



گروه‌بندی و بررسی الگوی بیان ژن‌های خانواده bZIP در ریشه گیاه گوجه فرنگی تحت تنش دمای پایین

پرویز حیدری^۱ و حمید نجفی زرینی^۲

۱- استادیار، دانشگاه صنعتی شاهرود، (نویسنده مسوول: parvzh63@gmail.com)

۲- استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۵

چکیده

bZIP یکی از مهم‌ترین عوامل رونویسی هستند که در اکثر تنش‌ها فعال هستند و باعث بیان و تنظیم تعدادی زیادی ژن در طی تنش‌های محیطی می‌شوند. گیاه گوجه فرنگی دارای ۷۳ ژن bZIP است که تاکنون این ژن‌ها گروه‌بندی نشده‌اند. در این تحقیق با استفاده از مطالعه نواحی فعالیت و اتصال به DNA، این خانواده بزرگ از عوامل رونویسی گروه‌بندی گردید. نتایج گروه‌بندی نشان داد که bZIPs گوجه‌فرنگی طبق عملکرد و میزان همولوژی با ژن‌های bZIP آرابیدوپسیس در بازده گروه قرار می‌گیرند. سه ژن Solyc06g074320، Solyc01g109880 و Solyc10g085210 به ترتیب از گروه‌های I، D و B برای مطالعه بیان ژن تحت تنش دمای پایین انتخاب شدند. دو ژنوتیپ حساس به سرما (Money maker) و مقاوم به سرما (LA1777) گیاه گوجه فرنگی در مرحله گیاهچه‌ای تحت شرایط دمای نرمال (۲۳ درجه سانتی‌گراد) و دمای پایین (۱۵ درجه سانتی‌گراد) برای مطالعه بیان ژن در ریشه کشت گردیدند. نتایج نشان داد که ژن Solyc06g074320 کمتر از Solyc01g109880 و Solyc10g085210 تحت تنش دمای پایین در ریشه گیاه گوجه‌فرنگی القاء می‌شود. نتایج این بررسی می‌تواند نقطه شروعی برای مطالعه عملکردی ژن‌های خانواده bZIP در آینده باشد.

واژه‌های کلیدی: تنش دمای پایین، عوامل رونویسی، گوجه‌فرنگی، بیان ژن، کلاس‌بندی ژن‌ها

مقدمه

گوجه‌فرنگی یک گیاه مهم اقتصادی می‌باشد که مطالعات زیادی در برای بهبود افزایش عملکرد با تمرکز بر گل و توسعه میوه در آن صورت گرفته است (۱۵،۶). گیاهان مناطق گرمسیر هم‌چون گوجه فرنگی به دماهای پایین حساس هستند. ارقام زراعی گوجه فرنگی (*S. lycopersicum*) در همه مراحل رشد و نمو به دماهای پایین حساس می‌باشند. گونه وحشی *S. habrochaites* مقاوم به سرما است و یکی از منابع مقاومت معرفی شده است (۱۳). دمای پایین یک عامل کلیدی است که در گسترش، رشد و نمو، تولید و زندگی گیاه مؤثر است. ریشه‌ها در گیاه گوجه‌فرنگی که سیستم جذب آب و املاح و لنگرگاه گیاه می‌باشند ولی اطلاعات کمی در مورد بیان ژن‌ها و واکنش ریشه به تنش‌های زیستی در دسترس می‌باشد (۹). گوجه فرنگی دارای بیش از ۲۵۰۰ ژن عامل رونویسی است که در ۸۹ خانواده گروه‌بندی شده‌اند و خانواده bZIPs یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های ژنی در این گیاه می‌باشند که دارای ۷۳ عضو است.

علی‌رغم اهمیت خانواده bZIPs در تنظیم بیان ژن‌ها در گیاهان، تاکنون مطالعه‌ای در برای گروه‌بندی و تعیین عملکرد همه ژن‌های این خانواده در گیاه گوجه‌فرنگی

گیاهان بر خلاف حیوانات، دارای محدودیت حرکت و فرار از شرایط نامساعد محیطی می‌باشند لذا برای غلبه بر این محدودیت‌ها گیاهان دارای مکانیسم‌های متعددی برای سازگار شدن رشد با شرایط محیطی را دارند (۱۶). عوامل رونویسی با اتصال به نواحی پروموتوری ژن‌های هدف باعث افزایش و یا کاهش بیان ژن‌های هدف بر حسب نوع تنش می‌شوند (۳). از مهم‌ترین عوامل رونویسی می‌توان به خانواده‌های ژنی MYB، MYC، WRKY، bZIP، NAC و AP2 اشاره کرد (۷). خانواده bZIP یکی از مهم‌ترین خانواده‌های عوامل رونویسی است که در اکثر تنش‌ها درگیر هستند و باعث کنترل تعداد زیادی ژن در طی تنش می‌شوند (۱۰). خانواده bZIP یک عامل پیام‌رسانی وابسته است که به هورمون اسید آبسزیک در گیاه آرابیدوپسیس شناخته شده است (۱). ژنوم آرابیدوپسیس دارای ۷۵ ژن bZIP است که برحسب نوع عملکرد و تشابه توالی به ده گروه تقسیم شده‌اند (۱۱). ۱۳۶ ژن bZIP در کلزا بر اساس موتیف‌ها و تشابه در توالی پروتئینی به نه گروه تقسیم شدند و نتایج میکروآرایه گروه‌بندی ژن‌ها را تأیید نمود (۱۰).

ریشه اصلی) از هر دو جنس گوجه‌فرنگی برش و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار داده شدند و در منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد برای بررسی بیان ژن‌ها نگهداری شدند.

استخراج RNA و طراحی پرایمر

کل RNAها با استفاده از روش تریزول (Trizol reagent- SIGMA) استخراج گردید (۵). کمیت و کیفیت RNA با استفاده از Thermo Nano Drop 2000 و ژل آگارز یک‌درصد بررسی شد. برای حذف آلودگی DNA از RNase-free DNase I (Thermo Scientific cat.# EN0521) استفاده شد و cDNA با استفاده از کیت‌های شرکت پرومگا (Promega, USA cat.# A5000) و طبق دستورالعمل آن ساخته شد. مطالعه بیان ژن‌ها با استفاده از دستگاه Applied Biosystems 7300 و کیت SYBR Green master mix (Thermo Scientific) در سه تکرار مستقل انجام گرفت. چرخه دمایی برای تکثیر نمونه‌ها به این ترتیب استفاده شد که ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه و ۴۰ سیکل چرخه، ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تکرار شد. برای رسم منحنی ذوب دمای ۹۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد انتخاب گردید. طبق نتایج گروه‌بندی، ژن‌های Solyc06g074320، Solyc01g109880 و Solyc10g085210 به ترتیب از گروه‌های D، I و B به همراه ژن EF-1- (ژن رفرنس) برای مطالعه بیان ژن انتخاب شدند. آغازگرهای مربوط به هر ژن با استفاده از نرم‌افزار پرایمر ۳ و clone mgr suite طراحی شدند (جدول ۱). برای محاسبه میزان بیان نسبی ژن‌ها نیز از فرمول Ct و Ct استفاده شد (۱۴).

صورت نگرفته است. از سوی دیگر با توجه به اطلاعات کم در مورد بیان ژن‌ها در ریشه گوجه فرنگی، در این تحقیق ژن‌های خانواده bZIP طبق مطالعه ساختاری و عملکردی به گروه‌های مختلف تقسیم شدند و برحسب گروه‌بندی انجام گرفته سه ژن bZIP برای مطالعه بیان ژن در ژنوتیپ حساس و مقاوم سرما تحت تنش دمای پایین انتخاب شدند. نتایج این پژوهش می‌تواند باعث افزایش درک رابطه ژن‌های این خانواده ژنی شود و الگوی بیان برخی از ژن‌های این خانواده تحت کاهش دما تعیین شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری توالی و آنالیز SibZIPs

توالی پروتئینی ۷۳ ژن SibZIP از پایگاه ژنوم گوجه‌فرنگی (<http://solgenomics.net>) و ۷۵ ژن AtbZIP از پایگاه آرآبیدوپسیس (www.arabidopsis.org) استخراج گردید. برای شناسایی نواحی موتیفی و دومین‌های حفاظتی به ترتیب از ابزار Motif scan پایگاه EXPASY و Batch CD-search پایگاه NCBI استفاده شد. روابط فیلوژنتیکی bZIPs با استفاده از نرم‌افزار MEGA5 مورد آنالیز قرار گرفت.

کشت نمونه‌ها و اجراء آزمایش

بذرهای دو جنس گوجه‌فرنگی، *S. lycopersicum* cv. MoneyMaker (حساس به سرما) و *S. habrochaites* LA1777 (مقاوم به سرما) بین دو لایه کاغذ صافی در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد در اتاقک‌های رشد کشت گردیدند. بعد از هفت روز نصف گیاهچه‌های هر جنس در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و نصف دیگر در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز قرار گرفتند. بعد از اعمال تیمار دمایی ریشه‌های کامل (شامل ریشه فرعی و

جدول ۱- لیست پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه بیان ژن

ژن	توالی پرایمر پیشبر (5'-3')	توالی پرایمر برگشتی (5'-3')
EF-1-	GGAAGTGAAGAGCCTAAG	CAACACCAACAGCAACAGTCT
Solyc01g109880	GGACTTGTCATGGACCACAAT	GCAAGACATCGGCAGTCATA
Solyc06g074320	TACCATTGCCACTGCTTCTC	TCAGCCTGACGAACAAATCC
Solyc10g085210	GACGGATGCTGATAGGTTAAGG	GCTGACCTACAGCACTCAA

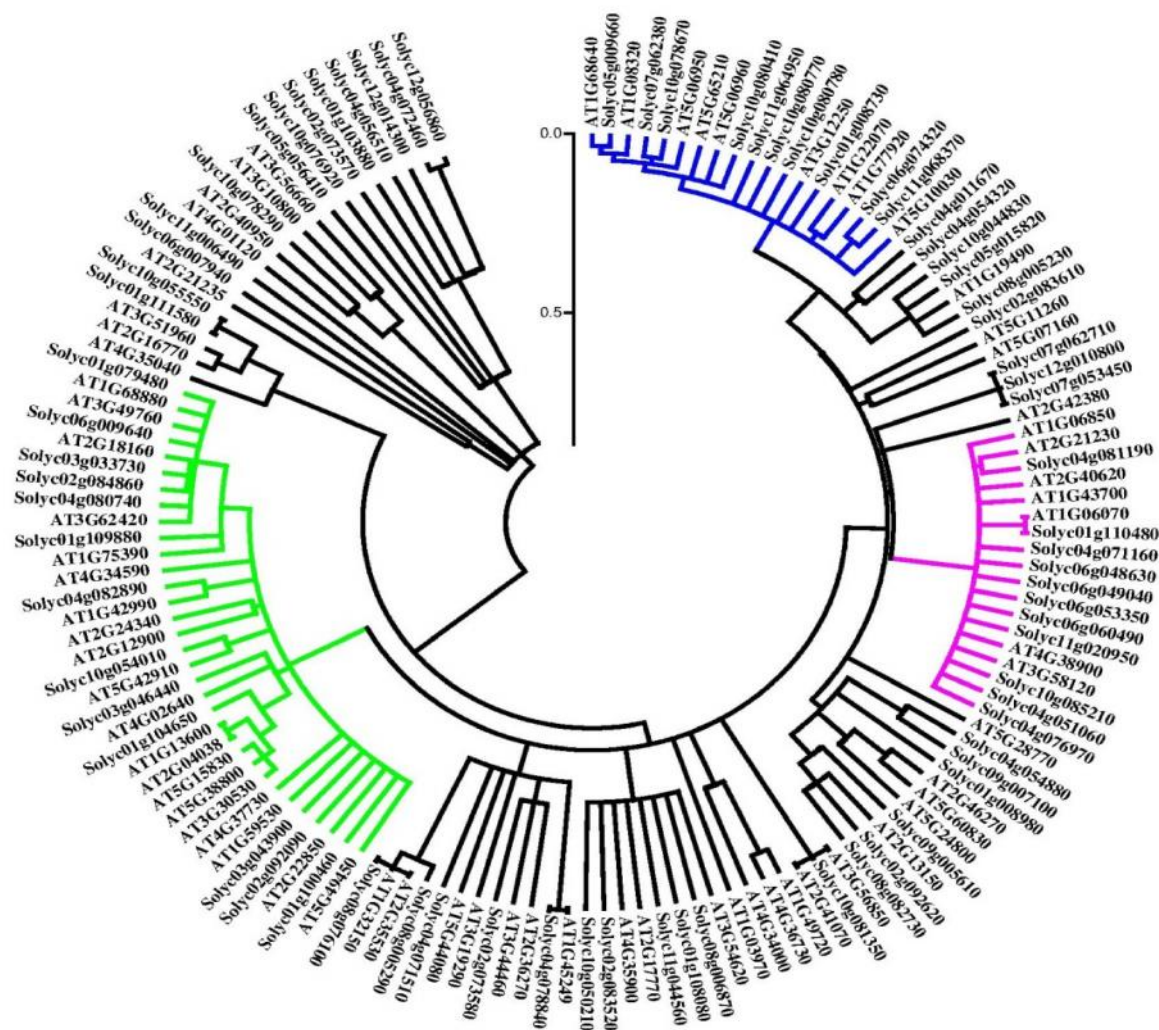
نتایج و بحث

بررسی ژنوم گوجه فرنگی نشان داد (<http://solgenomics.net>) که ۷۳ ژن sibZIP به صورت متفاوت روی کروموزوم‌های گوجه فرنگی توزیع شده‌اند و ۱۰ ژن sibZIP روی کروموزوم یک، هفت ژن در کروموزوم ۲، سه ژن در کروموزوم ۳، ۱۳ ژن در کروموزوم ۴، سه ژن در کروموزوم ۵، هفت ژن در کروموزوم ۶، سه ژن در

کروموزوم ۷، پنج ژن در کروموزوم ۸، دو ژن در کروموزوم ۹، ۱۲ ژن در کروموزوم ۱۰، پنج ژن در کروموزوم ۱۱ و سه ژن در کروموزوم ۱۲ قرار گرفته است. نتایج فیلوژنی ژن‌های bZIP گوجه فرنگی و آرآبیدوپسیس بر اساس توالی اسید آمینه برای برخی از ژن‌ها تنوع نشان داد به طوری که برای این ژن‌ها همولوگ خاصی در آرآبیدوپسیس مشاهده نگردید هر چند بر حسب میزان همولوژی بین SibZIPs و

Soly01g103880 و Soly04g051060 هیچ دومینی مشاهده نگردید و در گروه مجزا قرار گرفتند (جدول ۲). در کل SlbZIPs در ۱۱ گروه بر حسب میزان همولوژی، نوع و محل دومین، قرار گرفتند (جدول ۲).

پنج گروه از ژن‌ها کلاس‌بندی شدند (شکل ۱). گروه‌بندی سایر ژن‌ها بر اساس نوع و محل دومین، ژن‌ها را در شش گروه دیگر قرار داد. برای ژن‌های Soly04g056510، Soly06g007940، Soly10g044830



شکل ۱- آنالیز روابط فیلوژنی بین AtbZIP و SlbZIP با استفاده از توالی اسید آمینه و با نرم‌افزار MEGA 5.0. بر حسب میزان همولوژی بودن تطابق ۵ گروه SlbZIP با AtbZIP تأیید گردید. خطوط آبی گروه D، بنفش گروه H و سبز گروه I می‌باشد.

می‌شوند (۱۱). ژن‌های که دارای دومین DOG1 بودند در گروه دو قرار گرفتند. بررسی ژن‌های همولوگ نشان داد که برخی اعضاء این گروه ژنی در مسیر پیام‌رسانی هورمون جیبرلین نقش دارند. ژن‌های Soly01g108080، Soly08g006870 و Soly11g044560 بر حسب دارا بودن دومین‌های BTB و NPH3 به همراه ناحیه فسفوریلاسیون در گروه سوم قرار گرفتند (جدول ۲). دومین BTB در

در جدول ۲، گروه یک شامل پنج عضو بود که همگی دارای دومین bZIP در ناحیه مرکزی و یک جایگاه فسفوریلاسیون هستند. این گروه با ژن‌های bZIP آرابیدوپسیس که از سوی جاکوبی و همکاران (۱۱) گروه‌بندی شده بود همولوژی (حدود ۷۰ درصد) نشان داد. این ژن‌ها بیشتر از طریق اسیدآبسیزیک فعال می‌شوند و باعث کنترل بیان ژن‌های هدف تحت شرایط تنش

دومین DUF یک خانواده بزرگ از دومین‌ها است که برای آن عملکردی مشخص نشده است (۲). همچنین ژن‌های (Soly08g082730 و Soly05g015820، Soly08g005230) گروه H دارای دومین DUF1664 بودند و ژن‌های AT1G19490 و AT2G13150 همولوگ ژن‌های این گروه بودند. ۱۱ ژن که دارای دومین‌های bZIP و DUF بودند در گروه I قرار گرفتند که با ژن‌های AtbZIP گروه I (۱۱) در یک کلاستر قرار گرفتند (خطوط سبز رنگ، شکل ۱). بررسی عملکرد اعضا این گروه در سایر گیاهان نشان می‌دهد که این گروه بیشتر در تنظیم ژن‌های دخیل در فرآیند نمو و ساختار گیاهان مشارکت دارد. در کل ۱۳ ژن bZIP گوجه فرنگی قرابت زیادی با ژن‌های گروه S آرابیدوپسیس نشان دادند و همگی در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۱). به طوری که برای همه اعضا این گروه دومین bZIP و مکان‌های فسفوریلاسیون در توالی اسید آمینه مشاهده گردید. در حالی که بقیه ژن‌های bZIP گوجه فرنگی که فاقد دومین حفاظت شده و همولوژی با ژن‌های bZIP آرابیدوپسیس بودند، به صورت جداگانه در گروه مجزای دیگری قرار گرفتند (جدول ۲).

تغییرات پس از ترجمه و مسیر یوبیکوتین‌ها در تنش‌های زیستی درگیر است. تاکنون حدود ۸۰ و ۱۳۰ نوع BTB به ترتیب در آرابیدوپسیس و برنج شناسایی شده است (۸). یازده ژن SlbZIP تشابه بالایی را با ژن‌های AtbZIP گروه D نشان دادند (خطوط آبی رنگ، شکل ۱). نتایج بررسی دومینی این گروه‌بندی را تأیید کرد و به طوری که همه اعضا این گروه دارای دومین‌های bZIP و DOG1 بودند (جدول ۲). ژن‌های این گروه در پاسخ به اسید سالیسیلیک باعث القاء ژن‌های PR در تنش زیستی می‌شوند (۱۱، ۱۹). ژن‌های Soly10g055550 و Soly01g11580 در گروه E با ژن‌های AT2G16770 و AT3G51960 بیشترین همولوژی را داشتند که اطلاعات عملکردی از این ژن‌ها در دسترس نمی‌باشد. گروه F شامل دو ژن (Soly08g076100 و Soly08g005290) بود این گروه دارای توالی MFMR است که عامل اتصال به G-box و واسطه اثر متقابل پروتئین با پروتئین شناخته شده است (۱۷). ژن‌های Soly04g054880، Soly02g083610 و Soly09g007100 که دارای دومین DUF در توالی اسیدآمینه بودند در گروه G قرار گرفتند.

جدول ۲- گروه‌بندی ژن‌های bZIP گوجه‌فرنگی بر اساس تشابه توالی با AtbZIP، نوع و محل دومین با ابزار Motif scan پایگاه NCBI و EXPASY Batch CD-search موجود در پایگاه

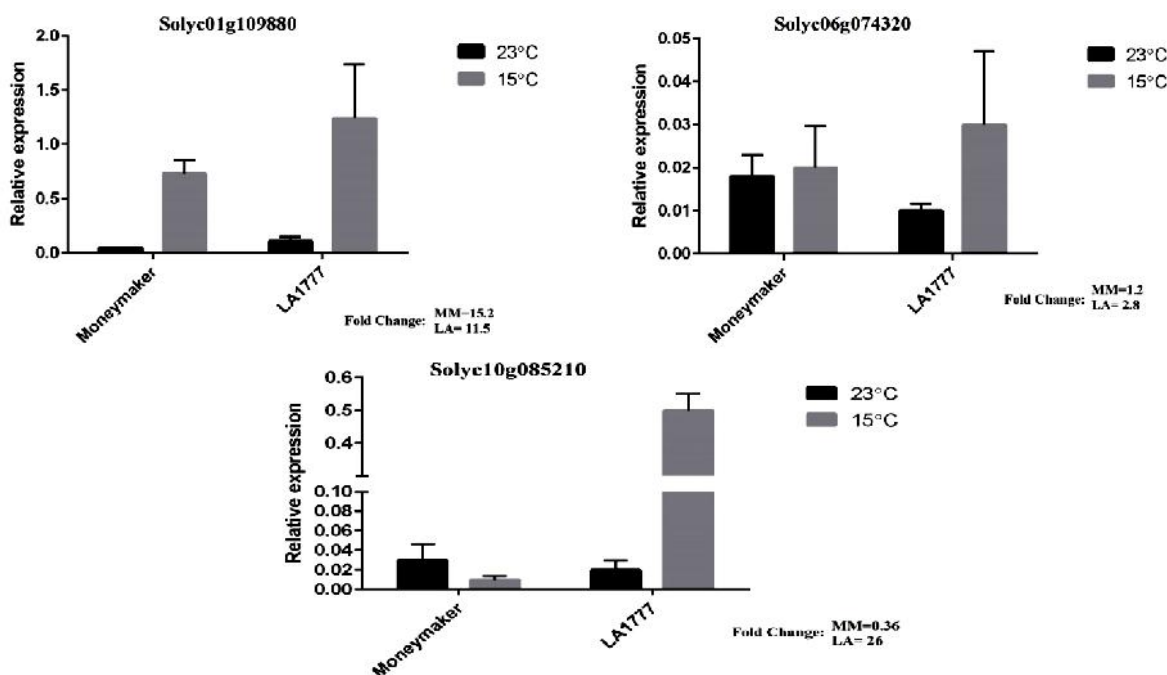
گروه	اعضای گروه	ژن اورتولوگ در آرابیدوپسیس	نوع دومین	طول توالی (aa)
A	Soly10g081350-Soly10g054010 Soly04g078840-Soly04g071510 Soly02g083520	AT3G56850, AT2G41070 AT5G42910, AT5G44080 AT2G17770, AT4G35900	bZIP- phosphorylation sites	217-447
B	Soly10g085210- Soly10g080780 Soly09g005610- Soly07g062380 Soly05g056410- Soly04g076970 Soly02g073570- Soly02g073580 Soly12g014300-Soly10g076920 Soly08g006870-Soly11g044560	AT3G58120, - -, AT5G06950 -, AT3G44460 -	DOG1	162-279
C	Soly01g108080 Soly06g074320-Soly11g068370 Soly01g008730-Soly11g064950 Soly10g080410-Soly05g009660 Soly10g080770-Soly10g078670 Soly04g054320-Soly04g011670 Soly04g072460- Soly12g056860 Soly04g082890	AT3G54620, - -	BTB, NPH3 and Putative phosphorylation sites.	339-615
D	Soly06g074320-Soly11g068370 Soly01g008730-Soly11g064950 Soly10g080410-Soly05g009660 Soly10g080770-Soly10g078670 Soly04g054320-Soly04g011670 Soly04g072460- Soly12g056860 Soly04g082890	AT1G22070, AT1G77920 AT3G12250, AT5G65210 AT5G06960, AT1G68640 -	bZIP superfamily and DOG1	324-501
E	Soly01g11580-Soly10g055550	AT1G42990 AT3G51960, AT2G16770	bZIP	270-304
F	Soly08g076100-Soly08g005290	AT1G32150, AT2G35530	MFMR and bZIP- phosphorylation sites	397-409
G	Soly02g083610 Soly04g054880 Soly09g007100	-	DUF630 and DUF632	637-764
H	Soly05g015820 -Soly08g005230 Soly08g082730	- , AT1G19490 AT2G13150 AT2G21235, -	DUF1664	296-359
I	Soly11g006490-Soly12g010800 Soly11g020950-Soly06g060490 Soly06g053350-Soly06g049040 Soly06g048630-Soly04g071160 Soly01g110480-Soly04g081190 Soly07g053450-Soly07g062710 Soly01g079480-Soly06g009640 Soly02g084860-Soly03g033730 Soly04g080740-Soly01g109880	- -, AT2G21230 -	bZIP, DUF904and DUF 972	227-582
S	Soly01g104650-Soly02g092090 Soly03g043900- Soly01g100460 Soly01g008980- Soly02g092620 Soly10g078290-Soly03g046440 Soly01g103880-Soly04g051060 Soly04g056510-Soly06g007940	AT2G40950, AT4G02640 -, AT2G21235	bZIP- phosphorylation sites	115-660
+	Soly10g044830	-	No CD	68-247

شرایط دمایی پایین مشاهده گردید (شکل ۲). توالی اسیدآمینه این ژن دارای دومین‌های bZIP و DOG1 است. ژن AT1G22070 که در تنش‌های زیستی القاء می‌شود با این ژن در یک کلاس (نام کلاس D) قرار داشت (شکل ۱).

ژن Solyc10g085210 الگو بیانی کاملاً متفاوت در هر دو ژنوتیپ تحت شرایط کاهش دما نشان داد. به طوری که با کاهش دما بیان این ژن در ژنوتیپ حساس کاهش و در ژنوتیپ مقاوم افزایش یافت در ژنوتیپ مقاوم ۲۶ برابر افزایش رونوشت و در ژنوتیپ حساس سه برابر کاهش بیان مشاهده شد (شکل ۲).

نتایج بیان ژن نشان داد که با کاهش دما میزان بیان ژن Solyc01g109880 در هر دو ژنوتیپ افزایش می‌یابد به طوری که تحت تنش دمایی پایین میزان رونوشت در ژنوتیپ حساس به سرما (MoneyMaker) ۱۵ برابر افزایش یافت (شکل ۲). ژن Solyc01g109880 یک پروتئین با ۱۷۳ اسیدآمینه را کد می‌کند که دارای دومین bZIP در قسمت آمین می‌باشد. این ژن از گروه I انتخاب شد و با ژن AT1G75390 همولوژی زیاد دارد.

بررسی الگو بیان برای ژن Solyc06g074320 مشخص نمود که تحت شرایط دمایی پایین تغییر معنی‌داری در بیان این ژن در هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌ها صورت نگرفت به طوری که در ژنوتیپ مقاوم ۲/۸ برابر افزایش بیان تحت



شکل ۲- میزان بیان نسبی سه ژن (Solyc06g074320, Solyc01g109880 و Solyc10g085210) در ژنوتیپ حساس به سرما (MoneyMaker) و مقاوم به سرما (LA1777) در سه تکرار مستقل که از ژن EF-1 برای نرمال کردن استفاده شد. تغییرات رونوشت‌ها در دمای ۱۵ با فرمول Ct محاسبه شد.

خانواده ژنی در گیاهان کلزا و آرابیدوپسیس صورت گرفته است (۱۲،۱۰). در این مطالعه ژن‌های SibZIP بر اساس عملکرد و تشابه توالی اسیدآمینه‌ای در گروه‌های مجزا قرار گرفتند. گروه‌بندی ژن‌ها می‌تواند درک ما را از عملکرد ژن‌ها افزایش دهد و به تفسیر اثرات متقابل بین ژن‌ها کمک کند (۱۱). بررسی بیان ژن‌ها برای نتایج گروه‌بندی باعث تأیید نتایج و درک بهتر از عملکرد گروه‌های تعیین شده می‌شود (۱۰). مطالعه گسترده

ژن Solyc10g085210 یک پروتئین به طول ۲۴۶ اسیدآمینه را کد می‌کند که دارای توالی حفاظت شده DOG در مرکز می‌باشد. نتایج فیلولوژی نشان داد که AT3G58120 با Solyc10g085210 همولوژی بالایی دارد. نتایج بیان ژن مشخص نمود که الگو بیان ژن‌ها bZIPs در ریشه گوجه فرنگی تحت شرایط کاهش دما، متفاوت است. با توجه اهمیت bZIPs در تنظیم بیان ژن‌ها تحت شرایط تنش، مطالعات زیادی روی عملکرد و کلاس‌بندی این

تحت تنش کاهش دما در ریشه‌های گیاه گوجه‌فرنگی القاء می‌شود. ژن‌های گروه D دارای دومین DOG و لوسین زیپ هستند. ژن‌های گروه I دارای دومین لوسین زیپ و مکان‌های فسفوریل شده است و الگوی بیان ژن مشابه در هر دو ژنوتیپ داشت در حالی که گروه B دارای دومین DOG بوده که بیان افتراقی را در هر دو ژنوتیپ نشان داد. نتایج بیان ژن تفاوت بین گروه‌ها را تأیید نمود و با مطالعه گسترده همه ژن‌های bZIP امکان درک کامل مکانیسم این خانواده بزرگ فراهم می‌شود. نتایج فوق می‌تواند در انتخاب ژن‌ها برای مطالعه تکمیلی مورد استفاده قرار گیرد.

پروپیل بیان ژن در برنج نشان داد که فعالیت ERF، bZIP و MYB از اولین پاسخ‌های دفاعی گیاه به تنش سرما می‌باشد که سبب القای تعدادی ژن توسط این عوامل می‌شوند (۱۸). نتایج مطالعات بیان bZIP (Solyc01g07480) تحت شرایط تنش دمای چهار درجه سانتی‌گراد در اندام هوایی گوجه‌فرنگی نشان داد که این ژن سریعاً به کاهش دما واکنش داده و افزایش بیان یافت (۳) و هم‌چنین پیشنهاد شد که bZIP در بالا دست عوامل رونویسی وابسته به Myb قرار دارند (۴). ژن‌های انتخاب شده از سه گروه با دومین‌های متفاوت نشان داد که گروه D نسبت به گروه‌های B و I کمتر

منابع

- Alves, M.S., S.P. Dadalto, A.B. Gonçalves and G.B. De Souza. 2013. Plant bZIP Transcription Factors Responsive to Pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 7815-7828.
- Bateman, A., P. Coghill and R.D. Finn. 2010. DUFs: families in search of function. *Acta Crystallographica. Section F, Structural Biology Communications*, 66: 1148-1152.
- Caffagni, A., N. Pecchioni, E. Francia, D. Pagani and J. Milc. 2014. Candidate gene expression profiling in two contrasting tomato cultivars under chilling stress. *Biologia Plantarum*, 58: 283-295.
- Cheng, C., K.Y. Yun, H. Resson, B. Mohanty, V.B. Bajic, Y. Jia, S.J. Yun and B.G. De los Reyes. 2007. An early response regulatory cluster induced by low temperature and hydrogen peroxide in seedlings of chilling-tolerant japonica rice. *BMC Genomics*, 8: 175 pp.
- Chomczynski, P. and N. Sacchi. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry*, 162: 156-159.
- De Freitas, S.T., A.K. Handa, Q. Wu, S. Park and E.J. Mitcham. 2012. Role of pectin methylesterases in cellular calcium distribution and blossom rot development in tomato fruit. *The Plant Journal*, 71: 824-835.
- Feng, H.L., N.N. Ma, X. Meng, S. Zhang, J.R. Wang, S. Chai and Q.W. Meng. 2013. A novel tomato MYC-type ICE1-like transcription factor, SlICE1a, confers cold, osmotic and salt tolerance in transgenic tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73: 309-320.
- Gingerich, D.J., K. Hanada, S. Shiu and R.D. Vierstra. 2007. Large-Scale, Lineage-Specific Expansion of a Bric-a-Brac/Tramtrack/Broad Complex Ubiquitin-Ligase Gene Family in Rice. *Plant Cell*, 19: 2329-2348.
- Gupta, S., X. Shi, I.E. Lindquist, N. Devitt, J. Mudge and A.M. Rashotte. 2013. Transcriptome profiling of cytokinin and auxin regulation in tomato root. *Journal of Experimental Botany*, 64: 695-704.
- Hwang, I., H.J. Jung, J.I. Park, T.J. Yang and I.S. Nou. 2014. Transcriptome analysis of newly classified bZIP transcription factors of Brassica rapa in cold stress response. *Genomics*, 104: 194-202.
- Jakoby, M., B. Weisshaar, W. Droge-Laser, J. Vicente-Carbajosa, J. Tiedemann, T. Kroj and F. Parcy. 2002. bZIP transcription factors in Arabidopsis. *Trends in Plant Science*, 7: 106-111.
- Kang, S.G., J. Price, P.C. Lin, J.C. Hong and J.C. Jang. 2010. The Arabidopsis bZIP1 transcription factor is involved in sugar signalling, protein networking and DNA binding. *Molecular Plant*, 3: 361-373.
- Liu, H., B. Ouyang, J. Zhang, T. Wang, H. Li, Z. Yuyang, Y. Chuying and Y. Zhibiao. 2012. Differential Modulation of Photosynthesis, Signalling and Transcriptional Regulation between Tolerant and Sensitive Tomato Genotypes under Cold Stress. *PLoS ONE*, 7: e50785.
- Livak, K.J. and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Method. *METHODS*, 25: 402-408.
- Pattison, R.J. and C. Catalá. 2012. Evaluating auxin distribution in tomato (*Solanum lycopersicum*) through an analysis of the PIN and AUX/LAX gene families. *The Plant Journal*, 70: 585-598.
- Robert, H.S. and J. Friml. 2009. Auxin and other signals on the move in plants. *Nature chemical biology*, 5: 325-332.
- Siberil, Y., P. Doireau and P. Gantet. 2001. Plant bZIP G-box binding factors. Modular structure and activation mechanisms. *European Journal Biochemistry*, 268: 5655-5666.
- Yun, K.Y., M.R. Park, B. Mohanty, V. Herath, F. Xu, R. Mauleon, E. Wijaya, V.B. Bajic, R. Bruskiwich and B. De los Reyes. 2010. Transcriptional regulatory network triggered by oxidative signals configures the early response mechanisms of japonica rice to chilling stress. *BMC Plant Biology*, 10: 16 pp.
- Zhou, J.M., Y. Trifa, H. Silva, D. Pontier, E. Lam, J. Shah and D.F. Klessig. 2000. NPR1 differentially interacts with members of the TGA/OBF family of transcription factors that bind an element of the *PR-I* gene required for induction by salicylic acid. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 13: 191-202.

Classification and Gene Expression Analysis of bZIP Family in Tomato Root under Sub-Optimal Temperature

Parviz Heidari¹ and Hamid Najafi Zarrini²

1- Assistant Professor, Shahrood University of Technology (Corresponding author: parvizh63@gmail.com)

2- Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Received: January 5, 2015

Accepted: February 24, 2015

Abstract

Transcription factors (TFs) are master regulators that control gene clusters. Plant bZIP (basic region/leucine zipper) transcription factors play crucial roles in biological processes. The Tomato genome sequence contains 73 genes of bZIP transcription factors. The bZIPs in tomato have never been classified. In this study, 73 genes of bZIP transcription factors were classified in 11 groups by their DNA-binding domains, conserved motifs and phylogeny results. Some bZIP proteins were not classified into any group. The cold-sensitive tomato cultivar (*S. lycopersicon* cv. Moneymaker) and cold-tolerant of the wild tomato species (*S. habrochaites*, LA1777) were compared for analyzing gene expression of three slbZIP genes (Soly06g074320, Soly01g109880 and Soly10g085210) in root under sub-optimal temperature (15°C) and normal temperature (23°C). Our results show that Soly06g074320 gene was induced less than Soly01g109880 and Soly10g085210 genes under sub-optimal temperature in tomato root. The results of this work will be for understanding bZIP relationships and important starting point for functional analysis.

Keywords: Classification, Gene expression, Low temperature, Tomato, Transcription factor