The 4th Iranian Conference on Systems Biology

National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB)

شناسایی ژن های کلیدی موثر بر کیفیت نانوایی دو رقم گندم نان ایرانی در ۵ روز بعد از گرده افشانی براساس مطالعه شبکه میان کنش پروتئین-پروتئین

شبنم هسراک [۱و۲]، تهمینه لهراسبی*[۲]، عبدالرضا باقری[۱]، حسن مرعشی[۱]، وحید شریعتی[۲]، خدیجه رضوی[۲]

[۱]گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، [۲]پژوهشکده زیست فناوری گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری.

*lohrasebi@nigeb.ac.ir

چکیده

این مطالعه با هدف شناسایی ژنهای موثر بر کیفیت نانوایی در مرحله ابتدایی تشکیل دانه انجام گردید. پس از کشت و نمونه برداری از دو رقم نوید و پیشتاز، استخراج RNA و توالی یابی آنها انجام شد. نتایج نشان دهنده وجود ۳۰۱ ژن با بیان متفاوت است. شبکه میان کنش پروتئینها شامل ۱۱۲ گره و ۳۴۶ یال بوده که ۱۰ ژن نیز به عنوان ژنهای هاب شناسایی گردیدند. ژن های هاب در مکانیسم های افزایش نرخ تکثیر سلولی، رشد و توسعه گیاه، افزایش رشد جنین و توسعه و نگهداری اندام ها فعالیت دارند. براین اساس، نرخ فعالیت های مرتبط با رشد سلولی در رقم نوید بالاتر از پیشتاز است. نتایج بررسی شبکه میان کنش پروتئین-پروتئین نشان داد که تشکیل اندوسپرم و پر شدن دانه در رقم نوید (با کیفیت نانوایی پایین) سریعتر است. علاوه براین تشکیل زودتر و سریعتر دانه نمی تواند عامل معنی داری در افزایش کیفیت نانوایی بشمار رود.

کلمات کلیدی: پرشدن دانه، شبکه میان کنش، کیفیت نانوایی، گرده افشانی، گندم.

مقدمه

کیفیت نانوایی گندم نان، یکی از صفات پیچیده است که توسط عوامل مختلفی مانند ژنتیک، شرایط محیطی، فرآیند تهیه و ... کنترل می شود. مهمترین عامل منشا ژنتیکی گیاه است که بیشترین تاثیر را بر صفت مزبور دارد که در عین حال چالش های فراوانی را در رابطه با مطالعه صفت کیفیت نانوایی ایجاد می کند. با توجه به سطح پلوئیدی گندم نان (هگزاپلوئید) و میان کنش تعداد زیادی ژن، لازم است ژن های کلیدی موثر بر کیفیت نانوایی از طریق مطالعه پروفایل بیانی حاصل از داده های توالی یابی نسل جدید و بررسی ارتباط میان ژن ها توسط بررسی شبکه های ژنی و پروتئینی مورد شناسایی قرار گیرد. هدف این بررسی شناسایی ژن های کلیدی موثر بر کیفیت نانوایی دو رقم گندم نان ایرانی به عنوان عوامل ابتدایی ایجاد کننده تفاوت در مراحل اولیه پر شدن دانه (۵ روز بعد از گرده افشانی) براساس مطالعه شبکه میان کنش پروتئین-پروتئین می باشد.

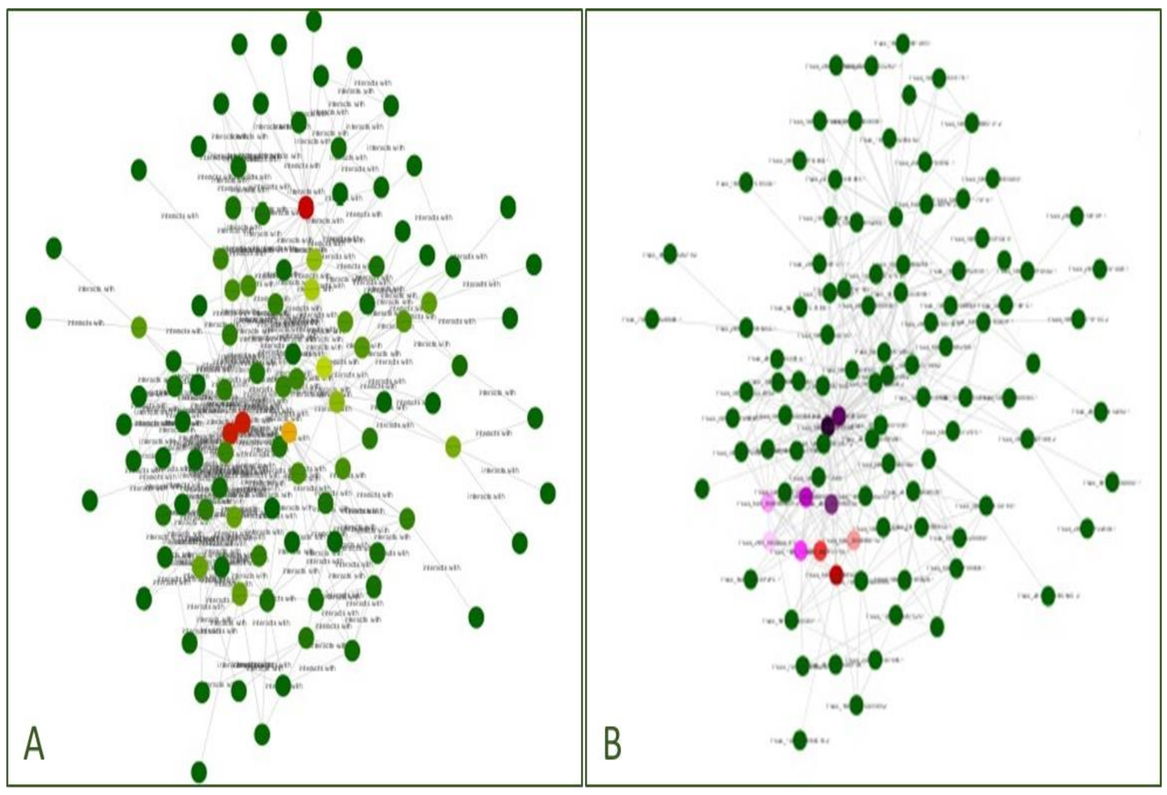
مواد و روش ها

پس از کشت بذور دو رقم گندم نان نوید و پیشتاز با کیفیت های نانوایی بالا و پایین در مزرعه تحقیقاتی، تاریخ گرده افشانی هر گیاه برچسب زنی شد. ۵ روز بعد از گرده افشانی، نمونه برداری از بذور و سپس استخراج RNA و توالی یابی انجام گردید. داده های حاصل از توالی‌یابی به صورت مقایسه اختلاف پروفایل بیانی دو رقم گندم بر مبنای ژنوم مرجع گندم بررسی شد. پس از شناسایی عملکرد و مسیرهای دربرگیرنده ژن‌های با بیان متفاوت، از پروتئین های حاصل از این ژن‌ها برای مطالعه شبکه میان کنش پروتئین-پروتئین بین دو رقم با استفاده از ابزار آنلاین STRING استفاده شد. جهت ترسیم بهتر و ارزیابی اطلاعات شبکه پروتئینی، نتایج شبکه میان‌کنش حاصل به نرم افزار Cytoscape منتقل گردید. پس از ترسیم شبکه با الگوی موردنظر، شاخص‌های مرتبط توسط افزونه CentiScaPe محاسبه شد. با استفاده از افزونه CytoHubba، شبکه‌های با بیشترین ارتباط جهت شناسایی ژن‌های هاب مشخص گردید. ژن‌های هاب این پروتئین‌ها به عنوان ژن‌های کلیدی ایجاد کننده تفاوت در کیفیت نانوایی در مراحل ابتدایی پر شدن دانه مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج

نتایج آنالیز بیان افتراقی ژن ها نشان داد که ۳۰۱ ژن دارای بیان معنی دار بودند. همردیفی این ژن ها در پایگاه داده بیانگر تطابق با ۲۶۲ ژن رمزکننده پروتئین های مختلف گندم بود. نتیجه انتقال شبکه میان کنش پروتئینهای حاصل به نرم افزار Cytoscape نشان دهنده وجود ۱۱۲ گره و ۳۴۶ یال در این شبکه می باشد. ۱۰ ژن به عنوان ژن های هاب شناسایی شدند. این ۱۰ ژن به ترتیب بیشترین امتیاز عبارتند از: دو ژن مختلف رمز کننده آنکرین۲، پروتئین های حاوی دامین های TAZو BTB/POZ، فاکتور رونویسیGTE9، هیستون استیل ترانسفراز GCN5، پروتئین های Topless، Polycomb group protein EMBRYONIC FLOWER، پروتئین های هیستون H3، زیرواحد B-1فاکتور رونویسی هسته ای Yو فاکتور رونوشت برداری A2. از میان این ژن ها، فقط بیان ژن های رمزکننده پروتئین های هیستون H3، زیرواحد B-1 فاکتور رونویسی هسته ای Yو فاکتور رونوشت برداری در رقم پیشتاز نسبت به نوید از بیان بالاتری برخودار بودند.

نتایج



A: شبکه میان کنش پروتئین های حاصل از تفاوت بیان ژن ها. تغییر رنگ از سبز پررنگ به قرمز پر رنگ نشان دهنده افزایش مقدار Betweenness مربوط به هر ژن موجود در شبکه می باشد.

B: نمایش ژن های هاب در شبکه میان کنش پروتئین های حاصل از تفاوت بیان ژن ها. ژن های هابی که در رقم نوید بیان بالاتری داشتند با رنگ بنفش مشخص شده اند. تغییر رنگ از بنفش پررنگ به بنفش کمرنگ نشان دهنده کاهش امتیاز ژن است. ژن های هابی که در رقم پیشتاز بیان بالاتری داشتند با رنگ قرمز مشخص شده اند. تغییر رنگ از قرمز پر رنگ به قرمز کمرنگ نشان دهنده کاهش امتیاز است.

بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات

۷ ژن اول با بیشترین ارتباط در شبکه میان کنش پروتئین-پروتئین (دو ژن مختلف رمزکننده آنکرین۲، پروتئین های حاوی دامین های TAZ و BTB/POZ، فاکتور رونویسی GTE9، هیستون استیل ترانسفراز GCN5، پروتئین های Topless و Polycomb group protein EMBRYONIC FLOWER) بیشتر در مکانیسم های پایه سلولی مانند مشارکت در افزایش نرخ تکثیر سلولی، متابولیسم سلول و رشد و توسعه گیاه، افزایش رشد جنین، افزایش نسخه برداری از DNA، پاسخ به پیام های زنده و غیر زنده و توسعه و نگهداری اندام ها فعالیت دارند (Shen et al. 2010; Misra, 2011; de Lucas et al. 2016). نقش این ژن های هاب در سلول، عمدتا تقویت کننده فرآیند مسیر مربوطه می باشد.

بر این اساس به نظر می رسد فرآیندهای مرتبط با رشد و تکثیر سلولی در دانه های در حال تشکیل با سرعت بیشتر و نرخ بالاتری در رقم نوید نسبت به پیشتاز انجام می شود. این در حالی است که ۳ ژن هاب آخر در شبکه میان کنش فوق که در رقم پیشتاز نسبت به نوید از بیان بالاتری برخوردارند (پروتئین های هیستون H3، زیرواحد B-1 فاکتور رونویسی هسته ای Yو فاکتور رونوشت برداری A2)، عمدتا در مکانیسم های حفظ حالت فشرده مولکول DNA، القا رونوشت برداری از ژن های مختلف و نهایتا مکانیسم های ترمیم خطا در رونوشت برداری فعال می باشند.

نتایج بررسی شبکه میان کنش پروتئین-پروتئین بین دو رقم گندم نان با کیفیت های نانوایی متفاوت نشان می دهد که تشکیل اندوسپرم و پر شدن دانه در رقم نوید نسبت به رقم پیشتاز در مراحل اولیه تشکیل دانه با سرعت بیشتری انجام می گیرد و باتوجه به اختلاف کیفیت نانوایی نهایی مشاهده شده بین دو رقم، می توان به این نتیجه رسید که آغاز زودتر و سرعت بالاتر تشکیل دانه، نمی تواند نقش معنی داری در کیفیت نانوایی نهایی دانه حاصل داشته باشد.

علاوه براین پیشنهاد می شود برای مطالعه اثر سرعت فعالیت های مرتبط با تشکیل دانه بر کیفیت نانوایی، بررسی بیشتری در سایر مراحل پر شدن دانه نیز صورت گیرد.

منابع

Misra, Anjali. The bromodomain proteins GTE9 and GTE11 associate with BT2-based E3 Ligase complex and mediate responses to multiple signals in Arabidopsis thaliana. Texas A&M University, (2011).

Shen, Guoxin, Sundaram Kuppu, Sujatha Venkataramani, Jing Wang, Juqiang Yan, Xiaoyun Qiu, and Hong Zhang. "ANKYRIN REPEAT-CONTAINING PROTEIN 2A is an essential molecular chaperone for peroxisomal membrane-bound ASCORBATE PEROXIDASE3 in Arabidopsis." The Plant Cell 22, no. 3 (2010): 811-831.

de Lucas, Miguel, Li Pu, Gina Turco, Allison Gaudinier, Ana Karina Morao, Hirofumi Harashima, Dahae Kim et al. "Transcriptional regulation of Arabidopsis Polycomb Repressive Complex 2 coordinates cell-type proliferation and differentiation." The Plant Cell 28, no. 10 (2016): 2616-2631.