



شناسایی، جداسازی و تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی پیشبر اختصاصی غده گیاهان

راحله قنبری محب سراج^۱ و مسعود توحیدفر^۲

۱- دانشجوی دکترا، رشته بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی گیاهی، دانشگاه محقق اردبیل
۲- عضو هیئت علمی، دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه شهری بهشتی، (تویسته مسؤول: Gtohidfar@yahoo.com)
تاریخ ارسال: ۹۸/۵/۹
تاریخ پذیرش: ۹۸/۸/۲۲
صفحه: ۱ تا ۱۰

چکیده

بررسی حاضر با هدف شناسایی پیشبر مناسب برای اندام غده گیاهی در سال ۱۳۹۷ در دانشگاه شهید بهشتی انجام شد. بدین منظور ابتدا توالی‌های مربوط به پیشبر گیاهی، دانشگاه شهید بهشتی، توالی‌ها همراهی شدند و آغازگرهای هدف از نقاط محافظت شده طراحی شدند. تجزیه و تحلیل نتایج PCR، حضور پیشبر موردنظر را در گیاهان سیب‌زمینی شیرین و تارو تایید کرد. در ادامه، به منظور تایید پیشتر، تجزیه و تحلیل‌های بیوانفورماتیکی شامل تعیین عناصر سیس، فاکتورهای رونویسی و عملکرد آن‌ها، فاکتورهای رونویسی بايان بالا و پایین صورت گرفت. در نهایت پیشتر پیش‌بینی شده با پیشبر کلاسیک پاتاتین از لحاظ عناصر سیس و عملکرد بیوانفورماتیکی نشان داد پیشبر موردنظر دارای عناصر سیس عمومی و اختصاصی می‌باشد. عناصر سیس عمومی در اغلب پیشبرها وجود دارد و در فعل اسازی و تنظیم پیشبر، فرآیندهای سلولی، فرآیندهای نموی و تحمل تشکیل‌های زیستی و غیرزیستی نقش دارند. عناصر سیس اختصاصی غده، در بیان پروتئین‌های ذخیره‌ای و نشاسته فعل مطالعه و پیشبر اختصاصی غده پاتاتین، تاییدی بر فعالیت پیشبر مورد مطالعه در غده بود. پیشبر گیاه، در آینده می‌تواند برای بیان پروتئین‌های مختلف در غده گیاهان استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: پاتاتین، تارو، سیب‌زمینی‌شیرین، عناصر سیس، فاکتورهای رونویسی

بنابراین برای دستیابی به بیان کارآمد تراژن در زمان یا بافت گیاهی خاص، استفاده از پیشبرهای اختصاصی بافت ترجیح داده می‌شوند (۳۸). اغلب پیشبرهای اختصاصی غده در سیب‌زمینی توسط مسیرهای نموی و متabolیکی کنترل شده (۲۷) و با توجه به محدودیت موجود، در طیف وسیعی قابل استفاده نمی‌باشند. از این‌رو، برای افزایش سطح بیان پروتئین‌های نوترکیب در غده گیاه، شناسایی پیشبرهای جدید اختصاصی غده ضروری است.

جستجو برای این پیشبرها روی ژن‌های دخیل در رسوب نشاسته و ذخیره‌سازی گلیکوپروتئین‌ها تمکز دارد. چندین پیشبر شامل، اسپoramین، GBSS و بتا‌amilاز به عنوان پیشبرهای ویژه اندام ذخیره‌ای یا غده، در کاساوای و هویج گزارش شده‌اند. این پیشبرها اغلب حاوی عناصر مختلف پاسخ به قند مانند موتیف TGGACGG موجود در پیشبرهای اسپoramین و بتا‌amilاز هستند (۲۳). تنظیم ژن‌ها در حال حاضر با استفاده از مهندسی فاکتورهای رونویسی به طور خاص برای اتصال عناصر تنظیمی سیس درون پیشبرها، امکان پذیر است (۳۲) و تنظیم ژن‌های اختصاصی اندام ذخیره‌ای یا غده روش خوبی برای تولید محصولات با صفات زراعی بالاتر و محتوای غذایی بهتر خواهد بود. با توجه به اهمیت فراوان غده در مهندسی ژنتیک و تولید پروتئین‌های نوترکیب به ویژه پروتئین‌های دارویی، در این تحقیق به شناسایی و جداسازی پیشبر اختصاصی غده پرداخته شده و هدف از این بررسی شناسایی و جداسازی پیشبر غده جهت استفاده در مهندسی ژنتیک و ذخیره‌سازی پروتئین نوترکیب موردنظر با مقادیر بالا در غده‌های گیاهی است.

مقدمه

در سال‌های اخیر مطالعات متعدد نشان داده‌اند که گیاهان می‌توانند گزینه مناسبی برای تولید پروتئین‌های نوترکیب عملکردی با طیف گسترده‌ای از ویژگی‌های ساختاری باشند. بسیاری از پروتئین‌های دارویی پستانداران در گیاهان سنتز می‌شوند (۲۲). این پروتئین‌ها در برگ‌ها، میوه‌ها، ریشه‌ها، غده‌ها و بذرها گیاهی تولید شده و بخش‌های مختلف زیرسلولی مانند سیتوپلاسم، شبکه آندوپلاسمی یا فضای آپوپلاستی را هدف قرار می‌دهند (۵). غده به عنوان اندام ذخیره‌سازی می‌تواند برای تجمع مقدار زیادی پروتئین استفاده شود (۳). به منظور رسیدن به این هدف، شناسایی و جداسازی پیشبرهای اختصاصی قوی و جدید ضروری می‌باشد. پیشبرها می‌توانند براساس فعالیت خود به پیشبرهای عمومی، پیشبرهای اختصاصی بافت، پیشبرهای القایی و پیشبرهای مصنوعی تقسیم‌بندی شوند (۴۰). پیشبرهای عمومی مثل CaMV 35S که به طور معمول در مهندسی ژنتیک گیاهی به طور وسیع استفاده می‌شوند. اگر تراژن مورد نظر در زمان و بافت نادرستی از گیاه بیان شود، احتمال دارد نتایج غیرقابل انتظار در رشد و نمو گیاه حاصل شود (۲۸). این نه تنها باعث هدر رهوی انرژی گیاه میزبان می‌شود، بلکه می‌تواند برای آنها مضر نیز باشد. در مقابل، پیشبرهای اختصاصی، بیان ژن در بافت یا مرحله نموی خاصی را کنترل کرده و تغییرات در ترازیخته حاصل از این پیشبرها تنها در بافت خاصی ظاهر می‌یابند. پیشبرهای اختصاصی برای تجمع محصول ترازیخته در اندام‌های معین مانند بذور و غده‌ها و افزایش عملکرد اقتصادی مفیدند و اثر منفی روی سایر قسمت‌های گیاه ندارند (۲).

چرخه با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت هفت دقیقه تکثیر شد. سپس محصول PCR روی ژل آگارز یک درصد بررسی و بعد از خالص سازی، توالی یابی شدند.

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی

جهت پیش‌بینی پیشبر از نرم‌افزار Softberry با حدآستانه نمره 0.02 برای موقعیت پیشبر و ۰/۰۴ برای موقعیت تقویت کننده و جهت جستجوی سایتهاي تنظیمي عامل سیس از نرم‌افزار PlantCARE استفاده شد. به منظور تعیین برخی از مهم‌ترین فاکتورهای رونویسی و مکان‌های اتصال آن‌ها در این پیشبر و همچنین فاکتورهای رونویسی با پیشترین و کمترین بیان، از نرم‌افزار Genomatix استفاده شد. جهت مقایسه بیان فاکتورهای رونویسی از نمره Z استفاده شد. نمره‌های Z بالای ۲ به عنوان پیش‌بین و نمره‌های Z کمتر از -۲ به عنوان کم‌بیان در نظر گرفته شد. در نهایت، عناصر سیس و عملکرد آن‌ها در پیشبر کلاس یک پاتاتین با استفاده از نرم‌افزار PLACE و Plant CARE و PLACE شناسایی و با پیشبر مورد مطالعه مقایسه شد.

Table 1. Designed primers for the target promoter

Sequence (5' → 3')	Name	Base No.	TM
GGAGAGACTTCGAGACTC	F	۱۸	۵۶
AGGGTGGATGAACTCATGAT	R	۲۰	۵۶

PLACE شناسایی و سپس عناصر سیس پیشبر مورد مطالعه با پیشبر پاتاتین اختصاصی غده مقایسه شد.

مواد و روش‌ها
به منظور یافتن پیشبر غده مناسب، ابتدا گیاهان غده‌ای مختلف شناسایی و توالی پیشبر آن‌ها از سایت NCBI دریافت و ذخیره شد. سپس توالی‌های به دست آمده بلاست شده و T-Coffee تمامی توالی‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار هم‌ردیف شدند (شکل ۱). از نقاط محافظت شده با استفاده از نرم‌افزارهای Vector NTI و Oligo طراحی آغازگرهای صورت گرفت (جدول ۱). جهت تایید وجود این پیشبر، دو گیاه غده‌ای شامل سیبازمینی‌شیرین و تارو انتخاب و استخراج DNA از غده آن‌ها به روش CTAB انجام شد (۸).

تجزیه و تحلیل PCR

نواحی هدف با استفاده از آغازگرهای طراحی شده و طی واکنش PCR با برنامه دمایی یک چرخه دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت پنج دقیقه، ۳۵ چرخه دمای ۹۴ درجه سانتی گراد جهت واسرشت‌سازی دو رشته، ۶۰ درجه سانتی گراد جهت اتصال آغازگرهای ۷۲ درجه سانتی گراد جهت بسط رشته جدید هر کدام به مدت یک دقیقه و در نهایت یک

جدول ۱- آغازگرهای طراحی شده برای پیشبر هدف

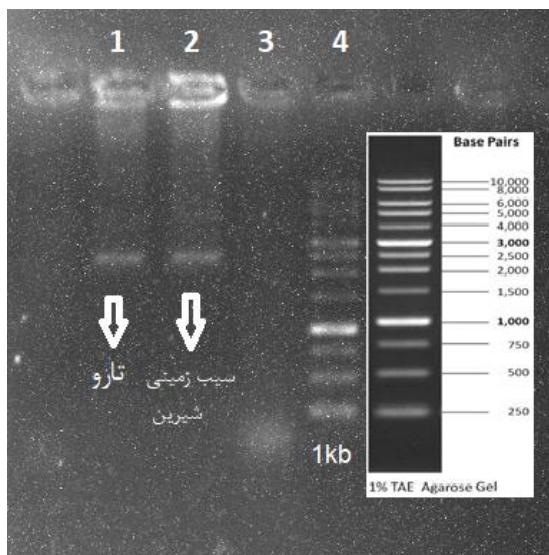
مقایسه پیشبر مورد مطالعه با پیشبر اختصاصی غده عناصر سیس مهم پیشبر اختصاصی غده (پیشبر کلاس یک پاتاتین) و همچنین عملکرد آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار



شکل ۱- هم‌ردیف سازی توالی‌های حاصل از بلاست با استفاده از نرم‌افزار T-Coffee

Figure 1. Alignment of blast sequences using T-Coffee software

جفت باز آن متعلق به پیشبر و ۳۷۹ جفت باز آن متعلق به ژن پیش ساز دیوسکورین سه بود. تکثیر پیشبر با استفاده از آغازگرها و توسط PCR صورت گرفت، محصول PCR باندی با طول حدود ۲۰۰۰ جفت باز در دو گیاه تارو و سیب زمینی شیرین بود. اندازه باند حاصل از دو گیاه با اندازه توالی موردناظار (۱۹۳۰ جفت باز) مطابقت داشت. چاهک شماره یک و دو به ترتیب متعلق به محصول PCR تارو و سیب زمینی شیرین بوده، چاهک شماره سه کنترل منفی می باشد که در آن DNA استفاده نشده است و هدف تشخیص وجود آلوگی بوده و در نهایت چاهک شماره چهار مربوط به DNA Ladder می باشد (شکل ۲).



شکل ۲- تصویر الکتروفوروز PCR با آغازگرهای طراحی شده
Figure 2. PCR electrophoresis image with designed primers

است. از عناصر دیگر موجود در غده شامل عناصر القای تحمل شرایط بی‌هوایی (آتوکسی) و القای مقاومت به تنفس است که منجر به افزایش تحمل غده در شرایط بی‌هوایی و تنفس در خاک می‌شود زیرا با توجه به اینکه غدها انرژی و مواد مغذی برای رشد دوباره در طول فصل رشد بعدی را فراهم می‌کنند لذا برای زندگاندن در زمستان‌های طولانی یا ماههای خشک نیاز به تحمل شرایط محیطی و خاک را دارند (۷). این پیشبر همچنین دارای عنصر Py-rich 5UTR stretch است که منجر به افزایش سطح رونویسی و تجمع نشاسته می‌شود که در زمان تشکیل غده منجر به پرشدن سریع غده خواهد شد (۲۱) و عنصر بیان مریستم نیز در جوانه‌زنی دوباره غده نقش دارد (جدول ۲).

نتایج و بحث

طرایح آغازگر و تجزیه و تحلیل نتایج PCR

نتایج آزمون T-coffee جهت مشخص کردن مناطق محافظت شده در شکل ۱ آورده شده است. طبق شکل مناطق صورتی‌رنگ به عنوان مناطق محافظت شده در نظر گرفته شده و در نهایت پرایمرها براساس این مناطق طراحی شده‌اند.

نتایج حاصل از پرایمر-بلاست در سایت NCBI منجر به شناسایی توالی با بیشترین شباهت شد. طول توالی دریافت شده از سایت حدود ۲۳۰۹ ۱۹۳۰ جفت باز بوده که

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی

تجزیه و تحلیل Softberry روی توالی مربوط به پیشبر مورد مطالعه نشان داد که یک پیشبر در ناحیه ۱۸۸۵ و جعبه TATA در ناحیه ۱۸۵۲ و یک تقویت‌کننده در ناحیه ۱۲۰۹ است که تاییدی بر پیشبر بودن توالی حاصل است. نرم‌افزار PlantCARE تعداد ۲۵ ناجیه تظمیمی سیس در توالی موردنظر شناسایی کرد، برخی از مهم‌ترین نواحی سیس به همراه موقعیت، نمره ماتریس، توالی و عملکرد آن‌ها در جدول ۲ آورده شده است.

پیشبر مورد مطالعه دارای عناصر سیس متعددی است که نقش اساسی در غده گیاه ایفا می‌کنند، یکی از مهم‌ترین عناصر سیس موجود در این پیشبر مربوط به تولید نشاسته است، با توجه به اینکه ترکیب غالب غده نشاسته است بنابراین این عنصر سیس جزو عناصر اختصاصی و مختص به غده

جدول ۲- شناسایی عناصر سیس پیشبر با استفاده از نرم‌افزار PlantCARE

Table 2. Identification of promoter cis elements using the PlantCARE software

نامه سیس	موقعیت	نمودر ماتریس	توالی	عملکرد
5UTR Py-rich stretch	۱۶۹۳	TTTCTCTCTCTCTC	افراش سطح رونویسی	
ARE	۸۹۸	TGGTTT	ضروری برای القای بی‌هوای	
MBS	۱۱۷۹	CAACTG	مکان اتصال MYB و دخیل در القای خشکی	
Skn-1_motif	۵۲۵	GTCAT	مورد نیاز برای تولید نشاسته	
CAT-box	۱۶۸۹	GCCACT	مربوط به بیان مریستم	
GC-motif	۳۴۴	CCCCCG	عنصر شبیه تقویت‌کننده دخیل در القای آنوكسی	
GCN4_motif	۱۱۱	CAAGCCA	دخیل در تولید نشاسته	

پیشبر در افزایش بیان ژن و مقاومت به بی‌آبی هم موثر است (جدول ۳).

تجزیه و تحلیل توالی با استفاده از نرم‌افزار PLACE نیز نشان داد که این پیشبر دارای ژن ذخیره‌سازی است که در ذخیره‌سازی نشاسته و پرشدن غده نقش دارد، همچنین این

جدول ۳- شناسایی عملکردهای مهم عناصر سیس پیشبر هدف با استفاده از نرم‌افزار PLACE

Table 3. Identification of the important functions of target promoter cis elements using the PLACE software

اسم ناجه	موقعیت	توالی سیگنال	عملکرد
EBOXBNNAPA	۲۷۸	CANNTG	ژن پروتئین ذخیره‌ای
QELEMENTZMZM13	۲۸۳	AGGTCA	افراش بیان ژن
MYBCORE	۳۳۸	CNGTTR	تنظیم ژن‌های واکنش به تنفس آبی
SSEEDPROTBANAPA۲	۱۰۴۶	CAAACAC	ژن ذخیره سازی
CTRMCAMV35S	۱۱۸۸	TCTCTCTCT	افراش بیان ژن
	۱۶۸۵		

ماتریس نمره یک می‌باشد که در آن هر جایگاه توالی با حفاظت‌شده‌ترین نوکلئوتید در آن جایگاه در ماتریس مطابقت دارد. پیشبر مورد مطالعه دارای فاکتورهای رونویسی GmNAC است که در واکنش مرگ برنامه‌ریزی سلول نقش دارند و مانع از فساد غده‌های آسیب‌دیده در خاک می‌شوند (۱۱).

برخی از مکان‌های اتصال فاکتورهای رونویسی با اهمیت در غده و فاکتورهای رونویسی مربوط به آن در جدول ۴ و ۵ ذکر شده است. میزان Core similarity در این تجزیه و تحلیل یک می‌باشد که در آن پیشترین میزان بازه‌های حفاظت‌شده در توالی وجود دارد و میزان Matrix similarity آن ۰/۹۵ در نظر گرفته شد. تطابق کامل

جدول ۴- تعیین فاکتورهای رونویسی مربوط به هر دمین در پیشبر مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار Genomatix

Table 4. Determination of transcription factors related to each domain in desired promoter using Genomatix software

ماتریس	خانواده	موقعیت	توالی	فاکتورهای رونویسی	درصد تطابق پیشبر
CNAC	فاکتورهای NAC تنظیم کلسمیم	۴۰۱ ۱۳۱۱	atttGCTTggccatggtcca taagGCTTcatgcctctaa	CBNAC , NTL9	۶۰/۱ درصد
SALT	عناصر پاسخ به شوری و خشکی	۴۶۹ ۶۸۰ ۶۹۴	caaaaagtGGTGcat	ALFIN1	۳۶/۹ درصد
HMGF	فاکتورهای گروه تحرك بالا	۶۹۷ ۸۴۲ ۸۵۴ ۸۶۲ ۸۹۶ ۱۳۳۸ ۱۳۴۷ ۱۵۴۷	gtctTATTtttacct tcTATTtattttaa ttatTATTtttaattt tttTATTttactttt tttTATTttttttaa gggtTATTtttatgt atctTATTttttta tttTATTtttgttga ttccTATTttctatgt	HMG-I/Y, HMGI/Y AT-1SNBP, NAT2, SB16A, SB16B PNF-1, PRF-1	۴۹/۵ درصد
PCDR	دخل در واکنش مرگ برنامه‌ریزی شده سلول	۱۰۸۵ ۱۰۸۷ ۱۰۸۹	TGTGtgt TGTGtgt TGTGttt	GmNAC30, GmNAC81	۶۳/۲ درصد

جدول در دمین‌های NAC، AT-hook و MYB بیشترین میزان DOF-C2C2 و در دمین‌های LOB، AP2 کمترین میزان فاکتورهای رونویسی قرار گرفته و در دمین‌های MYB، LOB، AP2 و Z تعادلی از فاکتورهای رونویسی با اهمیت دارای نمره بالاتر از دو و پایین‌تر از منفی دو در جدول پنج نشان داده شده است. نمره Z نشان می‌دهد بیان ژن مرگ برنامه‌ریزی شده و در چه جهتی از میانگین توزیع خود انحراف دارد. با توجه به

تعادلی از فاکتورهای رونویسی با اهمیت دارای نمره Z بالاتر از دو و پایین‌تر از منفی دو در جدول پنج نشان داده شده است. نمره Z نشان می‌دهد بیان ژن مرگ برنامه‌ریزی شده و در چه جهتی از میانگین توزیع خود انحراف دارد. با توجه به

شاخه جانبی را القا می‌کند، این دمین تشکیل گیاه جدید از غده‌ها را امکان‌پذیر می‌سازد (۱۰). فاکتورهای رونویسی MYB خانواده P\$CCAF از جمله RVE1 با اتصال به دمین RVE1 باعث تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در غده می‌شوند (۲۴، ۴، ۱). فاکتورهای رونویسی گروه P\$DOFF با اتصال به دمین DOF تشکیل غده را القا می‌کنند (۱۶).

تحرک بالا در افزایش بیان ژن ذخیره‌سازی در غده نقش دارد، در پیشبر مورد مطالعه فاکتورهای رونویسی مختلف از جمله HMG و SB16 به دمین AT-hook متصل شده و باعث افزایش رونویسی و همانندسازی ژن موردنظر می‌شوند (۳۰، ۹، ۳۷). پروتئین‌های مختلف NAC در پیشبر مورد مطالعه به دمین NAC متصل شده و تشکیل مریستم، ریشه و

جدول ۵- شناسایی فاکتورهای رونویسی با بیان بالا و پایین در پیشبر هدف با استفاده از نرم‌افزار Genomatix
Table 5. Identification of transcription factors with high and low expression in target promoter using Genomatix software

Z-score (پیشبرها)	Z-score (زنوم)	دمین اتصال	فاکتورهای رونویسی	خانواده
۲/۷۳	۴/۰۳	فاکتورهای گروه تحرک AT-hook بالا، دمین	HMG-I/Y, HMG-I/Y, AT-1SNBP, NAT2, SB16A, SB16B, PNF-1, PRF-1	P\$HMGF
۴/۴۵	۳/۶۵	NAC دمین	ANAC087, ATIG19040, CUC1, NAC016, NAC017, NAC020, NAC028, NAC038, NAC045, NAC050, NAC053, NAC057, NAC058, NAC096, NAC103, NAC13, NAC2, NAC78	P\$NACD
۲/۶۲	۳/۳۷	MYB دمین	AT3G10113, AT4G01280, ATSG52660, CCA1, EPR1, LCL1, LHY, RVE1, RVE8 AT1G29160, AT1G47655, AT1G64620, AT1G69570, AT2G28810, AT2G34140, AT3G52440, AT5G02460, AT5G65590, AT5G66940, ATDOF4.2, CDF1, CDF3, DAG1, DAG2, DOF1, DOF2, DOF2.4, DOF4.4, DOF4.5, DOF4.7, DOF6, HCA2, OBP1, OBP2, OBP3, OBP4, GmDof11, GmDof4, BPBF, NTBBF1.2, NiBBF1, DOF3, RPBF, BPBF, WPBF, pbf1	P\$CCAF
۲/۰۷	۱/۹۹	دمین انگشت روی DOF-C2C2	ATDOF4.2, CDF1, CDF3, DAG1, DAG2, DOF1, DOF2, DOF2.4, DOF4.4, DOF4.5, DOF4.7, DOF6, HCA2, OBP1, OBP2, OBP3, OBP4, GmDof11, GmDof4, BPBF, NTBBF1.2, NiBBF1, DOF3, RPBF, BPBF, WPBF, pbf1	P\$DOFF
-۲/۰۱	-۱/۴۷	LOB دمین	, ASL9, LBD13, LBD16, LBD18, LBD19, LBD2, LBD23, LBD4, AS2 LBD41, LOB	P\$LBDF
-۲/۵۸	-۲/۲۷	MYB دمین	MIXTA, AS1, AS2, DUO1, MYB0, MYB101, GaMYB, MYB118, FIF1, MYB119, MYB23, MYB30, TT2, MYB31, MYB33, MYB52, MYB56, MYB65, MYB66, MYB70, MYB73, MYB77, MYB81, MYB96, MYB98, MYB1, GhMYB109, GaMYB, NtMYBAS1, MYB.PH3 ABR1, AT1G28160, AT2G33710, AT4G18450, ERF1, AT5G07310, CRF10, AT5G65130, DREB2C, DRNL, EBP, ERF-1, ERF1, ERF10, ERF11, ERF15, ERF2, ERF3, ERF4, ERF5, ERF6, ERF7, ERF71, ERF8, ERF9, ESE1, ESE3, ESR1, ORA47, ORA59, RAP2.10, RAP2.11, RAP2.12, RAP2.6, RRTF1, my, ERFPL1, ORCA1, ORCA2, ORCA3, CarERF116, ERF3, GhEREV2, GhEREV3, JcERF, ERN1, ERN2, ERN3, EREBP-1, EREBP-2, EREBP-3, EREBP-4, JERF3, NTERF5, NtCEF1, OPBP1, TS11, OsEBP-89, SodERF3, JERF1, LOC543910, LOC544041, TSRF1, LOC544042, SICRF1, TSI-1, EREBP1, TiERF1, TaERF1	P\$MYBL
-۳/۱۹	-۲/۴۱	AP2 دمین	EREBP-1, EREBP-2, EREBP-3, EREBP-4, JERF3, NTERF5, NtCEF1, OPBP1, TS11, OsEBP-89, SodERF3, JERF1, LOC543910, LOC544041, TSRF1, LOC544042, SICRF1, TSI-1, EREBP1, TiERF1, TaERF1	P\$GCCF

خشکی، آنکسی و تولید نشاسته نقش دارد (جدول ۶). علاوه‌بر این، پیشبر مورد مطالعه در افزایش سطح رونویسی و بیان مریستم نیز نقش دارد که عنصر سیس مربوط به آن در پیشبر پاتاتین هم وجود دارد.

مقایسه پیشبر هدف با پیشبر کلاس یک پاتاتین تجزیه و تحلیل توالی پیشبر اختصاصی غده (کلاس یک پاتاتین) با استفاده از نرم‌افزار PlantCARE با توالی مورد مطالعه نشان داد این پیشبر همانند پیشبر مورد مطالعه در پاسخ به آبسیزیک‌اسید، متیل جاسمونات، اکسین و القای

جدول ۶- شناسایی عناصر سیس پیشبر پاتاتین با استفاده از نرم‌افزار PlantCARE
Table 6. Identification of patatin cis elements using PlantCARE software

عملکرد	توالی	نمره ماتریس	موقعیت	ناحیه سیس
دخیل در پاسخ به آبسیزیک‌اسید	ACGTG	۵	۹۳۰, ۲۲۹	ABRE
دخیل در پاسخ به متیل جاسمونات	CGTCA	۵	۲۷۸	CGTCA-motif
مکان اتصال MYB و دخیل در القای خشکی	CAACTG	۶	۵۶۶, ۲۵۵	MBS
عنصر پاسخ به اکسین	AACGAC	۶	۸۲۴	TGA-element
عنصر تنظیمی عامل سیس دخیل در پاسخ به متیل جاسمونات	TGACG	۵	۲۹۷, ۲۶۳	TGACG-motif
عنصر شبه تقویت‌کننده دخیل در القای آنکسی	CCCCCG	۶	۱۱۱	GC-motif
دخیل در تولید نشاسته	CAAGCCA	۷	۳۴۱	GCN4_motif

می‌باشد که این عناصر مختص به پیشبر غده می‌باشند (۱۷). با توجه به جدول ۳، پیشبر مورد مطالعه علاوه‌بر عملکردهای اشاره‌شده، نقش اساسی در افزایش بیان ژن دارد.

در ادامه تجزیه و تحلیل با استفاده از نرم‌افزار PLACE (جدول ۷) نشان داد پیشبر مورد مطالعه شامل عناصر سیس مربوط به ژن پروتئین ذخیره‌ای، پاسخ به کم‌آبی و شرایط بی‌هوایی، تولید نشاسته، ژن سنتر گلوتامین و پاسخ به ساکارز

جدول ۷- شناسایی عملکردهای مهم عناصر سیس پیشبر پاتاتین با استفاده از نرم افزار PLACE

Table 7. Identification of the important functions of patatin cis elements using PLACE software

عملکرد	توالی سیگنال	موقعیت	اسم ناجیه
پاسخ به ABA	CATGCA	۲۳	RYREPEATBNNAPA
ژن سنتر کنند پروتئین ذخیره‌ای	CANNTG	۱۲۴	EBOXBNNAPA
ژن پاسخ به کم آبی	CANNTG	۱۲۴	MYCCONSENSUSAT
ژن‌های بی‌هوایی	TCATCAC	۱۵۳	ANAERO3CONSENSUS
عنصر پاسخ به ساکاراز	AATACTAAT	۱۷۷	SURE2STPAT21
ژن سنتر گلوتامین	TTATT	۳۳۱	TATABOX5
تولید نشانه	GTACGTG	۴۳۴	ACGTOSGLUB1
دخیل در پاسخ به اکسیژن	GTAC	۴۳۴	CURECORECR
بیان ژن اختصاصی غده	GCTAAACAAT	۷۵۱	BBOXSITES1STPAT

مکانی-زمانی مناسب ژن است که قدرت و دوام مناسب را می‌تواند فراهم کند. پرومومتر غده یک پرومومتر اختصاصی است که در زمان تشکیل غده فعال می‌شود. برای افزایش سطح بیان پروتئین‌های نوترکیب در غده سیب‌زمینی، شناسایی پیشبرهای جدید اختصاصی غده ضروری است. در این پژوهش، بهمنظور یافتن پیشبر غده مناسب، پیشبر گیاهان غده‌ای مختلف شناسایی، مقایسه و مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی نشان داد پیشبر غده شناسایی شده در این مطالعه دارای دمین‌های متعددی است که فاکتورهای رونویسی مختلفی به آن‌ها متصل و منجر به افزایش یا کاهش بیان ژن‌های مربوطه می‌شوند. برخی از ویژگی‌های این پیشبر شامل ذخیره‌سازی نشاسته و پروتئین‌ها، تحمل شرایط نامساعد محیطی مانند تنفس‌ها و آنکوسی، کاهش پوسیدگی غده در خاک، جوانه‌زنی سریع در زمان کاشت، پاسخ به هورمون‌های مختلف محرك رشد می‌باشد. انتخاب پیشبری با کارایی بالا و همچنین بیان هدفمند در بافت‌ها می‌تواند در کارایی تولید پروتئین‌های نوترکیب در سیستم‌های گیاهی بسیار موثر باشد (۳۵، ۳۶). استراتژی پرومومتر سنتزی به طور گستره‌های برای تنظیم دقیق بیان ژن در مهندسی ژنتیک به کار می‌رود. پرومومترهای اختصاصی بافت و پرومومترهای القایی زیادی وجود دارد که پیش از این بررسی شده و مزایای آن‌ها در مهندسی محصولات نشان داده شده است (۴۰، ۴۹). روش نوسازی اجازه ساخت پرومومترهای سنتزی با عناصر تنظیمی سیس ویژه، به صورت جداگانه را می‌دهد (۲۵). عناصر معرفی شده از پرومومترهای مختلف را می‌توان در یک پرومومتر سنتزی با حفظ عملکرد مربوطه به طور همزمان ترکیب کرد (۳۳). ها و همکاران (۱۵) بهمنظور استخراج یک پرومومتر با بیان قوی در غده‌های سیب‌زمینی، ناحیه پرومومتر ژن لاکاز را از سیب‌زمینی جدا کردند و فعالیت آن را در گیاهان تاریخته مانند سیب‌زمینی، تباکو و گوجه مورد بررسی قرار دادند. توانایی پرومومتر لاکاز برای القای گزارشگر بتا-گلوکورونیداز (GUS) در لاین‌های سیب‌زمینی تاریخت مستقل بررسی و با پرومومتر ساختاری CaMV35S مقایسه شد. پرومومتر لاکاز بیان ویژه غده را در سیب‌زمینی تاریخت بدون درنظرگرفتن مرحله رشد القا کرد. این پرومومتر به میزان ضعیفی به تنفس شوری، تنفس مانیتول و زخم‌های مکانیکی پاسخ داد اما به

پیشبر پاتاتین دارای عناصر پروتئین ذخیره‌ای، پاسخ به ساکاراز، سنتر گلوتامین و تولید نشانه است که تمامی این عناصر در پرشدن غده نقش دارند، همچنین دارای عناصر پاسخ به ABA، پاسخ به کم آبی، پاسخ به کمبود اکسیژن است که در تحمل غده به شرایط تنفس دارد (۲)، که در مقایسه با پیشبر مورد مطالعه مشخص شد که همه این عناصر در این پیشبر نیز وجود دارند (جدول ۷).

اساس مولکولی نمو و اندامزابی در همه موجودات چند سلولی به‌ویژه گیاهان بیان افتراقی ژن می‌باشد. بیان ژن به طور عمده در سطح رونویسی کنترل می‌شود و نقش اصلی در این تنظیم متعلق به منطقه تنظیم ژن یعنی پرومومتر است. در همین ارتباط بررسی ویژگی‌های عملکردی و ساختاری پرومومترهای ژن یکی از نقاط داغ بیولوژی فعلی است. علاوه‌بر این، درک عملکرد پرومومتر برای بعضی کارهای عملی مثل ایجاد گیاهان تاریخته سودمند است. پرومومترهای اختصاصی بافت می‌تواند برای بیان کارآمد ترانس ژن‌ها در زمان‌های خاص یا در بافت‌های گیاهی خاص جهت تولید گیاهان تاریخت جدید بکار رود (۱۵). این گیاهان با اهداف مختلفی تولید می‌شوند که یکی از آن‌ها تولید واکسن خوارکی می‌باشد، این واکسن‌ها از طریق معرفی ژن مطلوب انتخابی به گیاهان تولید و سپس این گیاهان تغییریافته، تولید پروتئین‌های کدشده را القا می‌کنند. بهمنظور افزایش مقدار تولید این پروتئین‌های نوترکیب، استفاده از پرومومترهای گیاهی قوی جهت افزایش سطح بیان آنتی ژن انجام می‌شود. قدرت پرومومتر یک پیش‌نیاز برای ساخت موفق پرومومترهای سنتزی است (۱۴)، که خود تحت تاثیر متغیرهای متعددی از جمله فاکتورهای عامل ترانس، ترکیب عناصر سیس، افزایش دهنده‌ها، توالی‌های فاصله، توالی‌های جانبی و اثرات مکانی قرار دارد. مطالعات نشان می‌دهد که طول و ترکیب بازی توالی‌های جانبی می‌تواند ویژگی‌های پرومومتر را تعیین کند (۴۱، ۴۶). خصوصیات پرومومتر، عامل تعیین‌کننده حیاتی بیان ژن و بنابراین عملکرد است. پرومومترهای طبیعی با الگو و سطح بیان ایده‌آل برای کاربردهای ویژه بیوتکنولوژی تاریخت اغلب به دلیل محدودیت‌های پرومومترهای طبیعی شناسایی شده یا خاموشی ژن بر مبنای هومولوژی (HBGS) در دسترس نیستند. توسعه پرومومترهای سنتزی متشکل از عناصر سیس مشخص، دارای پتانسیل قابل توجهی برای بیان

پیشبر پاتاتین برای بیان هدفمند ژن سنتز اکسین و ژن تراپرنده سوکروز برای القای تولید غده در گیاهان سیب‌زمینی به کار گرفته شده است (۳۶، ۱۹). همچنین از این پیشبر برای تولید کارتونیئید، سرم آلبومین انسانی، تولید آنتی ژن HBsAg و تولید واکسن اسهال در غده‌های سیب‌زمینی استفاده شده است (۱۲، ۳۴). پاتاتین یکی از پروتئین‌های مهم ذخیره‌ای در غده‌های سیب‌زمینی است. پیشبر پروتئین‌های ذخیره‌ای در بذرها و اندام‌های تولید‌مثلی رویشی (مانند غده‌ها) گیاهان پیشبرهای قدرتمندی هستند که باعث سنتز فراوان پروتئین مربوط در آن بافت یا اندام خاص می‌شوند (۲۹، ۳۴).

آنالیز بیوانفورماتیکی پیشبر پاتاتین در این بررسی نشان داد که این پیشبر در پاسخ به آبیزیزیک‌اید، متیل جاسمونات، اکسین و القای مقاومت به خشکی، آنوكسی و تولید نشاسته، افزایش سطح رونویسی و بیان مریستم نقش دارد. اما ویژگی بارز پیشبر مورد مطالعه نسبت به پیشبر پاتاتین، وجود چندین دمین افزایش بیان ژن و فاکتورهای گروه تحرك بالا بود که نقش اساسی در رونویسی بالای ژن موردنظر دارند، این ویژگی بارز در پیشبر غده‌ای پاتاتین وجود نداشت که می‌تواند برتری این پیشبر را نشان دهد. با توجه به ویژگی‌های شناخته شده مختلف در پیشبر شناسایی شده، می‌توان از آن جهت رسیدن به اهداف معین در تولید غده استفاده نمود که از آن جمله می‌توان تولید غده تاریخت به منظور اهداف دارویی و واکسن و همچنین با توجه به اینکه سیب‌زمینی غذای اصلی بسیاری از مردم است جهت تأمین پروتئین‌های ضروری بدن از آن استفاده کرده و پروتئین نوترکیب موردنظر را با مقادیر فراوان تولید نمود.

تش سرما پاسخی نداد. در تنبایکی تاریخت، بیان ضعیف GUS حاصل از پرومومتر لاکار در کل گیاه تشخیص داده شد در حالیکه در گوجه‌فرنگی تاریخت بیان GUS فقط در ریشه‌ها و بذرها تشخیص داده شد. در مطالعه‌ای دیگر کیم و همکاران (۱۸) پتانسیل پرومومتر ژن ADP-گلوکز پیروفوسفریلаз (ibAGP1) و پیتید ترانزیت (TP) آن را به عنوان یک سیستم بیان برای تولید انبوه پروتئین‌های خارجی در سیب‌زمینی مورد بررسی قرار دادند. پرومومتر ibAGP1 و توالی TP آن به همراه GUS به عنوان ژن گزارشگر به سیب‌زمینی ترانسفورم شد و فعالیت GUS متعاقبا در گیاهان سیب‌زمینی تاریخت آنالیز شد. نتایج آن‌ها نشان داد در بافت‌های غده، فعالیت GUS در گیاهان تاریخت حاوی تنها پرومومتر ibAGP1 در مقایسه با گیاهان تاریخت حاوی فقط پرومومتر CaMV35S به میزان ۱۵/۶ برابر افزایش یافته است. فعالیت GUS در گیاهان تاریخت با اضافه کردن TP سیب‌زمینی شیرین به وکتور نوترکیب، با بافت‌های غده در مقایسه با CaMV35S افزایش ۲۶ برابر نشان داد. بنابراین آن‌ها پرومومتر ibAGP1 و آن را به عنوان یک سیستم بیان ژن خارجی قوی برای تولید مولکولی در گیاهان سیب‌زمینی معرفی کردند. همچنین افقی و همکاران (۳۱) ژن کلسی‌تونین انسانی را در غده سیب‌زمینی با استفاده از پرومومترهای اختصاصی بافت و پرومومتر عمومی CaMV35S بیان کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که کلسی‌تونین می‌تواند به طور موققیت‌آمیزی در سیب‌زمینی‌های تاریخت رونویسی شود. نتایج آزمون ایمنی نشان داد که بیان ویژه بافت در سیب‌زمینی منجر به افزایش پنج برابری تجمع کلسی‌تونین نسبت به بیان ساختاری در همه بافت‌های گیاهی شد.

منابع

1. Agarwal, M., Y. Hao, A. Kapoor, C.H. Dong, H. Fujii, X. Zheng and J.K. Zhu. 2006. A R2R3 type MYB transcription factor is involved in the cold regulation of CBF genes and in acquired freezing tolerance. *Journal of Biological Chemistry*, 281: 37636-37645.
2. Aghapour, M., A. Haghnazari and B. Baghban Kohnerouz. 2011. Cloning of patatin gene specific promoter in potato tubers. Master's Thesis, Zanjan University, Department of Agronomy and Plant Breeding, 65.
3. Artsaenko, O., B. Kettig, U. Fiedler, U. Conrad and K. Düring. 1998. Potato tubers as a biofactory for recombinant antibodies. *Molecular Breeding*, 4: 313-319.
4. Cheng, H., S. Song, L. Xiao, H.M. So, Z. Cheng, D. Xie and J. Peng. 2009. Gibberellin acts through jasmonate to control the expression of MYB21, MYB24, and MYB57 to promote stamen filament growth in *Arabidopsis*. *PLoS Genetics*, 5: 440-451.
5. Conrad, U. and U. Fiedler. 1998. Compartment-specific accumulation of recombinant immunoglobulins in plant cells: an essential tool for antibody production of physiological functions and pathogen activity. *Plant Molecular Biology*, 38: 101-109.
6. Diretto, G., S. Al-Babili, R. Tavazza, V. Papacchioli, P. Beyer and G. Giuliano. 2007. Metabolic engineering of potato carotenoid content through tuber-specific overexpression of a bacterial mini-pathway. *PLoS ONE*, 2(4): e350.
7. Dominy, N.J., E.R. Vogel, J.D. Yeakel, P. Constantino and P.W. Lucas. 2008. Mechanical properties of plant underground storage organs and implications for dietary models of early hominins. *Evolutionary Biology*, 35: 159-175.
8. Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
9. Dragan, A.I., R. Carrillo, T.I. Gerasimova and P.L. Privalov. 2008. Assembling the human IFN- β enhanceosome in solution. *Journal of Molecular Biology*, 384: 335-348.
10. Duval, M., T.F. Hsieh, S.Y. Kim and T.L. Thomas. 2002. Molecular characterization of AtNAM: a member of the *Arabidopsis* NAC domain superfamily. *Plant Molecular Biology*, 50(2): 237-248.

- λ
11. Faria, J.A.Q.A., P.A.B. Reis, M.T.B. Reis, G.L. Rosado, G.L. Pinheiro, G.C. Mendes and E.P.B. Fontes. 2011. The NAC domain-containing protein, GmNAC6, is a downstream component of the ER stress and osmotic stress-induced NRP-mediated cell-death signaling pathway. *BMC Plant Biology*, 11(129): 1471-2229.
 12. Farran, I., J.J. Sanchez-Serrano, J.F. Medina, J. Prieto and A.M. Mingo-Castel. 2002. Targeted expression of human serum albumin to potato tubers. *Transgenic Res*, 11(4): 337-346.
 13. Fischer, R., E. Stoger, S. Schillberg, P. Christou and R.M. Twyman. 2004. Plant-based production of biopharmaceuticals. *Curr Opin Plant Biol*, 7(2): 152-8.
 14. Gerdes, C.A., M.G. Castro and P.R. Lowenstein. 2000. Strong promoters are the key to highly efficient, noninflammatory and noncytotoxic adenoviral-mediated transgene delivery into the brain in vivo. *Mol Therapy*, 2: 330-338.
 15. Ha, J., K. Moon, M. Kim, S. Park, K. Hahn, J. Jeon and H. Kim. 2015. The laccase promoter of potato confers strong tuber-specific expression in transgenic plants. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 120: 57-68.
 16. Hannapel, D.J., P. Sharma, T. Lin and A.K. Banerjee. 2017. The Multiple Signals That Control Tuber Formation. *Plant Physiol*, 174(2): 845-856.
 17. Hernandez-Garcia, C.M. and J.J. Finer. 2014. Identification and validation of promoters and cis-acting regulatory elements. *Plant Science*, 217-218:109-119.
 18. Kim, T., Y. Goo, C. Lee, B. Lee, J. Bae and S. Lee. 2009. The sweet potato ADP-glucose pyrophosphorylase gene (ibAGP1) promoter confers high-level expression of the GUS reporter gene in the potato tuber. *Comptes rendus biologies*, 332(10): 876-85.
 19. Kolachevskaya, O.O., V.V. Alekseeva, L.I. Sergeeva, E.B. Rukavtsova, I.A. Getman, D. Vreugdenhil, Y.I. Buryanov and G.A. Romanov. 2015. Expression of auxin synthesis gene *tms1* under control of tuber-specific promoter enhances potato tuberization in vitro. *J. Integr Plant Biol*, 57(9): 734-44.
 20. Lauterslager, T.G.M., D.E.A. Florack, T.J. van der Wal, J.W. Molthoff, J.P. Langeveld, D. Bosch, W.J. Boersma and L.A. Hilgers. 2001. Oral immunization of naive and primed animals with transgenic potato tubers expressing LT-B. *Vaccine*, 19(17-19): 2749-55.
 21. Liu, L., X. Zhang, F. Chen, A. Adam Elzamzami Mahi, X. Wu, Q. Chen and Y.F. Fu. 2017. Analysis of promoter activity reveals that GmFTL2 expression differs from that of the known flowering locus T genes in soybean. *The Crop Journal*, 5(5): 438-448.
 22. Ma, J.K., PM. Drake and P. Christou. 2003. The Production of Recombinant Pharmaceutical Proteins in Plants. *Nature Reviews Genetics*, 4:794-805.
 23. Maeo, K., T. Tomiya, K. Hayashi, M. Akaike, A. Morikami, S. Ishiguro and K. Nakamura. 2001. Sugar-responsible elements in the promoter of a gene for beta-amylase of sweet potato. *Plant Molecular Biology*, 46:627-637.
 24. Mandaokar, A. and J. Browse. 2009. MYB108 acts together with MYB24 to regulate jasmonate-mediated stamen maturation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 149:851-862.
 25. Mehrotra, R., G. Gupta, R. Sethi, P. Bhalothia, N. Kumar and S. Mehrotra. 2011. Designer promoter: an artwork of cis engineering. *Plant Mol Biol*, 75:527e536.
 26. Mehrotra, R. and S. Mehrotra. 2010. Promoter activation by ACGT in response to salicylic and abscisic acids is differentially regulated by the spacing between two copies of the motif. *J. Plant Physiol*, 167:1214-1218.
 27. Molnar, A., A. Lovas, Z. Banfalvi, L. Lakatos, Z. Polgar and S. Horvath. 2001. Tissue-specific signal(s) activate the promoter of a metallocarboxypeptidase inhibitor gene family in potato tuber and berry. *Plant Mol Biol*, 46: 301-311.
 28. Murén, E., B. Ek and L. Rask. 1995. Processing of the 2S storage protein pronapin in *Brassica napus* and in transformed tobacco. *Eur. J. Biochem*, 15: 227(1-2): 316-21.
 29. Naumkina, E.M., Y.P. Bolyakina and G.A. Romanov. 2007. Organ-Specificity and Inducibility of Patatin Class I Promoter from Potato in Transgenic *Arabidopsis* Plants. *Russ J Plant Physiol*, 54(3): 350-359.
 30. Norseen, J., A. Thomae, V. Sridharan, A. Aiyar and A. Schepers. 2008. RNA-dependent recruitment of the origin recognition complex. *Journal EMBO*, 27: 3024-3035.
 31. Ofoghi, H., F. Yavari and F. Nazarin. 2012. Tissue specific expression of human calcitonin gene in potato tubers by an organ specific promoter. *Iranian Journal of Biotechnology*, 10(2): 79-86.
 32. Petolino, J.F. and J.P. Davies. 2013. Designed transcriptional regulators for trait development. *Plant Science*, 201/202:128-136.
 33. Sawant, S.V., P.K. Singh, S.K. Gupta, R. Madanala and R. Tuli. 1999. Conserved nucleotide sequence in highly expressed genes in plants. *J Genet*, 78: 1e8.
 34. Shulga, N.Y., E.B. Rukavtsova, M.A. Krymsky, V.N. Borisova, V.A. Melnikov, V.A. Bykov and Y.I. Buryanov. 2004. Expression and Characterization of Hepatitis B Surface Antigen in Transgenic Potato Plants. *Biochem, (Moscow)*, 69(10): 1158-1164.
 35. Stoger, E., J.K.C. Ma, R. Fischer and P. Christou. 2005. Sowing the seeds of success: pharmaceutical proteins from plants. *Curr Opin Biotechnol*, 16(2): 167-73.

36. Sun, A., Y. Dai, X. Zhang, C. Li, K. Meng, H. Xu, X. Wei, G. Xiao, P.B. Ouwerkerk, M. Wang and Z. Zhu. 2011. A transgenic study on affecting potato tuber yield by expressing the rice sucrose transporter genes OsSUT5Z and OsSUT2M. *J. Integr Plant Biol*, 53(7): 586-595.
37. Thomae, A.W., D. Pich, J. Brocher, M.P. Spindler and C. Berens. 2008. Interaction between HMGA1a and the origin recognition complex creates site-specific replication origins. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 105: 1692-1697.
38. Tu, C.H., W.P. Liu, L.L. Huang, Y.Q. Mo and D.Z. Yang. 2009. Cloning and transcriptional activity of a novel ovarian-specific promoter from rat retrovirus-like elements. *Arch Biochem Biophys*, 485: 24-29.
39. Xu, L., R. Ye, Y. Zheng, Z. Wang, P. Zhou, Y. Lin and D. Li. 2010. Isolation of the endosperm-specific LPAAT gene promoter from coconut (*Cocos nucifera* L.) and its functional analysis in transgenic rice plants. *Plant Cell Rep.*, 29: 1061-1068.
40. Yoshida, K. and A. Shinmyo. 2000. Transgene expression systems in plant, a natural bioreactor. *Journal Biosci Bioeng*, 90(4):353-62.
41. Yu, Y., W. Xu, J. Wang, L. Wang, W. Yao, Y. Xu, J. Ding and Y. Wang. 2013. A core functional region of the RFP1 promoter from Chinese wild grapevine is activated by powdery mildew pathogen and heat stress. *Planta*, 237: 293-303.

Identification, Isolation and Bioinformatic Analysis of Specific Tuber Promoter in Plants

Rahele Ghanbari Moheb Seraj¹ and Masoud Tohidfar²

1- Ph.D. Student Department of Plant Biotechnology and Molecular Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabili University

2- Faculty Member, Associate Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences and Technology, Shahid University (Corresponding author: Gtohidfar@yahoo.com)

Received: July 31, 2019 Accepted: November 13, 2019

Abstract

In this study, in order to find the suitable tuber promoter, an experiment was conducted in Shahid Beheshti University in 2018. For this purpose, promoter sequences of different tuberous plants were searched at NCBI. Sequences were multiple-aligned and the target primers designed from conserved regions. PCR analysis confirmed the presence of the desired promoter in plants of sweet potato and taro. In order to further confirmation, bioinformatic analysis including identification of cis elements, transcription factors, their function, transcription factors with high and low expression were performed. Finally, the identified promoter was compared with patatin class 1 promoter in terms of cis elements and function. Results of bioinformatic analysis indicated that the promoter has specific and general cis elements. General cis elements that are present in most promoters and are involved in activation and regulation of promoters, cellular processes, developmental processes and tolerance to biological and non-biological stresses. Special cis elements of tuber are active in expression of storage protein and starch. Comparison between studied promoter and specific tuber promoter of patatin confirms activity of the studied promoter in the tuber. A tuber promoter can be used to express various proteins in tuber plants in the future.

Keywords: Cis Elements, Patatin, Sweet Potato, Taro, Transcription Factor