ژنتیک نوین
دوره هفدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱
صفحه ۳۵۷ - ۳۵۱

تأثیر متیل جاسمونات بر روی بیان ژن *ts* و تاکسول تولیدی در ساقه گیاه سرخدار (*Taxus baccata*)

The effect of Methyl jasmonate on the expression of *ts* gene and Taxol production in the stem of Yew (*Taxus baccata*)

یلدا ژولیده[۱]، یوسف محمدی*[۲]، محمدرضا مشایخی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲- استادیار، دکترای تخصصی اصلاح نباتات، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک مولکولی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

Zhoolideh Y[1], Mohammadi Y[*2], Mashayekhi MR[3]

1- MSc, Department of Biology, Tabriz Branch, Islamic Azad university, Tabriz, Iran
2- Assistant Professor, Plant breeding, Research institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
3- Assitant Proffesor, Molecular Genetics, Department of Biology, Tabriz Branch, Islamic Azad university, Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: y.mohamadi@rifr-ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۰۲ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۹)

چکیده

گیاهان دارویی منبع تامین بیش از ۲۵٪ کل داروهای مصرفی دنیا را تشکیل می‌دهند که نقش ویژه‌ای را در تامین داروهای ضد سرطانی ایفا می‌کنند. یکی از مهم‌ترین این داروها تاکسول است. منبع طبیعی این ماده‌ی با ارزش گونه‌های جنس سرخدار (Taxus) است. تولید تاکسول در یک مسیر پیچیده آنزیمی صورت می‌گیرد که تحت تاثیر عوامل گوناگون می‌باشد، بنابراین در این مطالعه، شناسایی میزان تاثیر متیل جاسمونات در تغییر بیان ژن (*ts*) *Taxadiene synthase* و تولید تاکسول در گیاه سرخدار، هدف‌گذاری شده است. در تحقیق حاضر، نمونه‌های گیاهی با متیل‌جاسمونات در غلظت‌های متفاوت ۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار و دو زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند و در این مدت در فیتوترون نگه‌داری شدند. سپس بیان ژن *ts* با روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. علاوه بر این میزان تاکسول تولیدی نیز با تکنیک HPLC ارزیابی شد و اطلاعات به‌دست آمده مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین بیان ژن در تیمار ۲۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات و در ۷۲ ساعت و معادل ۱/۱۳ برابر گیاه شاهد و کمترین میزان بیان ژن با کمتر از ۵ درصد گیاه شاهد مربوط به تیمار ۲۵۰ میکرومولار و در ۴۸ ساعت بود. داده‌های حاصل از کروماتوگرافی نشان داد که بیشترین میزان تاکسول در گیاه تحت تیمار با غلظت ۵۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات و زمان ۷۲ ساعت به میزان ۰/۳۰۷ میلی‌گرم تاکسول بر گرم وزن خشک نمونه گیاهی تولید شده است. همچنین تیمار ۲۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات با ۷۲ ساعت و تولید ۰/۰۸ میلی‌گرم تاکسول، کمترین بود. آزمون همبستگی پیرسون بیان داشت که رابطه‌ی مشخصی بین بیان ژن و تاکسول تولیدی وجود ندارد. این امر به‌دلیل اثرات پیچیده متیل جاسمونات بر روی بیان ژن و تولید تاکسول در بازه‌های زمانی متفاوت می‌باشد. علی‌رغم تلاش‌های فراوان صورت گرفته در زمینه‌ی شناخت مسیر بیوسنتزی تاکسول، هنوز هم تصویر کاملاً روشن و دقیقی از آن در دسترس نمی‌باشد. به‌همین منظور بررسی ژن‌های دخیل در این مسیر بیوسنتزی حائز اهمیت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

بیان ژن
تاکسول
سرخدار
کروماتوگرافی
ts

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

مقدمه

گیاهان دارویی به‌عنوان سرمایه‌های ژنتیکی ارزشمند در شمار میراث‌های بومی کشورها محسوب می‌شوند و دارای اهمیت جهانی هستند. امروزه برای درمان و حفظ سلامتی انسان تاکید زیادی بر استفاده از داروهایی با منشا طبیعی می‌شود (Pan et al. 2014). داروهای گیاهی به‌دلیل نزدیکی و سازگاری با فیزیولوژی بدن انسان در مقایسه با داروهای شیمیایی خطرات و عوارض جانبی کمتری دارند. این ویژگی یکی از دلایل اصلی رویکرد و تمایل دوباره‌ی مردم جهان به گیاهان دارویی و استفاده از آن‌ها در قیاس با داروهای شیمیایی و مرکب از مواد مصنوعی است (Ekor 2014). داروهایی همچون تاکسول، وین‌بلاستین، وین‌کریستین، کامپتوتسین و پودوفیلوتوکسین از مهم‌ترین داروهای ضدسرطانی با منشاء گیاهی هستند که تاکسول و ترکیبات هم‌خانواده‌ی آن (تاکسان‌ها Taxanes) یا (تاکسوئیدها Taxoid) اهمیت بسیار زیادی دارند (Lichota and Gwozdzinski 2018). موارد استعمال این داروها در درمان سرطان‌هایی همچون تخمدان، سینه، ریه و نیز کاپوسی سارکومای وابسته به ایدز می‌باشد.

علی‌رغم تلاش‌های فراوان صورت گرفته در زمینه‌ی شناخت مسیر بیوسنتزی تاکسول، هنوز هم تصویر کاملاً روشن و دقیقی از آن در دسترس نمی‌باشد. تنوع بسیار زیاد ترکیبات تاکسانی و شباهت آن‌ها با یکدیگر، غلظت پایین ترکیبات حد واسط و مراحل متابولیکی بسیار، از مهم‌ترین موانع موجود در راه شناخت این مسیر بیوسنتزی هستند. اما با این حال محققین با استفاده از ترکیبی از روش‌های بیوشیمیایی و ژنتیکی موفق شده‌اند تصویر نسبتا واضحی از این مسیر بیوسنتزی را تهیه کنند (Onrubia et al. 2013). در مورد مسیر بیوسنتزی تاکسول، ۱۹ مرحله‌ی آنزیمی شناخته شده وجود دارد (Croteau et al. 2006).

الیسیتورها عواملی هستند که به‌عنوان محرک عمل می‌کنند و می‌توانند باعث پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و تجمع فیتوالکسین‌ها در گیاه شوند. مولکول‌های محرک مانند متیل جاسمونات تنظیم کننده‌های رشد گیاهی هستند که نقش کلیدی در رشد گیاه و پاسخ به تنش‌های محیطی دارند و در سیگنال دهی در برخی از سیستم‌های ترارسانی علامت نقش دارند و فعالیت آنزیم‌های خاصی را القا می‌کنند (Qiao et al. 2017). متیل جاسمونات یکی از ترکیباتی است که برای القای تولید تاکسول در گونه‌های تاکسوس استفاده می‌شود، اما مکانیسم اثر آن به‌طور دقیق مشخص نشده است (Yukimune et al. 1996; Yukimune et al. 2000; Kai et al. 2005; Naill and Roberts, 2005; Nims et al. 2006).

با افزایش سرطان، ارزش بازار تاکسول به شدت افزایش یافته است. با این حال، منابع طبیعی محدود گونه‌های تاکسوس، تولید تاکسول را مستقیما از درختان سرخدار محدود می‌کند، که یک موضوع چالش برانگیز است (Gallego-Jara et al. 2020). این مطالعه، با فرض اینکه متیل جاسمونات به‌عنوان یک محرک شیمیایی منجر به افزایش سطح تاکسول در سرخدار و سطح بیان ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز تاکسول در سطوح مختلف غلظت متیل جاسمونات می‌شود مورد انجام قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی مورد استفاده در این تحقیق، از پایه سرخدار موجود در باغ گیاه شناسی ملی ایران تهیه و تحت غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات (۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار) (Yukimune et al. 1996) تیمار و به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت در فیتوترون نگه‌داری شدند. آزمایش مورد نظر به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۲ تکرار انجام شد.

برای بررسی بیان ژن *ts*، توالی نوکلئوتیدی این ژن به‌همراه ژن کنترل داخلی *18s* از داده پایگاه اطلاعات بیوتکنولوژی آمریکا (NCBI) دانلود و با استفاده از نرم‌افزار OLIGO7، طراحی آغازگرهای مستقیم و معکوس هر دو ژن با در نظر گرفتن پارامترهای دوبلکس، سنجاق سر، دمای ذوب و هومولوژی، صورت گرفت (جدول ۱). برای پی بردن به اختصاصیت آغازگرهای اختصاصی از آنالیز پرایمر بلاست داده پایگاه NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast) استفاده شد و پس از تائید آغازگرهای طراحی شده، برای سنتز به شرکت متابیون آلمان فرستاده شدند. استخراج RNA کل با استفاده از کیت RNX-PLUS™ (سینا کلون، ایران) از ساقه گیاهان تیمار شده با متیل جاسمونات، صورت و پس از بررسی کمیت RNA استخراجی، سنتز رشته اول cDNA با کیت AddScript (addbio،

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

کره جنوبی) همراه با کنترل مثبت (با RNA شاهد که قبلاً نتیجه داده بود) و کنترل منفی (بدون RNA) انجام شد. در نهایت واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی با استفاده از مسترمیکس Ampliqon (دانمارک) و با در نظر گرفتن شرایط جدول ۲ در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در دستگاه Mic Real-Time PCR System (micrun، استرالیا) انجام شد. برای تائید اتصال آغازگرهای طراحی شده به الگوی مکمل خود از منحنی ذوب نیز استفاده شد. وجود تک پیک در منحنی ذوب نشان دهنده اتصال اختصاصی آغازگرها به مکمل خود می‌باشد. داده‌های حاصل از چرخه آستانه (CT) برای تمامی ژن‌ها در حالات تیماری مختلف محاسبه و پس از نرمال سازی با ژن کنترل داخلی، محاسبه مقدار بیان با روش Pfaffl (Pfaffi et al. 2002) صورت گرفت. نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگروف–اسمیرنف و یکنواختی واریانس‌ها نیز با آزمون لون انجام و آنالیز واریانس داده‌ها و همچنین مقایسه میانگین بیان ژن با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 انجام و نمودارها با Excel ترسیم شد.

سنجش میزان تاکسول تولید شده در ۸ تیمار مورد نظر با روش HPLC (دستگاه Knauer آلمان) صورت گرفت. بدین صورت که ساقه‌های گیاهان تیمار شده با متیل جاسمونات تحت غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۵۰، و ۵۰۰ میکرومولار در ۴۸ و ۷۲ ساعت از گیاه اصلی جدا شده و به مدت ۸ روز در دمای اتاق خشک شدند. سپس ۵ گرم از نمونه‌های ساقه، پودر شده و در ۲۵ میلی‌لیتر استونیتریل حل شد. سپس مخلوط مورد نظر ۶۰ دقیقه التراسونیک شده و به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ انجام شد. نهایتاً محلول رویی با فیلتر ۰/۴۵ میکرون صاف شد و برای تزریق آماده شد.

اندازه‌گیری میزان تاکسول تولیدی با ستون C18 با ابعاد ۴۶×۲۵۰ میلی‌متر و فاز متحرک شامل متانول و آب به نسبت ۲۰۰:۸۰۰ و با شدت جریان یک میلی‌متر بر دقیقه انجام شد. در این مطالعه میزان تزریق برای استاندارد و نمونه‌ها ۵۰ میکرولیتر بود و از طول موج ۲۲۷ نانومتر استفاده شد. پس از کالیبره کردن ستون‌ها، سنجش تاکسول موجود در هر نمونه با استفاده از تزریق محلول استاندارد تاکسول (Sigma Aldrich) و به‌دست آمدن منحنی کالیبراسیون و با مقایسه زمان بازداری ظاهر شدن پیک تاکسول خالص تزریق شده با غلظت‌های مختلف (۲/۴، ۴/۸ و ۹/۶ میکروگرم) و پیک‌های حاصل از عصاره‌های تزریقی انجام شد.

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای طراحی شده برای ژن *ts* و ژن کنترل داخلی *18s*

شماره دسترسی	نام آغازگر	توالی آغازگر	دمای اتصال آغازگر	اندازه‌ی محصول PCR
KC188793.1	*ts*F*	GGCAGATATAAATTTCACTCGAC	۵۴	۷۳
KC188793.1	*ts*R*	ATATTCGGGTTCAAATGTAGC	۵۴	۷۳
EF017310	*18s*F	GTGCACAAAATCCCGACTCT	۵۴	۱۰۲
EF017310	*18s*R	GCGATCCGTCGAGTTATCAT	۵۴	۱۰۲

* F: Forward, R: Reverse

جدول ۲- شرایط دمایی و زمان مورد استفاده در چرخه‌های Real Time PCR

تعداد چرخه‌ها	زمان	دما	مرحله	
۱	۵ دقیقه	۹۵°C	واسرشت‌سازی اولیه	مرحله‌ی ۱
	۴۵ ثانیه	۹۵°C	واسرشت‌سازی	
۴۰	۴۵ ثانیه	۵۴°C	اتصال	مرحله‌ی ۲
	۱ دقیقه	۷۲°C	بسط	
۱	۷ دقیقه	۷۲°C	بسط نهایی	مرحله‌ی ۳

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

برای تعیین میزان تاکسول هر یک از عصاره‌ها، سطح زیر پیک مربوطه در زمان مورد نظر اندازه‌گیری شد و با قرار دادن این سطح در معادله حاصل از منحنی کالیبراسیون (y=126.28x+133.89، R^2 = 0.99)، میزان تاکسول موجود بر حسب میلی‌گرم در یک گرم وزن خشک از هر نمونه تخمین زده شد. تعداد دفعات تزریق برای هر نمونه ۳ تکرار در نظر گرفته شد. برای آنالیز داده‌های حاصل از HPLC، نرمال بودن داده‌ها براساس آزمون کولموگروف-اسمیرنف انجام شد و سپس آنالیز واریانس داده ها و همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 و رسم نمودار در Excel، صورت گرفت.

نتایج و بحث

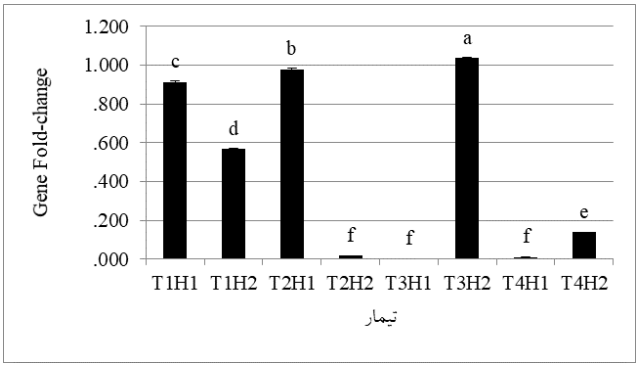
نتایج آنالیز واریانس بیان ژن *ts* و تاکسول تولیدی در ساقه‌ی درخت سرخدار پس از اعمال تیمار با متیل‌جاسمونات در چهار غلظت متفاوت ۰، ۱۰۰، ۲۵۰، و ۵۰۰ و اعمال دو زمان متفاوت ۴۸ و ۷۲ ساعت نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود دارد (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس میزان بیان ژن *ts* و تاکسول تولیدی در ساقه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		بیان ژن *ts*	میزان تاکسول
متیل جاسمونات	۳	۰/۳۱۰**	۰/۰۱۹**
زمان	۱	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۲**
زمان*متیل جاسمونات	۳	۰/۷۰۹**	۰/۰۰٤**
خطا	۸	۳/۱۲۱E-۵	۱/۸٦۵E-۵

** به معنی وجود اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد می‌باشد

طبق شواهد به‌دست آمده از مقایسه میانگین بیان ژن *ts* در سطوح مختلف متیل‌جاسمونات با مقادیر ۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار و اعمال زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت، نتیجه‌گیری شد که در زمان ۴۸ ساعت، پس از اعمال تیمار ۲۵۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات بیان ژن *ts* افزایش ۱/۱۳ برابری نسبت به گیاه شاهد پیدا کرده اما با افزایش غلظت متیل‌جاسمونات به ۵۰۰ میکرومولار، بیان ژن *ts* کاهش چشم‌گیری داشته است. در این مطالعه کمترین میزان بیان ژن مذکور در تیمار ۲۵۰ میکرومولار و ۷۲ ساعت مشاهده شده است (شکل ۱). تحقیقات نشان داده است که بیان نسبی ژن ژرانیل‌دی‌فسفات‌سنتاز در سطح رونوشت در پاسخ به تیمار متیل‌جاسمونات در گیاه یونجه ۵ ساعت بعد از اعمال تیمار افزایش یافت (Fathi et al. 2012). نتایج حاصل از بررسی بیان نسبی ژن بتاآمیرین‌سنتاز در گیاه سیاهدانه در اثر تیمار با متیل‌جاسمونات نشان داد که بیان نسبی این ژن در اثر القاء تیمار افزایش می‌یابد و باعث افزایش تولید بتاآمیرین می‌شود (Scholz et al. 2009). نتایج مذکور با نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق مطابقت دارد.



شکل ۱- مقایسه میانگین بیان ژن *ts* در تیمارهای مختلف (T1=0، T2=100، T3=250، T4=500 میکرومولار و H1=48، H2=72 ساعت) (در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه هستند، اختلاف معنی‌داری ندارند)

نتایج تحقیقات متعددی نشان می‌دهد که متیل جاسمونات تاثیرات متفاوتی بر روی بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز تاکسول دارد. به‌طوری که سطح پایداری رونوشت ژن‌های مسیر بیوسنتز تاکسول و همچنین زمان اثر متیل جاسمونات بر روی بیان ژن و تولید تاکسول از مهمترین تفاوت‌ها می‌باشد. گزارشات نشان داد که شش ساعت پس از اعمال متیل جاسمونات، سطوح رونوشت ژن‌های مراحل اولیه و میانی مسیر بیوسنتز تاکسول افزایش یافته و در ۱۸-۱۲ ساعت به اوج رسیده و در ۳۰ ساعت به سطح پایین تنزل پیدا می‌کند (Nims et al. 2006). وجود اثرات متفاوت متیل جاسمونات بر روی بیان ژن‌های مختلف، با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت دارد. مطالعات Lenka et al. (2012) نشان می‌دهد که اثر متیل جاسمونات وابسته به مدت زمان اعمال تیمار بوده

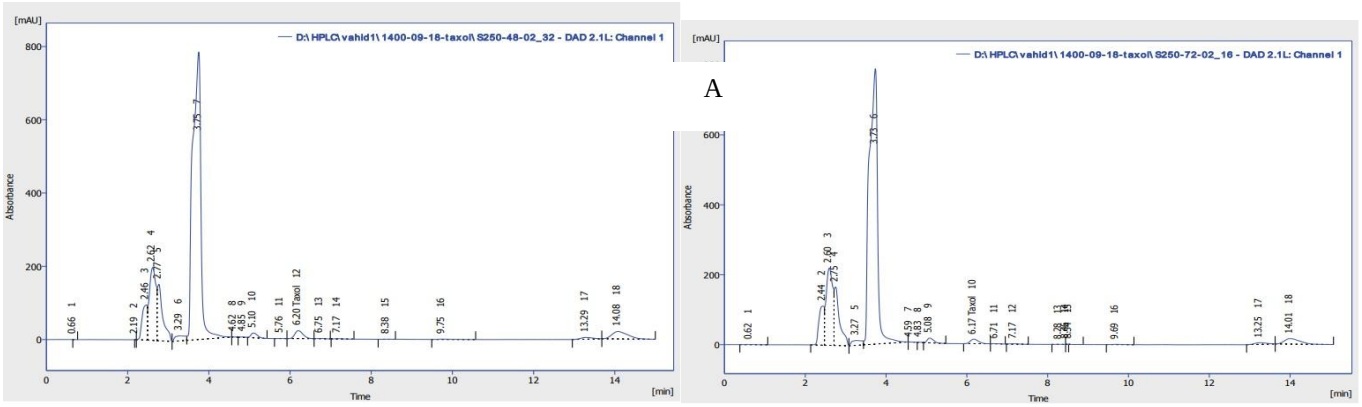
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

به‌طوری که بیشترین بیان ژن در ۱۸ ساعت پس از اعمال متیل جاسمونات مشاهده شده است.

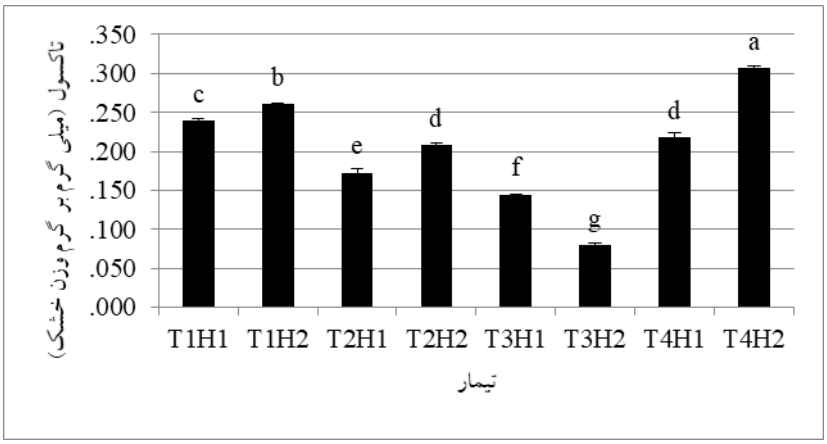
نتایج HPLC نشان می‌دهد که تاکسول در تمامی تیمارها تولید شده است (شکل ۲). در مورد میزان تاکسول تولیدی، بهترین تیمار ۷۲ ساعت در غلظت ۵۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات با تولید ۰/۳۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و کمترین میزان تولید با ۰/۰۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در تیمار ۲۵۰ میکرومولار و ۷۲ ساعت مشاهده شد (شکل ۳).

نتایج حاصل نشان دهنده اثرات متفاوت متیل جاسمونات با غلظت‌های یکسان ولی در زمان‌های متفاوت می‌باشد. از آزمون همبستگی پیرسون جهت آزمون رابطه دو متغیر بیان ژن *ts* و میزان تولید تاکسول استفاده شد. بین بیان ژن *ts* و میزان تولید تاکسول همبستگی معنی‌دار مشاهده نشد ($p= 0.189$ و $N= 16$ و $r= -0.346$)، در نتیجه از جنبه آماری دو متغیر بیان ژن *ts* و میزان تولید تاکسول با یکدیگر رابطه ندارند.

تاکسول یکی از مؤثرترین داروهای ضد سرطان است که می‌تواند برای درمان انواع سرطان استفاده شود. با این حال تولید صنعتی تاکسول همچنان به سنتز گیاهی نیازمند می‌باشد که به‌طور جدی بر بقا گونه‌های سرخدار تاثیر می‌گذارد.



شکل ۲- نتایج HPLC برای تیمارهای ۲۵۰ میکرومولار در ٤٨ ساعت (A) و ۷۲ ساعت (B): شناسایی تاکسول با زمان بازداری ٦/۲۷ دقیقه



شکل ۳- مقایسه میانگین میزان تاکسول تولیدی در تیمارهای مختلف: (T1=0، T2=100، T3=250، T4=500 میکرومولار و H1=48، H2=72 ساعت)(در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه هستند، اختلاف معنی‌داری ندارند)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

بنابراین، شناسایی روش‌های جایگزین و افزایش بازده تولید تاکسول ضروری است، که عمدتاً به درک مسیر بیوسنتزی و ژن‌های دخیل در این مسیر بستگی دارد (Wang et al. 2021). یکی از مهم‌ترین ژن‌های مسیر سنتز تاکسول، ژن *ts* می‌باشد که در تحقیق حاضر به بررسی بیان این ژن پرداخته شده است. مطالعه‌ی حاضر بیان داشت که بهترین تیمار برای بیان ژن *ts* در ساقه درخت سرخدار، تیمار ۷۲ ساعته با غلظت ۲۵۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات است. بر خلاف انتظار زمانی‌که زمان تیمار و غلظت الیسیتور افزایش داده شد، همواره شیب بیان ژن *ts* صعودی نبود که نشان دهنده‌ی وجود عوامل تنظیمی و تاثیر فاکتورهای محیطی و ژنتیکی مختلف بر مسیر تولید تاکسول است.

اسیدجاسمونیک و مشتقات آن یعنی متیل‌جاسمونات، تنظیم کننده‌های رشد درونی یا بازدارنده‌های رشد گیاه هستند که نقش کلیدی در رشد، نمو و پاسخ به تنش‌های محیطی ایفا می‌کنند. اثرات فیزیولوژیکی جاسمونات‌ها در گیاهان بسته به نوع گونه‌ی گیاهی، مرحله‌ی نمو، نوع جاسمونات و غلظت به‌کار رفته متفاوت است (Wang et al. 2020).

مطالعات نشان داده است که تیمار متیل‌جاسمونات در کشت سلولی شیرین‌بیان موجب افزایش بیان ژن بتا-آمیرین‌سنتاز و در ادامه تولید ساپونین شده است (Hayashi et al. 2004). بررسی اثر تیمار متیل‌جاسمونات بر میزان بیان ژن بتا-آمیرین‌سنتاز در گونه‌ی یونجه‌ی زرد (*Medicago truncatula*) نشان داد که این تیمار سبب افزایش بیان ۵۰ برابری ژن مورد نظر شده و حداکثر بیان در ۲٤ ساعت بعد از تیمار مشاهده شد که این نتایج نشان دهنده‌ی تاثیر متیل‌جاسمونات بر روی بیان نسبی این ژن می‌باشد (Suzuki et al. 2005).

متیل جاسمونات در گیاهان در پاسخ به عوامل زیستی و غیر زیستی موجب تأثیر بر روی عوامل رونویسی القا شونده با متیل جاسمونات (MJ-inducible transcription factor) شده و با مسیر ترارسانی علامت و با اثر بر روی ناحیه راه انداز ژن‌های مختلف، موجب افزایش بیان ژن‌های خاصی شده و در نتیجه با افزایش بیان ژن و افزایش سنتز پروتئین، متابولیت‌های ثانویه خاصی تولید می‌شود. تاکنون سه عامل رونویسی القا شونده با متیل جاسمونات در گیاه سرخدار شناسایی شده است که شامل TcJAMYC1، TcJAMYC2 و TcJAMYC4 می‌باشند. این فاکتورها با شناسایی جایگاه E-Box (با توالی CANNTG) بر روی ژن‌های مسیر بیوسنتز تاکسول و اعمال اثرات تنظیمی، باعث تنظیم بیان ژن‌های مورد نظر می‌شوند (Lenka et al. 2015). در مطالعه حاضر بیشترین میزان تاکسول با ۰/۳۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک پس از ۷۲ ساعت تیمار با ۵۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شد. ولی برای تیمار ۲۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات، با افزایش زمان اعمال، تولید تاکسول کاهش یافته است. نتایج حاصل نشان دهنده اثرات متفاوت متیل جاسمونات با غلظت‌های یکسان ولی در زمان‌های متفاوت می‌باشد. (2006) .Nims et al گزارش کردند که حداکثر میزان تولید تاکسول با ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات در روز هفتم به میزان ۳/۳ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. در این مطالعه در ساعات اولیه، میزان تولید تاکسول بسیار کم بوده و با افزایش زمان، افزایش یافته است که به‌نظر می‌رسد با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشته باشد. در مطالعه حاضر با این‌که میزان متیل جاسمونات ثابت بوده ولی با افزایش زمان از ٤٨ ساعت به ۷۲ ساعت، میزان تولید تاکسول افزایش یافته است. (2012) .Lenka et al در مطالعات خود بر روی میزان تولید تاکسول به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان تولید تاکسول پس از ٦-۳ روز از اعمال متیل جاسمونات صورت گرفته است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که علی‌رغم افزایش شدید بیان ژن در ساعات اولیه تیمار با متیل جاسمونات (۱۹-۱۲ ساعت)، افزایش تولید تاکسول چند روز پس از اعمال متیل جاسمونات مشاهده می‌شود. با توجه به نیاز روزافزون به داروهای ضد سرطان و ترجیح داروهایی با منشاء گیاهی، نیاز است تا روشی ارزان و با بازدهی بالا برای تولید این موارد ارزشمند از گیاهان فراهم آید که افزودن متیل‌جاسمونات به محیط گیاه به‌عنوان محرک می‌تواند یکی از این روش‌های جایگزین باشد. پیشنهاد می‌شود که بازه زمانی اعمال متیل جاسمونات تا ۲ هفته افزایش یابد تا اثرات این ماده بر روی بیان ژن‌های دخیل در سنتز تاکسول و همچنین تولید تاکسول به خوبی مشخص شود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

منابع

Croteau R, Ketchum R. E, Long R. M, Kaspera R, Wildung M. R (2006) Taxol biosynthesis and molecular genetics. Phytochemistry Reviews 5:75-97.

Ekor M (2014) The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. Frontiers in pharmacology4 177.

Fathi I, Majdi M, Maroufi A, Dastan D (2020) Expression pattern analysis of some genes involved in the biosynthetic pathway of terpenoids and phenylpropanoids in tissues, developmental stages and under methyl jasmonate treatment in yarrow (*Achillea millefolium* subsp. millefolium). Cellular and Molecular Researches (Iranian Journal of Biology) 33:87-102. (In Farsi).

Gallego-Jara J, Lozano-Terol G, Sola-Martínez R. A, Cánovas-Díaz M, de Diego Puente T (2020) A compressive review about taxol®: History and future challenges. Molecules 25:5986.

Hayashi H, Huang P, Takada S, Obinata M, Inoue K, Shibuya M, Ebizuka Y, (2004) Differential expression of three oxidosqualene cyclase mRNAs in *Glycyrrhiza glabra*. Biological and Pharmaceutical Bulletin 27:1086-1092.

Kai G, Zhao L, Zhang L, Li Z, Guo B, Zhao, D, Sun X, Miao Z. Tan K, 2005. Characterization and expression profile analysis of a new cDNA encoding taxadiene synthase from *Taxus media*. Biochemistry and Molecular Biology Reports 38:668-675.

Lenka S.K, Boutaoui N, Paulose B, Vongpaseuth K, Normanly J, Roberts S.C. Walker E.L. (2012) Identification and expression analysis of methyl jasmonate responsive ESTs in paclitaxel producing *Taxus cuspidata* suspension culture cells. BMC genomics 13:1-10.

Lenka S.K, Nims N.E, Vongpaseuth K, Boshar R.A, Roberts S.C, Walker E.L, (2015) Jasmonate-responsive expression of paclitaxel biosynthesis genes in *Taxus cuspidata* cultured cells is negatively regulated by the bHLH transcription factors TcJAMYC1, TcJAMYC2, and TcJAMYC4. Frontiers in plant science 6:115.

Lichota A, Gwozdzinski K (2018) Anticancer activity of natural compounds from plant and marine environment. International journal of molecular sciences19:3533.

Naill M.C. Roberts S.C, (2005) Flow cytometric analysis of protein content in *Taxus* protoplasts and single cells as compared to aggregated suspension cultures. Plant cell reports 23: 528-533.

Nims E, Dubois C. P, Roberts S. C, Walker E. L (2006) Expression profiling of genes involved in paclitaxel biosynthesis for targeted metabolic engineering. Metabolic engineering 8:385-394.

Onrubia M, Moyano E, Bonfill M, Cusidó R. M, Goossens A, Palazón J (2013) Coronatine, a more powerful elicitor for inducing taxane biosynthesis in *Taxus media* cell cultures than methyl jasmonate. Journal of plant physiology 170:211-219.

Pan SY, Litscher G, Gao SH, Zhou SF, Yu ZL, Chen HQ, Ko KM (2014) Historical perspective of traditional indigenous medical practices: the current renaissance and conservation of herbal resources. Evidence-based complementary and alternative medicine.

Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L, (2002) Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Research 30:1-10.

Qiao W, Ling F, Yu L, Huang Y, Wang T (2017) Enhancing Taxol production in a novel endophytic fungus, *Aspergillus aculeatinus* Tax-6, isolated from *Taxus chinensis* var. mairei. Fungal biology 121:1037-1044.

Suzuki H, Reddy M.S, Naoumkina M, Aziz N, May G.D, Huhman D.V, Sumner L.W, Blount J.W, Mendes P, Dixon R.A, (2005) Methyl jasmonate and yeast elicitor induce differential transcriptional and metabolic re-programming in cell suspension cultures of the model legume *Medicago truncatula* Planta 220:696-707.

Scholz M, Lipinski M, Leupold M, Luftmann H, Harig L, Ofir R, Müller K. J (2009) Methyl jasmonate induced accumulation of kalopanaxsaponin I in *Nigella sativa*. Phytochemistry 70:517-522.

Wang J, Song L, Gong X, Xu J, Li M, (2020) Functions of jasmonic acid in plant regulation and response to abiotic stress. International Journal of Molecular Sciences 21:1446.

Wang T, Li L, Zhuang W, Zhang F, Shu X, Wang N, Wang Z, (2021) Recent Research Progress in Taxol Biosynthetic Pathway and Acylation Reactions Mediated by *Taxus* Acyltransferases. Molecules 26:2855.

Yukimune Y, Hara Y, Nomura E, Seto H. Yoshida S, (2000) The configuration of methyl jasmonate affects paclitaxel and baccatin III production in *Taxus* cells. Phytochemistry 54:13-17.

Yukimune Y, Tabata H, Higashi Y. Hara Y, (1996) Methyl jasmonate-induced overproduction of paclitaxel and baccatin III in *Taxus* cell suspension cultures. Nature biotechnology 14:1129-1132.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]