress.org</a>	آرابیدوپسیس	NASCArrays	دارد	ندارد	$r^2$ , slope, P value	Cytoscape
<b>CSB.DB</b>	<a href="http://csbdb.mpimgolm.mpg.de">http://csbdb.mpimgolm.mpg.de</a>	آرابیدوپسیس	NASCArrays	دارد	دارد	PCC, SCC, P value	Network Drawer (requires Java)
<b>GeneCAT</b>	<a href="http://genecat.mpg.de">http://genecat.mpg.de</a>	آرابیدوپسیس و جو	TAIR, Barley Base	دارد	ندارد	PCC, Mutual score	Network Drawer سلسله مراتبی

ادامه جدول ۱-۲- بانک‌های اطلاعاتی آنالیز هم‌بیانی ژن در گیاهان

بانک اطلاعاتی	آدرس	گونه	منبع ریزآرایه	مستقل از شرایط	وابسته به شرایط	سنجش هم‌بیانی	خوشه‌بندی
<b>PED</b>	<a href="http://bioweb.ucr.edu/PED">http://bioweb.ucr.edu/PED</a>	آرابیدوپسیس	AtGenExpress, GEO	دارد	ندارد	PCC, SCC	سلسله مراتبی
<b>RiceFRIEND</b>	<a href="http://ricefrend.dna.affrc.go.jp/">http://ricefrend.dna.affrc.go.jp/</a>	برنج	Agilent Microarray	دارد	ندارد	Mutual rank, PCC	سلسله مراتبی (HyperTree) و Cytoscape (Graphviz)
<b>ROAD</b>	<a href="http://www.ricearray.org">http://www.ricearray.org</a>	برنج	Affymetrix, Agilent 22K & 44K, BGI/Yale, NSF 20K & 45K	دارد	دارد	PCC	Cytoscape
<b>PLANEX</b>	<a href="http://planex.plantbioinformatics.org/">http://planex.plantbioinformatics.org/</a>	آرابیدوپسیس، سویا، جو، برنج، گندم، ذرت...	Affymetrix	دارد	ندارد	PCC; r-value	Cytoscape
<b>PlaNet (RiceNet)</b>	<a href="http://aranet.mpimp-golm.mpg.de/">http://aranet.mpimp-golm.mpg.de/</a>	برنج	Affymetrix	دارد	ندارد	PCC	ندارد
<b>OryzaExpress</b>	<a href="http://bioinf.mind.meiji.ac.jp/">http://bioinf.mind.meiji.ac.jp/</a>	برنج	Affymetrix	دارد	ندارد	Mutual rank, PCC	ندارد

## ۲-۳- ضرورت آنالیز سیس المنت‌ها در مطالعات هم‌بیانی

یکی از مسائل مهم در زیست‌شناسی مولکولی، یافتن چگونگی ارتباط بین ژن‌هایی است که یک فعالیت معین را انجام می‌دهند و یا با یکدیگر بیان می‌شوند (سینها و تمپا، ۲۰۰۳). آزمایشات تجربی بر روی ناحیه پرموتر تعدادی از ژن‌ها نشان داده است که برای شروع فرآیند نسخه‌برداری، یک پروتئین خاص که عامل رونویسی نامیده می‌شود به توالی‌های کوتاهی در ناحیه پرموتر ژن‌های بیان‌شده پیوند می‌خورد. به هرکدام از این توالی‌های کوتاه مکان اتصال<sup>۱</sup> عامل رونویسی گفته می‌شود. این مکان‌های اتصال دارای الگوی مشترکی هستند که اغلب موتیف یا سیس المنت نامیده می‌شوند (سینها و تمپا، ۲۰۰۳).

ناحیه پرموتر دارای توالی‌های اختصاصی DNA و عناصر پاسخ‌دهنده می‌باشد که در به‌کارگیری فاکتورهای پروتئینی که رونویسی از ناحیه کد کننده پروتئین ژن را تسهیل می‌کنند عمل می‌کند (ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰). سیس المنت‌ها موتیف‌های توالی کوتاه اختصاصی DNA به طول تقریباً ۲۵-۵ جفت باز هستند (رانی، ۲۰۰۷). با شناخت کارکرد موتیف‌ها، می‌توان خارج از محیط آزمایشی تا حدودی به بررسی پاسخ ژن‌ها پرداخت. در حال حاضر برنامه‌های مختلفی برای تجزیه توالی راه‌انداز وجود دارد که انواع موتیف‌های موجود بر روی توالی موردنظر را که ممکن است نشانه‌ای از وجود یک پروتئین تنظیمی متقابل باشند را ارائه می‌کنند (لسکت و همکاران، ۲۰۰۲). به این ترتیب چنانچه مجموعه‌ای از ژن‌های موردبررسی دارای یک موتیف خاص باشند، انتظار می‌رود که همه آن‌ها پاسخ مشابهی بر اساس خاصیت آن موتیف داشته باشند، به طوری که می‌توان گفت، مجموعه ژن‌های دارای موتیف مشترک، عامل تنظیمی مشترکی داشته و اصطلاحاً هم‌تنظیم<sup>۲</sup> هستند (لسکت و همکاران، ۲۰۰۲؛ پرکو و همکاران، ۲۰۰۶).

---

1- Binding site  
2- Co-regulation

موتیف‌ها الگوهایی را در توالی‌ها نشان می‌دهند که برای تنظیم رونویسی و پیش‌بینی عملکرد پروتئین مهم می‌باشد. اکثر مطالعات، حفاظت توالی موتیف‌ها یا تکرار بالای موتیف‌ها را در پروموتور ژن‌های هم بیان برای کشف سیس‌المنت‌ها مورد استفاده قرار داده‌اند. برخی از مطالعات، ترکیبی از هر دو روش را برای کشف و ارزیابی موتیف‌ها به کار می‌برند. هر دو روش تکرار بالای موتیف‌ها در نواحی ژنومی خاص و حفاظت توالی موتیف‌ها برای کشف سیس‌المنت‌های تنظیمی بین چهار گونه مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) به کار رفته است (هابرر و همکاران، ۲۰۰۶). شناسایی موتیف‌های مشترک لزوماً به این معنی نیست که این ژن‌ها در فرآیندهای بیولوژیکی یکسانی نقش دارند. علاوه بر این، داده‌های بیان ژن ریزآرایه نویزی هستند که کار موتیف‌یاب‌ها را برای شناسایی الگوهای مناسب زیستی مشکل می‌کند. اعتقاد بر این است که الگوهای بیان ژن<sup>۱</sup> مشابه حاصل مکانیسم‌های تنظیمی مشابه هستند. درواقع، این فرضیه به عنوان مبنایی برای کشف شبکه تنظیمی از آزمایش‌های بیان ژن ریزآرایه به کار می‌رود. بنابراین، تشخیص روابط عملکردی و شناسایی موتیف‌های تنظیمی در ژن‌های هم‌بیان اهمیت زیادی دارد (مارتیانو و همکاران، ۲۰۱۰).

ژنومیکس مقایسه‌ای<sup>۲</sup> سیس‌المنت‌ها را به واسطه حفاظتشان بین دو یا چند ژن ارتولوگ مشخص می‌کند. فرض بر این است که ژن‌های ارتولوگ روش تنظیمی مشترکی دارند که در حفاظت از جایگاه‌های اتصال عوامل رونویسی بازتاب یافته است. علاوه بر حفاظت توالی از اطلاعات هم‌بیانی داخل یک گونه نیز برای کشف سیس‌المنت‌ها استفاده می‌شود. آنالیز ژن‌های هم‌بیان در شرایط و حالت‌های مختلف به کمک سیس‌المنت‌های تنظیمی مشترک بسیار بارز می‌باشد.

---

1- Gene expression profiles  
2- Comparative genomics



## ۲-۴- مروری بر مطالعات هم‌بیانی ژن‌ها در گیاهان

تاکنون مطالعات هم‌بیانی زیادی در گیاهان انجام شده است اما پیرامون ژن‌های مسیر القا جنین‌زایی میکروسپور هیچ مطالعات هم‌بیانی انجام نشده است. در زیر به مرور جدیدترین مطالعات هم‌بیانی در گیاهان می‌پردازیم.

بابیتا و همکاران ژن‌های *AtbHLLH17* (At2g46510) و *AtWRKY28* (At4g18170) را برای ارزیابی اثر توأم عوامل رونویسی تحت شرایط مختلف تنش غیر زیستی در آرابیدوپسیس هم‌بیان کردند. آن‌ها گزارش کردند که هم‌بیانی دو یا چند عامل رونویسی می‌تواند منجر به افزایش بیان تعداد بیشتری از ژن‌های هدف گردد و تحمل گیاهان به تنش را افزایش دهد (بابیتا و همکاران، ۲۰۱۳).

دانس و همکاران ماژول‌های ژن‌های هم‌بیان و مرکزیت عوامل رونویسی درون این ماژول‌ها را در ترنسکریپتوم ۵۰ بافت و مرحله نموی ذرت از جنین‌زایی تا پیری بررسی کرده‌اند. آن‌ها نشان داده‌اند که این ماژول‌ها شدیداً با انواع بافت‌ها و فرآیندهای بیولوژیکی مربوطه مرتبط هستند و موتیف‌های تنظیمی مشترکی دارند (دانس و همکاران، ۲۰۱۳).

وانگ و همکاران بر اساس آنالیز هم‌بیانی داده‌های ترانسکریپتومی گردآوری شده تحت ۳۵۱ شرایط و با استفاده از تکنیک خوشه‌بندی، ژن‌های جدید مربوط به سنتز دیواره سلولی گیاهان را در آرابیدوپسیس شناسایی کرده‌اند. علاوه بر این، برای ژن‌های هم‌بیان هر ماژول، موتیف‌های تنظیمی پروموتورها را شناسایی کرده‌اند که دلیل قاطعی برای این موضوع است که ژن‌های هر ماژول هم‌بیان از نظر رونویسی هم‌تنظیم هستند (تنظیم رونویسی هماهنگی دارند) (وانگ و همکاران، ۲۰۱۲).

پنگ و وسلاک با استفاده از آنالیز هم‌بیانی ژن‌ها در ترنسکریپتوم بذور در حال نمو آرابیدوپسیس از مرحله کروی تا جنین بالغ و شناسایی سیس‌المنت‌های تنظیمی در نواحی پروموتور این ژن‌ها، نشان داده‌اند که الگوی بیان ژن‌های دخیل در تجمع ذخایر بذر متفاوت می‌باشند و توسط فاکتورهای رونویسی مختلفی تنظیم می‌شوند (پنگ و وسلاک، ۲۰۱۱).

وندپوئل و همکاران با استفاده از ادغام روش‌های خوشه‌بندی، آنالیز غنی‌سازی GO<sup>1</sup> و غنی‌سازی موتیف، شبکه‌های هم‌بیانی را برای فاکتور رونویسی OBP1 (یک فاکتور رونویسی DOF دخیل در شروع چرخه سلولی) در آرابیدوپسیس طراحی و سپس المنت‌های تنظیمی آن را پیش‌بینی کرده‌اند (وندپوئل و همکاران، ۲۰۰۹).

یانگ و همکاران با استفاده از آنالیز شبکه هم‌بیان و ژنومیکس مقایسه‌ای ژن‌های کاندید در بیوسنتز دیواره سلولی را در آرابیدوپسیس و صنوبر شناسایی کرده‌اند و برای تعیین ویژگی‌های عملکردی هر کلاستر ژنی از الگوی بیان اختصاصی بافت، حاشیه‌نویسی GO و تعیین خانواده ژنی استفاده کرده‌اند (یانگ و همکاران، ۲۰۱۱).

مارویاما و همکاران (۲۰۱۲) تمام توالی‌های هگزامری در پروموتورهای القاشده با سرما و آب‌زدایی را در آرابیدوپسیس، برنج و سویا بررسی کرده‌اند و فراوانی توالی‌های حفاظت‌شده در این پروموتورها را نشان داده‌اند. آن‌ها نشان داده‌اند که توالی هسته‌ای عنصر پاسخ‌دهنده به اسید آبسزیک (ABRE) در پروموتورهای القاشده با آب‌زدایی در هر سه گونه حفاظت‌شدگی بالایی دارد که نشان‌دهنده این است که تنظیم رونویسی برای ژن‌های القاشده با آب‌زدایی در این سه گونه مشابه با مسیر رونویسی وابسته به ABRE می‌باشد. در مقابل، توالی‌های هگزامری حفاظت‌شده در پروموتورهای القاشده با سرما در این سه گونه متنوع می‌باشند که نشان‌دهنده این است که مسیرهای تنظیمی رونویسی برای ژن‌های القاشده با سرما در این گونه‌ها متفاوت می‌باشد (مارویاما و همکاران، ۲۰۱۲).



فصل سوم

مواد و روش ها

### ۳-۱- شناسایی ژن‌های دخیل در جنین‌زایی میکروسپور در آرابیدوپسیس و برنج

جو (*Hordeum vulgare* L.)، کلزا (*Brassica napus* L.) و گندم (*Triticum aestivum* L.) به دلیل راندمان باززایی بالا به عنوان گیاهان مدل در تحقیقات جنین‌زایی میکروسپور از اهمیت زیادی برخوردارند. در این تحقیق، ژن‌های دخیل در جنین‌زایی میکروسپور جو از مقالات انتخاب شدند. توالی نوکلئوتیدی این ژن‌ها از سایت NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) استخراج گردید و به عنوان الگویی برای شناسایی ژن‌های همولوگ آن در آرابیدوپسیس و برنج استفاده شد. شناسایی ژن‌های همولوگ در آرابیدوپسیس و برنج به ترتیب با استفاده از نرم‌افزار آنالین BLASTN پایگاه داده TAIR (<http://www.arabidopsis.org>) و MSU Rice Genome Annotation (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) صورت گرفت و ژن‌هایی که بالاترین امتیاز هم‌ردیفی دوگانه را با ژن الگو (ژن‌های دخیل در جنین‌زایی میکروسپور جو) داشتند به عنوان ژن‌های همولوگ انتخاب شدند.

### ۳-۲- شناسایی ژن‌های هم‌بیان با ژن‌های همولوگ در آرابیدوپسیس و برنج

به منظور پیدا کردن ژن‌های هم‌بیان با ژن‌های همولوگ در آرابیدوپسیس و برنج به ترتیب از بانک اطلاعاتی ATTED-II (<http://atted.jp>) و RiceFRIEND (<http://ricefrend.dna.affrc.go.jp>) استفاده شد.

سه مؤلفه برای انجام آنالیز هم‌بیانی ژن‌ها لازم هستند: مجموعه‌ای از پروفایل‌های بیان ژن به دست آمده از نمونه‌های مختلف یا شرایط آزمایشی مختلف، روشی برای محاسبه و تعیین درجه معنی‌داری شباهت الگوی بیان و ابزاری برای نمایش و آنالیز الگوهای هم‌بیان معنی‌دار از لحاظ آماری. ژن‌های هم‌بیان در دیتاست‌های وابسته به شرایط جستجو شدند و ژن‌هایی که همبستگی قوی‌تری داشتند انتخاب شدند. ژن‌هایی که به طور مستقیم به ژن اصلی متصل می‌شوند در کلاستر ۱

قرار می‌گیرند و ژن‌هایی که اتصال غیرمستقیمی به ژن اصلی دارند و یا به واسطه ژن‌های کلاستر ۱ به ژن اصلی متصل می‌شوند در کلاستر ۲ قرار می‌گیرند. ما فرض نمودیم که ژن‌هایی که به‌طور غیرمستقیم به ژن اصلی در شبکه ژن‌های هم‌بیان متصل هستند باید دارای عامل مشترکی با ژن اصلی باشند که این ژن‌ها را هم‌بیان کرده است. بر اساس این فرضیه، این ژن‌ها را در یک کلاستر جداگانه (کلاستر ۲) قرار دادیم. در این تحقیق فقط ژن‌های کلاستر ۲ مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه به شرح هر یک از این مؤلفه‌ها می‌پردازیم.

### ۳-۲-۱- انتخاب شرایط آزمایشی

رتبه هم‌بیانی دو ژن برای ارزیابی چگونگی شباهت الگوی بیان دو ژن در پاسخ به شرایط انتخاب شده می‌باشد. برای بررسی رابطه ژن‌ها، دو روش مستقل از شرایط و وابسته به شرایط وجود دارد (یوسادل و همکاران، ۲۰۰۹).

### ۳-۲-۱-۱- مستقل از شرایط

در روش مستقل از شرایط، رتبه‌های هم‌بیانی ژن‌ها نسبت به ژن مورد نظر برای تمام شرایط ممکن محاسبه می‌شود. این روش روابط ژن با ژن را صرفنظر از نوع بافت و شرایط آزمایشی نشان می‌دهد و بنابراین برای بررسی اولیه ژن‌های مورد نظر و روابط کلی ژن با ژن مناسب می‌باشد. اکثر بانک‌های اطلاعاتی هم‌بیانی آرابیدوپسیس از قبیل ACT، ATTED-II، BAR Expression Angler، CressExpress، CSB.DB، GeneCAT و PED و بانک‌های اطلاعاتی هم‌بیانی برنج مانند RiceFRIEND، OryzaExpress و ROAD رتبه‌های هم‌بیانی را از مجموعه داده‌های مستقل از شرایط ارائه می‌کنند (یوسادل و همکاران، ۲۰۰۹).

### ۳-۲-۱-۲- وابسته به شرایط

در روش وابسته به شرایط، رتبه‌های هم‌بیانی ژن‌ها نسبت به ژن مورد نظر برای شرایط خاص از پیش تعریف‌شده مانند بافت‌ها، تنش‌های زیستی و یا غیر زیستی، هورمون‌ها، نور و مراحل نمو محاسبه می‌شود. برخی از بانک‌های اطلاعاتی هم‌بیان آراییدوپسیس از قبیل ASIDB، BAR، Expression Angler، ATTED-II، CressExpress و CSB.DB رتبه‌های هم‌بیانی را از مجموعه داده‌های وابسته به شرایط ارائه می‌کنند. از آنجایی که رتبه‌های هم‌بیانی بسته به نوع شرایط انتخابی تغییر می‌کنند، کاربران می‌توانند روابط ژن‌ها را براساس شرایط انتخابی مورد بحث بیشتری قرار دهند (یوسادل و همکاران، ۲۰۰۹).

با توجه به اینکه ژن‌های بررسی شده در این تحقیق، ژن‌های مسیر القا جنین‌زایی میکروسپور می‌باشند و همان‌طور که پیش‌تر نیز گفتیم این ژن‌ها در طی تنش اسمزی مانیتول و در جنین بیان می‌شوند بنابراین در این تحقیق از روش وابسته به شرایط برای بررسی رابطه ژن‌ها استفاده شد و آنالیز هم‌بیانی در دیتاست‌های بافت و تنش غیرزیستی انجام شد و چون بانک اطلاعاتی RiceFRIEND قادر به ارائه دیتاست‌های وابسته به شرایط برای برنج نمی‌باشد، از نرم‌افزار Genevestigator برای تأیید بیان ژن‌ها در جنین استفاده کردیم.

### ۳-۲-۲- سنجش هم‌بیانی ژن‌ها

انتخاب یک معیار متریک شباهت که روابط بین پروفایل‌های بیان ژن را مشخص می‌کند نخستین تصمیم مهم در آنالیز هم‌بیانی است. بانک‌های اطلاعاتی ژن‌های هم‌بیان از ترکیب روش خوشه‌بندی و سنجش آماری برای یافتن گروه‌هایی از ژن‌های دارای الگوهای بیان مشابه استفاده می‌کنند. دو شاخص مهم اندازه‌گیری هم‌بیانی برای ارزیابی شباهت و معناداری الگوی بیان ژن‌ها وجود دارد: ضریب همبستگی پیرسون (PCC) و رتبه متقابل<sup>۱</sup> (MR) (یوسادل و همکاران، ۲۰۰۹). ضریب همبستگی پیرسون (PCC) به دلیل اجرا و تناسب ساده‌اش بیشترین متریک شباهت

---

1- Mutual Rank

استفاده شده برای این کار می باشد. ضریب همبستگی پیرسون شاخصی است ریاضی که جهت و مقدار رابطه‌ی بین دو یا چند متغیر را توصیف می کند و درمورد توزیع‌های دو یا چندمتغیره به کار می رود. ضریب همبستگی همیشه بین ۱- و ۱ می باشد. اگر ضریب همبستگی مساوی ۱ باشد در آن صورت تمامی نقاط بر روی یک خط راست قرار دارند و همبستگی، مثبت و کامل می باشد یعنی ضریب زاویه (شیب) خط مثبت است. اگر ضریب همبستگی مساوی ۱- باشد در این حالت تمامی نقاط روی خط مستقیم قرار دارند ولی ضریب زاویه خط منفی است و چنانچه ضریب همبستگی مساوی صفر باشد نشانه عدم وجود همبستگی میان متغیرهاست. فرمول ضریب همبستگی پیرسون به صورت زیر است:

$$PCC = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2} \times \sqrt{\sum(y_i - \bar{y})^2}}$$

مطالعات نشان می دهد که بسیاری از جفت ژن های هم بیان مرتبط از نظر عملکردی ضرایب همبستگی پیرسون کمی دارند. برای اجتناب از حذف جفت ژن های هم بیان مهم دارای ضریب همبستگی پیرسون کم، اندازه گیری جدیدی از هم بیانی ژن ها به نام رتبه متقابل (MR) ارائه شده است که به صورت میانگین هندسی رتبه همبستگی ژن A به ژن C و ژن C به ژن A را محاسبه می کند. MR کمتر نشان دهنده قدرت هم بیانی بیشتر است (ابایاشی و همکاران، ۲۰۰۹). فرمول رتبه متقابل (MR) به صورت زیر است:

$$MR(A, C) = \sqrt{Rank(A \rightarrow C) \times Rank(C \rightarrow A)}$$

با توجه به محدودیت ضریب همبستگی پیرسون در حفظ جفت ژن های هم بیان مهم، در این تحقیق از رتبه متقابل (MR) برای اندازه گیری هم بیانی ژن ها استفاده شد. در آرابیدوپسیس بانک اطلاعاتی ATTED-II و در برنج بانک های اطلاعاتی RiceFRIEND و OryzaExpress از شاخص MR برای اندازه گیری و مقایسه قدرت هم بیانی ژن ها استفاده می کنند.



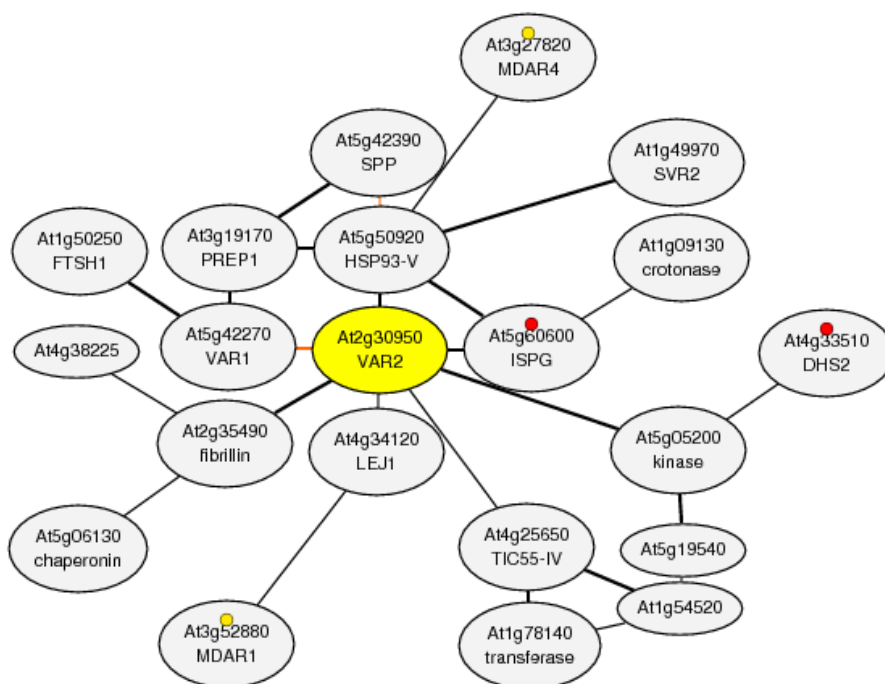
### ۳-۲-۳- نمایش شبکه ژن‌های هم‌بیان

#### ۳-۲-۳-۱- نمایش شبکه ژن‌های هم‌بیان در بانک اطلاعاتی ATTED-II

شبهات بیان ژن در طیف وسیعی از شرایط زیستی می‌تواند به طرز موثری در توصیف خصوصیات عملکرد ژن مورد استفاده قرار بگیرد. آزمایشات ریزآرایه اطلاعات بیان ژن را فراهم می‌کنند که در پایگاه‌های متعددی ذخیره می‌شوند. با استفاده از این منابع، بانک‌های اطلاعاتی هم‌بیانی متعددی ساخته شده‌اند و به طور گسترده‌ای خصوصاً در تحقیقات آرآیدوپسیس مورد استفاده هستند. ATTED-II یکی از بانک‌های اطلاعاتی هم‌بیانی آرآیدوپسیس است که برای شناسایی روابط عملکردی بین ژن‌ها ایجاد شده است (ابایاشی و همکاران، ۲۰۰۹). ATTED-II حاوی ۴ صفحه لوکوس، ژن‌های هم‌بیان، سیس‌المنت‌ها و گروه عملکردی می‌باشد؛ صفحه لوکوس حاوی اطلاعاتی در مورد لوکوس‌ها می‌باشد که تمامی مکان‌های ژنی کد کننده پروتئین‌های آرآیدوپسیس را که توسط سایت TAIR مشخص شده‌اند را تحت پوشش قرار می‌دهد. برای هر لوکوس ژن‌های هم‌بیان محاسبه می‌شوند و ژن‌هایی که همبستگی قوی‌تری دارند در صفحه لوکوس به صورت یک شبکه نمایش داده می‌شوند (شکل ۳-۱). رسم شبکه ژن‌های هم‌بیان توسط ابزار Network Drawer صورت می‌گیرد. صفحه ژن‌های هم‌بیان که برای هر کدام از این ژن‌ها نیز ژن‌های هم‌بیانی وجود دارد. این صفحه حاوی ژن‌های هم‌بیان بیشتری (۲۰۰۰-۳۰۰ ژن) نسبت به صفحه لوکوس می‌باشد و آزمون آماری را براساس MR انجام می‌دهد. صفحه سیس‌المنت‌های اطلاعاتی را برای هر کدام از سیس‌المنت‌های هپتامر پیش‌بینی‌شده ارائه می‌دهد. سیس‌المنت‌های هپتامر پایگاه ATTED-II با سیس‌المنت‌های بانک اطلاعاتی PLACE مطابقت دارد و صفحه گروه عملکردی با استفاده از ۳۴۸۱ واژه GO<sup>۱</sup>، AraCyc، KEGG و KaPPA-View برای هر یک از گروه‌های عملکردی ژن‌ها ایجاد شده است (ابایاشی و همکاران، ۲۰۰۷).

---

1- Gene ontology term



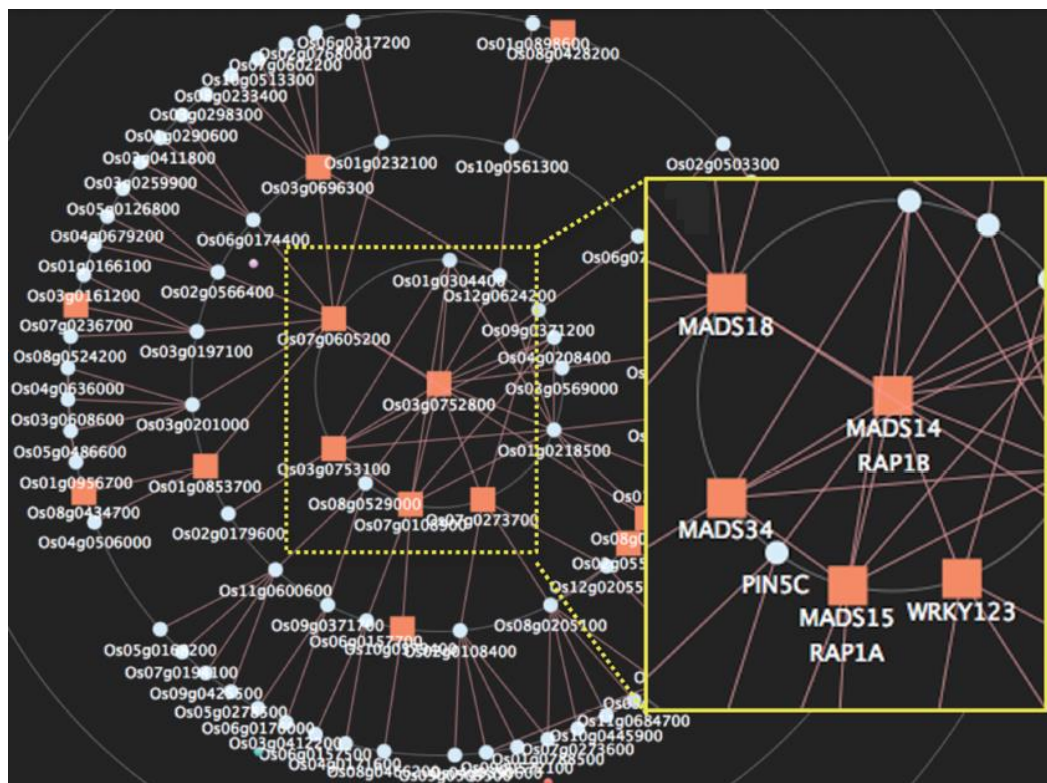
شکل ۳-۱- نمونه‌ای از رسم شبکه ژن‌های هم‌بیان توسط بانک اطلاعاتی ATTED-II. در این شبکه، بیضی زرد رنگ ژن اصلی بوده و بیضی‌های طوسی رنگ ژن‌های هم‌بیان ژن اصلی می‌باشند.

### ۳-۲-۲- نمایش شبکه ژن‌های هم‌بیان در بانک اطلاعاتی RiceFRIEND

بانک اطلاعاتی RiceFRIEND برای شناسایی ژن‌های با الگوی بیان مشابه در برنج به کار می‌رود و پایگاهی را برای پیش‌بینی دقیق‌تر عملکرد ژن‌ها و شبکه‌های تنظیمی ژن براساس شباهت بیان ژن‌ها فراهم می‌کند. جستجوی ژن‌های هم‌بیان با ثبت MSU ID<sup>۱</sup> در بانک اطلاعاتی RiceFRIEND آغاز می‌شود. سپس یک فهرست جدولی از ژن‌های هم‌بیان با اطلاعاتی در مورد RAP ID<sup>۲</sup>، شرح ژن، فاکتور رونویسی، نماد ژن و MSU ID ژن‌های هم‌بیان مربوط به آن ارائه می‌گردد. RiceFRIEND از کلاستر بندی سلسله مراتبی<sup>۳</sup> برای رسم شبکه ژن‌های هم‌بیان استفاده می‌کند و براساس شاخص آماری MR گزینه‌های از پیش محاسبه شده‌ای را برای کلاستر بندی و رسم شبکه ژن‌های هم‌بیان در اختیار کاربران قرار می‌دهد. رسم شبکه ژن‌های هم‌بیان در RiceFRIEND به شکل Hyper Tree

1- Michigan State University identifier (MSU ID)  
 2- Rice Annotation Project identifier (RAP-ID)  
 3- Hierarchy

انجام می‌شود (شکل ۳-۲). علاوه بر این، برنامه‌های هستی‌شناسی ژن و سپس المنت‌ها کلیدهایی را برای پیش‌بینی بهتر عملکردهای بیولوژیکی مرتبط با ژن‌های هم‌بیان فراهم می‌کند. هستی‌شناسی ژن، یک مجموعه لغت کنترل‌شده برای توصیف ژن‌ها و محصولات ژنی موجودات مختلف و تلاشی برای هماهنگ نمودن توصیف محصولات ژن‌ها در پایگاه‌های داده‌ای مختلف می‌باشد (دو و همکاران، ۲۰۰۵). تمام داده‌های بیان ژن در RiceFRIEND از طریق آنالیز ریزآرایه بانک اطلاعاتی RAP-DB به دست آمده است که شامل ۳۵۷۶۰ پروب متناظر با ۲۷۲۰۱ مکان ژنی می‌باشد (ساتو و همکاران، ۲۰۱۳).

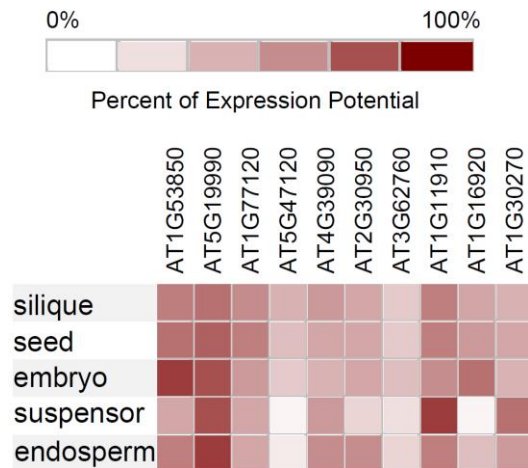


شکل ۳-۲- نمایش گرافیکی شبکه ژن‌های هم‌بیان به شکل Hyper Tree. ژن *MADS14* شدیداً با ژن‌های *MADS15*، *MADS18* و *MADS34* هم‌بیان است (ساتو و همکاران، ۲۰۱۳).

### ۳-۲-۴- بررسی میزان بیان ژن‌ها در جنین

با توجه به اینکه هدف ما کشف ژن‌های کاندیدای جنین‌زایی میکروسپور می‌باشد، لذا باید بیان این ژن‌ها در جنین اثبات شود. برای پی بردن به میزان بیان ژن‌ها در جنین از نرم‌افزار Genevestigator (<https://www.genevestigator.ethz.ch>) استفاده شد. این نرم‌افزار برای بررسی الگوی بیان ژن‌ها در طول نمو گیاه، اندام‌های گیاهی و شرایط محیطی می‌باشد و در نتیجه به سؤالاتی از قبیل "در کدام مرحله رشدی ژن موردنظر ما بیان می‌شود" یا "کدام ژن‌ها اختصاصاً در جنین بیان می‌شوند" پاسخ می‌دهد. هدف اصلی این نرم‌افزار تأیید اختصاصی محل بیان ژن‌ها، هدایت طرح‌های آزمایشی جدید و کشف عملکرد ژن می‌باشد (زیمرمان و همکاران، ۲۰۰۴). نرم‌افزار Genevestigator آنلاین می‌باشد و در محیط جاوا کار می‌کند. این نرم‌افزار میزان بیان ژن‌ها را براساس شدت رنگ نشان می‌دهد و مربع‌های پررنگ‌تر نشان‌دهنده شدت بیان بیشتر می‌باشند (شکل ۳-۳).

در این تحقیق، با استفاده از نرم‌افزار Genevestigator نمودار شدت بیان ژن‌ها در جنین به شکل Heatmap رسم شدند و سپس ژن‌هایی که در جنین بیان نمی‌شوند به صورت دستی از مجموعه ژن‌های هم‌بیان حذف شدند. با توجه به اینکه ژن‌های با شدت بیان نسبتاً کمتر ممکن است برای خصوصیات برخی از فعالیت‌ها یا رویدادهای سلولی مفید باشند و این شدت بیان کمتر نبایستی بدون بررسی قبلی برای حذف این ژن‌ها به کار رود بنابراین ژن‌های با شدت بیان پایین نیز در مجموعه ژن‌های هم‌بیان باقی می‌مانند.



شکل ۳-۳- بخشی از نمودار شدت بیان رسم شده به شکل Heatmap با استفاده از نرم افزار Genevestigator. مربع‌های پررنگ‌تر نشان‌دهنده شدت بیان بیشتر می‌باشند.

### ۳-۲-۵- شناسایی موتیف‌های مشترک در مجموعه ژن‌های هم‌بیان

ژن‌هایی که الگوی بیان مشابهی دارند احتمالاً عناصر تنظیمی مشترکی در ناحیه پروموتوری خود دارند و بنابراین مجموعه فاکتورهای رونویسی مشترکی آن‌ها را کنترل می‌کنند. بنابراین، عناصر تنظیمی مشترک عامل اصلی هم‌تنظیمی ژن‌ها هستند.

به منظور تأیید قوی‌تر هم‌بیانی ژن‌ها، ۱۰۰۰ جفت باز بالادست نقطه آغاز رونویسی در پروموتور ژن‌های آرآبیدوپسیس و برنج به ترتیب از سایت TAIR (<http://www.arabidopsis.org>) و RAP-DB (<http://rapdb.dna.affrc.go.jp/>) دریافت شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار Motif Sampler بانک اطلاعاتی PlantCARE، این توالی‌ها برای پیدا کردن موتیف‌های مشترک مورد آنالیز قرار گرفتند.

### ۳-۲-۵-۱- بانک اطلاعاتی PlantCARE (نرم‌افزار Motif Sampler)

PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html>) بانک

اطلاعاتی عناصر تنظیم‌کننده هم‌سوساز، افزایشنده‌ها<sup>۱</sup> و مهارکننده‌ها<sup>۲</sup> است. عناصر تنظیمی توسط

1- Enhancers  
2- Repressors

ماتریس‌های مرتبه‌ای<sup>۱</sup>، توالی‌های توافقی و جایگاه‌های اختصاصی در پروموتورها نشان داده می‌شوند. ارتباط با بانک‌های اطلاعاتی EMBL، GenBank، TRANSFAC و MEDLINE در هنگام استفاده فراهم می‌باشد. اطلاعات مکان‌های رونویسی عمدتاً از مقالات و اطلاعات *in silico* اقتباس شده است. علاوه بر شرح مکان‌های اتصال فاکتورهای رونویسی، سطوح اطمینان شواهد آزمایشی، اطلاعات عملکردی و موقعیت موتیف‌ها در پروموتر هم وجود دارد (لسکت و همکاران، ۲۰۰۲).

سایت PlantCARE برای پیدا کردن عناصر تنظیمی همسوساز مشترک در مجموعه ژن‌های هم‌بیان از نرم‌افزار Motif Sampler استفاده می‌کند. کار نرم‌افزار Motif Sampler کشف موتیف در بالادست توالی‌های DNA ژن‌های هم‌بیان یک گونه است که براساس قوانین احتمالاتی عمل می‌کند. تشخیص موتیف‌ها با استفاده از روش Gibbs sampling صورت می‌گیرد که در آن موتیف‌های بیش از حد بیان شده<sup>۲</sup> در بالادست ناحیه کد شونده مجموعه ژن‌های هم‌بیان مورد جستجو قرار می‌گیرند (لسکت و همکاران، ۲۰۰۲؛ تیچس و همکاران، ۲۰۰۱).

برای استفاده از نرم‌افزار Motif Sampler، ابتدا باید پارامترهای این نرم‌افزار را برحسب نیاز خود تنظیم کنیم. پارامترهای الزامی شامل وارد کردن یک ایمیل معتبر، ثبت مجموعه‌ای از توالی‌های بالادست ژن‌ها در فرمت FASTA و انتخاب گیاه مورد نظر می‌باشد. پارامترهای اختیاری شامل متغیرهایی است که تغییر در آن‌ها به شدت روی نتایج ما تأثیر گذار است (جدول ۳-۱).

جستجو برای بیشتر از یک موتیف به دو روش انجام می‌شود: افزایش متغیر  $r$  یا افزایش متغیر  $n$ . متغیر  $r$  تعداد دفعات تکرار الگوریتم Gibbs sampling با تنظیمات پارامتری ثابت در مجموعه توالی‌های اولیه است. متغیر  $n$  تعداد موتیف‌های مختلف جستجو شده در هر بار اجرای الگوریتم Gibbs sampling است. اگر بخواهیم موتیف‌های بیشتری را شناسایی کنیم بهتر است متغیر  $n$  را کم و متغیر  $r$  را زیاد در نظر بگیریم. متغیر  $x$  حداکثر همپوشانی مجاز بین موتیف‌های مختلف است. در

---

1- Positional matrices  
2- Over-represented

صورتی می‌توانیم مقدار  $x$  را تغییر دهیم که مقدار  $n$  را بیشتر از ۱ در نظر گرفته باشیم. متغیر  $p$  احتمال پیشین<sup>۱</sup> پیدا کردن یک نمونه موتیف است. چنانچه متغیر  $p$  نزدیک به صفر تنظیم شود اختصاصیت موتیف‌های پیدا شده بیشتر است و هر چقدر  $p$  را افزایش دهیم اختصاصیت کمتری را در موتیف خواهیم داشت. اگر  $p$  را خیلی کم در نظر بگیریم ممکن است هیچ موتیفی پیدا نشود.

در این تحقیق، طول موتیف ( $w$ ) هگزامری، احتمال پیشین پیدا کردن یک نمونه موتیف ( $p$ )  $0/5$  و بقیه پارامترهای Motif Sampler به صورت پیش‌فرض باقی ماند. موتیف‌های غیراختصاصی از مجموعه حذف شدند و فقط موتیف‌های هگزامر کاملاً حفاظت‌شده برای ادامه آنالیز انتخاب شدند.

نرم‌افزار Motif Sampler موتیف‌های بسیار زیادی را شناسایی می‌کند که بسیاری از آن‌ها تفسیر نشده‌اند. وجود موتیف‌های مشترک در بالادست پروموتور مجموعه ژن‌های هم‌بیان معیاری برای شباهت الگوی بیان این ژن‌ها می‌باشد. تعداد کمی از این موتیف‌ها تفسیر شده‌اند و نقش آن‌ها در تنظیم بیان ژن اثبات شده است.

جدول ۳-۱- مقادیر پارامترهای تنظیم شده در نرم‌افزار Motif Sampler.

متغیر	مقدار متغیر	شرح
$r$	۱۰۰	تعداد دفعات تکرار الگوریتم Gibbs sampling با تنظیمات پارامتری ثابت
$s$	۱	آنالیز توالی‌های ورودی و مکمل معکوس (۱) یا توالی‌های ورودی (۰)
$w$	۶ جفت باز	طول موتیف
$n$	۱	تعداد موتیف‌های مختلف جستجو شده در یک بار اجرا
$x$	۱	حداکثر همپوشانی مجاز بین موتیف‌های مختلف
$M$	۲	حداکثر تعداد نمونه‌های یک موتیف در هر توالی
$p$	$0/5$	احتمال پیشین پیدا کردن یک نمونه موتیف

1- Prior probability

### ۳-۲-۶- تشخیص عملکرد موتیف‌های تنظیمی

نرم‌افزار Motif Sampler فقط توالی موتیف‌های موجود در پروموتور را ارائه می‌کند و در نتیجه باید از ابزارهای دیگری برای تشخیص عملکرد موتیف‌های تنظیمی استفاده کرد. مهم‌ترین بانک‌های اطلاعاتی تشخیص عملکرد موتیف‌ها PlantCARE و PLACE می‌باشند که هر دو اختصاصی گیاه بوده و مکمل یکدیگر می‌باشند. بانک اطلاعاتی PLACE فقط موتیف‌های شناخته‌شده را ارائه می‌دهد و قادر به تشخیص موتیف‌های جدید در مجموعه ژن‌های هم‌بیان نمی‌باشد. در عوض بانک اطلاعاتی PlantCARE علاوه بر تشخیص موتیف‌های شناخته‌شده می‌تواند موتیف‌های جدید را در مجموعه ژن‌های هم‌بیان شناسایی کند. در این تحقیق از بانک اطلاعاتی PLACE برای تشخیص عملکرد موتیف‌های تنظیمی استفاده شد.

### ۳-۲-۶-۱- بانک اطلاعاتی PLACE (نرم‌افزار Signal Scan)

PLACE (<http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/>) بانک اطلاعاتی عناصر تنظیم‌کننده همسوساز ژنوم گیاهان می‌باشد که در بانک DNA وزارتخانه کشاورزی، جنگلداری و شیلات ژاپن (MAFF)<sup>۱</sup> در موسسه ملی منابع زیست‌شناسی کشاورزی (NIAR)<sup>۲</sup> و در همکاری با مرکز ذخیره اطلاعات DNA (DISC)<sup>۳</sup> قرار دارد (هیگو و همکاران، ۱۹۹۹).

دو روش برای جستجو در بانک اطلاعاتی PLACE وجود دارد: جستجو از طریق کلید واژه، جستجو از طریق نرم‌افزار Signal Scan (هیگو و همکاران، ۱۹۹۹). اطلاعات مربوط به سیستم‌ها را می‌توان با جستجوی کلمات کلیدی از طریق سرویس اطلاعاتی WAIS به دست آورد. برای مثال اسم موتیف، اسم محرک یا هورمون‌های گیاهی، نوع تنش، اسم بافت‌ها یا اندام‌هایی که در

---

1- Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan  
2- National Institute of Agrobiological Resources  
3- DNA Information and Stock Center



آن‌ها ژن مورد نظر ما بیان می‌شود، اسم نویسنده، توالی نوکلئوتیدی موتیف، گونه‌های گیاهی و غیره (هیگو و همکاران، ۱۹۹۹).

ناحیه بالادست پرموتر را می‌توان برای پیدا کردن موتیف‌های تنظیمی با استفاده از نرم‌افزار Signal Scan مورد جستجو قرار داد. توالی‌ها را می‌توان با کپی کردن یا ارسال فایل وارد نرم‌افزار کرد. به علت محدودیت‌های این نرم‌افزار، توالی‌های بلندتر از ۴۳۵۵ باز را نمی‌توان وارد نرم‌افزار کرد و این توالی‌ها باید به بخش‌های کوتاه‌تری تقسیم شوند. در صفحه نتایج، اسامی موتیف‌های پیدا شده در توالی به ترتیب حروف الفبا نمایش داده می‌شوند. اطلاعات مربوط به هر موتیف در بانک اطلاعاتی PLACE علاوه بر اسم موتیف شامل توالی موتیف، شماره دسترسی موتیف و شرح مختصری از آن نیز می‌باشد و مقالات مرتبط با آن موتیف به همراه شماره شناسه PubMed و شماره دسترسی GenBank در دسترس می‌باشند (هیگو و همکاران، ۱۹۹۹).

فصل چہارم

نتیجہ و بحث

## ۱-۱-۴- شناسایی ژن‌های دخیل در جنین‌زایی میکروسپور جو

ده EST‌ای را که در جنین‌زایی میکروسپور گیاه جو بیان افتراقی نشان داده بودند (جدول ۱-۴، ماراشین و همکاران، ۲۰۰۶) به عنوان ژن‌های دخیل در جنین‌زایی میکروسپور انتخاب و بیان‌شان در جنین را توسط سایت NCBI و نرم‌افزار Genevestigator تائید کردیم.

جدول ۱-۴- مشخصات ۱۰ توالی بیان‌شده برچسب‌دار (EST) القا شده در جنین‌زایی میکروسپور جو. PCD، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول؛ LM، متابولیسم لیپید؛ MCL، متابولیسم لیپیدهای کمپلکس؛ AAM، متابولیسم اسید آمینه

شماره دسترسی بانک ژن	شناسه IPK EST	BlastX homology	عملکرد
AL510971	HY06J08	20S پروتئازوم آلفا	پروتئولیز
AL505964	HY01B24	26S پروتئازوم	پروتئولیز
AL507319	HY01O02	الکل دهیدروژناز ۳، <i>ADH3</i>	LM، MCL، AAM
AL511473	HY08C24	بازدارنده <i>(BI-1) BAXI</i>	بازدارنده PCD
AL499780	HK03G06	سیستئین پروتئاز ۱	پروتئولیز
AL512228	HY10N13	پروتئین رشته‌ای حساس به دما، FtsH	پروتئولیز
AL505972	HY01C15	گلوتاتیون S- ترانسفراز ۱، <i>GST</i> کلاس phi	پاسخ به تنش
AL509162	HY10O06	فیتپسین (آسپارتیک پروتئاز)	پروتئولیز
AL512108	HY10G20	پروتئین RIC2 مرتبط با Ras	علامت دهی
AL510913	HY06G09	هومولوژی معنی‌دار	نامشخص

#### ۴-۱-۲- شناسایی ژن‌های همولوگ ESTهای القا آندروژنز جو در آرابییدوپسیس و برنج

جدول ۴-۲- مشخصات ژن‌های همولوگ آرابییدوپسیس به دست آمده از پایگاه داده TAIR

شماره دسترسی	اسم اختصاری	عملکرد ژن
At1g53850	PAE1	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E1
At5g19990	RPT6A	26S پروتئازوم AAA ATPase
At1g77120	ATADH1	الکل دهیدروژناز ۱
At5g47120	BI1	بازدارنده <i>BAX1</i>
At4g39090	RD19A	سیستئین پروتئاز
At2g30950	VAR2	خانواده پروتئاز خارج سلولی <i>FtsH</i>
At3g62760	ATGSTF13	پروتئین خانواده گلوکاتینون S- ترانسفراز
At1g11910	ATAPA1	آسپارتیک پروتئیناز A1
At1g16920	RABA1b	RAB GTPase همولوگ A1B
At1g30270	SnRK3.23	پروتئین کیناز ۲۳ تداخلی با CBL

جدول ۴-۳- مشخصات ژن‌های همولوگ برنج به دست آمده از پایگاه داده MSU Rice Genome Annotation

شماره دسترسی MSU	شماره دسترسی RAP	عملکرد ژن
LOC_Os11g40140	Os11g0615700	پروتئازوم زیرواحد آلفا ۵
LOC_Os02g11050	Os02g0205300	زیرواحد تنظیمی 26S پروتئازوم
LOC_Os11g10510	Os11g0210500	دهیدروژناز
LOC_Os02g03280	Os02g0125300	پروتئین تراغشایی حاوی موتیف بازدارنده <i>BAX</i>
LOC_Os04g24600	Os04g0311400	سیستئین پروتئیناز ۱
LOC_Os06g45820	Os06g0669400	<i>FtsH</i> پروتئاز
LOC_Os01g27360	Os01g0371200	گلوکاتینون S- ترانسفراز
LOC_Os05g49200	Os05g0567100	آسپارتیک پروتئیناز ۱
LOC_Os06g35814	Os06g0551400	پروتئین مرتبط با ras
LOC_Os07g05620	Os07g0150700	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین

#### ۴-۱-۳- بررسی عملکرد برخی از ژن‌های هم‌بیان شناسایی شده در جنین‌زایی میکروسپور

نتایج این تحقیق نشان داد که بسیاری از ژن‌های مورد مطالعه و ژن‌های هم‌بیان‌شان متعلق به گروه‌های عملکردی بازدارنده مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، پروتئولیز، متابولیسم لیپید و اسیدهای آمینه، پاسخ به تنش، رونویسی و پیام‌رسانی می‌باشند. نتایج به‌دست آمده از نرم‌افزار Genevestigator نشان می‌دهد که تمامی این ژن‌ها در طی جنین‌زایی بیان می‌شوند (شکل‌های پیوست ۱ تا ۱۰). نتایج به‌دست آمده از نرم‌افزار Motif sampler نشان می‌دهد که تمامی این ژن‌ها دارای موتیف‌های تنظیمی مشترکی در ۱۰۰۰ جفت باز بالادست پروموترشان می‌باشند.

در ادامه به بررسی عملکرد برخی از این ژن‌ها در جنین‌زایی میکروسپور آرایی‌دوپسیس (جدول ۴-۴) و برنج (جدول ۴-۵) می‌پردازیم. مشخصات بقیه ژن‌های هم‌بیان در جداول پیوست ۱ تا ۱۹ آورده شده است.

جدول ۴-۴- مشخصات برخی از ژن‌های هم‌بیان شناسایی شده در جنین‌زایی میکروسپور آرابیدوپسیس

شماره دسترسی	اسم ژن
At5g47120	ژن بازدارنده <i>BAX1 (BI-1)</i>
At1g53850	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E1
At3g22110	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد C1
At3g14290	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E2
At1g56450	20S پروتئازوم بتا زیرواحد G1
At3g22630	20S پروتئازوم بتا زیرواحد D1
At4g14800	20S پروتئازوم بتا زیرواحد D2
At1g21720	20S پروتئازوم بتا زیرواحد C1
At1g16470	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد B1
At5g42790	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد F1
At5g19990	26S پروتئازوم AAA ATPase
At5g09900	زیرواحد تنظیمی 26S پروتئازوم (RPN5)
At4g24820	زیرواحد تنظیمی 26S پروتئازوم (RPN7)
At1g09100	زیرواحد 26S AAA-ATPase پروتئازوم RPT5B
At4g39090	سیستئین پروتئیناز RD19A خانواده Papain
At4g01610	پروتئین بالاخانواده سیستئین پروتئیناز
At1g02300	پروتئین بالاخانواده سیستئین پروتئیناز
At2g30950	خانواده <i>FtsH</i> پروتئاز خارج سلولی
At1g50250	<i>FtsH</i> پروتئاز ۱
At1g11910	فیتپسین (آسپارتیک پروتئیناز A1)
At3g62760	گلوکاتیون S- ترانسفراز ( <i>GST</i> )
At5g44000	گلوکاتیون S- ترانسفراز ( <i>GST</i> )
At1g77120	الکل دهیدروژناز ۱ ( <i>ADH1</i> )
At1g16920	پروتئین متصل شونده به GTP مرتبط با Ras
At3g20410	ایزوفریم ۹ پروتئین کیناز دومین کالمودولین (CPK9)
At2g11520	سیتوپلاسمیک کیناز شبه گیرنده متصل به کالمودولین ۳
At1g18210	پروتئین متصل شونده به کلسیم خانواده EF-hand
At2g14890	پروتئین آرابینوگالاکتان (AGP9)
At1g07230	فسفولیپاز C1 غیراختصاصی
At5g62390	7 Bcl-2-associated athanogene ( <i>BAG7</i> )
At1g72340	پروتئین بالاخانواده شبه NagB/RpiA/CoA transferase
At1g47830	پروتئین بالاخانواده شبه SNARE
At3g12120	اسید چرب دساجوراز ۲ ( <i>FAD2</i> )
At4g14210	فایتوئین دساجوراز ( <i>PDS</i> )
At5g27280	پروتئین انگشت روی نوع Zim17

جدول ۴-۵- مشخصات برخی از ژن‌های هم‌بیان شناسایی شده در جنین‌زایی میکروسپور برنج

شماره دسترسی	اسم ژن
Os02g0125300	بازدارنده <i>Bax1</i> ( <i>BI-1</i> )
Os01g0811100	زیرواحد آلفا نوع ۳ پروتئازوم (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد G)
Os02g0133800	زیرواحد آلفا نوع ۱ پروتئازوم (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد F)
Os02g0770000	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۱
Os03g0180400	زیرواحد آلفا نوع ۶ پروتئازوم (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد A)
Os03g0695600	زیرواحد بتا نوع ۲ پروتئازوم (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد D)
Os05g0187000	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۲
Os05g0490800	زیرواحد آلفا نوع ۳ پروتئازوم (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد G)
Os06g0643100	زیرواحد بتا نوع ۳ پروتئازوم (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد C)
Os09g0515200	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۷
Os11g0615700	20S پروتئازوم زیرواحد آلفا ۵ (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E)
Os03g0387100	20S پروتئازوم زیرواحد آلفا ۲
Os06g0153800	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۵
Os09g0505600	زیرواحد بتا نوع ۱ پروتئازوم (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد F)
Os03g0243300	زیرواحد ۴ تنظیمی غیر ATPase 26S پروتئازوم متصل به مولتی‌یوبی کوئیتین
Os07g0435100	26S پروتئازوم زیرواحد RPN12
Os06g0192600	زیرواحد ۱ AAA-ATPase تنظیمی 26S پروتئازوم
Os01g0267200	زیرواحد ۱۴ تنظیمی غیر ATPase 26S پروتئازوم
Os01g0316800	زیرواحد DSS1 مجموعه 26S پروتئازوم
Os02g0803700	همولوگ زیرواحد 6A 26S پروتئازوم (همولوگ ۱ پروتئین متصل به TAT)
Os05g0371200	زیرواحد ۱۴ غیر ATPase 26S پروتئازوم (زیرواحد rpn11 26S پروتئازوم)
Os07g0691800	شبه زیرواحد ۴ پروتئازوم 26S (زیرواحد AtRPT2a 26S پروتئازوم)
Os02g0205300	زیرواحد تنظیمی 26S پروتئازوم (همولوگ پروتئینی متصل به TAT)
Os04g0311400	سیستئین پروتئیناز ۱ (EC 3.4.22.-)
Os08g0556900	سیستئین پروتئیناز (EC 3.4.22.-)
Os06g0669400	<i>FtsH</i> پروتئاز (VAR2)، پروتئاز وابسته به روی
Os02g0649700	پپتیداز M41، پروتئین حاوی دومین <i>FtsH</i> خارج سلولی

ادامه جدول ۴-۵- مشخصات برخی از ژن‌های هم‌بیان شناسایی شده در جنین‌زایی میکروسپور برنج

شماره دسترسی	اسم ژن
Os05g0567100	آسپارتیک پروتئیناز اوریزاسین ۱ (EC 3.4.23.-)
Os11g0183900	آسپارتیک پروتئیناز Asp1 (EC 3.4.23.-)
Os01g0371200	گلوکاتیون S- ترانسفراز 19E50
Os04g0435500	گلوکاتیون S- ترانسفراز، پروتئین حاوی دومین انتهای آمینی
Os12g0210200	گلوکاتیون S- ترانسفراز ۱۸
Os08g0558200	گلوکاتیون S- ترانسفراز، پروتئین حاوی دومین انتهای آمینی
Os10g0525400	گلوکاتیون S- ترانسفراز ۳۱ (GSTU31)
Os01g0848700	Rab11C پروتئین مرتبط با Ras
Os03g0666500	RHA1 پروتئین مرتبط با Ras
Os05g0105200	Rab-1B پروتئین مرتبط با Ras
Os05g0341600	Rab-21 پروتئین مرتبط با Ras
Os10g0456600	پروتئین خانواده GTPase Ras
Os12g0631100	پروتئین خانواده Ras (GTPase small Ras)
Os06g0551400	پروتئین RIC2 مرتبط با Ras
Os03g0819900	RAB8C، RAB8C، پروتئین مرتبط با ras
Os04g0284900	پروتئین متصل شونده به کالمودولین در گیاه
Os01g0279300	کالمودولین ۱
Os12g0578300	پروتئین متصل شونده به کالمودولین در گیاه
Os05g0491100	کالمودولین
Os10g0539600	پروتئین کیناز وابسته به کلسیم ۳
Os06g0609600	پروتئین حاوی دومین EF-Hand
Os03g0769500	پروتئین حاوی دومین EF-Hand
Os09g0483500	پروتئین حاوی دومین EF-Hand متصل شونده به کلسیم
Os02g0641300	میلوبلاستوزیس (Myb)، عامل رونویسی متصل شونده به DNA
Os09g0401000	عامل رونویسی میلوبلاستوزیس (MYB)
Os03g0847600	پروتئین متصل شونده به GAMyb
Os08g0440000	پروتئین خانواده v-SNARE واسطه مسیر انتقال وزیکول



ادامه جدول ۴-۵- مشخصات برخی از ژن‌های هم‌بیان شناسایی شده در جنین‌زایی میکروسپور برنج

شماره دسترسی	اسم ژن
Os09g0487600	پروتئین خانواده تاخوردن پکتین لیاز، عامل بیماری‌زایی
Os05g0372400	لیپاز، پروتئین خانواده کلاس ۳
Os11g0655800	لیپاز، پروتئین خانواده کلاس ۳
Os03g0826600	فسفولیپاز
Os03g0192400	پروتئین خانواده <i>GRIM-19</i>
Os02g0713400	تیوردوکسین ردوکتاز ۱ وابسته به NADPH
Os02g0638300	فردوکسین - تیوردوکسین ردوکتاز
Os03g0284600	پروتئین حاوی دومین تاخوردن تیوردوکسین
Os03g0729300	پروتئین حاوی دومین تاخوردن شبه تیوردوکسین
Os03g0767500	پروتئین حاوی دومین ۲ تیوردوکسین
Os04g0676100	تیوردوکسین X کلروپلاست
Os07g0476900	پروتئین حاوی دومین ۲ تیوردوکسین
Os09g0249900	فردوکسین - تیوردوکسین ردوکتاز
Os05g0255600	پروتئین حاوی دومین ۲ تیوردوکسین
Os01g0667900	شبه گلو تاردوکسین
Os01g0200000	پروتئین اتوفاگوسیتوز شبه AUT1
Os01g0149200	پروتئین شبه متالوتیونین ۲
Os01g0149800	پروتئین شبه متالوتیونین ۲
Os08g0558600	پروتئین حاوی دومین Longin (domain Longin)
Os02g0662200	پروتئین حاوی دومین ناحیه وابسته به YbaK / پرولیل-tRNA سنتتاز
Os03g0219200	سوپر اکسید دیسموتاز
Os03g0131200	ایزوآنزیم کاتالاز ۲ (EC 1.11.1.6)
Os01g0787000	پروکسیداز (EC 1.11.1.7)
Os06g0521500	هم پروکسیداز
Os06g0185900	فسفولیپید هیدروپروکسید گلو تاتیون پروکسیداز کلروپلاست (PHGPx)
Os02g0717300	ترانسلوکاز غشا داخلی ورودی میتوکندریایی، زیر واحد Tim17/22

مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول<sup>۱</sup> (PCD) یک مکانیسم کنترل‌شده ژنتیکی است که انهدام سازمان‌یافته انواع سلول‌ها و بافت‌های خاص را انجام می‌دهد (لم، ۲۰۰۴). PCD برای اولین بار در سلول‌های جانوری گزارش شد و سپس تدریجاً در سلول‌های گیاهی مشخص شد. PCD در طول نمو میکروسپور یا دانه‌گرده در بساک اتفاق می‌افتد. نشانه‌های اولیه هنگام میوز در تاپتوم آشکار می‌شود و شامل فساد تدریجی اندامک‌هایی مثل میتوکندری و نیز تخریب DNA به چندین قطعه ۱۸۰kbp می‌باشد. این پدیده در بافت‌های اسپوروفیتی بساک گسترش می‌یابد و سرانجام بسته به گونه، میکروسپور یا دانه‌گرده را در مراحل مختلف نمو تحت تأثیر قرار می‌دهد (ورنیر و همکاران، ۲۰۰۵).

پیش‌تیمار تنش باعث شروع PCD در بساک‌ها و میکروسپورها می‌شود و شاید در مستعد کردن میکروسپور به فرآیند جنین‌زایی میکروسپور نقش داشته باشد (ورنیر و همکاران، ۲۰۰۵). به دنبال تنش‌هایی مانند تغییرات آب و هوایی (چن و همکاران، ۱۹۹۹)، ترکیبات سمی (یائو و همکاران، ۲۰۰۱)، تنش اکسیداتیو (پنل و لمب، ۱۹۹۷) یا حمله پاتوژن (هبریچتس و همکاران، ۲۰۰۳)، گیاه تعدادی از سلول‌های اطراف ناحیه مجروح یا محل نفوذ پاتوژن را می‌کشد، و بنابراین برای بافت‌های درونی منطقه ایمنی را ایجاد می‌کند. در طی نمو گیاه، PCD در فرآیندهای متعددی از قبیل شکل‌گیری برگ‌ها، محو سلول‌های آلورون، ریزش سلول‌های کلاهدک ریشه یا تمایز انواع سلول‌های تخصص‌یافته مانند عناصر آوندی مشاهده می‌شود (پنل و لمب، ۱۹۹۷؛ کوریاما و فوکودا، ۲۰۰۲). علاوه بر این، PCD برای انجام تولیدمثل جنسی در نهاندانگان ضروری است (پنل و لمب، ۱۹۹۷؛ وو و چونگ، ۲۰۰۰). جنین‌زایی زیگوتی و سوماتیکی به‌طور تنگاتنگی با PCD مرتبطاند و در حذف ساختارهای غیرضروری جنین (مرهرست و همکاران، ۱۹۹۷) و الگودهی صحیح جنین نقش دارد (سوارز و همکاران، ۲۰۰۴). در گیاهان PCD در دو وضعیت مهم شروع می‌شود؛ در طول پاسخ به تغییرات محیطی ناشی از تنش‌های زیستی و غیر زیستی و در طول فرآیندهای نموی، زمانیکه حذف

---

1- Programmed Cell Death

سلول‌های بی‌فایده لازم است. به‌طور ویژه مطالعات صورت گرفته روی آندروژنز جو نیز نشان می‌دهد که PCD حداقل در دو سطح اتفاق می‌افتد؛ در طول القاء آندروژنز توسط تنش و در طول گذار از ساختارهای چندسلولی به جنین‌های کروی (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a). یک روش آزمایشی برای آزمون برگشت‌پذیری مراحل اولیه PCD نشان می‌دهد که عوامل پیش‌برنده اکسیداتیو می‌توانند مورفولوژی شبه ستاره‌ای را در پروتوپلاست‌های توتون القاء کنند. پس از رفع عوامل القاکننده PCD، ساختارهای شبه ستاره‌ای قادر به بازیابی از تنش و شروع تقسیمات سلولی هستند (آبرین و همکاران، ۱۹۹۸). در سیستم‌های جانوری، سیگنال‌های PCD توسط انتقال سیگنال پلیوتروپیک هدایت می‌شوند، که نشان می‌دهد که این مسیرها نیز در تکثیر و تمایز سلول نقش دارند (گرین و بیر، ۲۰۰۱). در طول القاء آندروژنز در جو، شکافت پروتئولیتیکی انتهای کربوکسیلی ایزوفرم 14-3-3A با جمعیتی از میکروسپوره‌های بزرگ‌نشده که در طول تیمار تنش می‌میرند مرتبط است (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۳a, b). میکروسپوره‌های بزرگ‌شده ناشی از تنش که پتانسیل جنین‌زایی را کسب کرده‌اند توسط بیان ژن *BI-1* مشخص می‌شوند (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵b). این نشان می‌دهد که تیمار تنش برای القاء آندروژنز گیاهان، PCD را در میکروسپوره‌های بزرگ‌نشده فعال می‌کند، درحالی‌که در میکروسپوره‌های بزرگ‌شده تیمار تنشی منجر به القاء تقسیمات سلولی می‌گردد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a). از آنجایی‌که بیشتر عوامل تنشی به‌کاررفته برای شروع آندروژنز می‌توانند PCD را القاء کنند (لم، ۲۰۰۴)، تقسیمات سلولی ممکن است توسط مسیرهای سیگنال‌یابی که با مسیرهای سیگنال‌ینگ فعال‌شده توسط PCD تداخل<sup>۲</sup> دارند القاء شود (کورایاما و فوکودا، ۲۰۰۲). ژن 14-3-3A در تاپتوم جو به‌محض نمو طبیعی دانه‌گرده با PCD ارتباط برقرار می‌کند (وانگ و همکاران، ۱۹۹۹؛ ماراشین و همکاران، ۲۰۰۳b).

---

1- BAX Inhibitor 1  
2- Cross-talk

از آنجایی که PCD وظایف مهمی در نمو و عملکرد موجودات چندسلولی دارد (لم، ۲۰۰۴)، پس چگونه تکسلول‌هایی مانند میکروسپورها می‌توانند از PCD نفع ببرند؟ پاسخ به این سؤال را می‌توان به واسطه موجودات تکسلولی، مانند مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) بررسی کرد. پیری و تنش می‌توانند باعث مرگ بسیاری از سلول‌های مخمری درون یک کلنی شوند که مشخصه‌های PCD را نشان می‌دهد و توسط مکانیسم‌های مولکولی که مطابق PCD جانوری و گیاهی می‌باشند کنترل می‌شود (مادئو و همکاران، ۲۰۰۲b). خودکشی فعال این سلول‌ها در عین حال که سلول‌ها را بدون هیچ‌گونه آسیبی به محیط اطراف تخریب می‌کند، انرژی متابولیکی را برای سلول‌های مجاور ذخیره می‌کند (مادئو و همکاران، ۲۰۰۲a). همانند همگونه‌گرایی<sup>۱</sup> مخمر، تنش در طول القا آندروژنز جو احتمالاً می‌تواند باعث حذف هدفمند سلول‌های ضعیف شود، که توسط جمعیت میکروسپوره‌های بزرگ‌نشده مشخص می‌شود و در نتیجه به بقای میکروسپوره‌های بزرگ‌شده کمک می‌کند (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a).

در مسیر جنین‌زایی میکروسپور، PCD در زمان تبدیل ساختارهای چندسلولی<sup>۲</sup> (MCS) به جنین‌های کروی نیز نقش دارد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a). تشکیل MCS ها از میکروسپوره‌های شبه ستاره‌ای شامل مسیرهای نموی مختلفی می‌باشد که توسط نخستین تقسیم متقارن و سرنوشت سلول‌های دختری مشخص می‌شود. در طول پارگی دیواره اگزین، ناحیه سلول زایشی توسط PCD حذف می‌شود و جنین‌های کروی از ناحیه رویشی شکل می‌گیرند (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵c). در طول آندروژنز، افزایش فعالیت شبه کاسپاز ۳ در طول حذف ناحیه سلول زایشی در تبدیل MCS ها به جنین‌های کروی با PCD مرتبط می‌باشد. PCD ناحیه زایشی بر پارگی دیواره اگزین مقدم بوده و شرط لازم برای آزادسازی جنین‌های کروی از دیواره اگزین می‌باشد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a).

---

1- Altruism  
2- Multicellular structures

#### ۴-۱-۳-۲- ژن‌های پروتئولیتیک

ژن‌های پروتئولیتیک شناسایی شده در این تحقیق شامل: 20S پروتئازوم، 26S پروتئازوم، سیستمین پروتئاز، *FtsH* و فیتسپین (آسپارتیک پروتئاز) می‌باشند. روش‌های پروتئومیکس نشان می‌دهد که میکروسپورها به محض تیمار تنشی برای القاء آندروژنز، تغییر سنتز، فسفریلاسیون و گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها را نشان می‌دهند. یکی از تغییرات اصلی ناشی از تنش در طول القاء آندروژنز، کاهش کلی پروتئین‌ها در میکروسپورها است (کیو و هارادا، ۱۹۹۰؛ گاریدو و همکاران، ۱۹۹۳؛ ری‌هوا و همکاران، ۱۹۹۶). از نظر مورفولوژیکی، تنش باعث مهار تمایز گامتوفیتی می‌شود که علامت آن تخریب سیتوپلاسم دانه گرده است (دون‌ول و ساندرلند؛ ۱۹۷۵؛ رشید و همکاران، ۱۹۸۲). بنابراین کاهش بیان پروتئین‌های اختصاصی دانه گرده یا افزایش تجزیه پروتئین‌ها ممکن است نقش مهمی در تمایزدایی میکروسپورها داشته باشد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a). این موضوع در توافق با این واقعیت است که مهار رونویسی ژن‌های اختصاصی دانه گرده اثر سودمندی در شروع آندروژنز دارد. براساس این شواهد، فرض شده است که القاء آندروژنز ممکن است شامل تجزیه پروتئولیتیک پروتئین‌های اختصاصی دانه گرده باشد. بیان ژن‌های مرتبط با تجزیه پروتئین (*FtsH*)، زیرواحد آلفا-۵ و آلفا-۲ پروتئازوم 20S، زیرواحد ۸ تنظیمی پروتئازوم 26S، سیستمین پروتئاز ۱ و فیتسپین) باعث القاء آندروژنز در میکروسپورها می‌شود (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۶). القاء اجزاء مسیر یوبی کوئیتین و بیان ژن پروتئاز ممکن است با تنظیم پیشرفت میتوز در طول کسب پتانسیل جنین‌زایی میکروسپور مرتبط باشد. این فرضیه بیشتر توسط این واقعیت تأیید می‌شود که ژن‌های پروتئولیتیک قبل از ژن‌های مرتبط با تقسیم سلولی و در جریان کسب پتانسیل جنینی در جنین‌زایی سوماتیکی فعال می‌شوند (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a). ژن‌های پروتئولیتیک مانند آسپارتیک پروتئاز و زیرواحد تنظیمی پروتئازوم 26S با تعداد گیاهان سبز ارتباط مثبت دارند (مونز-آماتریین و همکاران، ۲۰۰۹). متغیر تعداد گیاهان سبز (nGP) راندمان نهایی فرآیند جنین‌زایی میکروسپور را اندازه‌گیری می‌کند. پروتئازوم 26S در بسیاری از جنبه‌های مختلف تنظیم سلولی شامل تنش، واکنش‌های هورمونی،

کنترل چرخه سلولی، انتقال مجدد مواد غذایی، تمایز اندام، ساخت کمپلکس چند کاتالیزوری پروتئازوم 20S و زیرواحدهای تنظیمی 26S نقش دارد (هلمن و استل، ۲۰۰۴). اگرچه بیان زیرواحد آلفا-۵ پروتئازوم 20S مستقل از پتانسیل جنین‌زایی است، اما بیان بالای زیرواحد ۸ تنظیمی پروتئازوم 26S با پتانسیل بالای جنین‌زایی میکروسپوره‌های تیمار شده با مانیتول همبستگی دارد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۶). این زیرواحد تنظیمی با زیرواحد ۲ ATPase ذرات تنظیمی برنج (*RPT2*) هومولوژی دارد. ژن‌های *RPT* با اعطای وابستگی و اختصاصیت ATP برای سوبستراهای یوبی کوئیتینه به 26S پروتئازوم مشخص می‌شوند (فو و همکاران، ۱۹۹۹). این نشان می‌دهد که تنظیم پروتئولیز به واسطه یوبی کوئیتین در میکروسپوره‌های جنین‌زایی که توسط مانیتول تیمار شده‌اند صورت می‌گیرد که نقش پروتئولیز را در کسب پتانسیل جنین‌زایی نشان می‌دهد. شواهد بیشتر در حمایت از نقش پروتئولیز در القاء آندروژنز توسط بیان بالاتر سیستمین پروتئاز و آسپارتیک پروتئاز به محض تیمار مانیتول اثبات شده است (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۶). سیستمین پروتئازها و آسپارتیک پروتئازها در بلوغ پروتئین، مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده، جوانه‌زنی و بازآرایی بافت نقش دارند (بیرز و همکاران، ۲۰۰۴). بیان سیستمین پروتئازها با القاء جنین‌زایی سوماتیکی همبستگی دارد (تیباد-نیشن و همکاران، ۲۰۰۳) و چندین پروتئاز در طول جنین‌زایی زیگوتی بیان می‌شوند (دانگ و همکاران، ۲۰۰۴؛ سرینی‌واسولو و همکاران، ۲۰۰۴).

در طول گرسنگی، ژن‌های دخیل در انتقال مجدد کربوهیدرات‌ها هماهنگ با آنزیم‌های دخیل در بازسازی نیتروژن افزایش بیان می‌یابند. بازسازی نیتروژن شامل تجزیه پروتئین‌ها برای جابجایی نیتروژن، کلاس‌های مختلفی از پروتئازهای گیاهی و مسیر پروتئولیتیک یوبی کوئیتین- پروتئازوم 26S می‌باشد. در جنین‌زایی سوماتیکی، تمایز دایی سلول با افزایش بیان ژن‌های پروتئاز و پروتئین‌های مسیر پروتئولیتیک یوبی کوئیتین- پروتئازوم 26S همراه است. سطوح بیان ژن‌هایی که یوبی کوئیتین- ذرات تنظیمی 26S، سیستمین پروتئاز ۱، فیتسپین (آسپارتیک پروتئاز) و متالوپروتئاز *FtsH* را کد می‌کنند با پاسخ آندروژنی میکروسپوره‌های جو در ارتباط است. این نتایج نشان می‌دهد که پروتئازها

ممکن است برای جابجایی نیتروژن به محض کاهش قند مهم باشند. این موضوع در توافق با نقش متالوپروتئاز *FtsH* در سنتز و تجزیه پروتئین‌ها می‌باشد. ژن *FtsH* پروتئینی را کد می‌کند که هر دو فعالیت متالوپروتئازی و چاپرونی را دارد. در گیاهان، *FtsH* به عنوان پروتئاز دخیل در تجزیه پروتئین D1 مرکز واکنش فتوسیستم II به محض آسیب اکسیداتیو نوری برگشت ناپذیر بیان می‌شود (لیندال و همکاران، ۲۰۰۰). روش‌های جهش‌زایی نشان می‌دهد که ژن متالوپروتئاز *FtsH* برای تشکیل طبیعی کلروپلاست‌های سبز مورد نیاز است. بیوژنز کلروپلاست عامل مهمی برای تولید گیاهان سبز از میکروسپورها می‌باشد، چرا که در بسیاری از گونه‌ها میکروسپورها اغلب منجر به تولید گیاهان آلبینو می‌شوند که در اصلاح نباتات کاربرد چندانی ندارند. ارتباط بین سطوح بالاتر بیان *FtsH* با میکروسپورهای تیمار شده با مانیتول نشان می‌دهد که این پروتئین در ساخت کلروپلاست در طول القاء آندروژنز جو نقش دارد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۶). تیمار بساک‌های جو با مانیتول نه تنها باعث القاء راندمان باززایی بالاتر، بلکه همچنین باعث تولید نسبت‌های بالاتر سبز/ آلبینو در بین گیاهان مشتق‌شده از میکروسپور می‌شود (کاریدا و همکاران، ۱۹۹۹).

#### ۴-۱-۳- ژن گلوپتایون S- ترانسفراز (*GST*)

القاء آندروژنز توسط تنش با بیان ژن گلوپتایون S- ترانسفراز (*GST*) و کاتالاز ۱ مرتبط است. ژن‌های *GST* و کاتالاز ۱ پروتئین‌هایی را کد می‌کنند که در فرآیند سم‌زدایی و حفاظت از تنش اکسیداتیو نقش دارند. اعضای از خانواده *GST* در طول مراحل اولیه نمو آندروژنی جو و نیز در طی القاء جنین‌زایی سوماتیکی با اکسین بیان بالایی دارند. القاء ژن‌های *GST* در طول جنین‌زایی سوماتیکی با اکسین کنترل می‌شود که نشان می‌دهد که ROSها به عنوان مولکول‌های سیگنالینگ در بیان ژن‌های دفاعی و پاسخ‌های هورمونی نقش دارند. در توافق با این فرضیه، افزایش سطوح ROS برای افزایش جنین‌زایی سوماتیکی در بسیاری از گونه‌های گیاهی گزارش شده است. این نتایج نشان می‌دهد که ژن‌های *GST* و کاتالاز ۱ در طول کسب پتانسیل جنین‌زایی احتمالاً دارای نقش محافظت

سلولی در برابر اثرات مضر ROS می‌باشند. در گندم (*Triticum aestivum* L.) زمانی که میکروسپورها شکل شبه ستاره‌ای کسب می‌کنند و یا تحت تقسیمات اولیه قرار می‌گیرند، دو ژن *GSTF2* و *GSTA2* بیان می‌شوند. بیان این ژن‌ها با محافظت از جنین‌های در حال نمو در مقابل تنش، اما نه با کسب پتانسیل جنین‌زایی مرتبط می‌باشد (سانچز-دیز و همکاران، ۲۰۱۳).

#### ۴-۱-۳-۴- ژن الکل دهیدروژناز ۱ (*ADH1*)

بیان ژن الکل دهیدروژناز ۳ (*ADH3*) همبستگی زیادی با جنین‌زایی میکروسپور دارد و در فرآیند متابولیسم لیپید و متابولیسم اسیدهای آمینه نقش دارد. علاوه بر این، بیان *ADH3* با راندمان باززایی بالاتر میکروسپورهای تیمار شده با مانیتول همبستگی دارد. *ADH* واکنش برگشت‌پذیر یک آلدئید یا کتون را به الکل در حالت وابسته به NAD کاتالیز می‌کند (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۶). بیان *ADH* مستلزم تغییر جهت مسیر اکسیداتیو به مسیر تخمیری می‌باشد که منجر به القاء ژن‌های گلیکولیتیکی و تخمیری می‌شود (دات و همکاران، ۲۰۰۴). بیان برخی از ژن‌های خانواده الکل دهیدروژناز (*ADH*) توسط آبسزیک اسید تنظیم می‌شود. در جو (*Hordeum vulgare* L.)، بیان ژن *ADH1* توسط آبسزیک اسید القاء می‌شود (مکنیکل و ژاکوبسن، ۲۰۰۱). پروموتور ژن *ADH1* جو حاوی موتیف‌هایی است که شباهت زیادی به عناصر پاسخ‌دهنده به آبسزیک اسید در پروموتور *ADH* آرابیدوپسیس دارد (دی بروکسلز و همکاران، ۱۹۹۶). آبسزیک اسید در تحمل گیاهان به بسیاری از تنش‌های محیطی ضروری می‌باشد و با افزایش سطح تنش اسمزی افزایش می‌یابد (زیوارت و کریلمن، ۱۹۸۸) و با القاء آندروژنز ناشی از مانیتول در جو همبستگی دارد (وانگ و همکاران، ۱۹۹۹).

سیگنالینگ آبسزیک اسید ممکن است نقش مهمی در فعال شدن برنامه‌های بیان ژن در شروع آندروژنز توسط تنش داشته باشد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a). اگرچه هنوز مشخص نشده است که آیا پروموتور *ADH3* حاوی عناصر پاسخ‌دهنده به ABA می‌باشد، اما بیان *ADH3* با افزایش تنش اسمزی همبستگی دارد که نشان می‌دهد بیان این ژن ممکن است نشانه‌ای برای واکنش‌های تنشی



مرتبط با فشار اسمزی بالا به دلیل تیمار مانیتول در القاء آندروژنز جو باشد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۶).

#### Ras GTPase -۵-۳-۱-۴

ROPها (Rho) متعلق به بالاخانواده Ras GTPase از اعضای اختصاصی گیاهان هستند که شامل پنج خانواده: Ras، Rho، Rab/Ypt، Arf و Ran می‌باشند. ROPها به‌عنوان سوئیچ‌های مولکولی عمل کرده و روی اسکلت سلولی گیاهان اثر می‌گذارند. پروتئین Ras یک GTPase کوچک مونومری متصل‌شونده به GTP است که یک تنظیم‌کننده حیاتی در تکثیر سلول می‌باشد. خانواده Ras GTPase با تشکیل یک شبکه انتقال پیام بین سلولی، امکان انتقال سیگنال‌های خارج سلولی به هسته و کنترل رونویسی در پاسخ به یک محرک معین را فراهم می‌کنند. هنگامی که GTPase در ارتباط با GTP باشند حالت فعال دارند و وقتی GDP به آن متصل باشد غیرفعال می‌گردد. مسیر سیگنالی Ras-cAMP، پاسخ‌های سراسری مربوط به تحمل تنش (دما، اسمولاریته، اکسیداتیو و...) را میانجی‌گری می‌کند. اولین تغییر مورفولوژیکی که در میکروسپوره‌های جنین‌زا رخ می‌دهد تشکیل باند پیش‌پروفازی (PPB) میکروتوبول‌ها است. PPB جایگاه دیواره سلولی جدیدی که بین سلول‌های دختری هم‌اندازه ایجاد شده است را مشخص می‌کند. در مقابل، PPB در طول نمو طبیعی دانه گرده دیده نمی‌شود. این مشاهدات نشان می‌دهد که تغییرات اسکلت سلولی نقش حیاتی در تغییر شکل میکروسپوره‌های قرارگرفته در مسیر جنین‌زایی دارند. در تأیید این فرضیه، مشاهده شده است که کلتی‌سین (عامل دپلمریزه‌کننده میکروتوبول) می‌تواند جنین‌زایی را در غیاب شوک گرمایی القاء کند. در بسیاری از موجودات ROP GTPaseها با تغییر سازماندهی اسکلت سلولی اثرات مورفونیک ایجاد می‌کنند. تحقیقات نشان می‌دهد که تنش گرمایی ملایمی که باعث تغییر جهت نمو میکروسپوره‌های *B. napus* به سمت جنین‌زایی می‌شود با بیان معنی‌دار ژن‌های Rop5 و Rop9 همراه است. وقایع مولکولی و بیوشیمیایی در طول جنین‌زایی میکروسپور حاکی از آن است که سنتز توبولین

در میکروسپورهای جنین‌زا در مقایسه با میکروسپورهای غیرجنین‌زا تا حد زیادی تغییر نمی‌کند که نشان می‌دهد که تغییرات مورفولوژیکی در میکروسپورهای جنین‌زا در نتیجه تغییر سازماندهی اسکلت سلولی و نه سنتز دوباره اجزای اسکلت سلولی می‌باشد (چان و پالز، ۲۰۰۷).

#### ۴-۱-۳-۶- پروتئین کیناز وابسته به کلسیم / کالمودولین

کالمودولین (CaM) میانجی اصلی سیگنالینگ  $Ca^{2+}$  در گیاهان و جانوران می‌باشد. از آنجایی که یک منبع خارجی از  $Ca^{2+}$  برای جنین‌زایی میکروسپور در گندم نان لازم می‌باشد بنابراین ممکن است CaM یا یک پروتئین مرتبط تعدیل‌کننده  $Ca^{2+}$  در انتقال سیگنال دخیل باشند. ژن *EcMt* پس از گذشت ۶ ساعت از زمان القاء جنین‌زایی در محیط حاوی اکسین بیان می‌شود. پروموتور ژن *EcMt* گندم حاوی عنصر پاسخ‌دهنده به ABA می‌باشد و بیان بالای آن در طول آندروژنز ارتباط نزدیکی با حداکثر تولید ABA داخلی دارد.  $Ca^{2+}$  به واسطه کالمودولین در انتقال سیگنالینگ ABA که منجر به بیان *EcMt* می‌شود نقش دارد. مهار فعالیت CaM باعث کاهش بیان ژن *EcMt* در میکروسپورها و کاهش توانایی‌شان در تبدیل به جنین می‌شود (رینولدز، ۲۰۰۰).

#### ۴-۱-۳-۷- پروتئین متصل‌شونده به کلسیم خانواده EF-hand

پروتئین‌های متصل‌شونده به کلسیم (CaBPs)، بخشی از خانواده بزرگ پروتئین‌های دارای ناحیه EF-Hand هستند که سطوح کلسیم داخل سلولی را تنظیم می‌کنند. آن‌ها در پهنه وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیک شرکت می‌کنند که از جمله این فعالیت‌ها می‌توان به بیان ژن و فعالیت نوروها اشاره کرد. کلسیم از یون‌های تنظیم‌کننده فرآیندهای مختلف سلولی نظیر انقباض عضلانی، ترشح، انتقال پیام، تمایز سلولی، آپوپتوز، نکروز و غیره است. در چنین فرآیندهایی تغییر در میزان غلظت کلسیم ( $Ca^{2+}$ ) داخل سلولی به‌عنوان یک میانجی پیام عمل کرده و پیام از طریق فعال شدن یا غیر فعال شدن پروتئین‌های وابسته به کلسیم منتقل می‌شود. پروتئین‌های وابسته به کلسیم که در انتقال

پیام دخالت دارند جزو پروتئین‌های خانواده S100 هستند. تمام پروتئین‌های این خانواده دارای ناحیه EF-hand هستند و توانایی اتصال به کلسیم را دارند.

ژن‌های کدکننده پروتئین‌های بتا-۱، ۳-گلوکاناز، پروتئین انتقال لیپید غیراختصاصی نوع یک، پروتئین خانواده غشای TMS و پروتئین خانواده EF-hand با تعداد میکروسپورهای تقسیم‌شده مرتبط می‌باشند. این ژن‌ها با تغییرات ساختاری و عملکردی غشای میکروسپورها نقش مهمی را در پاسخ به تنش و آماده‌سازی مراحل اولیه جنین‌زایی میکروسپور انجام می‌دهند. ژن کدکننده پروتئین دارای ناحیه EF-hand که اغلب در پروتئین‌های متصل به کلسیم یافت می‌شود رابطه مثبتی با تعداد میکروسپورهای تقسیم‌شده دارد که نشان‌دهنده نقش مهم کلسیم در مراحل اولیه جنین‌زایی میکروسپور می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که افزودن  $Ca^{2+}$  در محیط تیمار تنش باعث افزایش تقسیمات سلول میکروسپور، جنین‌ها و کل گیاهان می‌شود (مونز-آماترین و همکاران، ۲۰۰۹).

#### ۴-۱-۳-۸- پروتئین‌های آرابینوگالاکتان (AGP)

پروتئین‌های آرابینوگالاکتان (AGP) غنی از هیدروکسی پرولین گلیکوزیده شده موجود در دیواره سلولی، غشای پلاسمایی و ترشحات خارج سلولی، در بسیاری از فرآیندهای رشد و نمو گیاهان شامل جنین‌زایی سوماتیکی، نمو دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده نقش دارند. ژن‌های اختصاصی AGP در جنین‌های مشتق‌شده از میکروسپورهای جو و کلزا بیان می‌شوند. AGP ها اجزای محیط کشت شرطی میکروسپورهای جو و ذرت و پیش‌برنده جنین‌زایی میکروسپور در گندم می‌باشند. دو ژن آرابینوگالاکتان *TaFLA26* (کدکننده پروتئین آرابینوگالاکتان fasciclin-like) و *TaAGP31-like* به ترتیب ۱۰ و ۱۵ روز پس از کشت میکروسپورهای گندم بیان می‌شوند. در مقابل، *TaFLA25* و *TaFLA14* مخصوصاً پس از تیمار تنش مانیتول بیان می‌شوند (سانچز-دیز و همکاران، ۲۰۱۳). ژن *BnAGP Sta 39-4* کلزا در مراحل اولیه جنین‌زایی بیان بالایی دارد اما بیان آن در مراحل بعدی جنین‌زایی (جنین‌های کروی، اژدری و کوتیلدونی) کاهش می‌یابد. بیان بالای ژن *Sta39-4* در دیواره

سلولی جنین‌های دو یا چهار سلولی نشان می‌دهد که AGP‌ها نشانگرهای مولکولی اولیه جنین‌زایی میکروسپور هستند. AGP‌ها عوامل محرک جنین‌زایی میکروسپور هستند. مطالعات نشان می‌دهد که حذف AGP‌های سلولی از طریق افزودن واکنشگر  $\beta$ -D-Glucosyl Yariv به محیط کشت میکروسپور، جنین‌زایی سوماتیکی را در *Daucus carota* مهار می‌کند درحالی‌که اضافه کردن AGP جنین‌زایی سوماتیکی را افزایش می‌دهد (ال-تنتاوی و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین ساختارهای چندسلولی آندروژنی به تدریج پروتئین‌هایی (از خانواده آرابینوگالاکتان‌ها) را در محیط کشت ترشح می‌کنند که در نمو جنین زیگوتی مؤثر می‌باشد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a).

#### ۴-۱-۳-۹- عامل رونویسی MYB

در گیاهان یک عامل رونویسی بیان بسیاری از ژن‌های هدف را با اتصال به سیس‌المنت مربوطه در پروموتور آن‌ها کنترل می‌کند. پروتئین‌های MYB خانواده بزرگی از عوامل رونویسی وابسته به ABA هستند که نقش مهمی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی در گیاهان دارند. بیان بیشتر ژن *AtMYB2* سبب بروز حساسیت زیاد به ABA و بهبود تحمل تنش‌های اسمزی می‌شود (شینوزاکی و یاماگوچی - شینوزاکی، ۲۰۰۷). پس از تیمار مانیتول، پیام تنش توسط عامل رونویسی پاسخ‌دهنده به خشکی (DREB) دریافت شده و بیان ژن‌های خانواده MYB افزایش می‌یابد که مسئول کنترل فشار اسمزی و متابولیسم می‌باشند (مونز-آماترین و همکاران، ۲۰۰۶).

#### ۴-۱-۳-۱۰- واسطه مسیر انتقال وزیکول *v-SNARE*

سلول‌های یوکاریوتی جهت تبادل مواد با محیط اطراف خود از فرآیندهای اندوسیتوز و اگزوسیتوز استفاده می‌کنند و طی آن به ترتیب وزیکول‌هایی از غشا پلاسمایی به سمت داخل سلول و یا از شبکه آندوپلاسمی به سمت دستگاه گلژی و سطح سلول جوانه می‌زند. هر وزیکول انتقالی<sup>۱</sup> جوانه‌زده دارای پروتئین‌های خاص و نشانگرهای سطحی می‌باشد که فقط با غشا هدف اختصاصی

1- Transport vesicle

خود اتصال می‌یابند. مراحل شناسایی دو غشا توسط دو گروه عمده از پروتئین‌ها کنترل می‌شود: SNARE<sup>1</sup> و GTPase های هدف (Rab). پروتئین‌های SNARE دارای نقش اساسی در ایجاد اختصاصیت و تسهیل اتصال وزیکول به غشا هدف می‌باشند. زمانی که یک SNARE غشا وزیکول (v-SNARE) و یک SNARE غشا هدف (t-SNARE) واکنش می‌دهند، دومین مارپیچی یکی دور دومین مارپیچی دیگری پیچیده و یک کمپلکس trans-SNARE تشکیل می‌شود که دو غشا را به هم قفل می‌نماید. در گیاهان، پروتئین‌های SNARE نقش مهمی در نمو جنینی دارند. پروتئین‌های Rab با همکاری یکدیگر و سایر پروتئین‌ها، اتصال اولیه و استحکام وزیکول انتقالی با غشا هدف را تنظیم می‌کنند. این پروتئین‌ها در اختصاصی بودن انتقال وزیکولی نقش مهمی دارند. هر اندامک حداقل دارای یک پروتئین Rab روی سطح سیتوزولی خود می‌باشد. برای مثال Rab7 بر روی late endosome قرار دارد. RAB7 تنظیم‌کننده اصلی تردد اندوزومی / واکوئلی در سلول‌های جانوری، گیاهی و مخمر می‌باشد. پروتئین‌های Rab از نظر عملکردی و ساختاری دارای سه بخش می‌باشند: ۱- انتهای کربوکسیل که ایزوپرنیله می‌باشد ۲- قسمت متغیر نوکلئوتیدی که در بین Rabها متفاوت است ۳- قسمت اتصال به مولکول‌های اختصاصی افکتور، که این قسمت نقش کلیدی در کنترل پروتئین Rab دارد. این پروتئین‌ها اتصال وزیکولی را تسهیل و تنظیم نموده و باعث ادغام v-SNARE و t-SNARE می‌شوند. پروتئین‌های Rab بین غشا پلاسمایی و سیتوزول در گردش هستند و در وضعیت متصل به GDP، غیرفعال بوده و در سیتوزول قرار دارند و در وضعیت متصل به GTP، فعال بوده و با غشا یک اندامک و یا وزیکول انتقالی مرتبط می‌باشند (استنمارک و آلگنن، ۲۰۰۱).

#### ۴-۱-۳-۱۱- پکتین لیاز عامل بیماری‌زایی

پکتین پلی‌ساکاریدی است که از واحدهای سازنده اسید دی‌گالاکتورونیک و متیل استر اسید دی‌گالاکتورونیک تشکیل شده است. پکتینازها از گروه آنزیم‌های تجزیه‌کننده پکتین هستند. این آنزیم‌ها سبب رسیدگی میوه، دانه‌گرده و ریزش برگ می‌شوند و برای رشد دیواره سلولی و استحکام

---

1- Soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment receptor

بخشیدن به بافت‌های گیاهی بسیار ضروری‌اند. دیواره سلولی گیاهان و تیغه میانی به‌طور عمده از مواد پکتیکی ساخته شده است. پکتین لیاز آنزیمی است که تمایل زیادی به تجزیه پکتین‌های بلند زنجیر و زیاد متیله‌شده دارد. قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی با تولید آنزیم‌های شکننده مواد پکتیکی بخشی از سدهای دفاعی گیاه را شکسته و باعث ایجاد بیماری می‌شوند (اندرسن، ۱۹۸۲؛ یانگ، ۱۹۹۴). مطالعات ایمونوسیتوشیمیایی دانه‌گرده بالغ نشان می‌دهد که مقادیر پکتین‌های استری‌نشده<sup>۱</sup> بسیار بیشتر از پکتین‌های استری می‌باشد که نشان‌دهنده درجه پایین استری‌شدن پکتین‌ها در دانه‌گرده بالغ می‌باشد. اما در دیواره سلولی میکروسپوره‌های واکوئلیزه فلفل (*Capsicum annum*) مقدار قابل‌توجهی پکتین استری وجود دارد که همگام با وفور پکتین‌های استری در دیواره سلول‌های تکثیرشده جنین‌های میکروسپوری و سلول‌های مریستمی نوک ریشه می‌باشد. سطوح بالای پکتین‌های استری‌نشده را می‌توان نشانه مسیر گامتوفیتی دانه‌گرده در نظر گرفت درحالی‌که پکتین‌های استری را می‌توان به‌عنوان نشانگر اولیه برنامه‌ریزی مجدد میکروسپور به سمت جنین‌زایی، شناسایی سلول‌های القاشده، جنین‌های مشتق شده از میکروسپور و تکثیر سلولی در نظر گرفت (بارانی و همکاران، ۲۰۱۰).

#### ۴-۱-۳-۱۲- لپاها

لپاها (تری آسیل گلیسرول آسیل هیدرولازها؛ EC 3.1.1.3) گروهی از آنزیم‌های هیدرولازی می‌باشند که هیدرولیز تری آسیل گلیسرول به اسیدهای چرب و گلیسرول را در حد فاصل لایه چربی و آب کاتالیز می‌کند. تعداد جنین‌های مشتق‌شده از میکروسپور با ژن‌های دخیل در تجزیه و انتقال کربوهیدرات و لیپید شامل بتا-دی-زایلوزیداز، آلفا-گالاکتوزیداز، لیپاز و انتقال‌دهنده ساکارز، و ژن‌های مربوط به تولید انرژی شامل اکسیدوردوکتاز و انتقال‌دهنده اولیگوپپتید وابسته به پروتون (POT) مرتبط می‌باشد (مونز-آماترین و همکاران، ۲۰۰۹). در طول تیمار مانیتول به علت کاهش فتوسنتز در تاریکی، تجزیه تاپتوم و فقدان منبع کربوهیدراتی قابل متابولیسم در محیط کشت دسترسی به مواد

---

1- De-esterified

غذایی کاهش می‌یابد. از این رو سازمان‌دهی مجدد متابولیسم کربن مرکزی در طول القاء جنین‌زایی میکروسیپور برای استفاده انعطاف‌پذیر اسکلت کربنی از منابع مختلف ضروری می‌باشد. در طول القاء جنین‌زایی میکروسیپور، بیان برخی از ژن‌های دخیل در سیکل لیپولیز و گلی‌اکسیلات مانند لیپاز (نوع ۳)، فسفولیپاز D، آکونیتاز و مالات سینتاز نشان‌دهنده تمایل به پر کردن مجدد ترکیبات حد واسط می‌باشد (مونز-آماتربین و همکاران، ۲۰۰۶).

#### ۴-۱-۳-۱۳- GRIM-19 ژن

ژن *GRIM-19* به‌عنوان پروتئین تنظیم‌کننده بحرانی هسته‌ای با ماهیت آپوپتوتیک در مرگ سلولی ناشی از اینترفرون و رتینوئیک اسید (IFN-RA) شناخته شده است. *GRIM-19* در متابولیسم میتوکندری به‌عنوان جزء عملکردی کمپلکس I زنجیر تنفسی میتوکندری عمل می‌کند و برای نمو جنینی اولیه ضروری است. NADH: یوبی کوئینون اکسیدوردوکتاز (کمپلکس I) کمپلکس بزرگی است که مرحله اول انتقال الکترون را در سیستم فسفریلاسیون اکسیداتیو کاتالیز می‌کند. مطالعات هدف‌گیری ژنی<sup>۱</sup> در موش نشان می‌دهد که توقف بیان *GRIM-19* باعث عدم فعالیت انتقال الکترون کمپلکس I و در نتیجه مرگ جنینی موش می‌شود (هوانگ و همکاران، ۲۰۰۴). ژن *GRIM-19* (Os03g0192400) با ژن *BI-1* در برنج هم بیان است. این نشان می‌دهد که تنش مانیتول برای القاء آندروژنز، باعث فعال شدن PCD در میکروسیپورهای بزرگ‌نشده (غیرجنین‌زا) می‌شود، درحالی‌که در میکروسیپورهای بزرگ‌شده (جنین‌زا) تیمار تنشی منجر به القاء تقسیمات سلولی می‌گردد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a).

#### ۴-۱-۳-۱۴- تیوردوکسین

نتایج ما نشان می‌دهد که ژن‌های تیوردوکسین فقط در مجموعه ژن‌های هم بیان برنج وجود دارند. این ژن‌ها شامل: ژن تیوردوکسین ردوکتاز ۱ وابسته به NADPH، ژن‌های تیوردوکسین

---

1- Gene targeting

تاخورد، فردوکسین - تیوردوکسین ردوکتاز، تیوردوکسین  $x$  کلروپلاست و ژن کد کننده پروتئین حاوی دومین تیوردوکسین ۲ می‌باشند.

تیوردوکسین‌ها (Trxs) پروتئین‌هایی کوچک و مقاوم در برابر حرارت هستند که به فراوانی در تمامی موجودات زنده از تک سلولی‌ها تا پرسلولی‌های عالی یافت شده و به همراه دامنه وسیعی از پیش‌ماده‌ها، در واکنش‌های تبدیلی دی‌تیول / دی‌سولفید شرکت می‌کنند. در بین موجودات زنده، پستانداران و تک سلولی‌ها دارای یک یا چند ژن کد کننده تیوردوکسین می‌باشند، درحالی‌که پروژهای توالی‌یابی ژنوم نشان می‌دهند که گیاهان دارای انواع مختلفی از ژن‌های کد کننده تیوردوکسین‌ها می‌باشند. در گیاهان عالی، بر اساس تجزیه و تحلیل ساختار اولیه پروتئینی و موقعیت درون سلولی، تیوردوکسین‌ها به شش نوع اصلی تقسیم‌بندی می‌شوند که عبارت‌اند از: تیوردوکسین‌های  $f, h, m, o, x$  و  $y$ . تیوردوکسین‌های  $f, m, x$  و  $y$  درون کلروپلاست‌ها قرار داشته و تیوردوکسین  $o$  متعلق به میتوکندری‌ها می‌باشد. Trx های کلروپلاستی توسط فردوکسین و از طریق آنزیم فردوکسین تیوردوکسین ردوکتاز احیا می‌شوند. تیوردوکسین‌های نوع  $h$  درون سیتوزول، میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی و حتی هسته سلول قرار داشته و به سه زیرگروه مختلف I, II و III تقسیم‌بندی می‌شوند. احیاء تیوردوکسین‌های زیرگروه I و II وابسته به مولکول NADPH و با دخالت آنزیم تیوردوکسین ردوکتاز وابسته به NADPH (NTR) صورت می‌پذیرد، اما تیوردوکسین‌های نوع  $h$  زیرگروه III، که اولین بار در درخت صنوبر (*Populus spp.*) گزارش شدند، از طریق سیستم گلوکاتینون / گلوکاتاردوکسین احیاء می‌شوند. مطالعات پروتئومیکس نشان می‌دهد که تیوردوکسین‌های نوع  $h$  در فرآیندهای متعدد سلولی دخالت دارند. تعدادی از اعمال آن‌ها عبارت‌اند از: تحریک جوانه‌زنی بذر و رشد و نمو گیاهک، محافظت سلول در برابر تنش اکسیداتیو، غیرفعال‌سازی پروتئین‌های سمی و محافظت در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده. تاکنون ژن‌های زیادی از این خانواده مطالعه و گزارش شده است. به عنوان مثال، بیان ویژه هشت ژن تیوردوکسین نوع  $h$  در گیاه آرابیدوپسیس مورد بررسی قرار گرفته و نشان می‌دهد که سطوح بیان این آیزوفرم‌ها در بافت‌های مختلف گیاه متفاوت بوده و در



واکنش به عامل بیماری‌زای قارچی یکسان بیان نمی‌شوند. در مطالعه‌ای دیگر بیان شد که ژن *TRXh5* در گیاه آرابیدوپسیس در اثر زخم‌شدگی، پیری، آلودگی با عامل بیماری‌زای قارچی و شرایط تنش اکسیداتیو به میزان زیادی در بافت‌های مختلف القا می‌شود. همسانه‌سازی و بیان متفاوت سه آیزوفرم ژن تیوردوکسین نوع h تحت تیمار با تنش‌های شوری (NaCl) و عامل اکسیداتیو ( $H_2O_2$ ) در بذور گندم (*Triticum aestivum*) نشان می‌دهد که الگوی بیان سه آیزوفرم در بذور تیمار شده متفاوت است. همچنین، یک تیوردوکسین نوع h به نام *AtTrx-h3* از عصاره‌های سیتوزولی گیاه آرابیدوپسیس تحت تیمار گرمایی، جداسازی و همسانه‌سازی شده و پس از تجزیه و تحلیل‌های مربوطه مشخص شده است که پروتئین کد شده توسط این ژن، عمدتاً از طریق فعالیت چارپرونی موجب افزایش تحمل گرمایی در گیاه آرابیدوپسیس می‌شود (حیدری چاپلقی و همکاران، ۱۳۸۹).

#### ۴-۱-۳-۱۵- گلو تاردوکسین

ژن گلو تاردوکسین با ژن بازدارنده *Bax1 (BI-1)* در برنج هم بیان می‌باشد. این ژن کد کننده آنزیم گلو تاردوکسین می‌باشد که در فعال شدن مجدد پروتئین‌ها بعد از رفع تنش اکسیداتیو ضروری است. ROS عامل تنش‌زای القا کننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌باشد (اسکاندالیوس و همکاران، ۱۹۹۷) و نقش مهمی در سیگنال‌دهی اکسایش/ احیا از طریق تغییرات بعد از ترجمه برگشت پذیر زیرواحد سیستمین شامل گلو تاتیونه شدن<sup>۱</sup> و تغییرات دی تیول/ دی سولفید ایفا می‌کنند (سید رحمانی و معالی امیری، ۱۳۹۳). گلو تاتیونه شدن پروتئین عمدتاً در پستانداران مطالعه شده اما شواهد اخیر نشان داده که در گیاهان، خصوصاً در کلروپلاست، ایفای نقش می‌کند. این تغییرات اکسایش/ احیا شامل تیول‌های<sup>۲</sup> پروتئین و گلو تاتیون است که عمدتاً به وسیله گلو تاردوکسین‌ها (Grxs) و اکسیدوردوکتاز متعلق به فوق خانواده تیوردوکسین تنظیم می‌شوند. گلو تاتیونه شدن معمولاً از طریق تشکیل پیوند دی سولفیدی بین گلو تاتیون و

---

1- Glutathionylation  
2- Thiols

سیستئین پروتئین ایجاد شده و به وسیله ROSهایی مانند  $H_2O_2$  ارتقا می‌یابد. مطالعات پروتئومیکسی، گلوپاتیون‌ها شدن پروتئین‌های کلروپلاستی را بعد از تنش اکسیداتیو نشان داده است. گلوپاتیون‌ها شدن از طریق مکانیسم‌های غیرآنزیمی رخ داده ولی مکانیسم عکس آن یعنی دگلوپاتیون‌ها شدن به واسطه فوق خانواده داکسی ردوکتاز تیوردکسین به نام گلوپاردوکسین‌هایی مانند GrxS12 و GrxC5 به کمک  $H_2O_2$  به عنوان احیا کننده انجام می‌گیرد. چرخه گلوپاتیون‌ها شدن و دگلوپاتیون‌ها شدن وابسته به گلوپاردوکسین به چرخه GD معروف است. این چرخه می‌تواند به عنوان مکانیسم پاک‌سازی ROS عمل کند (سید رحمانی و معالی امیری ۱۳۹۳). راندمان باززایی گیاهان از جنین‌های آندروژنیک نیز با محافظت در برابر تنش اکسیداتیو و سم‌زدایی مرتبط می‌باشد (مونز-آماترین و همکاران، ۲۰۰۶). وضعیت اکسایش/ احیا سلول‌ها و محتوای گلوپاتیون نقش مهمی در فرآیندهای نموی، به خصوص در راه‌اندازی تقسیم سلولی دارند (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a). گلوپاتیون یک بافر مهم گیاهی است که در غلظت میلی مولار در سیتوزول و کلروپلاست وجود دارد. در شرایط طبیعی، گلوپاتیون به فرم احیا شده (GSH) وجود دارد و این فرم گلوپاتیون در سمیت زدایی بسیاری از ترکیبات از جمله ROS-ها (از طریق چرخه گلوپاتیون-آسکوربات) مشارکت دارد و میزان گلوپاتیون اکسید شده (GSSG) به واسطه فعالیت گلوپاتیون ردوکتاز وابسته به NADPH در کم‌ترین مقدار ممکن خواهد بود. علاوه بر این نقش تازه‌ای برای گلوپاتیون مشخص شده که در تنظیم اکسایش/ احیا، حفاظت و سیگنال‌دهی از طریق گلوپاتیون‌ها شدن و دگلوپاتیون‌ها شدن پروتئین‌های اختصاصی هدف نقش دارد. اولین نقش حفاظتی گلوپاتیون‌ها شدن علیه تنش اکسیداتیو می‌باشد. دستگاه فتوسنتزی کلروپلاست یک منبع عمده تولید کننده ROS در شرایط تنش اکسیداتیو می‌باشد و چندین بخش از پروتئوم کلروپلاست دارای سیستئین واکنش پذیر و در دسترس می‌باشند. علاوه بر شکل فضایی در دسترس، عامل مهم دیگر تعیین کننده واکنش پذیری

سیستئین، وضعیت اسیدیته یا دپروتونه شدن<sup>۱</sup> می‌باشد. در بعضی موارد این واکنش پذیری برای فعالیت کاتالیتیکی پروتئین ضروری می‌باشد. سیستئین فعال یا واکنش پذیر در برابر ROSها بسیار حساس بوده و دستخوش تغییرات اکسایشی برگشت پذیر سولفونیک و برگشت ناپذیر سولفونیک اسید می‌شود. گلووتاتیون شدن، که از طریق واکنش گلووتاتیون با سولفونات‌های پروتئین انجام می‌شود، یک مکانیسم عمومی برای حفاظت سیستئین‌های فوق حساس تحت شرایط تنش می‌باشد. مطالعات پروتئومیکسی در جهت شناسایی تعداد زیادی از پروتئین‌های گلووتاتیون شده که از مولکول‌های اکسیدان مانند H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> برای تحریک گلووتاتیون شدن استفاده می‌کنند، انجام شده است. زمانی که پروتئین در جایگاه سیستئین فعال، گلووتاتیون شد به طور موقت فعالیت خود را از دست می‌دهد اما بعد از رفع تنش، به کمک یک سری از آنزیم‌ها مانند گلووتاردوکسین فعالیت خود را دوباره به دست می‌آورد که تأیید کننده نقش حفاظتی گلووتاتیون شدن دنباله‌های سیستئین پروتئین در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌باشد. سیستئین ۱۴۹ گلیسرآلدهید ۳- فسفات دهیدروژناز (GAPDH) در کلروپلاست مثالی از سیستئین فعال بوده که به اکسیداسیون بسیار حساس است. دنباله سیستئین ۱۴۹ برای فعالیت آنزیم ضروری بوده و با پیوند کووالانسی به پیش‌ماده به یس فسفوگلیسرات متصل می‌شود. به دلیل آن که این سیستئین بسیار فعال بوده به اکسیداسیون به وسیله H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> نیز حساس می‌باشد. در اولین مرحله اکسیداسیون سولفونیک اسید (-SOH) تشکیل شده و در مراحل بعد ممکن است منجر به تشکیل سولفونیک اسید (-SO<sub>2</sub>H) و سولفونیک اسید (SO<sub>3</sub>H) شود. واکنش سریع سولفونیک سیستئین ۱۴۹ با گلووتاتیون از اکسیداسیون برگشت ناپذیر آن جلوگیری کرده و اجازه بازیابی پروتئین فعال را در مراحل بعد می‌دهد. GAPDH گلووتاتیون شده کاملاً غیر فعال است اما در حضور شبه گلووتاردوکسین GrxS12 سریعاً فعال می‌شود. چنین نتایج مشابهی در بررسی ایزوسیترات لیاز کلامیدوموناس به دست آمد

---

1- Deprotonation

که نشان می‌دهد گلوکاتیوننه شدن می‌تواند روشی مؤثر برای حافظت دنباله‌های سیستئین پروتئین‌های خاص علیه اکسیداسیون باشد (سید رحمانی و معالی امیری، ۱۳۹۳).

#### ۴-۱-۳-۱۶- پروتئین اتوفاگوسیتوز شبه AUT1

ژن کد کننده پروتئین اتوفاگوسیتوز شبه AUT1 با ژن بازدارنده *Bax1* (*BI-1*) هم‌بیان می‌باشد. اتوفاگوسیتوز (اتوفاژی) فرایندی است که در آن اجزای سیتوپلاسمی به طور غیرانتخابی درون یک وزیکول دولایه قرار گرفته و به واکوئل یا لیزوزوم برای تخریب مواد سمی‌شان و به گردش درآوردن دوباره مواد مغذی، هدایت می‌شوند. رابطه ROS و اتوفاژی با مرگ سلول از مدت‌ها پیش شناخته شده و شواهد نشان داده‌اند ROS و اتوفاژی در سیگنال‌دهی و سازگاری به تنش‌ها نقش مهمی ایفا می‌کند. اتوفاژی مانند یک فرایند کاتابولیکی به سلول‌های یوکاریوتی اجازه می‌دهد ترکیبات موجود در اندامک‌ها تحت تنش‌های محیطی دوباره به گردش درآیند که این تجزیه و به گردش درآمدن ماکرومولکول‌ها، منابع ضروری (اسیدهای آمینه، لیپیدها و قندها) را برای سازگاری موقت سلول‌ها به شرایط نامساعد فراهم می‌کند. همچنین اتوفاژی جهت تجزیه مواد آسیب دیده یا سمی که در اثر تجمع ROSها در شرایط اکسیداتیو تولید می‌شوند، نیز ضروری می‌باشد (سید رحمانی و معالی امیری، ۱۳۹۳). فرایند اتوفاگوسیتوز (اتوفاژی) نوعی مرگ برنامه‌ریزی شده سولی و یک فرایند تخریبی می‌باشد که طی تکامل حفظ شده و در کلیه یوکاریوت‌ها، ژن‌های مرتبط با اتوفاژی شناسایی شده است. بعضی از پروتئین‌های اتوفاژی نقش عملکردی دارند و بقیه در تنظیم این فرایند دخالت دارند. تجمع پروتئین‌های تانخورده<sup>۱</sup> و بدتاخورده<sup>۲</sup> در شبکه آندوپلاسمی (ER) سیگنال نیرومندی است که بیان چاپرون‌ها و پروتئین‌های درگیر در هموستازی را القا می‌کند که به سیگنال‌دهی پاسخ به

---

1- Unfolded  
2- Misfolded

پروتئین‌های تانخورده (UPR) معروف است. بخشی از پاسخ سلول به تنش شبکه آندوپلاسمی، انتقال پروتئین‌های بدتاخورده به درون سیتوزول و نشان‌دار کردن با یوبی کوئیتین و سپس تجزیه به وسیله پروتئوزوم می‌باشد، که تخریب به واسطه ER خوانده می‌شود. تنش ER، القاء کننده قوی اتوفازی محسوب شده که این سیگنال از مخمر تا پستانداران حفاظت شده است. استفاده از عامل تنش‌زای ER مانند تونیکامایسین، که مهارکننده گلیکوزیلاسیون متصل به N می‌باشد به‌طور موثری پاسخ اتوفازی را مانند تنش‌ها فعال می‌کند. با توجه به نقش ضروری تشکیل پیوندهای دی سولفیدی در تاخوردگی پروتئین‌های ترشحی و غشایی و نقش  $H_2O_2$  در تشکیل پیوندهای دی‌سولفیدی، تاخوردن پروتئین‌ها در ER یک فرایند وابسته به اکسایش/احیا می‌باشد. مطالعات انجام شده رابطه بین تنش ER و تولید ROS را نشان داده‌اند و مکانسیم مولکولی تشکیل ROS در طی UPR شناسایی شده است. این مسیر شامل حضور اکسیدوردوکتازهایی مانند  $Ero1$ <sup>1</sup> در لومن ER می‌باشند که تولید  $H_2O_2$  می‌کنند. در پاسخ به تنش ER سلول‌ها با به‌کارگیری فرایند اتوفازی برای حذف پروتئین‌های بدتاخورده و مولکول‌های مضر مانند ROS و با متعادل کردن توسعه ER به وسیله مکانسیم UPR در دوره بهبودی<sup>2</sup>، بقای سلول را افزایش می‌دهند. بنابراین اتوفازی یکی از مکانسیم‌های اولیه در تخریب مولکول‌های اکسید شده می‌باشد. همچنین اتوفازی در حذف اندامک‌های تولید کننده ROS نیز فعالیت دارد. زمانی که تولید ROS در گیاه بالا باشد و مکانسیم‌های آنزیمی و آنتی اکسیدان‌ها نتوانند از عهده حذف ROSها برآیند، سلول طی فرایند اتوفازی اندامک‌های عمده تولید کننده ROS را هدف قرار داده و آنها را تخریب می‌کنند تا هموستازی اکسایش/احیا در سلول برقرار شود (سید رحمانی و معالی امیری، ۱۳۹۳).

---

1- Endoplasmic reticulum oxidoreductin 1  
2- Recovery phase

#### Bcl-2-associated athanogene 7 (BAG7) - ۱۷-۳-۱-۴

ژن *BAG7* از گروه ژن‌های هم بیان *RAB GTPase* آرابیدوپسیس می‌باشد. خانواده <sup>۱</sup>*BAG* گروهی از چاپرون‌های همراه<sup>۲</sup> حفاظت‌شده چندعملکردی می‌باشند که اعمال سلولی مختلفی اعم از تکثیر تا توقف رشد و مرگ سلولی را در مخمر، پستانداران و گیاهان انجام می‌دهند. خانواده *BAG* دارای ناحیه C-terminal BAG domain (BD) حفاظت‌شده (۱۱۰-۱۳۰ اسیدآمین) می‌باشند که به‌عنوان پروتئین‌های رابط<sup>۳</sup> یا چاپرون‌های همراه و چاپرون‌های مولکولی (پروتئین برهمکنش کننده با Hsc70, Hsp70) عمل می‌کنند (ویلیامز و همکاران، ۲۰۱۰). اعضای از خانواده Hsp در شروع آندروژنز توسط گرما و گرسنگی، و نیز در طول آغاز جنین‌زایی سوماتیکی توسط اکسین بیان بالایی دارند. این نتایج نشان می‌دهد که بیان بالای Hsp ممکن است با کسب پتانسیل جنین‌زایی میکروسپور مرتبط باشد. Hsp ها از طریق کنترل سلولی پروتئین‌های تنظیمی مهم و تحمل دما نقش مهمی را در شروع آندروژنز ایفا می‌کنند (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۵a). بیان Hsc70 نقش مهمی در باززایی گیاهان سبز از جنین‌های هاپلوئید دارد (مونز-آماترین و همکاران، ۲۰۰۹). ژنوم آرابیدوپسیس حاوی هفت همولوگ از خانواده *BAG* می‌باشد که ژن‌های *AtBAG4* و *AtBAG6* در فرآیندهای PCD، شامل فرآیندهای القا شده توسط حمله پاتوژن، تنش غیرزیستی و نمو نقش دارند و بنابراین با ژن‌های *BAG* پستانداران شباهت عملکردی دارند. *AtBAG7* شبکه آندوپلاسمی از اجزای مهم مسیر ER-PCD<sup>۴</sup> (UPR) در طول سازش به تنش‌های غیرزیستی (مقاومت به گرما و سرما) می‌باشد و برای حفظ سیگنال‌دهی پاسخ به پروتئین‌های تانخورده (UPR) و محافظت سلولی ضروری می‌باشد (ویلیامز و همکاران، ۲۰۱۰).

#### NagB/RpiA/CoA transferase-like پروتئین بالاخانواده - ۱۸-۳-۱-۴

- 
- 1- Bcl-2-associated athanogene
  - 2- Co-chaperones
  - 3- Adapter proteins
  - 4- Endoplasmic Reticulum-Programmed Cell Death

پروتئین NagB یک پروتئین متصل‌شونده به GTP است که در کلروپلاست، سیتوپلاسم و کمپلکس eIF2B<sup>1</sup> قرار داشته و در تنظیم فعالیت متابولیکی سلول و شروع ترجمه نقش دارد. این پروتئین بیشترین شباهت را با پروتئین eIF2B (AT1G53900) در آرابییدوپسیس دارد (TAIR's GO Annotations). eIF2B یک پروتئین چندزیرواحدی است که برای شروع سنتز پروتئین و تنظیم آن در تمام سلول‌های یوکاریوتی لازم می‌باشد. eIF2B هدف کنترل ترجمه‌ای توسط مکانیسم‌های مختلف مخصوصاً در پاسخ به تنش سلولی است و بنابراین عامل محدودکننده مهمی برای ترجمه است. فاکتور eIF2 به شکل متصل به GDP از ریبوزوم آزاد می‌شود. تشکیل کمپلکس سه‌گانه مستلزم جایگزینی GDP با GTP است که به کمک eIF2B صورت می‌پذیرد. eIF2B عامل تبادل نوکلئوتید گوانین<sup>2</sup> برای eIF2 است و بنابراین eIF2-GDP غیرفعال را به eIF2-GTP فعال تبدیل می‌کند. eIF2-GTP تشکیل‌شده پایدار نیست مگر اینکه Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup> برای تشکیل کمپلکس سه‌گانه به آن متصل شود. این فعال‌سازی توسط فسفوریلاسیون زیرواحد آلفا eIF2 مهار می‌شود. پروتئین کینازهای مختلفی در پاسخ به تنش‌های مختلف فعال می‌شوند که اسید آمینه سرین (Ser<sup>51</sup>) را در دومین انتهای آمینی (N-terminal) زیرواحد آلفا eIF2 فسفریله می‌کند. در هنگام کمبود آهن یا هم، پروتئین کینازی به نام بازدارنده ترجمه تحت کنترل هم<sup>3</sup> (HRI) فعال شده و فسفریلاسیون eIF2 را کاتالیز می‌کند. در شکل فسفریله، eIF2 به eIF2B اتصال یافته که منجر به تشکیل کمپلکس eIF2B- $\alpha$  eIF2B-P-GDP-eIF2B پایداری می‌شود و بنابراین از شروع ترجمه ممانعت می‌کند (پاویت، ۲۰۰۵).

#### ۴-۱-۳-۱۹- پروتئین شبه متالوتیونین ۲

متالوتیونین‌ها<sup>۴</sup> پروتئین‌های غنی از سیستئین با وزن مولکولی پایین (۶ تا ۷ کیلودالتون) و با قابلیت اتصال به یون‌های فلزی هستند و سنتزشان معمولاً توسط غلظت این یون‌ها تنظیم می‌شود

---

1- Eukaryotic initiation factor 2B  
 2- Guanine nucleotide exchange factor  
 3- Haem-regulated inhibitor of translation  
 4- Metallothionein

(ریچارد و پالمی تر، ۱۹۹۸). وجود گروه‌های سولفیدریل، فعالیت متالوتیونین‌ها را تعیین می‌کند. این پروتئین‌ها عملکردهای متنوعی مانند خنثی‌سازی اثر سمی فلزات و خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. این پروتئین‌ها در پاسخ به آلودگی فلزات سنگین مانند جیوه، کادمیوم، مس و روی سنتز می‌شوند. در واقع این پروتئین‌های سلولی به طور طبیعی به یون‌های دو ظرفیتی مثل Zn، Cu و Cd متصل می‌شوند. متالوتیونین‌ها در مواجهه با تنش با کنترل میزان محصولات ROS نقش مؤثری دارد و خاصیت نوکلئوفیلی ایجاد شده در این پروتئین‌ها، آن‌ها را قادر می‌سازد که به گونه‌های فعال اکسیژن متصل شده و آن‌ها را از محیط خارج کنند. با افزایش بیان ژن متالوتیونین، افت فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن حاصل و در پی آن خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو کاهش می‌یابد. این پروتئین‌ها عملکرد و بیوسنتز پروتئین‌های متصل‌شونده به فلز روی را تنظیم می‌کنند. این پروتئین‌ها در تمایز سلولی و آپوپتوز نیز نقش دارند (واساک و هاسلر، ۲۰۰۰). در گندم، ژن متالوتیونین برچسب‌دار سیستمین اولیه (*EcMt*) در پاسخ به ABA بیان می‌شود و به‌عنوان یک نشانگر کسب پتانسیل جنینی شناسایی شده است، که نقش ABA را در القا آندروژنز نشان می‌دهد (ماراشین و همکاران، ۲۰۰۶).

#### ۴-۱-۳-۲۰- پروتئین بالاخانواده SNARE-like

این پروتئین بیشترین شباهت را با پروتئین خانواده زنجیر کوچک کمپلکس آداپتور کلاترین<sup>۱</sup> (AT4G35410) در آرابییدوپسیس دارد و در حمل و نقل پروتئین درون سلولی و اندوسیتوز نقش دارد. این پروتئین در کمپلکس آداپتور AP2، دستگاه گلژی و پوشش کلاترینی وزیکول<sup>۲</sup> وجود دارد (TAIR's GO Annotations). کمپلکس آداپتور AP2 در اندوسیتوز به‌واسطه کلاترین نقش دارد و پلی‌فسفواینوزیتیدها<sup>۳</sup> را به هم متصل می‌کند (رُسی و همکاران، ۲۰۰۴). انتقال پروتئین‌ها در مسیر ترشحی سلول‌های یوکاریوتی به‌وسیله وزیکول‌های انتقالی صورت می‌گیرد که اکثر آن‌ها دارای یک پوشش پروتئینی هستند. وظیفه اصلی پوشش پروتئینی دخالت در تشکیل وزیکول بر روی غشاها و

---

1- Clathrin adaptor complex small chain family protein  
2- Clathrin vesicle coat  
3- Polyphosphoinositides



همچنین شناسایی و حمل مولکول‌های انتقالی می‌باشد. وزیکول‌های پوشش‌دار کلاترینی در غشای پلاسمایی و شبکه ترانس گلژی تشکیل می‌شوند و در انتقال پروتئین در سیستم غشایی آندوزومی سلول دخالت دارند. لایه بیرونی پوشش این وزیکول‌ها از کلاترین تشکیل می‌شود که از طریق کمپلکس آداپتور به غشا متصل می‌گردد (پیرز و همکاران، ۲۰۰۰).

#### ۴-۱-۳-۲۱- پروتئین حاوی دومین لانگین<sup>۱</sup>

لانگین‌ها تنها R-SNARE‌های مشترک در تمام یوکاریوت‌ها هستند که در تنظیم حمل و نقل درون سلولی نقش دارند. R-SNARE‌ها براساس داشتن دومین کوتاه یا دومین بلند شامل دو پروتئین هستند: VAMP‌های کوتاه (پروتئین‌های غشایی وابسته به وزیکول یا Brevins) و VAMP‌های بلند (Longin) که دومین بلند حفاظت‌شده ۱۴۰-۱۲۰ اسید آمینه‌ای در انتهای آمینی‌شان می‌باشند. این دومین‌ها برای تنظیم حمل و نقل غشا ضروری هستند و بسیاری از عملکردهای بیوشیمیایی پیش‌بینی نشده را از طریق ویژگی‌های پروتئین- پروتئین و اتصال درون مولکولی وساطت می‌کنند (رُسی و همکاران، ۲۰۰۴).

#### ۴-۱-۳-۲۲- پروتئین حاوی دومین ناحیه مرتبط با YbaK/پرولیل-tRNA سنتتاز

پرولیل-tRNA سنتتازهای (ProRS) باکتریایی و برخی از پارالوگ‌های کوچک‌تر (YbaK) و ProX می‌توانند Cys-tRNA<sup>Pro</sup> یا Ala-tRNA<sup>Pro</sup> به اشتباه آسپل‌دارشده را هیدرولیز کنند. سطح بالای آمینواسیل-tRNA (aa-tRNA) مبنای سنتز طبیعی پروتئین می‌باشد. تشکیل aa-tRNA توسط آمینواسیل-tRNA سنتتازها کاتالیز می‌شود که به‌طور انتخابی یکی از ۲۰ اسیدآمینه را به tRNA هم‌جنس متصل می‌کند. این آنزیم‌ها اختصاصیت زیاد اسیدآمینه را در تمییز دادن بین اسیدآمینه‌های بسیار مشابه متحول کرده‌اند. نقش کنترل کیفیت این فرآیندها، واکنش‌های تصحیحی هستند که tRNA به اشتباه آسپل‌دارشده را (مثلاً Val-tRNA<sup>Ile</sup>) هیدرولیز می‌کنند. نواحی معینی

1- Longin domain containing protein

(مناطق درجی حاوی یک جایگاه تصحیح) در بسیاری از آمینواسیل-tRNA سنتتازها با این عملکرد در هر دو کلاس tRNA سنتتاز I و II مرتبط می‌باشند. موقعی که این عملکرد تصحیح در سلول دچار نقص باشد، aa-tRNA های به اشتباه آسیل‌دار شده باعث اتصال اشتباه اسیدهای آمینه به پروتئین‌ها می‌شوند و ممکن است باعث کاهش رشد سلول شوند. ProRS دارای یک دومین تصحیح درونی می‌باشند. *proX* و *ybaK*، همولوگ‌های دومین درجی ProRS هستند که در ژنوم وجود دارد. ژن *ybaK* به‌طور مستقلی در تعداد زیادی از ژنوم‌های باکتریایی کد می‌شود، در صورتی که *proX* عمدتاً در ژنوم یوکاریوتی یافت می‌شود. ساختار بلوری پروتئین YbaK در *Haemophilus influenzae* با ساختار پیش‌بینی‌شده دومین درجی ProRS شباهت دارد. آزمایشات این‌ویترو نشان می‌دهد که پروتئین‌های ProX و YbaK عناصر تصحیح‌کننده ترانس هستند که قادر به هیدرولیز Cys-tRNA<sup>Pro</sup> و Ala-tRNA<sup>Pro</sup> (گونه‌های aa-tRNA سنتز شده توسط ProRS) به اشتباه آسیل‌دار شده این‌ویترو می‌باشند. آنزیم YbaK در *H. influenzae* (در غلظت ۲۱ میکرومولار) Cys-tRNA<sup>Pro</sup> و Ala-tRNA<sup>Pro</sup> را هیدرولیز می‌کند در حالی که پروتئین ProX در *Clostridium sticklandii* (در غلظت ۰/۳ میکرومولار) Ala-tRNA<sup>Pro</sup> را هیدرولیز می‌کند (روآن و سل، ۲۰۰۵).

#### ۴-۱-۳-۲۳- سوپراکسید دیسموتاز

تجمع ROS های تولید شده در شرایط تنش به بسیاری از ترکیبات سلولی نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و نوکلئیک اسیدها صدمه می‌زند، محتوی کلروفیل برگ کاهش می‌یابد و در نتیجه پراکسیداسیون چربی‌ها غشاهای سلولی آسیب می‌بینند (جباری و همکاران، ۱۳۸۵). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD, EC 1.15.1.1) با تبدیل O<sub>2</sub> به H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> از سمیت آنیون سوپراکسید کاسته و سپس پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) تجمع یافته در محیط مستقیماً توسط کاتالاز (CAT)، گلووتاتیون پراکسیداز (GPX) و پراکسیداز (POX) تجزیه و سم‌زدایی می‌شود (طایفی نصرآبادی و همکاران، ۱۳۸۹).

#### ۴-۱-۳-۲۴- کاتالاز

کاتالاز (CAT, EC 1.11.1.6) آنزیمی است که در تمام موجودات زنده از جمله سلول‌های گیاهی، جانوری و میکروارگانیسم‌های هوازی یافت شده و به عنوان یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث تجزیه  $H_2O_2$  به آب و اکسیژن می‌شود. در گیاهان، آنزیم کاتالاز در اندامکی به نام پراکسیزوم قرار دارد و نقش مهمی را در حذف  $H_2O_2$  تولید شده به وسیله فرآیندهایی همچون  $\beta$ -اکسیداسیون اسیدهای چرب، اکسیداسیون در حین تنفس نوری و انتقال الکترون در زنجیره تنفسی میتوکندری‌ها ایفا می‌کند. (طایفی نصرآبادی و همکاران، ۱۳۸۹).

کاتالاز در مقاومت به خشکی و به تعویق انداختن پیری نقش دارد. تنش خشکی باعث ایجاد اختلال در سیستم‌های آنزیمی فرونشاندۀ گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد که این امر منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی و در نتیجه خسارت به غشای سلولی و تخریب رنگدانه‌ها می‌گردد. کاهش فعالیت این آنزیم معمولاً به عنوان کاهش توانایی برگ‌ها برای تجزیه  $H_2O_2$  در نظر گرفته می‌شود. غیرفعال‌سازی نوری این آنزیم نشانه ایجاد تنش نوری در گیاه بوده که معمولاً با بازداری نوری فتوسیستم دو همراه است و سرآغاز اثرات سوء تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی است که عامل تجمع  $H_2O_2$  و خسارت به غشاهای سلولی است. همبستگی مثبت بین فعالیت کاتالاز در شرایط خشکی با میزان کلروفیل b و میزان کل کلروفیل نقش این آنزیم را در فرونشاندن اثرات سوء  $H_2O_2$  نشان می‌دهد (جباری و همکاران، ۱۳۸۵).

#### ۴-۱-۳-۲۵- پراکسیداز

پراکسیداز (POX, EC 1.11.1.7) یک اکسیدوردوکتاز است که در سیتوزول و کلروپلاست قرار دارد و باعث تجزیه  $H_2O_2$  می‌گردد. پراکسیداز در مقاومت به خشکی و گرما، مقاومت به شوری، مقاومت به پاتوژن‌ها و توسعه سلولی نقش دارد. در شرایط تنش خشکی فعالیت پراکسیداز نسبت به شرایط کنترل در گندم افزایش می‌یابد و میزان این افزایش در ژنوتیپ‌های مقاوم گندم بیش از

ژنوتیپ‌های حساس می‌باشد. در نتیجه، ارقام مقاوم به خشکی شاخص پایداری کلروفیل بیشتری دارند و خسارت وارده بر غشای سلولی آن‌ها نیز کمتر است (جباری و همکاران، ۱۳۸۵).

#### ۴-۱-۳-۲۶- هم پراکسیداز

هم پراکسیداز آنزیم‌های حاوی هم هستند که از هیدروژن پراکسید به عنوان پذیرنده الکترون برای کاتالیز واکنش‌های اکسیداتیو استفاده می‌کنند.

فریتین (یک پروتئین ۲۴ زیرواحدی با وزن مولکولی ۴۵۰ کیلودالتون) نقش مهم و اساسی در ذخیره آهن دارد به طوری که می‌تواند حداکثر ۴۵۰۰ یون فریک<sup>۱</sup> ( $Fe^{3+}$ ) را در درون ساختار خود ذخیره کند. گزارش‌هایی مبنی بر قابلیت اتصال فریتین به گروه هم وجود دارد. مجموعه مذکور به نوعی جایگاه فعال پراکسیداز را بازسازی می‌کند و دارای خاصیت پراکسیدازی می‌باشد. فعالیت پراکسیدازی فریتین در حضور و عدم حضور هم تغییر می‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که فریتین به تنهایی فاقد فعالیت پراکسیدازی و هم به تنهایی دارای فعالیت پراکسیدازی بسیار پایینی است ولی بعد از اتصال به یکدیگر و ایجاد کمپلکس هم- فریتین فعالیت پراکسیدازی و آنتی اکسیدانی قابل توجهی را بروز می‌دهند که در حفاظت از تنش اکسیداتیو نقش دارد (رنجبر و همکاران، ۱۳۹۱).

#### ۴-۱-۳-۲۷- فسفولیپید هیدروپروکسید گلوتاتیون پراکسیداز

مطالعات نشان می‌دهد که آنزیم‌های واجد بخش پروتئینی تیول دارای نقش مهمی در واکنش به رادیکال‌های فعال اکسیژن هستند. از مهم‌ترین این آنزیم‌ها گلوتاتیون پراکسیداز است. این آنزیم آنتی اکسیدانی قوی برای حفاظت غشا در مقابل تنش اکسیداتیو و ایجاد تعادل بین رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد. شواهد روشنی دال بر تأثیر غلظت  $H_2O_2$  بر میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز وجود دارد. در آزمایشی بر روی موتانت‌های فاقد فعالیت نسبی آنزیم کاتالاز (آنزیم کاهش‌دهنده  $H_2O_2$ )، فزونی غلظت  $H_2O_2$  در موتانت‌های مورد مطالعه با افزایش غلظت آنزیم

---

1- Ferric

گلوکاتایون پراکسیداز همراه بود. در یک آزمایش تکمیلی محلول پاشی ترکیبات ممانعت کننده فعالیت آنزیم کاتالاز بر روی برگ گیاهان جو، سویا و تنباکو با افزایش میزان  $H_2O_2$  منجر به بالا رفتن میزان غلظت و فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز گردید. از دیگر فعالیت‌های ژن گلوکاتایون پراکسیداز نقش آن در القای فعالیت چرخه اسید گلی‌اکسیلیک در روند تبدیل اسیدهای چرب به قند و تولید انرژی سلولی است. با توجه به نقش غشا سلولی در تبادل انتخابی مواد و یون‌ها، مکانیزم‌های حفاظتی و نقش گلوکاتایون پراکسیداز در حفاظت غشا سلولی در شرایط تنش و جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌های غشایی بسیار مهم می‌باشد. بر این اساس، اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون چربی‌های غشایی در شرایط تنش به عنوان شاخص مقاومت مورد توجه است (نواب پور، ۱۳۹۱).

#### ۴-۱-۳-۲۸- اسید چرب دساچوراز ۲ (*FAD2*)

اسیدهای چرب غیراشباع، از اجزاء اصلی تشکیل دهنده غشاهای زیستی در موجودات زنده می‌باشند که در پاسخ‌های گیاهی به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و انتقال پیام سلولی نقش دارند. به عنوان مثال، در محیط سرد، موجود زنده برای حفظ وضعیت خود، ابتدا ترکیبات و ساختار غشا را تغییر می‌دهد. تغییر در ترکیبات غشای پلاسمایی، با تبدیل اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع توسط آنزیم دساچوراز صورت گرفته که به این صورت باعث حفظ سیالیت و عملکرد مناسب غشاء دو لایه‌ای می‌شوند. عمل غیراشباع‌سازی اسیدهای چرب<sup>۱</sup> طبق فرایندی صورت می‌گیرد که در طی آن، باندهای دوگانه کربن-کربن در نقاط ویژه‌ای به زنجیره‌های اسیل آلیفاتیک اضافه می‌گردد. در گیاهان سنتز اسیدهای چرب غیراشباع در پلاستیدها و در خلال یکسری از واکنش‌های تغلیظ<sup>۲</sup> شروع می‌شود که در غشای پلاستیدها یا شبکه آندوپلاسمی ادامه یافته و نهایتاً منجر به تجمع اسیدهای چرب غیراشباع می‌گردد. اسید چرب دساچوراز ۲ (*FAD2*) آنزیم اصلی سنتز اسیدهای چرب ۱۸:۲ مانند لینولئیک اسید ( $LA, C_{18:2}$ ) در شبکه آندوپلاسمی است و حاوی موتیف‌های حفاظت‌شده غنی از

---

1- Desaturation  
2- Condensing

اسیدآمین هیسیتیدین است که در برهمکنش با سیتوکروم b5 دخیل هستند (کاظمی شاهاندشتی، معالی امیری و امید، ۱۳۹۰). دومین سیتوکروم b5 تأمین کننده الکترون است و موتیف‌های غنی از هیسیتیدین به عنوان محل اتصال لیگاند اتم‌های آهن به این نوع آنزیم‌ها عمل می‌کنند (شکری و همکاران، ۱۳۹۰).

#### ۴-۱-۳-۲۹- فایتوئین دساچوراز<sup>۱</sup> (PDS)

ژن فایتوئین دساچوراز آنزیم فایتوئین دساچوراز (فایتوئین دهیدروژناز) را کد می‌کند که دساچوراسیون فایتوئین به زتا-کاروتن را در طول بیوسنتز کاروتنوئید کاتالیز می‌کند. کاروتنوئیدها گروه متنوعی از رنگیزه‌های طبیعی هستند که در گیاهان، باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها یافت می‌شوند. در گیاهان عالی، این رنگدانه‌ها در فرایندهای متعددی از قبیل فتوسنتز، تحمل تنش نوری و حرارتی و تولید هورمون آبسزیک اسید دخالت دارند. آنزیم PDS عامل دهیدروژنه کردن ماده بی‌رنگ فایتوئین و تبدیل آن به لیکوپین<sup>۲</sup> می‌باشد. جهش در ژن PDS از طریق تغییر بیان ژن‌های دخیل در مسیرهای متابولیکی از جمله مهار اکثر ژن‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل، کاروتنوئید و جیبرلین (GA<sub>3</sub>) منجر به فنوتیپ آلبینو و کوتاه قدی در آرابیدوپسیس می‌شود. مقدار زیادی فایتوئین در موتانت *pds3* تجمع می‌یابد و نمو کلروپلاست در مرحله پروپلاستید در موتانت *pds3* متوقف می‌شود. افزایش GA<sub>3</sub> می‌تواند تا حدی فنوتیپ کوتاه قدی را نجات دهد که نشان‌دهنده این است که فنوتیپ کوتاه قدی موتانت *pds3* ممکن است به علت کمبود GA باشد (کین و همکاران، ۲۰۰۷).

#### ۴-۱-۳-۳۰- ترانسلوکاز غشا داخلی ورودی میتوکندریایی، زیرواحد Tim17/22

عبور پروتئین از غشای خارجی و داخلی میتوکندری توسط ترانسلوکازهای چند زیرواحدی انجام می‌شود و نیروی محرکه برای جابجایی از عرض غشا داخلی توسط پروتئین شوک حرارتی ۷۰

---

1- Phytoene desaturase  
2- Lycopene

واقع در ماتریکس<sup>۱</sup> (mtHsp70) فراهم می‌شود. آن دسته از پروتئین‌های موجود در غشای خارجی میتوکندری که در گرفتن و عبور پروتئین از آن غشا نقش دارند به اختصار Tom<sup>۲</sup> و آن‌هایی که در غشای داخلی قرار دارند Tim<sup>۳</sup> نامیده می‌شوند (بوری و همکاران، ۲۰۰۴). دو ترانسلوکاز اختصاص‌یافته غشای درونی (کمپلکس‌های TIM: TIM22 و TIM23)، اتصال پروتئین‌ها به غشای درونی را در حالت وابسته به پتانسیل غشا به عنوان تنها منبع انرژی میانجی‌گری می‌کنند و یا آن‌ها را در حالت وابسته به پتانسیل غشا و ATP، به ماتریکس انتقال می‌دهند. اعداد کمپلکس‌ها نشان‌دهنده وزن مولکولی آن‌ها است. پروتئین انتقالی برای اتصال به غشای داخلی و تبدیل به قطعات ترانس‌ممبران، پس از خروج از کمپلکس TOM به کمپلکس TIM22 تحویل داده می‌شود. اجزای کمپلکس اینتگرال غشایی TIM22، شش بار از غشا گذشته و هسته آن متشکل از Tim22، Tim54 و Tim18 است که منفذ کمپلکس TIM22 را جز مرکزی آن (Tim22) تشکیل می‌دهد و همولوگ Tim17 و Tim23 می‌باشد و به غشای داخلی با چهار مارپیچ ترانس‌ممبران، که کانالی را برای ورود سوبستراهای پلی‌پپتیدی تشکیل می‌دهد، متصل می‌شود (صادقی و همکاران، ۱۳۹۲). در ادامه mtHsp70 که برای انتقال باقی‌مانده پروتئین از عرض غشای داخلی مورد نیاز است به پروتئین انتقالی متصل می‌شود و همانند یک موتور و با صرف ATP، پروتئین انتقالی موجود در کانال غشای داخلی را به درون ماتریکس می‌کشد. پس از آن که پروتئین انتقالی وارد ماتریکس شد، توالی نشانه واقع در انتهای آمینی آن نیز توسط نوعی پروتئاز بریده و جدا می‌شود و از پروتئین mtHsp70 میتوکندریایی نیز جدا می‌شود. در نهایت، پروتئین انتقالی تا خورده و ساختار سه‌بعدی خود را پیدا می‌کند (بوری و همکاران، ۲۰۰۴). نقص‌های عملکردی در کمپلکس‌های میتوکندریایی که ورود کلاس‌های مشخص پروتئین‌ها را از طریق مسیرهای مختلف میانجی‌گری می‌کنند، می‌تواند علت

---

1- Matrix heat shock protein 70

2- Translocases of the outer mitochondrial membrane

3- Translocases of the innner mitochondrial membrane

مکانیسم‌های بیماری‌زایی نامشخص انواع خاصی از اختلالات میتوکندریایی باشد (صادقی و همکاران، ۱۳۹۲).

#### ۴-۱-۳-۳۱- پروتئین انگشت روی نوع Zim17

Zim17 یک پروتئین ضروری در ورود پروتئین به میتوکندری بوده و درای موتیف انگشت روی<sup>۱</sup> می‌باشد. فقدان Zim17 ورود پروتئین به ماتریکس میتوکندری را کاهش می‌دهد. Tim14/Pam18 و Tim44 شرکای<sup>۲</sup> Zim17 هستند، بنابراین، فقدان Zim17 تاحدی توسط افزایش بیان J- پروتئین Pam18/Tim14 جبران می‌شود.

کمپلکس PAM از Pam18/Tim14، Pam16/Tim16، Tim44، mtHsp70 و Mge1 تشکیل شده که هسته این کمپلکس، چاپرون mtHsp70 است که نیروی محرکه ورود یک‌طرفه و جهت‌دار به ماتریکس را با هزینه ناشی از هیدرولیز ATP ایجاد می‌کند. Pam18/Tim14 محرک فعالیت ATPase ی mtHsp70 در طی ورود پروتئین به ماتریکس میتوکندری می‌باشد. آداپتور Tim44، زیرواحد سازمان‌یافته موتور ورود است که با هسته Tim17-Tim23 کمپلکس TIM23 و mtHsp70 واکنش می‌دهد. mtHsp70 از طریق پروتئین آداپتور Tim44 با کمپلکس TIM23 در یک حالت وابسته به ATP مرتبط است. تعویض ADP با ATP، در mtHsp70، توسط فاکتور تعویض‌کننده نوکلئوتید، Mge1، انجام می‌شود (بوری و همکاران، ۲۰۰۴).

#### ۴-۱-۴- ژن‌های هم‌بیان مشترک بین آرابیدوپسیس و برنج

نتایج این تحقیق نشان داد که بسیاری از ژن‌های هم‌بیان با ژن‌های مسیر القا جنین‌زایی میکروسپور بین آرابیدوپسیس و برنج مشترک می‌باشند (جدول ۴-۶). این ژن‌های هم‌بیان مشترک متعلق به

---

1- Zinc finger motif  
2- Partners



گروه‌های عملکردی بازدارنده مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، پروتئولیز، متابولیسم لیپید و اسیدهای آمینه، پاسخ به تنش، رونویسی و پیام‌رسانی می‌باشند. در ادامه بررسی شده است که آیا این ژن‌های هم‌بیان مشترک، عناصر تنظیمی مشترکی نیز در نواحی پرموتری‌شان دارند.

جدول ۴-۶- فهرست ژن‌های هم‌بیان مشترک بین آرابیدوپسیس و برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At1g11910	آسپارتیک پروتئیناز A1
Os05g0567100	آسپارتیک پروتئیناز اوریزاسین ۱
Os11g0183900	آسپارتیک پروتئیناز Asp1
At1g11650	پروتئین متصل شونده به RNA (موتیف‌های RRM/RBD/RNP)
Os11g0637700	RNP-1 متصل شونده به RNA
Os08g0412200	ناحیه RNP-1 متصل شونده به RNA (موتیف شناسایی RNA)
At4g29010	خانواده انول کوآنزیم آ هیدراتاز/ ایزومراز
Os01g0925200	پروتئین شبه انول کوآنزیم آ هیدراتاز
At3g48170	آلدهید دهیدروژناز 10A9
At3g48000	آلدهید دهیدروژناز 2B4
Os01g0591000	آلدهید دهیدروژناز وابسته به نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید
At1g09430	ATP سترات لیاز A-3
At1g60810	آدنوزین تری فسفات- سترات لیاز A-2
Os07g0577700	آدنوزین تری فسفات- سترات لیاز/ سوکسینیل- کوآنزیم آ لیگاز
At4g01610	پروتئین بالا خانواده سیستئین پروتئیناز
At4g39090	سیستئین پروتئیناز خانواده Papain
At1g02300	پروتئین بالا خانواده سیستئین پروتئیناز
Os04g0311400	سیستئین پروتئیناز ۱
Os08g0556900	سیستئین پروتئیناز
At1g11680	سیتوکروم P450
Os10g0525000	سیتوکروم P450
Os01g0627400	سیتوکروم P450 مونواکسیژناز CYP72A5
Os07g0647200	سیتوکروم P450
At5g53900	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین WNK
At3g15240	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین WNK
Os07g0622000	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین فعال شده با تنش اسمزی/ اسید آسبیزیک
Os09g0513600	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین PBS1
Os07g0150700	سرین/ ترئونین کیناز
At5g04420	پروتئین بالا خانواده گالاکتوز اکسیداز

ادامه جدول ۴-۶- فهرست ژن‌های هم‌بیم‌باشک بین آراییدوپسیس و برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At2g02870	پروتئین بالا خانواده تکرار گالاکتوز اکسیداز/ kelch
Os03g0258900	گالاکتوز اکسیداز، مرکزی
At5g20060	پروتئین بالا خانواده آلفا/ بتا هیدرولاز ها
At3g05120	پروتئین بالا خانواده آلفا/ بتا هیدرولاز ها
At5g27320	پروتئین بالا خانواده آلفا/ بتا هیدرولاز ها
At4g02340	پروتئین بالا خانواده آلفا/ بتا هیدرولاز ها
Os07g0685500	آلفا/ بتا هیدرولاز
Os09g0520200	آلفا/ بتا هیدرولاز
Os05g0363100	آلفا/ بتا هیدرولاز
Os06g0132500	آلفا/ بتا هیدرولاز
At3g12610	پروتئین خانواده تکرار غنی از لوسین (LRR)
Os10g0376200	تکرار غنی از لوسین
Os11g0515500	پروتئین پاسخ به مهارکننده انتقال ۱ (پروتئین تکرار جعبه F/ تکرار غنی از لوسین)
At3g20410	پروتئین کیناز دومین کالمودولین ۹
At2g11520	سیتوپلاسمیک کیناز شبه گیرنده متصل به کالمودولین ۳
Os04g0284900	متصل شونده به کالمودولین گیاهی
Os01g0279300	کالمودولین ۱
Os12g0578300	متصل شونده به کالمودولین گیاهی
Os05g0491100	کالمودولین
At4g17260	پروتئین خانواده لاکتات/ ملات دهیدروژناز
Os03g0773800	ملات دهیدروژناز، گلی‌اکسی‌زومال (mbNAD-MDH)
At3g28480	اکسیژناز وابسته به اگزوگلوپارات/ آهن
Os08g0480200	پروتئین بالا خانواده ۲- اگزوگلوپارات - Fe(II) اکسیژناز
Os01g0830500	۲- اگزوگلوپارات - آهن (II) اکسیژناز
At1g53850	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E1
At3g22110	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد C1
At3g14290	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E2
At1g56450	20S پروتئازوم بتا زیرواحد G1
At3g22630	20S پروتئازوم بتا زیرواحد D1

ادامه جدول ۴-۶- فهرست ژن‌های هم‌بیان مشترک بین آرابیدوپسیس و برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At4g14800	20S پروتئازوم بتا زیرواحد D2
Os01g0811100	پروتئازوم زیرواحد آلفا نوع ۳ (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد G)
Os02g0133800	پروتئازوم زیرواحد آلفا نوع ۱ (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد F)
Os02g0770000	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۱
Os03g0180400	زیرواحد آلفا نوع ۶ پروتئازوم (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد A)
Os03g0695600	زیرواحد بتا نوع ۲ پروتئازوم (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد D)
Os05g0187000	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۲
Os05g0490800	زیرواحد آلفا نوع ۳ پروتئازوم (زیرواحد G آلفا 20S پروتئازوم)
Os06g0643100	زیرواحد نوع ۳ بتا پروتئازوم (زیرواحد C آلفا 20S پروتئازوم)
Os09g0515200	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۷
Os11g0615700	20S پروتئازوم زیرواحد آلفا نوع ۵ (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E)
Os02g0770000	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۱
Os03g0180400	پروتئازوم زیرواحد آلفا نوع ۶ (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد A)
Os03g0387100	20S پروتئازوم زیرواحد آلفا ۲
Os05g0187000	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۲
Os06g0153800	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۵
Os09g0505600	پروتئازوم زیرواحد بتا نوع ۱ (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد F)
At5g09900	زیرواحد تنظیم‌کنندگی 26S پروتئازوم (RPN5)
At4g24820	26S پروتئازوم، زیرواحد تنظیم‌کنندگی Rpn7
At1g09100	26S پروتئازوم آدنوزین تری فسفاتاز AAA زیرواحد RPT5B
Os01g0267200	زیرواحد تنظیم‌کنندگی غیر ATPase 26S پروتئازوم ۱۴
Os02g0803700	همولوگ زیرواحد 6A تنظیمی 26S پروتئاز (همولوگ پروتئین متصل به TAT)
Os03g0243300	زیرواحد ۴ تنظیمی غیر ATPase 26S پروتئازوم متصل به مولتی‌یوبی کوئیتین
Os05g0371200	زیرواحد ۱۴ تنظیمی غیر ATPase 26S پروتئازوم
Os06g0192600	زیرواحد AAA آدنوزین تری فسفاتاز ذرات تنظیم‌کنندگی 26S پروتئازوم
Os07g0435100	زیرواحد RPN12 پروتئازوم 26S
Os06g0192600	آدنوزین تری فسفاتاز AAA ذرات تنظیم‌کنندگی 26S پروتئازوم زیرواحد ۱
Os01g0267200	زیرواحد ۱۴ تنظیم‌کنندگی غیر آدنوزین تری فسفاتاز 26S پروتئازوم
Os01g0316800	زیرواحد DSS1 مجموعه 26S پروتئازوم

ادامه جدول ۴-۶- فهرست ژن‌های هم‌بیان مشترک بین آرآبیدوپسیس و برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os02g0803700	همولوگ زیرواحد 6A تنظیمی 26S پروتئازوم (همولوگ پروتئینی متصل به TAT)
Os05g0371200	زیرواحد ۱۴ تنظیم کننده غیر آدنوزین تری فسفاتاز 26S پروتئازوم
Os07g0691800	26S پروتئازوم زیرواحد AtRPT2a
At5g16440	ایزوپنتنیل دی فسفات ایزومراز
Os05g0413400	ایزوپنتنیل دی فسفات ایزومراز ۱
At1g47830	پروتئین بالا خانواده شبه SNARE
Os08g0440000	v-SNARE واسطه مسیر انتقال وزیکول
At5g47120	بازدارنده (BI-1) Bax1
Os02g0125300	بازدارنده (BI-1) Bax1
At3g57090	پروتئین بالا خانواده شبه ترا تریکوپیتید (TPR)
Os05g0383000	مارپیچ شبه تتراتریکوپیتید
At1g18210	پروتئین خانواده EF-hand متصل به کلسیم
Os06g0609600	EF-Hand
Os03g0769500	EF-Hand
Os09g0483500	پروتئین خانواده EF-hand متصل به کلسیم
At2g30950	خانواده FtsH پروتئاز خارج سلولی
At1g50250	FtsH پروتئاز ۱
Os06g0669400	FtsH پروتئاز (VAR2)، پروتئاز وابسته به روی
Os02g0649700	پپتیداز M41، FtsH خارج سلولی
At1g49970	پروتئاز CLP۱ زیرواحد پروتئولیتیک
Os02g0634500	زیرواحد پروتئولیتیک Clp پروتئاز وابسته به ATP (Clp اندوپپتیداز)
At3g27820	مونو دهیدروآسکوربات ردوکتاز ۴
At3g52880	مونو دهیدروآسکوربات ردوکتاز ۱
Os02g0707100	مونو دهیدروآسکوربات ردوکتاز، ایزوآنزیم گیاهچه
At5g06130	پروتئین چاپرون dnaJ
Os07g0626400	پروتئین چاپرون dnaJ
At5g44000	پروتئین خانواده گلوکاتیون S- ترانسفراز
At3g62760	پروتئین خانواده گلوکاتیون S- ترانسفراز
Os04g0435500	گلوکاتیون S- ترانسفراز، انتهای آمینی

ادامه جدول ۴-۶- فهرست ژن‌های هم‌بیان مشترک بین آرابیدوپسیس و برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os12g0210200	گلوتاتیون S- ترانسفراز ۱۸
Os08g0558200	گلوتاتیون S- ترانسفراز، انتهای آمینی
Os10g0525400	گلوتاتیون S- ترانسفراز ۳۱ (GSTU31)
At1g78140	پروتئین بالا خانواده متیل ترانسفراز های وابسته به S- آدنوزیل-L- متیونین
Os06g0244000	کربوکسیل متیل ترانسفراز وابسته به S- آدنوزیل-L- متیونین
At5g27280	پروتئین انگشت روی نوع Zim17
Os07g0501900	انگشت روی
Os12g0631200	انگشت روی، نوع حلقه
Os03g0854100	پروتئین ZIGA2 حاوی انگشت روی شبه ARF GAP
Os02g0195600	انگشت روی، نوع A20
Os09g0511500	انگشت روی، نوع حلقه
Os01g0343300	انگشت روی، نوع GATA
Os09g0243200	انگشت روی، نوع حلقه
At4g05150	پروتئین خانواده Octicosapeptide/Phox/Bem1p
Os12g0594300	پروتئین کیناز حاوی دومین Octicosapeptide/Phox/Bem1p
At5g66880	پروتئین کیناز مرتبط با ساکارز غیر تخمیری ۱ (SNF1)
Os07g0236800	پروتئین غیر تخمیری ساکارز ۷ (Snf7)
At3g16740	جعبه F و دومین‌های برهمکنش وابسته حاوی پروتئین
Os01g0647000	جعبه F شبه سیکلین
Os07g0195300	جعبه F شبه سیکلین
Os11g0155100	جعبه F شبه سیکلین
Os11g0515500	پروتئین پاسخ به مهارکننده انتقال ۱ (پروتئین تکرار جعبه F/ تکرار غنی از لوسین)
At3g55450	شبه PBS1
Os09g0513600	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین PBS1

#### ۴-۱-۵- شناسایی عناصر تنظیمی مشترک در مجموعه ژن‌های هم‌بیان

ارزیابی نتایج حاصل از نرم‌افزار Motif sampler توسط نرم‌افزار Signal Scan بانک اطلاعاتی PLACE انجام شد و نقش کارکردی موتیف‌ها مشخص گردید. نتایج تجزیه و تحلیل پروموتور مجموعه ژن‌های هم‌بیان آرابیدوپسیس و برنج در مجموع ۴۷ موتیف مختلف را مشخص نمود که بین ژن‌های اصلی و ژن‌های هم‌بیان آن‌ها مشترک بودند (جدول ۴-۷). این موتیف‌های تنظیمی مشترک شامل موتیف‌های پاسخ‌دهنده به نور (جدول ۴-۸)، موتیف‌های مسئول دفاع گیاهی (جدول ۴-۹)، موتیف‌های پاسخ‌دهنده به تنش‌های غیر زیستی (جدول ۴-۱۰) و سایر عناصر (جدول ۴-۱۱) بودند. وجود هر یک از موتیف‌ها در مجموعه ژن‌های هم‌بیان با علامت (+) نشان داده شده است.

وجود عناصر دخیل در تنش‌های زیستی و به‌ویژه غیر زیستی تأییدی بر نقش این ژن‌ها در تنش مانیتول است. نتایج تجزیه و تحلیل توالی پروموتور نشان داد که موتیف‌های دخیل در ایجاد مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی در این ژن‌ها وجود داشته که باعث ایجاد مقاومت می‌گردد. وجود عناصر مسئول دفاع گیاهی شامل عنصر پاسخ به اتیلن، عنصر پاسخ به اکسین، عنصر اختصاصی اندام<sup>۱</sup>، عنصر پاسخ به پاتوژن و عنصر پاسخ به جاسمونیک اسید در پروموتور ژن‌های مورد بررسی، نقش این ژن‌ها را در دفاع گیاه در برابر تنش‌های زیستی و وجود عناصر پاسخ به نور، خشکی، سرما، آبسزیک اسید، جیبرلیک اسید، گرسنگی قندی، پرولین و اسمولاریتی کم، شرایط بی‌هوایی و شوری نقش آن‌ها را در پاسخ به تنش‌های غیر زیستی نشان می‌دهند. در ادامه به بررسی برخی از این موتیف‌ها می‌پردازیم.

#### ۴-۱-۵-۱- موتیف‌های پاسخ‌دهنده به نور

گیاهان عالی دارای سیستم بیوشیمیایی پیچیده‌ای شامل سه گروه گیرنده نوری برای درک و پاسخ به نور می‌باشند: فیتوکروم‌ها، گیرنده‌های نور آبی و گیرنده‌های اشعه ماوراءبنفش. پاسخ‌های

---

1- Organ-specific element

نوری فرآیندهای متعددی شامل نمو کلروپلاست، گل‌دهی و نمو بذر، ریتم‌های شبانه‌روزی، نورگرایی و غیره را تحت تأثیر قرار می‌دهند (ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰). موتیف 10 promoter- در پروموتور ژن *psbD* کلروپلاست جو یافت شده است و کد کننده پروتئین متصل‌شونده به مرکز واکنش فتوسیستم II کلروفیل می‌باشد و با نور آبی، سفید و UV-A فعال می‌شود (تام و همکاران، ۲۰۰۱).

موتیف I-box در پروموتور ژن *rbcS* گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) و آرابیدوپسیس یافت شده است (دونالد و کاشمر، ۱۹۹۰) و محل اتصال *LeMYB1* گوجه‌فرنگی (از اعضای گروه جدیدی از پروتئین‌های myb-like) می‌باشد (رز و همکاران، ۱۹۹۹).

موتیف Tbox در پروموتور ژن *GAPB* آرابیدوپسیس یافت شده است. ژن *GAPB* کد کننده زیرواحد B گلیسر آلدهید-۳-فسفات دهیدروژناز (GADPH) می‌باشد. جهش در Tbox منجر به کاهش رونویسی ژن فعال شده با نور می‌شود (چان و همکاران، ۲۰۰۱).

موتیف G-box در پاسخ به نور نقش دارد (سیسا و همکاران، ۱۹۹۵؛ لیز-اچوآ و همکاران، ۲۰۰۷). علاوه بر این، عنصر پاسخ‌دهنده به آبسزیک اسید (ABRE) نیز نمونه‌ای از یک سیس المنت گسترده حاوی توالی هسته  $G\text{-box} [(C/A)ACG(T/C)G(T/C/G)]$  می‌باشد. مطالعات جهش و حذف در پروموتورهای حاوی ABRE نشان می‌دهد که اگرچه G-box برای عملکرد ژن‌های حاوی ABRE ضروری است اما برای تشخیص سیگنال ABA کافی نیست. G-box به همراه سایر سیس المنت‌ها در اعطای پاسخ‌دهی به ABA و در جلب عامل رونویسی عمومی تری که به همراه پروتئین‌های تنظیمی اختصاصی برای فعالیت RNA پلیمراز II عمل می‌کند نقش دارد (ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰).

GT1-motif (GGTTAA) محل اتصال عامل پروتئین هسته‌ای GT-1 نخود (*Pisum sativum*)

به box II ژن *rbcS* می‌باشد و با توالی‌های لازم برای فعال‌سازی رونویسی وابسته به نور ژن *rbcS-3A* مرتبط می‌باشد (گرین و همکاران، ۱۹۸۸).



موتیف Box A یکی از سه موتیف (Box L و Box A, Box P) ژن‌های فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL; EC 4.3.1.5) گیاه جعفری است و در پاسخ‌دهی به الیسیاتور یا نور نقش دارد. این عناصر برای فعال‌سازی ژن PAL توسط نور ضروری‌اند اما کافی نیستند (لاگیمان و همکاران، ۱۹۹۵).

#### ۴-۱-۵-۲- موتیف‌های مسئول دفاع گیاهی

برخی از موتیف‌های شناسایی‌شده در این تحقیق مانند عناصر پاسخ به اکسین، جاسمونیک اسید، پاتوژن و شوری (GT1-motif)، پاتوژن و اتیلن (GCC box)، الیسیاتور قارچی و غیره مسئول بیان ژن‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌باشند.

اکسین نقش مهمی در فرآیندهای سلولی و نموی گیاهان مانند تقسیم سلولی، طویل شدن سلولی، تمایز سلولی، تشکیل ریشه، غالبیت انتهایی، گرایش<sup>۱</sup> و پیری دارد (ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰). رویدادهای مولکولی اولیه برای روشن کردن عمل اکسین مشخص کرده است که این هورمون تغییرات خاص و سریعی را در ارتباط با بیان ژن القا می‌کند و در این راستا چندین ژن پاسخ‌دهنده به اکسین شناسایی شده است. از جمله بیشترین موارد مشخص‌شده ۳ خانواده ژنی SAUR، GH3 و AUX/IAA هستند که به سرعت در پاسخ به اکسین القا می‌شوند. TGTCTC و CATATG در ابتدا در عنصر NDE پروموتور ژن SAUR 15A (Small Auxin-Up RNA) سویا شناسایی شد به طوری که پس از تیمار کمی از اکسین تجمع سریع رونوشت‌ها را در پی داشت (لی و همکاران، ۱۹۹۴).

عناصر پاسخ‌دهنده به اکسین آرابیدوپسیس (AuxRE) با توالی TGTCTC در پروموتور ژن‌های با پاسخ زود به اکسین<sup>۲</sup> (ژن‌هایی که سریعاً و گذرا در ظرف ۲-۵/۰ ساعت توسط سلول‌ها در پاسخ به محرک محیطی بیان می‌شوند) و در عنصر D1 و D4 پروموتور GH3 سویا وجود دارد (لئو و همکاران، ۱۹۹۴). توالی ACTTTA جایگاه اتصال NtBBF1 (پروتئین Dof توتون) در ژن *Agrobacterium rolB* *rhizogenes* است و برای بیان اختصاصی بافت و القا اکسین لازم می‌باشد (بومن و همکاران، ۱۹۹۹).

1- Tropism

2- Primary/early auxin response genes

یکی از مولکول‌های مهم پیام‌رسانی تنش در گیاهان متیل جاسمونات (MeJA) می‌باشد. عنصر MeJA در نواحی تنظیمی ۵' بسیاری از ژن‌های پاسخ‌دهنده به زخم و پاتوژن در گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای یافت می‌شود. جاسمونات‌ها (جاسمونیک اسید و متیل استر آن، MeJA) اثرات فیزیولوژیکی فراوانی مانند افزایش پیری برگ، مهار جوانه‌زنی بذر، القا افزایش پروتئین‌های ذخیره‌ای گیاهی و افزایش mRNA های کد کننده پروتئین‌های فراوان اواخر جنین‌زایی در گیاهان دارد. MeJA باعث القا بیان آنزیم‌هایی مانند مهارکننده پروتئیناز PI-2، لیپوکسیژناز و پروتئین‌های غنی از پرولین می‌شود که در مکانیسم‌های دفاع شیمیایی گیاهان دخیل می‌باشند (ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰). موتیف T/G-box مسئول القای جاسمونات در ژن‌های *pin2* (proteinase inhibitor II) گوجه فرنگی و *LAP* (Leucine aminopeptidase) می‌باشد. پروتئین‌های *bHLH-Leu zipper JAMYC2* و *JAMYC10* قادر به تشخیص موتیف T/G-box می‌باشند (بوتر و همکاران، ۲۰۰۴).

GT1 motif با توالی GAAAAA در پروموتور ایزوفرم CaM سویا (*SCaM-4*) یافت شده است و در بیان ژن *SCaM-4* در پاسخ به پاتوژن و شوری نقش دارد (پارک و همکاران، ۲۰۰۴). این موتیف در تمام مجموعه ژن‌های هم‌بیان بررسی شده در این تحقیق وجود دارد.

سیس‌المنت تنظیمی GCC-box با توالی GCCGCC یکی از مهم‌ترین توالی‌های تنظیمی شناخته شده در ناحیه پروموتوری ژن‌های پاسخ‌دهنده به پاتوژن مانند *PDF1.2*، *Thi2.1* و *PR4* می‌باشد که اثر اتیلن را در بیان ژن مدیریت می‌کند (سیسا و همکاران، ۱۹۹۵؛ بران و همکاران، ۲۰۰۳). اخیراً یافته‌های علمی حاکی از آن است که علی‌رغم اثر بازدارندگی اتیلن در مکانیسم‌های رشد و نمو، این هورمون می‌تواند به‌عنوان یک محرک در تقسیم سلولی ایفای نقش کند (لاو و همکاران، ۲۰۰۹). اتیلن یک هورمون گازی است که رشد و نمو گیاهان را تنظیم می‌کند. پیام‌رسانی اتیلن نقش مهمی در پاسخ گیاهان به برخی از تنش‌های زنده (زخم و پاتوژن)، غیرزنده (خشکی و عدم تعادل اسمزی) و شرایط محیطی (رسیدگی میوه و پیری) دارد. پاسخ گیاهان به اتیلن با تغییرات

چشمگیری در بیان ژن همراه است و عناصر پاسخ‌دهنده به اتیلن (ERE) حفاظت‌شده در نواحی ۵' این ژن‌ها محل اتصال عامل متصل‌شونده به عنصر پاسخ‌دهنده به اتیلن (ERF) هستند. ERE دارای یک موتیف ۸bp با توالی A(A/T)TTCAAA می‌باشد (ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰).

عنصر پاسخ‌دهنده به ایسیستور (EIRE) توالی توافقی عناصر W1 و W2 پروموتورهای PR1-1 و PR1-2 جعفری (*Petroselinum crispum*) می‌باشد. Box W1 و Box W2 به ترتیب محل اتصال WRKY1 و WRKY2 هستند. Box W1 ژن WRKY1 جعفری در پاسخ‌دهی به ایسیستور نقش دارد (راشتون و همکاران، ۱۹۹۶؛ اولگم و همکاران، ۱۹۹۹). ایسیستورها ترکیباتی با منشأ زیستی و یا غیرزیستی هستند که از طریق فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی باعث القای تشکیل متابولیت‌های ثانویه و پاسخ‌های فوق حساسیتی می‌شوند. به دنبال درک ایسیستور، پاسخ‌های دفاعی سریع در سلول گیاهی نظیر افزایش جریان‌ات یونی از عرض غشای پلاسمایی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، فعال‌سازی ژن‌های دفاعی مانند اتیلن، جاسمونیک اسید و سالیسیلیک اسید، تغییرات ساختاری در دیواره سلولی و سنتز فیتوآلکسین‌ها اتفاق می‌افتد (جو و همکاران، ۲۰۰۵).

#### ۴-۱-۵-۳- موتیف‌های پاسخ‌دهنده به تنش‌های غیر زیستی

برخی از موتیف‌های شناسایی‌شده در این تحقیق مانند عناصر پاسخ به اسید آبسزیک، پاسخ به جیبرلین، جایگاه اتصال عامل رونویسی MYC، پاسخ به شرایط بی‌هوایی، پاسخ به پرولین (PRE) و اسمولاریتی کم، پاسخ به کم آبی، پاسخ به سرما و هسته موتیف CRT/DRE و غیره مسئول بیان ژن در برابر تنش‌های غیر زیستی می‌باشند.

موتیف G-box (CACGTG) عنصر پاسخ‌دهنده به نور و اسید آبسزیک می‌باشد. سطح تولید اسید آبسزیک نقش کلیدی در پاسخ به برخی از تنش‌ها دارد. در واقع سطح اسید آبسزیک در گیاهان به طور گسترده‌ای در پاسخ به تغییرات محیطی، به ویژه تنش خشکی و شوری همواره تغییر

می‌کند (سکی و همکاران، ۲۰۰۷). تعداد زیادی از ژن‌هایی که در پاسخ به تنش دخیل می‌باشند، بیانشان به وسیله ABA افزایش یا کاهش می‌یابد (شینوزاکی و یاماگوچی - شینوزاکی، ۲۰۰۷).

جیبرلین هورمون گیاهی مهمی است که بسیاری از فرآیندهای نمو گیاهی شامل جوانه‌زنی بذر، توسعه برگ و طویل شدن ساقه‌ها، گلدهی و نمو بذر را کنترل می‌کند. جیبرلین از طریق سست کردن بافت‌هایی که جنین را احاطه کرده‌اند (آلورون و تستا) نقش مهمی را در تحریک جوانه‌زنی بذر ایفا می‌کند (ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰). مکانیسمی که در گیاهان به واسطه آن سیگنال جیبرلیک اسید (GA) درک شده و انتقال می‌یابد با استفاده از بیان اختصاصی آلورون مطالعه شده است. آنالیز تنظیم GA پروموتورهای آلفا-آمیلاز، سیس المنت‌های مستعد برای پاسخ‌دهی به جیبرلین را مشخص می‌کند. این سیس المنت‌ها شامل موتیف‌های GARE<sup>1</sup> (CCTTTT)، CARE<sup>2</sup> (CAACTC) و TATCCA می‌باشند. GARE تاندازه‌ای در مهار قند دخیل است و در پروموتور ژن آلفا-آمیلاز برنج (*RAmy1A*) (موریتا و همکاران، ۱۹۹۸) و آلفا-آمیلاز جو (*Amy2/32b*) در پاسخ به GA در لایه‌های آلورون القا می‌شود (منا و همکاران، ۲۰۰۲). CARE در پروموتور ژن سیستمین پروتئیناز برنج (*REP-1*) وجود دارد (ساتو و یاموچی، ۲۰۰۳). TATCCA در پروموتور ژن آلفا-آمیلاز برنج یافت می‌شود و جایگاه اتصال OsMYBS1، OsMYBS2 و OsMYBS3 می‌باشد که در تنظیم قندی و هورمونی بیان ژن آلفا-آمیلاز نقش دارند (لو و همکاران، ۲۰۰۲). موتیف TATCCAY در ژن آلفا-آمیلاز برنج (*RAmy3D*) مسئول مهار قند می‌باشد (تویوفوکو و همکاران، ۱۹۹۸).

CATGTG، CACATG و CACCTG جایگاه اتصال عامل رونویسی MYC می‌باشند (شینوزاکی و یاماگوچی - شینوزاکی، ۱۹۹۷). پروتئین‌های MYC پس از تجمع ABA داخلی ساخته می‌شوند که نشان‌دهنده نقش آن‌ها در مرحله آخر پاسخ به تنش است. بر اساس تجزیه و تحلیل ریزآرایه گیاهان تراریخته‌ای که MYC را بیشتر بیان می‌کنند مشخص شده است که ژن‌هایی مثل

---

1- Gibberellic acid responsive element  
2- CAACTC regulatory element

الکل دهیدروژناز و ژن‌های حساس به ABA یا جاسمونیک اسید (JA) ژن‌های هدف MYC هستند (شینوزاکی و یاماگوچی - شینوزاکی، ۱۹۹۶). بیان بیشتر ژن‌های AtMYC2 در بوته‌های تراریخته آرابیدوپسیس، سبب فنوتیپ حساسیت زیاد به ABA و بهبود تحمل تنش‌های اسموتیک می‌شود. عوامل رونویسی AtMYC2، اعضا یک سیستم تنظیم‌کننده حفاظت‌شده هستند که در گیاهان دولپه‌ای در فعال‌سازی ژن دفاعی حساس به جاسمونیک اسید نقش کلیدی ایفا می‌کند (استوکینگر و همکاران، ۱۹۹۷). بر اساس این نتایج، احتمال تداخل میان پیام‌رسانی تنش زنده و پیام‌رسانی تنش غیرزنده قوی‌تر می‌شود.

عنصر پاسخ‌دهنده به شرایط بی‌هوازی در مسیر تخمیر نقش دارد (موهانتی و همکاران، ۲۰۰۵) و به عنوان مثال در پروموتور ژن الکل دهیدروژناز ذرت قرار دارد. ژن‌های *ADH1* و *ADH2* در گیاه ذرت پروتئین‌های بی‌هوازی را کد می‌کنند. این ژن‌ها در شرایط غیر تنش خاموش بوده و یا دارای بیان بسیار پایینی هستند و رونویسی آن‌ها به محض قرارگیری در شرایط تنش کمبود اکسیژن<sup>۱</sup> فعال می‌شود (پل و فرل، ۱۹۹۱).

عنصر پاسخ‌دهنده به پرولین یا اسمولاریتی کم<sup>۲</sup> (PRE) در پروموتور ژن پرولین دهیدروژناز (*ProDH*) آرابیدوپسیس یافت شده است. هسته ۹-bp توالی ACTCATCCT برای بیان مؤثر ژن *ProDH* در پاسخ به L-پرولین و اسمولاریتی کم ضروری می‌باشد (ساتو و همکاران، ۲۰۰۲). PRE جایگاه اتصال ATB2 است. زیرگروه ATB2 عوامل رونویسی bZIP فعال‌کننده رونویسی ژن *ProDH* در شرایط اسمولاریتی کم می‌باشد (ساتو و همکاران، ۲۰۰۴).

#### ۴-۱-۵-۴- سایر عناصر شناسایی شده در مجموعه ژن‌های هم‌بیان

برخی دیگر از مهم‌ترین عناصر شناسایی شده در مجموعه ژن‌های هم‌بیان شامل TATA box، موتیف RY repeat، S1F box، سیگنال پلی A، موتیف هگزامر ژن‌های هیستون H3 و H4 گندم،

---

1- Hypoxia  
2- Hypoosmolarity

SEF3 motif، موتیف BS1، TGACGT motif، CPBCSPOR، تنظیم فیتوکروم، Q-element و غیره می‌باشد. در ادامه به شرح مختصر برخی از این موتیف‌ها می‌پردازیم.

TATA box در ناحیه بالادست ۵' ژن گلوتامین سنتتاز نخود (*Pisum sativum*) یافت شده است (تجدادن و همکاران، ۱۹۹۵). در ناحیه بالادست مکان شروع نسخه‌برداری، یک یا دو توالی کوتاه قرار دارد که در بسیاری از ژن‌های یوکاریوتی متداول است و در فرآیند معمول نسخه‌برداری دخالت دارد. در میان توالی‌های خاص، خصوصیات توالی جعبه TATA یا جعبه گلدبرگ هاگنس<sup>۱</sup> بیشتر از همه مشخص شده است. این توالی معمولاً در ناحیه ۲۵- تا ۳۰- نوکلئوتیدی در بالادست مکان شروع تمام ژن‌های گیاهی و جانوری قرار دارد. این توالی برای بیان صحیح ژن‌های یوکاریوتی مورد نیاز است (چاولا، ۱۳۸۲).

پروتئین‌های هسته‌ای (هیستون‌ها)، پروتئین‌هایی هستند که تحت تأثیر آنزیم‌های خاصی در سلول قرار می‌گیرند. این آنزیم‌ها اتصال یا انفصال گروه‌های فسفات و استیل بر روی هیستون‌ها را سبب می‌شوند. برای مثال در هیستون H4، اسیدآمینو انتهایی N- یک سرین است. گروه هیدروکسیل موجود بر روی این سرین در موارد خاص به وسیله یک پروتئین کیناز خاص، با یک گروه فسفات جایگزین می‌شود. این عمل باعث می‌شود که بار انتهایی N- هیستون H4 از +۱ به -۱ تغییر یابد. همچنین در ناحیه انتهایی N- هیستون H4 چهار اسیدآمینو لیزین قرار گرفته است. این چهار اسیدآمینو به وسیله یک آنزیم استیلاز خاص به طور قابل برگشت استیله می‌شوند. نهایتاً مجموع اعمال فسفریلاسیون و استیلاسیون انتهایی هیستون H4 باعث می‌شود که بار این قسمت از هیستون H4 از +۵ به -۲ تغییر یابد. این تغییر بار در اتصال DNA به هیستون و همچنین اتصال هیستون‌ها به همدیگر، تأثیر می‌گذارد و این تغییر خصوصیت هیستون H4 احتمالاً نقش اصلی تنظیمی بر روی همانندسازی و نسخه‌برداری دارد (امتیازی، ۱۳۸۶).

---

1- Goldberg Hogness box

موتیف RY repeat در RY/G box (مجموعه‌ای حاوی دو RY repeat و G-box) ژن *napA* کلزا یافت شده است و برای بیان ژن اختصاصی بذر لازم می‌باشد (ازکورا و همکاران، ۱۹۹۹؛ ۲۰۰۰).

موتیف RY repeat (CATGCAY) یا Legumin box در ناحیه ۵' ژن گلایسینین (*Gy2*) سویا (للیور و همکاران، ۱۹۹۲) و ژن‌های پروتئین ذخیره‌سازی بذر سویا وجود دارد (فوجی‌وارا و بیچی، ۱۹۹۴).

S1F box در ژن‌های *RPS1* و *RPL21* اسفناج (*Spinacia oleracea*) به ترتیب کد کننده پروتئین S1 و L21 ریبوزومی پلاستید می‌باشد. S1F box عنصری منفی بوده و در کاهش تنظیم پروموتور ژن‌های *RPS1* و *RPL21* نقش دارد (جو و همکاران، ۱۹۹۲؛ لاگرانج و همکاران، ۱۹۹۳).

موتیف BS1 در پروموتور ژن *CCR* (Cinnamoyl-CoA reductase) اکالیپتوس (*Eucalyptus gunnii*) وجود دارد و در بیان آوندی نقش دارد (لاکامب و همکاران، ۲۰۰۰).

موتیف CPBCSPOR توالی مهم برای اتصال پروتئین وابسته به سیتوکینین شرایط درون شیشه‌ای در ناحیه ۵' ژن *POR* (NADPH-Protochlorophyllide Oxidoreductase) در خیار (*Cucumis sativus* L.) می‌باشد (فوسادا و همکاران، ۲۰۰۵).

موتیف TGACGT در پروموتور ژن آلفا-آمیلاز (*Amy*) *Vigna mungo* یافت شده است و برای بیان سطح بالای آلفا-آمیلاز در کوتیلدون‌های بذور جوانه‌زده لازم می‌باشد (یاموچی، ۲۰۰۱).

موتیف SEF3 جایگاه اتصال عامل جنینی سویا (SEF3)، توالی توافقی یافت شده در بالادست ۵' ژن *beta-conglycinin* (*7S globulin*) می‌باشد (آلن و همکاران، ۱۹۸۹؛ لسارد و همکاران، ۱۹۹۱).

Q-element در پروموتور ژن *ZM13* دانه‌گرده ذرت (همولوگ ژن *LAT52* گوجه) قرار دارد و در افزایش بیان آن دخیل است (همیلتن و همکاران، ۱۹۹۸).

جدول ۴-۷- نقش کارکردی موتیف‌های شناسایی شده در مجموعه ژن‌های هم‌بیان

توالی موتیف	عملکرد موتیف	کد دسترسی
TATTCT	موتیف psbD کلروپلاست (تنظیم شده با نور)	S000392
TGTCTC	پاسخ به اکسین (ARF)	S000270
CACGTG	پاسخ به اسید آبسزیک (هسته G-box)، پاسخ به نور (G-box)، جایگاه اتصال CBF3	S000042
TATTAG	CPBCSPOR	S000491
GGTTAA	پاسخ به نور (GT-1 motif)	S000125
GAAAAA	پاسخ به پاتوژن و شوری (GT-1 motif)	S000453
CCGTCG	تنظیم کننده بیان ژن هیستون H4	S000146
CCGAAA	پاسخ به دمای پایین (LTRE-1) یا پاسخ به سرما	S000250
CATGTG	جایگاه اتصال عامل رونویسی MYC (تنظیم شده با خشکی)	S000413
CACATG	جایگاه اتصال عامل رونویسی MYC (پاسخ به اسید آبسزیک)	S000174
AAAGAT	اختصاصی گره ریشه، موتیف ژن NOD، القا بیان ریشه آلوده	S000461
ACTTTA	جایگاه اتصال NtBBF1 (پروتئین Dof)	S000273
AAAGAT	اختصاصی گره ریشه، موتیف ژن NOD، القا بیان ریشه آلوده	S000467
AATAAA	سیگنال پلی A	S000080
AATAAT	سیگنال پلی A	S000088
CCTTTT	پاسخ به جیبرلین (GARE) و مهار قند، جایگاه اتصال BPBF (P-box binding factor Barley)	S000259
CACCTG	جایگاه اتصال AtRAV1	S000315
TTATCC	اختصاصی جوانه جانبی (عنصر مهار قند)	S000470
TTATTT	TATA-box	S000203
TATCCA	پاسخ به جیبرلین و گرسنگی قند	S000403
TACGTA	(ACGTA box) (A-box)	S000130
GACGTC	(ACGTC box) (C-box)	S000131
CAACTC	پاسخ به جیبرلین (CARE-motif) (GARE)	S000421
TAACTG	پاسخ به تنش خشکی و اتصال به MYB	S000177



ادامه جدول ۴-۷- نقش کارکردی موتیف‌های شناسایی شده در مجموعه ژن‌های هم‌بیان

توالی موتیف	عملکرد موتیف	کد دسترسی
CCGTCC	مرتبط در فعال سازی مریستم، پاسخ به ایسیتور یا نور (Box A)	S000137
AACCAA	تنظیم فیتوکروم (REalpha) در پروموتور ژن <i>Lhcb21</i> ( <i>Lemna gibba</i> )	S000362
CATGCA	بیان اختصاصی بذر (RY repeat)	S000264
AACGTG	القا جاسمونات (T/G-box) (JARE)	S000458
ACTTTG	پاسخ به نور (T-box)	S000383
GATAAG	پاسخ به نور (I-box)	S000124
ACTCAT	پاسخ به پرولین (PRE) و اسمولاریتی کم	S000450
AACCCA	SEF3 motif	S000115
AGCAGC	موتیف پروموتور ژن‌های بی‌هوازی دخیل در مسیر تخمیری (ARE)	S000478
ATAGAA	موتیف یافت شده در پروموتور ژن <i>atpB</i> پلاستید (Box II)	S000296
AGCGGG	بیان آوندی (BS1)	S000352
ATGGTA	S1F box	S000223
AACGTT	(ACGTT box) T-box	S000132
ACGTCA	موتیف همگام‌رژن‌های هیستون H3 و H4 گندم	S000053
TGACGT	TGACGT motif	S000377
GTCGAC	پاسخ به دمای پایین (هسته موتیف CRT/DRE)	S000411
GCCGCC	هسته GCC-box در ژن‌های پاسخ به پاتوزن، پاسخ به اتیلن (ERE)	S000430
TGCAGG	نقطه اتصال پیوندهای اگزون-اینترون	S000086
CATATG	پاسخ به اکسین (ARF)	S000370
ACCGAC	پاسخ به کم آبی (تنظیم شده با اسید آبسازیک و خشکی)	S000402
AGGTCA	ژن <i>ZM13</i> دانه گرده ذرت	S000254
TTGACC	پاسخ به ایسیتور (EIRE)	S000142
CGGATA	تنظیم فیتوکروم (REbeta) در پروموتور ژن <i>Lhcb21</i> ( <i>Lemna gibba</i> )	S000363

جدول ۴-۸- موتیف‌های پاسخ‌دهنده به نور

شماره دسترسی ژن	-10 promoter element	G-box	پاسخ به نور (GT-1 motif)	T-box	I-box	Box A
At1g11910	+	+	+			
Os05g0567100		+		+		+
At1g16920	+				+	
Os06g0551400			+			
At1g30270	+				+	
Os07g0150700	+					+
At1g53850	+					
Os11g0615700	+	+				+
At1g77120	+	+	+			
Os11g0210500						
At2g30950	+		+	+	+	
Os06g0669400	+				+	+
At3g62760	+	+				
Os01g0371200		+	+		+	
At4g39090	+	+	+	+	+	
Os04g0311400	+		+	+		
At05g047120	+	+	+	+		+
Os02g0125300		+		+		
Os02g0205300		+				

جدول ۴-۹- موتیف‌های مسئول دفاع گیاهی

شماره دسترسی ژن	پاسخ به اکسین	پاسخ به آلودگی گره ریشه	جایگاه اتصال NtBBF1 (اختصاصی بافت، پاسخ به اکسین)	پاسخ به جاسمونیک اسید	پاسخ به پاتوزن و اتیلن (GCC-box)	پاسخ به پاتوزن و شوری (GT-1 motif)	پاسخ به الیسیتور قارچی
At1g11910	+	+	+			+	
Os05g0567100			+	+		+	
At1g16920		+	+			+	
Os06g0551400				+		+	
At1g30270		+				+	
Os07g0150700				+	+	+	
At1g53850	+		+			+	
Os11g0615700		+			+	+	
At1g77120		+	+			+	
Os11g0210500		+	+			+	
At2g30950						+	
Os06g0669400	+	+			+	+	
At3g62760	+	+	+		+	+	
Os01g0371200		+				+	
At4g39090	+	+	+			+	+
Os04g0311400						+	
At05g047120	+	+	+			+	
Os02g0125300		+	+			+	
Os02g0205300		+	+		+	+	

جدول ۴-۱۰- موتیف‌های پاسخ‌دهنده به تنش‌های غیرزیستی

شماره دسترسی ژن	پاسخ به ABA	جایگاه MYC	کم آبی	جایگاه MYB	جیبرلین جیبرلین و گرسنگی قند	جیبرلین و مهار قند (P-box)	مهار قند	سرما	هسته CRT/DRE	شوری (GT-1 motif)	پرولین	شرایط بی‌هوایی
At1g11910	+	+			+	+	+	+		+		
Os05g0567100	+			+	+	+	+			+		
At1g16920				+	+		+			+	+	
Os06g0551400				+	+					+	+	+
At1g30270		+		+		+	+			+		
Os07g0150700									+	+	+	
At1g53850									+	+		
Os11g0615700	+					+			+	+		+
At1g77120	+		+		+	+	+	+	+	+	+	
Os11g0210500		+			+	+				+	+	+
At2g30950		+	+		+	+				+		
Os06g0669400		+	+							+		+
At3g62760	+		+		+		+			+		
Os01g0371200	+	+				+		+		+	+	+
At4g39090	+				+		+			+		
Os04g0311400					+	+				+	+	
At05g047120	+			+	+	+	+			+	+	
Os02g0125300	+	+			+	+	+	+		+		
Os02g0205300	+	+			+	+	+			+		

جدول ۴-۱۱- سایر عناصر شناسایی شده در مجموعه ژن‌های هم‌بیان

شماره دسترسی ژن	بیان هیستون H4	سیگنال پلی A	اتصال AtRAV1	TATA box	SEF3 motif	S1F box	TGACGT motif	Q-element	تنظیم فیتوکروم	Box II	RY repeat	BS1	موتیف H4 و H3	CPBCSPOR
At1g11910	+	+	+	+										+
Os05g0567100		+		+					+		+			
At1g16920		+		+	+				+					+
Os06g0551400		+	+	+	+	+			+	+		+		+
At1g30270	+	+		+	+		+			+			+	+
Os07g0150700		+		+		+			+	+				+
At1g53850		+		+					+	+	+			
Os11g0615700		+	+		+				+					+
At1g77120		+		+					+					
Os11g0210500		+		+					+		+			
At2g30950		+		+					+	+	+			+
Os06g0669400		+	+		+	+			+	+				
At3g62760		+		+				+	+	+				
Os01g0371200	+	+	+	+		+	+		+				+	
At4g39090		+	+	+	+	+		+	+	+				+
Os04g0311400	+	+		+			+		+	+			+	+
At05g047120	+	+		+		+			+	+				+
Os02g0125300		+	+	+		+				+	+			+
Os02g0205300		+		+	+	+			+	+				

شناسایی سیس المنت‌های مشترک و متفاوت در پروموتر مجموعه ژن‌های هم‌بیان دخیل در جنین‌زایی میکروسپور در گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای می‌تواند کلید پاسخ به مسائل مهمی از قبیل علت سخت پاسخ‌دهی برخی ارقام تک‌لپه‌ای مثل ذرت به آندروژنز، حل مشکل آلینو در باززایی جنین‌های هاپلوئید غلات، ایجاد ارقامی با پاسخ‌دهی آسان به آندروژنز و غیره باشد تا در نهایت بتوان گیاهان تراریخته کاملاً هموزیگوس برای ژن انتقال‌یافته را باززایی نمود.

تعداد قابل‌توجهی از موتیف‌های شناسایی‌شده در پروموتر مجموعه ژن‌های هم‌بیان آرابیدوپسیس و برنج مشترک بودند که با آگاهی از این عناصر مشترک، شناسایی ژن‌های هم‌بیان واقعی در گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای و خوشه‌های ژنی مرتبط با یک مسیر مشترک متابولیسمی آسان خواهد شد. بهره‌گیری از این پروموترها در برابر بیمارگرهای گیاهی یکی از راهکارهای کارآمد در تولید گیاهان تراژن مقاوم به بیمارگرهاست. با حضور این پروموتراهای تنظیمی ژن‌های پاسخ‌دهنده به بیمارگر در زمان حمله بیمارگر القا خواهند شد و بار متابولیکی اضافی در زمان غیاب بیمارگر تحمیل نخواهد شد. با شناسایی عناصر تنظیمی اختصاصی پروموتر ژن‌ها در گیاهان مختلف امکان ساختن پروموتراهای مصنوعی قوی‌تر در برابر بیمارگرهای مختلف فراهم می‌شود. این پروموتراهای مصنوعی چندمنظوره دارای عناصر اختصاصی پاسخ به بیمارگرهای متنوعی هستند و در طیف وسیعی از این بیمارگرها القا می‌شوند. با توجه به اینکه موتیف‌های گوناگونی در پروموتر ژن‌های هم‌بیان وجود دارد می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که ژن‌هایی که عناصر پاسخ به تنش‌های مختلف را با هم در پروموتر خود دارند امکان پاسخ به تمام آن شرایط را دارند. بنابراین می‌توان با استفاده از مهندسی ژنتیک موتیف‌های اختصاصی را با هم ادغام کرد و در راستای تولید گیاهان تراریخت مقاوم به تنش‌های زیستی و غیر زیستی و همچنین گیاهانی که به‌طور هم‌زمان به چندین تنش مختلف پاسخ می‌دهند به کار گرفت.

وجود ژن‌های هم‌بیان با ژن‌های دخیل در جنین‌زایی میکروسپور، بیان این ژن‌ها در جنین و وجود عناصر تنظیمی مشترک بین ژن‌های دخیل در جنین‌زایی میکروسپور و مجموعه ژن‌های هم‌بیان‌شان نشان می‌دهد که این ژن‌ها می‌توانند کاندیدهای مهمی برای جنین‌زایی میکروسپور باشند اگرچه هنوز آنالیزهای بیشتری لازم است تا نقش این ژن‌ها را در جنین‌زایی میکروسپور اثبات کند.

در پژوهش حاضر، آنچه مورد توجه و تأکید قرار گرفت، پیدا کردن موتیف‌های مشترک در مجموعه ژن‌های هم‌بیان، تعیین نقش احتمالی هر یک از این موتیف‌ها و بررسی عملکرد ژن‌های هم‌بیان بود، چرا که این موتیف‌های مشترک می‌توانند در بررسی سریع‌تر ژن‌هایی که از نظر عملکردی و بیان در یک مسیر تنظیمی قرار دارند مورد استفاده قرار گیرند و به عنوان ژن‌های کاندید معرفی شوند. برای این منظور، تمامی موتیف‌های مشترک در مجموعه ژن‌های هم‌بیان آرابیدوپسیس و برنج با استفاده از ابزارهای موتیف یاب جستجو گردید. همچنین مطابق با نتایج، ژن‌های قرارگرفته در هر مجموعه هم‌بیان در مسیر تنظیم بیان ژن‌های آرابیدوپسیس و برنج با یکدیگر هم‌بیانی داشته و در واقع از یک الگوی بیان مشترک پیروی می‌کنند. به علاوه، انتظار می‌رود که ژن‌های هر مجموعه با یکدیگر دارای برهمکنش باشند که در روند بیان ژن‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد. همچنین با شناخت مسیرهای تنظیم ژنی می‌توان آن‌ها را به صورت نقشه‌هایی طراحی نمود. با به‌کارگیری این نقشه‌ها می‌توان به مقایسه مسیرهای تنظیم ژنی در شرایط جهش و بدون جهش پرداخته و ژن جهش‌یافته و همچنین مسیر تنظیمی تغییریافته را مشخص نمود. بررسی نحوه عملکرد ژن‌هایی که با یکدیگر هم‌بیان هستند باهدف شناخت وجود یا عدم وجود برهمکنش واقعی میان آن‌ها و تأثیر عملی وجود این ویژگی می‌تواند زمینه‌ای برای مطالعات آینده باشد.

#### ۳-۴- پیشنهادات

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی جایگاه‌های اتصال عوامل رونویسی کار دشواری است زیرا تمییز دادن سیس المنت‌های تنظیمی از الگوهای متن پروموتور مشکل است. دو رویکرد برای رفع این مشکل پیشنهاد شده است. در رویکرد اول، ژن‌های هم‌بیان به منظور جستجوی سیس المنت‌های تنظیمی مشترک انتخاب و مورد آنالیز قرار می‌گیرند. در رویکرد دوم از تکنیک Phylogenetic footprinting برای شناسایی جایگاه‌های اتصال عوامل رونویسی کاندید از نواحی حفاظت‌شده در هم‌ردیفی پروموتورهای ارتولوگ استفاده می‌شود. به طور کلی، حفاظت توالی بین گونه‌های مرتبط از لحاظ تکاملی به عنوان شاخصی برای زمان‌های کوتاه واگرایی<sup>۱</sup> و یا اهمیت عملکردی عناصر مربوطه مطرح شده است. واگرایی ناکافی توالی مشکل شدیدی را برای آنالیز Phylogenetic footprinting کلاسیک مبتنی بر هم‌ردیفی توالی‌ها ایجاد می‌کند که در نتیجه عناصر اختصاصی نمی‌توانند از عناصر غیراختصاصی مرزیابی شوند. نرم‌افزار PhyloCon برای ترکیب دو منبع اطلاعاتی هم‌بیانی و حفاظت توالی به منظور پیدا کردن موتیف‌های تنظیمی در توالی‌های بالادست پروموتور ژن‌های آراییدوپسیس و کلزا به کار برده می‌شود (وانگ و استورمو، ۲۰۰۳). PhyloCon برای کشف موتیف‌ها دو محور مستقل اطلاعاتی را مدنظر قرار می‌دهد: حفاظت یک موتیف بین پروموتورهای ارتولوگ و حضور بالای آن‌ها در مجموعه ژن‌های هم‌بیان. بنابراین پیشنهاد می‌شود که برای کشف موتیف‌های تنظیمی علاوه بر آنالیز هم‌بیانی و الگوریتم Motif sampler از رویکرد حفاظت توالی نیز استفاده شود.

آنالیز هم‌بیان سطح مسیر<sup>۲</sup> (PLC) برای شناسایی ژن‌هایی که با مجموعه ژن‌های مورد بررسی هم‌بیان هستند به کار می‌رود. در یک مطالعه به منظور شناسایی ژن‌های کاندید دخیل در مسیرهای متابولیکی و بیوسنتز دیواره سلول آنالیز PLC انجام شد و مشخص شد که ژن‌های شناسایی‌شده به‌عنوان ژن‌های هم‌بیان نه تنها با یک ژن بلکه با مجموعه ژن‌های فعال با یکدیگر اغلب کاندیدهای

---

1- Divergence

2- Pathway-Level Coexpression analysis



بهبتر و موفق‌تری برای آنالیز هستند (پرسون و همکاران، ۲۰۰۵؛ وی و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین پیشنهاد می‌شود که برای شناسایی همسایه‌های مشترک ژن‌های دخیل در جنین‌زایی میکروسپور و تعیین همبستگی بین ژن‌های مورد بررسی آنالیز PLC انجام شود.

به منظور بررسی ارتباط مسیرهای متابولیکی ژن‌های هم‌بیان به خصوص ژن‌هایی که دارای سپس‌المنت‌های مشترکی هستند می‌توان از نرم‌افزار MAP MAN استفاده نمود. این نرم‌افزار با نمایش دیتاست‌های ژنومیکس به صورت نمودارهای مسیرهای متابولیکی و سایر فرآیندهای بیولوژیکی، ارتباط ژن‌های هم‌بیان را بررسی می‌کند و می‌تواند تأییدی بر نتایج آنالیزهای هم‌بیان باشد.

تعیین پراکنش موتیف‌ها در نواحی پروموتری یک راه‌برد آماری است که تعداد هر یک از موتیف‌ها را در نواحی مختلف موجود در مثلاً ۱۰۰۰ جفت باز بالادست توالی پروموتری نشان می‌دهد. در واقع، این راه‌برد نشان می‌دهد که کدام عناصر با چه درصد پراکنشی در نواحی مختلف موجود در بالادست توالی پروموتر قرار دارند.

با توجه به اینکه داده‌های هم‌بیانی مبتنی بر آزمایشات ریزآرایه هستند و نتایج آزمایشات ریزآرایه از آزمایشی به آزمایش دیگر متفاوت است لذا استفاده از نرم‌افزارها و پایگاه‌های داده‌ای مختلف این فرصت را ایجاد می‌کند که نتایج آن‌ها با یکدیگر مقایسه شوند و نتایج دقیق‌تر انتخاب شوند.

## منابع:

- امتیازی، گ. (۱۳۸۶)، " مبانی زیست مولکولی و مهندسی ژنتیک " ویرایش دوم، چاپ دوم، انتشارات مانی، اصفهان، ص ۲۳.
- جباری، ف.، احمدی، ع.، پوستینی، ک. و علیزاده، ه. (۱۳۸۵)، " بررسی ارتباط فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت با پایداری غشای سلولی و کلروفیل در ارقام گندم نان مقاوم و حساس به تنش خشکی " *مجله علوم کشاورزی ایران*، شماره ۲، جلد ۱-۳۷: ص ۳۱۶-۳۰۷
- چاولا، اچ. اس. (۱۳۸۲)، " اصول بیوتکنولوژی گیاهی " فارسی، م. و ذوالعلی، ج.، چاپ سوم، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ص ۲۳۰-۲۲۹.
- حیدری جاپلقی، ر.، حداد، ر. و گروسی، ق. ع. (۱۳۸۹)، " بررسی و مقایسه خصوصیات بیوشیمیایی، ساختار مولکولی و روند تکامل ژنتیکی دو آیزوفرم تیوردوکسین نوع h از گیاه انگور عسکری (*Vitis vinifera* L. cv. Askari) " *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، شماره ۱، دوره ۲: ص ۴۳-۲۵
- دانشمند، ف. (۱۳۹۳)، " پاسخ سیستم دفاع آنتی اکسیدان گیاه گوجه فرنگی به تنش کم آبی و برهمکنش آن با آسکوربیک اسید " *زیست شناسی گیاهی ایران*، شماره ۱۹، سال ۶: ص ۷۲-۵۷
- رنجبر، س.، جعفری، م.، خدارحمی، ر.، زارعی، ز.، اشرفی، م. ر. و میرآقائی، ش. (۱۳۹۱)، " تخلیص فریتین از کبد گوسفند و گزارش فعالیت پراکسیدازی مجموعه هم- فریتین " *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، شماره ۴، دوره ۲۰: ص ۱۲۶-۱۱۷
- سید رحمانی، ر. و معالی امیری، ر. (۱۳۹۳)، " مسیر سیگنال‌دهی ROS و نقش آن در تنش‌های محیطی " *ژنتیک در هزاره سوم*، شماره ۲، دوره ۱۲: ص ۳۶۰۳-۳۵۸۸
- شاهین نیا، ف. و سید طباطبایی، ب. آ. (۱۳۹۲)، " ابداع نشانگرهای مبتنی بر توالی‌های بیان شده (ESTs) و غربال ژنتیکی برای چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) در ژنوم گیاهان " *ژنتیک نوین*، شماره ۲، دوره ۸: ص ۱۳۰-۱۱۷
- شکری، آ.، کاظمی تبار، س. ک.، ذوالعلی، ج.، نعمت‌زاده، ق.، حسین‌پور آزاد، ن. و نصیری، ن. (۱۳۹۰)، " همسانه‌سازی و تعیین خصوصیات ژن دلتا سیکس دسچوراز (*d6d*)، از گیاه گل گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum*) " *فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران*، شماره ۲، جلد ۱۹: ص ۲۱۷-۲۰۵
- صادقی، ه.، رضایی، ز. و مهربان، ف. (۱۳۹۲)، " مروری بر مکانیسم مولکولی انتقال پروتئین‌های میتوکندریایی " *ژنتیک در هزاره سوم*، شماره ۲، سال ۱۱: ص ۳۱۲۳-۳۱۱۲

طایفی نصرآبادی، ح.، دهقان، غ. ر.، دایی حسنی، ب.، موافقی، ع. و صمدی، ع. (۱۳۸۹)، " بررسی برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی آنزیم کاتالاز در گیاه گلرنگ " *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، شماره ۱، دوره ۲: ص ۴۵-۵۴

شریعت پناهی، م. و امامی میبدی، د. (۱۳۸۸)، " میکروسپور: سلولی هاپلوئید با کاربردهای متنوع در ژنتیک و اصلاح نباتات " *ژنتیک نوین*، شماره ۳، دوره ۴: ص ۵-۱۶

کاظمی شاهاندشتی، س. ص.، معالی امیری، ر. و امیددی، م. (۱۳۹۰)، " نقش پروتئین‌های شوک سرمایی در پاسخ سلول به تنش دمایی پایین " *ژنتیک در هزاره سوم*، شماره ۲، سال ۹: ص ۲۴۳۱-۲۴۲۱

نواب پور، س. (۱۳۹۱)، " مطالعه بیان موضعی ژن گلوکاتایون پراکسیداز و برخی صفات وابسته در واکنش به تنش خشکی در گیاه کلزا " *مجله پژوهش‌های تولید گیاهی*، شماره ۳، جلد ۱۹: ص ۱۰۹-۱۲۴

Allen, R.D., Bernier, F., Lessard, P.A., Beachy, R.N. (1989), "Nuclear factors interact with a soybean beta-conglycinin enhancer" **The Plant Cell**, 1(6): 623-631.

Anderson, N.A. (1982), "The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*" **Annual Review of Phytopathology**, 20(1): 329-347.

Babitha, K.C., Ramu, S.V., Pruthvi, V., Mahesh, P., Nataraja, K., Udayakumar, M. (2013), "Co-expression of *AtbHLH17* and *AtWRKY28* confers resistance to abiotic stress in Arabidopsis" **Transgenic research**, 22(2): 327-341.

Bailly, C., Leymarie, J., Lehner, A., Rousseau, S., Co<sup>^</sup>me, D., Corbineau, F. (2004), "Catalase activity and expression in developing sunflower seeds as related to drying" **Journal of Experimental Botany**, 55(396): 475-483.

Barany, I, Fadon, B, Risueno, M.C., Testillano P.S. (2010), "Cell wall components and pectin esterification levels as markers of proliferation and differentiation events during pollen development and pollen embryogenesis in *Capsicum annum* L." **Journal of Experimental Botany**, 61(4): 1159-1175.

Baumann, K., De Paolis, A., Costantino, P., Gualberti, G. (1999), "The DNA binding site of the Dof protein NtBBF1 is essential for tissue-specific and auxin-regulated expression of the rolB oncogene in plants" **The Plant Cell**, 11(3): 323-333.

Bedinger, P. (1992), "The remarkable biology of pollen" **The Plant Cell**, 4(8): 879-887.

Beers, E.P., Jones, A.M., Dickerman, A.W. (2004), "The S8 serine, C1A cysteine and A1 aspartic protease families in Arabidopsis" **Phytochemistry**, 65(1): 43-58.

Blilou, I., Frugier, F., Folmer, S., Serralbo, O., Willemsen, V., Wolkenfelt, H., Eloy, N.B., Ferreira, P.C.G., Weisbeek, P., Scheres, B. (2002), "The Arabidopsis HOBBIT gene encodes a CDC27 homologue that links the plant cell cycle to progression of cell differentiation" **Genes & Development**, 16(19): 2566-2575.

- Boter, M., Ruiz-Rivero, O., Abdeen, A., Prat, S. (2004), "Conserved MYC transcription factors play a key role in jasmonate signaling both in tomato and Arabidopsis" **Genes & Development**, 18(13): 1577-1591.
- Boutillier, K., Offringa, R., Sharma, V.K., Kieft, H., Ouellet, T., Zhang, L., Hattori, J., Liu, C.M., van Lammeren, A.A.M., Miki, B.L.A., Custers, J.B.M., van Lookeren Campagne, M.M. (2002), "Ectopic expression of BABY BOOM triggers a conversion from vegetative to embryogenic growth" **The Plant Cell**, 14: 1737-1749.
- Boutillier, K.A., Ginés, M.J., DeMoor, J.M., Huang, B., Baszczynski, C.L., Iyer, V.N., Miki, B.L. (1994), "Expression of the BnmNAP subfamily of napin genes coincides with the induction of Brassica microspore embryogenesis" **Plant Molecular Biology**, 26(6): 1711-1723.
- Brown, R.L., Kazan, K., McGrath, K.C., Maclean, D.J., Manners, J.M. (2003), "A role for the GCC-box in jasmonate-mediated activation of the PDF1.2 gene of Arabidopsis" **Plant Physiology**, 132(2): 1020–1110.
- Burri, L., Vascotto, K., Fredersdorf, S., Tiedt, R., Hall, M.N., Lithgow, T. (2004), "Zim17, a Novel Zinc Finger Protein Essential for Protein Import into Mitochondria" **The Journal Of Biological Chemistry**, 279(48): 50243–50249.
- Capron, A., Serralbo, O., Fulop, K., Fruigier, F., Parmentier, Y., Dong, A., Lecureuil, A., Guerche, P., Kondorosi, E., Scheres, B., Genschik, P. (2003), "The Arabidopsis APC/C: molecular and genetic characterization of the APC2 subunit" **The Plant Cell**, 15(10): 2370-2382.
- Caredda, S., Devaux, P., Sangwan, R.S., Cle´ment, C. (1999), "Differential development of plastids during microspore embryogenesis in barley" **Protoplasma**, 208(1-4): 248-256.
- Chan, C.S., Guo, L., Shih, M.C. (2001), "Promoter analysis of the nuclear gene encoding the chloroplast glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase B subunit of *Arabidopsis thaliana*" **Plant molecular biology**, 46(2): 131-141.
- Chan, J., Pauls, K.P. (2007), "*Brassica napus* Rop GTPases and their expression in microspore cultures" **Planta**, 225(2): 469–484.
- Chen, H., Yan, C., Jiang, X., Dai, Y.R. (1999), "Hyperthermia-induced apoptosis and the inhibition of DNA laddering by zinc supplementation and withdrawal of calcium and magnesium in suspension culture of tobacco cells" **Cellular and Molecular Life Sciences**, 55(2): 303–309.
- Chen, W.Q., Singh, K.B. (1999), "The auxin, hydrogen peroxide and salicylic acid induced expression of the Arabidopsis GST6 promoter is mediated in part by an ocs element" **Plant Journal**, 19(6): 667-677.
- Clarke, P.A., te Poele, R., Workman, P. (2004), "Gene expression microarray technologies in the development of new therapeutic agents" **European journal of cancer**, 40(17): 2560-2591.

- Dat, J.F., Capelli, N., Folzer, H., Bourgeade, P., Badot, P.M. (2004), "Sensing and signaling during plant flooding" **Plant Physiology and Biochemistry**, 42(4): 273-282.
- Datta, R., Chamusco, K.C., Chourey, P.S. (2002), "Starch biosynthesis during pollen maturation is associated with altered patterns of gene expression in maize" **Plant Physiology**, 130(4): 1645-1656.
- Datta, R., Chourey, P.S., Pring, D.R., Tang, H.V. (2001), "Gene expression analysis of sucrose-starch metabolism during pollen maturation in cytoplasmic male-sterile and fertile lines in sorghum" **Sexual Plant Reproduction**, 14(3): 127-134.
- de Bruxelles, G.L., Peacock, W.J., Dennis, E.S., Dolferus, R. (1996), "Abscisic acid induces the alcohol dehydrogenase gene in Arabidopsis" **Plant Physiology**, 111(2): 381-391.
- Donald, R.G.K., Cashmore, A.R. (1990), "Mutation of either G box or I box sequences profoundly affects expression from the Arabidopsis rbcS-1A promoter" **The EMBO Journal**, 9(6): 1717-1726.
- Dong, J., Keller, W.A., Yan, W., Georges, F. (2004), "Gene expression at early stages of *Brassica napus* seed development as revealed by transcript profiling of seed-abundant cDNAs" **Planta**, 218(3): 483-491.
- Downs, G.S., Bi, Y.M., Colasanti, J., Wu, W., Chen, X., Zhu, T., Rothstein, S.J., Lukens, L.N. (2013), "A developmental transcriptional network for maize defines coexpression modules" **Plant Physiology**, 161(4): 1830-1843.
- Dunwell, J.M., Sunderland, N. (1975), "Pollen ultrastructure in anther cultures of *Nicotiana tabacum*" **Journal of Experimental Botany**, 26(2): 240-252.
- Eisen, M.B., Spellman, P.T., Brown, P.O., Botstein, D. (1998), "Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns" **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 95(25): 14863-14868.
- El-Tantawy, A.A., Solís, M.T., Da Costa, M.L., Coimbra, S., Risueño, M.C., Testillano, P.S. (2013), "Arabinogalactan protein profiles and distribution patterns during microspore embryogenesis and pollen development in *Brassica napus*" **Plant Reproduction**, 26(3): 231-243.
- Eulgem, T., Rushton, P.J., Schmelzer, E., Hahlbrock, K., Somssich, I.E. (1999), "Early nuclear events in plant defence signalling: rapid gene activation by WRKY transcription factors" **The EMBO Journal**, 18(17): 4689-4699.
- Ezcurra, I., Ellerstrom, M., Wycliffe, P., Stalberg, K., Rask, L. (1999), "Interaction between composite elements in the napA promoter: both the B-box ABA-responsive complex and the RY/G complex are necessary for seed-specific expression" **Plant molecular biology**, 40(4): 699-709.
- Ezcurra, I., Wycliffe, P., Nehlin, L., Ellerstrom, M., Rask, L. (2000), "Transactivation of the *Brassica napus* napin promoter by ABI3 requires interaction of the conserved B2 and B3 domains of ABI3 with different cis-elements: B2 mediates activation through an ABRE, whereas B3 interacts with an RY/G-box" **The Plant Journal**, 24(1): 57-66.

- Fu, H., Doelling, J.D., Rubin, D.M., Vierstra, R.D. (1999), "Structural and functional analysis of the six regulatory particle triple-A ATPase subunits from the Arabidopsis 26S proteasome" **The Plant Journal**, 18(5): 529-539.
- Fujiwara, T., Beachy, R.N. (1994), "Tissue-specific and temporal regulation of a beta-conglycinin gene: roles of the RY repeat and other cis-acting elements" **Plant molecular biology**, 24(2): 261-272.
- Fusada, N., Masuda, T., Kuroda, H., Shimada, H., Ohta, H., Takamiya, K. (2005), "Identification of a Novel Cis-Element Exhibiting Cytokinin-Dependent Protein Binding in Vitro in the '5'-region of NADPH-Protochlorophyllide Oxidoreductase Gene in Cucumber" **Plant molecular biology**, 59(4): 631-645.
- Garretón, V., Carpinelli, J., Jordana, X., Holuigue, L. (2002), "The as-1 promoter element is an oxidative stress-responsive element and salicylic acid activates it via oxidative species" **Plant Physiology**, 130(3): 1516-1526.
- Garrido, D., Eller, N., Heberle-Bors, E., Vicente, O. (1993), "De novo transcription of specific mRNAs during the induction of tobacco pollen embryogenesis" **Sexual Plant Reproduction**, 6(1): 40-45.
- Green, D.R., Beere, H.M. (2001), "Apoptosis: Mostly dead" **Nature**, 412(6843): 133-135.
- Green, P.J., Yong, M.H., Cuzzo, M., Kano-Murakami, Y., Silverstein, P., Chua, N.H. (1988), "Binding site requirements for pea nuclear protein factor GT-1 correlate with sequences required for light-dependent transcriptional activation of the rbcS-3A gene" **The EMBO journal**, 7(13): 4035-4044.
- Haberer, G., Mader, M.T., Kosarev, P., Spannagl, M., Yang, L. (2006), "Large-scale cis-element detection by analysis of correlated expression and sequence conservation between Arabidopsis and *Brassica oleracea*" **Plant Physiology**, 142(4): 1589-602.
- Hamilton, D.A., Schwarz, Y.H., Mascarenhas, J.P. (1998), "A monocot pollen-specific promoter contains separable pollen-specific and quantitative elements" **Plant molecular biology**, 38(4): 663-669.
- Harper, J.W., Burton, J.L., Solomon, M.J. (2002), "The anaphasepromoting complex: it's not just for mitosis anymore" **Genes & Development**, 16(17): 2179-2206.
- Hellmann, H., Estelle, M. (2004), "Plant development: regulation by protein degradation" **Science**, 297(5582): 793-797.
- Higo, K., Ugawa, Y., Iwamoto, M., Korenaga T. (1999), "Plant cis-acting regulatory DNA elements (PLACE) database" **Nucleic Acids Research**, 27: 297-300.
- Hoerberichts, F.A., Ten Have, A., Woltering, E.J. (2003), "A tomato metacaspase gene is upregulated during programmed cell death in Botrytis cinerea-infected leaves" **Planta**, 217(3): 517-522.
- Huang, B. (1986), Ultrastructural aspects of pollen embryogenesis in *Hordeum*, *Triticum* and *Paeonia*. In: Hu H. and Hongyuan Y. (Eds.) "Haploids of higher plants in vitro". Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 91-117.

- Huang, G., Lu, H., Hao, A., Ng, D.C., Ponniah, S., Guo, K., Lufei, C., Zeng, Q., Cao, X. (2004), "GRIM-19, a cell death regulatory protein, is essential for assembly and function of mitochondrial complex I" **Molecular and cellular biology**, 24(19): 8447–8456.
- Ibraheem, O., Botha, C.E.J., Bradley, G. (2010), "In silico analysis of cis-acting regulatory elements in 5' regulatory regions of sucrose transporter gene families in rice (*Oryza sativa* Japonica) and *Arabidopsis thaliana*" **Computational Biology and Chemistry**, 34(5): 268-283.
- Kuriyama, H., Fukuda, H. (2002), "Developmental programmed cell death in plants" **Current opinion in plant biology**, 5(6): 568–573.
- Kyo, K., Harada, H. (1990), "Specific phosphoproteins in the initial period of tobacco pollen embryogenesis" **Planta**, 182(1): 58-63.
- Lacombe, E., Van Doorselaere, J., Boerjan, W., Boudet, A.M., Grima-Pettenati, J. (2000), "Characterization of cis-elements required for vascular expression of the cinnamoyl CoA reductase gene and for protein-DNA complex formation" **The Plant Journal**, 23(5): 663-676.
- Lagrange, T., Franzetti, B., Axelos, M., Mache, R., Lerbs-Mache, S. (1993), "Structure and expression of the nuclear gene encoding for the chloroplast ribosomal protein L21: Developmental regulation of a house-keeping gene by alternative promoters" **Molecular and cellular biology**, 13(4): 2614-2622.
- Lam, E. (2004), "Controlled cell death, plant survival and development" **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 5(4): 305–315.
- Lelievre, J.M., Oliveira, L.O., Nielsen, N.C. (1992), "5'-CATGCAT-3' elements modulate the expression of glycinin genes" **Plant Physiology**, 98(1): 387-391.
- Lescot, M., Déhais, P., Thijs, G., Marchal, K., Moreau, Y., de Peer, Y., Van Rouzé P., 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.
- Lessard, P.A., Allen, R.D., Bernier, F., Crispino, J.D., Fujiwara, T., Beachy, R.N. (1991), "Multiple nuclear factors interact with upstream sequences of differentially regulated beta-conglycinin genes" **Plant molecular biology**, 16(3): 397-413.
- Li, Y., Liu, Z.B., Shi, X., Hagen, G., Guilfoyle, T.J. (1994), "An auxin-inducible element in soybean SAUR promoters" **Plant Physiology**, 106(1): 37-43
- Lindahl, M., Spetea, C., Hundal, T., Oppenheim, A.B., Adam, Z., Andersson, B. (2000), "The thylakoid FtsH protease plays a role in the light-induced turnover of the photosystem II, D1 protein" **The Plant Cell**, 12(3): 419-431.
- Liu, Z.B., Ulmasov, T., Shi, X., Hagen, G., Guilfoyle, T.J. (1994), "Soybean GH3 promoter contains multiple auxin-inducible elements" **The Plant Cell**, 6(5): 645-657.

- Logemann, E., Parniske, M., Hahlbrock, K. (1995), "Modes of expression and common structural features of the complete phenylalanine ammonia-lyase gene family in parsley" **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 92(13): 5905-5909.
- Love, J., Bjorklund, S., Vahala, J., Hertzberg, M., Kangasjarvi, J., Sundberg, B., (2009), "Ethylene is an endogenous stimulator of cell division in the cambial meristem of *Populus*" **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 106(14): 5984-5989.
- Lu, C.A., Ho, T.H.D., Ho, S.L., Yu, S.M. (2002), "Three novel MYB proteins with one DNA binding repeat mediate sugar and hormone regulation of  $\alpha$ -amylase gene expression" **The Plant Cell**, 14(8): 1963-1980.
- Ludwig, A.A., Saitoh, H., Felix, G., Freymark, G., Miersch, O., Wasternack, C., Boller, T., Jones, J.D., Romeis, T. (2005), "Ethylene-mediated cross-talk between calcium-dependent protein kinase and MAPK signaling controls stress responses in plants" **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 102(30): 10736-10741.
- Macnicol, P.K., Jacobsen, J.V. (2001), "Regulation of alcohol dehydrogenase gene expression in barley aleurone by gibberellin and abscisic acid" **Plant Physiology**, 111(4): 533-539.
- Madeo, F., Engelhardt, S., Herker, E., Lehmann, N., Maldener, C., Proksch, A., Wissing, S., Frohlich, K.U. (2002a), "Apoptosis in yeast: a new model system with applications in cell biology and medicine" **Current genetics**, 41(4): 208-216.
- Madeo, F., Herker, E., Maldener, C. (2002b), "A caspase-related protease regulates apoptosis in yeast" **Molecular Cell**, 9(4): 911-917.
- Maraschin, S.F., Lamers, G.E.M., de Pater, B.S., Spaink, H.P., Wang, M. (2003a), "14-3-3 isoforms and pattern formation during barley microspore embryogenesis" **Journal of Experimental Botany**, 54(384): 1033-1043.
- Maraschin, S.F., Lamers, G.E.M., Wang, M. (2003b), "Cell death and 14-3-3 proteins during the induction of barley microspore androgenesis" **Biologia**, 58: 59-68.
- Maraschin, S.F., de Priester, W., Spaink, H.P., Wang, M. (2005a), "Androgenic switch: an example of plant embryogenesis from the male gametophyte perspective" **Journal of Experimental Botany**, 56(417): 1711-1726.
- Maraschin, S.F., Caspers, M., Potokina, E., Wulfert, F., Corredor, M., Graner, A., Spaink, H.P., Wang, M. (2005b), "Androgenic switch in barley microspores. II. cDNA array analysis of stress-induced gene expression in barley androgenesis" PhD thesis, Leiden University, The Netherlands.
- Maraschin, S.F., Gaussand, G., Pulido, A., Olmedilla, A., Lamers, G.E.M., Korthout, H., Spaink, H.P., Wang, M. (2005c), "Programmed cell death during the transition from multicellular structures to globular embryos in barley androgenesis" **Planta**, 221(4): 459-470.



- Maraschin, S.F., Caspers, M., Potokina, E., Wülfert, F., Graner, A., Spaink, H.P., Wang, M. (2006), "cDNA array analysis of stress-induced gene expression in barley androgenesis" **Physiologia Plantarum**, 127(4): 535-550.
- Marrs, K. (1996), "The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants" **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 47(1): 127-158.
- Martsinkovskaya, A.I., Poghosyan, Z.P., Haralampidis, K., Murphy, D.J., Hatzopoulos, P. (1999), "Temporal and spatial gene expression of cytochrome b5 during flower and fruit development in olives" **Plant Molecular Biology**, 40(1): 79-90.
- Martyanov, V., Gross, R.H. (2010), "Identifying functional relationships within sets of co-expressed genes by combining upstream regulatory motif analysis and gene expression information" **BMC genomics**, 11(Suppl 2): S8-S16.
- Maruyama, K., Todaka, D., Mizoi, J., Yoshida, T., Kidokoro, S., Matsukura, S., Takasaki, H., Sakurai, T., Yamamoto, Y.Y., Yoshiwara, K. (2012), "Identification of cis-acting promoter elements in cold-and dehydration-induced transcriptional pathways in Arabidopsis, rice, and soybean" **DNA research**, 19(1): 37-49.
- Mascarenhas, J.P. (1990), "Gene activity during pollen development" **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 41(1): 317-338.
- Matthys-Rochon, E. (2002), "Fascinating questions raised by the embryonic development in plants" **Biologia**, 57: 1-4.
- McCormick, S. (1993), "Male gametophyte development" **The Plant Cell**, 5(10): 1265-1275.
- Mena, M., Cejudo, F.J., Isabel-Lamonedá, I., Carbonero, P. (2002), "A Role for the DOF Transcription Factor BPBF in the Regulation of Gibberellin-Responsive Genes in Barley Aleurone" **Plant Physiology**, 130(1): 111-119.
- Mohanty, B., Krishnan, S.P., Swarup, S., Bajic, V.B. (2005), "Detection and preliminary analysis of motifs in promoters of anaerobically induced genes of different plant species" **Annals of Botany**, 96(4): 669-681.
- Mordhorst, A.P., Toonen, M.A.J., de Vries, S.C. (1997), "Plant embryogenesis" **Critical Reviews in Plant Sciences**, 16(6): 535-576.
- Morita, A., Umemura, T., Kuroyanagi, M., Futsuhara, Y., Perata, P., Yamaguchi, J. (1998), "Functional dissection of a sugar-repressed alpha-amylase gene (*Ramy1A*) promoter in rice embryos" **FEBS letters**, 423(1): 81-85.
- Muñoz-Amatriaín, M., Svensson, J.T., Castillo, A.M., Cistué, L., Close, T.J., Vallés, M.P. (2006), "Transcriptome analysis of barley anthers: effect of mannitol treatment on microspore embryogenesis" **Physiologia Plantarum**, 127(4): 551-560.
- Muñoz-Amatriaín, M., Svensson, J.T., Castillo, A.M., Close, T.J., Valle's, M.P. (2009), "Microspore embryogenesis: assignment of genes to embryo formation and green vs. albino plant production" **Functional & integrative genomics**, 9(3): 311-323.

- Nannini, M., Pantaleo, M.A., Maleddu, A., Astolfi, A., Formica, S., Biasco, G. (2009), "Gene expression profiling in colorectal cancer using microarray technologies: Results and perspectives" **Cancer Treatment Reviews**, 35(3): 201-209.
- O'Brien, I.E.W., Baguley, B.C., Murray, B.G., Morris, B.A.M., Ferguson, I.B. (1998), "Early stages of the apoptotic pathway in plant cells are reversible" **The Plant Journal**, 13(6): 803-814.
- Obayashi, T., Kinoshita, K., Nakai, K., Shibaoka, M., Hayashi, S., Saeki, M., Shibata, D., Saito, K., Ohta H. (2007), "ATTED-II: a database of co-expressed genes and cis elements for identifying co-regulated gene groups in Arabidopsis" **Nucleic Acids Research**, 35(suppl 1): D863-D869.
- Obayashi, T., Hayashi, S., Shibaoka, M., Saeki, M., Ohta, H., Kinoshita, K. (2008), "COXPRESdb: a database of coexpressed gene networks in mammals" **Nucleic Acids Research**, 36(suppl 1): D77-D82.
- Obayashi, T., Hayashi, S., Saeki, M., Ohta, H., Kinoshita, K. (2009), "ATTED-II provides coexpressed gene networks for Arabidopsis" **Nucleic Acids Research**, 37(suppl 1): D987-D991.
- Park, H.C., Kim, M.L., Kang, Y.H., Jeon, J.M., Yoo, J.H., Kim, M.C., Park, C.Y., Jeong, J.C., Moon, B.C., Lee, J.H., Yoon, H.W., Lee, S.H., Chung, W.S., Lim, C.O., Lee, S.Y., Hong, J.C., Cho, M.J. (2004), "Pathogen- and NaCl-induced expression of the S<sub>CaM</sub>-4 promoter is mediated in part by a *GT-1 box* that interacts with a *GT-1-like* transcription factor" **Plant Physiology**, 135(4): 2150-2161.
- Paul, A.L., Ferl, R.J., (1991), "In vivo footprinting reveals unique cis-elements and different modes of hypoxic induction in maize *Adh1* and *Adh2*" **The Plant Cell**, 3(2): 159-168.
- Pauls, K.P. (1996), The utility of doubled haploid populations for studying the genetic control of traits determined by recessive alleles. In: S. M. Jain, S.K. Sopory and R.E. Veilleux (Eds.) "In vitro haploid production in higher plants". Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 23: 125-144.
- Pavitt, G.D. (2005), "eIF2B, a mediator of general and gene-specific translational control" **Biochemical Society Transactions**, 33(6): 1487-1492.
- Pearse, B.M., Smith, C.J., Owen, D.J. (2000), "Clathrin coat construction in endocytosis" **Current Opinion in Structural Biology**, 10(2): 220-228.
- Peng, F., Weselake, R. (2011), "Gene coexpression clusters and putative regulatory elements underlying seed storage reserve accumulation in Arabidopsis" **BMC Genomics**, 12(1): 286.
- Pennell, R., Lamb, C. (1997), "Programmed cell death in plants" **The Plant Cell**, 9(7): 1157-1168.
- Persson, S., Wei, H., Milne, J., Page, G.P., Somerville, C.R. (2005), "Identification of genes required for cellulose synthesis by regression analysis of public microarray data sets" **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 102(24): 8633-8638.

- Powell, W. (1990), Environmental and genetical aspects of pollen embryogenesis. In: Bajaj, Y.P.S. (Eds.) "Haploids in crop improvement I". Springer Berlin Heidelberg, 12: 45-65.
- Qin, G., Gu, H., Ma, L., Peng, Y., Deng, X.W., Chen, Z., Qu, L.J. (2007), "Disruption of phytoene desaturase gene results in albino and dwarf phenotypes in Arabidopsis by impairing chlorophyll, carotenoid and gibberellin biosynthesis" **Cell Research**, 17(5): 471-482.
- Raghavan, V. (1986), Pollen embryogenesis. In: Barlow P.W., Green P.B., Wylie C.C. (Eds.) "Embryogenesis in angiosperms: a developmental and experimental study". Cambridge University Press, New York, 152-189.
- Ramaswamy, S., Golub, T.R. (2002), "DNA microarrays in clinical oncology" **Journal of Clinical Oncology**, 20(7): 1932-1941.
- Rashid, A., Siddiqui, A.W., Reinert, J. (1982), "Subcellular aspects of origin and structure of pollen embryos of *Nicotiana*" **Protoplasma**, 113(3): 202-208.
- Reynolds, T.L. (2000), "Effects of calcium on embryogenic induction and the accumulation of abscisic acid, and an early cysteine-labeled metallothionein gene in androgenic microspores of *Triticum aestivum*" **Plant Science**, 150(2): 201-207.
- Reynolds, T.L., Crawford, R.L. (1996), "Changes in abundance of an abscisic acid-responsive, early cysteine-labeled metallothionein transcript during pollen embryogenesis in bread wheat (*Triticum aestivum*)" **Plant Molecular Biology**, 32(5): 823-826.
- Řihová, L., Capkova', V., Tupy', J. (1996), "Changes in glycoprotein patterns associated with male gametophyte development and with induction of pollen embryogenesis in *Nicotiana tabacum* L." **Journal of Plant Physiology**, 147(5): 573-581.
- Richard, D., Palmiter, R.D. (1998), "The elusive function of metallothioneins" **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 95(15): 8428-8430.
- Rose, A., Meier, I., Wienand, U. (1999), "The tomato I-box binding factor *LeMYBI* is a member of a novel class of Myb-like proteins" **The Plant Journal**, 20(6): 641-652.
- Rossi, V., Banfield, D.K., Vacca, M., Dietrich, L.E.P., Ungermann, C., D'Esposito, M., Galli, T., Filippini F. (2004), "Longins and their longin domains: regulated SNAREs and multifunctional SNARE regulators" **Trends in biochemical sciences**, 29(12): 682-688.
- Ruan, B., Söll, D. (2005), "The Bacterial YbaK Protein Is a Cys-tRNA<sup>Pro</sup> and Cys-tRNA<sup>Cys</sup> Deacylase" **The Journal Of Biological Chemistry**, 280(27): 25887-25891.
- Rushton, P.J., Torres, J.T., Parniske, M., Wernert, P., Hahlbrock, K., Somssich, I.E. (1996), "Interaction of elicitor-induced DNA-binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley *PR1* genes" **The EMBO Journal**, 15(20): 5690-5700.

- Russo, G., Zegar, C., Giordano, A. (2003), “Advantages and limitations of microarray technology in human cancer” **Oncogene**, 22(42): 6497-507.
- Sánchez-Díaz, R.A., Castillo, A.M., Valle´s, M.P. (2013), “Microspore embryogenesis in wheat: new markers genes for early, middle and late stages of embryo development” **Plant reproduction**, 26(3): 287-296.
- Sato, Y., Namiki, N., Takehisa, H., Kamatsuki, K., Minami, H., Ikawa, H., Ohyanagi, H., Sugimoto, K., Itoh, J.I., Antonio, B.A., Nagamura, Y. (2013), “RiceFRIEND: a platform for retrieving coexpressed gene networks in rice” **Nucleic Acids Research**, 41: D1214–D1221.
- Satoh, R., Nakashima, K., Seki, M., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2002), “ACTCAT, a novel cis-acting element for proline- and hypoosmolarity-responsive expression of the ProDH gene encoding proline dehydrogenase in Arabidopsis” **Plant Physiology**, 130(2): 709-719.
- Satoh, R., Fujita, Y., Nakashima, K., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2004), “A novel subgroup of bZIP proteins functions as transcriptional activators in hypoosmolarity-responsive expression of the *ProDH* gene in Arabidopsis” **Plant and Cell Physiology**, 45(3): 309-317.
- Scandalios, J.G., Guan, L.M., Polidoros, A. (1997), Catalase in plants: gene structure, properties, regulation and expression. In: Scandalios JG (Eds.) “Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses”. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 343-406.
- Seki, M., Umezawa, T., Urano, K., Shinozaki, K. (2007) “Regulatory metabolic networks in drought stress responses” **Current Opinion in Plant Biology**, 10(3): 296–302.
- Sessa, G., Meller, Y., Fluhr, R. (1995), “A GCC element and a G-box motif participate in ethylene-induced expression of the *PRB-1b* gene” **Plant Molecular Biology**, 28(1): 145–153.
- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (1996), “Molecular responses to drought and cold stress” **Current Opinion in Biotechnology**, 7(2): 161-167.
- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (1997), “Gene expression and signal transduction in water-stress response” **Plant Physiology**, 115(2): 327-334.
- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Seki, M. (2003), “Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses” **Current opinion in plant biology**, 6(5): 410-417.
- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2007) “Gene networks involved in drought stress response and tolerance” **Journal of experimental botany**, 58(2): 221–227.
- Shoemaker, B.A., Panchenko, A.R. (2007), “Deciphering protein-protein interactions. Part I. Experimental techniques and databases” **PloS Computational biology**, 3(3): e42.

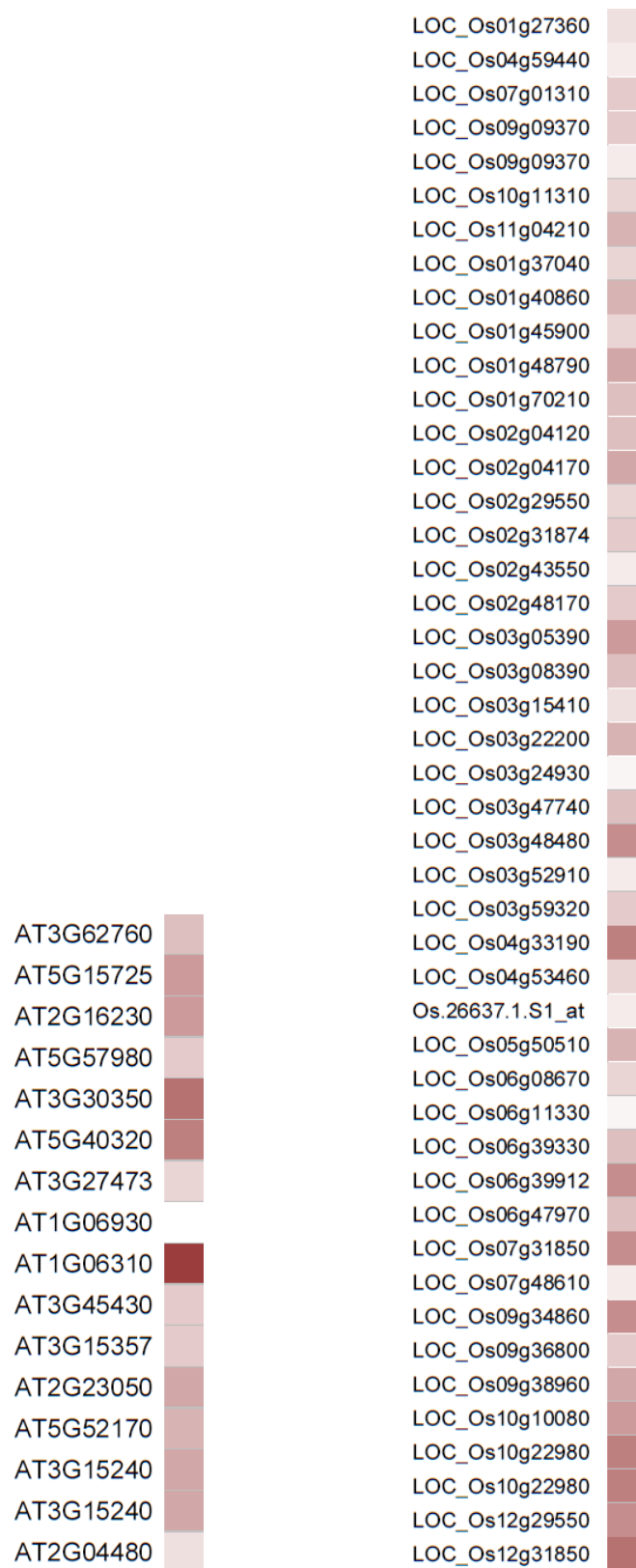
- Smith, M.A., Jonsson, L., Stymne, S., Stobart, K. (1992), "Evidence for cytochrome b5 as an electron donor in ricinoleic acid biosynthesis in microsomal preparations from developing castor bean (*Ricinus communis* L.)" **Biochemical Journal**, 287: 141-144.
- Smykal, P., Pechan, P.M. (2000), "Stress, as assessed by the appearance of sHsp transcripts, is required but no sufficient to initiate androgenesis" **Plant Physiology**, 110(1): 135-143.
- Sreenivasulu, N., Altschmied, L., Radchuk, V., Gubatz, S., Wobus, U., Weschke, W. (2004), "Transcript profiles and deduced changes of metabolic pathways in maternal and filial tissues of developing barley grains" **The Plant Journal**, 37(4): 539-553.
- Stasolla, C., Katahira, R., Thorpe, T.A., Ashihara, H. (2003), "Purine and pyrimidine nucleotide metabolism in higher plants" **Journal of Plant Physiology**, 160(11): 1271-1295.
- Stenmark, H., Olkkonen, V.M. (2001), "The Rab GTPase family" **Genome Biology**, 2(5): S3007.
- Stockinger, E.J., Gilmour, S.J., Thomashow, M.F. (1997), "*Arabidopsis thaliana* CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit" **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 94(3): 1035-1040.
- Suarez, M.F., Filonova, L.H., Smertenko, A., Savenkov, E.I., Clapham, D.H., von Arnold, S., Zhivotovsky, B., Bozhkov, P.V. (2004), "Metacaspase-dependent programmed cell death is essential for plant embryogenesis" **Current Biology**, 14(9): 339-340.
- Sutoh, K., Yamauchi, D. (2003), "Two cis-acting elements necessary and sufficient for gibberellin-upregulated proteinase expression in rice seeds" **The Plant Journal**, 34(5): 635-645.
- Thibaud-Nissen, F., Shealy, R.T., Khanna, A., Vodkin, L.O. (2003), "Clustering of microarray data reveals transcript patterns associated with somatic embryogenesis in soybean" **Plant Physiology**, 132(1): 118-136.
- Thijs, G., Marchal, K., Lescot, M., Rombauts, S., De Moor, B., Rouzé, P., Moreau, Y. (2002), "A Gibbs sampling method to detect overrepresented motifs in the upstream regions of coexpressed genes" **Journal of Computational Biology**, 9(2): 447-464.
- Thum, K.E., Kim, M., Morishige, D.T., Eibl, C., Koop, H.U., Mullet, J.E. (2001), "Analysis of barley chloroplast psbD light-responsive promoter elements in transplastomic tobacco" **Plant Molecular Biology**, 47(3): 353-366.
- Tibbot, B.K., Henson, C.A., Skaden, R.W. (1998), "Expression of enzymatically active, recombinant barley  $\alpha$ -glucosidase in yeast and immunological detection of  $\alpha$ -glucosidase from seed tissue" **Plant Molecular Biology**, 38(3): 379-391.

- Tjaden, G., Edwards, J.W., Coruzzi, G.M. (1995), “cis elements and trans-acting factors affecting regulation of a nonphotosynthetic light-regulated gene for chloroplast glutamine synthetase” **Plant Physiology**, 108(3): 1109-1117.
- Touraev, A., Vicente, O., Heberle-Bors, E. (1997), “Initiation of microspore embryogenesis by stress” **Trends in Plant Science**, 2(8): 297-302.
- Toyofuku, K., Umemura, T., Yamaguchi, J. (1998), “Promoter elements required for sugar-repression of the *RAmy3D* gene for alpha-amylase in rice” **FEBS letters**, 428(3): 275-280.
- Ulmasov, T., Hagen, G., Guilfoyle, T.J. (1999), “Dimerization and DNA binding of auxin response factors” **The Plant Journal**, 19(3): 309-319.
- Usadel, B., Obayashi, T., Mutwil, M., Giorgi, F.M., Bassel, G.W., Tanimoto, M. (2009), “Co-expression tools for plant biology: opportunities for hypothesis generation and caveats” **Plant, cell & environment**, 32(12): 1633–1651.
- Vandepoele, K., Quimbaya, M., Casneuf, T., De Veylder, L., Van de Peer, Y. (2009), “Unraveling transcriptional control in Arabidopsis using cis-regulatory elements and coexpression networks” **Plant Physiology**, 150(2): 535-546.
- Varnier, A.L., Mazeyrat-Gourbeyre, F., Sangwan, R.S., Clément, C. (2005), “Programmed cell death progressively models the development of anther sporophytic tissues from the tapetum and is triggered in the pollen grain during maturation” **Journal of structural biology**, 152(2): 118–228.
- Vasak, M., Hasler, D.W., (2000), “Metallothioneins: new functional and structural insights” **Current opinion in chemical biology**, 4(2): 177–183.
- Vrienten, P.L., Nakamura, T., Kasha, K.J. (1999), “Characterization of cDNAs expressed in the early stages of microspore embryogenesis in barley (*Hordeum vulgare* L.)” **Plant Molecular Biology**, 41(4): 455-463.
- Wang, M., Hoekstra, S., van Bergen, S., Lamers, G.E.M., Oppedijk, B.J., van der Heijden, M.W., de Priester, W., Schilperoort, R.A. (1999), “Apoptosis in developing anthers and the role of ABA in this process during androgenesis in *Hordeum vulgare* L.” **Plant Molecular Biology**, 39(3): 489–501.
- Wang, S., Yin, Y., Ma, Q., Tang, X., Hao, D., Xu, Y. (2012), “Genome-scale identification of cell-wall related genes in Arabidopsis based on co-expression network analysis” **BMC plant biology**, 12(1): 138.
- Wang, T., Stormo, G.D., Stormo, G.D. (2003) “Combining phylogenetic data with co-regulated genes to identify regulatory motifs” **Bioinformatics**, 19(18): 2369–2380.
- Wei, H., Persson, S., Mehta, T., Srinivasasainagendra, V., Chen, L., Page, G.P., Somerville, C., Loraine, A. (2006), “Transcriptional coordination of the metabolic network in Arabidopsis” **Plant Physiology**, 142(2): 762-774.
- Williams, B., Kabbage, M., Britt, R., Dickman, M.B. (2010), “AtBAG7, an Arabidopsis Bcl-2-associated athanogene, resides in the endoplasmic reticulum and is involved in the unfolded protein response” **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 107(13): 6088-6093.

- Winkler, A.A., Bobok, A., Zonneveld, B.J.M., Steensma, H.Y., Hooykaas, P.J.J. (1998), "The lysine rich c-terminal repeats of the centromere-binding factor 5 (CBF5) of *Kluyveromyces lactis* are not essential for function" **Yeast**, 14(1): 37-48.
- Wu, H.m., Cheung A. (2000), Programmed cell death in plant reproduction. In: Lam E., Fukuda H. and Greenberg J. (Eds.) "Programmed Cell Death in Higher Plants". Springer Netherlands, 23-37.
- Xu, N., Hagen, G., Guilfoyle, T. (1997), "Multiple auxin response modules in the soybean SAUR 15A promoter" **Plant Science**, 126(2): 193-201.
- Yamauchi, D. (2001), "A TGACGT Motif in the 5'-Upstream Region of alpha-Amylase Gene from *Vigna mungo* is a cis-Element for Expression in Cotyledons of Germinated Seeds" **Plant and Cell Physiology**, 42(6): 635-641.
- Yang, H.A. (1994), "Genetic variability in pectic enzymes of *Rhizoctonia solani* isolates causing bare- pitch disease of cereals" **Journal of Phytopathology**, 141(3): 259-266.
- Yang, X., Ye, C.Y., Bisaria, A., Tuskan, G.A., Kalluri, U.C. (2011), "Identification of candidate genes in *Arabidopsis* and *Populus* cell wall biosynthesis using text-mining, co-expression network analysis and comparative genomics" **Plant Science**, 181(6): 675-687.
- Yao, N., Tada, Y., Park, P., Nakayashiki, H., Tosa, Y., Mayama, S. (2001), "Novel evidence for apoptotic cell response and differential signals in chromatin condensation and DNA cleavage in victorintreated oats" **The Plant Journal**, 28(1): 13-26.
- Yu F., Park S., Rodermel SR. (2004), "The *Arabidopsis* FtsH metalloprotease gene family: interchangeability of subunits in chloroplast oligomeric complexes" **The Plant Journal**, 37(6): 864-876.
- Zarsky, V., Garrido, D., Eller, N., Tupy, J., Vicente, O., Schoffl, F., Heberle-Bors, E. (1995), "The expression of a small heat shock gene is activated during induction of tobacco pollen embryogenesis by starvation" **Plant, Cell & Environment**, 18(2): 139-147.
- Zeevaart, J.A.D., Creelman, R.A. (1988), "Metabolism and physiology of abscisic acid" **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, 39(1): 439-473.
- Zhao, J., Davis, L.C., Verpoorte, R. (2005), "Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites" **Biotechnology advances**, 23(4): 283-333.
- Zhou, D.X., LI, Y.F., Rocipon, M., Mache, R. (1992), "Sequence specific interaction between S1F, a spinach nuclear factor, and a negative cis-element conserved in plastid-related genes" **Journal of Biological Chemistry**, 267(33): 23515-23519.
- Zimmermann, P., Hirsch-Hoffman, M., Hennig, L., Grissem, W. (2004) "GENEVESTIGATOR. *Arabidopsis* microarray database and analysis toolbox" **Plant Physiology**, 136(1): 2621-2632.

پوست ما



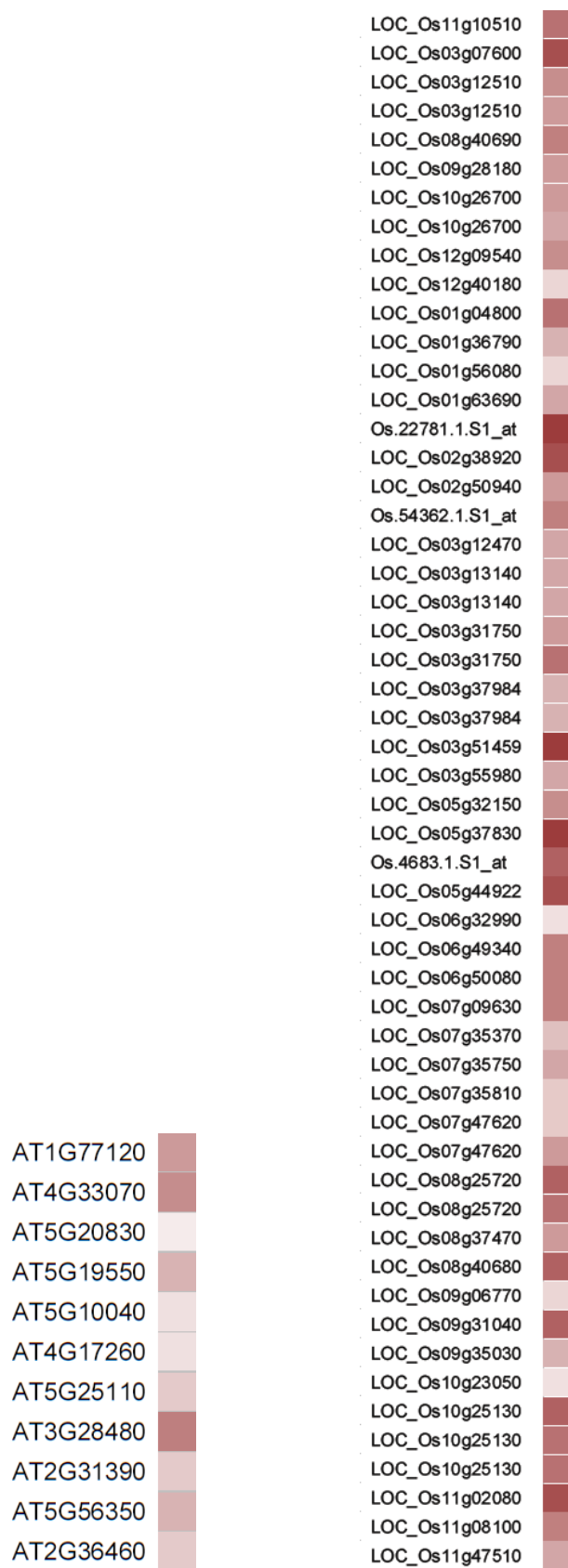


شکل پیوست-۱- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان گلوکاتینون S- ترانسفراز آرابیدوپسیس و برنج





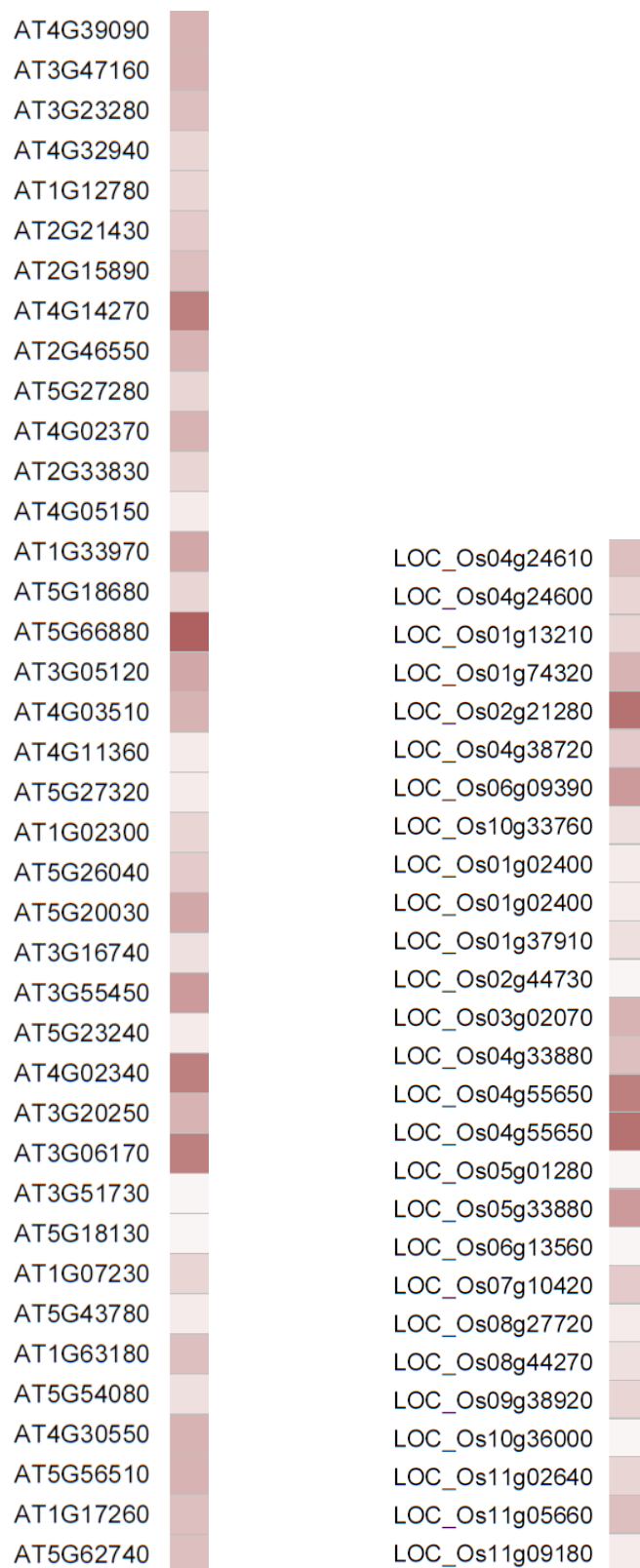
شکل پیوست-۳- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان زیرواحد تنظیمی 26S پروتئازوم برنج



شکل پیوست-۴- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان الکل دهیدروژناز ۱ و ۲ به ترتیب در آرابییدوپسیس و

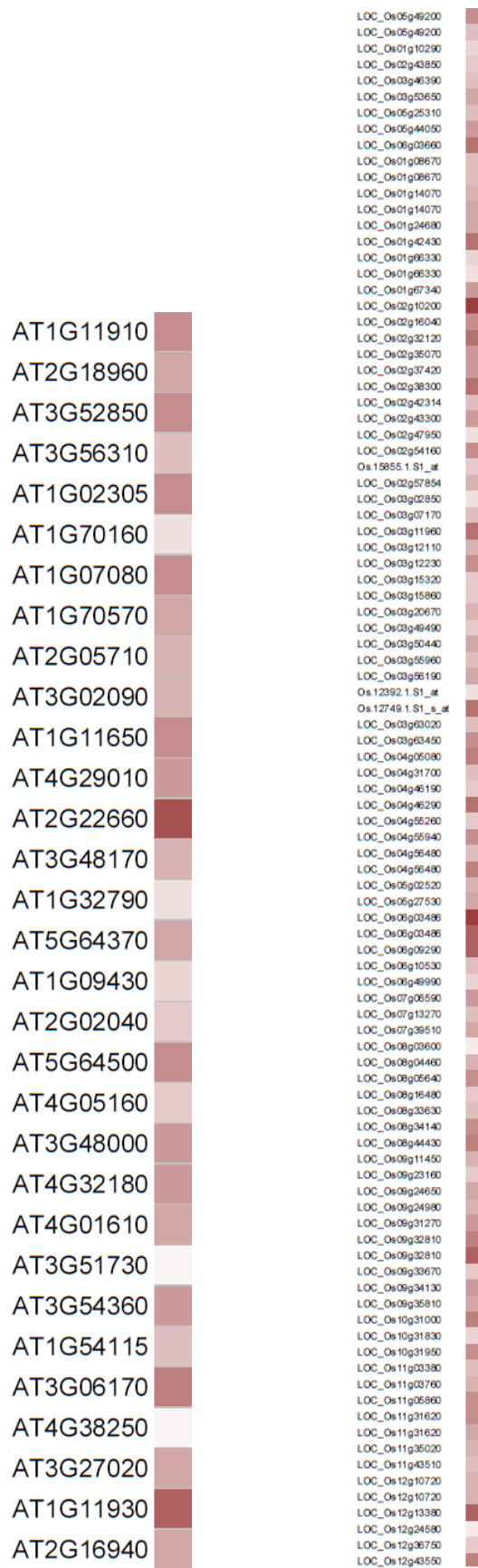
برنج





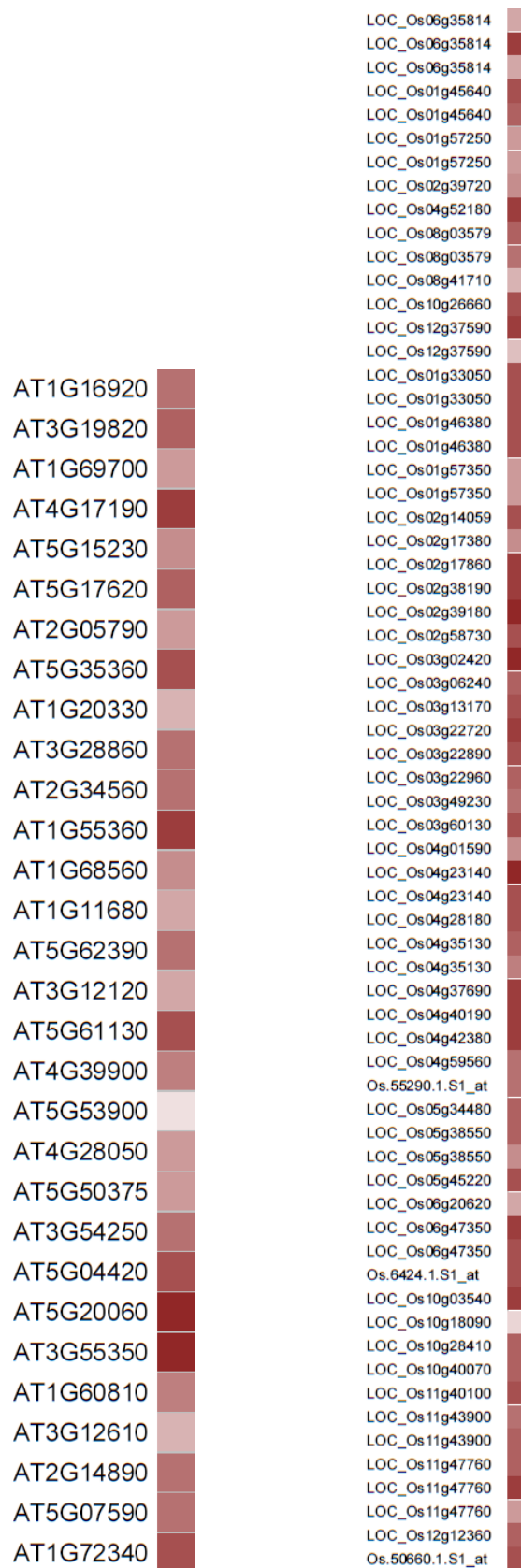
شکل پیوست-۶- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان سیستمین پروتئاز خانواده Papain و سیستمین پروتئیناز ۱ به ترتیب در آرابیدوپسیس و برنج





شکل پیوست-۸- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیم‌آسپارتیک پروتئیناز ۱ آرآبیدوپسیس و برنج





شکل پیوست-۹- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان A1B همولوگ RAB GTPase و پروتئین RIC2 مرتبط با Ras به ترتیب در آرابیدوپسیس و برنج



شکل پیوست-۱۰- نمودار Heat map شدت بیان ژن‌های هم‌بیان پروتئین کیناز ۲۳ تداخلی با CBL و پروتئین کیناز سرین/ ترئونین به ترتیب در آرآبیدوپسیس و برنج

جدول پیوست-۱- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان آسپارتیک پروتئیناز A1 آرابیدوپسیس

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At1g11910	آسپارتیک پروتئیناز A1
At2g05710	آکونیتاز ۳
At3g02090	پروتئین انسولیناز (خانواده پپتیداز M16)
At1g11650	پروتئین متصل شونده به RNA (موتیف‌های RNP/RBD/RRM)
At4g29010	خانواده انول کوآنزیم آ هیدراتاز/ ایزومراز
At2g22660	پروتئین با عملکرد ناشناخته (DUF مضاعف شده ۱۳۹۹)
At3g48170	آلدئید دهیدروژناز 10A9
At1g32790	دومین تداخلی با CTC-11
At5g64370	بتا- یوریدوپروپیوناز
At1g70160	پروتئین بیان‌شده، شبیه پروتئین فرضی
At1g09430	ATP سترات لیاز A-3
At2g02040	انتقال‌دهنده پپتیدی ۲
At5g64500	پروتئین بالا خانواده تسهیل‌کننده اصلی انتقال‌دهنده‌های غشا
At4g05160	پروتئین خانواده سنتتاز و لیگاز وابسته به آدنوزین مونوفسفات
At3g48000	آلدئید دهیدروژناز 2B4
At4g32180	پانتوتنات کیناز ۲
At4g01610	پروتئین بالا خانواده سیستئین پروتئینازها
At3g54360	اتصال یون روی
At1g54115	تبادل‌گر کاتیونی کلسیم ۴
At3g56310	پروتئین خانواده ملیبیوز
At3g06170	پروتئین بیوسنتز سرین و اسفنگولیپید حاوی دومین Serinc
At3g27020	شبه نواری زرد ۶
At1g11930	آنزیم وابسته به پیریدوکسال فسفات پیش‌بینی‌شده، نوع YBL036C
At2g16940	عامل اتصال، شبه CC1

جدول پیوست-۲- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان A1B همولوگ RAB GTPase آرابیدوپسیس

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At1g16920	A1B همولوگ RAB گوانوزین تری فسفاتاز
At2g05790	پروتئین ۱۷ خانواده O- گلایکوزیل هیدرولاز ها
At5g35360	زیر واحد استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز بیوتین کربوکسیلاز
At1g20330	استرول متیل ترانسفراز
At3g28860	بالا خانواده کاست اتصال آدنوزین تری فسفات B19
At2g34560	پروتئین بالا خانواده نوکلئوزید تری فسفات هیدرولاز ها حلقه P
At1g55360	پروتئین با عملکرد ناشناخته (DUF239)
At1g68560	آلفا- زایلوزیداز ۱
At1g11680	سیتوکروم P450
At5g62390	Athanogene وابسته به BCL2 نوع ۷ (BAG7)
At3g12120	اسید چرب دسچوراز ۲
At5g61130	پروتئین متصل به کالوز پلاسمودسماتا
At4g39900	پروتئین بیان شده
At5g53900	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین WNK
At4g28050	تترا اسپنین ۷
At5g50375	سیکلوپروپیل ایزومراز
At3g54250	گالاکتوکیناز، هوموسرین کیناز، موالونات کیناز و فسفوموالونات کیناز (GHMP کیناز)
At5g04420	پروتئین بالا خانواده گالاکتوز اکسیداز
At5g20060	پروتئین بالا خانواده آلفا/ بتا هیدرولاز ها
At3g55350	خانواده PIF/Ping-Pong ترانسپوزاز های گیاهی
At1g60810	آدنوزین تری فسفات- سیترات لیاز A-2
At3g12610	پروتئین خانواده تکرار غنی از لوسین (LRR)
At2g14890	پروتئین آرابینوگالاکتان ۹
At5g07590	پروتئین بالا خانواده شبه تکرار Transducin/WD40
At1g72340	پروتئین بالا خانواده شبه transferase NagB/RpiA/CoA

جدول پیوست-۳- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان پروتئین کیناز ۲۳ تداخلی CBL آرابیدوپسیس

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At1g30270	پروتئین کیناز ۲۳ تداخلی با CBL
At1g54320	پروتئین خانواده LEM3 (تعدیل‌کننده اثر لیگاند ۳) / پروتئین خانواده CDC50
At1g12360	بالا خانواده پروتئین‌های شبه Sec1/munc18
At4g25720	گلوتامینیل سیکلاز
At5g44240	آمینو فسفولیپید آدنوزین تری فسفاتاز ۲
At1g50360	پروتئین بالا خانواده نوکلئوزید تری فسفات هیدرولاز ها حلقه P
At1g53390	پروتئین بالا خانواده نوکلئوزید تری فسفات هیدرولاز ها حلقه P
At3g20410	پروتئین کیناز دومین کالمودولین ۹
At2g11520	سیتوپلاسمیک کیناز شبه گیرنده متصل به کالمودولین ۳
At3g13320	تبادل گر کاتیونی ۲
At2g02870	پروتئین بالا خانواده تکرار گالاکتوز اکسیداز / kelch
At4g20300	پروتئین با عملکرد ناشناخته (DUF1639)
At1g21200	عوامل رونویسی متصل به DNA اختصاصی توالی
At3g03740	دومین POZ-BTB و MATH

جدول پیوست-۴- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان الکل دهیدروژناز ۱ آرابیدوپسیس

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At1g77120	الکل دهیدروژناز ۱
At5g10040	پروتئین بیان شده
At4g17260	پروتئین خانواده لاکتات / ملات دهیدروژناز
At5g25110	پروتئین کیناز ۲۵ تداخلی با CBL
At5g19550	آسپارات آمینوترانسفراز ۲
At3g28480	اکسیژناز وابسته به اگزوگلوکاترات / آهن
At2g31390	پروتئین خانواده کربوهیدرات کیناز شبه pfkB
At5g56350	پروتئین خانواده پیروات کیناز
At5g20830	ساکارز سینتاز ۱
At2g36460	پروتئین بالا خانواده آلدولاز

جدول پیوست-۵- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان 20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E1 آرابیدوپسیس

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At1g53850	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E1
At3g60820	پروتئین بالا خانواده نوکلئوفیل آمینوهیدرولاز انتهای آمینی
At5g42790	پروتئازوم آلفا زیرواحد F1
At3g22110	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد C1
At5g09900	زیرواحد تنظیم‌کنندگی 26S پروتئازوم (RPN5)
At4g24820	26S پروتئازوم، زیرواحد تنظیم‌کنندگی Rpn7
At2g26590	ذرات تنظیم‌کنندگی غیر آدنوزین تری فسفاتاز ۱۳
At3g14290	20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E2
At5g05780	زیرواحد RP غیر آدنوزین تری فسفاتاز 8A
At1g01910	پروتئین بالا خانواده نوکلئوزید تری فسفات هیدرولاز ها حلقه P
At1g64520	ذرات تنظیم‌کنندگی غیر آدنوزین تری فسفاتاز 12A
At1g45000	پروتئین خانواده آدنوزین تری فسفاتاز نوع AAA
At1g67250	عامل بلوغ پروتئازوم UMP1
At3g18940	پروتئین مرتبط با clast3
At1g56450	20S پروتئازوم بتا زیرواحد G1
At3g22630	20S پروتئازوم بتا زیرواحد D1
At1g79210	پروتئین بالا خانواده نوکلئوفیل آمینوهیدرولاز انتهای آمینی
At2g03430	پروتئین خانواده تکرار آنکرین
At1g21720	پروتئازوم بتا زیرواحد C1
At1g16470	پروتئازوم زیرواحد PAB1
At5g16440	ایزوپنتیل دی فسفات ایزومراز
At4g14800	20S پروتئازوم بتا زیرواحد D2
At5g43010	ذرات تنظیمی آدنوزین تری فسفاتاز AAA
At3g43520	پروتئین‌های تراغشایی 14C
At1g22920	COP9 سیگنالوزوم 5A
At1g09100	26S پروتئازوم آدنوزین تری فسفاتاز AAA زیرواحد RPT5B
At1g65020	پروتئین بیان‌شده
At5g64760	ذرات تنظیم‌کنندگی غیر آدنوزین تری فسفاتاز زیرواحد 5B
At4g17510	هیدرولاز انتهای کربوکسیلی یوبی کوئیتین
At1g47830	پروتئین بالا خانواده شبه SNARE
At2g28060	پروتئین کیناز فعال شده با ۵' آدنوزین مونوفسفات زیرواحد بتا ۲

جدول پیوست-۶- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان بازدارنده *Bax1* (*BI-1*) آرابیدوپسیس

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At5g47120	بازدارنده <i>Bax1</i> ( <i>BI-1</i> )
At4g23630	پروتئین تداخلی با VIRB2 شماره ۱
At5g58020	پروتئین بیان شده، شامل PF04641: پروتئین با عملکرد ناشناخته DUF602
At5g03080	پروتئین خانواده فسفاتیدیک اسید فسفاتاز (PAP2)
At1g33230	پروتئین شبه TMPIT
At1g09140	پروتئین سرین-آرژینین ۳۰
At5g45130	همولوگ RAB شماره ۱
At3g57090	پروتئین بالا خانواده شبه تترایکوپپتید (TPR)
At5g47200	A1 همولوگ RAB گوانوزین تری فسفاتاز
At3g05500	پروتئین عامل طویل سازی Rubber (REF)
At4g30600	پروتئین خانواده زیرواحد آلفا گیرنده ذرات تشخیص دهنده سیگنال
At1g18210	پروتئین خانواده EF-hand متصل به کلسیم
At5g58730	پروتئین خانواده کربوهیدرات کیناز شبه pfkB
At2g41160	پروتئین وابسته به یوبی کوئیتین (UBA)
At5g47420	شبه پروتئین تضعیف کننده اتصال تریپتوفان RNA
At3g08970	پروتئین حاوی دومین انتهای آمینی شوک حرارتی DNAJ
At4g17420	شبه پروتئین تضعیف کننده اتصال تریپتوفان RNA
At5g35460	پروتئین بیان شده
At4g11600	گلوکاتیبون پروکسیداز ۶

جدول پیوست-۷- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان *FtsH* پروتئاز آرابیدوپسیس

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At2g30950	خانواده <i>FtsH</i> پروتئاز خارج سلولی
At1g50250	<i>FtsH</i> پروتئاز ۱
At3g19170	پیش توالی پروتئاز ۱
At5g08740	نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات دهیدروژناز C1
At5g50920	مشابه کازئینولیتیک
At1g09130	پروتئین خانواده کازئینولیتیک (Clp) پروتئاز/کازئینولیتیک کروتوناز وابسته به ATP
At4g14210	فایتوئین دساچوراز ۱
At2g21340	پروتئین انتشار به خارج MATE
At3g05350	پروتئین خانواده متالوپپتیداز M24
At5g22830	انتقال دهنده منیزیم ۱۰
At1g01140	پروتئین کیناز ۹ تداخلی با CBL
At5g60600	۱- هیدروکسی-۲- متیل-۲- بوتنیل ۴- دی فسفات سینتاز
At1g49970	زیر واحد پروتئولیتیک CLP پروتئاز ۱
At3g27820	مونو دهیدروآسکوربات ردوکتاز ۴
At5g42390	پروتئین خانواده انسولیناز (M16 خانواده پپتیداز)
At5g06130	پروتئین چاپرون dnaJ
At4g38225	پروتئین بیان شده
At5g44000	پروتئین خانواده گلوکاتایون S- ترانسفراز
At1g10830	۱۵- سیس- زتا- کاروتن ایزومراز
At5g19540	پروتئین بیان شده
At4g33510	۳- داکسی- ۵- آرابینو- هپتولوزونات ۷ فسفات سینتاز ۳
At1g05030	انتقال دهنده هگزوز
At1g54520	پروتئین بیان شده
At1g78140	پروتئین بالا خانواده متیل ترانسفراز های وابسته به S- آدنوزیل-L- متیونین
At3g52880	مونو دهیدروآسکوربات ردوکتاز ۱



جدول پیوست-۸- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان سیستمین پروتئاز آرابیدوپسیس

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At4g39090	سیستمین پروتئاز خانواده Papain
At2g15890	Maternal effect embryo arrest 14 (MEE14)
At4g14270	پروتئین حاوی موتیف PAM2، پروتئین بیان شده
At2g46550	پروتئین بیان شده
At5g27280	پروتئین انگشت روی نوع Zim17
At4g02370	پروتئین با عملکرد ناشناخته، DUF538
At2g33830	پروتئین خانواده مرتبط با کمون/اکسین
At4g05150	پروتئین خانواده Octicosapeptide/Phox/Bem1p
At1g33970	پروتئین بالا خانواده نوکلئوزید تری فسفات هیدرولاز ها حلقه P
At5g18680	پروتئین شبه توبی ۱۱
At5g66880	پروتئین کیناز مرتبط با ساکارز غیر تخمیری ۱ (SNF1)
At3g05120	پروتئین بالا خانواده آلفا/بتا هیدرولاز ها
At4g03510	اتصال حلقه غشا ۱
At4g11360	حلقه H2 انگشت A1B
At5g27320	پروتئین بالا خانواده آلفا/بتا هیدرولاز ها
At1g02300	پروتئین بالا خانواده سیستمین پروتئیناز ها
At5g26040	هیستون د استیلاز
At5g20030	پروتئین متصل به RNA شبه تئودور گیاهی
At3g16740	جعبه F و دومین‌های برهمکنش وابسته حاوی پروتئین
At3g55450	شبه PBS1
At5g23240	پروتئین حاوی دومین انتهای آمینی شوک حرارتی DNAJ
At4g02340	پروتئین بالا خانواده آلفا/بتا هیدرولاز ها
At3g20250	پومیلیو ۵
At3g06170	پروتئین بیوسنتز سرین و اسفنگولیپید حاوی دومین Serinc
At1g07230	فسفولیپاز C غیراختصاصی
At5g43780	پروتئین خانواده یوریدین کاذب سینتاز/ آرکانوزین ترانس گلايکوزیلاز
At1g63180	UDP-گلوکز / UDP-گالاکتوز ۴-اپی مرز ۳
At5g54080	هوموجنتیسات ۱۲- دی اکسیژناز
At4g30550	پروتئین بالا خانواده شبه گلوتامین آمیدوترانسفراز کلاس I
At5g56510	پومیلیو ۱۲
At1g17260	ایزوفرم آدنوزین تری فسفاتاز ۱۰
At5g62740	خانواده پروتئینی وابسته به غشا حاوی دومین SPFH/Band 7/PHB

جدول پیوست-۹- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان گلوتاتیون S- ترانسفراز آرابیدوپسیس

شماره دسترسی	عملکرد ژن
At3g62760	پروتئین خانواده گلوتاتیون S- ترانسفراز
At5g40320	پروتئین خانواده دومین C1 غنی از سیستئین/ هیستیدین
At3g27473	پروتئین خانواده دومین C1 غنی از سیستئین/ هیستیدین
At3g30350	پروتئین بیان شده
At1g06310	آسیل- کوآنزیم آ اکسیداز ۶
At3g45430	پروتئین خانواده لکتین پروتئین کیناز شبه کونکانوالین A
At3g15357	پروتئین بیان شده
At2g23050	پروتئین خانواده NPH3 پاسخ دهنده به نور گرایی
At5g52170	GLABROUS هومئودومین ۷
At3g15240	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین WNK
At5g15725	پروتئین بیان شده
At2g04480	پروتئین بیان شده

جدول پیوست-۱۰- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان گلوکاتایون-S- ترانسفراز برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os01g0371200	گلوکاتایون-S- ترانسفراز
Os01g0551000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0591000	آلدئید دهیدروژناز وابسته به نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید
Os01g0639200	اپیمراز/ دهیدراتاز وابسته به نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید
Os01g0647000	جعبه F شبه سیکلین
Os01g0679900	پروتئین خانواده دومین YTH عضو ۲
Os01g0926800	شبه پروتئین انتقال فسفاتیدیل اینوزیتول، انتهای آمینی
Os02g0114400	فسفولیپید/ گلیسرول آسیل ترانسفراز
Os02g0134000	دفسفو- کوآنزیم آ کیناز
Os02g0134400	L- آسپارات اکسیداز
Os02g0499000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0518100	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF803
Os02g0652000	پروتئین شبه PREG
Os02g0711900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0116200	استراز/ لیپاز/ تیواستراز
Os03g0147400	انتقال دهنده سترات
Os03g0181800	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF936
Os03g0259900	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF593
Os03g0341300	پروتئین تراغشایی مرتبط با MtN3 و بزاق
Os03g0364400	پروتئین شبه گیرنده فیتوسولفوکاین
Os03g0680800	پرولیل اندوپیتیداز (PREP)
Os03g0691400	پروتئین مرتبط با تخریب فنیل استیک اسید
Os03g0739700	پروتئین نامشخص UPF0114
Os03g0807900	RbcX شبه چارونین
Os04g0404800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os04g0626000	HMG-I و HMG-Y، متصل شونده به DNA
Os05g0383200	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os05g0582100	شبه Cas1p
Os06g0185900	فسفولیپید هیدروپروکسید گلوکاتایون پروکسیداز، پیش ماده کلروپلاست (PHGPx)
Os06g0214800	استراز/ لیپاز/ تیواستراز
Os06g0217300	عامل رونویسی MADS55

ادامه جدول پیوست-۱۰- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان گلوکاتایون-S- ترانسفراز برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os06g0593800	UDP- گلوکورونوزیل / UDP- گلوکوزیل ترانسفراز
Os06g0601100	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0694800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os07g0211200	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os07g0501900	انگشت روی
Os07g0685500	آلفا/ بتا هیدرولاز
Os09g0520200	آلفا/ بتا هیدرولاز
Os09g0539100	پروتئین شبه ۳- دهیدروکوئینات سینتاز
Os09g0563200	انتقال دهنده پتاسیم (AtPOT11)
Os10g0180000	همولوگ NpGUT1
Os10g0376200	تکرار غنی از لوسین
Os11g0120300	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF567
Os12g0134000	هیدروکسی متیل گلوکوزیل- کوآنزیم آ لیاز
Os12g0479900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os12g0502800	اورثید پرمناز ۱ (AtUPS1)
Os12g0594300	پروتئین کیناز حاوی دومین Octicosapeptide/Phox/Bem1p
Os12g0636200	پرولیل اندوپپتیداز (PREP)

جدول پیوست-۱۱- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیمیان بازدارنده *Bax1* (*BI-1*) برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os02g0125300	بازدارنده <i>Bax1</i> ( <i>BI-1</i> )
Os01g0200000	پروتئین اتوفاگوسیتوز شبه AUT1
Os01g0332200	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0583300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0593600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0667900	شبه گلو تاردوکسین
Os01g0723600	ریبوز- فسفات پیروفسفوکیناز ۳ (فسفوریبوزیل پیروفسفات سنتتاز ۳)
Os01g0787000	پروکسیداز
Os01g0788200	عامل انتقال هسته‌ای ۲
Os01g0788800	پروتئین حاوی شبه هومئودومین
Os01g0793900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0848700	Rab11C پروتئین مرتبط با Ras
Os02g0299300	استراز/ لیپاز/ تیواستراز
Os02g0515600	فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا ناشی از لیپو پلی ساکارید
Os02g0527300	عامل رونویسی شوک حرارتی ۳۱
Os02g0641300	میلوبلاستوزیس (Myb)، عامل رونویسی متصل شونده به DNA
Os02g0702100	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0782700	پروتئین‌های متصل شونده به عنصر پاسخ دهنده به اتیلن
Os03g0188500	گلو تلین
Os03g0192400	پروتئین خانواده <i>GRIM-19</i>
Os03g0240700	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0582000	فورمیمینو ترانسفراز، انتهای آمینی
Os03g0666500	پروتئین RHA1 مرتبط با Ras
Os03g0669300	گلایکوزید هیدرولاز
Os03g0762500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0788700	پروتئین حاوی دومین Beta-Ig-H3/fasciclin
Os04g0284900	متصل شونده به کالمودولین، گیاه
Os04g0404900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os04g0435500	گلو تاتیون S- ترانسفراز، انتهای آمینی
Os04g0467100	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os04g0492400	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os04g0530900	گلایکوزیل ترانسفراز
Os04g0548400	شبه پروتئین کیناز

ادامه جدول پیوست-۱۱- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان بازدارنده *Bax1* (*BI-1*) برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os04g0554200	پروتئین اسپرم
Os04g0569500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os05g0116000	پروتئین ذخیره‌ای بذر 11-S
Os05g0182500	پروتئین حامل یوبی کوئیتین Rad6
Os05g0210100	آنزیم لیپولیتیک (آنزیم تجزیه کننده/ کاهنده چربی)، L-S-D-G
Os05g0331200	نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات H غیر حساس به روتنون خارجی
Os05g0386900	رتیکولون
Os05g0484800	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF567
Os05g0516700	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os05g0571800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0133500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0247000	پروتئین ۲۳۱ سریعاً به دست آمده از Avr9/Cf-9
Os06g0671000	انتقال دهنده پتاسیم ۱
Os07g0164800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os07g0195300	جعبه F شبه سیکلین
Os07g0564600	شبه پروتئین غشاء ناقل ترشحی
Os07g0622000	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین فعال شده با تنش اسمزی/ اسیدآبسیزیک
Os07g0663300	خانواده BRUNOL پروتئین‌های متصل شونده به RNA
Os08g0208200	پپتیداز A1، پیسی
Os08g0293100	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os08g0433100	پروتئین عملکرد ناشناخته UPF0016
Os08g0440000	<i>v-SNARE</i> واسطه مسیر انتقال وزیکول
Os08g0480200	پروتئین بالاخانواده ۲- اگزوگلو تارات- Fe(II) اکسیژناز
Os09g0364800	پروتئین حمل و نقل فلزات سنگین/ سم زدایی
Os09g0453300	آنکسین
Os10g0474000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os10g0539600	پروتئین کیناز وابسته به کلسیم ۳
Os10g0542400	اکسپانسیون/ Lol pI
Os11g0547000	FKF1
Os12g0137100	آنکسین
Os12g0420300	تیروزین فسفاتاز
Os12g0631200	انگشت روی، نوع حلقه

جدول پیوست-۱۲- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان زیرواحد تنظیمی 26S پروتئازوم برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os02g0205300	زیرواحد تنظیمی 26S پروتئازوم همولوگ پروتئین متصل شونده به TAT
Os01g0150200	پروتئین شبه تیروزین فسفاتاز (PTPLA)
Os01g0227300	RAB7D
Os01g0267200	زیرواحد تنظیم کننده غیر ATPase 26S پروتئازوم ۱۴
Os01g0375200	دهیدروکوئینات دهیدراتاز/ پیش ماده شیکیمات دهیدروژناز
Os01g0550100	پروتئاز اختصاصی یوبی کوئیتین ۶
Os01g0600000	پلی پروتئین POL رتروالمنت شبه COPIA
Os01g0811100	پروتئازوم زیرواحد آلفا نوع ۳ (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد G)
Os02g0133800	پروتئازوم زیرواحد آلفا نوع ۱ (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد F)
Os02g0175800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0272600	Aph-1
Os02g0541700	پروتئین کمپلکس یوبی کوئینول- سیتوکروم C ردوکتاز
Os02g0564200	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0567000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0653800	پروتئین متصل شونده به گوانوزین تری فسفات
Os02g0670500	عامل قلبایی شدن سریع
Os02g0713400	تیوردوکسین ردوکتاز ۱ وابسته به NADPH
Os02g0717300	ترانسلوکاز غشا داخلی ورودی میتوکندریایی، زیرواحد Tim17/22
Os02g0770000	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۱
Os02g0803700	همولوگ زیرواحد 6A تنظیمی 26S پروتئازوم (همولوگ پروتئین متصل به TAT)
Os03g0180400	زیرواحد آلفا نوع ۶ پروتئازوم ( 20S پروتئازوم آلفا زیرواحد A)
Os03g0243300	زیرواحد ۴ تنظیمی غیر ATPase 26S پروتئازوم متصل به مولتی-یوبی کوئیتین
Os03g0695600	زیرواحد بتا نوع ۲ پروتئازوم (زیرواحد D آلفا 20S پروتئازوم)
Os03g0774200	زیرواحد ۸ نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید کاهیده- یوبی کوئینون اکسیدوردوکتاز
Os03g0780600	زنجریر توبولین بتا ۱
Os03g0805300	ایزوفرم ۴ فسفو پروتئین فسفاتاز
Os03g0806900	زیرواحد ۱۴ کیلو دالتونی سیتوکروم-C ردوکتاز
Os03g0820600	عامل دپلمریزه کننده اکتین ۳ (ZmABP3) (ADF 3) (ZmADF3)
Os03g0831800	Sec13p
Os03g0854100	پروتئین ZIGA2 حاوی انگشت روی شبه GAP ARF
Os04g0614000	پروکسیزومال ۲۴- دی انول- کوآنزیم آ ردوکتاز
Os05g0187000	زیرواحد ۲ بتا 20S پروتئازوم
Os05g0208000	جابجا کننده ۲- اگزوگلو تارات/ مالات
Os05g0371200	زیرواحد ۱۴ تنظیمی غیر ATPase 26S پروتئازوم
Os05g0481600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os05g0490800	زیرواحد آلفا نوع ۳ پروتئازوم (زیرواحد G آلفا 20S پروتئازوم)

ادامه جدول پیوست-۱۲- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان زیرواحد تنظیمی 26S پروتئازوم برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os05g0564400	پروتئین متصل به گوانوزین تری فسفات
Os06g0192600	زیرواحد AAA آدنوزین تری فسفاتاز ذرات تنظیم کننده 26S پروتئازوم
Os06g0219600	شبه پروتئین II متصل شونده به پلی A
Os06g0342100	پروتئین ۱۹ کیلودالتونی ذرات شناسایی سیگنال (SRP19)
Os06g0643100	زیرواحد نوع ۳ بتا پروتئازوم (زیرواحد C آلفا 20S پروتئازوم)
Os06g0653900	زیرواحد SEC61 گاما پروتئین انتقال پروتئین
Os06g0714100	پروتئین LYR
Os07g0223400	عامل آدنوزین دی فسفات ریبوزیلاسیون
Os07g0435100	زیرواحد RPN12 پروتئازوم 26S
Os07g0577700	آدنوزین تری فسفات- سیترات لیاز/ سوکسینیل- کوآنزیم آ لیگاز
Os07g0585800	زیرواحد NADH- یوبی کوئینون اکسیدوردوکتاز
Os07g0640100	پروتئین خانواده Complex 1 LYR protein
Os08g0182400	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os08g0185300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os08g0243600	هیدرولاز شبه هالواسید دهالوژناز
Os08g0431500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os08g0440500	پروتئین حاوی دومین MIR
Os08g0532900	پروتئین خانواده emp24/gp25L/p24
Os08g0556600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os09g0382500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os09g0513600	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین PBS1
Os09g0515200	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۷
Os09g0556000	زیرواحد ۲۲ کیلودالتونی سیگنال پپتیداز
Os09g0558100	پروتئین القایی دمای پایین
Os10g0320400	زنجیر گاما آدنوزین تری فسفات سینتاز، پیش ماده میتوکندریایی
Os10g0510000	اکتین
Os10g0551600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os10g0579300	زیرواحد NADH- یوبی کوئینون اکسیدوردوکتاز
Os11g0264600	پروتئین فرضی
Os11g0615700	زیرواحد آلفا نوع ۵ پروتئازوم ( 20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E)
Os11g0637700	RNP-1 متصل شونده به RNA
Os11g0693800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os12g0106900	هموپکسین
Os12g0169700	شبه پروتئین متصل به پیوکلین آهن‌دار



جدول پیوست-۱۳- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان سیستئین پروتئیناز ۱ برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os04g0311400	سیستئین پروتئیناز ۱
Os01g0114300	شبه پروتئین کیناز
Os01g0559600	شبه C13 endopeptidase NP1 precursor
Os02g0667500	پروتئین MFS_1 بالاخانواده تسهیل کننده اصلی
Os03g0111400	پروتئین انتقال فلزات سنگین / سم زدایی
Os04g0415200	پروتئین مرتبط با TB2/DP1 و HVA22
Os04g0650000	زنجیر آلفا اوریزائین
Os05g0103300	پروتئین AT.I.24-5
Os05g0409300	بازدارنده سیستئین پروتئاز
Os06g0244000	کربوکسیل متیل ترانسفراز وابسته به S- آدنوزیل -L- متیونین
Os06g0609600	EF-Hand
Os07g0204100	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os08g0364900	پروتئین شبه پیرین
Os08g0556900	سیستئین پروتئیناز
Os09g0562700	پروتئین Pre-pro-TPE4A
Os10g0503800	پروتئین رمورین
Os11g0118800	شبه پروتئین بیان شده
Os11g0155100	جعبه F شبه سیکلین
Os11g0198200	پروتئین فرضی حفاظت شده

جدول پیوست-۱۴- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان آسپارتیک پروتئیناز ۱ برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os05g0567100	آسپارتیک پروتئیناز اوریزاسین ۱
Os01g0182300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0242900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0348600	پروتئین چند عملکردی اسید چرب (MFP2)
Os01g0610100	توالی Clone ZZZ51 mRNA
Os01g0841600	تریوز فسفات ایزومراز، سیتوزولی (TIM)
Os01g0886600	زیرواحد CLPX تنظیم‌کنندگی CLP پروتئاز
Os01g0899000	پروتئین شبه Pti1 کیناز
Os02g0195600	انگشت روی، نوع A20
Os02g0261100	آنزیم مزدوج‌کننده یوبی کوئیتین OsUBC5b
Os02g0520800	زیرواحد آهن-سولفور یوبی کوئینول-سیتوکروم C ردوکتاز
Os02g0556600	پروتئین فروفورین - dz1
Os02g0586400	پروتئین Rab2 متصل شونده به گوانوزین تری فسفات کوچک
Os02g0596500	پروتئین خانواده Snf7
Os02g0634800	آنزیم مزدوج‌کننده یوبی کوئیتین، E2
Os02g0648300	پروتئین حاوی شبه هومئودومین
Os02g0670000	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF300
Os02g0709300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0782700	پروتئین متصل شونده به عنصر پاسخ دهنده به اتیلن ۱
Os02g0823600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0824700	زیرواحد F آنزیم ATP سینتاز واکوئلی (زیرواحد F آدنوزین تری فسفاتاز واکوئلی)
Os03g0120300	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF1084
Os03g0168000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0219200	سوپر اکسید دیسموتاز
Os03g0221200	هوموسیستئین S-متیل ترانسفراز ۱
Os03g0222600	پروتئین مرتبط با کالئوزین
Os03g0258900	گالاکتوز اکسیداز، مرکزی
Os03g0265300	ناقل سوپسترای میتوکندریایی
Os03g0322800	اتصال و بلع و تحرک سلول در طی فاگوسیتوز
Os03g0701600	پروتئین فرضی حفاظت شده

ادامه جدول پیوست-۱۴- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان اسپارتیک پروتئیناز ۱ برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os03g0712300	پروتئین شبه CROC-1
Os03g0769500	EF-Hand
Os03g0772800	سیتوکروم C اکسیداز، زیرواحد VIa
Os03g0795500	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF1000
Os03g0806800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0820600	عامل دپلیمریزه کننده اکتین ۳ (ZmADF3)
Os03g0847600	پروتئین متصل شونده به GAMYB
Os03g0851500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os04g0137500	زیرواحد F آنزیم ATP سینتاز واکوئلی (زیرواحد F آدنوزین تری فسفاتاز واکوئلی)
Os04g0386600	ایزوسیترات لیاز و فسفوریل میوتاز
Os04g0546400	پپتیداز C12، یوبی کوئیتین کربوکسیل- هیدرولاز نهایی ۱
Os04g0548000	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF862 یوکاریوتی
Os04g0645600	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF6 تراغشایی
Os04g0653200	انتقال دهنده کلسیم با میل ترکیبی پایین
Os04g0659900	عامل احتمالی ترجمه
Os05g0105200	پروتئین Rab-1B مرتبط با Ras
Os05g0116000	پروتئین ذخیره‌ای بذر 11-S
Os05g0341600	پروتئین Rab-21 مرتبط با Ras
Os05g0372400	لیپاز، کلاس ۳
Os05g0419600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0124900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0192600	آدنوزین تری فسفاتاز AAA ذرات تنظیم کنندگی 26S پروتئازوم زیرواحد ۱
Os06g0207200	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0714000	پروتئین عملکرد ناشناخته UPF0183
Os07g0159800	پروتئین E1 و آلرژي زای Def2/Der2
Os07g0236800	پروتئین غیر تخمیری ساکارز ۷ (Snf7)
Os07g0584000	پروتئین CG15309 شبه Yippee
Os08g0130000	پروتئین متصل شونده به DNA
Os08g0139200	F-171-b1_1
Os08g0152600	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF1336

ادامه جدول پیوست-۱۴- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان اسپارتیک پروتئیناز ۱ برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os08g0265500	پروتئین افزایش شیردهی ۱
Os08g0414500	متصل شونده به Helix-loop-helix DNA
Os08g0433100	پروتئین عملکرد ناشناخته UPF0016
Os08g0440000	<i>v-SNARE</i> واسطه مسیره‌های انتقال وزیکول
Os08g0558600	پروتئین حاوی LD (Longin domain)
Os09g0286400	تبادلگر سدیم/ هیدروژن
Os09g0394900	پروتئین شبه آنکسین
Os09g0413000	پروتئین فرضی
Os09g0416700	انتقال وزیکول لازم برای تردد پروتئین بین اندامک‌های یوکاریوتی
Os09g0487600	عامل بیماری‌زایی، پکتین لیاز
Os09g0505700	ریبولوز فسفات ۳- اپیمراز، ایزوفرم سیتوپلاسمی (ریبولوز-۵- فسفات اپیمراز)
Os09g0511500	انگشت روی، نوع حلقه
Os09g0516900	منطقه اتصال C2 کلسیم/ لیپید (CaLB)
Os09g0526800	پروتئین حاوی دومین NC
Os10g0447100	آنزیم مزدوج کننده یوبی کوئیتین (پروتئین ناقل یوبی کوئیتین ۵)
Os10g0456600	Ras گوانوزین تری فسفاتاز (Ras GTPase)
Os10g0457600	استیل کوآنزیم آ C- آسیل ترانسفراز (۳- کتوآسیل- کوآ تیولاز b)
Os11g0127700	پروتئین فرضی
Os11g0132400	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF872 یوکاریوتی
Os11g0157200	الفا شده با هارپین ۱
Os11g0515500	پروتئین پاسخ‌به مهارکننده انتقال ۱ (پروتئین تکرار جعبه F/ تکرار غنی از لوسین)
Os11g0551800	پروتئین شبه Yippee (DGL-1) (Mdgl-1)
Os11g0655800	لیپاز، کلاس ۳
Os12g0158600	پروتئین مرتبط با TB2/DP1 و HVA22
Os12g0210200	گلوکاتایون S- ترانسفراز ۱۸
Os12g0236400	آدنیلات کیناز A (آدنوزین تری فسفات- آدنوزین مونوفسفات ترانس فسفوریلاز)
Os12g0433700	پروتئین منفی تنظیم شده با نور <i>gibba Lemna</i> (Lg106)
Os12g0516800	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF231 گیاه
Os12g0554100	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF231 گیاه
Os12g0631100	گوانوزین تری فسفاتاز کوچک Ras

جدول پیوست-۱۵- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان پروتئین RIC2 مرتبط با Ras برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os06g0551400	پروتئین RIC2 مرتبط با Ras
Os01g0176200	UDP- گلوکوروئوزیل / UDP- گلوکوزیل ترانسفراز
Os01g0279300	کالمودولین ۱
Os01g0514000	پروتئین 50S ریبوزومی L24e
Os01g0652600	کتول- اسید ردوکتو ایزومراز، کلروپلاست (استوهیدروکسی- اسید ردوکتو ایزومراز)
Os01g0782300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0235600	پروتئین 60S ریبوزومی L11-2 (L16)
Os02g0264700	پروتئین شبه پروتئینی ابریشم تاژک مانند
Os02g0274000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0279800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0503400	پروتئین 60S ریبوزومی L35
Os02g0595400	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0604100	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0834000	پروتئین اتصال گوانوزین تری فسفات کوچک Rop4
Os03g0115200	شریک پروتئین حاوی دومین KH شبه Nob1; Pno1p; Yor145cp
Os03g0158500	پروتئین شبه YT521-B
Os03g0234200	یوبی کوئیتین
Os03g0298800	پروتئین اسپلازومال
Os03g0349600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0352400	پروتئین اتصال گوانوزین تری فسفات نوکلئولار ۲ (اتوانتی ژن-NGP-1)
Os03g0353000	پروتئین فرضی
Os03g0699400	پروتئین B گروه خاموشی
Os03g0815900	ژن polymerase DNA-directed RNA
Os04g0106300	آرژیناز
Os04g0297800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os04g0349500	پروتئین 40S ریبوزومی S8
Os04g0430600	پروتئین فرضی حفاظت شده

ادامه جدول پیوست-۱۵- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان پروتئین RIC2 مرتبط با Ras برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os04g0449900	پروتئین متصل شونده به RNA ۴۷
Os04g0478000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os04g0502300	پروتئین 40S ریبوزومی S11
Os04g0692100	کوفاکتور تا خوردگی توبولین B
Os05g0114800	رونوشت کد کننده غیر پروتئینی، npRNA
Os05g0417300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os05g0460200	پروتئین ناقل یوبی کوئیتین
Os05g0528200	پروتئین 50S ریبوزومی L20
Os06g0311600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0644100	ناحیه تنظیم کنندگی کربوکسی پپتیداز
Os06g0688100	عامل شروع رونویسی اختصاصی RNA پلی مرز یک RRN3
Os07g0609700	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os08g0412200	ناحیه RNP-1 متصل شونده به RNA (موتیف شناسایی RNA)
Os08g0505300	پروتئین 60S ریبوزومی L31
Os09g0510200	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF667
Os10g0124000	پروتئین هسته ای شبه گروه دارای موتیف های با تحرک زیاد
Os10g0328100	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os10g0420000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os10g0548400	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os11g0615200	جابجایی سارکوم سینوویال به کروموزوم X (SSXT)
Os11g0660500	پروتئین تومور کنترلی ترجمه (TCTP)، مؤثر در مقاومت به تنش‌های زیستی
Os11g0703900	پروتئین ۷۰ کیلودالتونی شوک حرارتی
Os12g0225100	دومین‌های اتصال نوکلئوتید، با یک ساختار تاخورد
Os12g0477600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os12g0554300	رونوشت کد کننده غیر پروتئینی، رونوشت غیرقابل طبقه بندی
Os12g0595500	پروتئین فرضی

جدول پیوست-۱۶- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان *FtsH* پروتئاز برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os06g0669400	<i>FtsH</i> پروتئاز (VAR2)، پروتئاز وابسته به روی
Os01g0120500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0151200	پروتئین غشا داخلی ALBINO3
Os01g0164600	پروتئین حاوی دومین شبه پروتئین فسفاتاز 2C
Os01g0218700	انتقال دهنده کاست متصل کننده آدنوزین تری فسفات، ناحیه تراغشایی، نوع ۱
Os01g0501700	TATC (CpTatC)
Os01g0589800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0730500	فردوکسین (خانواده فردوکسین نوع باکتریایی)
Os01g0884900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0895100	پروتئین ۳۰ کیلودالتونی وابسته به غشا، کلروپلاست
Os02g0188000	UDP- گلوکورونوزیل / UDP- گلوکوزیل ترانسفراز
Os02g0234500	اپیمراز/ دهیدراتاز وابسته به نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید
Os02g0529400	اینورتاز
Os02g0533000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0535000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0595700	عامل طویل سازی ترجمه ای کلروپلاست Tu
Os02g0634500	زیر واحد پروتئولیتیک Clp پروتئاز وابسته به ATP (Clp اندوپپتیداز)
Os02g0638300	فردوکسین - تیوردوکسین ردوکتاز
Os02g0643500	پروتئین حاوی تکرار پنتاپپتید
Os02g0649700	پپتیداز M41، <i>FtsH</i> خارج سلولی
Os02g0707100	مونو دهیدروآسکوربات ردوکتاز، ایزوآنزیم گیاهچه
Os02g0759900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0766000	پروتئین DCL، کلروپلاست (پروتئین برگ‌ها و کلروپلاست های معیوب)
Os03g0131200	ایزوآنزیم کاتالاز ۲ (EC 1.11.1.6)
Os03g0137300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0210700	پروتئین فرضی
Os03g0284600	تیوردوکسین تاخورد

ادامه جدول پیوست-۱۶- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان *FtsH* پروتئاز برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os03g0351200	اپیمراز/ دهیدراتاز وابسته به نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید
Os03g0704100	پروتئین‌های وابسته به پلاستید لیپید فیبریلین (PAP fibrillin)
Os03g0729300	تیوردوکسین تاخورد
Os03g0744700	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0767500	پروتئین حاوی دومین تیوردوکسین ۲
Os03g0773800	مالات دهیدروژناز، گلی‌اکسی‌زومال (mbNAD-MDH)
Os03g0795000	پروتئین مرتبط با انتقال بیوپترین
Os03g0807900	پروتئین <i>RbcX</i> شبه چاپرونین
Os03g0826600	فسفولیپاز
Os03g0838900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0841900	آمین اکسیداز
Os03g0851200	پروتئین تداخلی با CAX (CAXIP1)
Os04g0338100	پروتئین IN2-2
Os04g0416000	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF1279
Os04g0445200	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF861، پروتئین حاوی دومین cupin_3
Os04g0525000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os04g0676100	تیوردوکسین X، کلروپلاست
Os05g0110800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os05g0353300	پروتئین حاوی تکرار پنتاتریکوپپتید
Os05g0514200	OsPK4
Os05g0533700	زیرواحد ۲۰ کیلودالتونی NADH- یوبی کوئینون اکسیدوردوکتاز، میتوکندریایی
Os06g0146400	پروتئین خانواده HesB/YadR/YfhF
Os06g0624900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0694800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os07g0108300	آلانین آمینوترانسفراز
Os07g0176900	ریبوز-۵- فسفات ایزومراز
Os07g0476900	پروتئین حاوی دومین تیوردوکسین ۲



ادامه جدول پیوست-۱۶- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان *FtsH* پروتئاز برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os07g0491900	اکسیدوردوکتاز وابسته به فلاوین آدنین دی نوکلئوتید (FAD)
Os07g0601000	کد کننده آنزیم HC- توکسین ردوکتاز وابسته به NADPH، غیرفعال کننده سم HC
Os07g0626400	پروتئین چاپرون dnaJ
Os07g0656700	پروتئین نامشخص UPF0114
Os08g0242700	پروتئین فرضی
Os08g0260000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os08g0411200	موتیف متصل شونده به SAM
Os08g0432500	پروتئین تعدیل کننده Clp پروتئاز وابسته به آدنوزین تری فسفات ClpS
Os08g0463900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os08g0545700	پروتئین تعیین کننده اسیدفسفاتاز مقاوم به تارتارات (TraB)
Os08g0557400	پروتئین شبه تیروزین فسفاتاز
Os08g0558200	گلوکاتیون S- ترانسفراز، انتهای آمینی
Os09g0249900	فردوکسین- تیوردوکسین ردوکتاز
Os09g0413700	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os09g0454100	پروتئین شبه رومبویید
Os09g0569100	هیدرولاز شبه هالواسید دهالوژناز
Os10g0419500	شبه پروتئین القا شده در شرایط غرقابی (SIPL)
Os10g0419600	کلروفیلاز
Os10g0492300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os10g0525000	سیتوکروم P450
Os10g0556200	SPATULA
Os11g0140800	پروتئین سیر تکامل زندگی سیتوکروم C، منطقه تراغشایی
Os11g0526200	پروتئین فرضی
Os11g0603200	پروتئین خانواده کاست اتصال آدنوزین تری فسفات (ABCF)
Os12g0137300	پروتئین سیر تکامل زندگی سیتوکروم C
Os12g0405200	آنزیم غشایی ارتولوگ NnrU/NnuR حفاظت شده

جدول پیوست-۱۷- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان پروتئین کیناز سرین/ ترئونین برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os07g0150700	پروتئین کیناز سرین/ ترئونین
Os01g0149200	پروتئین شبه متالوتیونین ۲
Os01g0149800	پروتئین شبه متالوتیونین ۲
Os01g0299300	شبه اینتگرز لامبدا
Os01g0305200	پروتئین منفی تنظیم شده نور <i>Lemna gibba</i> (Lg106)
Os01g0337500	H (+) - پیروفسفاتاز
Os01g0343300	انگشت روی، نوع GATA
Os01g0607200	زیرخانواده آمینواسید پرمناز
Os01g0627400	سیتوکروم P450 مونواکسیژناز CYP72A5
Os01g0830500	۲ اگزوگلو تارات- آهن (II) اکسیژناز
Os01g0841700	پروتئین فلوئم برنج (RPP17-1)
Os01g0925200	پروتئین شبه انول کوآنزیم آ هیدراتاز
Os02g0134000	دفسفو- کوآنزیم آ کیناز
Os02g0167000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0578800	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF962
Os02g0655500	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF862 یوکاریوتی
Os03g0117200	پروتئین بیوسنتز ریوفلاوین RIBD
Os03g0118200	انتقال دهنده N-UDP- استیل گلوکز آمین (UAA)
Os03g0133500	پروتئین متصل شونده به آدنوزین مونوفسفات ۱ (AMPBP1)
Os03g0186600	عامل رونویسی MADS-box
Os03g0194900	پروتئین حاوی دومین مرتبط با DOMON
Os03g0364400	پروتئین شبه گیرنده فیتو سولفوکین
Os03g0366100	پروتئین فرضی
Os03g0598900	DSBA اکسیدوردوکتاز (تیول پروتئین پری بلاسمیک: دی سولفید اکسیدوردوکتاز)
Os04g0373400	پروتئین دفع ضد میکروبی چندگانه MatE
Os04g0430700	بازدارنده پروتئیناز، پروپتید
Os04g0511200	EFA27 برای EF hand، اسید آبسزیک، ۲۷ کیلودالتون
Os04g0519900	پروتئین فرضی
Os04g0523600	UDP- گلوکورونوزیل / UDP- گلوکوزیل ترانسفراز
Os04g0618200	UDP- گلوکز ۴- اپیمراز
Os04g0659800	انتقال دهنده اسید آمینه‌ای b
Os05g0267800	متصل شونده به رتین آلدهید سلولی / عملکرد سه گانه، انتهای آمینی
Os05g0363100	آلفا/ بتا هیدرولاز

ادامه جدول پیوست-۱۷- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیمیان پروتئین کیناز سرین/ ترئونین برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os05g0413400	ایزوپنتنیل دی فسفات ایزومراز ۱
Os05g0457800	گلیسرول-۳- فسفات آسیل ترانسفراز ۵ (AtGPAT5)
Os05g0541700	پروتئین فرضی
Os06g0128800	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0132500	آلفا/ بتا هیدرولاز
Os06g0152700	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF821، پروتئین خانواده شبه CAP10
Os06g0523300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0596300	آسیل- ACP تیواستراز
Os06g0624900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0649700	منطقه عملکرد ناشناخته DM13
Os06g0691800	شبه پروتئین کیناز
Os07g0249800	ایندول استیک اسید- آمینواسید هیدرولاز ۱
Os07g0494900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os07g0503300	UDP- گلوکورونوزیل / UDP- گلوکوزیل ترانسفراز
Os07g0599900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os07g0633100	X8
Os07g0647200	سیتوکروم P450
Os07g0680000	گیرنده مرتب‌سازی واکوئلی ۱ (AtVSR1)، گیرنده عامل رشد اپیدرمی ۱ (AtELP1)
Os07g0684800	پروتئین شبه NAM/CUC2
Os08g0163500	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF1005
Os08g0529800	منطقه لیپاز مرتبط با AB- هیدرولاز
Os09g0401000	عامل رونویسی میلوبلاستوزیس (MYB)
Os09g0426800	پروتئین Glossy1
Os09g0434500	عامل پاسخ به اتیلن ۲
Os09g0512900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os09g0526800	پروتئین حاوی دومین NC
Os10g0122600	متصل شونده به رتین آلدهید سلولی / انتقال آلفا توکوفرول
Os10g0479900	عامل پاسخ به اکسین ۱۰
Os10g0498100	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os10g0516500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os10g0525400	گلوکاتیون S- ترانسفراز ۳۱ (GSTU31)
Os12g0578300	متصل شونده به کالمودولین، گیاه
Os12g0616500	تبادلگر سدیم/ هیدروژن

جدول پیوست-۱۸- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیم‌الکل دهیدروژناز ۲ برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os11g0210500	الکل دهیدروژناز ۲
Os01g0141000	پروتئین شبه RAV
Os01g0313300	پروتئین متصل شونده به عنصر پاسخ دهنده به اتیلن ۳
Os01g0548600	پروتئین کیناز
Os01g0766300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0855600	پروتئین Hs1pro-1
Os02g0242900	UDP- گلوکورونوزیل / UDP- گلوکوزیل ترانسفراز
Os02g0601300	گلیسرآلدهید-۳- فسفات دهیدروژناز، سیتوزولیک ۳
Os02g0743200	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0182900	رونوشت کد کننده غیر پروتئینی، npRNA
Os03g0225700	شبه پروتئین کیناز
Os03g0233900	هموگلوبین غیر همزیست ۱ (GLB1a ORYsa) (rHb1)
Os03g0234000	هموگلوبین غیر همزیست ۳ (GLB1c ORYsa) (rHb3)
Os03g0432100	پیش ماده ارتوفسفات دی کیناز
Os03g0576900	اسید آمینه/ انتقال دهنده پلی آمین
Os03g0724500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0769700	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os04g0311500	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF593
Os05g0387300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os05g0451300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os05g0469600	پیرووات دکربوکسیلاز
Os05g0524400	فسفوفروکتوکیناز
Os06g0521500	هیپم پروکسیداز
Os06g0707300	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF295
Os06g0714800	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF581
Os07g0194500	پرولیل ۴- هیدروکسیلاز، زیرواحد آلفا
Os07g0538200	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF26

ادامه جدول پیوست-۱۸- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان الکل دهیدروژناز ۲ برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os07g0541900	کیناز تداخلی با دومین KI
Os07g0542600	پروتئین کیناز
Os07g0673400	پروتئین عمومی تنش (Usp)
Os08g0345700	فروکتوز-۶- فسفات ۱- فسفوترانسفراز
Os08g0480400	پروتئین عملکرد ناشناخته DUF1637
Os08g0518800	همولوگ کیتیناز کلاس III (OsChib3H-h)
Os09g0243200	انگشت روی، نوع حلقه
Os09g0483500	پروتئین خانواده EF-hand متصل به کلسیم
Os09g0522200	پروتئین متصل شونده به عنصر پاسخ دهنده به کم آبی 1A
Os10g0364900	پروتئین فرضی
Os10g0376900	ناحیه دایمریزاسیون (bHLH) Basic helix-loop-helix
Os10g0390500	آلانین آمینوترانسفراز
Os11g0112000	پروتئین AIE
Os11g0183900	آسپارتیک پروتئیناز Asp1
Os11g0701000	همولوگ کیتیناز کلاس III (OsChib3H-c)
Os12g0111600	ناحیه حفاظت شده پروتئین القا شده با کاهش اکسیژن بافت

جدول پیوست-۱۹- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان 20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os11g0615700	20S پروتئازوم زیرواحد آلفا نوع ۵ ( 20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E)
Os01g0184800	پروتئین Phosducin
Os01g0254200	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0256900	پروتئین SmX6
Os01g0267200	زیرواحد ۱۴ تنظیم‌کنندگی غیر آدنوزین تری فسفاتاز 26S پروتئازوم
Os01g0316800	زیرواحد DSS1 مجموعه 26S پروتئازوم
Os01g0550100	پروتئین اختصاصی یوبی کوئیتین ۶
Os01g0819400	آنزیم مزدوج‌کننده یوبی کوئیتین (پروتئین ناقل یوبی کوئیتین)
Os01g0841600	تریوزفسفات ایزومراز، سیتوزولی
Os01g0866700	پروتئین شبه Sm
Os01g0894500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os01g0935900	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0162000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0178400	زیرواحد SEC61 گاما پروتئین انتقال پروتئین
Os02g0205300	همولوگ پروتئین متصل شونده به TAT
Os02g0272600	پروتئین خانواده Aph-1
Os02g0567000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0662200	ناحیه وابسته به YbaK / پرولیل-tRNA سنتتاز
Os02g0723700	پروتئین خانواده SNF5/SMARCB1/INI1
Os02g0727500	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os02g0770000	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۱
Os02g0803700	همولوگ زیرواحد 6A تنظیمی 26S پروتئازوم (همولوگ پروتئینی متصل به TAT)
Os03g0180400	پروتئازوم زیرواحد آلفا نوع ۶ (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد A)
Os03g0209400	پروتئین گلوتامیک اگزالواسیتیک ترانس آمیناز ۱ (Got1)
Os03g0287900	دی سولفید ایزومراز
Os03g0364000	پروتئین ترمیم برش UV، Rad23
Os03g0381200	پروتئین کلاهدک گذاری بتا ۳
Os03g0387100	20S پروتئازوم زیرواحد آلفا ۲
Os03g0744800	پروتئین خانواده emp24/gp25L/p24
Os03g0756800	پروتئین عملکرد ناشناخته UPF0139
Os03g0819900	پروتئین RABE1d مرتبط با RAB8C، ras
Os03g0824000	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os03g0848300	زیرواحد کمپلکس ۲/۳ پروتئین مرتبط با اکتین
Os04g0118500	پپتیدیل - پرولیل سیس - ترانس ایزومراز (Rotamase Pin1) (PPIase Pin1)
Os04g0165500	پروتئین فرضی حفاظت شده

ادامه جدول پیوست-۱۹- فهرست کلاستر ۲ ژن‌های هم‌بیان 20S پروتئازوم آلفا زیرواحد E برنج

شماره دسترسی	عملکرد ژن
Os04g0181100	القا کننده جراثیم شبه پاسخ فوق حساسیت
Os04g0432600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os04g0661300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os05g0110700	پروتئین خانواده Spc25 زیرواحد کینه توکور- Ndc80
Os05g0122900	پروتئین BLE1
Os05g0187000	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۲
Os05g0255600	پروتئین حاوی دومین تیوردوکسین ۲
Os05g0371200	زیرواحد ۱۴ تنظیم کنندگی غیر آدنوزین تری فسفاتاز 26S پروتئازوم
Os05g0380400	رونوشت کد کننده غیر پروتئینی
Os05g0383000	مارپیچ شبه تتراتریکوپپتید
Os05g0461000	کمپلکس تعدیل کننده کلاترین، زنجیر کوچک
Os05g0491100	کالمودولین
Os05g0593200	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os06g0153800	20S پروتئازوم زیرواحد بتا ۵
Os06g0219600	شبه پروتئین II متصل شونده به پلی (A)
Os06g0342100	پروتئین ۱۹ کیلودالتونی ذرات تشخیص سیگنال (SRP19)
Os06g0653900	زیرواحد SEC61 گاما پروتئین انتقال پروتئین
Os07g0223400	عامل ریبوزیلاسیون آدنوزین دی فسفات
Os07g0577700	سیترات لیاز/ سوکسینیل کوآنزیم آ لیگاز
Os07g0618800	سنترین (کالترکتین)
Os07g0691800	26S پروتئازوم زیرواحد AtRPT2a
Os08g0156700	پروتئین مرتبط با وزیکول ۲۷
Os08g0182400	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os08g0185300	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os08g0549300	پروتئین ناقل آسیل III، کلروپلاست (ACP III)
Os08g0556600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os09g0375100	رونوشت کد کننده غیر پروتئینی
Os09g0505600	پروتئازوم زیرواحد بتا نوع ۱، (20S پروتئازوم آلفا زیرواحد F)
Os09g0556000	زیرواحد ۲۲ کیلو دالتونی سیگنال پپتیداز
Os09g0568900	پروتئین بازدارنده F1F0-ATPase
Os11g0637800	فسفولیپید/ گلیسرول آسیل ترانسفراز
Os12g0287200	پروتئین ماگو ناشی (Nashi Mago)
Os12g0477600	پروتئین فرضی حفاظت شده
Os12g0616200	پروتئین شبه HUELLENLOS





proteins (e.g. Glutathione S-transferase, Bax inhibitor-1, Alcohol dehydrogenase 1 and Catalase 1), Ras-related protein RIC2, Calmodulin, EF-hand, Arabinogalactan protein, Myb, GRIM-19, SNARE-like, Vesicle transport v-SNARE, Fatty acid desaturase 2, Glutaredoxin-like, etc. Moreover, many shared Co-expressed genes were identified between Arabidopsis and Rice among which are; aspartic proteinase, RNA-binding RNP-1, enoyl-CoA hydratase/isomerase family, aldehyde dehydrogenase, ATP citrate lyase A-3, cysteine proteinase, Cytochrome P450, serine/threonine protein kinase WNK, Galactose oxidase superfamily protein, alpha/beta hydrolase superfamily protein, leucine rich-repeat family protein (LRR), calmodulin-domain protein kinase, Lactate/malate dehydrogenase family protein, oxoglutarate/Iron-dependent oxygenase, 20S proteasome alpha and beta, 26S proteasome, Isopentenyl-diphosphat isomerase, SNARE-like superfamily protein, Bax inhibitor-1 (BI-1), Tetratricopeptide-like superfamily protein (TPR), EF-Hand, FtsH protease, Clp protease proteolytic subunit, Monodehydroascorbate reductase, Chaperone protein dnaJ, glutathione S-transferase, S-adenosyl-L-methionine:carboxyl methyltransferase superfamily protein, zinc finger, octicosapeptide/Phox/Bem1p family protein, sucrose nonfermenting 1 (SNF1)-related protein kinase, F-box and serine/threonine kinase PBS1 protein. Our results indicated that most co-expressed genes identified in Arabidopsis and rice are high likelihood candidates for functional characterization in relation to in vitro androgenesis induction in monocot and dicot plants.

**Keywords:** Androgenesis, Arabidopsis, ATTED-II, Cis-acting regulatory elements, Genevestigator, Co-expressed genes, Mannitol, Microspore embryogenesis, Motif, Motif Sampler, PLACE, Rice, RiceFRIEND, Stress



## **Abstract**

Owing to the haploid nature of pollen cells, microspore embryogenesis (androgenesis) is a valuable tool to generate double haploids for breeding purposes. Microspore embryogenesis is based on the switch of microspores from their normal pollen development towards an embryogenic pathway, which can be induced by different stress treatments. Efficient androgenesis in plants is induced by a combination of starvation and osmotic stress, which is achieved via a mannitol treatment of anthers containing microspores at the mid-late to late uninucleate stage, just prior to the first pollen mitosis. At the molecular level, the induction of several genes marks the reprogramming of microspore toward the androgenic pathway. The basic assumption is that a cluster of co-expressed genes is regulated by the same transcription factors and the genes of a given cluster share common regulatory motifs. Accordingly, we hypothesized that genes indirectly connected with query genes may share common regulatory motifs. In this study, gene co-expression networks in Arabidopsis and rice were constructed using ATTED-II and RiceFRIEND databases, respectively and thereafter 1000 bp upstream of coding Region these genes in Arabidopsis and rice as promoter are chosen from TAIR and RAP-DB databases, respectively. To ensure the expression of these genes in the embryo, their expression patterns were evaluated using microarrays data present in Genevestigator software. The shared cis-acting regulatory elements were predicted by scanning 1000 bp upstream region of co-expressed genes, using the motif sampler software and PLACE database. The results obtained from the Genevestigator software indicated that all of these genes are expressed during embryogenesis. Several cis-acting regulatory elements that are associated with response to light, biotic and abiotic stresses, plant development and gene expression were identified among which are; -10 promoter element, G-box, GT-1, I-box, Box A, AuxRE, JARE, ERE, GCC-box, EIRE, ABRE, MYC, MYB, CRT/DRE, GARE, P-box, PRE, Q-element, ARE, SEF3, PolyA signal, A-box, C-box, T-box, S1F box, RY repeat, BS1, REalpha, REbeta, TATA box, etc. This result reveals the probable cis-acting regulatory elements that possibly are involved in the expression and regulation of co-expressed genes in Arabidopsis and rice during mannitol treatment and the reprogramming of microspore toward the androgenic pathway. Many genes were identified in our study among which are; Proteolytic genes (e.g. 20S proteasome, 26S proteasome, FtsH metalloprotease, Cysteine protease, Aspartic protease), stress-related





**University of Shahrood**

**Faculty of Agriculture**

**Department of Agronomy and Plant breeding**

**Bioinformatic analysis of genes involved in microspore embryogenesis  
pathway in monocot and dicot plants**

**Farshad Arab Ansari**

Supervisors

**Dr. Shahrokh Gharanjik**

**Dr. Naser Farrokhi**

Advisor

**M.Sc. Mahdi Rahimi**

September 2014