



بررسی تغییرات در الگوی بیان ژن در طی تنش‌های شوری و اکسیداتیو با استفاده از تجزیه و تحلیل داده‌های میکرواری در آرآیدوپسیس

احمد طهماسبی^{۱*}، اسماعیل ابراهیمی^۱، منصور ابراهیمی^۲، محسن جعفرزاده^۳

۱- بخش زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

۲- گروه پژوهشی بیوانفورماتیک، پژوهشکده سبز، دانشگاه قم

۳- بخش زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

atahmasebi1@gmail.com

ebrahimie@shirazu.ac.ir

mebrahimi14@gmail.com

mohsenjafarzadeh35@yahoo.com

چکیده

تنش‌های غیر زنده رشد و توسعه گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهند. واکنش‌های گیاه در برابر آنها با تغییرات زیادی در شبکه‌های پیچیده ژن همراه است. در پژوهش حاضر تغییرات در الگوی بیان ژن‌ها در شرایط تنش شوری و اکسیداتیو و ارتباط بین آنها در گیاه آرآیدوپسیس مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های خام شرایط کنترل و تنش از پایگاه داده TAIR گرفته شد. جهت تعیین تفاوت معنی‌داری بیان ژن‌ها بین شرایط کنترل و تنش از روش t-test استفاده شد. نتایج نشان داد که به ترتیب بیان ۱۷۲۱ و ۱۰۸۴ ژن پس از تنش شوری و اکسیداتیو در برگ افزایش یافته است. همچنین بیان ۸۳ ژن در هر دو تنش شوری و اکسیداتیو افزایش یافت که نشان دهنده ارتباط قوی بین پاسخ‌های تنش شوری و اکسیداتیو می‌باشد. آنالیز ترکیب کارکردی ژن‌هایی که در هر دو تنش افزایش بیان داشته‌اند نشان داد که نزدیک به ۳۸ درصد از آنها در گروه‌های RNA، پروتئین، پیام‌رسانی و DNA دخالت دارند.

واژه‌های کلیدی: تنش، میکرواری، آرآیدوپسیس، بیوانفورماتیک

مقدمه

گیاهان اغلب تحت تاثیر شرایط نامساعد محیطی چون خشکی، شوری، سرما، دمای بالا و شدت نور زیاد قرار دارند. هر یک از این شرایط می‌توانند رشد و عملکرد گیاهان را محدود کرده و یا منجر به مرگ گیاه شوند (۴). این تنش‌ها پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی را در گیاهان القا می‌کنند. مطالعات نشان داده است که چندین سیستم تنظیم بیان ژن در پاسخ به تنش‌ها دخالت دارند. محصولات ژن‌های القا شده در شرایط تنش را میتوان به دو دسته کلی تقسیم‌بندی نمود: ۱- آنهایی که مستقیماً در برابر تنش‌ها نقش محافظتی دارند ۲- آنهایی که بیان ژن و انتقال پیام را کنترل می‌کنند (۱). شناخت کامل مکانیسم‌های تحمل و ژن‌های درگیر در شرایط تنش می‌تواند باعث بهبود تحمل به تنش‌های مختلف در گیاهان زراعی با استفاده از روش‌هایی چون دستکاری ژنتیکی شود. (۲). به این ترتیب پژوهشگران با شناخت الگوی رفتاری گیاه و شناسایی پارامترهای موثر فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، زمینه‌های لازم برای اصلاح مولکولی و مهندسی متابولیک گیاهان جهت رسیدن به یک سیستم کشاورزی پایدار را کسب می‌نمایند. امروزه چندین روش جهت بررسی تغییرات بیان ژن در گیاهان ارائه شده است. فن آوری میکرواری یکی از ابزارهای قدرتمند برای مطالعه بیان ژن در مقیاس ژنوم است. محصول این فن آوری تعداد بسیاری داده می‌باشد. قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس هدف آزمایش روش‌های آماری متنوعی از قبیل آزمون t، تجزیه کلاستر، تجزیه به مولفه‌های اصلی و ... برای داده‌های میکرواری استفاده می‌شود. در این مطالعه با استفاده از داده‌های میکرواری و



روش‌های بیوانفورماتیک به بررسی و مقایسه الگوی بیان ژن‌ها و تعیین گروه‌های کارکردی در دو شرایط تنش شوری و اکسیداتیو در گیاه آرابیدوپسیس پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

داده‌های میکرواری مورد نیاز از پایگاه داده TAIR^۱ گرفته شد. این داده‌ها شامل شرایط کنترل و تنش (شوری و اکسیداتیو) در نمونه برگ گیاه آرابیدوپسیس بود. داده‌ها با روش RMA^۲ نرمال شدند. برای تعیین تفاوت معنی داری بین شرایط تنش و کنترل از آزمون t-test بر اساس ۲ تکرار بیولوژیکی استفاده شد. آنالیز آماری و رسم نمودار ون^۳ با نرم افزار FlexArray انجام گرفت. برای دسته‌بندی کارکردی ژن‌ها از سرویس اینترنتی گروه‌بندی ژن MapMan^۴ استفاده گردید.

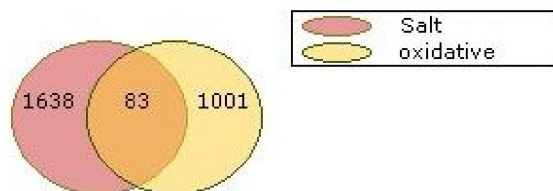
نتایج و بحث

نتایج حاصل از آزمون t نشان داد که در تنش‌های شوری و اکسیداتیو به ترتیب بیان ۲۸۳۶ و ۱۸۶۳ ژن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری را با شرایط کنترل دارند. این نتایج می‌تواند موید این مطلب باشد که تنش شوری عامل محدودکننده شدیدتری نسبت به تنش اکسیداتیو برای گیاه می‌باشد. سطح بیان ۱۷۲۱ و ۱۰۸۴ ژن به ترتیب تحت تنش شوری و اکسیداتیو در مقایسه با کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد. در تنش شوری بیشترین افزایش بیان مربوط به ژن‌های درگیر در متابولیت کربوهیدرات‌ها (۳/۱ برابر) بود و در حالی که در تنش اکسیداتیو بیشترین سطح بیان در ارتباط با ژن‌های کد کننده پروتئین (۲/۲۴ برابر) دیده شد. همچنین نمودار ون (شکل ۱) نشان داد که ۸۳ ژن در هر دو تنش بیانشان افزایش می‌یابد که نشان دهنده همبستگی و ارتباط قوی بین پاسخ به تنش شوری و اکسیداتیو است.

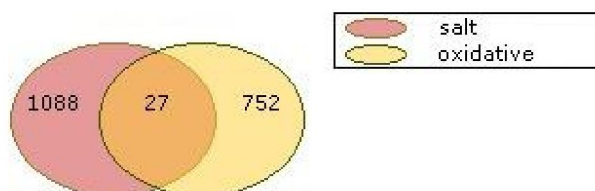
بررسی ژن‌هایی که در شرایط تنش کاهش بیان را نشان می‌دهند برای درک پاسخ‌های مولکولی به تنش قابل اهمیت می‌باشد. در این مطالعه به ترتیب تعداد ۱۱۱۵ و ۷۷۹ ژن در شرایط تنش شوری و اکسیداتیو نسبت به شرایط کنترل کاهش بیان را نشان دادند (شکل ۲). بیشترین کاهش بیان در شرایط تنش شوری در ارتباط با ژن‌های رشد سلولی (۶/۷-) و در تنش اکسیداتیو UDP-glucosyltransferase ctivity (۵/۳-) بود.

گروه‌بندی کارکردی ژن‌هایی که در هر دو تنش افزایش بیان داشته‌اند در شکل ۳ نمایش داده شده است. در این بین گروه‌های با کارکرد تعیین نشده^۵، RNA، پروتئین و پیام‌رسانی^۶ بیشترین درصد را به خود اختصاص دادند. بررسی زیرگروه‌ها نشان داد که در گروه کارکردی RNA، فعالیت تنظیم رونویسی^۷ بسیار بالاست. در گروه کارکردی پروتئین، فعالیت تخریب پروتئینی بالا بود و می‌توان گفت که ژنوم در زمان تنش تغییرات اساسی را در ساختار و کارکرد سلولی ایجاد می‌کند که لازمه این عمل سنتز پروتئین‌های جدید ساختاری و تنظیمی است. در گروه کارکردی پیام‌رسانی، گیرنده‌های کیناز^۸ که به عنوان تنظیم کننده فعالیت سلولی چون تمایز و رشد سلولی عمل می‌کنند (۳)، سهم بالایی را داشته‌اند. به طور کلی می‌توان گفت که این تغییرات در جهت برقراری مجدد هومئوستازی گیاه و مقاومت در برابر تنش‌ها است.

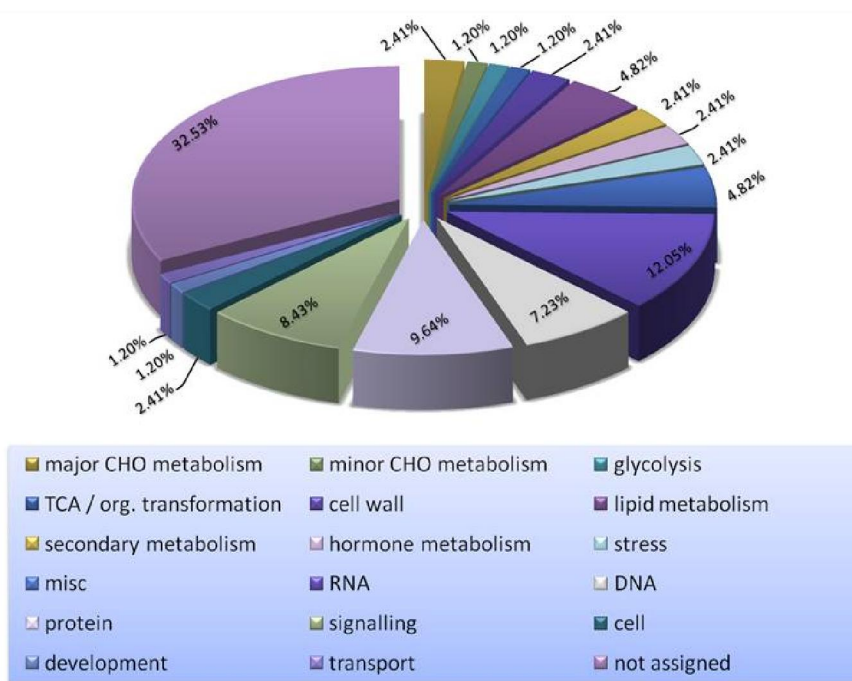
- 1 - <http://www.arabidopsis.org/>
- 2 - Robust multichip average
- 3 - Venn diagram
- 4 - <http://mapman.mpimp-golm.mpg.de>
- 5 - Not assigned
- 6 - Signalling
- 7 - Regulation of transcription
- 8 - Receptor kinases



شکل ۱. نمودار ون ژن‌هایی که در پاسخ به تنش‌های شوری و اکسیداتیو در برگ افزایش بیان داشته‌اند.



شکل ۲. نمودار ون ژن‌هایی که در پاسخ به تنش‌های شوری و اکسیداتیو در برگ کاهش بیان داشته‌اند.



شکل ۳. گروه‌بندی کارکردی ژن‌هایی که در دو تنش شوری و اکسیداتیو افزایش بیان نشان داده‌اند.



منابع

1. Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., Bohnert, H.J., 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51: 463-499.
2. Lee, B.H., Henderson, D.A., Zhu, J.K., 2005. The Arabidopsis cold-responsive transcriptome and its regulation by ICE1. *Plant Cell.* 17:3155–3175.
3. Neves, S. R., Ram, P.T., Iyengar, R., 2002. G protein pathways. *Science.* 296: 1636–9.
4. Xiong, L., Schumaker, K.S., Zhu, J.K., 2002. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell.* 14: 165–183.



Study of the modulations of gene expression pattern during salinity and oxidative stresses by analysis of microarray data in Arabidopsis

Ahmad Tahmasebi¹, Esmail Ebrahimie¹, Mansour Ebrahimie² Mohsen Jafarzadeh³

1-Department of Crop Production & Plant Breeding, College of Agriculture, Shiraz university

2-Bioinformatics Research Group, Green Research Center, Qom University, QOM, IRA

3- Department of Crop Production & Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan university of technology

Abstract

Abiotic stresses influence plant growth and development. The responses of plant against these stresses are accompanied by massive changes in complex gene networks. In this research, modulations of gene expression pattern in Arabidopsis under both salinity and oxidative stresses and their association were investigated. The raw expression data of the control and stress conditions were extracted from TAIR database. T-test method was used to identify significantly expressed genes in stress conditions in comparison with control (non-stress). The results showed that expression of 1721 and 1084 genes increased after salinity and oxidative stresses in the leaves of Arabidopsis, respectively. Interestingly, 83 genes were over-expressed in both salinity and oxidative stresses, which indicates a strong relationship between salinity and oxidative responses. Analysis of functional composition of the gene commonly up-regulated in both stresses revealed that nearly 38% of them were involved in RNA, protein, signaling and DNA categories.

Keywords: Stress, microarray, Arabidopsis, bioinformatics.