

مطالعه‌ی تبارزایی، ساختار و تظاهر خانواده ژنی *OASTL-Like* در گستره ژنوم آرابیدوپسیس و برنج با رویکرد *in silico*

مریم رجیبی فرشمی، رضا شیرزادیان خرم‌آباد*، امین عابدی و محمدحسین رضادوست

ایران، رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۰

چکیده

سیستئین یک ترکیب آلی گوگرد دار و پیش‌ساز ترکیبات دفاعی است که سنتز آن در گیاهان دو مرحله‌ای بوده و آنزیم سیستئین سنتاز (*OASTL*; EC 2.5.1.47) در مرحله‌ی آخر آن نقش دارد که برای فعالیت به کوفاکتور (Pyridoxal-PLP) نیاز دارد. یافتن ژن‌های دارای دهمین عملکردی (*Pyridoxal-Phosphate dependent enzyme*) در ژنوم آرابیدوپسیس و برنج موجب شناسایی ۲۰ و ۱۹ ژن *OASTL-Like* در این گیاهان شد. در این تحقیق ویژگی‌های فیزیوشیمیایی، فیلوژنی، ساختار ژنی، موتیف‌های حفاظت شده، عناصر تنظیمی سیس، تنظیم تظاهر پس از رونویسی و پروفایل تظاهر ژن‌های خانواده *OASTL-Like* در آرابیدوپسیس و برنج بررسی شد. ژن‌های *OASTL-Like* به دو دسته اصلی و چندین زیرگروه تقسیم شدند. ساختار اگزون اینترونی و ترکیب و توزیع موتیف‌های شناسایی شده، گروه‌بندی تبارزایی را تایید کرد که نشان‌دهنده حفاظت‌شدگی و اختصاصی بودن مسیر تکاملی این ژن‌ها بود. ارزیابی ناحیه پرموتوری ژن‌های *OASTL-Like* در آرابیدوپسیس و برنج بترتیب موجب شناسایی ۴۷ و ۴۸ نوع عنصر تنظیمی شد که پس از G-box بترتیب ARE و ABRE دارای بیشترین فراوانی می‌باشند. این ژن‌ها در آرابیدوپسیس و برنج بترتیب هدف ۸۷ و ۱۰۵ نوع مولکول *miRNA* قرار می‌گیرند که نشان‌دهنده‌ی اهمیت تنظیم تظاهر پس از رونویسی می‌باشد. پروفایل تظاهر ژن‌های *OASTL-Like* حاکی از کارکرد بسیار متنوع این ژن‌ها در مراحل مختلف نمو، پاسخ به تنش‌های غیر زیستی و هورمون‌ها می‌باشد. این مطالعه با شناسایی و کاوش اعضای خانواده *OASTL-Like*، نتایج قابل توجهی را در مورد این ژن‌ها ارائه می‌کند که در پژوهش‌های مهندسی ژنتیک با هدف بهبود مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی می‌تواند مورد توجه باشد.

واژه‌های کلیدی: بیوانفورماتیک، پایگاه داده، پرموتر، تظاهر ژن، سیستئین سنتاز

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۷۰۶۱۲۰۸، پست الکترونیکی: r.shirzadian@guilan.ac.ir

مقدمه

سیستئین یک اسیدآمینوی ضروری برای تمام سلول‌های زنده می‌باشد و سنتز آن در تمام بخش‌های دارای بیوسنتز مستقل پروتئین (سیتوزول، میتوکندری و کلروپلاست) مورد نیاز است (۱۴).

آنزیم سیستئین سنتاز یا (O-acetylserin (Thiol) lyase) *OASTL* که به نام‌های O-acetylserine sulfhydrylase و cysteine synthase (CSase) نیز شناخته می‌شود، ادغام

گوگرد یا سولفور چهارمین ماده غذایی مهم برای رشد و نمو گیاهان پس از نیتروژن، فسفر و پتاسیم است. سیستئین اولین مولکول شناسایی شده در متابولیسم گیاه است که حاوی گوگرد و نیتروژن می‌باشد. در گیاهان بیوسنتز سیستئین نقش اصلی را در تثبیت گوگرد معدنی از محیط دارد. سیستئین پیش‌ساز ترکیبات حاوی گوگرد مانند متیونین و مشتقات آن، گلوکاتیون، فیتوکلاتین، کوفاکتورها، ویتامین‌ها و متابولیت‌های ثانویه متعدد می‌باشد (۲۲).

برگ آرابیدوپسیس دارند (۳۵). OASTL سیتوسولی ایزوفرم اصلی OASTL در برگ (۴۴ درصد از کل فعالیت OASTL) و ریشه‌ی (۸۰ درصد از کل فعالیت OASTL) آرابیدوپسیس است (۱۴). دو ایزوفرم سیتوزولی و پلاستییدی در کنار هم ۹۵ درصد از کل فعالیت OASTL در برگ‌ها را بر عهده دارند (۱۴). AtOASTL میتوکندیایی که نقش مهمی در سنتز سیستئین در ریشه دارد تنها ۵ درصد از کل فعالیت OASTL را تشکیل می‌دهد (۱۴-۳۵). مشخص شده است که چند عضو از خانواده ژنی OASTL در مقاومت گیاهان در برابر فلزات سنگین و تنش اکسیداتیو نقش دارند. سرکوب AtOASTL سیتوزولی باعث کاهش میزان سیستئین و گلوکاتایون درون سلولی و افزایش حساسیت به کادمیوم شد (۲۶-۳۳). در آرابیدوپسیس بترتیب ۵ ژن SAT و ۹ ژن OASTL شناسایی شده است. ایزوفرم‌های آنزیم SAT و OASTL که در سیتوپلاسم، پلاستیدها و میتوکندری توزیع شده‌است و کمپلکس سنتز سیستئین نقش مهمی در کنترل بیوسنتز سیستئین دارند (۳۶). سیستئین در روند دفاعی گیاهان در مقابله با تنش نقش تعیین‌کننده‌ای دارد، سیستئین عامل اصلی کنترل بیوسنتز گلوکاتایون و فیتوکلاتین‌ها می‌باشد. گلوکاتایون و سایر ترکیبات گوگرد دار ثانویه در مهار رادیکال‌های آزاد و لذا در پاسخ گیاهان به تنش‌ها نقش دارند (۹-۲۷).

در این مطالعه دمین عملکردی PALP بمنظور شناسایی و کاوش ژن‌های دارای این دمین در ژنوم آرابیدوپسیس و برنج مورد توجه قرار گرفت. ژن‌های شناسایی شده بعنوان خانواده ژنی OASTL-Like شناخته شدند. جایگاه سلولی، مشخصات کلی پروتئین‌ها، روابط تبارزایی طبق درخت رسم شده بر مبنای هم‌ردیف سازی طول کامل پروتئین‌ها، ساختار اگزون-اینترونی، موتیف‌های حفاظت شده، عناصر تنظیمی سیس ناحیه پروموتری، سازوکار تنظیم تظاهر پس از رونویسی از طریق مولکول‌های miRNA و الگوی تظاهر ژن‌ها در مراحل مختلف نمو، پاسخ به هورمون‌های مختلف و تنش‌های غیر زیستی در ریشه و ساقه با استفاده

سولفید به O-acetylserine و تولید سیستئین را کاتالیز می‌کند (۲۸). سیستئین سنتاز جزو پروتئین‌های حفاظت شده در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها می‌باشد. در گیاهان اولین گام در سنتز سیستئین تولید OAS (O-acetyl serin) از سرین (Serin) و استیل‌کوآ (acetyl-Coa) است که بواسطه‌ی فعالیت کمپلکس هتروالیگومریک سیستئین سنتاز (Cysteine Synthase Complex (CSC)) که متشکل از آنزیم‌های فعال (Serin acetyl transferase) و OASTL ((SERAT= SAT) و آنزیم‌های غیرفعال OASTL می‌باشد، انجام می‌شود. در گام بعدی OAS بوسیله دایمر فعال OASTL با سولفید ترکیب شده و سیستئین تولید می‌شود (۳۶). آنزیم OASTL برای فعالیت به کوفاکتور PLP (Pyridoxal-Phosphate) وابسته است و در زیر خانواده‌ی ژنی نه عضوی (β-Substituted Alanine Synthase) قرار می‌گیرند. این زیر خانواده عضو خانواده ژنی آنزیم‌های وابسته به PLP می‌باشد (۳۶). تمامی اعضای این خانواده آنزیم‌هایی هستند که دارای دمین عملکردی (Pyridoxal-Phosphate dependent enzyme) PALP بوده و برای فعالیت به کوفاکتور PLP (Pyridoxal-Phosphate) نیاز دارند (۲۹).

در گیاه آرابیدوپسیس، ۹ ژن OASTL شناسایی و بعنوان زیر خانواده ژنی BSAS معرفی شد (۱۳). مطالعات نشان داد که تنها ۳ ایزوفرم BSAS در سنتز بخش عمده سیستئین سلولی مشارکت دارد که شامل سیتوسولی (OASTL-A1)، پلاستییدی (OASTL-B) و میتوکندریایی (OASTL-C) می‌باشد. سایر OASTL ها یا فعالیت سیستئین سنتازی بسیار کمی دارند و یا در طول تکامل عملکردهای دیگری کسب کرده‌اند (۱۴-۳۶). در گیاه اسفناج سه cDNA به نام‌های SoCSaseA، SoCSaseB و SoCSaseC یافت شد که بترتیب OASTL های سیتوسولی، پلاستییدی و میتوکندریایی را کد می‌کنند (۳۰). AtOASTL سیتوزولی و بدنبال آن ایزوفرم پلاستییدی AtOASTL، بیشترین نقش را در سنتز سیستئین در ریشه و

از ابزارها و روش‌های بیوانفورماتیکی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

شناسایی اعضای خانواده ژنی *OASTL-Like* در گیاه آرآبیدوپسیس و برنج: پروفایل HMM (Hidden Markov Model) (PF00291) PALP از پایگاه داده Pfam دریافت شد (۲۹) و سپس با استفاده از ابزار HMMSearch (۱۲)، جستجوی پروتئین‌های *OASTL-Like* آرآبیدوپسیس و برنج در پایگاه داده Ensemble Plant (۸) با پارامترهای پیش فرض (E.value 0.01) صورت گرفت. پس از دریافت تمام توالی‌ها، با استفاده از پایگاه داده Pfam و Hmmscan وجود دمین کارکردی PALP در توالی‌های پروتئینی غیر تکراری تأیید شد (۱۱). توالی‌های دارای این دمین بعنوان پروتئین‌های *OASTL-Like* در آرآبیدوپسیس و برنج تعیین شدند. جهت نامگذاری ژن‌ها در آرآبیدوپسیس پیشوند At از *Arabidopsis thaliana* و در برنج پیشوند Os از *Oriza sativa* و سپس *OASTL* نظر گرفته شد و در نهایت شماره‌گذاری ژن‌ها بر اساس جایگاه کروموزومی آن‌ها انجام شد. ویژگی‌های عمومی پروتئین‌های *OASTL-Like* مانند وزن مولکولی، طول و نقطه ایزو الکتریک از طریق ابزار ProtParam سایت Expasy (۵) بررسی و برای شناسایی جایگاه سلولی پروتئین‌ها از سرور CELLO استفاده شد (۳۸).

هم‌ردیف سازی و تجزیه و تحلیل تبارزایی خانواده *OASTL-Like*: بمنظور تهیه درخت تبارزایی، هم‌ردیف سازی طول کامل پروتئین‌های *OASTL-Like* بر اساس پارامترهای پیش فرض با استفاده از نرم افزار Clustal X 2.1 انجام (۲۳) و سپس نتیجه هم‌ردیف سازی در فرمت Fasta برای رسم درخت تبارزایی به نرم افزار MEGA7 ارائه شد (۲۱). رسم درخت تبارزایی بر اساس الگوریتم بیشینه درست‌نمایی (Maximum likelihood) انجام و از

آزمون بوت استرپ (Boot Strap) با ۱۵۰۰ تکرار برای ارزیابی صحت درخت رسم شده استفاده شد.

شناسایی ساختار ژنی و موتیف‌های حفاظت شده ژن‌های *OASTL-Like*: ساختار ژنی (تعداد و طول اگزون/اینترون) و فاز پیرایش خانواده ژنی *OASTL-Like* بر اساس مقایسه توالی DNA ژنومی و کد کننده (CDS)، با استفاده از سرور GSDS2.0 ارزیابی و بصورت گرافیکی رسم شد (۱۶). موتیف‌های اختصاصی توالی‌های پروتئینی این خانواده توسط سرور MEME با پارامترهای مورد استفاده شامل شناسایی ۲۰ موتیف و حداقل و حداکثر طول موتیف‌ها بترتیب ۱۵ و ۵۰ اسید آمینه شناسایی شد (۶). سپس برای بررسی کارکرد موتیف‌های شناسایی شده از پایگاه داده Pfam استفاده شد (۱۱).

کاوش پروموتور و شناسایی *miRNA* های درگیر با ژن‌های *OASTL-Like*: ناحیه ۱۵۰۰ جفت باز بالا دست کدون شروع ژن‌های *OASTL-Like* بعنوان ناحیه پروموتوری با هدف شناسایی Cis element ها در PlantCare مورد ارزیابی قرارگرفت (۲۴). سپس عناصر تنظیمی شناسایی شده بر اساس کارکرد گروه‌بندی و فراوانی هر عنصر تنظیمی شمارش و ارائه شد. پیش‌بینی *miRNA* هایی که در تنظیم تظاهر پس از رونویسی ژن‌های *OASTL-Like* نقش دارند با استفاده از سرور PsRNATarget و امتیاز مورد انتظار بالای ۳٫۵ انجام شد (۱۰). ارتباط بین ژن‌ها و مولکول‌های *miRNA* شناسایی شده با نرم افزار Cytoscape رسم شد (۳۲).

بررسی تظاهر ژن‌های *OASTL-Like*: بمنظور بررسی پروفایل تظاهر ژن‌های *AtOASTL-Like* در واکنش به تنش‌های غیر زیستی (شامل سرما، خشکی، گرما، اسمزی، اکسیداتیو، شوری، زخم، UV-B و Genotoxic)، هورمون‌ها (شامل آبسزیک اسید، ایندول استیک اسید، زآتین، جیبرلین، متیل جاسمونات و اتیلن) و مراحل نمو (شامل ۴۶ مرحله نمو متفاوت مربوط به ۱۶ اندام

آرابیدوپسیس شامل بذر خشک، بذر مرطوب، گره اول، برگ اولیه، لپه، ریشه، گل، برگ، محور زیر لپه، برگ روزت، برگ پیر، ساقه، شاخه، گرده بالغ، بذر و روزت رویشی)، اطلاعات از پایگاه داده efp Browser دریافت شد (۱۵). از نرم افزار Mev4 برای خوشه‌بندی (Clustering) داده‌های تظاهر بر اساس روش اقلیدسی (Euclidean) و الگوریتم بیشترین فاصله (Complete Linkage) و نیز رسم نقشه حرارتی (Heat map) استفاده شد (۳۱).

نتایج

شناسایی اعضای خانواده ژنی *OASTL-Like*: جستجوی ژنوم آرابیدوپسیس و برنج برای یافتن ژن‌های دارای دمین عملکردی PALP موجب شناسایی بترتیب ۲۰ و ۱۹ ژن *OASTL-Like* در این گیاهان شد که بدلیل داشتن دمین عملکردی PALP و رابطه تکاملی نزدیک بعنوان خانواده ژنی *AtOASTL-Like* و *OsOASTL-Like* در نظر گرفته شدند. دمین PALP در پایگاه داده Pfam بعنوان دمین حفاظت شده خانواده PALP معرفی شده است (۲۹). تمامی اعضای این خانواده آنزیم‌هایی هستند که برای فعالیت به کوفاکتور پیریدوکسال فسفات (PLP) نیاز دارند. این ژن‌ها بر اساس جایگاه کروموزومی در آرابیدوپسیس از *AtOASTL1* تا *AtOASTL20* و در برنج از *OsOASTL1* تا *OsOASTL19* نامگذاری شدند (جدول ۱). اطلاعات مربوط به جایگاه فیزیکی این ژن‌ها از پایگاه داده Ensemble Plant دریافت و مشخص شد که توزیع ژن‌های *OASTL-Like* در ژنوم آرابیدوپسیس و برنج یکنواخت نمی‌باشد. در

مطالعات فیزیوشیمیایی خانواده ژنی *OASTL-Like* نشان داد که این ژن‌ها از نظر تعداد اسیدهای آمینه، وزن مولکولی و pI با هم تفاوت دارند. در آرابیدوپسیس طول پروتئین‌های این خانواده از ۲۵۰ اسیدآمینه در *AtOASTL8* (وزن مولکولی ۲۶/۴۶ کیلودالتون) تا ۵۹۲ اسیدآمینه در *AtOASTL7* (وزن مولکولی ۶۴/۶۳ کیلودالتون) متغیر است، دامنه نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌ها نیز از ۵/۲۳ (*AtOASTL6*) تا ۹ (*AtOASTL5*) متفاوت است. در برنج طول پروتئین‌های خانواده *OASTL-Like* از ۱۱۲ اسیدآمینه در *OsOASTL4* (وزن مولکولی ۱۱/۹ کیلودالتون) تا ۶۰۲ اسیدآمینه در *OsOASTL7* (وزن مولکولی ۶۵/۵ کیلودالتون) متغیر است. دامنه نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌ها نیز از ۴/۹۳ (*OsOASTL15*) تا ۸/۹ (*OsOASTL4*) متفاوت است (جدول ۱). پیش‌بینی جایگاه سلولی این پروتئین‌ها در هر دو گیاه نشان داد که اعضای این خانواده در سیتوپلاسم، کلروپلاست و میتوکندری توزیع شده‌است (جدول ۱). در آرابیدوپسیس بدلیل وجود سازوکار پیرایش متناوب ۲۰ ژن *AtOASTL-Like* توانایی کد کردن ۴۹ پروتئین را دارند و در برنج با احتساب نسخه‌های پیرایش متناوب ۱۹ ژن *OsOASTL-Like* توانایی کد کردن ۲۵ پروتئین را دارند.

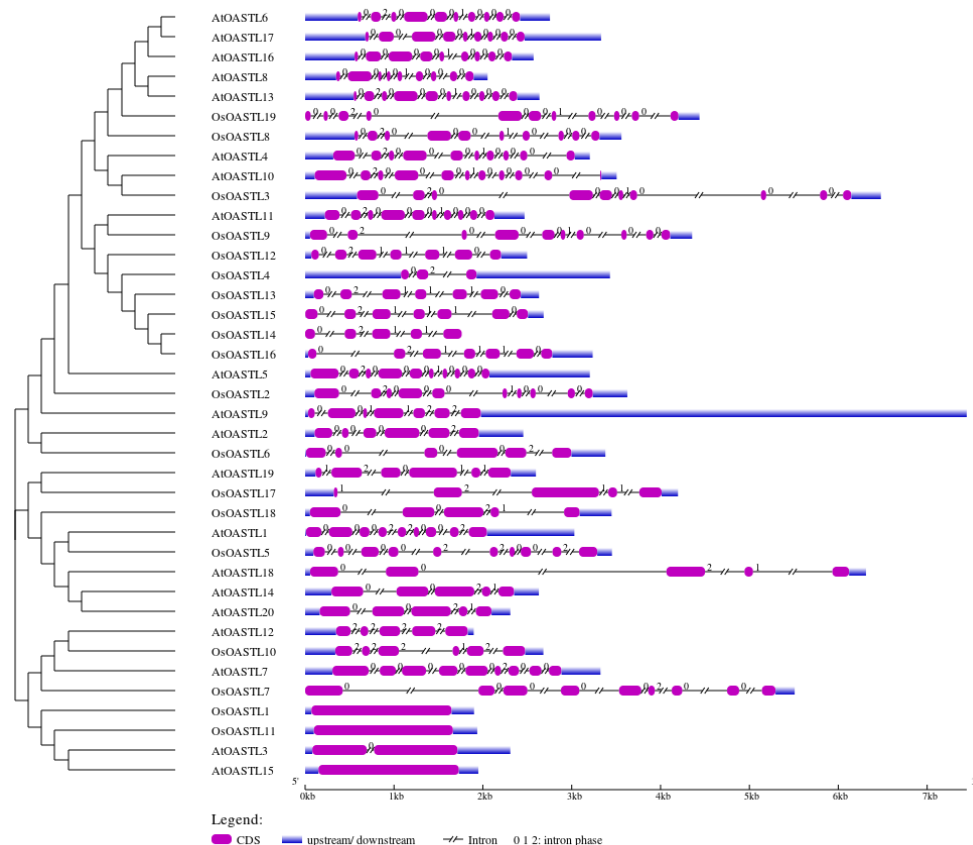
جدول ۱- مشخصات عمومی ژن‌های *OASTL-Like* شناسایی شده در ژنوم آرابیدوپسیس و برنج

شماره دسترسی ژن	نام ژن	کروموزوم	طول پروتئین	وزن پروتئین	نقطه ایزوالکتریک	جایگاه سلولی
<i>AT1G48420</i>	<i>AtOASTL1</i>	۱	۴۰۱	۴۳/۹	۶/۸۷	میتوکندری و کلروپلاست
<i>AT1G55880</i>	<i>AtOASTL2</i>	۱	۴۲۱	۴۵/۴۳	۸/۵۱	میتوکندری و کلروپلاست
<i>AT1G72810</i>	<i>AtOASTL3</i>	۱	۵۱۶	۵۶/۹۲	۸/۲۳	میتوکندری و کلروپلاست

<i>AT2G43750</i>	<i>AtOASTL4</i>	۲	۳۹۲	۴۱/۶۵	۸/۱۴	کلروپلاست
<i>AT3G03630</i>	<i>AtOASTL5</i>	۳	۴۰۴	۴۳/۱۶	۹	کلروپلاست
<i>AT3G04940</i>	<i>AtOASTL6</i>	۳	۳۲۴	۳۴/۲۹	۵/۲۳	سیتوپلاسم
<i>AT3G10050</i>	<i>AtOASTL7</i>	۳	۵۹۲	۶۴/۶۳	۷/۲۱	کلروپلاست
<i>AT3G22460</i>	<i>AtOASTL8</i>	۳	۲۵۰	۲۶/۴۶	۵/۴۳	سیتوپلاسم
<i>AT3G26115</i>	<i>AtOASTL9</i>	۳	۴۲۷	۴۷/۴۲	۸/۷	میتوکندری
<i>AT3G59760</i>	<i>AtOASTL10</i>	۳	۴۳۳	۴۶/۱۱	۸/۵۹	میتوکندری و کلروپلاست
<i>AT3G61440</i>	<i>AtOASTL11</i>	۳	۳۶۸	۳۹/۹۲	۸/۷۱	میتوکندری و کلروپلاست
<i>AT4G11640</i>	<i>AtOASTL12</i>	۴	۳۳۱	۳۵/۰۶	۶/۹۵	سیتوپلاسم و کلروپلاست
<i>AT4G14880</i>	<i>AtOASTL13</i>	۴	۳۲۳	۳۴/۳۱	۵/۴۷	سیتوپلاسم و کلروپلاست
<i>AT4G27070</i>	<i>AtOASTL14</i>	۴	۴۷۵	۵۱/۶	۶/۲	کلروپلاست
<i>AT4G29840</i>	<i>AtOASTL15</i>	۴	۵۲۶	۵۷/۷۷	۷/۱۱	کلروپلاست
<i>AT5G28020</i>	<i>AtOASTL16</i>	۵	۳۲۳	۳۴/۳۱	۵/۴۷	سیتوپلاسم
<i>AT5G28030</i>	<i>AtOASTL17</i>	۵	۳۲۳	۳۴/۳۲	۵/۶۱	سیتوپلاسم
<i>AT5G28237</i>	<i>AtOASTL18</i>	۵	۴۶۵	۵۰/۶۴	۶/۵۸	سیتوپلاسم و کلروپلاست
<i>AT5G38530</i>	<i>AtOASTL19</i>	۵	۵۰۶	۵۵/۷۴	۶/۷۹	سیتوپلاسم و میتوکندری
<i>AT5G54810</i>	<i>AtOASTL20</i>	۵	۴۷۰	۵۰/۹۲	۶/۳۶	کلروپلاست
<i>Os01g0693800</i>	<i>OsOASTL1</i>	۱	۵۲۵	۵۷/۷	۶/۲۵	میتوکندری، کلروپلاست
<i>Os01g0814800</i>	<i>OsOASTL2</i>	۱	۳۹۲	۴۱/۳	۵/۵۳	کلروپلاست
<i>Os01g0978100</i>	<i>OsOASTL3</i>	۱	۳۹۴	۴۱/۸	۶/۲۷	کلروپلاست
<i>Os02g0222100</i>	<i>OsOASTL4</i>	۲	۱۱۲	۱۱/۹	۸/۹	کلروپلاست
<i>Os02g0773300</i>	<i>OsOASTL5</i>	۲	۳۸۵	۴۱/۴	۶/۸۳	سیتوپلاسم، میتوکندری، کلروپلاست
<i>Os03g0215800</i>	<i>OsOASTL6</i>	۳	۴۵۰	۴۸/۲	۸/۷	میتوکندری
<i>Os03g0713000</i>	<i>OsOASTL7</i>	۳	۶۰۲	۶۵/۵	۵/۷۷	کلروپلاست
<i>Os03g0747800</i>	<i>OsOASTL8</i>	۳	۳۲۵	۳۴/۳	۵/۳۵	سیتوپلاسم
<i>Os04g0165700</i>	<i>OsOASTL9</i>	۴	۳۷۷	۴۰/۱	۸/۴۱	میتوکندری، کلروپلاست
<i>Os04g0555900</i>	<i>OsOASTL10</i>	۴	۳۳۹	۳۵/۶	۵/۷۹	سیتوپلاسم
<i>Os05g0549700</i>	<i>OsOASTL11</i>	۵	۵۲۱	۵۷/۲	۶/۷۴	میتوکندری، کلروپلاست
<i>Os06g0149700</i>	<i>OsOASTL12</i>	۶	۳۳۹	۳۶/۵	۵/۸۵	سیتوپلاسم
<i>Os06g0149900</i>	<i>OsOASTL13</i>	۶	۳۴۷	۳۷/۰۴	۵/۳۵	سیتوپلاسم، کلروپلاست
<i>Os06g0564400</i>	<i>OsOASTL14</i>	۶	۲۵۷	۲۷/۳	۵/۵۵	کلروپلاست
<i>Os06g0564500</i>	<i>OsOASTL15</i>	۶	۳۵۷	۳۸/۵	۴/۹۳	سیتوپلاسم
<i>Os06g0564700</i>	<i>OsOASTL16</i>	۶	۳۴۲	۳۶/۷	۵/۴۹	سیتوپلاسم، کلروپلاست
<i>Os06g0632200</i>	<i>OsOASTL17</i>	۶	۴۸۵	۵۲/۸	۷/۲۴	میتوکندری
<i>Os08g0135900</i>	<i>OsOASTL18</i>	۸	۴۷۱	۴۹/۹	۶/۲۹	کلروپلاست
<i>Os12g0625000</i>	<i>OsOASTL19</i>	۱۲	۳۴۷	۳۶/۸	۶/۰۸	کلروپلاست

دارای یک و بیش از یک فاز پیرایش صفر می‌باشند (شکل ۲). نتایج نشان داد بجز ژن‌های *AtOASTL15*، *OsOASTL1* و *OsOASTL11* که فاقد اینترون و *AtOASTL3* که تنها دارای یک اینترون می‌باشد، سایر ژن‌ها بیش از یک اینترون دارند. این ۴ ژن در بررسی موتیفی کاملاً مشابه با هم دیده شدند (شکل ۳). بلندترین اینترون بترتیب مربوط به *OsOASTL3* و *AtOASTL18* می‌باشد که طول‌ترین ژن در DNA نیز می‌باشند (شکل ۲). برای شناسایی موتیف‌های حفاظت شده توالی‌های پروتئینی خانواده OASTL-Like آراییدوپسیس و برنج با استفاده از سرور MEME بررسی شد. در این بررسی ۲۰ موتیف حفاظت شده شناسایی شد که بصورت Motif 1 تا Motif 20 مشخص شده است. ارزیابی کارکرد موتیف‌ها با Pfam نشان داد که نیمی از موتیف‌های شناسایی شده

نشانه‌گر بخشی از دمین عملکردی PALP می‌باشند (جدول ۲). تمامی ژن‌ها حداقل دارای یک موتیف کارکردی می‌باشند (شکل ۳). موتیف‌های شناسایی شده دارای ۱۱ تا ۵۰ آمینواسید می‌باشند (جدول ۲). در نتیجه‌ی این بررسی مشخص شد که موتیف کارکردی شماره ۵ دارای بالاترین فراوانی (۲۴ عدد) در خانواده OASTL-Like می‌باشد که نشان‌دهنده حفاظت‌شدگی بالای آن در طی تکامل می‌باشد (شکل ۳). در نتیجه‌ی کاوش موتیف مشخص شد که ترتیب و ترکیب موتیف‌های حفاظت شده در ۱۵ عضو از کلاستر اول دارای تشابه (۳-۶-۵-۱۶-۱-۴-۲-۷) می‌باشد که از این بین موتیف‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ دارای عملکرد PALP می‌باشند (جدول ۲). *AtOASTL9* تنها دارای دو عدد موتیف عملکردی شماره ۸ می‌باشد (شکل ۳).



شکل ۲- ساختار آگزونی-اینترونی خانواده ژنی *OASTL-Like* در آراییدوپسیس و برنج که با استفاده از سرور GSDS2.0 رسم شده است. آگزونی، اینترون و UTR ها بترتیب با رنگ بنفش، مشکی و آبی مشخص شده است. اعداد صفر، ۱ و ۲ نشان‌دهنده فاز پیرایش می‌باشند.

جدول ۲- توالی و کارکرد موتیف‌های حفاظت‌شده در پروتئین‌های OASTL-Like آراییدوپسیس و برنج

کارکرد	توالی	طول	فراوانی	امتیاز	موتیف
PALP	TPNAYMLQQFENPANPKIHYETTGPEIWK	۲۹	۲۱	2.7e-380	۱
PALP	ZPCSSVKDRIALSMIEDAEKGLITPGKTTLEIPTSNTGI	۴۱	۱۹	5.0e-463	۲
PALP	ALKEGLLVGISSGAAAAAIAKVRPENAGKLIVVVFPSFGERYLSSVLF	۵۰	۱۸	8.0e-519	۳
PALP	AFVAAAAGYKLLTMPASMSLERRIILRAFGAELVLTDPAKGMKGAVDKA	۵۰	۱۹	2.4e-441	۴
PALP	GTGGTITGVGRYLKEKNPDKIIGVEPSESA	۳۱	۲۴	1.90E-306	۵
---	VLSGGKPGPHKIQIGAGFIPKNLDVSIIDEVIQVSSEAI	۴۱	۱۶	1.30E-293	۶
---	IASDVTQLIGNTPLVYLNINNVKGCVARIA	۲۹	۱۹	8.70E-249	۷
PALP	VAETSAGQHAALAAACARFGLPCIVVMP	۲۹	۱۶	3.90E-110	۸
PALP	GPDJYLKREGLSHTGSFKDRGAVAVQLQA	۲۹	۱۶	3.70E-118	۹
PALP	NSLNSLRLEGQKTAIEILQQFDWQVPDWVIVPGGNLGNIAFYKGFEMC	۵۰	۴	1.20E-99	۱۰
---	YWRDLFDSRVGKTTWPYGSVWVSKKEWVLEIDDDIVSLFEGNSNLFWA	۵۰	۴	1.90E-90	۱۱
PALP	PGVGPEHSFLKDIGRAEYYSITDEEALFAFKRVSRLGHIIPALETSHALA	۵۰	۶	2.20E-81	۱۲
---	DWVTNVETTHYLGSVAGPHYPMMVRDFHAVIGKETRKQAMEKWGGKPD	۵۰	۴	8.10E-77	۱۳
PALP	TGMFACPHGTVALAALFKLRDQGIIPNDRTVVVSTAHLKFTQSKIDYH	۵۰	۴	2.10E-78	۱۴
---	TLMHALSELESIFYALATDEDFQRELKIDYVGRESPLYFAERLTHEY	۵۰	۴	1.80E-60	۱۵
---	DTAGKVDIFVA	۱۱	۱۹	8.80E-60	۱۶
---	FHEFVDDTDRMIGVEAAGFGLDSGKHAATLTKGDVGLHGAMSYLLQDD	۵۰	۴	1.60E-59	۱۷
---	ISLAQLIQPIANGATVLSJDTDFDGMRLIREVTAELPIYL	۴۱	۴	2.20E-58	۱۸
---	WTDFKPQVAETTFASAIQIGDPVSDRAVYALKKTDGIVEEATEEELMDA	۵۰	۴	4.90E-57	۱۹
---	LGLVDRIPLVCAQAANANPLYRHYKSG	۲۸	۴	2.60E-38	۲۰



شکل ۳- موتیف‌های حفاظت‌شده در پروتئین‌های OASTL-Like در آراییدوپسیس و برنج که با استفاده از سرور MEME شناسایی شده‌است.

circadian با فراوانی ۷ و ۵ عدد یافت شد. فراوانی این عناصر در ناحیه تنظیمی هر یک از این ژن‌ها و نیز فراوانی کلی آن‌ها بسیار متنوع می‌باشد (جدول ۳).

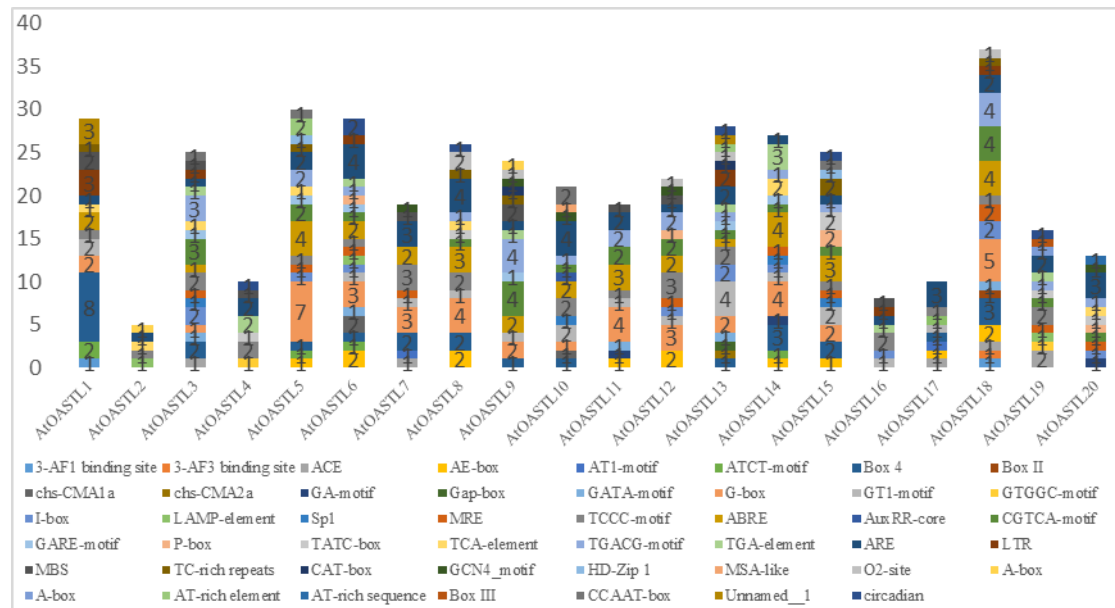
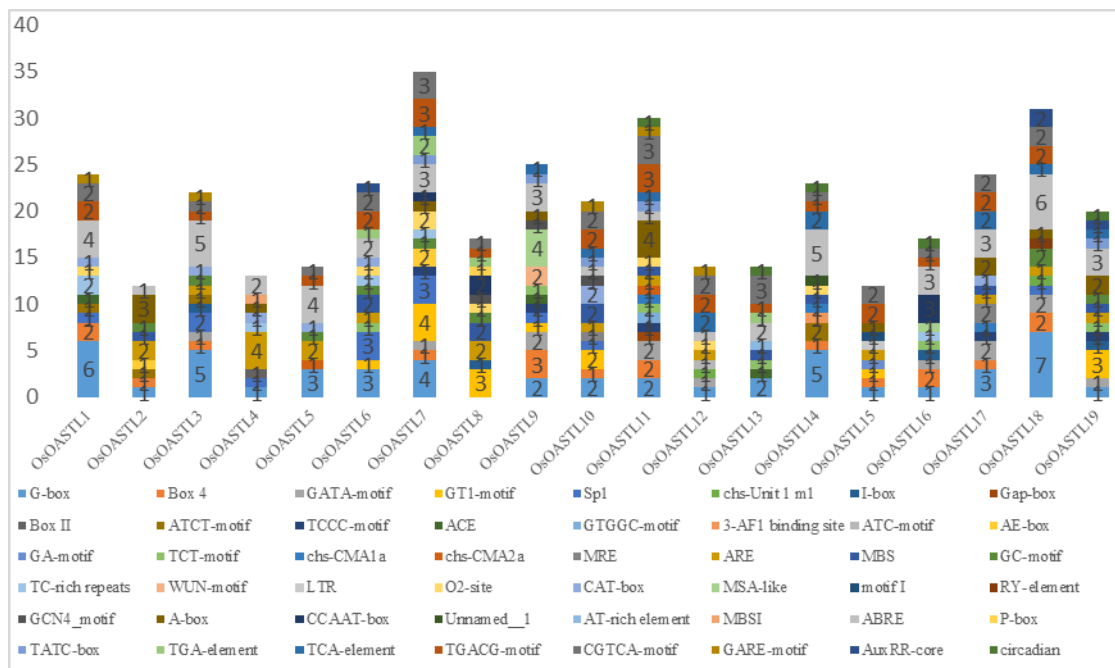
در آرآبیدوپسیس پروموتور ژن *AtOASTL18* (شکل ۴) و در برنج پروموتور ژن *OsOASTL7* (شکل ۵) دارای بیشترین تعداد عناصر تنظیمی (بترتیب ۳۷ و ۳۵ عدد) می‌باشد. بیشترین فراوانی کل عناصر تنظیمی در آرآبیدوپسیس مربوط به G-box (۴۳ عدد)، ARE (۴۱ عدد) و ABRE (۳۵ عدد) می‌باشد که بترتیب در پاسخ به نور، پاسخ به تنش و پاسخ به هورمون نقش دارند (جدول ۳) و در برنج بیشترین فراوانی مربوط به G-box (۵۰ عدد) و ABRE (۴۹ عدد) می‌باشد (جدول ۳). عنصر تنظیمی ARE بر روی پروموتور تمامی ژن‌های خانواده *AtOASTL-Like* حضور داشته و بر این اساس عمومی‌ترین عنصر تنظیمی پروموتور این خانواده می‌باشد (شکل ۴). در برنج عمومی‌ترین عنصر تنظیمی G-box می‌باشد که تنها بر روی پروموتور ژن *OsOASTL8* حضور ندارد (شکل ۵).

شناسایی عناصر تنظیمی سیس موجود در ناحیه پروموتوری ژن‌های *OASTL-Like*: تظاهر و کارکرد ژن‌ها بر اساس عناصر تنظیمی cis-ناحیه پروموتوری آن‌ها تعیین می‌شود و تنوع در فراوانی و توزیع این عناصر تنظیمی می‌تواند نشان‌دهنده تفاوت تنظیمی و کارکردی آن ژن‌ها باشد (۱۹). در ارزیابی پروموتور ژن‌های خانواده *OASTL-Like* در آرآبیدوپسیس ۴۷ نوع عنصر تنظیمی با فراوانی ۴۲۳ و در برنج ۴۸ نوع عنصر تنظیمی با فراوانی ۳۹۱ عدد شناسایی شد که مربوط به شش گروه کارکردی پاسخ به نور، هورمون، تنش، اختصاصی بافت، عمومی و Circadian می‌باشند. در آرآبیدوپسیس و برنج بترتیب ۲۱ و ۲۱ نوع عنصر تنظیمی پاسخ به نور با فراوانی ۱۹۴ و ۱۵۱ عدد، ۹ و ۹ نوع عنصر تنظیمی پاسخ به هورمون با فراوانی ۱۲۲ و ۱۳۵ عدد، ۴ و ۶ نوع عنصر تنظیمی پاسخ به تنش با فراوانی ۶۷ و ۴۹ عدد، ۷ و ۵ نوع عنصر تنظیمی عمومی با فراوانی ۱۷ و ۲۵ عدد، ۵ و ۶ نوع عنصر تنظیمی اختصاصی بافت با فراوانی ۱۶ و ۲۶ عدد و عنصر تنظیمی

جدول ۳- فراوانی و کارکرد عناصر تنظیمی شناسایی شده در ناحیه پروموتوری ژن‌های *OASTL-Like* در آرآبیدوپسیس و برنج

آرآبیدوپسیس			برنج		
عناصر تنظیمی	فراوانی	کارکرد	عناصر تنظیمی	فراوانی	کارکرد
G-box	۴۳	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	G-box	۵۰	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
Box 4	۲۸	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	Box 4	۱۸	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
TCCC-motif	۲۸	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	GT1-motif	۱۵	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
GT1-motif	۱۹	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	GATA-motif	۱۳	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
AE-box	۱۳	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	Sp1	۱۳	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
I-box	۱۲	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	TCT-motif	۶	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
MRE	۱۱	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	ATCT-motif	۵	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
ACE	۶	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	TCCC-motif	۵	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
ATCT-motif	۵	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	I-box	۴	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
GATA-motif	۵	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	ACE	۳	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
LAMP-element	۴	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	AE-box	۳	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
Sp1	۴	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	chs-CMA1a	۳	عناصر تنظیمی پاسخ به نور
chs-CMA1a	۳	عناصر تنظیمی پاسخ به نور	MRE	۳	عناصر تنظیمی پاسخ به نور

GA-motif	۳	عنصر تنظیمی پاسخ به نور	chs-Unit 1 m1	۲	عنصر تنظیمی پاسخ به نور
3-AF1 binding site	۲	عنصر تنظیمی پاسخ به نور	chs-CMA2a	۲	عنصر تنظیمی پاسخ به نور
AT1-motif	۲	عنصر تنظیمی پاسخ به نور	3-AF1 binding site	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به نور
GTGGC-motif	۲	عنصر تنظیمی پاسخ به نور	ATC-motif	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به نور
3-AF3 binding site	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به نور	GA-motif	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به نور
chs-CMA2a	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به نور	GTGGC-motif	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به نور
Gap-box	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به نور	Gap-box	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به نور
Box II	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به نور	Box II	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به نور
ABRE	۳۵	عنصر تنظیمی پاسخ به آبسزیک اسید	ABRE	۴۹	عنصر تنظیمی پاسخ به آبسزیک اسید
CGTCA-motif	۲۵	عنصر تنظیمی پاسخ به متیل جاسمونات	CGTCA-motif	۲۸	عنصر تنظیمی پاسخ به متیل جاسمونات
TGACG-motif	۲۵	عنصر تنظیمی پاسخ به متیل جاسمونات	TGACG-motif	۲۶	عنصر تنظیمی پاسخ به متیل جاسمونات
TGA-element	۱۱	عنصر تنظیمی پاسخ به اکسین	TCA-element	۱۲	عنصر تنظیمی پاسخ به سالیسیلیک اسید
TCA-element	۸	عنصر تنظیمی پاسخ به سالیسیلیک اسید	TATC-box	۵	عنصر تنظیمی پاسخ به جیبرلین
GARE-motif	۶	عنصر تنظیمی پاسخ به جیبرلین	TGA-element	۵	عنصر تنظیمی پاسخ به اکسین
TATC-box	۶	عنصر تنظیمی پاسخ به جیبرلین	GARE-motif	۵	عنصر تنظیمی پاسخ به جیبرلین
P-box	۵	عنصر تنظیمی پاسخ به جیبرلین	AuxRR-core	۴	عنصر تنظیمی پاسخ به اکسین
AuxRR-core	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به اکسین	P-box	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به جیبرلین
ARE	۴۱	عنصر تنظیمی پاسخ به شرایط بی‌هوای	ARE	۱۹	عنصر تنظیمی پاسخ به شرایط بی‌هوای
MBS	۱۰	عنصر تنظیمی پاسخ به خشکی	MBS	۱۲	عنصر تنظیمی پاسخ به خشکی
LTR	۹	عنصر تنظیمی پاسخ به سرما	GC-motif	۹	عنصر تنظیمی پاسخ به شرایط بی‌هوای
TC-rich repeats	۷	عنصر تنظیمی پاسخ به تنش	TC-rich repeats	۶	عنصر تنظیمی پاسخ به تنش
O2-site	۶	عنصر تنظیمی متابولیسم زئین	WUN-motif	۲	عنصر تنظیمی پاسخ به تنش
GCN4_motif	۵	عنصر تنظیمی تظاهر در اندوسپرم	LTR	۱	عنصر تنظیمی پاسخ به سرما
HD-Zip 1	۲	عنصر تنظیمی تمایز پلاستید سلولهای مزوفیلی	O2-site	۸	عنصر تنظیمی متابولیسم زئین
CAT-box	۲	عنصر تنظیمی تظاهر در مریستم	CAT-box	۸	عنصر تنظیمی تظاهر در مریستم
MSA-like	۱	عنصر تنظیمی سیکل سلولی	MSA-like	۵	عنصر تنظیمی سیکل سلولی
CCAAT-box	۵	عنصر تنظیمی عمومی	GCN4_motif	۳	عنصر تنظیمی تظاهر در اندوسپرم
Unnamed__1	۴	عنصر تنظیمی عمومی	RY-element	۱	عنصر تنظیمی مختص بذر
AT-rich element	۳	عنصر تنظیمی عمومی	motif I	۱	عنصر تنظیمی مختص ریشه
A-box	۲	عنصر تنظیمی عمومی	A-box	۱۶	عنصر تنظیمی عمومی
A-box	۱	عنصر تنظیمی عمومی	CCAAT-box	۶	عنصر تنظیمی عمومی
AT-rich sequence	۱	عنصر تنظیمی عمومی	Unnamed__1	۱	عنصر تنظیمی عمومی
Box III	۱	عنصر تنظیمی عمومی	AT-rich element	۱	عنصر تنظیمی عمومی
circadian	۷	عنصر تنظیمی circadian	MBSI	۱	عنصر تنظیمی عمومی
			circadian	۵	عنصر تنظیمی circadian

شکل ۴- فراوانی عناصر تنظیمی شناسایی شده در ناحیه پرموتری ژن‌های *AtOASTL-Like*شکل ۵- فراوانی عناصر تنظیمی شناسایی شده در ناحیه پرموتری ژن‌های *OsOASTL-Like*

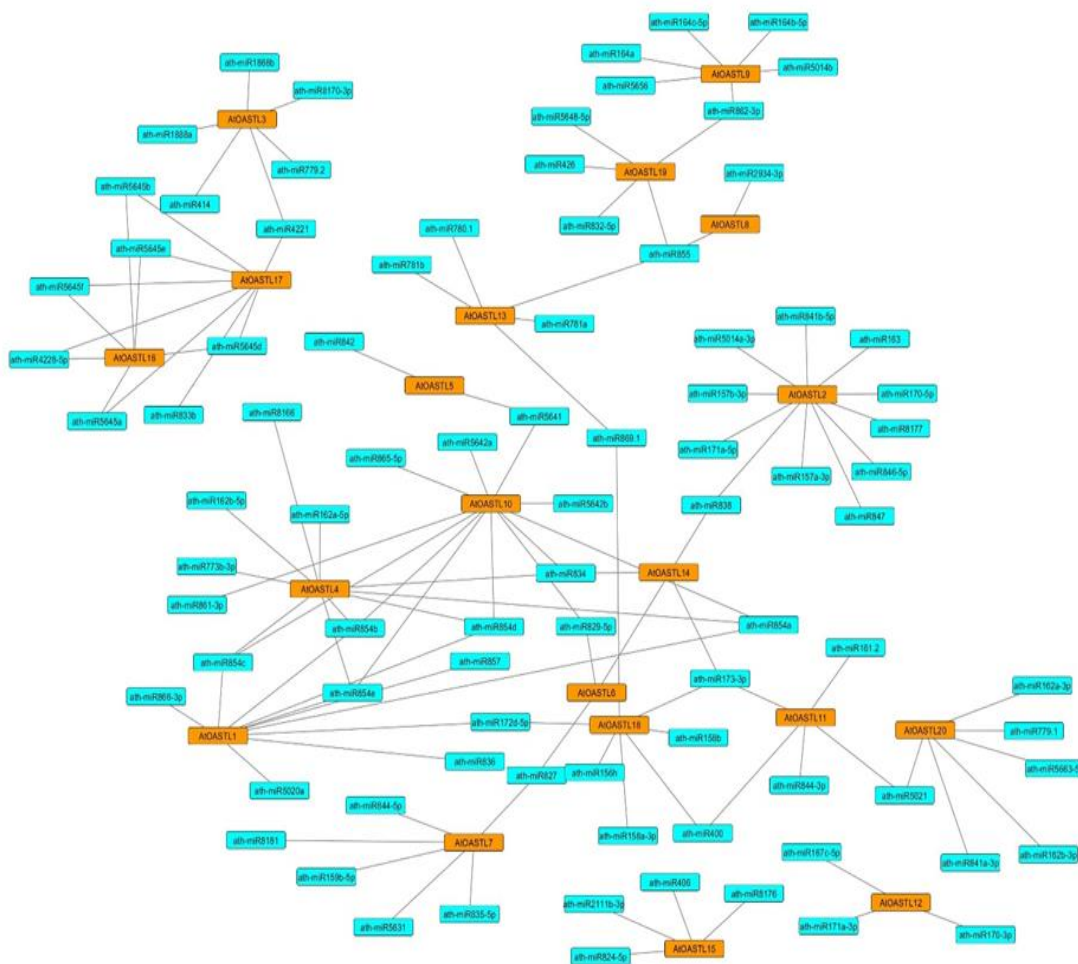
پس از رونویسی تنظیم می‌کنند و نقش مهمی در تنظیم رشد گیاه، متابولیسم و پاسخ به تنش دارند (۲۵). در نتیجه بررسی توالی mRNA ژن‌های خانواده *OASTL-Like* در آرکیدوپسیس و برنج مشاهده شد که تمام ژن‌های مورد

شناسایی مولکول‌های *miRNA* واکنش‌گر به ژن‌های *OASTL-Like*: ریز RNA ها جزء RNA های کوتاه (۲۴-۱۹ نوکلئوتید) غیر رمز آور پروتئین هستند که بوسیله‌ی برش یا ممانعت از ترجمه تظاهر ژن را در سطوح

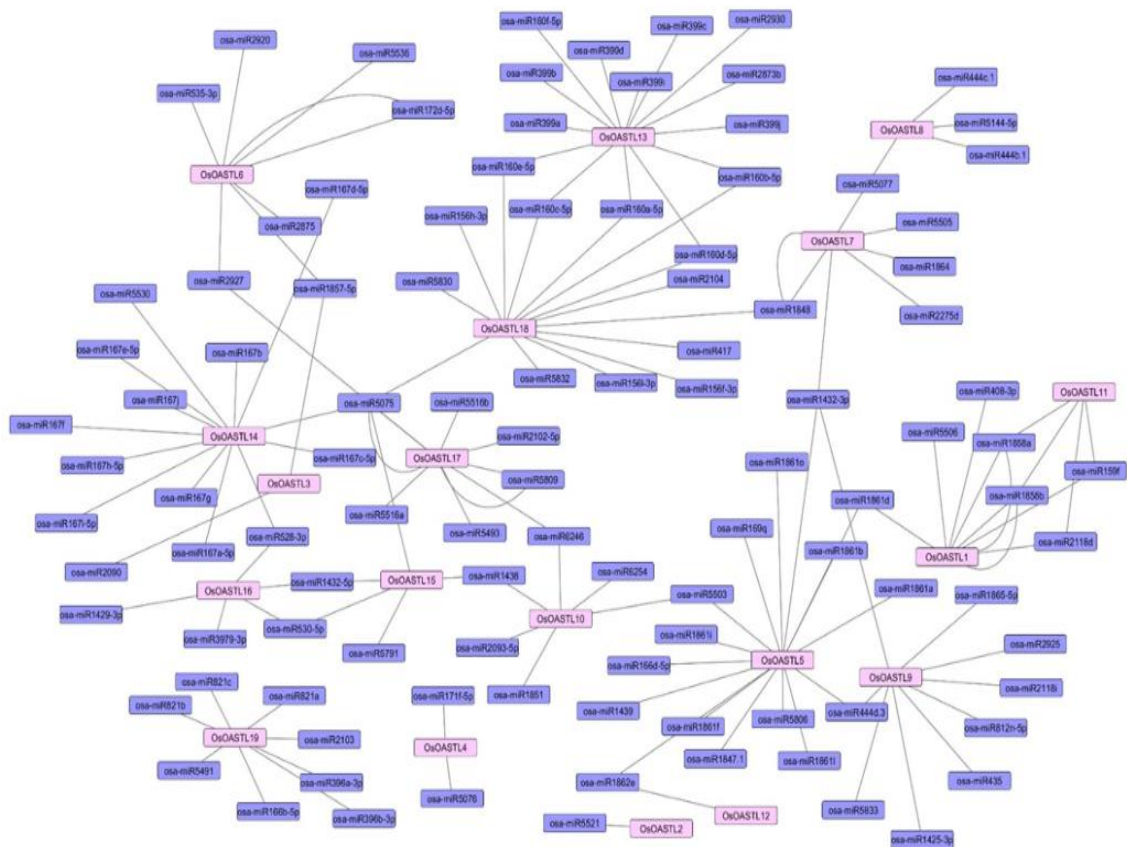
OsOASTL5 در معرض بیشترین تعداد *miRNA* (بترتیب ۱۲ و ۱۶ نوع) قرار داشته که در *AtOASTL10* ۹ مورد از طریق برش و ۳ مورد از طریق ممانعت از ترجمه و در *OsOASTL5* ۱۵ مورد از طریق برش و یک مورد از طریق ممانعت از ترجمه موجب سرکوب تظاهر این ژن‌ها می‌شوند (شکل ۶ و ۷). در آراییدوپسیس ژن‌های *AtOASTL5* و *AtOASTL14* و در برنج ژن‌های *OsOASTL2* و *OsOASTL12* در معرض کمترین تعداد *miRNA* (بترتیب ۲ و ۱ نوع) قرار می‌گیرند (شکل ۶ و ۷).

مطالعه تحت تاثیر تنظیم تظاهر پس از رونویسی قرار می‌گیرند. در آراییدوپسیس ۱۱۹ و در برنج ۱۳۸ عدد *miRNA* یافت شد که بدون احتساب *miRNA* های تکراری بترتیب ۸۷ و ۱۰۵ نوع *miRNA* توانایی تاثیر گذاری بر روی ژن‌های *OASTL-Like* را دارند.

در آراییدوپسیس ۷۱ مورد و در برنج ۷۹ مورد با برش mRNA و سایر مولکول‌های *miRNA* با جلوگیری از ترجمه mRNA، توانایی تنظیم تظاهر ۲۰ ژن *AtOASTL-Like* و ۱۹ ژن *OsOASTL-Like* را پس از رونویسی دارند (شکل ۶ و ۷). در آراییدوپسیس *AtOASTL10* و در برنج



شکل ۶- پیش‌بینی *miRNA* هایی که در تنظیم تظاهر پس از رونویسی ژن‌های *AtOASTL-Like* نقش دارند توسط سرور PsRNATarget انجام و ارتباط بین ژن‌ها و مولکول‌های *miRNA* با نرم افزار Cytoscape رسم شد.



شکل ۷- پیش‌بینی *miRNA* هایی که در تنظیم تظاهر پس از رونویسی ژن‌های *OoASTL-Like* نقش دارند توسط سرور PsRNATarget انجام و ارتباط بین ژن‌ها و مولکول‌های *miRNA* با نرم افزار Cytoscape رسم شد.

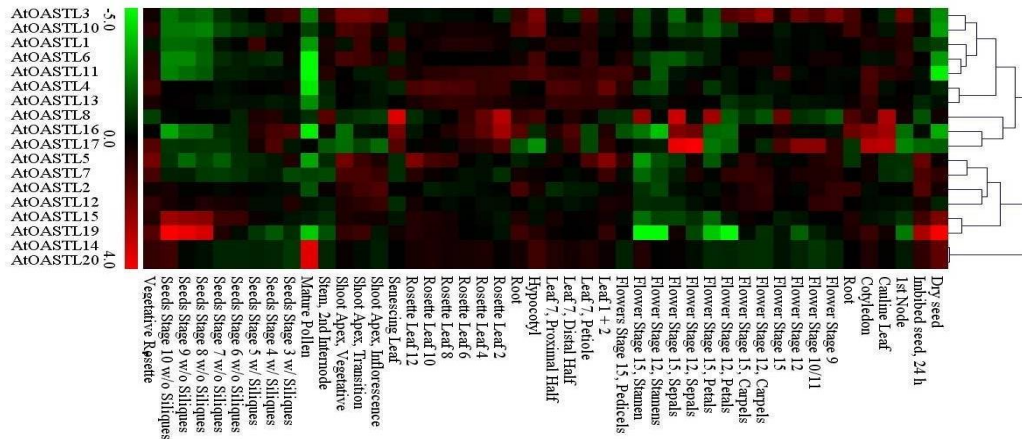
بیشترین افزایش و کاهش تظاهر بترتیب در ژن *AtOASTL10* (بمیزان ۱/۶۳) و *AtOASTL17* (بمیزان ۲/۵۸-) ۳ ساعت پس از قرار گرفتن در معرض هورمون متیل جاسمونات مشاهده شد. تظاهر ژن *AtOASTL17* در معرض هورمون‌های مختلف عموماً سرکوب شده‌است (شکل ۹).

مطالعه تنش غیر زیستی در ریشه نشان داد که بیشترین افزایش تظاهر مربوط به ژن‌های *AtOASTL14* و *AtOASTL20* بمیزان ۱٫۸۴ پس از ۶ ساعت تنش شوری و بیشترین کاهش تظاهر مربوط به ژن *AtOASTL17* بمیزان ۱٫۹- پس از ۱۲ ساعت تنش خشکی می‌باشد. در ریشه میزان تظاهر ژن *AtOASTL17* در معرض تنش‌های غیرزیستی مختلف غالباً کاهش می‌یابد (شکل ۱۰).

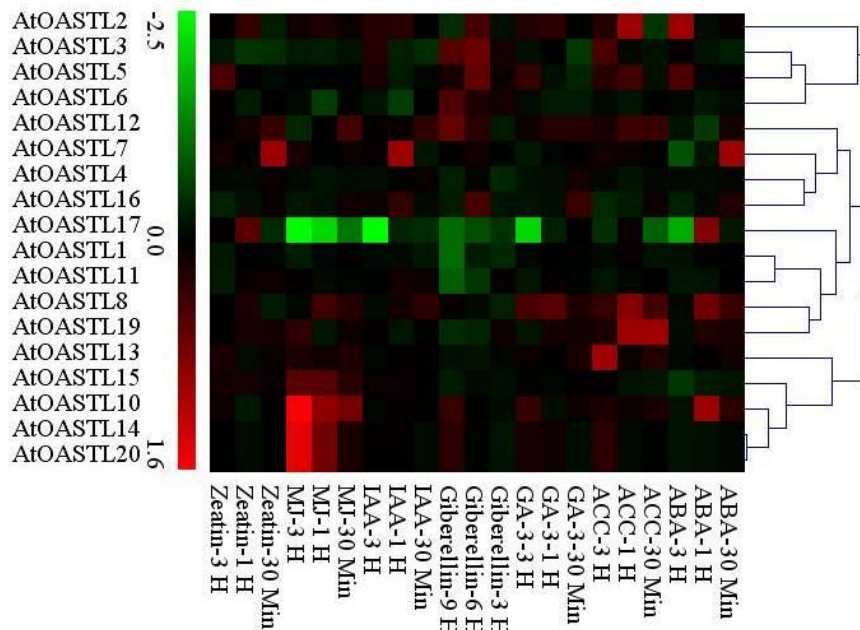
بررسی الگوی تظاهر ژن‌های *OASTL-Like* : مطالعه الگوی تظاهر اعضای خانواده ژنی در پیش‌بینی نقش زیست‌شناختی آن‌ها می‌تواند مفید باشد. در نقشه حرارتی تظاهر ژن‌های *AtOASTL-Like* در مراحل نموی مختلف، بیشترین افزایش تظاهر مربوط به ژن *AtOASTL17* بمیزان ۴٫۶۵ در مرحله ۱۲ گل، کاسبرگ (Flower Stage 12,) و بیشترین کاهش تظاهر مربوط به ژن *AtOASTL19* بمیزان ۵٫۷۷- در مرحله ۱۵ گل، پرچم (Flower Stage 15, Stamen) گزارش شد. در مرحله نموی دانه‌گرده بالغ، تظاهر ژن‌های *AtOASTL14* و *AtOASTL20* بمیزان ۳٫۶ برابر افزایش و تظاهر سایر ژن‌ها کاهش یافت (شکل ۸). در بررسی تغییرات تظاهر ژن‌های *AtOASTL-Like* در پاسخ به هورمون‌های مختلف،

بیشترین میزان افزایش تظاهر مربوط به ژن‌های *AtOASTL14* و *AtOASTL20* (بمیزان ۲/۱۲) و بیشترین کاهش تظاهر مربوط به ژن *AtOASTL2* (بمیزان ۳/۵۶) برترتیب پس از ۳ و ۲۴ ساعت تنش اسمزی می‌باشد (شکل ۱۰).

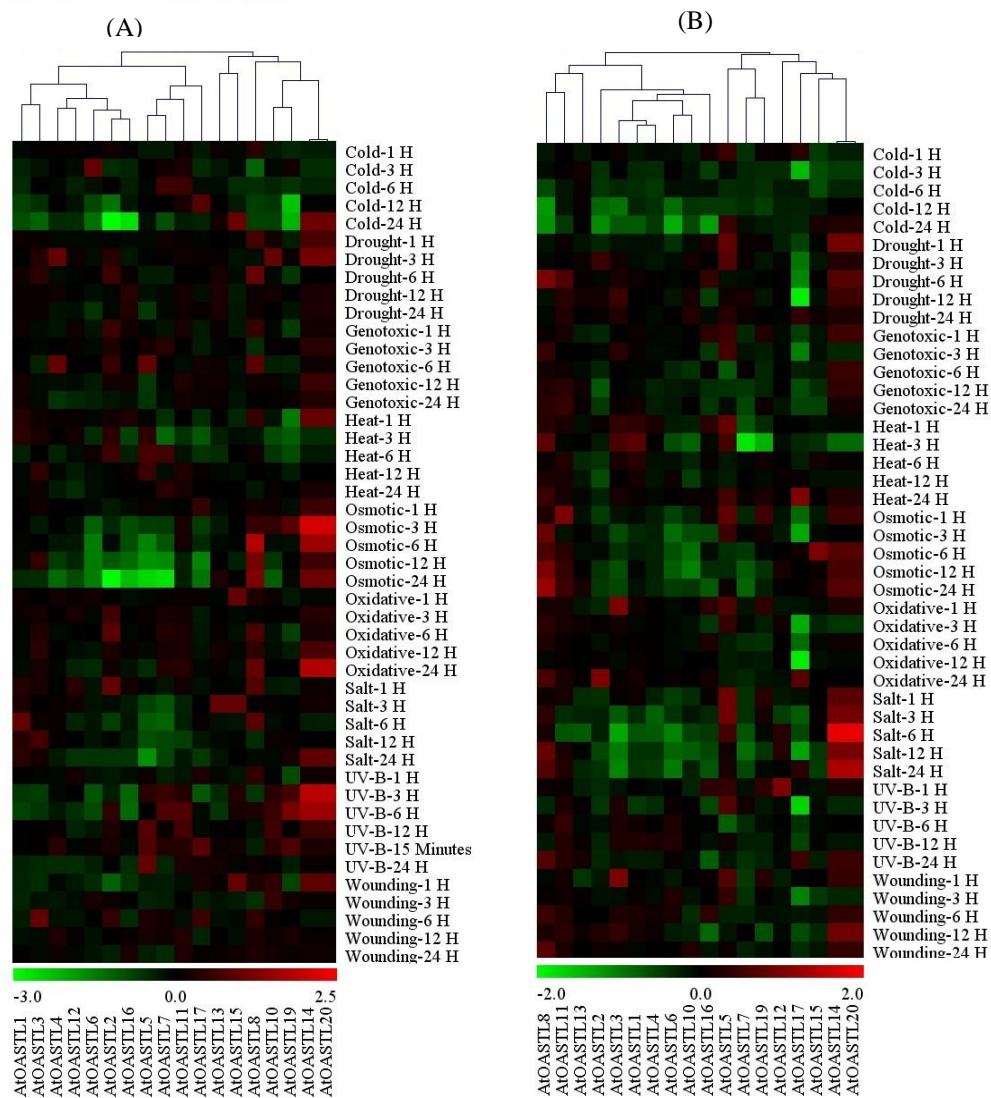
AtOASTL8 یا همان *AtOASTL-A2* با اینکه طبق منابع پروتئین عملکردی تولید نمی‌کند (۱۵)، ولی در نقشه‌های حرارتی افزایش و کاهش تظاهر نشان می‌دهد و در ریشه‌ی در معرض تنش غیر زیستی غالباً افزایش تظاهر می‌یابد (شکل ۱۰). در ساقه‌ی در معرض تنش‌های غیر زیستی،



شکل ۸- پروفایل تظاهر ژن‌های *AtOASTL-Like* در ۴۶ مرحله نمو متفاوت مربوط به ۱۶ اندام آرابیدوپسیس. ارزش سیگنال به صورت نوار رنگی در کنار نقشه حرارتی ارائه شده است که در آن رنگ سبز نشان‌دهنده سرکوب تظاهر، رنگ سیاه نشان‌دهنده عدم تغییر تظاهر و رنگ قرمز نشان‌دهنده افزایش تظاهر است.



شکل ۹- پروفایل تظاهر ژن‌های *ATOASTL-Like* در معرض هورمون‌های مختلف شامل آبسزیک اسید، اندول استیک اسید، زاتین، جیبرلین، متیل جاسمونات و اتیلن.



شکل ۱۰- پروفایل تظاهر ژن‌های *AtOASTL-Like* در پاسخ به تنش‌های غیر زیستی (سرما، خشکی، گرما، اسمزی، اکسیداتیو، شوری، زخم، UV و Genotoxic) در ریشه (A) و ساقه (B).

1 Cysteine Desulphydrase می‌باشد که سیستمین را به سولفید، پیرووات و آمونیاک تجزیه می‌کند (۳). ژن‌های *OsOASTL19*، *AtOASTL13* (OASTL-A1)، *AtOASTL8*، *AtOASTL10*، *AtOASTL4* (OASTL-B)، *OsOASTL8* (OASTL-C) و *OsOASTL3* که بترتیب در کنار هم در یک زیر گروه قرار دارند، همگی دارای فعالیت سیستمین سنتازی می‌باشند (شکل ۱). *AtOASTL11* (CYS C1) در

بحث و نتیجه گیری

مطالعه تکاملی و ساختاری ژن‌های *OASTL-Like*: مطالعه درخت تبارزایی نشان داد که در دسته اول، ژن‌های *AtOASTL17* (DES1)، *AtOASTL6* (CYS D1) و *AtOASTL16* (CYS D2) در کنار هم قرار دارند که CYS D1 و D2 دارای فعالیت سیستمین سنتازی (سنتز سیستمین از OAS و سولفید) و DES1 دارای فعالیت L-

بر اساس نتایج ژنومیکس مقایسه‌ای کارکرد ژن‌های *OASTL-Like* برنج بر اساس کارکرد ژن‌های همولوگ آن‌ها در آرآیدوپسیس تأیید شد. بررسی ساختار ژنی و موتیف‌های حفاظت شده شواهد بیشتری در تأیید گروه‌بندی درخت تبارزایی و روابط تکاملی ارائه می‌نماید. همانطور که از نتایج استنباط می‌شود ساختار آگرون اینترونی و ترکیب و توزیع موتیف‌های شناسایی شده مشابه و تأیید کننده‌ی گروه‌بندی تبارزایی ژن‌های مورد بررسی می‌باشد (شکل ۲ و ۳). آنالیز ساختارهای ژنی و ترکیب موتیف‌ها نشان داد که این ژن‌ها در هر گروه از حفاظت‌شدگی بالایی برخوردار بوده که حاکی از کارکردهای مشابه اعضای هر گروه می‌باشد (۲). در کنار هم قرار گرفتن ژن‌های دارای فعالیت سیستئین سنتازی در یک دسته جداگانه نشان دهنده‌ی مسیر تکاملی متفاوت و حفاظت شده‌ی این ژن‌ها از سایر ژن‌های دارای دمین عملکردی PALP در هر دو گیاه مورد مطالعه می‌باشد (شکل ۱).

مطالعه مولکول‌های *miRNA* و عناصر تنظیمی سیس ژن‌های *OASTL-Like* : ریز RNA ها نقش مهمی در تنظیمات پس از تظاهر ژن در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارند (۱). نتایج نشان داد که در آرآیدوپسیس و برنج microRNA های *miR156*, *miR159*, *miR167* و *miR171* بین خانواده ژنی *OASTL-Like* این دو گیاه مشترک می‌باشند. *miR167* یکی از خانواده‌های *miRNA* بسیار حفاظت شده در گیاهان است که در تنظیم رشد ریشه‌ها، ساقه‌ها، برگ‌ها، گل‌ها، زمان گلدهی، رشد جنینی، رشد بذر و پاسخ به تنش مشارکت دارد. در برنج ۱۰ عضو از این خانواده مشاهده شد که تمامی آن‌ها ژن *OsOASTL14* را به روش ممانعت از ترجمه مورد هدف قرار می‌دهند (۲۵). *miR156* که دو ژن *AtOASTL18* و *OsOASTL18* را مورد هدف قرار می‌دهد جزو تنظیم کننده‌های اصلی رشد و پاسخ به تنش در گیاهان است.

کنار *OsOASTL9* و *AtOASTL5* (CS26) در کنار *OsOASTL2* قرار دارد، آنزیم CYS C1 دارای فعالیت β -cyanoalanine Synthase C1 می‌باشد که را از سیانید و سیستئین سنتز می‌کند (۱۳) و آنزیم CS26 دارای فعالیت S-Sulfocysteine Synthase می‌باشد که S-Sulfocysteine را از Thiosulfate و OAS سنتز می‌کند (۷). ۶ عضو دیگر کلاستر اول که در کنار هم گروه شده‌اند *OsOASTL* های دارای فعالیت سیستئین سنتاز می‌باشند (شکل ۱).

در دسته دوم، ژن‌های *AtOASTL19* (TSB Type2)، *OsOASTL17* و *OsOASTL18* و نیز *AtOASTL18* (TSB3)، *AtOASTL14* (TSB2) و *AtOASTL20* (TSB1) که در یک زیر گروه قرار دارند دارای فعالیت Tryptophan Synthase Beta chain می‌باشند، TSB ها آخرین مرحله‌ی بیوسنتز تریپتوفان یعنی تراکم ایندول و سرین را کاتالیز می‌کنند (۲۸). *AtOASTL1* و *OsOASTL5* که در کنار هم و ما بین ژن‌های دارای فعالیت TSB قرار دارند دارای فعالیت D-Cysteine Desulfhydrase (DCD) می‌باشند که D-Cysteine را به H_2S ، پیروات و آمونیاک تجزیه می‌کنند، *AtOASTL9* که به دور از این دو قرار دارد نیز دارای چنین فعالیتی می‌باشد (۱۸). ژن‌های *AtOASTL3*، *AtOASTL15*، *OsOASTL11* و *OsOASTL1* که در یک زیر گروه قرار دارند دارای فعالیت Threonine Synthase می‌باشند. *AtOASTL12* و *OsOASTL10* که دارای فعالیت Serine Recemase و *AtOASTL7* و *OsOASTL7* که دارای فعالیت Threonine dehydratase می‌باشند نیز در کنار هم قرار دارند. برای *AtOASTL2* و *OsOASTL6* عملکردی شناخته نشده است.

همانگونه که مشاهده می‌شود در زیر گروه‌های درخت تبارزایی رسم شده، ژن‌های پارالوگ و ارتولوگ در کنار هم قرار دارند و اعضای بسیار نزدیک در هر زیر گروه ژنی دارای عملکرد مشابه و یا نزدیک به هم می‌باشند (شکل ۱).

دفاعی سنتز ترکیبات دفاعی را القا می‌کند (۳۹). همان ایزوفرم میتوکندریایی *OASTL* و *AtOASTL17* همان آنزیم *DES1* می‌باشد که بترتیب در سنتز و تجزیه سیستین نقش دارند و سطح سیستین سلولی را تنظیم می‌کنند. سیستین پیش‌ساز ترکیبات دفاعی می‌باشد (۴). میزان تظاهر ژن *AtOASTL17* در معرض هورمون‌های مختلف (شکل ۹) و در ریشه‌ی در معرض تنش‌های غیرزیستی مختلف (شکل ۱۰) غالباً کاهش می‌یابد. ژن *AtOASTL17* (*DES1*) که تغییرات تظاهر شاخصی را در این خانواده ژنی نشان می‌دهد نقشی متضاد با آنزیم *OASTL* دارد و در سیتوزول سیستین را به سولفید، آمونیاک و پیروات تجزیه می‌کند. این آنزیم در تعامل با ایزوفرم‌های اصلی *OASTL* در حفظ هموستازی سیستین مشارکت دارد (۵). در مطالعات پیشین مشخص شد که در اثر عدم فعالیت آنزیم *DES1* (*AtOASTL17*) فعالیت گوگرد زدایی سیستین در برگ‌ها به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد و چنین گیاهانی دفاع آنتی‌اکسیدانی و تحمل بیشتری نسبت به شرایطی که باعث تنش اکسیداتیو می‌شود نشان می‌دهند (۴).

دو ژن *AtOASTL14* و *AtOASTL20* در مراحل نمو، تنش‌های غیر زیستی و هورمون‌های مختلف همواره دارای میزان تظاهر مشابه‌ای می‌باشند. هم‌پوشانی در تظاهر این دو ژن نشان‌دهنده‌ی همکاری آن‌ها می‌باشد. *AtOASTL14* (*TSB2*) و (*TSB1*) *AtOASTL20* دارای فعالیت *Tryptophan Synthase Beta-subunit* می‌باشند. *TSB* ها آخرین مرحله‌ی بیوسنتز تریپتوفان یعنی تراکم ایندول و سرین را کاتالیز می‌کنند (۲۸). در گیاهان تریپتوفان علاوه بر نقشی که بعنوان یک جزء پروتئینی دارد پیش‌ساز فیتوهورمون ایندول استیک اسید و تعداد زیادی از ترکیبات دفاعی می‌باشد (۲۰). نتایج بررسی داده‌های ریزآرایه تظاهر ژن‌های *AtOASTL-Like* حاکی از کارکرد بسیار متنوع این ژن‌ها از نظر زمانی و مکانی و در پاسخ به تنش‌های غیر زیستی و هورمون‌ها می‌باشد.

مطالعات نشان داد هر گیاهی که *miR156* را بیش از حد تظاهر می‌کند تحمل بیشتری نسبت به تنش کادمیوم دارد (۴۰). *miR159* که بر روی ژن‌های *OASTL1*، *OASTL11* و *AtOASTL7* از طریق سازوکار برش اثر می‌گذارد در بسیاری از گیاهان شناسایی شده است. سرکوب این ژن در برنج موجب کاهش تظاهر بسیاری از ژن‌های پاسخ دهنده به برازینواستروئید و کاهش وزن و اندازه بذر شده است (۴۱).

اعضاء خانواده ژنی *OASTL-Like* در هر دو گیاه مورد بررسی هدف تعداد زیادی *miRNA* متفاوت قرار می‌گیرند که این *miRNA* ها توانایی بالایی در تنظیم کارکرد اختصاصی این ژن‌ها در شرایط مختلف دارند. علاوه بر این، وجود عناصر تنظیمی سیس مختلف با فراوانی متفاوت شامل پاسخ به نور، پاسخ به هورمون، پاسخ به تنش، مختص بافت، عمومی و *circadian* در این خانواده ژنی نشان دهنده‌ی ضرورت کنترل تظاهر و ایفای نقش ژن‌های *OASTL-Like* در بسیاری از فرایندهای رشد و نمو و دفاعی در آراییدوپسیس و برنج می‌باشد. عوامل رونویسی می‌توانند مجموعه‌ای از ژن‌های تحت کنترل خود را از طریق اتصال اختصاصی به عناصر تنظیمی سیس موجود در راه‌انداز ژن‌های هدف، تنظیم کنند (۲). در مجموع می‌توان گفت تنوع و فراوانی گسترده عناصر سیس ناحیه پروموتری و نیز *miRNA* های موثر بر ژن‌های *OASTL-Like* در هر دو گیاه مورد بررسی حاکی از تنوع کارکردی، پیچیدگی و اهمیت تنظیم تظاهر این ژن‌ها در سطوح رونویسی و پس از رونویسی می‌باشد.

مطالعه الگوی تظاهر ژن‌های *OASTL-Like*: همانطور که مشاهده می‌شود در نقشه تظاهر ژن‌های *AtOASTL-Like* در پاسخ به هورمون‌های مختلف، بیشترین افزایش و کاهش تظاهر بترتیب در *AtOASTL10* و *AtOASTL17* در معرض تیمار ۳ ساعت هورمون متیل جاسمونات رخ داده است (شکل ۹). متیل جاسمونات با تاثیر بر تظاهر ژن‌های

از رونویسی می‌باشد. ژن‌های *OASTL-Like* در آرابیدوپسیس تغییرات میزان تظاهر گسترده و متنوعی را در مراحل نمو مختلف، تحت تنش‌های غیر زیستی و هورمون‌ها نشان می‌دهند که حاکی از نقش عملکردی متنوع و گسترده‌ی این ژن‌ها می‌باشد. نتایج این مطالعه اطلاعات پایه‌ای و ارزشمند تکاملی، ساختاری و کارکردی خانواده ژنی *OASTL-Like* در آرابیدوپسیس و برنج را فراهم می‌سازد. با توجه به نقش تعیین‌کننده‌ی سیستین در سازوکار دفاعی گیاهان، این نتایج در پژوهش‌هایی با اهداف مختلف همچون مطالعه‌ی پاسخ به تنش‌های غیر زیستی و مهندسی ژنتیک می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از حمایت مالی دانشگاه گیلان از پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم مریم رجبی فرشمی و کلیه همکارانی که در انجام بخش‌های مختلف این مقاله و مطالعه و بازبینی متن آن همکاری و مساعدت داشته‌اند قدردانی و تشکر می‌شود.

در این مطالعه بترتیب ۲۰ و ۱۹ ژن *OASTL-Like* در ژنوم آرابیدوپسیس و برنج شناسایی شد که آنزیم‌هایی را کد می‌کنند که همگی دارای دمین عملکردی PALP بوده و برای فعالیت به کوفاکتور PLP نیاز دارند. این ژن‌ها از نظر مکان کروموزومی، جایگاه سلولی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی دارای تنوع می‌باشند. ژن‌های *OASTL-Like* بر مبنای درخت تبارزایی به دو دسته عمده و چندین زیر گروه در هر دسته تقسیم بندی می‌شوند. در زیر گروه‌های درخت تبارزایی، ژن‌های پارالوگ و ارتولوگ در کنار هم قرار دارند و اعضای بسیار نزدیک در هر زیر گروه ژنی دارای عملکرد مشابه و یا نزدیک به هم می‌باشند. ساختار اگزون اینترونی و موتیف‌های حفاظت شده تایید کننده گروه‌بندی تبارزایی و نشان‌دهنده‌ی اهمیت و حفاظت‌شدگی مسیر تکاملی این ژن‌ها می‌باشد. تنوع و فراوانی گسترده عناصر سیس ناحیه پروموتری و نیز *miRNA* های موثر بر ژن‌های *OASTL-Like* در هر دو گیاه مورد بررسی نشان‌دهنده‌ی تنوع کارکردی، پیچیدگی و اهمیت تنظیم تظاهر این ژن‌ها در سطوح رونویسی و پس

منابع

- ۱- پسندیده ارجمند، م.، سمیع زاده لاهیجی، ح. ا. بیگلویی، م. ح. و محسن زاده گلزانی، م. (۱۴۰۰). شناسایی بیوانفورماتیکی ژن‌های هدف *miRNA* های پاسخ دهنده به تنش خشکی در کلزا (*Brassica napus*). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، مقالات آماده انتشار، پذیرفته شده، انتشار آنلاین از تاریخ ۱۱ آذر ۱۴۰۰.
- ۲- هاشمی پطروودی، ح.، و محمدی، س. (۱۴۰۰). شناسایی، طبقه‌بندی و آنالیز بیان خانواده ژنی عوامل رونویسی DREB در گیاه آلوروپوس لیئورالیس (*Aeluropus litoralis*) تحت تنش شوری. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، جلد ۳۴، شماره ۱، صفحات ۲۳۵-۲۲۴.
- ۳- Álvarez, C., Calo, L. Romero, L.C. García, I. and Gotor, C. (2010). An O-acetylserine (thiol) lyase homolog with L-cysteine desulfhydrase activity regulates cysteine homeostasis in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 152(2):656-669. <https://doi.org/10.1104/pp.109.147975>
- ۴- Álvarez, C., Ángeles Bermúdez, M. Romero, L.C. Gotor, C. and García, I. (2012). Cysteine homeostasis plays an essential role in plant immunity. *New Phytologist*, 193(1), 165-177. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03889.x>
- ۵- Artimo, P., Jonnalagedda, M. Arnold, K. Baratin, D. Csardi, G. De Castro, E. et al. (2012). ExPASy: SIB bioinformatics resource portal. *Nucleic acids research*, 40(W1), W597-W603. <https://doi.org/10.1093/nar/gks400>
- ۶- Bailey, TL., Boden, M. Buske, F.A. Frith, M. Grant, C.E. Clementi, L. et al. (2009). MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic acids research*, 37(suppl_2), W202-W208. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp335>
- ۷- Bermúdez, M.A., Páez-Ochoa, M.A. Gotor, C. and Romero, L.C. (2010). Arabidopsis S-

- sulfocysteine synthase activity is essential for chloroplast function and long-day light-dependent redox control. *The Plant Cell*, 22(2), 403-416. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.071985>
- 8- Bolser, D., Staines, D.M. Pritchard, E. and Kersey, P. (2016). Ensembl plants: integrating tools for visualizing, mining, and analyzing plant genomics data. In *Plant bioinformatics*, 1374, 115-140. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3167-5_6
 - 9- Cobbett, C.S. (2000). Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant physiology*, 123(3), 825-832. <https://doi.org/10.1104/pp.123.3.825>
 - 10- Dai, X., Zhuang, Z. and Zhao, P.X. (2018). psRNATarget: a plant small RNA target analysis server (2017 release). *Nucleic acids research*, 46(W1), W49-W54. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr319>
 - 11- El-Gebali, S., Mistry, J. Bateman, A. Eddy, S.R. Luciani, A. Potter, S.C. et al. (2019). The Pfam protein families database in 2019. *Nucleic acids research*, 47(D1), D427-D432. <https://doi.org/10.1093/nar/gky995>
 - 12- Finn, R.D., Clements, J. and Eddy, S.R. (2011). HMMER web server: interactive sequence similarity searching. *Nucleic acids research*, 39(suppl_2), W29-W37. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr367>
 - 13- Hatzfeld, Y., Maruyama, A. Schmidt, A. Noji, M. Ishizawa, K. and Saito, K. (2000). β -Cyanoalanine synthase is a mitochondrial cysteine synthase-like protein in spinach and *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 123(3), 1163-1172. <https://doi.org/10.1104/pp.123.3.1163>
 - 14- Heeg, C., Kruse, C. Jost, R. Gutensohn, M. Ruppert, T. Wirtz, M. and Hell, R. (2008). Analysis of the *Arabidopsis* O-acetylserine (thiol) lyase gene family demonstrates compartment-specific differences in the regulation of cysteine synthesis. *The Plant Cell*, 20(1), 168-185. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.056747>
 - 15- Hoopes, G.M., Hamilton, J.P. Wood, J.C. Esteban, E. Pasha, A. Vaillancourt, B. et al (2019). An updated gene atlas for maize reveals organ-specific and stress-induced genes. *The Plant Journal*, 97(6), 1154-1167. <https://doi.org/10.1111/tbj.14184>
 - 16- Hu, B., Jin, J. Guo, A.Y. Zhang, H. Luo, J. and Gao, G. (2015). GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, 31(8), 1296-1297. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu817>
 - 17- Jost, R., Berkowitz, O. Wirtz, M. Hopkins, L. Hawkesford, M.J. and Hell, R. (2000). Genomic and functional characterization of the oas gene family encoding O-acetylserine (thiol) lyases, enzymes catalyzing the final step in cysteine biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Gene*, 253(2), 237-247. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(00\)00261-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(00)00261-4)
 - 18- Kopriva, S. (2006). Regulation of sulfate assimilation in *Arabidopsis* and beyond. *Annals of botany*, 97(4), 479-495. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl006>
 - 19- Koul, A., Sharma, D. Kaul, S. and Dhar, M.K. (2019). Identification and in silico characterization of cis-acting elements of genes involved in carotenoid biosynthesis in tomato. *3 Biotech*, 9(7), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1798-1>
 - 20- Kriechbaumer, V., and Glawischnig, E. (2005). Auxin biosynthesis within the network of tryptophan metabolism. *Journal of Nano and Bio Tech*, 2, 53-58.
 - 21- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
 - 22- Kurt, F., Filiz, E. and Aydın, A. (2021). Genome-wide identification of serine acetyltransferase (SAT) gene family in rice (*Oryza sativa*) and their expressions under salt stress. *Molecular Biology Reports*, 48(9), 6277-6290. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06620-6>
 - 23- Larkin, M.A., Blackshields, G. Brown, N.P. Chenna, R. McGettigan, P.A. McWilliam, H. et al. (2007). Clustal W and Clustal X ve rsion 2.0. *bioinformatics*, 23(21), 2947-2948. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>
 - 24- Lescot, M., Déhais, P. Thijs, G. Marchal, K. Moreau, Y. Van de Peer, Y. et al (2002). PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic acids research*, 30(1), 325-327. <https://doi.org/10.1093/nar/30.1.325>
 - 25- Liu, X., Huang, S. and Xie, H. (2021). Advances in the regulation of plant development and stress response by miR167. *Frontiers in bioscience*

- (Landmark edition), 26(9), 655-665. <https://doi.org/10.52586/4974>
- 26- López-Martín, M.C., Becana, M., Romero, L.C. and Gotor, C. (2008). Knocking out cytosolic cysteine synthesis compromises the antioxidant capacity of the cytosol to maintain discrete concentrations of hydrogen peroxide in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 147(2), 562-572. <https://doi.org/10.1104/pp.108.117408>
- 27- Meyer, A.J., and Hell, R. (2005). Glutathione homeostasis and redox-regulation by sulfhydryl groups. *Photosynthesis research*, 86(3), 435-457. <https://doi.org/10.1007/s11120-005-8425-1>
- 28- Miles, E.W. (2001). Tryptophan synthase: a multienzyme complex with an intramolecular tunnel. *The Chemical Record*, 1(2), 140-151. <https://doi.org/10.1002/tcr.4>
- 29- Mistry, J., Chuguransky, S. Williams, L. Qureshi, M. Salazar, G.A. Sonnhammer, E.L. et al. (2021). Pfam: The protein families database in 2021. *Nucleic acids research*, 49(D1), D412-D419. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa913>
- 30- Noda, M., Nakamura, M. Takamiya, R. Tamura, T. Ito, T. and Kodama, H. (2016). A spinach O-acetylserine (thiol) lyase homologue, SoCSaseLP, suppresses cysteine biosynthesis catalysed by other enzyme isoforms. *Biochimie open*, 2, 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.biopen.2016.01.002>
- 31- Saeed, A., Sharov, V. White, J. Li, J. Liang, W. Bhagabati, N. et al. (2003). TM4: a free, open-source system for microarray data management and analysis. *Biotechniques*, 34(2), 374-378. <https://doi.org/10.2144/03342mt01>
- 32- Shannon, P., Markiel, A. Ozier, O. Baliga, N.S. Wang, J.T. Ramage, D. et al. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research*, 13(11), 2498-2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- 33- Shirzadian-Khorramabad, R., Jing, H.C. Everts, G.E. Schippers, J.H. Hille, J. and Dijkwel, P.P. (2010). A mutation in the cytosolic O-acetylserine (thiol) lyase induces a genome-dependent early leaf death phenotype in Arabidopsis. *BMC plant biology*, 10(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-80>
- 34- Wang, Y.X., Liu, Z.W. Wu, Z.J. Li, H. and Zhuang, J. (2016). Transcriptome-wide identification and expression analysis of the NAC gene family in tea plant [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]. *PloS one*, 11(11), 1-26. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166727>
- 35- Watanabe, M., Kusano, M. Oikawa, A. Fukushima, A. Noji, M. and Saito, K. (2008). Physiological roles of the β -substituted alanine synthase gene family in Arabidopsis. *Plant physiology*, 146(1), 310-320. <https://doi.org/10.1104/pp.107.106831>
- 36- Wirtz, M., and Hell, R. (2006). Functional analysis of the cysteine synthase protein complex from plants: structural, biochemical and regulatory properties. *Journal of plant physiology*, 163(3), 273-286. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.11.013>
- 37- Yan, F., Zhou, H. Yue, M. Yang, G. Li, H. Zhang, S. and Zhao, P. (2019). Genome-wide identification and transcriptional expression profiles of the F-box gene family in common walnut (*Juglans regia* L.). *Forests*, 10(3), 275. <https://doi.org/10.3390/f10030275>
- 38- Yu, C.S., Chen, Y.C. Lu, C.H. and Hwang, J.K. (2006). Prediction of protein subcellular localization. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 64(3), 643-651. <https://doi.org/10.1002/prot.21018>
- 39- Yu, X., Zhang, W. Zhang, Y. Zhang, X. Lang, D. and Zhang, X. (2018). The roles of methyl jasmonate to stress in plants. *Functional Plant Biology*, 46(3), 197-212. <https://doi.org/10.1071/FP18106>
- 40- Zhang, L., Ding, H. Jiang, H. Wang, H. Chen, K. Duan, J. et al. (2020). Regulation of cadmium tolerance and accumulation by miR156 in Arabidopsis. *Chemosphere*, 242, 125-168. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125168>
- 41- Zhao, Y., Wen, H. Teotia, S. Du, Y. Zhang, J. Li, J. et al. (2017). Suppression of microRNA159 impacts multiple agronomic traits in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC plant biology*, 17(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1171-7>

Phylogenetic, structural and expression study of *OASTL-Like* gene family in the genome wide of *Arabidopsis* and *rice* using *in silico* approaches

Rajabi-Farshmi M., Shirzadian-Khorramabad R. *, Abedi A. and Rezadoost M.H.

Dept. of Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, I.R. of Iran

Abstract

Cysteine is an important precursor for defense compounds in plants. The enzyme cysteine synthase (OASTL; EC 2.5.1.47) catalyzes the final stage of cysteine biosynthesis and need cofactor Pyridoxal-Phosphate (PLP) for its function. The use of bioinformatics tools to find genes with functional domain PALP (Pyridoxal-Phosphate dependent enzyme) in *Arabidopsis* and *rice* identified 20 and 19 *OASTL-Like* genes. Physicochemical, phylogenetic, gene structure, conserved motifs, Cis regulatory elements, post-transcription expression regulation and expression profile of *OASTL-Like* genes in *Arabidopsis* and *rice* were investigated. The identified genes have been categorized into two major clusters and several subgroups. The first cluster consists of 20 members all of which have a related function to cysteine synthase and The second cluster has 19 members. Structure of the intron-exon, the composition and distribution of motifs of those genes were similar confirming the phylogenetic classification indicating the high conservation of genes. Evaluation of promoter region *OASTL-Like* genes identified 47 types of regulatory elements in *Arabidopsis* and 48 types in *rice*. Regulatory elements G-box, ARE and ABRE have the highest frequency. Examination of the mRNA sequence of *OASTL-Like* family genes in *Arabidopsis* and *rice* showed that these genes target 87 and 105 different *miRNA* molecules, which regulate gene expression at post-transcriptional. The expression profile of *OASTL-Like* genes indicates the very diverse function of these genes in different developmental stages, in responds to abiotic stresses. The results of this study provide basic and valuable information about *OASTL-Like* genes in plants.

Key words: Bioinformatic, cysteine synthase, Database, gene expression, promoter