ژنتیک نوین
دوره هجدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲
صفحه ۷۲ - ۵۹

تجزیه و تحلیل ژنوم، رونوشت‌ها و ژن‌های متأثر از رخداد پیرایش در گندم نان

Analysis of genomes, transcripts and genes affected by splicing in bread wheat

دیبا عندلیبی[۱]، احسان محسنی فرد*[۱]، مرتضی براتی[۱]

۱- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار، دانش‌آموخته دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

Andalibi D[1], Mohseni Fard E[*1], Barati M[1]

1- MSc, Assistant Professor, PhD, Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mohsenifard.ehsan@znu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۴ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۰۳)

چکیده

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یک گیاه آلوهگزاپلوئید متشکل از سه ژنوم (A، B و D) است که از سه گونه دیپلوئیدی اجدادی از طریق هیبریداسیون‌های متعدد منشاء گرفته است. با وجود در دسترس بودن توالی ژنوم گندم و مطالعات انجام شده در مورد آن، همچنان می‌توان اطلاعات بیشتری در مورد ژنوم و ترانسکریپتوم آن به‌دست آورد. در این تحقیق هدف استخراج اطلاعات توصیفی در مورد ژن‌ها و رونوشت‌های گندم و بررسی شباهت‌ها و تفاوت‌های موجود در ژنوم‌های مختلف گندم از موادری مانند تعداد ژن‌ها و رونوشت‌ها، چگالی ژنی، تعداد اینترون‌ها، پیرایش متناوب و همچنین مقایسه شاخص‌هایی مانند طول CDS، UTR و درصد GC بود. نتایج نشان داد که چگالی ژن در گندم حدود ۷/۵ می‌باشد و ژنوم D نسبت به دو ژنوم دیگر چگالی بالاتری دارد. به‌علاوه علی‌رغم تفاوت در میانگین طول ژن و اینترون، شباهت بسیاری در میانگین طول اگزون، رونوشت و طول ناحیه کدکننده (CDS) در ژنوم‌های A، B و D دیده شد. مقایسه رونوشت‌ها و ژن‌ها نشان داد که تقریباً ۸۰ درصد ژن‌ها دارای اینترون بوده و رخداد پیرایش متناوب تقریباً در ۱۶ درصد ژن‌ها اتفاق افتاده است. بخش عمده پیرایش‌ها در ناحیه کدکننده رونوشت‌ها و بخش کمی در ناحیه UTR صورت می‌گیرد. همچنین در ناحیه کدکننده (CDS)، فراوانی پیرایش در بین کدون بیش از پیرایش در درون کدون‌ها بود. اکثر رونوشت‌ها در گندم دارای UTR بوده و حدود ۱۰ درصد از UTRها دارای uORF می‌باشند. اگرچه تغییرات GC برای ژن‌ها، رونوشت‌ها، اینترون‌ها و UTR، بین ۳۰ تا ۸۰ درصد بود با این وجود بررسی ارتباط تغییرات درصد GC با طول موارد اشاره شده الگوی متفاوتی را نشان داد. در نهایت می‌توان گفت با وجود تفاوت در منشأ ژنوم‌های گندم وجود شباهت‌های بسیاری از نظر طول کروموزوم، چگالی ژن، پیرایش متناوب و پارامترهای مختلفی از جمله طول CDS، طول UTR و درصد GC قابل توجه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

اینترون
بیوانفورماتیک
رونوشت
محتوی GC
ناحیه ترجمه نشونده

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

مقدمه

امروزه به‌کمک ابزارهای ژنومیک، گندم به‌عنوان مدلی برای گیاهان پلی پلوئیدی در مطالعه مکانیسم‌های تکامل پلی‌پلوئیدی، اهلی کردن، تنظیم ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی و همچنین به‌نژادی در سطح ژنوم، مطرح شده است (Guan et al. 2020). گندم نان با نام علمی (*Triticum aestivum* L.)، یک آلوهگزاپلوئید (= 2n = 6x = 42، AABBDD) با طول ژنوم ۱۷ گیگا باز و شامل سه سری کروموزوم A، B و D می‌باشد که هر سری مشتمل بر هفت جفت کروموزوم است (Brenchley 2012; IWGSC 2014). بنابراین ژنوم گندم نسبت به سایر گیاهان زراعی بسیار پیچیده می‌باشد. ماهیت هگزاپلوئید ژنوم گندم برای تولید گندم معمولی به محصول بهتری نسبت به اجداد آن حیاتی است، زیرا فعل و انفعالات بین زیرژنوم‌ها به انعطاف پذیری آن در سطوح بیان ژن کمک می‌کند که ممکن است زمینه‌ساز افزایش‌سازگاری آن با محیط‌های مختلف باشد (Dubcovsky and Dvorak 2007). افزایش دانش در مورد ژنوم گندم می‌تواند به تسریع توسعه ارقام گندمی که تنش‌های زیستی یا غیرزیستی را با کیفیت بهتر و عملکرد بالاتر تحمل می‌کنند، کمک کند (Guan et al. 2020). ژن‌ها واحدهای فیزیکی وعملکردی وراثت هستند که به‌عنوان دستورالعمل برای ساخت پروتئین‌ها و RNAهای غیر کدکننده عمل می‌کنند. پس از رونویسی از ژن‌ها، یکسری تغییرات روی mRNA اولیه (Pre-mRNA) صورت می‌گیرد تا تبدیل به mRNA بالغ شود. یکی از این تغییرات پیرایش (Splicing) نام دارد که طی آن اینترون‌ها حذف و اگزون‌ها به‌هم وصل می‌شوند. پیرایش انواع مختلفی دارد که یکی از آن‌ها به نام پیرایش متناوب mRNA یا پیرایش متنوع[1] فرآیندی است که طی آن ممکن است ترکیبات مختلفی از اگزون‌ها در تشکیل mRNA بالغ نقش داشته باشند. در نتیجه یک ژن می‌تواند پروتئین‌های مختلف را تولید کند. پیرایش متناوب پدیده‌ای طبیعی در یوکاریوت‌هاست که سبب افزایش در تنوع پروتئین‌های تولیدی توسط ژنوم می‌شود (Black 2003). یکی از مهم‌ترین اثرهای عملکرد پیرایش متناوب در گیاهان، افزایش قابلیت تحمل و سازگاری به انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشد (Panahi and Mohammadi 2018). در مطالعه ژنوم و رونوشت‌ها، بررسی شاخص‌هایی از جمله چگالی ژن، طول CDS[2] (ناحیه کدکننده رونوشت)، UTR[3] (ناحیه غیر کدکننده رونوشت) و درصد GC می‌تواند اهمیت داشته باشد. UTRها مؤلفه‌های مهمی هستند که برخی فرآیندهای موجود در ارتباط با mRNAها و ترجمه آن‌ها را تنظیم می‌کنند (Srivastava et al. 2018). مطالعات نشان می‌دهد که طولانی‌ترین توالی‌های کدکننده (اگزون‌ها در یوکاریوت‌ها و ژن‌ها در پروکاریوت‌ها)، غنی از GC هستند و برعکس، کوتاه‌ترین توالی‌ها دارای محتوی GC کمی هستند (Oliver and Marín 1996). uORFها (Upstream ORF) ORFهای کوتاهی در 5′UTR رونوشت‌های یوکاریوتی هستند که کدون‌های شروع آن‌ها در بالا دست کدون‌های شروع CDS قرار داشته و نقش اساسی در تنظیم شروع ترجمه دارند (Ruiz-Orera and Albà 2019; Hinnebusch et al. 2016; Zhang et al. 2019). اگر اولین AUG کدون شروع یک uORF باشد، معمولاً کارایی ترجمه ناحیه کدگذاری اصلی mRNA (قاب خواندن باز اصلی یا mORF) را تحت تأثیر قرار می‌دهد. uORFها در ژنوم آنژیوسپرم‌ها بسیار فراوان بوده و عملکردی مشابه یا قابل مقایسه با ریبوسوئیچ‌ها و تضعیف کننده‌های پروکاریوت‌ها در یوکاریوت‌ها دارند. در حالی‌که به‌نظر می‌رسد بسیاری از uORFها کمتر حفاظت‌شده هستند، اما بسیاری از mRNAها دارای یک الگوی حفاظت شده از uORF هستند. از نظر تکاملی، دارا بودن یا عدم وجود اینها ممکن است مکانیزم گسترده‌ای برای تنوع الگوهای بیان ژن باشد (Von Arnim et al. 2014). در این مطالعه بررسی ژنوم گندم نان به تفکیک کروموزوم‌ها با منشأ مختلف از نظر شاخص‌های مربوط به ژن‌ها و رونوشت‌ها مورد مطالعه قرار گرفت و همچنین برای نخستین بار پارامترهایی چون تنوع در رخداد پیرایش، طول UTR، طول CDS، وجود وعدم وجود و تعداد uORFها در هر رونوشت و درصد GC ژن‌ها، رونوشت‌ها و اینترون‌ها در هر یک از سه سری ژنوم گندم (A، B و D) بررسی شد.

[1] differential splicing

[2] Coding sequence

[3] Untranslated region

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

مواد و روش‌ها

ژنوم و ترانسکریپتوم گندم از پایگاه IWGSC (کنسرسیوم بین‌المللی توالی‌یابی ژنوم گندم) دریافت شد. اطلاعات مربوط به هر کروموزوم مانند درصد GC، تعداد ژن‌های موجود بر روی کروموزوم، طول ژن‌ها، میانگین طول ژن‌ها برای هر کروموزوم محاسبه شد. چگالی ژن از نسبت تعداد ژن‌ها به ازای یک میلیون جفت‌باز یا مگاباز (Mb) در هر کروموزوم محاسبه شد (Keller and Feuillet 2000). با سپس با استفاده از ابزار ORFFinder (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder)، قسمت کدکننده (CDS) و غیرکننده (UTR) هر رونوشت تعیین و طول CDS و میانگین طول CDSها مشخص شد. در مرحله بعد رونوشت‌های دارا و فاقد UTR مشخص و سپس طول 3′UTR و 5′UTR برای هر رونوشت تعیین شد. شناسایی‌ORFها در ناحیه 5′UTR (به اینها Upstream ORF یا uORF گفته می‌شود) نیز با استفاده ابزار ORFFinder انجام شد. معیارهای شناسایی uORF به این صورت بود که کدون آغاز AUG و کدون‌های خاتمه UAA، UGA و UAG در نظر گرفته شدند و حداقل طول uORF، پانزده کدون در نظر گرفته شد که شامل کدون آغاز و پایان نمی‌شود (von Arnim et al. 2014). در برخی موارد در یک 5′UTR بیش از یک ORF وجود داشت که همه آن‌ها در محاسبات مورد تجزیه تحلیل قرار گرفتند. رونوشت‌های تولید شده توسط هر ژن و طول این رونوشت‌ها تعیین و با هدف شناسایی نواحی اینترونی تطبیق رونوشت‌ها و ژن‌ها با ابزار Astalavista (http://genome.imim.es/astalavista) انجام گرفت و اطلاعات مربوط به اینترون‌ها شامل طول و درصد GC مشخص شد. از آنجاکه رونوشت‌های تولید شده از یک ژن می‌تواند تا حدی متفاوت باشند، بررسی فرایند پیرایش برای همه رونوشت‌های یک ژن انجام شد. پیرایش برای هر رونوشت یا در ناحیه کدکننده (CDS) یا در خارج آن (UTR) اتفاق می‌افتد. همچنین در صورتی که موقعیت پیرایش درون ناحیه کدکننده (CDS) باشد این موقعیت می‌تواند بین دو کدون یا درون کدون اتفاق بیفتند و در نهایت موقعیت پیرایش درون کدون می‌تواند در نوکلئوتید اول یا دوم باشد. موقعیت دقیق پیرایش در ناحیه کدکننده و خارج از آن با انطباق توالی رونوشت‌ها و ژن‌ها و بررسی داده‌های خروجی مکان شروع و خاتمه انجام گرفت.

نتایج

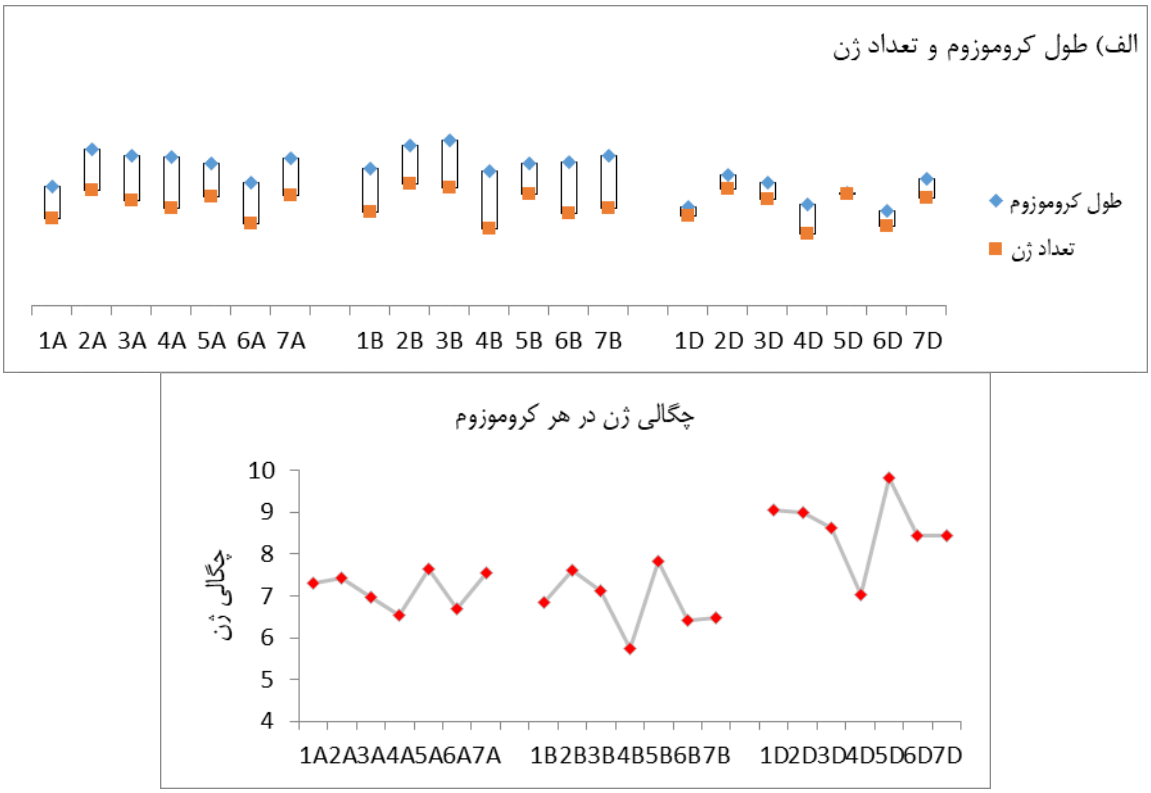
در این بخش به‌ترتیب به نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل ژنوم، بررسی تنوع فرآیند پردازش و تجزیه و تحلیل رونوشت‌ها و ارتباط درصد GC با سایر پارامترهای مربوط به ژنوم و رونوشت‌های گندم نان اشاره می‌شود.

الف) نتایج مربوط به تجزیه و تحلیل ژنوم: نتایج نشان داد که ژنوم‌های A، B و D از نظر طول کروموزوم‌ها و چگالی ژنی متفاوت هستند (شکل ۱- الف و ب). میانگین چگالی ژن گندم بررسی و حدود ۷/۵ برآورد شد. همان‌طور که در شکل ۱- الف دیده می‌شود اندازه کروموزوم‌های ژنوم D گندم با کروموزوم‌های ژنوم‌های دیگر تفاوت زیادی دارد. از طرفی تعداد ژن در ژنوم‌های مختلف تفاوت چندانی را نشان نمی‌دهد. به عبارت دیگر کروموزوم‌های ژنوم D گندم به نسبت ژنوم‌های B و A دارای کروموزوم‌های کوتاه‌تر ولی تعداد ژن تقریباً برابر هستند و بنابراین چگالی ژن بالاتری در ژنوم D (۸/۶۳) نسبت به ژنوم A (۷/۱۶) و ژنوم B (۶/۸۶) مشاهده شد. همچنین کروموزوم 5D و 4D با اینکه از نظر طول تفاوت زیادی ندارند، اما به‌علت تعداد ژن متفاوت، چگالی‌های ژن در آن‌ها تفاوت نسبتاً زیادی دارد (شکل ۱- ب). در بررسی جداگانه کروموزوم‌ها کروموزوم 5D و کروموزوم 4B به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین چگالی ژن در بین کروموزوم‌های گندم بودند. بیشترین تعداد ژن متعلق به کروموزوم شماره ۲ ژنوم B با ۶۱۰۹ ژن و کمترین تعداد ژن متعلق کروموزوم شماره ۴ ژنوم D با ۳۵۷۹ ژن می‌باشد. ژنوم A از نظر تعداد ژن در کروموزوم‌ها و چگالی ژن، نسبت به ژنوم‌های دیگر پراکندگی کمتری داشت.

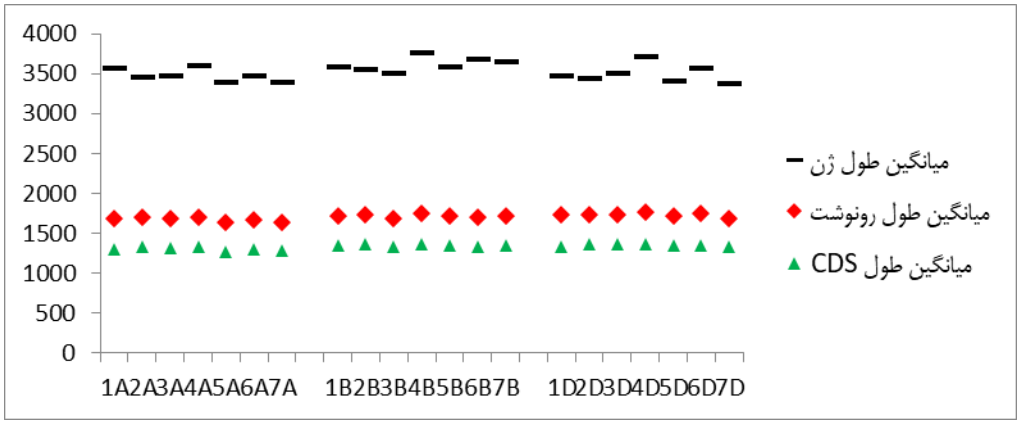
ب) بررسی تنوع فرایند پردازش: مقایسه میانگین طول ژن‌ها، رونوشت‌ها و نواحی کدکننده (CDS) نشان داد که این شاخص‌ها از الگوی تقریباً مشابهی پیروی می‌کنند (شکل ۲). به عبارت دیگر، میانگین طول ژن‌ها، رونوشت‌ها و CDSها در کروموزوم‌ها به‌ترتیب حدود ۳۵۳۰، ۱۷۰۰ و ۱۳۳۰ جفت‌باز محاسبه شد. این بدین معنی است که حدود نیمی از اطلاعات ژن‌ها در رونوشت‌ها

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

تظاهر می‌یابد. از طرف دیگر، به‌طور متوسط حدود ۴۰۰ نوکلئوتید در رونوشت‌ها جزء نواحی کدکننده پروتئین‌ها (CDS) نیستند و مربوط به نواحی UTR می‌باشد. میانگین طول رونوشت و CDS در بین ژنوم‌ها نیز الگوی ثابتی داشت، اما از نظر میانگین طول ژن، اختلاف اندکی در ژنوم‌ها به‌خصوص ژنوم B و D قابل مشاهده است. اختلاف میان طول ژن و طول رونوشت ناشی از وجود اینترون‌ها می‌باشد. میانگین‌های طول اگزون‌ها و اینترون‌ها در شکل ۳ مورد مقایسه قرار گرفته است. مقایسه میانگین طول اگزون‌ها نشان می‌دهد که این شاخص در بین کروموزوم‌های مختلف گندم از الگوی مشابهی پیروی می‌کنند. بدین ترتیب که میانگین طول اینترون‌ها در حدود ۲۵۰۰ و میانگین طول اگزون‌ها حدود ۳۰۰ جفت‌باز است؛ به‌عبارت دیگر میانگین طول اینترون‌ها حدود ۸ برابر میانگین طول اگزون‌هاست.



شکل ۱- الف) نمایش طول کروموزم و تعداد ژن‌های هر کروموزوم و ب) چگالی ژن‌ها روی هرکروموزوم

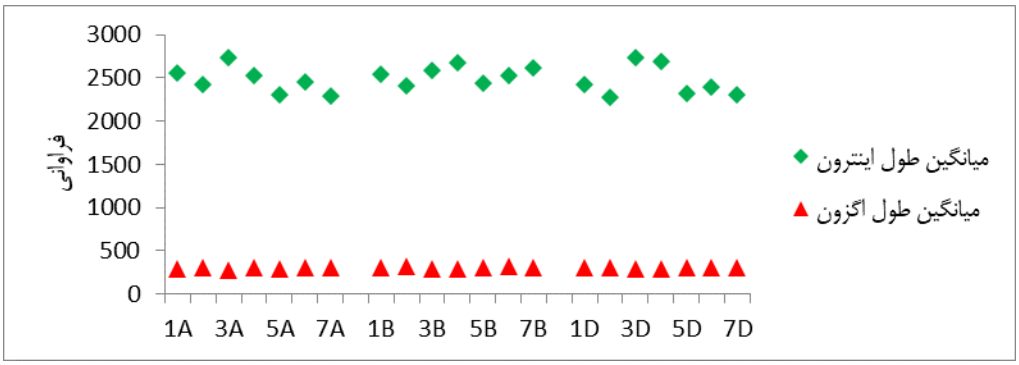


شکل ۲- مقایسه میانگین طول ژن‌ها، رونوشت‌ها و نواحی کدکننده (CDS)

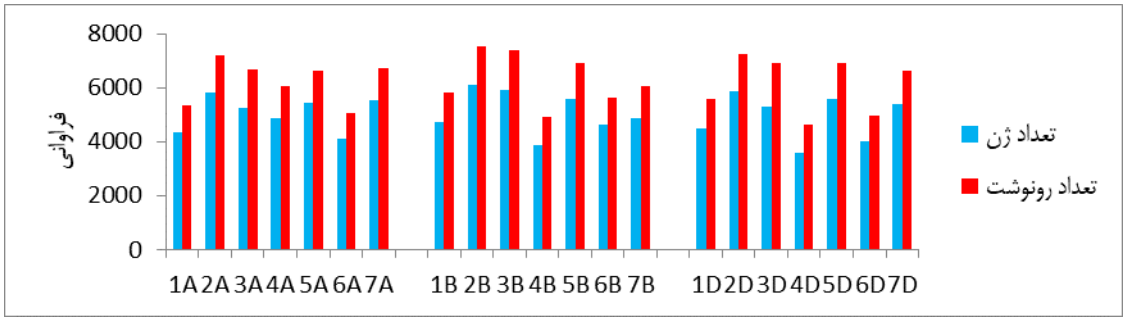
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

در خصوص میانگین طول اینترون‌ها، ژنوم B دارای پراکندگی کمتری بود. مقایسه تعداد رونوشت و تعداد ژن‌ها در کروموزوم‌ها (شکل ۴- الف) نشان می‌دهد که به‌واسطه رخدادهای پیرایش متناوب، رونوشت‌های متعددی از روی یک ژن تولید می‌شود. در مجموع برای تقریبا ۱۶ درصد ژن‌ها بیش از یک رونوشت شناسایی شد. با این‌حال ۱۴ درصد ژن‌ها ۲ یا ۳ نوع رونوشت تولید می‌کنند و تعداد ژن‌هایی که تمایل به تولید بیش از ۳ نوع رونوشت دارند، کمتر از ۲ درصد می‌باشد (شکل ۴- ب). تفاوت خاصی در ژنوم‌های مختلف از این نظر مشاهده نشد.

عامل اصلی در امکان رخداد پیرایش متناوب وجود اینترون در ژن‌هاست. در شکل ۵، ژن‌ها از نظر داشتن یا نداشتن اینترون مورد مقایسه قرار گرفته‌اند. با توجه به شکل ۵، مشخص است که تعداد ژن‌های دارای اینترون بسیار بیشتر از رونوشت‌های فاقد اینترون می‌باشد که این نسبت حدود ۸۰ به ۲۰ درصد است. این نسبت در همه کروموزوم‌های ژنوم‌های مختلف گندم دیده شد.



شکل ۳- مقایسه میانگین طول اینترون‌ها و اگزون‌ها در رونوشت‌ها

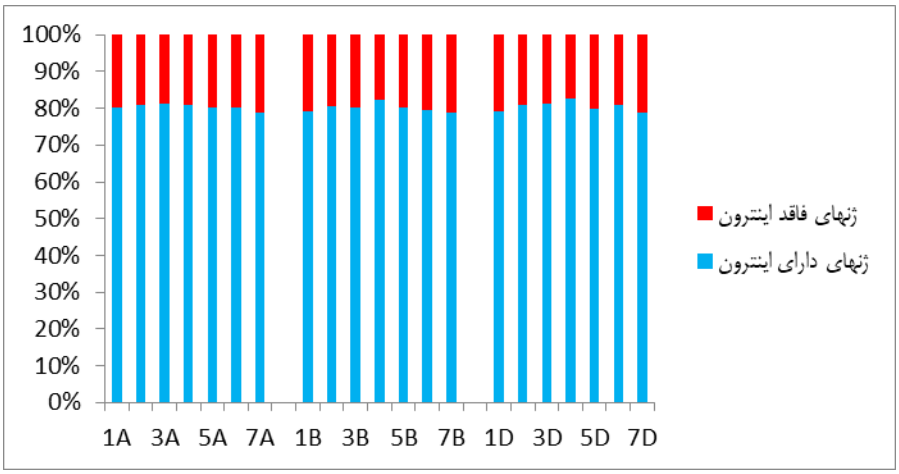


شکل ۴- الف) مقایسه تعداد ژن‌ها و رونوشت‌های تولید شده توسط ژن‌ها در هر کروموزوم

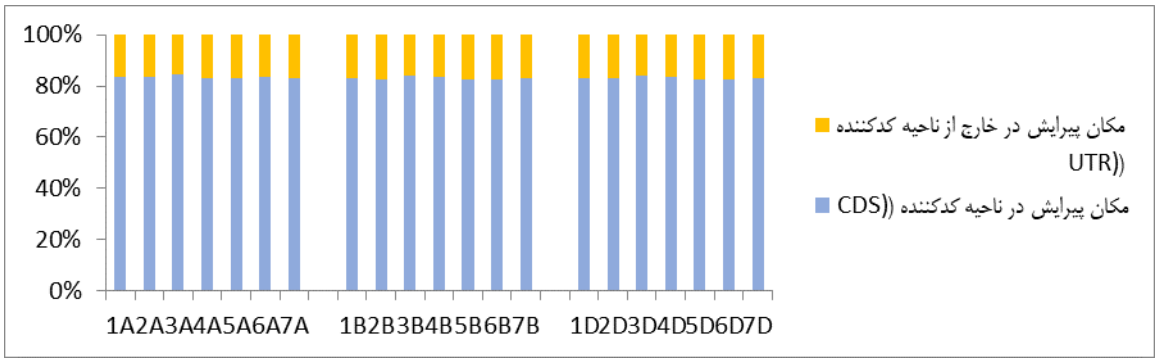


شکل ۴- ب) درصد فراوانی ژن‌های دارای انواع رونوشت

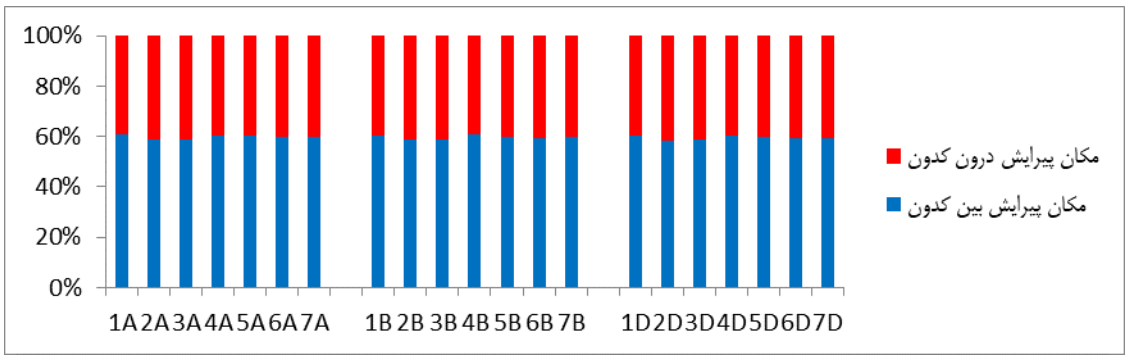
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



شکل ۵- مقایسه تعداد رونوشت‌های فاقد و دارای اینترون



شکل ۶- فراوانی مکان‌های پیرایش بر روی موقعیت‌های مختلف رونوشت‌ها



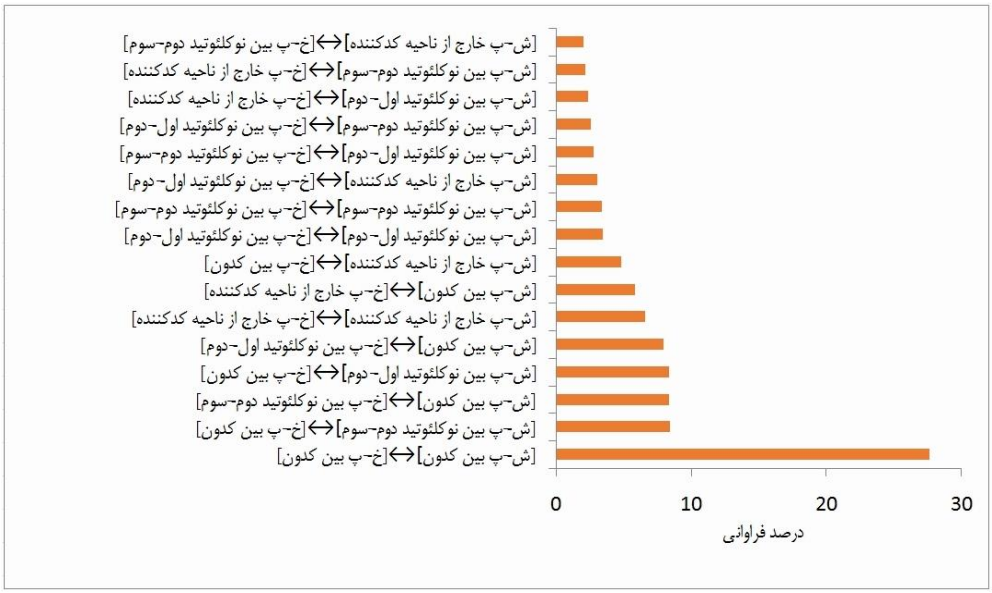
شکل ۷- فراوانی مکان‌های پیرایش درون و بین کدون بر روی ناحیه کدکننده در رونوشت‌ها

وقوع پیرایش در منطقه کدکننده (CDS) یا خارج از ناحیه کدکننده (UTRs) می‌تواند اتفاق بیفتد. همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، بیش از ۸۰ درصد پیرایش در ناحیه کدکننده رونوشت‌ها و کمتر از ۲۰ درصد در نواحی UTR اتفاق می‌افتد. از طرف دیگر پیرایش در ناحیه کدکننده خود می‌تواند در درون کدون یا بین کدون رخ بدهد (شکل ۷). نتایج نشان می‌دهد که فراوانی پیرایش در بین کدون بیش از پیرایش در درون کدون‌هاست؛ به‌عبارت دیگر، در ناحیه کدکننده، پیرایش بعد از هر سه نوکلئوتید (کدون) متداول‌تر از پیرایش درون کدون (بین نوکلئوتید اول و دوم یا بین نوکلئوتید دوم وسوم) می‌باشد. از طرف دیگر پیرایش در ناحیه کدکننده خود می‌تواند در درون کدون یا بین کدون رخ بدهد (شکل ۷). نتایج نشان می‌دهد که فراوانی پیرایش در بین کدون بیش از پیرایش در درون کدون‌هاست؛ به‌عبارت دیگر، در ناحیه کدکننده، پیرایش بعد از هر

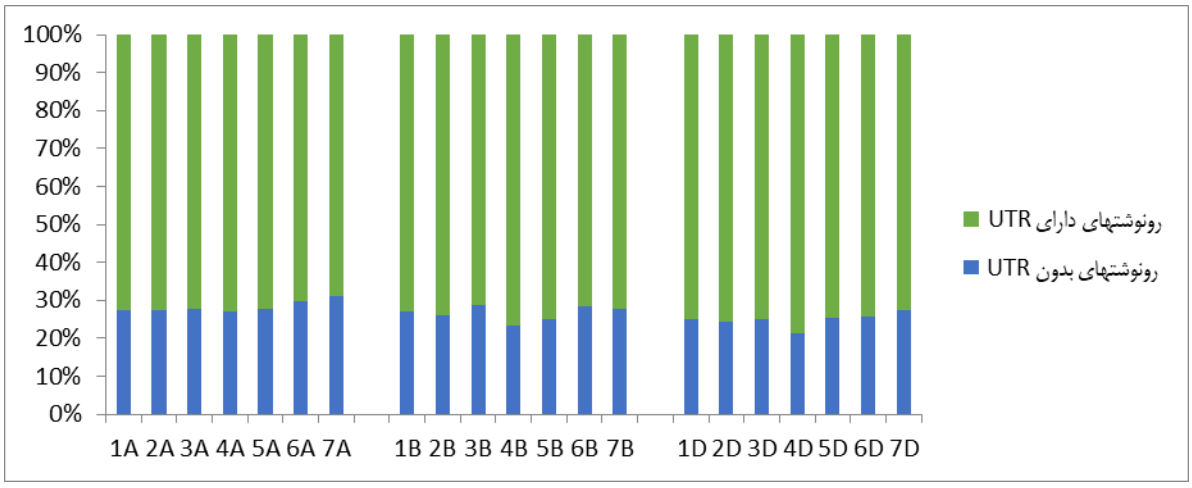
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

سه نوکلئوتید (کدون) متداول‌تر از پیرایش درون کدون (بین نوکلئوتید اول و دوم یا بین نوکلئوتید دوم وسوم) می‌باشد. در مرحله بعد فراوانی پیرایش در انواع حالت‌ها بررسی شد (شکل ۸). با توجه به اینکه تفاوتی خاصی در نتایج کروموزوم‌های مختلف وجود نداشت و الگوی آن‌ها یکسان بود، نتایج برای هر سه ژنوم A، B و D با هم ارائه می‌شود. بیشترین درصد فراوانی مربوط به حالتی بود که هم شروع و هم خاتمه پیرایش در بین کدون رخ می‌دهد.

ج) نتایج مربوط به تجزیه و تحلیل رونوشت‌ها: پس از انجام رونویسی و فرایند پیرایش، بسیاری ازرونوشت‌های حاصل از دو بخش کدکننده پروتئین (CDS) و ناحیه‌های غیرکدکننده یا ترجمه نشونده انتهای ′۵ و ′۳ (5′UTR و 3′UTR) تشکیل شده‌اند (برخی از رونوشت‌ها فاقد UTR هستند). آنجاکه UTRها می‌توانند نقش‌های بسیار مهمی را ایفا کنند، رونوشت ژن‌ها از نظر وجود یا عدم وجود UTR و انواع آن مورد بررسی قرار گرفت (شکل‌های ۹، ۱۰ و ۱۱). بیش از ۷۰ درصد رونوشت‌ها در همه کروموزوم‌ها دارای UTR هستند (شکل ۹). در شکل ۱۰، میانگین طول 5′UTR و 3′UTR مورد مقایسه قرار گرفته است.



شکل ۸- درصد فراوانی انواع پیرایش بسته به قرار گرفتن شروع و خاتمه پیرایش در خارج یا درون ناحیه کدکننده.(ش-پ: شروع پیرایش، خ-پ: خاتمه پیرایش)

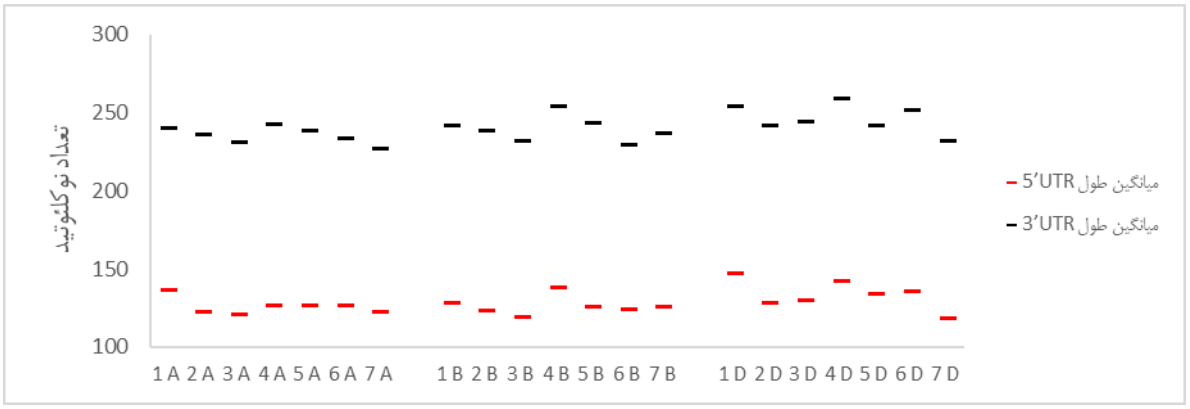


شکل ۹- درصد رونوشت‌های دارای و بدون UTRها

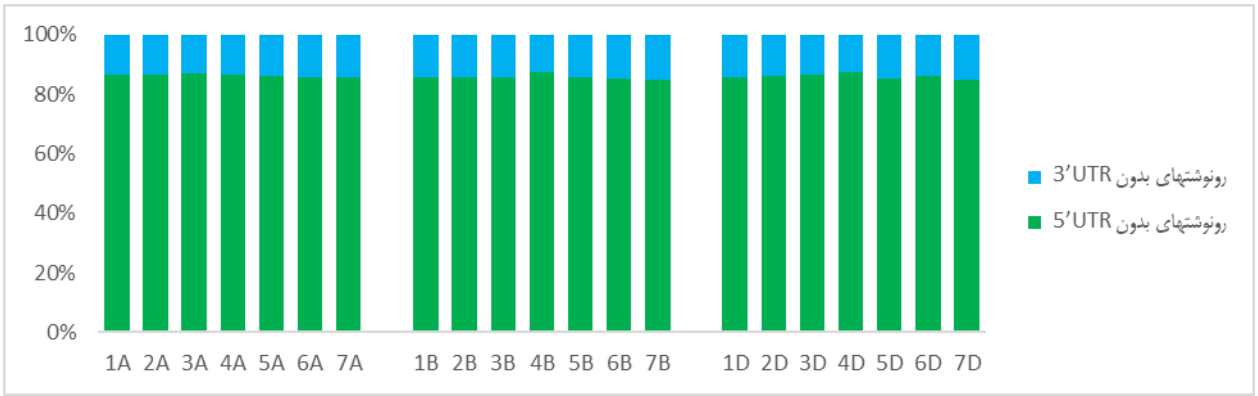
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

همان‌طور که در شکل ۱۰ مشاهده می‌شود، میانگین طول 3′UTR و 5′UTRها به‌ترتیب حدود ۲۵۰ و ۱۵۰ نوکلئوتید است. همچنین در ارتباط با بیشتر کروموزوم‌ها ارتباط مستقیمی بین میانگین طول انواع 3′UTR و 5′UTR دیده می‌شود، به این ترتیب که کروموزوم‌های با میانگین طول 3′UTR بلندتر دارای میانگین طول بیشتری در 5′UTR هم می‌باشند.از طرفی UTRها می‌توانند در تنها در یکی از نواحی 5′ و 3′ رونوشت قرار گرفته باشند. رونوشت‌های از نظر فقدان 3′UTR و 5′UTR نیز مورد مقایسه قرار گرفتند (شکل ۱۱). بررسی طول نواحی مختلف رونوشت‌های دارای UTR نیز نشان می‌دهد که به‌طور میانگین ۷۸ درصد طول رونوشت‌ها مربوط به ناحیه کدکننده (CDS) و بقیه مربوط به UTRها است (شکل ۱۲). سپس وجود ORF در ناحیه 5′UTR رونوشت‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در شکل ۱۳، تعداد رونوشت‌های دارا و فاقد uORF نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که تقریباً ۱۰ درصد رونوشت‌ها دارای uORF هستند. که در بین تمامی کروموزوم‌ها تقریباً مشابه می‌باشد. میانگین طول uORFها برای تمامی کروموزوم‌ها بسیار نزدیک و حدود ۱۱۶ نوکلئوتید بود. علی‌رغم اینکه طول بلندترین uORF شناسایی شده در هر کروموزوم متفاوت بود. با این وجود همان‌طور که در شکل ۱۴ مشخص است، در کل شباهت زیادی بین کروموزوم‌های مختلف از نظر پراکندگی متوسط اندازه طول دیده می‌شود.

رونوشت‌های دارای uORF از نظر تعداد uORF دارای تنوع هستند. میانگین تعداد uORF هر رونوشت در رونوشت‌های دارای uORF حاصل از کرووموزوم‌های مختلف بین ۱/۵ تا ۲/۵ به‌دست آمد (شکل ۱۵). برای هر سه ژنوم A، B و D بیشترین تعداد uORF در رونوشت‌های کروموزوم‌های ۱، ۴ و ۷ مشاهده شد.

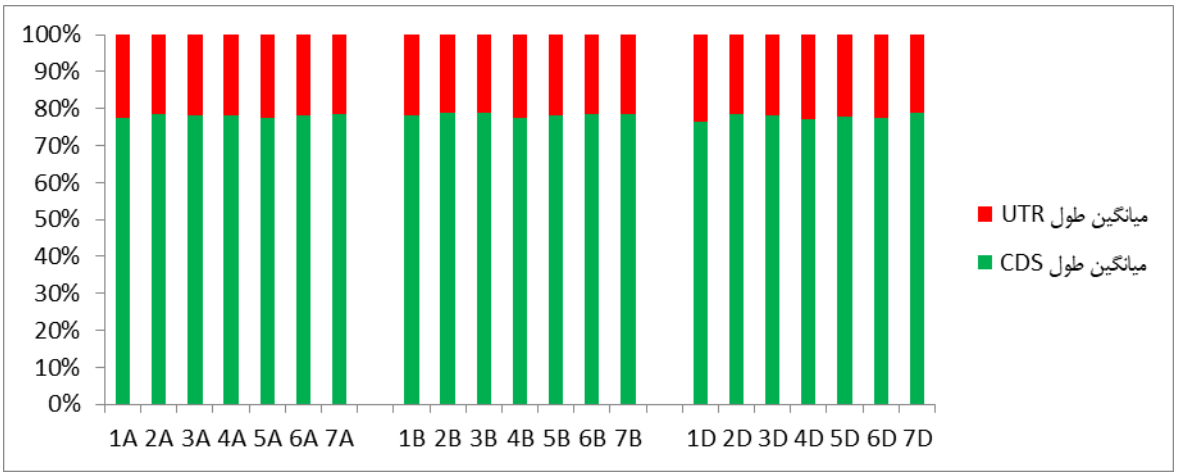


شکل ۱۰- میانگین طول 5′UTR و 3′UTR در رونوشت‌ها

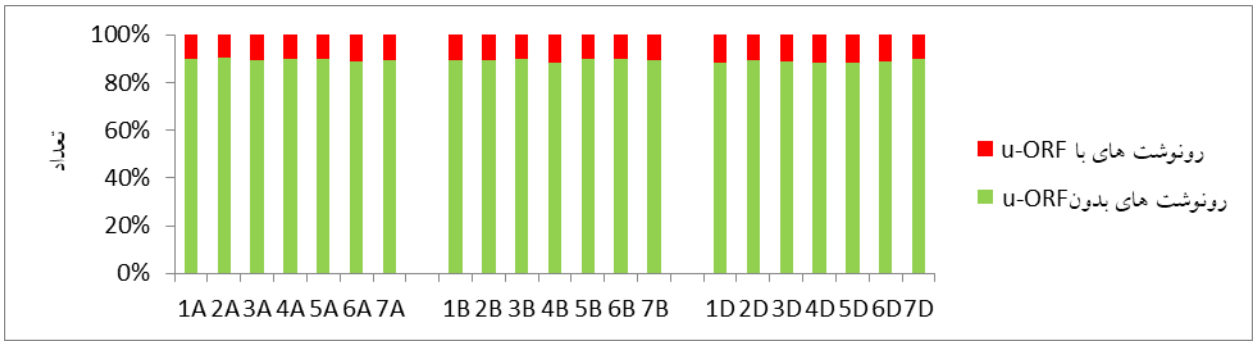


شکل ۱۱- درصد رونوشت‌های فاقد 3′UTR و 5′UTR

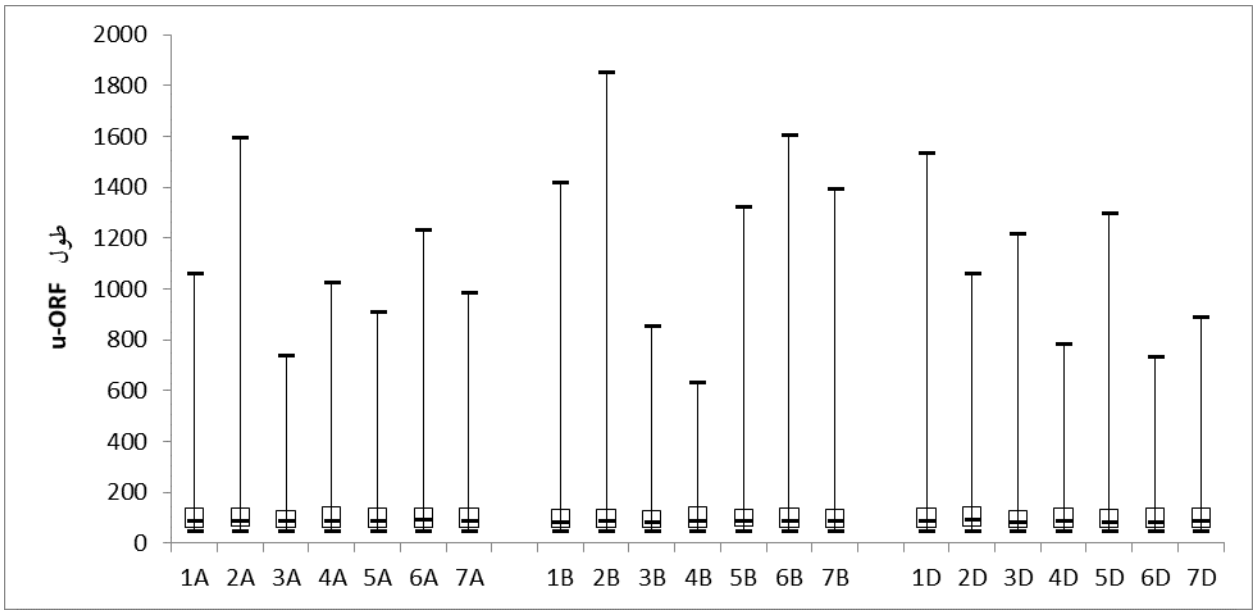
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



شکل ۱۲- میانگین طول ناحیه UTR و CDS در رونوشت‌ها



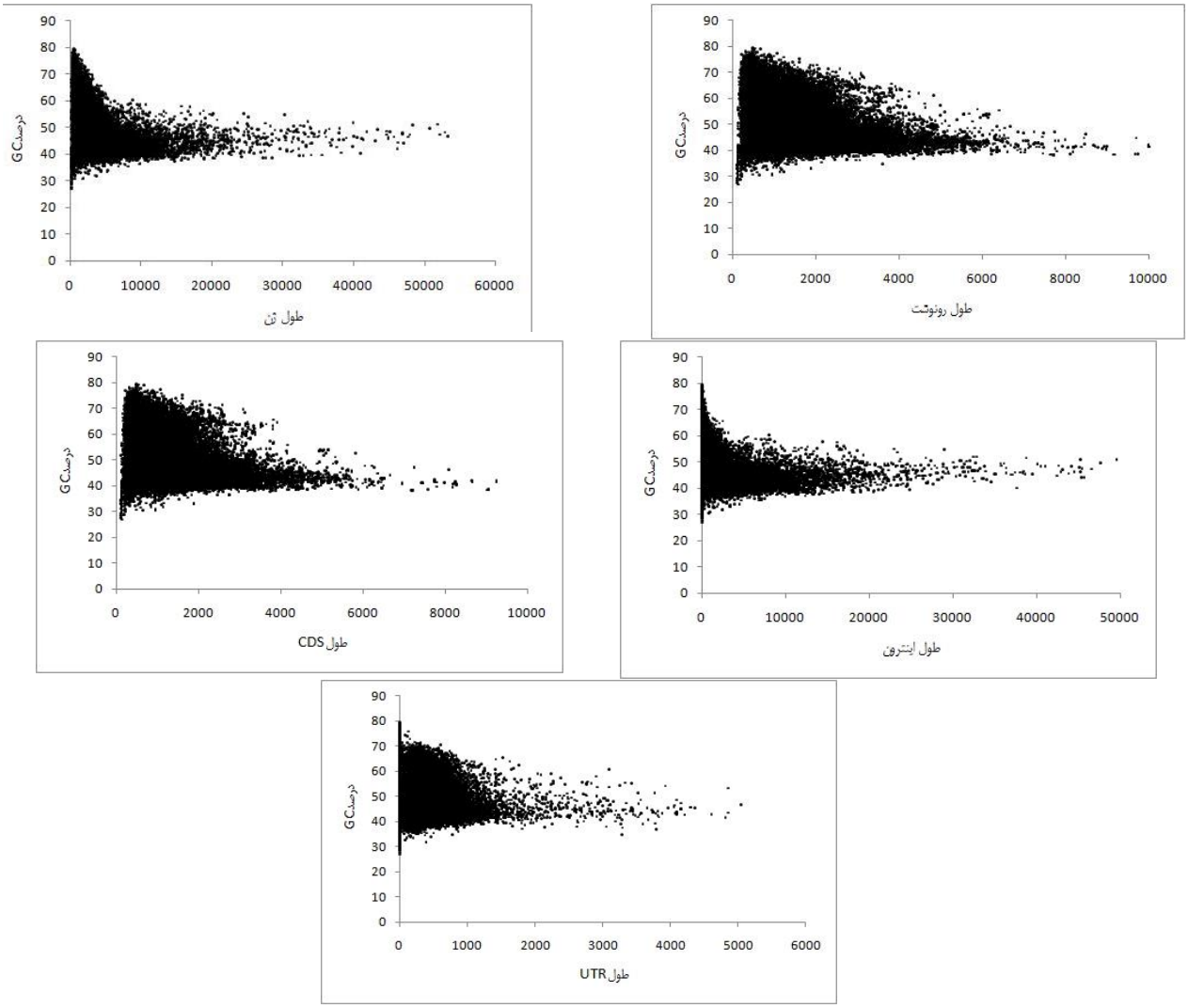
شکل ۱۳- تعداد رونوشت‌های دارا و فاقد uORF



شکل ۱۴- باکس پلات توزیع طول uORFها

د) ارتباط درصد GC با طول ژن، رونوشت، CDS، UTR، اینترون: با توجه به اینکه درصد GC برای ژن‌ها، رونوشت‌ها، CDSها، UTRها و اینترون‌ها محاسبه شده بود، در این بخش رابطه درصد GC با طول هرکدام از موارد ذکر شده نمایش داده می‌شود (شکل ۱۶).

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



شکل ۱۶- توزیع میزان درصد GC (محور عمودی) نسبت به طول ژن، رونوشت، CDS، UTR و اینترون که بر حسب تعداد نوکلئوتید می‌باشند (محور افقی)

نتایج نشان داد، میزان درصد GC در تمام موارد مورد بررسی تقریباً از ۲۵ تا ۸۰ درصد متغیر است. با این وجود با افزایش طول در همه موارد این بازه محدودتر شده به‌طوری که در طول‌های بالا محتوی GC بین ۳۸ تا ۵۷ درصد می‌رسد. میزان درصد GC در رونوشت‌ها، ناحیه کدکننده (CDS)، ناحیه ترجمه‌نشونده (UTR) و اینترون‌ها از ۲۸ تا ۸۰ درصد متغیر بود، اما با افزایش طول، درصد GC روند کاهشی پیدا می‌کند. الگوی مشاهده شده در شکل‌ها کاملاً یکسان نیست. الگوی شکل در ژن و اینترون بسیار شبیه یکدیگر بود و الگوی شکل رونوشت‌ها، ناحیه کدکننده (CDS)، ناحیه ترجمه نشونده (UTR) نیز شباهت بسیاری داشتند. این تاحدی قابل انتظار است، چون قسمت عمده ژن از اینترون تشکیل شده و انتظار می‌رود که درصد GC آن‌ها شبیه‌تر باشد. از طرفی رونوشت‌ها متشکل از دو ناحیه کدکننده (CDS) و ناحیه ترجمه‌نشونده (UTR) می‌باشند و بنابراین درصد GC رونوشت‌ها متأثر از این دو خواهد بود. با این وجود، نکته قابل توجه شباهت درصد GC در ناحیه کدکننده (CDS) با ناحیه ترجمه‌نشونده (UTR) بود که با وجود نقش متفاوت الگوی بسیار شبیه را نمایش می‌دهند.

بحث

گندم نان یک آلوهگزاپلوئید متشکل از سه سری کروموزوم A، B و D می‌باشد. Keller and Feuillet (2000) تحقیقاتی بر روی

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

چگالی ژن در تیره گندم انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که تراکم ژنی مورد انتظار در گونه‌های مختلف به‌دلیل تفاوت در اندازه ژنوم آن‌ها متغیر است. آن‌ها دریافتند که چگالی ژنی بین ژنوم‌ها تقریباً مشابه است. همچنین چگالی ژن در گیاهان مختلف را بررسی کردند و میزان میانگین چگالی ژن گندم را ۵ برآورد کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که چگالی ژنی در بین ژنوم‌های مختلف گندم و در بین کروموزوم‌های مختلف یک ژنوم نیز تفاوت‌دارد (شکل ۱- الف). همچنین در این تحقیق میزان میانگین چگالی ژن گندم ۷/۵ برآورد شد که تفاوت آن نسبت به گزارش Keller and Feuillet (2000) را می‌توان به افزایش اطلاعات در مورد ژنوم گندم به‌علت توالی‌یابی کامل آن دانست. همچنین بیشترین و کمترین چگالی ژنی شناسایی شده به‌ترتیب متعلق به کروموزوهای 5D و 4B بود (شکل ۱- الف). یکی از دلایل تفاوت در چگالی کروموزوم‌ها مربوط به اندازه ژن‌هاست، اما با توجه به طول تقریباً برابر میانگین رونوشت‌های کروموزوم‌های گندم، به‌نظر می‌رسد اختلاف چگالی عمدتاً ناشی از اندازه اینترون‌هاست (شکل ۲ و ۳). وجود اینترون، شرط لازم برای پیرایش متناوب بوده و می‌تواند ساختار رونوشت‌ها و پروتئین‌های رمزگزاری شده آن‌ها را تغییر می‌دهد (Bicknell et al. 2012). نتایج این بررسی نشان داد که حدود ۸۰ درصد ژن‌های گندم دارای اینترون هستند که پتانسیل بالقوه مناسبی را برای ایفای نقش اینترون‌ها فراهم می‌کند (شکل ۵). وجود یک اینترون و یا حذف آن توسط اسپلایسئوزوم می‌تواند تقریباً بر هر مرحله در بیان ژن از رونویسی و پلی‌آدنیلاسیون تا خروج از هسته، جایابی درون سلول، ترجمه و تجزیه mRNA تأثیر بگذارد (Moore et al. 2009; Le Hir et al. 2003). نقشی که به وضوح برای اینترون‌ها در ارگانیسم‌های عالی قابل درک است، امکان رخداد پیرایش متناوب است که به یک ژن اجازه می‌دهد تا طیفی از پروتئین‌ها با عملکرد مختلف را رمزگذاری و تنظیم کند (Morello and Breviario 2008). در این مطالعه برای حدود ۱۶ درصد ژن‌ها بیش از یک نوع رونوشت شناسایی شد که نشان از وقوع پیرایش متناوب دارد (شکل ۴- الف و ب). تغییر رونوشت‌ها در پیرایش متناوب می‌تواند سطوح بیان رونوشت‌ها را با قرار دادن mRNA در معرض تجزیه mRNA بی‌معنی (NMD) تعدیل کند و ساختار محصول ژن را با حذف یا اضافه کردن بخشی از پروتئین جدید تغییر دهد (Stamm et al. 2005). حتی اینترون‌هایی که در ناحیه ترجمه‌نشونده (UTR) یک ژن قرار می‌گیرند با وجود اینکه ترجمه نمی‌شوند، از طریق تجزیه mRNA بی‌معنی (NMD) و خروج mRNA از هسته، در تنظیم بیان ژن نقش دارند (Bicknell et al. 2012). طبق نتایج این تحقیق اکثر پیرایش‌ها در ناحیه کدکننده رونوشت‌های گندم صورت می‌گیرد و با وجود اینکه طول ناحیه UTR به‌صورت میانگین حدود ۲۲ درصد از طول رونوشت را شامل می‌شود با این وجود کمتر از ۱۷ درصد از پیرایش درون این ناحیه اتفاق می‌افتد (شکل ۶ و ۷). این نتیجه مطابق با مطالعه سامس و همکاران در سال ۲۰۰۸ بود که بیان کرده بودند انواع پیرایش عمدتاً در ناحیه CDS اتفاق می‌افتد و پیرایش در ناحیه 5′UTR با فراوانی کمتر و در ناحیه 3′UTR به ندرت اتفاق می‌افتد (Sammeth et al. 2008). به‌علاوه در ناحیه CDS، فراوانی پیرایش در بین کدون بیش از پیرایش در درون کدون‌ها بود؛ به‌عبارت دیگر، در ناحیه کدکننده، پیرایش بعد از هر سه نوکلئوتید کدون متداول‌تر از پیرایش درون کدون (بین نوکلئوتید اول و دوم یا بین نوکلئوتید دوم وسوم) می‌باشد. همچنین بسته به قرار گرفتن شروع و خاتمه پیرایش در خارج یا درون ناحیه کدکننده (CDS) مشاهده شد که بیشترین درصد فراوانی مربوط به حالتی بود که هم شروع و هم خاتمه پیرایش در بین کدون اتفاق می‌افتد (شکل ۸). یکی از دلایل این رخداد ممکن است به‌دلیل ترجیح کدونی شروع و پایان پیرایش باشد. کدون‌های خاتمه در مرزهای اگزون با فراوانی بالا موجود هستند و اکثر کدون‌هایی که با انتهای ′۳ اگزون هم‌مرز هستند، جزء کدون‌های خاتمه هستند. این نظریه مطرح است که اتصال دو اگزون با هدف دور زدن مشکل ORFهای کوتاه ناشی از کدون‌های خاتمه مکرر در DNA تصادفی اولیه تکامل یافته است. بنابراین قطعات توالی کدکننده در ORFهای کوتاه به اگزون تبدیل شدند و توالی‌های میانی حاوی کدون‌های خاتمه متعدد تبدیل به اینترون شدند و این مستلزم این است که اگزون‌ها با کدون‌های خاتمه مرزی شوند. وقوع کدون‌های خاتمه در DNA تصادفی بسیار مکرر بوده و اجازه نمی‌دهد پروتئین‌های عملکردی رمزگذاری شوند (Regulapatiet al. 2008).

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

نتایج نشان داد که در حدود ۷۰ درصد رونوشت‌های گندم دارای UTR هستند (شکل ۹). کنترل رونویسی با واسطه عوامل رونویسی انجام می‌شود، در حالی‌که کنترل پس از رونویسی توسط مجموعه پیچیده‌ای از عناصر سیس و ترانس تنظیم می‌شود. عناصر سیس کنترل کننده پس از رونویسی، که عموماً در UTR رونوشت‌ها وجود دارند، می‌توانند ویژگی‌های مختلف رونوشت مانند پایداری، انتقال و کارایی ترجمه و همچنین عملکرد و محل فعالیت درون سلولی پروتئین‌های ترجمه شده را تنظیم کنند (Mignone et al. 2002). بنابراین، UTRها مؤلفه‌های ژنتیکی مهمی هستند که فرآیندها را در سطح مشترک رونوشت‌ها و پروتئین‌ها تنظیم می‌کنند. این امر تطبیق‌پذیری سیستم بیان ژن را فراهم می‌کند و در نتیجه به گیاهان کمک می‌کند تا با نوسانات محیطی سازگار شوند (Srivastava et al. 2018). همچنین نتایج نشان داد که نسبت طول UTR به ناحیه کدکننده در حدود ۲۲ درصد می‌باشد (شکل ۱۲). در تحقیقی این نسبت در آرابیدوپسیس و برنج را حدود ۱۸ تا ۱۹ درصد محاسبه شده است و عنوان شده که این میزان نشان دهنده اهمیت این ناحیه می‌باشد (Srivastava et al. 2018). در مطالعه حاضر میانگین طول 5′UTR حدود ۱۵۰ و میانگین 3′UTR حدود ۲۵۰ نوکلئوتید محاسبه شد (شکل ۱۰ و ۱۱) که با نتایج Srivastava et al. (2018) که این اعداد را برای آرابیدوپسیس ۱۵۵ و ۲۴۲ نوکلئوتید گزارش کرده‌اند، شباهت بسیاری دارد. با این وجود، با طول گزارش شده برای 5′UTR و 3′UTR برنج که میانگین طول ۲۵۹ و ۴۶۹ نوکلئوتید را به‌ترتیب برای 5′UTR و 3′UTR گزارش شده متفاوت است. Vaughn et al (2012) عنوان کردند با وجود ماهیت حفاظت شده بسیاری از عناصر تنظیم‌کننده سیس مرتبط با UTR در خانواده‌های گیاهی، وجود مکانیسم‌های خاص گونه‌های گیاهی قابل انتظار است (Vaughn et al. 2012). به‌علاوه غنی‌سازی عملکردی برای طول‌های مختلف UTR بین آرابیدوپسیس و برنج نتایج متفاوتی را نشان داد. برای مثال، ژن‌های با طول 3′UTR و 5′UTR کمتر از ۵۰۰ نوکلئوتید در آرابیدوپسیس بیشتر در ژن‌های پاسخ دهنده به تنش و در برنج بیشتر ژن‌های واسطه انتقال و متابولیسم مشاهده شده‌اند. این مقایسه گویای این مطلب است که علی‌رغم شباهت‌های چشم‌گیر در گیاهان، نتایج حاصل از مطالعات عملکردی مرتبط با UTR در یک گیاه را نمی‌توان برای سایر گیاهان به‌کار برد (Sun et al. 2017). بنابراین مطالعات نتایج پروژه‌های مقیاس بزرگ که هدف آن درک عملکرد همه پروتئین‌های مشتق‌شده از مخزن ژنی اولیه است، باید با مطالعات موازی که تنظیم وابسته به UTR همه ژن‌ها را تعیین می‌کند، تکمیل شود. چنین رویکردی جامع برای اطمینان از استفاده مؤثر از مطالعات ژنومیک عملکردی برای بهبود ژنتیکی گیاهان زراعی مورد نیاز است (Srivastava et al. 2018).

uORFها جز عناصر نظارتی در منطقه 5UTR هستند. مطالعات وسیع ژنومی و پروتئومیکس نشان داده است که uORFها بیان پروتئین در mORF پایین دست را ۳۰ تا ۸۰ درصد کاهش می‌دهند (Somers et al. 2013). در این مطالعه بررسی وجود uORFها نشان داد که تقریباً ۱۰ درصد رونوشت‌ها دارای uORF هستند که این نسبت در بین تمامی کروموزوم‌ها تقریباً مشابه می‌باشد (شکل ۱۳، ۱۴ و۱۵). به‌علاوه شباهت زیادی بین کروموزوم‌های مختلف از نظر پراکندگی متوسط اندازه طول دیده شد و رونوشت‌های دارای uORF عموما دارای یک یا دو uORF بودند. حدود ۳۵ درصد از ژن‌های آرابیدوپسیس mRNAهای حاوی uORF را تولید میکنند و حدود نیمی ازآن‌ها دارای uORFهای متعدد هستند. (Von Arnim et al. 2014). در حالی‌که به‌نظر می‌رسد بسیاری از uORFها کمتر حفاظت‌شده هستند، اما بسیاری از mRNAها دارای یک الگوی حفاظت شده از uORF هستند. از نظر تکاملی، دارا بودن یا عدم وجود uORFs ممکن است مکانیزم گسترده‌ای برای تنوع الگوهای بیان ژن باشد (Von Arnim et al. 2014).

محتوای GC یکی از ویژگی‌های مهم توالی‌های نوکلئوتیدی است که در پایداری توالی، انتخاب طبیعی، نرخ جهش و غیره تأثیرگذار است. درصد GC بین کروموزوم‌های مختلف گندم به‌طور میانگین در حدود ۴۸ درصد محاسبه شد، اما پراکندگی بین ۳۰ تا ۸۰ درصد متغیر بود. توزیع میزان محتوی GC نسبت با افزایش طول ژن به‌طور یکنواخت به سمت ۵۰ درصد تمایل داشت، اما این توزیع با افزایش طول رونوشت، CDS و UTR روند کاهشی و با افزایش طول اینترون روند افزایشی نشان داد (شکل ۱۶). (2007) Reddy در تحقیقی که میزان درصد GC نسبت به طول اینترون‌ها

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

را در آرابیدوپسیس و برنج مقایسه کرده بود، به این نتیجه رسید که برنج در مقایسه با آرابیدوپسیس دارای اینترون‌های بلندتر با درصد GC بیشتر می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که مناطق کروموزومی با محتوی GC بالا چگالی ژنی بالاتری دارند و ساختار ژن بین ژن‌های واقع در مناطق دارای درصد GC بالا در مقایسه با ژن‌های واقع در مناطق دارای درصد GC پایین تفاوت‌های زیادی دارند. از آن‌جا که محتوی GC بر ویژگی‌های مرتبط با محل اتصال تأثیر می‌گذارد. همچنین می‌تواند به‌طور مستقیم بر تشخیص محل اتصال نیز تأثیر بگذارد. همچنین اگزون‌ها در مناطق با محتوی GC کم با اینترون‌های با محتوی GC کم احاطه شده‌اند. در حالی‌که اگزون‌هایی که در مناطق دارای GC بالا قرار دارند تقریباً دارای محتوی GC یکسان با اینترون‌های کناری آن‌ها هستند (Amit et al. 2012).

نتایج این پژوهش نشان داد که در مجموع علی‌رغم متفاوت بودن منشأ ژنوم‌های گندم نان، وجود شباهت‌های بسیاری از نظر طول کروموزوم، چگالی ژن، پیرایش متناوب، طول CDS، طول UTR و درصد GC مشاهده می‌شود. همچنین تعداد ژن‌های دارای اینترون و تعداد ژن‌های شناسایی شده که پیرایش متناوب در آن‌ها رخ می‌دهد قابل توجه است. تقریباً ۸۰ درصد ژن‌های گندم دارای اینترون بود و از هر شش ژن در گندم، یک ژن بیش از یک نوع رونوشت را می‌تواند تولید کند و این به معنی پتانسیل تولید طیفی از پروتئین‌های با عملکرد مختلف از تعداد کمتری ژن می‌باشد. به‌علاوه وجود UTR در حدود ۷۰ درصد از ژن‌ها نشان دهنده ضرورت توجه به این عناصر در گندم می‌باشد.

منابع

Amit M, Donyo M, Hollander D, Goren A, Kim E, Gelfman S, Lev-Maor G, Burstein D, Schwartz S, Postolsky B, Pupko T, Ast G (2012) Differential GC content between exons and introns establishes distinct strategies of splice-site recognition. Cell reports 1:543-556.

Bicknell AA, Cenik C, Chua HN, Roth FP, Moore MJ (2012) Introns in UTRs: why we should stop ignoring them. Bioessays 34:1025-1034.

Black DL (2003) Mechanisms of alternative pre-messenger RNA splicing. Annual review of biochemistry 72:291-336.

Brenchley R, Spannagl M, Pfeifer M, Barker GL, D'Amore R, Allen AM, McKenzie N, Kramer M, Kerhornou A, Bolser D, Kay S, Waite D, Trick M, Bancroft I, Gu Y, Huo N, Luo MC, Sehgal S, Gill B, Kianian S, Anderson O, Kersey P, Dvorak J, McCombie WR, Hall A, laus Mayer K, Edwards KJ, Bevan MW, Hall N (2012) Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing. Nature 491:705-710.

Combier JP, de Billy F, Gamas P, Niebel A, Rivas S (2008) Trans-regulation of the expression of the transcription factor MtHAP2-1 by a uORF controls root nodule development. Genes & development 22:1549-1559.

Damiani RD, Wessler SR (1993) An upstream open reading frame represses expression of Lc, a member of the R/B family of maize transcriptional activators. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90:8244-8248.

Dubcovsky J, Dvorak J (2007) Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication. Science 316:1862-1866.

Guan J, Garcia DF, Zhou Y, Appels R, Li A, Mao L (2020) The Battle to Sequence the Bread Wheat Genome: A Tale of the Three Kingdoms. Genomics, Proteomics & Bioinformatics 18:221-229.

Hinnebusch AG, Ivanov IP, Sonenberg N (2016) Translational control by 5′-untranslated regions of eukaryotic mRNAs. Science 352:1413-1416.

International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC) (2014) A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. Science 345:1251788.

Keller B, Feuillet C (2000) Colinearity and gene density in grass genomes.Trends in plant science 5:246-251.

Le Hir H, Nott A, Moore MJ (2003) How introns influence and enhance eukaryotic gene expression. Trends in Biochemical Sciences 28:215-220.

Locatelli F, Magnani E, Vighi C, Lanzanova C, Coraggio I (2002) Inhibitory effect of myb7 uORF on downstream gene expression in homologous (rice) and heterologous (tobacco) systems. Plant molecular biology 48:309-318.

Lohmer S, Maddaloni M, Motto M, Salamini F, Thompson RD (1993) Translation of the mRNA of the maize transcriptional activator Opaque-2 is inhibited by upstream open reading frames present in the leader sequence. The Plant cell 5:65-73.

Mignone F, Gissi C, Liuni S, Pesole G (2002) Untranslated regions of mRNAs. Genome biology 3:1-10.

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

Moore MJ, Proudfoot NJ (2009) Pre-mRNA processing reaches back to transcription and ahead to translation. Cell 136:688-700.
Morello L, Breviario D (2008) Plant spliceosomal introns: not only cut and paste. Current genomics 9:227-238.
Oliver JL, Marín A (1996) A relationship between GC content and coding-sequence length. Journal of Molecular Evolution 43:216-223.
Panahi B, Mohammadi SA (2018) Function of Alternative Splicing in plants. Modern Genetics Journal 13:1-9. (In Farsi).
Reddy AS (2007) Alternative splicing of pre-messenger RNAs in plants in the genomic era. Annual review of plant biology (58) 267-294.
Regulapati R, Bhasi A, Singh CK, Senapathy P (2008) Origination of the Split Structure of Spliceosome Genes from Random Genetic Sequences. PLoS ONE 3:e3456
Ruiz-Orera J, Albà MM (2019) Translation of small open reading frames: roles in regulation and evolutionary innovation. Trends in Genetics 35:186-198.
Sammeth M, Foissac S, Guigó R (2008) A General Definition and Nomenclature for Alternative Splicing Events. PLOS Computational Biology 4:e1000147.
Somers J, Pöyry T, Willis AE (2013) A perspective on mammalian upstream open reading frame function. The international journal of biochemistry & cell biology 45:1690-1700.
Srivastava AK, Lu Y, Zinta G, Lang Z, Zhu JK (2018) UTR-Dependent Control of Gene Expression in Plants. Trends in plant science 23:248-259.
Stamm S, Ben-Ari S, Rafalska I, Tang Y, Zhang Z, Toiber D, Thanaraj TA, Soreq H (2005) Function of alternative splicing. Gene (344) 1-20.
Sun HX, Li Y, Niu QW, Chua NH (2017) Dehydration stress extends mRNA 3' untranslated regions with noncoding RNA functions in Arabidopsis. Genome research 27:1427-1436.
Vaughn JN, Ellingson SR, Mignone F, Arnim AV (2012) Known and novel post-transcriptional regulatory sequences are conserved across plant families. RNA 18:368-384.
von Arnim AG, Jia Q & Vaughn JN (2014) Regulation of plant translation by upstream open reading frames. Plant Science: an international journal of experimental plant biology (214) 1-12.
Zhang H, Wang Y, Lu J (2019) Function and evolution of upstream ORFs in eukaryotes. Trends in biochemical sciences 44:782-794.

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