ژنتیک نوین
دوره سوم،شماره۱،بهار ۱۳۸۷
صفحه۶۸-۵۹

بر همزدگی تفرق بر اثر جهش در ژن های خانواده *VIN7* در آرابیدوپسیس تالیانا (*Arabidopsis thaliana*)

بتول حسین پور*[۱]، منصور امیدی[۱]، بهمن یزدی صمدی[۱]، زهرا خدارحم پور[۲] و رامین یادگاری[۳]
۱- دانشجوی دکتری،استاد،استاد، اصلاح نباتات گرایش ژنتیک مولکولی و مهندسی ژنتیک،گروهزراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۲-دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر
۳- دانشیار،گروه علوم گیاهی، دانشگاه آریزونا
* نویسنده مسئول مکاتبات، آدرس الکترونیک: bhosseinpour@ut.ac.ir

چکیده

یکی از روش های تنظیم بیان ژن ها تغییرات پس از ترجمه هیستون ها بوسیله هیستون استیلازها و داستیلازها می باشد. استیلاسیون باعث افزایش رونویسی و داستیلاسیون منجر به خاموشی ژن می شود. ثابت شده است که بازدارنده-یار *Sin*3 در پستانداران که دارای دامین PAH2 می باشند در داستیلاسیون نقش دارند. در ژنوم آرابیدوپسیس پیش بینی شده است که خانواده کوچک سه عضوی *VIN7* دارای دامین های مشابه PAH2 می باشند. بنابراین در این آزمایش با استفاده از ژنتیک مستقیم نحوه عمل این ژن ها تجزیه گردید به طوریکه فقط در ژنوتیپ *VIN7 (-/-); VIN7L1 (-/-); VIN7L2 (+/-)* حدود شش درصد عدم تشکیل بذر دیده شد. بررسی نتاج حاصل از تلاقی های متقابل با گیاه تیپ وحشی و خودگشنی این ژنوتیپ نشان داد که سلول های جنسی حاوی سه همردیف T-DNA می توانند بطور ناقص ار طریق والد نر و ماده به نسل بعد منتقل شوند و هم چنین نسبت ۲ *VIN7* (-/-); *VIN7L1* (-/-); *VIN7L2* (+/+) :۱ *VIN7* (-/-); *VIN7L1* (-/-); *VIN7L2* (+/-) در نتاج حاصل از خودگشنی *VIN7 (-/-); VIN7L1 (-/-); VIN7L2 (+/-)* بدست آمد.
مطالعه الگوی بیان ژن با استفاده از ساختار های پروتئین- GFP نشان داد هر سه ژن در یاخته های اولیه تخمک و میکروسپورها بیان می شوند. ژن *VIN7* علاوه بر این دو اندام فقط در ناحیه طویل شونده ریشه علامت GFP را نشان داد. *VIN7L1* در گلبرگ ها، جنین ها و ناحیه طویل شونده ریشه و *V7L2* در تمام گیاه بیان می شوند.
با توجه به شباهت الگوی بیان ژن ها و نبود یک گیاه موتانت خالص سه گانه، به نظر می رسد این ژن ها برای مراحل مختلف نموی مورد نیاز می باشند.

واژه های کلیدی

آرابیدوپسیس، VIN7 ، استیلاسیون، الگوی بیان

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.1.5.2]

مقدمه

طی نمو موجودات زنده چند سلولی با فعال سازی یا خاموش سازی برنامه های رونویسی متفاوت و مشخص تمایز صورت می گیرد و وضعیت حاصل بطور پایدار طی تقسیمات سلولی بعدی باید حفظ شود. مدل دهی کروماتین نقش مهمی در تنظیم وضعیت کروماتین و حفظ آن ایفا می کند، فرایندی که توارث اپی ژنتیک نامیده می شود. چندین روش برای تغییر ساختار کروماتین وجود دارد.

در یکی از این روشها تغییرات پس از ترجمه روی پروتئین های هیستونی توسط هیستون استیلازها، داستیلازها و متیل ترانسفرازها صورت می گیرد و بدین طریق دامین های[1] کروموزومی مشخص برای اتصال کمپلکس های پروتئینی متصل شونده به کروماتین مهیا می شوند.استیلاسیون اتصال بین هیستون و DNA را ضعیف کرده و با ممکن ساختن اتصال پروتئین های بروموداماین باعث رونویسی می شوند(۱). برخلاف هیستون استیلازها که فعال کننده-یار[2] های رونویسی هستند(۲)، بسیاری از بازدارنده-یار [3]ها فعالیت داستیلاسیون هیستون دارند(۱۷). کمپلکس کورپرسور Sin3 که حداقل از ده زیر واحد ساخته شده است یکی از مهمترین کمپلکس های بازدارنده-یار است که در سلول های پستانداران شناخته شده است و دارای اثرات منفی روی رونویسی ژن از طریق فعالیت آنزیم های هیستون داستیلاز می باشد(۷). کورپرسور Sin3 نقش دوگانه دارد: اول، بعنوان یک سکوی مولکولی برای جور شدن کمپلکس و دوم، بعنوان یک آداپتور ملکولی یا پلی بین هیستون داستیلازها و یک گروه بزرگ از فاکتورهای رونویسی متصل شونده به DNA و کروماتین عمل می نماید(۱۶). میان کنش ها بواسطه یک یا چند ناحیه از شش ناحیه موجود در Sin3 صورت می گیرد. این شش ناحیه در موجودات مختلف از مخمر تا انسان حفاظت شده است و شامل چهار کپی ناکامل PAH[4] دامین می باشد. کپی دوم به نام PAH2 جایگاهی برای میان کنش با چندین فاکتور از جمله اعضای خانواده Mad (۱۲) می باشد. در گیاهان نیز هیپراستیلاسیون با فعالیت ژن همبستگی دارد. هیپراستیلاسیون H3 و H4 در راه انداز ژن پلاستوسیانین[5] نخودفرنگی به نام *PetE* باعث افزایش رونویسی PetE می شود(۳و۴). ژنوم آرابیدوپسیس حداقل ۱۲ هیستون استیلاز و ۱۷ هیستون داستیلاز کد می کند (۱٤). برای مثال GCN5 آرابیدوپسیس فعالیت هیستون استیلازی دارد و می تواند با پروتئین ADA2 آرابیدوپسیس (همولوگ پروتئین ADA مخمر، یکی از اعضای کمپلکس GCN5\HAT مخمر) میان کنش نشان دهد و احتمالا یک زیر واحد از کمپلکسی می باشد که بیان ژن *COR*[6] را تنظیم می کند(۱۸و۱۹). با جستجو در ژنوم آرابیدوپسیس برای ژن های دارای دامین PAH، یک خانواده کوچک شامل سه ژن At4g15545, At1g16520, At1g56080 مشخص گردید. بیان cDNA هر یک از ژن ها تحت پروموتور 35S CaMV فنوتیپی شبیه فنوتیپ ژن *vin* (Vernalization Insensitive)نشان داد و بنابراین این ژن *VIN7* نامیده شده است (نتایج چاپ نشده است). بنابراین با فرض احتمال وجود اضافات ژنتیکی[7] میان ژن های این خانواده و با توجه به ماهیت آزمایش افزایش بیان[8]، در این مطالعه، T-DNA لاین های مربوط به تمام اعضای این خانواده ژنی تهیه گردید و با تلاقی های متقابل ترکیبات ژنوتیپی مختلف بین این سه ژن بدست آمد تا فنوتیپ احتمالی حاصل از جهش در این خانواده ژنی بررسی گردد. هم چنین الگوی بیان هر ژن با ساخت ساختار های پروتئین GFP[9] در اندام های مختلف گیاه آرابیدوپسیس تعیین گردید.

[1]. Domain
[2]. Coactivator
[3]. Corepressor
[4]. Paired Amphipatic Helix
[5]. Plastocyanin
[6]. Cold Regulated
[7]. redundancy
[8]. Overexpression
[9]. Green Fluorescent Protein

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.1.5.2]

مواد و روش ها

مواد گیاهی و شرایط رشد

جهت جوانه زنی، بذور گیاهان آرابیدوپسیس با هیپوکلریت سدیم تجارتی(آب ژاول ۵٪) به مدت ده دقیقه ضد عفونی و پس از شستشو با آب استریل، روی محیط کشت حاوی یک دوم املاح موراشیک و اسکوگ (موراشیک و اسکوگ، ۱۹۶۲)، ۰.۰۵٪ MES، ۰.۵٪ سوکروز و ٤٪ فیتوآگار کشت گردیدند. پس از دو روز نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی گراد، بذور به اتاقک های رشد با دمای ۲۳–۲۲ درجه سانتی گراد و با شرایط نوری ١٦ ساعت روشنایی (۲۲ درجه سانتی گراد و شدت نور ۱۲۰–۱۵۰ میکرومول بر مترمربع ثانیه) و ۸ ساعت تاریکی (۱۹ درجه سانتی گراد) نگهداری شدند.

گیاهچه های ده روزه به خاک انتقال داده شدند

تعیین ژنوتیپ

T-DNA لاین های مربوط به هر ژن از دانشگاه ویسکانسین آمریکا آزمایشگاه دکتر آماسینو[10] تهیه گردید که شامل لاین های vin7 (SALK_017279); vin7l1 (SAIL_394_E05); vin7l2 (SALK_106270) بود.

وجود T-DNA درتوالی هر یک از ژن ها توسط یک آغازگر اختصاصی ژن و یک آغازگر اختصاصیT-DNA تعیین گردید. جفت آغازگرهای اختصاصی طراحی شده برای تکثیر ژن تیپ وحشی و ژن جهش یافته هر ژن در جدول زیر آمده است:

ژن	جفت آغازگر اختصاصی ژن جهت تکثیر همردیف تیپ وحشی	جفت آغازگر اختصاصی برای تکثیر همردیف جهش یافته
VIN7	5'- TCAACAACTGGATTGTTCGTG -3'مستقیم 5'- ACCAGCTAGATTTCGAGCTCC -3' معکوس	LBa1: 5'-TGGTTCACGTAGTGGGCCATCG-3' 5'- TCAACAACTGGATTGTTCGTG -3'مستقیم
VIN7L1	5'- GAACTCTTTCCCATCAATCCG -3'مستقیم 5'- AACCTCTCCGACGAGATTCTC -3' معکوس	5'- GCCTTTTCAGAAATGGATAAATAGCCTTGCT TCC-3' SAIL1 5'- AACCTCTCCGACGAGATTCTC -3'معکوس
VIN7L2	5'- CAACACTCCGCTTTTCTGTTC -3'مستقیم 5'- GATCTTGAATTGATTGTGTTTGG -3' معکوس	LBa1: 5'-TGGTTCACGTAGTGGGCCATCG-3' 5'- CAACACTCCGCTTTTCTGTTC -3'مستقیم

تایید وجود T-DNA در هر ژن

برای هر یک از سه ژن یک لاین موتانت انتخاب و پس از انجام واکنش زنجیره ای پلی مراز با آغازگر اختصاصی ژن و T-DNA، محصول با استفاده از کیت خالص سازی محصول PCR (QIAquick Kit) خالص و توالی یابی با آغازگر اختصاصی T-DNA صورت گرفت.

انجام تلاقی های مناسب برای بدست آوردن ترکیبات ژنتیکی مختلف

با استفاده از واکنش زنجیره ای پلی مراز موتانت های خالص و ناخالص ساده مربوط به هر ژن شناسایی شدند و با تلاقی های متناوب، گیاهان ناخالص و خالص دوگانه و سه گانه بین سه ژن جهت تعیین فنوتیپ شناسایی شدند.

[10]. Amasino

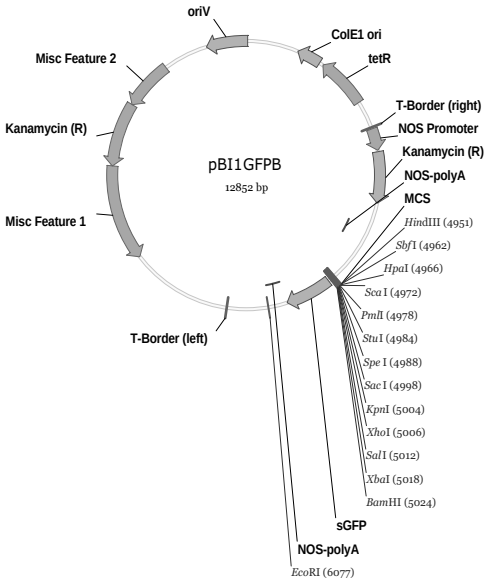
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.1.5.2]

آنالیز تفرق

برای آنالیز خودگشنی، ژنوتیپ Vin7-/-; Vin7L1-/-; Vin7L2+/- خود گرده افشان و بذور F_1 حاصل برداشت شدند. بذور نتاج روی محیط کشت بدون آنتی بیوتیک کشت شدند و پس از جوانه زنی و انتقال به خاک ژنوتیپ آنها از طریق واکنش زنجیره ای پلی مراز تعیین گردید. برای بررسی تلاقی های متقابل، ژنوتیپ مذکور با گیاه تیپ وحشی (اکوتیپ Columbia-0) تلاقی مستقیم و معکوس داده شد و بذور حاصل جمع آوری گردید. F_1 حاصل روی محیط کشت بدون آنتی بیوتیک کشت و ژنوتیپ نتاج از طریق واکنش زنجیره ای پلی مراز تعیین گردید.

ساخت و مطالعه ساختارهای بیانی Protein-GFP:

قسمتی از ناحیه ژنومی بالادست کدون آغاز به علاوه ناحیه کد کننده هر ژن انتخاب شد (۳۰۹۱- باز از بالادست کدون آغاز ژن *VIN7*، ۲۸۲٦- باز از بالادست کدون آغاز ژن *VIN7L1*، ۲۹۹۱- باز از بالادست کدون آغاز ژن *VIN7L2*). با استفاده از آغازگرهای طراحی شده جایگاه های برشی خاص به انتهای هر ژن اضافه و هر یک از ژن ها در جایگاه همسانه سازی پلاسمید pBI1GFPB (شکل یک) کلون گردید به طوری که DNA ژنومی *VIN7* بین دو جایگاه برشی *Sbf*I/*Xba*I، *VIN7L1* بین *Sac*I/*Sal*I و *VIN7L2* بین *Sac*I/*BamH*I همسانه شد. ناحیه کد کننده پس از توالی یابی، ساختارهای حاصل با استفاده از سویه GV3101 pMP90 باکتری آگرو[1] (۱۱) به گیاهان آرابیدوپسیس اکوتیپ Columbia-0 به روش استاندارد غوطه ور کردن گل آذین (۵) منتقل شدند. بذور T_1 پس از ضدعفونی روی محیط کشت حاوی ۵۰ میلی گرم در لیتر کانامایسین کشت و گیاهچه های مقاوم پس از ده روز به خاک منتقل شدند. الگوی بیان هر ژن با آنالیز ده گیاه تراریخت نسل T_1 و T_2 گزارش گردید. برای تعیین الگوی بیان ژن، بافت های مختلف گیاهان تراریخت زیر میکروسکوپ اپی فلورسنس (Zeiss) آنالیز شدند و علامت GFP بین طول موج ۵۰۰ تا ۵۳۰ نانومتر با استفاده از لیزر آرگون در طول موج ٤٨٨ نانومتر ردیابی شد.



شکل ۱- ناقل pBI1GFPB

نتایج

آنالیز بیان ژن در مراحل مختلف نمو

بیان ژن ***VIN7***: بیان ژن در ناحیه طویل شونده ریشه (شکل ۲-ز)، بساک و سلول های میکروسپور (شکل ۲-ج و ر; ۵-الف) به طور قوی مشاهده گردید. بیان فقط به میکروسپورهای درون کیسه تتراد محدود نبود بلکه پس از آزاد سازی سلول های میکروسپور بیان ژن وجود داشت. علامت GFP در سلول گرده (شکل ۲-د) و جنین دیده نشد. در اطراف مریستم بیان قوی ژن در برگ های جوان اولیه دیده شد (شکل ۲-ژ) اما در برگ های بزرگتر علامتی ردیابی نگردید. در اندام های زایشی، علامت GFP در یاخته های اولیه تخمک (شکل ۲-الف و ب) مشاهده گردید اما در مراحل پیشرفته تر بیانی نداشت.

بیان ژن ***VI7L1***: بیان ژن در گیاه بالغ ردیابی گردید بطوریکه علامت GFP در بافت های اطراف تخمک ها مراحل اولیه نمو تخمک ها (شکل ۳-الف و ب)، جنین ها (شکل ۳-ز)،

[1]. *Agrobacterium tumefaciens*

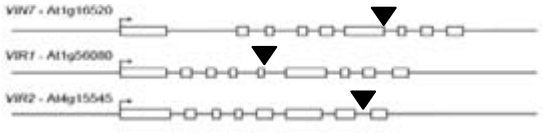
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.1.5.2]

گلبرگ ها (شکل ۳–ژ و ۵–ب) دیده شد. بیان ژن در سلول های میکروسپور دیده شد (شکل ۳–د،ر) اما در گرده ها علامت GFPردیابی نشد. در میان سه ژن، فقط ترانسژن *VI7L1* در مراحل اولیه نمو آندوسپرم علامت GFP را نشان داد(شکل ۴–ج). در گیاهچه های ۸ روزه در تمام قسمت های گیاه بیان وجود داشت، در حالیکه در گیاهچه های ۱۵ روزه بیان فقط به ناحیه طویل شدن ریشه مثل *VIN7* محدود می شد(شکل ۳–س).

بیان ژن ***VIN7L2***: علامت GFP در اندام های رویشی اعم از برگ های اولیه، ساقه، مریستم، برگ ها، گلبرگ ها؛ بساک و سلول های میکروسپور (شکل ٤–ج) و هم چنین در ریشه ها و پوسته بذر دیده شد. در اندام های زایشی بیان ژن نیز در مراحل مختلف گل دهی ارزیابی شد به طوریکه بیان ژن در تمام مراحل نمو گامتوفیت ماده در بافت اطراف کیسه جنینی و در یاخته های اولیه تخمک (شکل ٤–الف) دیده شد. درون کیسه جنینی (شکل ۴–ب و ۵–ج) و هم چنین بعد از لقاح در آندوسپرم بیان ژن دیده نشد. طی مراحل نمو جنین، بیان ژن تا مرحله اژدری شکل نبود اما پس از آن در جنین های اژدری شکل و لپه ای (شکل ۴–د) علامت GFP ردیابی گردید. بیان در بساک و سلول های میکروسپور شبیه دو ژن دیگر بود (شکل ۴–ج). در مقایسه با الگوی بیان دو ژن دیگر، بیان *V7L2* در تمام قسمت های گیاهچه و گیاه بالغ به جز گرده دیده شد.

مقایسه الگوی بیان ژن در ده گیاه تراریخته، نشان داد که بیان هر سه ژن بصورت اسپوروفتیک کنترل می شود. تایید وجود **T-DNA** در ژن ها: وجود T-DNA با توالی یابی تایید شد به طوریکه T-DNA در دو ژن *vin7* و *vin7l2* در اگزون و در *vin7l1* در اینترون قرار داشت (شکل ۶).

.



شکل ۶– محل قرارگیری T-DNA در هر یک از ژن ها با فلش نشان داده شده است. جعبه های سفید رنگ نشان دهنده اگزون ها و خط نماینده اینترون می باشد.

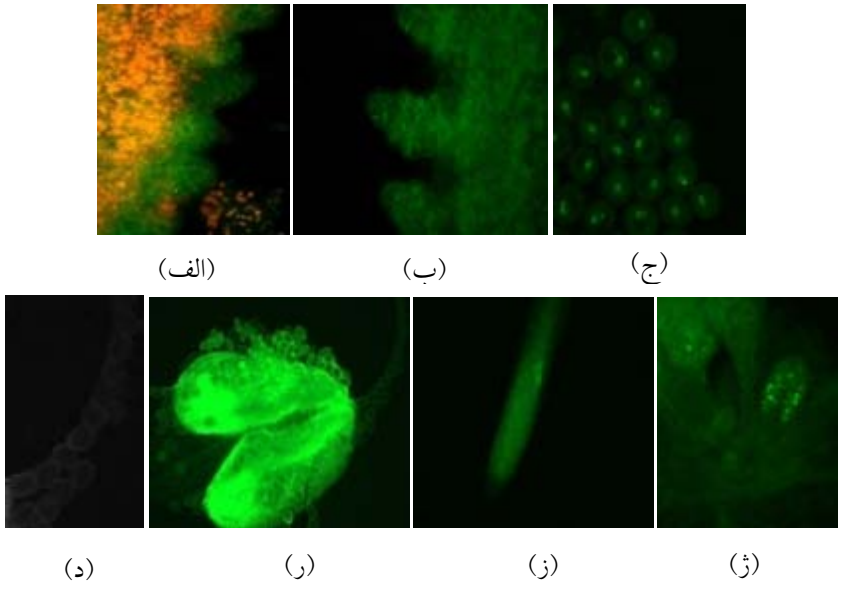
تجزیه ژنتیکی و فنوتیپی:

طی مطالعه فنوتیپی گیاهان خالص و ناخالص ساده و دو گانه میان همردیف های T-DNA فنوتیپی مشاهده نشد. در میان نتاج یک والد هتروزیکوس سه گانه فقط ژنوتیپ *VIN7 (-/-); VIN7L1 (-/-); VIN7L2 (+/-)* شناسایی گردید اما ژنوتیپ های *VIN7* (-/-); *VIN7L1* (+/-); *VIN7L2* (-/-) و *VIN7* +/-) *VIN7* (-/-); *VIN7L1* (-/-) و -/-) *VIN7L1 (-/-); VIN7L2* (-/-) ; پیدا نشد. با آنالیز فنوتیپی غلاف های ژنوتیپ *VIN7 (-/-); VIN7L1* (-/-); *VIN7L2* (+/-) حدود شش درصد عدم تشکیل بذر در مقایسه با *VIN7* (-/-); *VIN7L1* (-/-); *VIN7L2* (+/+) دیده شد اما با آنالیز ژنتیکی صد نتاج F1 نسبت ۲ *VIN7* (-/-); *VIN7L1* (-/-); *VIN7L2* (+/+): ۱(+/-) *VIN7 (-/-); VIN7L1* (-/-); *VIN7L2* (+/-) دیده شد. در میان نتاج، ژنوتیپ - *VIN7* (-/-); *VIN7L1* (-/-); *VIN7L2* (-/ مشاهده نشد بنابراین تلاقی های متقابل میان ژنوتیپ *VIN7 (-/-); VIN7L1 (-/-); VIN7L2 (+/-)* و گیاه تیپ وحشی صورت گرفت تا میزان انتقال سلول جنسی *vin7*; *vin7*l1;*vin7*l2 مشخص گردد(جدول ۱).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.1.5.2]

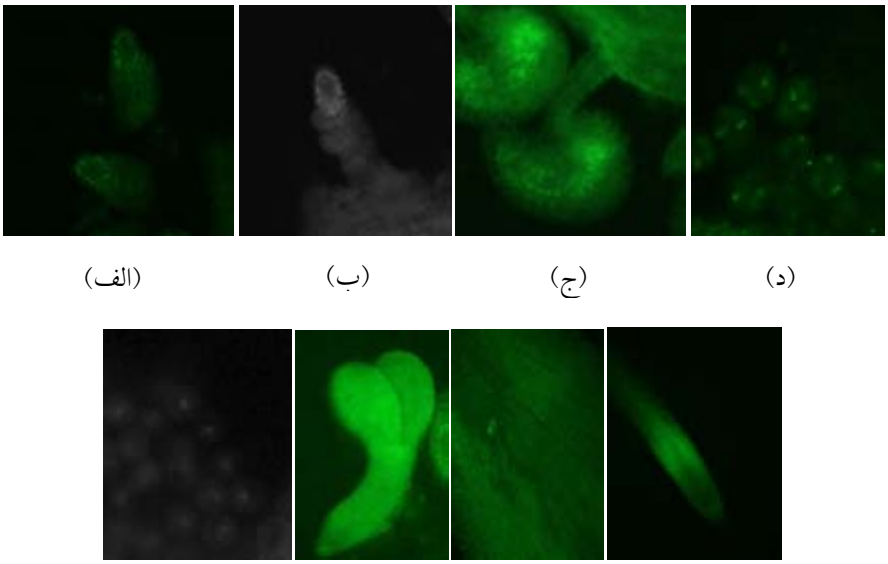
نوع تلاقی	تعداد نتاج دارای همردیف *vin7*	تعداد نتاج دارای ژنوتیپ *VIN7L2(+/-)*	تعداد نتاج دارای همردیف *VIN7*	تعداد کل نتاج	درصد راندمان انتقال(۸)
♀*VIN7 (-/-); VIN7L1 (-/-); VIN7L2 (+/-)* × Wild Type ♂	۵۸	۱۱	–	۵۸	٪۲۲
♂*VIN7 (-/-); VIN7L1 (-/-); VIN7L2 (+/-)* × Wild Type♀	–	۱۰	۴۲	۴۲	٪۳۱

جدول ۱– محاسبه میزان انتقال سلول جنسی *vin7*; *vin7*l1;*vin7*l2 از طریق والد نر و ماد



شکل ۲– بیان *VIN7:GFP* طی نمو در گیاهان تراریخته. الف) یاخته های اولیه تخمک در مرحله ۹ گلدهی (۱۵). ب) یاخته های اولیه تخمک در مرحله ۱۱ گلدهی. ج) سلول های میکروسپور. د) سلول های گرده. ر) بساک. ز) ریشه در گیاهچه های ۱۵ روزه. ژ) برگچه جوان در اطراف مریستم انتهایی گیاهچه ۱۵ روزه.

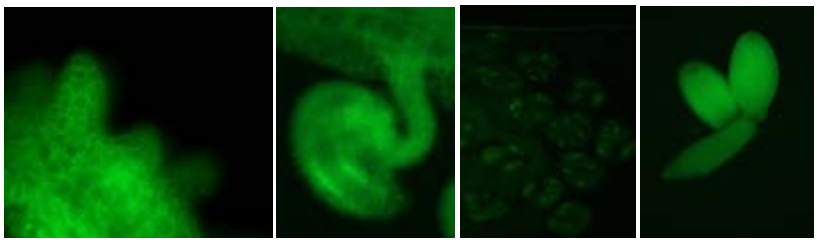
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.1.5.2]



(الف) (ب) (ج) (د)

(ر) (ز) (ژ) (س)

شکل ۳- بیان VIN7L1:GFP طی نمو در گیاهان تراریخته. الف) یاخته های اولیه تخمک در مرحله ۱۱ گلدهی (۱۵). ب) یاخته های اولیه تخمک در اوایل مرحله ۱۲ گلدهی. ج) تخمک در مرحله ۱۲C. د) کیسه تتراد. ر) سلول های میکروسپور. ز) جنین مرحله لپه ای (۱۰).



(الف) (ب) (ج) (د)

شکل ۴- بیان VIN7L2:GFP طی نمو در گیاهان تراریخته. الف) یاخته های اولیه تخمک در مرحله ۹ گلدهی. ب) یاخته های اولیه تخمک در مرحله ۱۲C گلدهی. ج) جنین مرحله لپه ای. د) کیسه تتراد.



(الف) (ب) (ج)

شکل ۵- بافت های متفاوت گیاه تیپ وحشی زیر میکروسکوپ اپی فلورسنس به عنوان شاهد منفی. الف) بساک و گرده گیاه تیپ وحشی. ب) گلبرگ گیاه تیپ وحشی. ج) یاخته های اولیه تخمک گیاه تیپ وحشی در اوایل مرحله ۱۲C گلدهی.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.1.5.2]

بحث

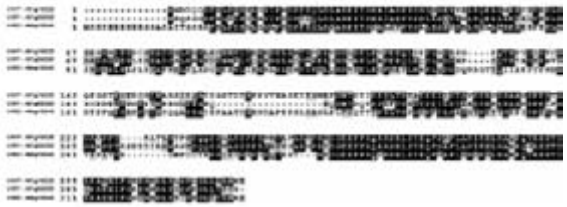
داده های حاصل نشان می دهد که هر یک از ژن های این خانواده ژنی می توانند عمل یکدیگر را در غیاب دو ژن هم خانواده خود جبران کند، بطوریکه در نتاج F1 ژنوتیپ *VIN7 (+/-); VIN7L1 (-/-); VIN7L2 (-/-)* خالص سه گانه بدست نیامد. از طرفی الگوی بیان مربوط به هر یک از سه ژن نشان داد که همه آنها در مراحل اولیه تشکیل سلول های جنسی نر و ماده بیان می شوند. بنابراین احتمال دارد که عدم وجود نسبت ژنتیکی مندلی می تواند ناشی از کاهش درصد تولید سلول جنسی های نر و ماده و یا ناشی از وجود اختلال در مراحل لقاح باشد. در آرابیدوپسیس پس از تقسیم میوز، سلول مادر مگاسپور، چهار سلول تولید می کند که سه سلول دچار مرگ سلولی می شود (۲۱). سوالی که در این مورد پیش می آید این است که آیا انتخاب نیز در این مرحله از مگاسپوروژنز صورت می گیرد و در این مورد آیا سلول جنسی *vin7; vin7l1;Vin7L2* با سلول جنسی *vin7; vin7l1;vin7l2* رقابت می کند؟ در گیاه *Oenothera* پدیده ای به نام اثر رنر[1] می باشد که طی آن در میوز تخمک هایی انتخاب می شوند که قدرت زنده ماندن بالایی دارند (۲۰).

با آنالیز همردیفی توالی های امینواسیدی سه ژن با استفاده از CLUSTALW معلوم گردید که سه ژن از نظر توالی آمینواسیدی ۴۰ درصد تشابه کامل دارند (جدول ۲).

Similarit %y	**Identity %**	AGI
۷۳	59	AT1G16520/AT1G 56080
۵۹	۴۰	AT1G56080/AT4G 15545
۵۷	۴۰	AT4G15545/AT1G 56080

جدول ۲- نتایج آنالیز همردیفی توالی های امینواسیدی سه ژن با استفاده از CLUSTALW

[1]. Renner effect



شکل ۷- آنالیز همردیفی توالی های آمینواسیدی سه ژن *VIN7/VIN7L1/VIN7L2*

نتایج حاصل از آنالیز الگوی بیان ژن نشان می دهد دو ژن *VIN7, VIN7L1* در ناحیه طویل شدن ریشه بطور اختصاصی بیان می شوند. بنابراین نبود ژنوتیپ موتانت خالص سه گانه می تواند به دلیل نقص در ریشه زایی باشد حتی اگر بذر آن طبق درصد راندمان انتقال با فراوانی پایین تشکیل شود. در جانوران خاموش سازی ژن *Sin3* که پروتئین آن دارای PAH دامین می باشد باعث از بین رفتن جنین می شود(۲۲ و ۶). ژن های *VIN7L1, VIN7L2* در جنین ها بطور اسپوروفیتی بیان می شوند. به همین دلیل، علاوه بر دلیلی که در پایین اشاره می شود، احتمال می رود که جهش در آنها باعث مردن جنین گردد.

در نتاج حاصل از خودگشنی ناخالص سه گانه ژنوتیپ های *VIN7 (+/-); VIN7L1 (-/-); VIN7L2* (-/-) و *VIN7* (-/-); *VIN7L1* (+/-); *VIN7L2* (-/-) بدست نیامد. آنالیز الگوی بیان نیز نشان داد که ژن *VIN7L2* بر خلاف دو ژن دیگر در اکثر قسمت های گیاه بیان می شود. بنابراین حدس زده می شود که این ژن نقش موثرتری در فعالیت های گیاه داشته باشد به طوریکه در حالت هاپلوئیدی دو ژن دیگر، ژنوتیپ مذکور قابلیت زنده ماندن ندارند (پدیده کمبود هاپلوییدی[2]).

با توجه به الگوی بیان ژن ها که شباهت هایی نیز میان آنها وجود داشت بدون شک این ژن ها برای مراحل مختلف نموی مورد نیاز می باشند. طی بهاره سازی[3] در آرابیدوپسیس رونویسی از ژن *FLC*[4] به دلیل هیپواستیلاسیون H3K9, K27 متوقف می شود (۹) اما آیا خانواده VIN7 نیز همانند

[2]. Haplodeficiency
[3]. vernalization
[4]. Flowering Locus C

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.1.5.2]

بازدارنده-یار mSin3 در پستانداران باعث داستیلاسیون می شوند؟ داده های حاصل از تلاقی های متقابل و نسبت های ژنتیکی نشان می دهد که برای بدست آوردن حداقل یک ژنوتیپ موتانت خالص سه گانه، نیاز به جستجو در میان تعداد زیادی از نتاج F1 می باشد. با وجود این ژنوتیپ می توان به نقش واقعی این سه ژن پی برد و به این سوال جواب داد که آیا واقعا در فرایند بهاره سازی دخیل می باشند یا نه. در غیر این صورت پیشنهاد می شود تا با مطالعه درون شیشه یا در محل مثل رسوبدهی ایمیونولوژیکی کروماتین روابط احتمالی آنها با ژن های شناخته شده در مسیر ورنالیزاسیون مطالعه گردد.

منابع

1-Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE (1964) Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 51:786–94.

2-Brownell JE, Zhou J, Ranalli T, Kobayashi R, Edmondson DG, et al. (1996) Tetrahymena histone acetyltransferase A: a homolog to yeast Gcn5p linking histone acetylation to gene activation. Cell 84:843–51.

3-Chua YL, Brown AP, Gray JC (2001) Targeted histone acetylation and altered nuclease accessibility over short regions of the pea plastocyanin gene. Plant Cell 13:599–612.

4-Chua YL, Watson LA, Gray JC (2003) The transcriptional enhancer of the pea plastocyanin gene associates with the nuclear matrix and regulates gene expression through histone acetylation. Plant Cell 15:1468–79.

5-Clough SJ, Bent AF (1998) Floral dip: a simplified method for Agrobacterium-mediated transformation of Arabidopsis thaliana. Plant J 16:735–

6- Dannenberg JH, David G, Zhong S, van der Torre J, Wong WH, Depinho RA (2005) mSin3A corepressor regulates diverse transcriptional networks governing normal and neoplastic growth and survival. Genes Dev. 19: 1581–1595.

7-Fleischer TC, Yun UJ, Ayer DE (2003) Identification and characterization of three new components of the mSin3A corepressor complex. Mol.Cell. Biol. 23: 3456–3467.

8-Howden R, Park SK, Moore JM, Orme J, Grossniklaus U, Twell D (1998) Selection of T-DNA-tagged male and female gameto- phytic mutants by segregation distortion in Arabidopsis. Genetics 149:621–631.

9-Hsieh TF, Fischer RL (2005) Biology of chromatin dynamics. Annual Review of Plant Biology. 56: 327-51.

10-Ju¨rgens G, Mayer U (1994) Arabidopsis. In: Bard JBL (ed) Embryos, color atlas of development. Wolfe, London, pp 7–21.

11-Koncz C, Schell J (1986) The promoter of TL-DNA gene 5 controls the tissue-specific expression of chimaeric genes carried by a novel type of Agrobacterium binary vector. Mol Gen Genet 204:383–396.

12-McArthur, GA, Laherty CD, Queva C, Hurlin PJ, Loo L, James L, Grandori, C, Gallant P, Shiio Y, Hokanson WC, et al. (1998) The Mad protein family links transcriptional repression to cell differentiation. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 63: 423–433.

13-Murashige, T., and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15, 473-497.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.1.5.2]

14-Pandey R, Muller A, Napoli CA, Selinger DA, Pikaard CS, et al. (2002) Analysis of histone acetyltransferase and histone deacetylase families of Arabidopsis thaliana suggests functional diversification of chromatin modification among multicellular eukaryotes. Nucleic Acids Res.30:5036–55.

15-Robinson-Beers K, Pruitt RE, Gasser CS (1992) Ovule development in wild-type Arabidopsis and two female-sterile mutants. Plant Cell 4:1237–1249.

16- Silverstein RA, Ekwall K (2005) Sin3: A flexible regulator of global gene expression and genome stability. Curr. Genet. 47: 1–17.

17-Stockinger EJ, Mao Y, Regier MK, Triezenberg SJ, Thomashow MF (2001) Transcriptional adaptor and histone acetyltransferase proteins in Arabidopsis and their interactions with CBF1, a transcriptional activator involved in cold-regulated gene expression. Nucleic AcidsRes. 29:1524–33.

18-Taunton J, Hassig CA, Schreiber SL (1996) A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. Science 272:408–11.

19-Vlachonasios KE, Thomashow MF, Triezenberg SJ (2003) Disruption mutations of ADA2b and GCN5 transcriptional adaptor genes dramatically affect Arabidopsis growth, development, and gene expression. Plant Cell 15:626–38.

20-Walters JL (1962) Megasporogenesis and Gametophyte Selection in *Paeonia californica*. *American Journal of Botany*, 49: (7)787-794.

21-Yadegari R, Drews GN (2004) Female gametophyte development. Plant Cell 16(Suppl):S133–S141.

22-Yuan HE, Radhakrishnan I (2008) Solution NMR studies of apo-mSin3A and -mSin3B reveal that the PAH1 and PAH2 domains are structurally independent. Protein Science 17:1–5.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.1.5.2]