

پروفایل ترانسکریپتوم نوک شاخه و ریشه گیاه سویا

سعید میرزایی

کرمان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشگاه علوم، تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه بیوتکنولوژی

تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۲۰

چکیده

در گیاهان مریستم‌های انتهایی شاخه و ریشه، نواحی دارای سلول‌های بنیادی هستند. مریستم نوک شاخه سلول‌های مورد نیاز برای توسعه ساختارهای هوایی گیاه مانند برگها، گلها، شاخه‌ها و فواصل بین Node ها را تأمین می‌کند و مریستم نوک ریشه مسئول ایجاد اندام‌های زیر زمینی گیاه می‌باشد. علاوه بر این ریشه از اجزای اصلی تغذیه و استفاده از آب در گیاه می‌باشد. بنابراین رشد و توسعه گیاه وابسته به عمل نواحی مریستمی در ریشه و شاخه می‌باشد. در این مطالعه ترانسکریپتوم نوک شاخه و ریشه گیاه سویا مورد بررسی قرار گرفت تا ژن‌هایی که در هر یک از این نواحی بیان بالاتری را دارند و احتمالاً نقش اساسی در این نواحی دارند شناسایی شوند. به این منظور داده‌های حاصل از RNA-seq به وسیله نرم افزار CLC Genomic workbench مورد آنالیز واقع شدند. نتایج نشان داد ۱۹۵۶ ژن به طور اختصاصی در نوک شاخه و ۱۷۲۵ ژن به طور اختصاصی در نوک ریشه بیان می‌شوند. علاوه بر این در نوک شاخه در مقایسه با نوک ریشه ۳۷۵۰ ژن دارای یک افزایش دو یا بیش از دو برابر و ۳۷۱۰ ژن از ژن‌های با کاهش بیان، کاهش بیانی در حد دو و یا بیش از دو را در نوک شاخه داشتند. آنالیز عملکردی ژن متمایز بیان شده نشان داد که این ژنها در فعالیتهای کاتالیتیک، رونویسی، سیگنالینگ و تنظیم کننده آنزیمی نقش دارند.

واژه‌های کلیدی: ترانسکریپتوم، نوک شاخه، نوک ریشه، سویا و RNA-seq

نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۴۳۳۷۷۶۶۱۳، پست الکترونیکی: mirzaei56@gmail.com

مقدمه

می‌باشد (۵). این ناحیه معادل مریستم انتهایی شاخه در ریشه است و مسئول ایجاد اندام‌های زیر زمینی گیاه می‌باشد. بنابراین رشد و توسعه ریشه وابسته به عمل مریستم ریشه می‌باشد (۵). لذا مطالعه دقیق مریستم‌های نوک شاخه و ریشه چه از نظر ساختار و چه از نظر عوامل مؤثر ژنتیکی و غیر ژنتیکی می‌تواند نقش مهمی در درک هر چه بهتر رشد و توسعه گیاهان ایفاء کند و این می‌تواند در بهبود گیاهان برای مصارف و کاربردهای خاص در کشاورزی به کار گرفته شود.

سویا با نام علمی *Glycine max* (L.) Merrill و از خانواده لگوم‌ها (Leguminosae) می‌باشد که دارای $2n=40$ کروموزوم است (۶). لگوم‌ها در حقیقت سومین خانواده

در گیاهان عالی مریستم انتهایی شاخه، ناحیه دارای سلول‌های بنیادی در سطح خاک می‌باشد (۹) که در برگیرنده سلول‌های تجدید شونده پلوری‌پوتنت (Pluripotent) در ناحیه مرکزی و سلول‌های دختری در حاشیه است (۴۰). این ناحیه سلول‌های مورد نیاز برای توسعه ساختارهای هوایی گیاه مانند برگها، گلها، شاخه‌ها و فواصل بین Node ها را تأمین می‌کند (۳۲). دو فعالیت متفاوت، جایگزینی جمعیت سلول‌های بنیادی و به کارگیری این سلولها در اندام‌های جانبی در مریستم انتهایی شاخه بایستی در تعادل باشد. بنابراین مریستم انتهایی شاخه نقش اساسی در رشد اندام هوایی و اندام‌زایی گیاه دارد (۱) و (۳۹). مریستم انتهایی ریشه نیز ناحیه‌ای در ریشه‌های در حال رشد می‌باشد که دارای سلول‌های مریستمی (بنیادی)

گذشت ۴۸ ساعت از زمان انتقال آنها به انکوباتور جمع‌آوری گردید. برای گرفتن نمونه‌ها از یک اسکالپل استریل استفاده گردید. به این صورت که برای نوک ریشه حدود ۲ میلی متر از انتهای ریشه جدا گردید و بلافاصله به ازت مایع منتقل شد. برای نمونه برداری از نوک شاخه ابتدا دو نیمه بذر (کوتیلدون‌ها) از هم جدا شد و بعد به کمک یک استریو میکروسکوپ و با استفاده از اسکالپل در حدود یک میلی متر از نوک شاخه جدا و سریعاً وارد ازت مایع گردید و در نهایت تا زمان انجام آزمایش بیان ژن به فریزر ۸۰- منتقل گردیدند.

استخراج RNA: RNA: کل از نوک ریشه و شاخه تهیه شده با استفاده از ترايزول (TRIZOL; Invitrogen) بر اساس روش ارائه شده از سوی کمپانی استخراج گردید. به طور خلاصه ابتدا بافت گیاهی در یک هاون در مجاورت با ازت مایع پودر گردید و بعد از انتقال به یک لوله یک و نیم میلی لیتری، یک میلی لیتر محلول ترايزول به آن اضافه و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به نمونه‌ها اضافه شد و بعد از سه دقیقه نگهداری در دمای اتاق، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه با سرعت ۱۲۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد فاز مایع رویی که حاوی RNA است به یک لوله جدید منتقل و ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول به آن اضافه گردید و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری گردیدند. سپس نمونه‌ها در دمای چهار درجه به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند. سپس فاز رویی حذف و پلت RNA با اتانول ۷۵ درصد شستشو گردید و در آخر پلت RNA خشک گردید و در ۴۰ میکرولیتر آب بدون RNase حل گردید.

ستز cDNA: برای حذف آلودگی DNA احتمالی، نمونه‌ها به وسیله آنزیم DNaseI تهیه شده از کمپانی فرمنتاز (Fermentase; Lithuania) تیمار شدند. تقریباً حدود یک میکروگرم از RNA با یک واحد از DNaseI در دمای ۳۷

بزرگ گیاهی از گیاهان گلدار، بعد از Orchidaceae و Asteraceae می‌باشند و گیاهانی با جثه‌های گوناگون از بسیار کوچک تا درختانی بزرگ را در خود جای داده است (۱۱ و ۳۸). چندین گونه از گیاهان این خانواده به وسیله بشر اهلی شده‌اند. در این میان سویا (*Glycine max*)، نخود (*Pisum sativum*)، لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) و یونجه (*Medicago sativa*) مهم‌ترین گیاهان متعلق به این خانواده می‌باشند که بعد از گرامینه (غلاتی) مانند گندم، برنج و ذرت) در جایگاه دوم تأمین غذا و علوفه جهان قرار دارند. یک سوم پروتئین‌های رژیم غذایی و یک سوم روغن‌های گیاهی فرآوری شده برای مصرف انسان، به وسیله لگوم‌ها تولید می‌شود. لگوم‌ها همچنین، به عنوان گیاهان علوفه‌ای (یونجه و شبدر) دارای اهمیت می‌باشند (۱۲، ۱۴ و ۱۷). علاوه بر این روغنی که از بذرهای لگومی مانند *Pongamia pinnata* و سویا به دست می‌آید می‌تواند برای تولید سوخت زیستی (Biofuel) استفاده شوند و جایگزینی سبز برای سوخت‌های فسیلی باشند (۳۴).

لذا با توجه به اهمیت ویژه سویا در تغذیه انسان و دام در این مطالعه سعی بر آن است تا با مطالعه ترانسکریپتوم نوک شاخه و ریشه سویا، ژنهایی که در این نواحی بیان متمایزی را دارند شناسایی شوند تا درک بهتری از ژنهای مؤثر در این نواحی به دست آید.

مواد و روشها

رشد گیاه: بذور سویا رقم فارست (Forrest) در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا بذور به وسیله الکل ۷۰ درصد به صورت سطحی ضدعفونی شدند و سپس چندین بار به وسیله آب مقطر استریل شستشو داده شدند. در مرحله بعد بذرها بین دو کاغذ صافی درون پتری دیش قرار گرفتند و به درون انکوباتور تاریک با دمای ۲۵ درجه منتقل شدند.

نمونه برداری: نوک شاخه و ریشه بذور جوانه زده بعد از

شد. در نهایت نمونه‌های cDNA با استفاده از پرایمر های GmCons6 (۲۵) با انجام PCR تأیید شدند.

Quantitative Real Time PCR (qRT-PCR): توالی

DNA ژن مورد نظر برای طراحی پرایمر از بانک ژنومی سویا (Phytozome; <http://www.phytozome.net>) گرفته شد. به منظور طراحی پرایمر برای qRT-PCR از برنامه طراحی پرایمر اینترنتی، پرایمر ۳ (قابل دسترسی در: <http://frodo.wi.mit.edu>) استفاده شد. توالی های پیشرو و پسرو پرایمر های استفاده شده در جدول ۱ آورده شده است.

درجه به مدت ۴۰ دقیقه تیمار شد. به منظور غیر فعال سازی واکنش فوق یک میکرولیتر از EDTA ۵۰ میلی مولار به نمونه ها اضافه و در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شدند. برای تبدیل RNA به cDNA یک واکنش ۲۰ میکرولیتری آماده گردید. واکنش تبدیل که شامل: ۵ میکرولیتر RNA که آلودگی DNA آن حذف شده بود، ۷ میکرولیتر آب استریل بدون RNase، یک میکرولیتر الیگو تی (Oligo(T))، یک میکرولیتر dNTP، ۴ میکرولیتر بافر رشته اول، یک میکرولیتر RNase block و یک میکرولیتر آنزیم Reverse transcriptase بود، در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ دقیقه انجام

جدول ۱ - اسامی و مشخصات پرایمرهای استفاده شده در مطالعه

| نام ژن | پرایمر پیشرو 5'-3' | پرایمر پسرو 5'-3' |
|---------------|--------------------------|------------------------|
| Glyma06g20400 | GGATACAACACTGACACGGCTC | AGTGACTGGATCGGTTTCCACA |
| Glyma18g0956 | GCTTGAAGGTTGGATTGGAAGTAG | GCAAGGTTTCAGCTCCCAAC |

(قابلیت) RNA-seq نرم افزار مذکور با شرایط حداقل اندازه قطعه ۰/۹ و حداقل تشابه قطعه ۰/۸ انجام شد. فراوانی نسبی ترانسکرپت ها به صورت تعداد قطعه در کیلوباز اکزون بر میلیون قطعه جایابی شده (Read Per Kilobase of exon model per Million mapped reads (RPKM)) به دست آمد.

ژنهای متمایز بیان شده با مقایسه سطح بیان ژنها بین نمونه ریشه و ساقه و با استفاده از آزمایش Kal (۲۲) شناسایی شدند. ژنهایی که بیش از دو برابر افزایش یا کاهش بیان داشتند و ارزش p آزمایش Kal کمتر از ۰/۰۵ بود به عنوان ژنهای با بیان متمایز تعیین گردیدند. تجزیه و تحلیل عملکردی (Functional analysis) ژنهای متمایز بیان شده با استفاده از نرم افزار Blast2GO انجام پذیرفت. به این منظور ابتدا آنتولوژی ژن (Gene Ontology) برای فهرست ژنهای با بیان متمایز استخراج گردید و سپس در نرم افزار مذکور وارد گردیده و گروه بندی عملکردی ژنها ترسیم گردید (۱۰).

نتایج

برای تعیین فراوانی ترانسکرپت‌های (Transcripts) ژنهای مورد نظر از رنگ سایبر گرین (SYBR Green; Invitrogen) و دستگاه ترمو سایکلر Corbett استفاده گردید. آزمایش شامل سه تکرار بیولوژیک و دو تکرار تکنیکی برای هر یک و کنترل منفی بود. برنامه PCR به این صورت بود: جداسازی اولیه در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه؛ ۴۵ سیکل شامل: ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و در ادامه یک مرحله dissociation برای تعیین اختصاصی بودن PCR انجام شد. سطح بیان ژنها نسبت به سطح بیان ژن GmCons6 (۲۵) نرمال سازی گردید.

بیوانفورماتیک و آنالیز داده های توالی یابی: قطعات توالی یابی شده (Reads) ترانسکرپتوم نوک شاخه و ریشه از دانشگاه کوئینزلند استرالیا تهیه گردید. کیفیت قطعات توالی یابی شده با استفاده از نرم افزار Fastx tool kit تعیین گردید. قطعات توالی یابی شده شاخه و ریشه با استفاده از نرم افزار CLC Genomics Workbench بر روی ژنوم سویا جایابی (Map) شدند. عمل جایابی با استفاده از عمل

(of exon model per Million mapped reads; RPKM اندازه‌گیری شد (۲۹). در مقایسه نوک شاخه با نوک ریشه و با در نظر گرفتن اینکه حداقل یک قطعه بر روی ژن جایابی شده باشد، مشخص شد که ۱۹۵۶ ژن به طور اختصاصی در نوک شاخه و ۱۷۲۵ ژن به طور اختصاصی در نوک ریشه بیان می‌شوند. با در نظر گرفتن شرایط سخت‌تر (حداقل تعداد قطعه برای هر ژن ۱۰۰ در نظر گرفته شود) تعداد ژنهایی که به طور اختصاصی در شاخه بیان می‌شوند به ۸۳ ژن و ژنهای اختصاصی ریشه به ۹۳ ژن کاهش می‌یابند. اسامی ۱۰ ژن از ژنهای اختصاصی شاخه و ریشه که بیشترین تعداد قطعه را به خود اختصاص داده بودند در جدول‌های ۲ و ۳ آورده شده است. شایان ذکر است که لیست کامل ژن‌ها در یک گزارش تحقیقاتی ارائه گردیده است (۲). مقایسه بیان ژن‌ها در نوک شاخه و ریشه گیاه سویا نیز نشان داد که حدود ۹۷۱۳ ژن در نوک شاخه در مقایسه با نوک ریشه بیان متمایزی (تست کال؛ $p < 0.05$) را داشتند.

جایابی قطعات توالی یابی شده بر روی ژنوم: برای درک اینکه نحوه بیان ژن‌ها در نوک شاخه و ریشه سویا (نواحی در بر گیرنده مریستم‌های انتهایی گیاه) چگونه است و چه ژنهایی بیان بیشتری در این نواحی دارند پروفایل ترانسکرپتی نوک شاخه و ریشه گیاه سویا با هم مقایسه گردید. سنجش کیفیت قطعات توالی یابی شده با استفاده از نرم افزار FastX tool kit نشان داد که قطعات توالی یابی شده از کیفیت بالایی (Phred score بیش از ۳۳) برخوردار هستند. لذا جایابی کل قطعات بر روی ژنوم انجام شد. از مجموع ۳۹۲۸۴۶۱۰ قطعه توالی یابی شده در نوک شاخه، ۳۴۰۶۳۸۰۹ قطعه به طور اختصاصی بر روی ژنوم سویا جایابی شدند و ۵۲۲۰۸۰۱ قطعه بر روی ژنوم جایابی نشدند و یا به طور غیر اختصاصی جایابی شدند. در نوک ریشه از مجموع ۳۴۱۶۹۳۴۵ قطعه توالی یابی شده، ۲۸۹۹۹۵۷۸ قطعه به طور اختصاصی بر روی ژنوم جایابی گردیدند و بقیه قطعات (۵۱۶۹۷۶۸) بر روی ژنوم جایابی نشدند و یا به طور اختصاصی جایابی نشدند.

ترانسکرپتوم نوک شاخه و ریشه سویا: بیان ژن‌ها در آنالیز داده‌های توالی یابی RNA به صورت "قطعه در کیلوباز اگزون بر میلیون قطعه جایابی شده (Read per Kilobase)

جدول ۲- اسامی ۱۰ ژن اختصاصی شاخه با بیشترین تعداد قطعه جایابی شده

| کد ژن | تعداد قطعات | بهترین معادل کارکرد ژن بر اساس آرآبیدوپسیس |
|------------------|-------------|--|
| ۱ Glyma12g08270 | ۱۱۰۲ | BEL1-like homeodomain 8 |
| ۲ Glyma02g43760 | ۸۹۴ | KNOX/ELK homeobox transcription factor |
| ۳ Glyma20g04240 | ۸۲۸ | myb domain protein 106 |
| ۴ Glyma07g35560 | ۷۹۳ | myb domain protein 16 |
| ۵ Glyma04g05210 | ۷۸۸ | KNOTTED-like from Arabidopsis thaliana |
| ۶ Glyma19g34410 | ۷۰۱ | photosystem II reaction center W |
| ۷ Glyma05g07800 | ۶۸۱ | RNI-like superfamily protein |
| ۸ Glyma09g34190 | ۶۷۶ | Ankyrin repeat family protein |
| ۹ Glyma17g12200 | ۶۶۸ | plant-specific transcription factor YABBY family protein |
| ۱۰ Glyma08g09380 | ۶۲۵ | F-box family protein |

جدول ۳- اسامی ۱۰ ژن اختصاصی ریشه با بیشترین تعداد قطعه جایابی شده

| کد ژن | تعداد قطعات | بهترین معادل کارکرد ژن بر اساس آرآی‌دی‌ویسیس |
|------------------|-------------|---|
| ۱ Glyma07g04320 | ۱۹۱۱ | germin 3 |
| ۲ Glyma14g03300 | ۷۸۱ | sucrose phosphate synthase 3F |
| ۳ Glyma16g33000 | ۶۷۸ | Protein of unknown function (DUF1442) |
| ۴ Glyma19g01120 | ۶۰۹ | Oxidoreductase, zinc-binding dehydrogenase family protein |
| ۵ Glyma04g08300 | ۵۱۲ | calmodulin like 43 |
| ۶ Glyma09g12330 | ۵۱۲ | PLATZ transcription factor family protein |
| ۷ Glyma12g00540 | ۵۰۳ | NAC domain containing protein 70 |
| ۸ Glyma18g52680 | ۴۸۹ | Uncharacterised protein family (UPF0497) |
| ۹ Glyma11g20460 | ۴۷۶ | glycosyltransferase family protein 2 |
| ۱۰ Glyma07g17170 | ۴۷۲ | Laccase/Diphenol oxidase family protein |

از این تعداد ۱۱۰۳ ژن کاهش بیان و ۹۸۰ ژن افزایش بیان را نشان دادند. با احتساب تفاوت سطح بیان معنی دار در حد ۱۰۰ برابر افزایش یا کاهش در نوک شاخه مشاهده شد که حدود ۴۵۲ ژن دارای این افزایش و کاهش بیان بودند. از این ۴۵۲ ژن ۲۰۰ ژن افزایش بیان و ۲۵۲ ژن کاهش بیان در نوک شاخه در مقایسه با نوک ریشه نشان دادند (جدول ۴). در نوک شاخه این افزایش بیان به بیش از ۲۰۰۰ برابر برای ژن *Glyma18g09560* و کاهش بیان به بیش از ۳۵۰۰ برابر برای ژن *Glyma20g04830* می‌رسید.

آنالیز تجزیه و تحلیل عملکردی ژنهای متمایز بیان شده نشان داد که این ژنهای متمایز بیان شده بیشترین نقش را به ترتیب در فعالیتهای بیولوژیک: کاتالیتیک، فعالیت متصل شونده (binding)، فعالیت آنتی اکسیدانی، فعالیت فاکتور نسخه برداری، فعالیت انتقال دهنده (transporter activity)، فعالیت تنظیم کننده آنزیمی، فعالیت مبدل مولکولی (molecular transducer activity)، فعالیت ذخیره غذایی (nutrient reservoir activity) و فعالیت انتقال دهنده الکترون دارند (شکل ۱).

تأیید بیان بعضی از ژنها که به طور متمایزی در شاخه بیان شدند: برای تأیید بیان ژنها، دو ژن از ژنهایی که بیان

بسیاری از این ژنها (۴۹۶۷؛ حدود ۵۱ درصد ژنهای متمایز بیان شده) افزایش بیان معنی دار و حدود ۴۷۴۶ ژن (حدود ۴۹ درصد از ژنهای متمایز بیان شده) کاهش بیان معنی داری در نوک شاخه در مقایسه با نوک ریشه داشتند. از ژنهایی که افزایش بیان نشان دادند، ۳۷۵۰ ژن (۷۵/۵ درصد) دارای یک افزایش دو یا بیش از دو برابر بودند و ۳۷۱۰ ژن از ژنهای با کاهش بیان (حدود ۷۸ درصد) کاهش بیانی در حد دو یا بیشتر از دو را در نوک شاخه داشتند.

ژنهایی با بیان بسیار بالا در نوک شاخه یا ریشه: علاوه بر ژنهایی که کاملاً به طور اختصاصی در نوک شاخه و نوک ریشه بیان می‌شوند، همان طور که در بالا گفته شد ژنهای فراوان دیگری هستند که از نظر میزان بیان در این دو ناحیه بسیار متفاوت هستند. برای تعیین ژنهایی که با دامنه اختصاصی بیشتری در نوک شاخه یا ریشه بیان می‌شوند می‌توان تفاوت سطح بیان (fold change) معنی دار را بالاتر، مانند ۱۰ یا حتی ۱۰۰ برابر در نظر گرفت. با در نظر گرفتن ۱۰ برابری تفاوت سطح بیان در این دو ناحیه مشاهده شد که ۲۰۸۳ ژن افزایش یا کاهش بیان معنی دار ۱۰ برابری در نوک شاخه در مقایسه با نوک ریشه داشتند.

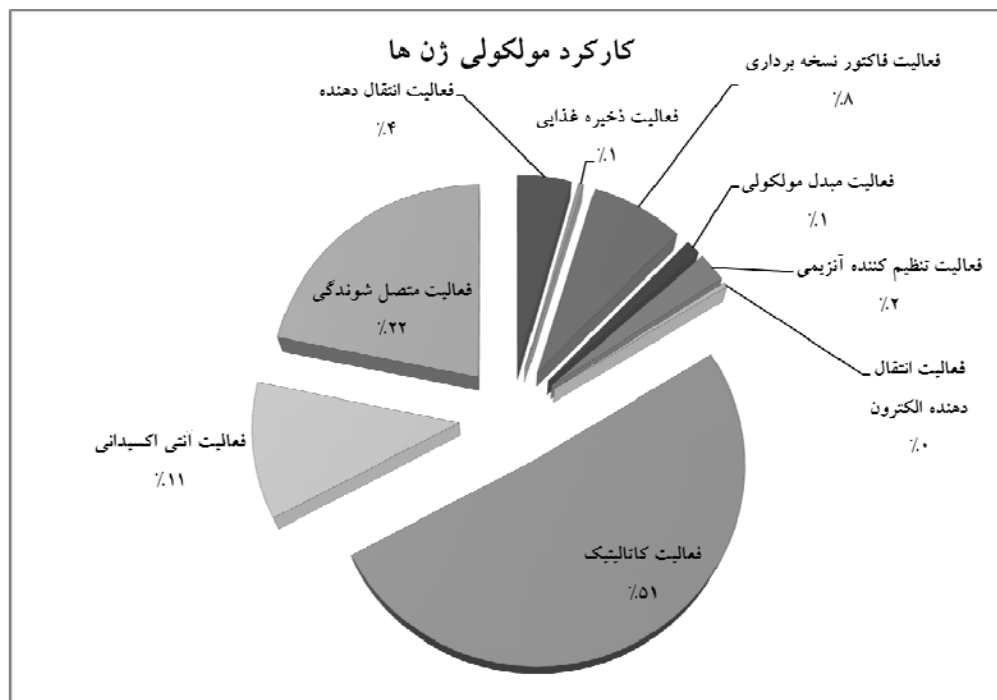
تمایزی در نوک شاخه و ریشه داشتند انتخاب گردیدند. مورد استفاده قرار گرفت. (جدول ۵). qRT-PCR برای تأیید بیان ژنهای انتخاب شده

جدول ۴- یک لیست انتخابی از ژنهایی با بیشترین افزایش و کاهش بیان در نوک شاخه. ردیفهای به رنگ خاکستری بیانگر ژنهای با کاهش بیان در شاخه می باشد.

| کد ژن | بهترین معادل برای کارکرد ژن بر اساس آراییدوپسیس | نسبت افزایش یا کاهش بیان | مقدار احتمال |
|-------|--|--------------------------|--------------|
| ۱ | Glyma18g09560 UDP-Glycosyltransferase superfamily protein | ۲۰۶۶/۲ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۲ | Glyma17g05760 germin 3 | ۱۹۹۰/۹ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۳ | Glyma17g14710 Plant-specific transcription factor YABBY family protein | ۱۷۹۴/۲ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۴ | Glyma09g31640 alpha/beta-Hydrolases superfamily protein | ۱۶۰۷/۳ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۵ | Glyma05g04260 Plant-specific transcription factor YABBY family protein | ۱۳۸۹/۱ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۶ | Glyma17g34810 homeobox gene 1 | ۱۱۷۷/۴ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۷ | Glyma07g01740 HAD superfamily, subfamily IIIB acid phosphatase | ۱۰۲۰/۹ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۸ | Glyma19g37890 PEBP (phosphatidylethanolamine-binding protein) family protein | ۸۱۱/۸ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۹ | Glyma03g32820 | ۸۰۱/۲ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۱۰ | Glyma10g39720 Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein | ۷۸۳/۹ | ۰/۰۰۳ |
| ۱۱ | Glyma20g04830 Ribonuclease T2 family protein | -۳۵۹۴/۵ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۱۲ | Glyma06g20400 BANQUO 3 | -۲۲۹۴/۳ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۱۳ | Glyma03g02760 | -۱۶۵۲/۷ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۱۴ | Glyma11g20710 Late embryogenesis abundant (LEA) protein-related | -۱۵۸۶/۸ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۱۵ | Glyma18g02200 Pollen Ole e 1 allergen and extensin family protein | -۱۲۵۴/۲ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۱۶ | Glyma12g07350 Late embryogenesis abundant (LEA) protein-related | -۱۲۲۱/۵ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۱۷ | Glyma08g04040 | -۱۲۱۳/۱ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۱۸ | Glyma18g06220 Peroxidase superfamily protein | -۱۰۸۴/۹ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۱۹ | Glyma10g02090 Pollen Ole e 1 allergen and extensin family protein | -۱۰۷۷/۶ | <۰/۰۰۰۰۱ |
| ۲۰ | Glyma11g03130 Predicted AT-hook DNA-binding family protein | -۱۰۵۳/۴ | <۰/۰۰۰۰۱ |

جدول ۵- میزان بیان ژنهای انتخاب شده برای آزمایش qRT-PCR.

| تغییرات بیان | مشخصات | کد ژن |
|--------------|---|---------------|
| -۲۲۹۴ | BANQUO 3 | Glyma06g20400 |
| ۲۰۶۶ | UDP-Glycosyltransferase superfamily protein | Glyma18g09560 |



شکل ۱- کارکرد مولکولی ژنهای متمایز بیان شده با استفاده از نرم افزار Blast2GO

کاتالیتیک، نسخه برداری، سیگنالینگ، پاسخ سلولی در نوک شاخه و ریشه سویا فعال هستند. برای مثال نتایج حاصل از qRT-PCR تأیید کرد که ژن *Glyma18g09560* که متعلق به خانواده گلیکوزیل ترانسفرازها می باشد در نوک شاخه سویا در مقایسه با ریشه به میزان بالاتری و ژن *Glyma06g20400* (*BANQUO3*) متعلق به خانواده BHLH (helix-loop-helix) تنظیم کننده های رونویسی (۲۸) به میزان کمتری بیان می شوند. علاوه بر این ژن *Glyma17g14710*، مسئول یک فاکتور رونویسی متعلق به خانواده YABBY، ژن *Glyma14g05150* فاکتور رونویسی KNOX/ELK homeobox و ژن *Glyma02g04710* فاکتور رونویسی متعلق به خانواده MADS-box بیان بالاتری در نوک شاخه در مقایسه با نوک ریشه داشتند. ژن *Glyma19g39340* که یک فاکتور پاسخ دهنده به اکسین می باشد نیز در نوک شاخه بیان بالاتری را داشت.

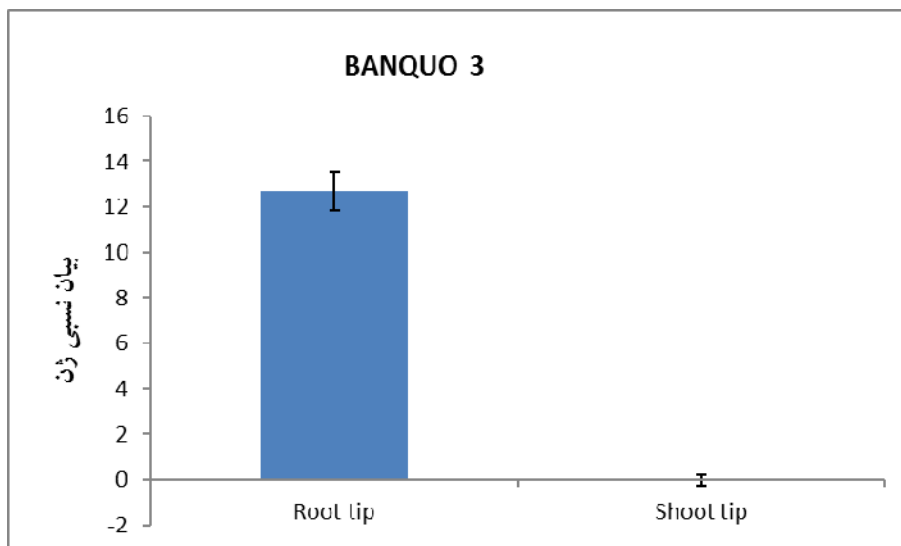
گلیکوزیل ترانسفرازها مسئول انتقال گلیکوزیل از یک دهنده فعال به یک مولکول گیرنده هستند و یک باند گلیکوزیک را ایجاد می کنند. گلیکوزیل ترانسفرازها در

نتایج نشان داد که بیان ژنهای انتخاب شده سازگار با نتایج RNA-seq بود (شکل های ۲ و ۳). همان طور که در شکل دیده می شود بیان ژن *Glyma06g20400* (*BANQUO 3*) که در نوک شاخه بیان کمتری داشت در نتایج حاصل از qRT-PCR نیز به شدت در ریشه بیان می شود در حالی که بیان ناچیزی در نوک شاخه دارد (شکل ۲). ژن *Glyma18g09560* (UDP-Glycosyltransferase) (superfamily protein) که در شاخه بالایی داشت نیز به طور مشابهی در نوک شاخه به شدت بیان می شود در حالی که در ریشه بیان چندانی ندارد (شکل ۳).

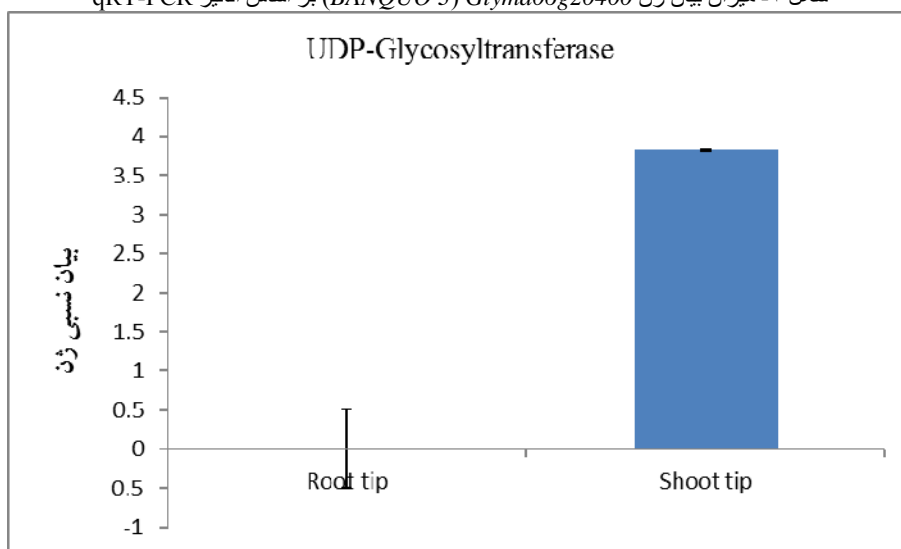
بحث

تکنیک RNA-seq یک روش جدید برای مطالعات بیان ژن می باشد که افق جدیدی را برای محققین باز کرده است. در این مطالعه بررسی داده های حاصل از این تکنیک بر روی نوک شاخه و نوک ریشه سویا اطلاعات جامعی از نوع و تعداد و میزان ژنهای بیان شده در این نواحی فراهم کرد. نتایج نشان داد که ژنهای درگیر در فرآیندهای

تمامی ارگانسم‌های زنده یافت می‌شوند. تعداد بسیاری از این گلیکوزیل ترانسفرازها داری موتیف خاصی هستند که این گروه به UDP گلیکوزیل ترانسفرازها معروف هستند.



شکل ۲- میزان بیان ژن *Glyma06g20400* (*BANQUO 3*) بر اساس آنالیز qRT-PCR



شکل ۳- میزان بیان ژن *Glyma18g09560* (UDP-Glycosyltransferase superfamily protein) بر اساس آنالیز qRT-PCR

در نتیجه این وقایع گلیکوزیله شدن از طریق تنظیم سطح، فعالیت و محل متابولیت‌های کلیدی سلول باعث یک پایداری نسبی سلولی می‌شود. افزایش بیان گلیکوزیل ترانسفرازها در نوک شاخه بیانگر این است که آنها به احتمال زیاد با تغییر خصوصیات آگلیکون‌ها در فرآیند‌های تمایزی بخش هوایی نقش دارند (۲۴).

فاکتورهای رونویسی به توالی DNA متصل می‌شوند و بیان ژن را در گیاهان و حیوانات تنظیم می‌کنند (۳۵).

UDP گلیکوزیل ترانسفرازها گیاهی در یک دامنه‌ای از فعالیتها درگیر هستند و در بسیاری از آنها از UDP-glucose در واکنش انتقال استفاده می‌شود. این واکنش چندین نتیجه مهم دارد: ۱- ترکیبات ممکن است در نتیجه اتصال گلوکز فعال یا غیر فعال شوند. برای مثال بسیاری از هورمون‌ها در نتیجه گلیکوزیله شدن غیر فعال می‌شوند (۲- گلیکوزیله شدن با افزایش خصوصیات هیدروفیلیک باعث تغییر حلالیت ترکیبات می‌شوند (۲۴).

شکل گرفتن اندامهای هوایی است که می‌تواند با تعیین قطبیت در ارتباط باشد. علاوه بر این ژنهای *Glyma17g12200* که نیز متعلق به این خانواده فاکتورهای رونویسی هستند جزء گروه ژنهای کاملاً اختصاصی بیان شده در نوک شاخه هستند (جدول ۲). *Shamimuzzaman* و همکاران نیز نشان دادند که بیان ژنهای *Glyma13g22620* و *Glyma17g12200* در مراحل ابتدایی رشد گیاه افزایش می‌یابد (۳۵).

ژنهای *MADS-box* رمزکننده فاکتورهای رونویسی هستند و در گیاهان، حیوانات و قارچها وجود دارند. در گیاهان ژنهای *MADS-box* معادل ژنهای *Homeobox* جانوران هستند و شامل ژنهای تنظیم‌کننده توسعه‌ای می‌باشند (۳۰). نتایج این تحقیق نشان داد که ژن *Glyma16g13070* متعلق به خانواده *MADS-box* به طور کاملاً اختصاصی در نوک شاخه و ژنهای *Glyma02g04710* و *Glyma01g02880* از جمله ژنهایی از خانواده فاکتورهای رونویسی *MADS-box* هستند که بیان بیشتری در نوک شاخه سویا از خود نشان دادند. به احتمال زیاد این ژنها تعدادی از ژنهای *MADS-box* هستند که در مراحل ابتدایی توسعه‌ای گیاه نقش دارند و برای تأیید این نیاز به تحقیقات بیشتر و تکمیلی می‌باشد.

BANQUO3 فاکتور رونویسی متعلق به خانواده *BHLH* می‌باشد که در تنظیم پاسخهای به نور فعال می‌باشد و در میزان کلروفیل، رنگ کاسبرگ و گلبرگ نقش دارد (۲۸). لذا کاهش بیان این ژن (جدول ۴) در مراحل ابتدایی رشد (در مرحله جوانه زنی) دور از انتظار نیست چرا که در این مرحله گیاه هنوز در معرض نور قرار نگرفته است. علاوه بر این ژنهای *BNQ* در تنظیم زمان گلدهی نیز نقش دارند و این نیز تأیید‌کننده نتیجه به دست آمده در این تحقیق می‌باشد.

بعضی از ژنهای مشابه با ژنهای گروه *NAC* نیز بیان متمایزی در نوک شاخه و نوک ریشه از خود نشان دادند.

تقریباً تمامی فرایندهای بیولوژیک یا به طور مستقیم به وسیله فاکتورهای رونویسی تنظیم می‌شوند یا اینکه به وسیله آنها تحت تاثیر قرار می‌گیرند و اختصاصاً فرایندهای توسعه‌ای به شدت تحت کنترل وجود و عدم وجود فاکتورهای رونویسی است (۳۵). با بررسی ژنهای متمایز بیان شده مشخص می‌شود که فاکتورهای رونویسی متعلق به خانواده *YABBY* و *MADS box* در نوک شاخه بیان بیشتری در مقایسه با نوک ریشه داشتند. فاکتورهای رونویسی متعلق به خانواده *BHLH* (برای مثال *BANQUO3*) و بعضی از فاکتورهای رونویسی متعلق به *NAC* (*No Apical Meristem*) بیان کمتری در نوک شاخه از خود نشان دادند، این به این معنی است که این ژنها بیان بالاتری در نوک ریشه دارند. علاوه بر این فاکتورهای رونویسی متعلق به خانواده *WRKY* نیز در ریشه بیان بالاتری را از خود بروز دادند. این موارد از کاهش و افزایش بیان فاکتورهای رونویسی در این مرحله توسعه‌ای گیاه تأییدی است بر نقش آنها در فرایندهای توسعه‌ای گیاه سویا.

YABBY یک گروه از خانواده فاکتورهای رونویسی است که نقش مهمی در تعیین قطبیت (*Polarity*) اندام بازی می‌کند (۸، ۱۳، ۲۳ و ۳۶). این فاکتور رونویسی در استقرار قطبیت *abaxial-adaxial* در اندامهای جانبی نقش دارد (۷، ۱۵، ۳۷). فاکتورهای رونویسی خانواده *YABBY* دارای یک ناحیه *zinc-finger(Domain)* در ناحیه انتهایی اسیدآمینهای و یک ناحیه *YABBY* در انتهای کربوکسیل خود هستند. *Glyma17g1471* یک فاکتور رونویسی متعلق به خانواده *YABBY* است که در نوک شاخه سویا در مرحله جوانه‌زنی بیان بیشتری (حدود ۱۸۰۰ برابر) داشت. در مطالعات گوناگون نشان داده شده است که فاکتورهای رونویسی متعلق به خانواده *YABBY* در مراحل توسعه‌ای سویا نقش دارند (۱۶، ۲۱، ۳۵). افزایش بیان این ژن متعلق به این خانواده بیانگر نقش مهم آن در این مرحله حساس رشدی گیاه است که در حال بیرون آمدن از بستر کشت و

افزایش تقسیم سلولی، جلوگیری از باز شدن جوانه گلها، تأخیر در گلدهی، پیری برگ، ریزش اندام گل و رسیدگی غلاف شده است (۲۶). علاوه بر این نشان داده شده است که ARF2 متوقف کننده سیگنالینگ اکسین است. *Glyma19g39340* یک ژن کاندید برای ARF2 در سویا است که بیان آن در نوک شاخه در مقایسه با ریشه قابل ملاحظه بود. این می‌تواند دلیلی بر نقش آن در این مرحله توسعه‌ای گیاه باشد تا اندازه اندام هوایی گیاه را تنظیم کند. همچنین آلومینیوم از طریق تأثیر بر فعالیت اکسین اکسیداز و کاهش بیوسنتز فاکتورهای رشد موجب کاهش رشد ریشه می‌شود (۳).

به طور کلی وجود تعداد زیادی ژن از گروه فاکتورهای رونویسی در میان ژنهای متمایز شده با مطالعات دیگر نیز سازگار است (۱۸ و ۱۹). بیان متمایز فاکتورهای رونویسی مانند ژن *Glyma17g14710* متعلق به خانواده YABBY، ژن *Glyma14g05150* متعلق به خانواده KNOX/ELK و ژن *Glyma02g04710* متعلق به خانواده MADS-box در نوک شاخه در مقایسه با نوک ریشه نشان از نقش مهم این ژنها در مراحل توسعه‌ای گیاه سویا دارد. چرا که این ژنها با فعال کردن یا خاموش کردن بیان دیگر ژنهای پایین دستی، بسیاری از فعالیتهای بیولوژیک را کنترل می‌کنند. علاوه بر این ژن *Glyma04g01650* متعلق به خانواده NAC که در فرآیند شاخه زایی درگیر می‌باشد به طور اختصاصی در نوک شاخه سویا بیان داشت که می‌تواند دلیلی بر نقش آن در شاخه زایی باشد. در نتیجه مجموعه ژنهای گزارش شده در این مطالعه می‌تواند ساختاری برای بررسی و مطالعه بیشتر مسیرهای تنظیم کننده مرستم و نهایتاً رشد و توسعه گیاه باشد.

تشکر و قدردانی

نویسنده این مقاله از دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته به خاطر حمایت مالی به شماره ۷/۵۳۴ تقدیر و تشکر می‌نماید. همچنین از آقای پرفسور پیتز

پروتئینهای حاوی ناحیه NAC نیز گروهی از فاکتورهای رونویسی هستند که در دامنه گسترده‌ای از فعالیتهای بیولوژیک شامل جنین‌زایی، توسعه گل، تشکیل چوب و شاخه‌زایی نقش دارند (۴، ۲۰، ۲۷، ۳۱ و ۴۰). بررسی داده‌های RNA-seq نشان داد که ژنهای متعلق به این گروه مانند ژن *Glyma04g01650* به طور اختصاصی در نوک شاخه و ژنهای *Glyma09g36820* و *Glyma12g00540* به طور اختصاصی در نوک ریشه و ژنهای *Glyma12g35530*، *Glyma13g34950* و *Glyma06g35660* بیان بالاتری در نوک شاخه در مقایسه با ریشه داشتند. ژنهای *Glyma08g17140* و *Glyma15g42050* بیان بیشتری را در نوک ریشه بروز دادند. این افزایش و کاهش بیان تعدادی از ژنهای متعلق به این خانواده در نوک شاخه و ریشه نشان از نقش فعال آنها در مرحله ابتدایی رشد و نمو ریشه و شاخه دارد.

ژنهای خانواده WRKY نیز مانند دیگر فاکتورهای رونویسی، تنظیم کننده بیان ژنهای دیگر در گیاهان هستند. آنها به عنوان فعال کننده یا متوقف کننده بسیاری از فرآیندهای بیولوژیک مانند جوانه‌زنی، توسعه‌ای و پاسخ به تنشهای زنده و غیر زنده نقش دارند (۳۳). در میان ژنهای متمایز بیان شده نیز تعدادی ژن مرتبط با این دسته وجود دارد. در این مطالعه مشخص شد که ژن *Glyma05g25270* به طور اختصاصی در ریشه بیان می‌شود و ژنهای *Glyma08g43260*، *Glyma15g20990* و *Glyma18g49140* بیان بیشتری در ریشه داشتند و نشان از نقش آنها در توسعه ریشه در مراحل ابتدایی دارند.

فاکتور پاسخ به اکسین ۲ گروهی دیگر از فاکتورهای رونویسی هستند که به اجزای پاسخ دهنده به اکسین در پروموتور ژنهای تنظیم کننده اکسین متصل می‌شوند (۲۶). مطالعات نشان داده است که موتاسیون در Auxin responsive factor 2 (ARF2) به ایجاد فنوتیپهایی مانند رشد افزایش یافته اندامهای هوایی و اندازه بذر به دلیل

گرفش (دانشگاه کوئینزلند استرالیا) به خاطر در اختیار

گذاشتن داده‌های اولیه تشکر و قدردانی صورت می‌گیرد.

منابع

- ۱- جعفری، س.، شریف‌نیا، ف.، پیوندی، م. و نیکنام، ف. ۱۳۹۴. بررسی تکوین مریستم زایشی، تشکیل گل، سنجش میزان کربوهیدرات و فعالیت آنزیمی گیاه عناب (*Zizyphus jujuba* Mill). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران). دوره ۲۸، شماره ۱، صفحه ۷۲-۷۸.
- ۲- میرزایی، س. ۱۳۹۵. گزارش طرح پژوهشی بررسی ترانسکریپتوم نوک شاخه و ریشه گیاه سویا جهت شناسایی ژنهای با بیان بالا
- ۳- نجفی، ف. و محمدی، ف. ۱۳۹۴. تاثیر ایندول استیک اسید بر میزان رشد، پروتئین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در گیاه سویا (*Glycine max* (L.) Merr) تحت تنش آلومینیوم کلراید. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران). دوره ۲۸، شماره ۱، صفحه ۱۹۸-۱۸۶.
- ۴- Aida M., Ishida T., Fukaki H., Fujisawa H., and Tasaka M. 1997. Genes involved in organ separation in Arabidopsis: an analysis of the cup-shaped cotyledon mutant. *The Plant Cell Online*. 9(6):841-857.
- ۵- Baumann K. 2013. Plant cell biology: The roots of quiescence. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 14(12):754-754.
- ۶- Bilyeu K., Ratnaparkhe M. B., and Kole C. 2010. *Genetics, Genomics, and Breeding of Soybean* (CRC Press)
- ۷- Bowman J. 2000. The YABBY gene family and abaxial cell fate. *Curr Opin Plant Biol*. 3:17-22.
- ۸- Bowman J., Eshed Y., and Baum S. 2002. Establishment of polarity in angiosperm lateral organs. *Trends Genet*. 18:134-41.
- ۹- Chickarmane V. S., Gordon S. P., Tarr P. T., Heisler M. G., and Meyerowitz E. M. 2012. Cytokinin signaling as a positional cue for patterning the apical-basal axis of the growing Arabidopsis shoot meristem. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 109(10):4002-4007.
- ۱۰- Conesa A, Götz S., Garcia-Gomez J. M., Terol J., Talon M. and Robles M. 2005. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*. 21(18):3674-3676.
- ۱۱- Doyle J. J. 1994. Phylogeny of the legume family an approach to understanding the origins of nodulation. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 25:325-349.
- ۱۲- Doyle J. J. and Luckow M. A. 2003. The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiology*. 131(3):900-910.
- ۱۳- Eshed Y., Baum S., Perea J., and Bowman J. 2001. Establishment of polarity in lateral organs of plants. *Curr Biol*. 11:1251-1260.
- ۱۴- Gepts P., Beavis W. D., Brummer E. C., Shoemaker R. C., Stalker H. T., Weeden N. F., and Young N. D. 2005. Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference. *Plant Physiology*. 137(4):1228-1235.
- ۱۵- Goldshmidt A., Alvarez J., Bowman J., and Eshed Y. 2008. Signals derived from YABBY gene activities in organ primordia regulate growth and partitioning of Arabidopsis shoot apical meristems. *Plant Cell*. 20:1217-1230.
- ۱۶- Gonzalez D. and Vodkin L. 2007. Specific elements of the glyoxylate pathway play a significant role in the functional transition of the soybean cotyledon during seedling development. *BMC Genomics*. 8:468.
- ۱۷- Graham P. H. and Vance C. P. 2003. Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiology*. 131(3):872-877
- ۱۸- Haerizadeh F., Singh M. B., and Bhalla P. L. 2011. Transcriptome profiling of soybean root tips. *Functional Plant Biology*. 38(6):451-461.
- ۱۹- Haerizadeh F., Wong C. E., Singh M. B., and Bhalla P. L. 2009. Genome-wide analysis of

- gene expression in soybean shoot apical meristem. *Plant Mol Biol.* 69(6):711-727.
- 20- Hu R., Qi G., Kong Y., Kong D., Gao Q. and Zhou G. 2010. Comprehensive analysis of NAC domain transcription factor gene family in *Populustrichocarpa*. *BMC Plant Biology.* 10(145):1-23.
- 21- Jones S., Gonzalez D., and Vodkin L. 2010. Flux of transcript patterns during soybean seed development. *BMC Genomics.* 11:136.
- 22- Kal A. J., Van Zonneveld A. J., Benes V., Van den Berg M., Koerkamp M. G., Albermann K., Strack N., Ruijter J. M., Richter A., Dujon B., Ansorge W. and Tabak H. F. 1999. Dynamics of gene expression revealed by comparison of serial analysis of gene expression transcript profiles from yeast grown onto two different carbon sources. *Molecular Biology of the Cell.* 10(6):1859-1872.
- 23- Kumaran M., Bowman J., and Sundaresan V. 2002. YABBY polarity genes mediate the repression of KNOX homeobox genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 14:2761-2770.
- 24- Li J., Jia D., and Chen X. 2001. HUA1, a Regulator of Stamen and Carpel Identities in *Arabidopsis*, Codes for a Nuclear RNA Binding Protein. *The Plant Cell Online.* 13(10):2269-2281.
- 25- Libault M., Thibivilliers S., Bilgin D. D., Radwan O., Benitez M., Clough S. J., and Stacey G. 2008. Identification of four soybean reference genes for gene expression normalization. *Plant Genome.* 1(1):44-54.
- 26- Lim P. O., Lee I. C., Kim J., Kim H. J., Ryu J. S., Woo H. R., and Nam H. G., 2010. Auxin response factor 2 (ARF2) plays a major role in regulating auxin-mediated leaf longevity. *Journal of Experimental Botany.* 61(5):1419-1430.
- 27- Mao C., Ding W., Wu Y., Yu J., He X., Shou H., and Wu P. 2007. Overexpression of a NAC-domain protein promotes shoot branching in rice. *New Phytologist.* 176(2):288-298.
- 28- Mara C. D., Huang T., and Irish V. F. 2010. The *Arabidopsis* Floral Homeotic Proteins APETALA3 and PISTILLATA Negatively Regulate the BANQUO Genes Implicated in Light Signaling. *The Plant Cell.* 22(3):690-702.
- 29- Mortazavi A., Williams B., McCue K., Schaeffer L., and Wold B. 2008. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nat Methods.* 5:621-628.
- 30- Nam J., dePamphilis C. W., Ma H., and Nei M. 2003. Antiquity and Evolution of the MADS-Box Gene Family Controlling Flower Development in Plants. *Molecular Biology and Evolution.* 20(9):1435-1447.
- 31- Ohtani M., Nishikubo N., Xu B., Yamaguchi M., Mitsuda N., Goué N., Shi F., Ohme-Takagi M., and Demura T. 2011. A NAC domain protein family contributing to the regulation of wood formation in poplar. *The Plant Journal.* 67(3):499-512.
- 32- Perales M. and Reddy G. V. 2012. Stem cell maintenance in shoot apical meristems. *Current Opinion in Plant Biology.* 15(1):10-16.
- 33- Rushton P. J., Somssich I. E., Ringler P., and Shen Q. J. 2010. WRKY transcription factors. *Trends in Plant Science.* 15(5):247-258.
- 34- Scott P. T., Pregelj L., Chen N., Hadler J. S., Djordjevic M. A. and Gresshoff P. M. 2008. *Pongamiapinnata*: an untapped resource for the biofuels industry of the future. *BioEnergy Research.* 1(1):2-11.
- 35- Shamimuzzaman M. and Vodkin L. 2013. Genome-wide identification of binding sites for NAC and YABBY transcription factors and co-regulated genes during soybean seedling development by ChIP-Seq and RNA-Seq. *BMC Genomics.* 14(1):477.
- 36- Sieber P., Petrascheck M., Barberis A., and Schneitz K. 2004. Organ polarity in *Arabidopsis*. NOZZLE physically interacts with members of the YABBY family. *Plant Physiol.* 135:2171-2185.
- 37- Siegfried K. R., Eshed Y., Baum S. F., Otsuga D., Drews G. N., and Bowman J. L., 1999. Members of the YABBY gene family specify

- abaxial cell fate in Arabidopsis. *Dev.* 126:4117-4128.
- 38- Smykal P., Jovanovic Z., Stanisavljevic N., Zlatkovic B., Cupina B., Dordevic V., Mikic A. and Medovic A. 2014. A comparative study of ancient DNA isolated from charred pea (*Pisum sativum* L.) seeds from an Early Iron Age settlement in southeast Serbia: inference for pea domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 61(8):1533-1544.
- 39- Tsuda K. and Hake S. 2016. Chapter 14- Homeobox Transcription Factors and the Regulation of Meristem Development and Maintenance. *Plant Transcription Factors*, ed Gonzalez DH (Academic Press, Boston), pp 215-228.
- 40- Xie Q., Frugis G., Colgan D., and Chua N. H. 2000. Arabidopsis NAC1 transduces auxin signal downstream of TIR1 to promote lateral root development. *Genes & Development*. 14(23):3024-3036.

Transcriptome profiling of shoot and root tip of soybean

Mirzaei S.

Biotechnology Dept., Institute of Science, High technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

Abstract

Shoot apical meristem (SAM) and root apical meristem (RAM) are regions in the plant which contain stem cells. SAM provides cells for development of all above-ground structures such as leaves, flowers, branches and inter nodes and RAM is responsible for formation of plant underground organs. Furthermore, root is major component of plant nutrient and use of water in the plant. Therefore, the growth and development of the plant depends on the function of meristematic regions in shoot and root apex. In this study, the transcriptome of the shoot and root tip of soybean were investigated to identify genes that are highly expressed in this regions and likely to have major role in these areas. Hence, RNA-seq data were analyzed using the CLC Genomics workbench. Results revealed 1956 and 1725 genes were specifically expressed in the shoot and root tip, respectively. Moreover in the shoot tip in comparison with the root tip, 3750 genes of differentially expressed genes had a fold change of two or greater and 3710 of down-regulated genes in the shoot tip had a fold change of two or greater. Functional analysis of differentially expressed genes revealed that these genes are involved in catalytic, transcription, signaling and enzyme regulator activities.

Key words: Transcriptome, Shoot tip, Root tip, Soybean, RNA-seq