ژنتیک نوین
دوره سیزدهم، شماره ۳،پاییز ۱۳۹۷
صفحه ۴۲۹ - ۴۲۳

مطالعه تظاهر وخصوصیات عملکردی ژن اسکوالن سنتاز در بافت‌های مختلف سه مرحله نموی لاله واژگون با استفاده از qPCR

Functional properties and expression analysis of squalene synthase candidate gene in different Crown Imperia tissues, during three developmental stages using q-PCR

مهسا اسحاقی[۱]، بهروز شیران*[۱]، رودابه راوش[۱]، حسین فلاحی[۲]

۱- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد، استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

۲- استادیار، دانشکده علوم، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

Eshaghi M[1], Shiran B*[1], Ravash R[1], Fallahi H[2]

1- MSc Student, Professor, Assistant Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Shahrekord University, Iran

2- Assistant Professor, Razi University, Kermanshah, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: beshiran45@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۳)

چکیده

لاله واژگون (*Fritillaria imperialis*) از جمله گیاهان دارویی و زینتی با ترکیبات دارویی متعدد می‌باشد که در طب سنتی استفاده می‌شود. استروئیدآلکالوئید به‌عنوان ترکیب مؤثر اصلی در این گیاه است که دارای خواص ضدتوموری، ضدآلرژی و خنثی‌کننده اثر استیل‌کولین می‌باشد. در این مطالعه اسکوالن سنتاز (*SQS*) به‌عنوان ژن کلیدی در مسیر بیوسنتز استروئید آلکالوئیدها از داده‌های ترنسکریپتوم حاصل از RNA-Seq لاله واژگون انتخاب شد. توالی این ژن شباهت معنی‌داری با توالی‌های ژن *SQS* گیاهان گلدار موجود در پایگاه اطلاعات داده‌های NCBI از طریق Blastx نظیر *Fritillaria thunbergii*، *Phoenix dactylifera* و *Fritillaria unibracteata* داشت. نتایج حاصل از انجام هم‌ردیفی با clustal w نشان داد که این توالی‌ها در نواحی حفاظت شده منطبق بودند. نتایج تجزیه پروموتور نشان داد که پروموتر ژن *SQS* در لاله واژگون شامل عناصر پاسخ به نور، خشکی، جاسمونیک اسید، اکسین، عنصر پرموتوری هسته، تقویت‌کننده و سایر عناصر دیگر بود. حضور این عناصر تنظیمی نقش کلیدی در تنظیم بیان ژن در مراحل مختلف رشدی، پاسخ به محیط و تولید متابولیت ثانویه را نمایان می‌کند. تجزیه و تحلیل بیان ژن *SQS* در بافت‌های مختلف (برگ، پیاز، گلبرگ، کاسبرگ، تخمدان، بساک و میوه) در سه مرحله‌ی مختلف نموی (شامل مرحله طویل شدن ساقه، مرحله توسعه گل و مرحله پر شدن دانه) ارزیابی شد. بالاترین میزان بیان ژن *SQS* در تخمدان، مرحله‌ی طویل شدن ساقه به‌دست آمد. بیان زیاد پتانسیل این ژن را در بهینه‌سازی تولید متابولیت ثانویه نشان می‌دهد. بررسی آماری نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میزان بیان ژن *SQS* لاله واژگون در بافت‌ها و طی مراحل نموی مختلف وجود دارد.

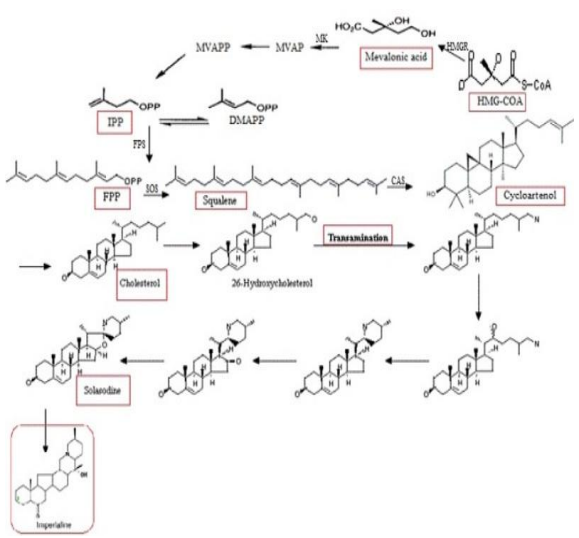
واژه‌های کلیدی

استروئیدآلکالوئیدها
ژن اسکوالن سنتاز (SQS)
بیان ژن
لاله واژگون

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.3.10.1]

لاله واژگون (*Fritillaria imperialis*) یا اشک مریم از جمله ذخایر ارزشمند طبیعی و از ژنوفیت‌های زینتی، دارویی و بومی ایران است. این گیاه از زیر گروه تک لپه‌ها و یکی از ۲۲۰ جنس متعلق به خانواده لیلیاسه می‌باشد که مراحل عمده‌ی رشدی در لاله واژگون مرحله‌ی جوانه گل، مرحله‌ی رویشی، مرحله گل‌دهی و میوه دهی می‌باشد (Mustafa and Abdul-Razaq 2015). از *F. imperialis* برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله گلو درد، سرفه، آسم، برونشیت، سل، تورم غدد لنفاوی گردن، اختلالات غدد تومور و سوزش ادرار استفاده می‌شود (Bailey 1966; Perry and Metzger 1980). استروئید آلکالوئیدها ماده مؤثره اصلی در لاله واژگون می‌باشد (Akhtar et al. 2003). بیوسنتز استروئید آلکالوئیدها یک روند عمومی مسیر سنتز استروئید یا تریترپن را در گیاهان طی می‌کند (Cordell 2008). ترکیباتی از جمله استیل کوآنزیم آ، موالونیک اسید، ایزوپنتیل پیروفسفات، فارنسیل پیروفسفات، اسکوالن سیسلوآرتینول و کلسترول در این مسیر وجود دارند که بسیاری از اکسیدازها، ایزومرازها و ترانسفرازها در تبدیل کلسترول به استروئید آلکالوئیدها شرکت دارند (شکل ۱).



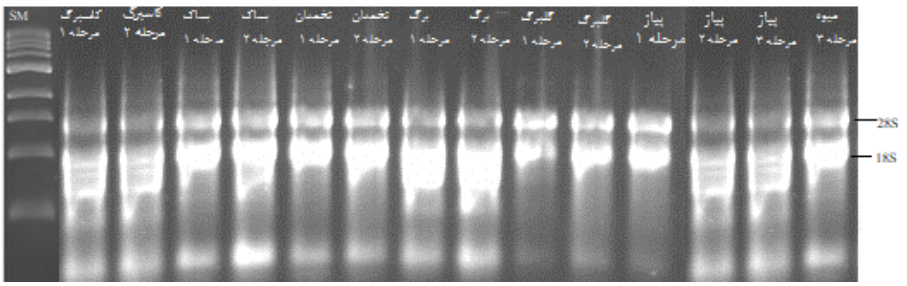
شکل ۱- مسیر بیوسنتز استروئیدآکالوئیدها در لاله واژگون با استفاده از KEGG. هیدروکسی متیل کو آنزیم آ (HMG)، موالونیک اسید (MA)، ایزوپنتیل پیروفسفات(IPP)، فارنسیل پیروفسفات(FPP)، اسکوالن (squalene)، سیسلوآرتینول (cycloarteno) و کلسترول (cholesterol) و سلوندین (Solasonine) و امپریالین (imperialine)

اسکوالن سنتاز یک آنزیم غشایی است که نقش تنظیمی در مسیر بیوسنتز استرول‌ها ایفا می‌کند. کاهش فعالیت آنزیم SQS سبب سرکوب بیوسنتز استرول‌ها در محیط سوسپانسیونی حاوی الیسیتورهای قارچی می‌شود (Devarenne et al. 2002). بیان ژن‌ها ناشی از عناصر تنظیمی موجود در پروموتر می‌باشد. در سال‌های اخیر بررسی الگوی بیان ژن سبب شده کارایی گیاهان دارویی در جهت تولید دارو افزایش یابد. برخلاف اهمیت زینتی و دارویی لاله واژگون تحقیق ژنومی اندکی از جمله بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت لاله واژگون ناحیه زاگرس با استفاده از نشاگرهای مولکولی SSR، AFLPs و RAPDs (Badfar-Chaleshtori et al. 2012) و تجزیه و تحلیل ژنوم عظیم لاله به‌منظور تعیین خصوصیات حذفی DNA در سطح گسترده در طول ژنوم صورت گرفته است (Kelly et al. 2015). از این رو در این تحقیق الگوی بیان ژن کلیدی SQS در لاله واژگون بررسی شد. با توجه به اهمیت این گیاه و لزوم بررسی دقیق ژن‌های کلیدی در تولید متابولیت‌های مهم آن به‌نظر می‌رسد که دستیابی به اطلاعات دقیق‌تر و کامل‌تر ژنومی، بررسی الگوی بیان، آنالیز پروموتور و بررسی عناصر تنظیمی موجود در پروموتور موثر در بیان ژن ضروری باشد. این یافته‌ها زمینه‌ای برای مطالعات ژنومیک عملکردی و مقایسه‌ای و ارتقای سطح محصولات فراهم می‌آورد. تخمین ژن‌های بیوسنتز در ترنسکریپتوم لاله واژگون از طریق پایگاه داده‌های KEGG صورت گرفت. برنامه شناسایی در KOBA2.0 جهت تفسیر و شناسایی ژن مسیر استفاده شد. ژن اسکوالن سنتاز از داده‌های حاصل از RNA-Seq ترنسکریپتوم لاله واژگون انتخاب شد (شماره دسترسی MG255776). بررسی شباهت سنجی ساختاری ژن مورد مطالعه با توالی ژنی دیگر گیاهان موجود در برنامه blastx پایگاه اطلاعات داده NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) انجام شد و هم‌ردیفی با استفاده از نرم‌افزار آنلاین ClustalW صورت گرفت. هم‌چنین بررسی برهمکنش پروتئین‌ها در سایت ExPASY (www.ExPASY.org) انجام شد. برای آنالیز پروموتر ژن مذکور در مسیر بیوسنتز استروئید آلکالوئیدها از ژنوم برنج به‌عنوان گیاهی تک لپه‌ای که تمام ژنوم آن توالی‌یابی شده استفاده شد. این ژن Os03g0805100 در مسیر بیوسنتز تریترپنوئیدها در برنج دخالت

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.3.10.1]

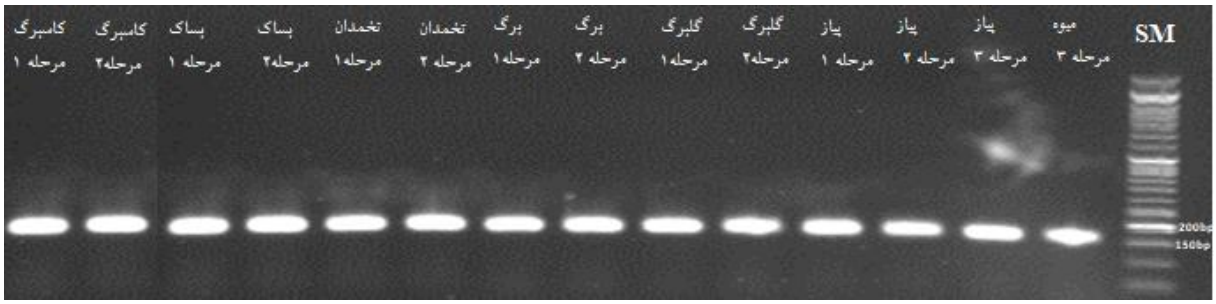
دارد (به‌دلیل فقدان گونه نزدیک با لاله واژگون که توالی‌یابی ژنوم آن صورت گرفته باشد از برنج استفاده شد). بنابراین برای آنالیز پروموتر، توالی معادل ۲ کیلوباز بالا دست ژن‌های هم‌ردیف شده با ژنوم برنج استخراج شد. سپس این توالی‌ها برای به‌دست آوردن عناصر تنظیم‌کننده و از طریق سایت Plant CARE مورد بررسی قرارگرفت.

نمونه‌برداری از بافت‌های مختلف لاله واژگون شامل بساک، تخمدان، گلبرگ، کاسبرگ، ساقه، برگ و پیاز صورت گرفت. این نمونه‌ها در سه مرحله نموی شامل طویل شدن ساقه (زمانی‌که ارتفاع گیاه حدود ٦ سانتی‌متر و به‌صورت روزت تازه از خاک بیرون زده بود)، مرحله توسعه گل و غنچه سالم، پر شدن دانه در ماه‌های فروردین و اردیبهشت سال ۱۳۹۵ از دشت لاله واژگون کوهرنگ (مختصات: ۳۲°۳٤′۸.۲۲″شمالی ۵۰°۱۲′٦.۲٤″شرقی) جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها تا زمان استفاده در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. جداسازی RNAی کل به روش ترایزول (TRIzol® reagent) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد (شکل ۲). به‌منظور ساخت رشته اول cDNA از ۲ میکروگرم RNA و ۰/۵ میکرولیتر آنزیم نسخه‌برداری معکوس thermo استفاده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ٦۰ دقیقه در دمای ٤۲ درجه سانتی‌گراد و برای واکنش خاتمه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد. الگوی بیان ژن اسکوالن سنتاز به عنوان ژن کلیدی در مسیر بیوسنتز استروئید آلکالوئیدها در بافت‌های مختلف لاله واژگون و در مراحل مختلف نموی با qPCR مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور طراحی آغازگر برای این ژن از نرم‌افزار آنلاین پرایمر۳ (http://primer3.ut.ee) استفاده شد. پس از طراحی، آغازگر جهت سنتز به شرکت ماکروژن کره سفارش داده شد. توالی آغازگرهای اختصاصی مستقیم 5′AGGGTCATGGACCAAACAAA3′ و معکوس 5′GCATCCCCTTTTATTCAGCA3′ بود. در این تحقیق گلیسرآلدهید ۳- فسفات دهیدروژناز که بیشترین ثبات بیان را داشت به‌عنوان ژن کنترل داخلی جهت نرمال‌سازی ژن مورد بررسی استفاده شد. توالی آغازگرهای مستقیم و معکوس مربوط به *GAPDH* به‌ترتیب 5′ GTGGTCCAGGGGTCTTACTC3′ و 5′CTGACTTCAACAGCGACACC3′ بودند. واکنش qPCR با استفاده از مخلوط واکنش Takara حاوی SAYBR Green و آغازگر مربوط به ژن صورت گرفت. مخلوط واکنش در حجم کل ۱۲ میکرولیتر شامل دو میکرولیتر cDNA (diluted 1:2)، آغازگر رفت و برگشت هر کدام ۰/۸µM و مخلوط Takara Mix به میزان ٦ میکرولیتر بود و نمونه‌ها در دستگاه(Roter-Gene Q (Qiagen قرار داده شدند. چرخه دمایی استفاده شده در واکنش qPCR تحت شرایط ۹۵ درجه سانتی‌گراد در مدت۳۰ ثانیه به‌منظور واسرشت‌سازی اولیه، سپس ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۵ ثانیه و ٦۰ درجه سانتی‌گراد یک دقیقه در ٤۰ سیکل انجام گرفت. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد و با safe stain رنگ‌آمیزی شدند (شکل ۳). برای آنالیز شدت بیان در بافت‌های مختلف از روش Comparative Quantitation (روشی برای مقایسه بین چند حالت) (McCurdy et al. 2008) توسط نرم‌افزار (Rotor-Gene software, Corbett) استفاده شد. هم‌چنین از میزان بیان برگ مرحله توسعه گل به‌عنوان کالیبراتور بافتی جهت مقایسه بین حالت‌های مختلف (دارای کم‌ترین میزان بیان در بین بافت‌ها و مراحل نموی مختلف) استفاده شد.



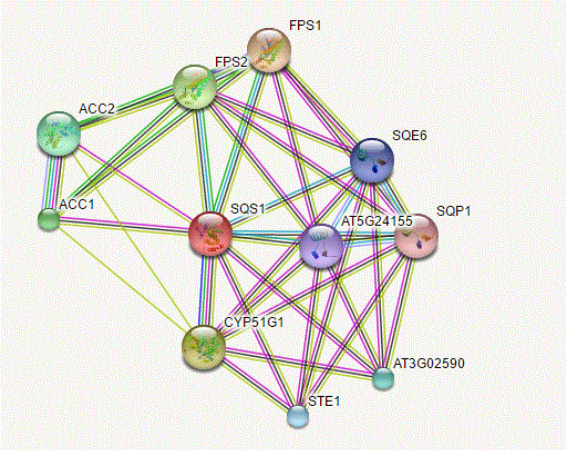
شکل ۲- ژل الکتروفورز مربوط به استخراج RNA در بافت‌های مختلف کاسبرگ، بساک، تخمدان، برگ، گلبرگ، پیاز و میوه سه مرحله نموی لاله واژگون

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.3.10.1]



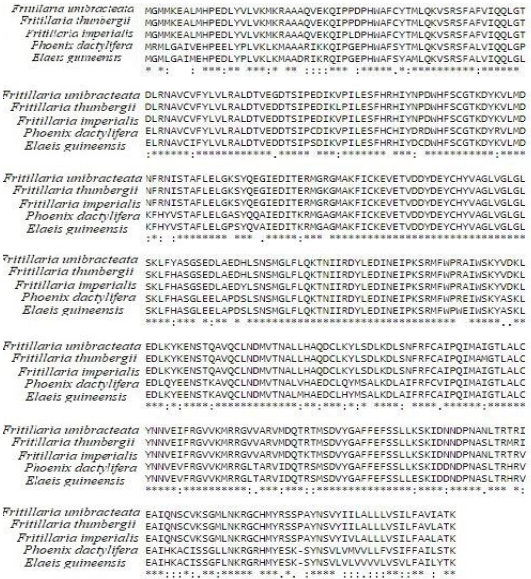
شکل ۳- ژل الکتروفورز محصولات PCR مربوط به ژن *SQS* در بافت‌های مختلف سه مرحله ی نموی لاله واژگون (اندازه محصول ۱۷۷bp).

جهت مقایسه بافت‌های مختلف و در مراحل مختلف نموی از روش مقایسه میانگین دانکن با در نظر گرفتن سطح معنی‌داری ۰/۰۵ از نرم‌افزار STATISTICA استفاده شد. در واقع تولید متابولیت ثانویه در نتیجه همکاری چند ژن در مسیر بیوسنتز استروئیدآلکالوئیدها می‌باشد که ژن اسکوالن سنتاز نقش مهمی در این مسیر ایفا می‌کند. بررسی برهم کنش پروتئینی در سایت ExPASY نشان می‌دهد که ژن *SQS* محصول ژن *FPS* است. در واقع *FPS* سوبسترای *FPP* را برای اسکوالن سنتاز (*SQS*) فراهم می‌آورد (Tholl and Sungbeon 2011). با توجه به نقش *CYP51G1* در هیدروکسیله کردن استروئیدها در آرابیدوپسیس(Choe et al. 1998) پیش‌بینی می‌شود که محصول ژن *SQS* توسط *CYP51G1* در مسیر بیوسنتز استروئیدآلکالوئیدها در لاله واژگون هیدروکسیله شود. بررسی برهم کنش پروتئینی حضور ژن‌های شناخته شده‌ای نظیر ACC و *SQP* نشان می‌دهد که در سنتز انواع استرول‌های گیاهی دخیل می‌باشند (شکل ٤).



شکل ٤ - برهمکنش پروتئینی پیش بین شده برای ژن SQS در مسیر بیوسنتز استروئیدها از طریق سایت ExPASY (www.ExPASY.org).(۲۰۱۷)

ژن *SQS* در بسیاری از گیاهان از جمله *Fritillaria thunbergii*، *Phoenix dactylifera*، *Fritillaria unibracteata* و *Elaeis guineensis* در پایگاه اطلاعات داده NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) از طریق Blastx شناسایی و جداسازی شده‌است. مقایسه توالی مربوط به ژن *SQS* در این گیاهان که از رکوردهای اولیه حاصل از Blastx با 10^{-5}> E-value cut off انتخاب شدند با لاله واژگون، همولوژی بالای (بیش از ۸۰ درصد) این ژن در لاله با گیاهان مذکور را مشخص کرد. انجام هم‌ردیفی با clustal w نشان داد که این توالی‌ها در نواحی حفاظت شده منطبق بودند و اختلافات موجود مربوط به نواحی غیر کننده بود (شکل۵). نتایج حاصل از بررسی پروموتور ژن *SQS* وجود تعداد متنوعی عناصر تنظیمی با نقش‌های متفاوت را در این گیاه نمایان نمود (جدول ۱).



شکل ۵- هم‌ردیفی ژن اسکوالن سنتاز در لاله واژگون با Fritillaria thunbergii، Phoenix dactylifera، Fritillaria unibracteata و Elaeis guineensis

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.3.10.1]

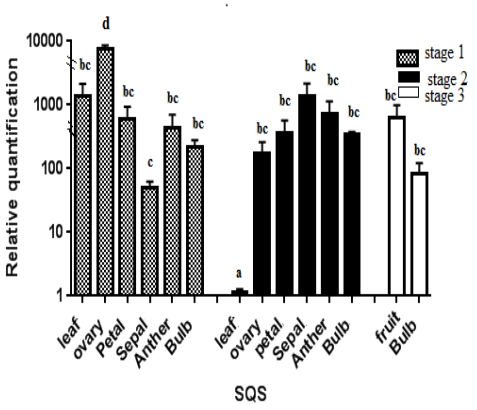
مطالعات نشان داد که نور از جمله عوامل محیطی مهم در تنظیم بیان ژن می‌باشد. همچنین عناصر تنظیمی در پاسخ به تنش‌های محیطی نظیر خشکی و نیز موتیف‌های تنظیم‌کننده متعددی مانند G-Box، G-box، GT1-motif به‌عنوان عناصر پاسخ‌دهنده به واکنش‌های نوری در پروموتور ژن مورد مطالعه حضور دارند. نظر به اهمیت هورمون‌های گیاهی در کنترل شرایط رشد و نمو در شرایط مختلف محیطی و تولید متابولیت‌های ثانویه مثل استروئید آلکالوئیدها (Mahalakshmi et al. 2013)، حضور موتیف‌های تنظیمی پاسخ‌دهنده به هورمون‌های گیاهی از جمله موتیف‌های ABRE(پاسخ‌دهنده به آبسزیک اسید)، TGA-element (عنصر پاسخ دهنده به اکسین)، P-box (عنصر پاسخ جیبرلین) در بررسی عناصر تنظیمی موجود در پروموتر ژن مذکور قابل توجه است. بنابراین این عوامل می‌توانند روی بیان ژن اسکوالن سنتاز مؤثر باشد. نتایج حاکی بر وجود عناصر تنظیمی متصل شونده به MYB از جمله MBS می‌باشد که MYB از جمله پروتئین‌های تنظیمی مهم است که در فرآیندهای مختلفی مانند فرآیندهای رشد و نمو، پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، تمایز و فرآیندهای متابولیسمی به‌ویژه در تولید متابولیت ثانویه دخیل می‌باشد (Ambawat et al. 2013). هم‌چنین عمده‌ترین عنصر تنظیمی مربوط به TATA-box از جمله عناصر پروموتری هسته‌ای، فعال در نظر گرفته می‌شود (Yang et al. 2007).

جدول ۱– پیش‌بینی عناصر تنظیمی در پروموتور ژن *SQS* در لاله واژگون با استفاده بانک اطلاعاتی Plant CARE.

نام عنصر تنظیمی	توالی	عملکرد موتیف	تعداد موتیف
5UTR Py-rich stretch	TTTCTTCTCT	دارای سطح رونویسی بالا	۱
AAGAA-motif	GAAAGAA	-	۳
ABRE	TAC GTG و GCCGCGTGGC	عنصر پاسخ‌دهنده به آبسزیک اسید	۲
ACE	ACTACGTTGG	عنصر تنظیمی پاسخ به نور	۱
ARE	TGGTTT	عنصر تنظیمی ضروری برای القای هوازی	۲
ATCT-motif	AATCTAATCC	بخشی از ناحیه محافظت شده DNA دخیل در پاسخ نوری	۲
Box I	TTTCAAA	عنصر پاسخ به نور	۱
CAAT-box	CAAAT	عنصر رایج در پروموتور و ناحیه تقویت کننده	۲۱
CCAAT-box	CAACGG	ناحیه اتصال MYBHv1	۲
CGTCA-motif	CGTCA	عنصر تنظیمی دخیل در پاسخ متیل جاسمونات	۱
CTAG-motif	ACTAGCAGAA	-	۱
G-Box	CACGTA	عنصر تنظیمی دخیل در پاسخ نوری	۱
G-box	CACGAC و GTACGTG و TACGTG و CACGAC	عنصر تنظیمی دخیل در پاسخ نوری	٤
GT1-motif	AATCCACA	عنصر پاسخ نوری	۱
MBS	CAACTG و TAACTG	اتصال به ناحیه MYB دخیل در القای خشکی	۲
MNF1	GTGCCC(A/T)(A/T)	عنصر پاسخ نوری	۱
MRE	AACCTAA	اتصال به ناحیه MYB دخیل در پاسخ نوری	۳
P-box	CCTTTTG	عنصر پاسخ جیبرلین	۱
Sp1	CC(G/A)CCC	عنصر پاسخ نوری	۱
TA-rich region	TATATATATATATATATATATA	تقویت کننده	۲
TATA-box	TATATAA و TTTTA و TATAAAT	عنصر پروموتری هسته‌ای	۱۰۱
TGA-element	AACGAC	عنصر پاسخ دهنده به اکسین	۲
TGACG-motif	TGACG	عنصر تنظیمی پاسخ نوری	۱
Unnamed__1	CGTGG	-	۳
Unnamed__13	TCCAAGTATA	-	۱
Unnamed__3	CGTGG	-	۳
Unnamed__4	CTCC	-	١٤

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.3.10.1]

نتایج حاصل از qPCR در لاله واژگون برای ژن *FiSQS* نشان داد که افزایش بیان قابل توجه در بافت تخمدان مرحله طویل شدن ساقه در بین تمام بافت‌ها سه مرحله نموی وجود دارد. هم‌چنین کمترین بیان در بافت برگ مرحله توسعه گل نسبت به سایر بافت‌ها و مراحل نموی مختلف مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین دانکن نشان داد که در بافت پیاز در سه مرحله نموی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. هم‌چنین بساک و گلبرگ در مرحله طویل شدن ساقه و توسعه گل نیز اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. در مرحله پر شدن دانه بین بافت‌های میوه و پیاز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما بافت‌های برگ، کاسبرگ و تخمدان در مرحله طویل شدن ساقه و توسعه گل اختلاف معنی‌داری نشان دادند (شکل٦).



شکل ٦- الگوی بیان ژن *FiSQS* در بافت‌های مختلف تخمدان، بساک، میوه، برگ، گلبرگ، کاسبرگ و پیاز سه مرحله نموی گیاه لاله واژگون با مقایسه میانگین آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد

بررسی آماری میزان بیان ژن در گیاه لاله واژگون بیانگر بیان متفاوت در بافت‌های مختلف و طی مراحل نمو بود. تفاوت بیان در بافت‌های مختلف در گیاهان ممکن است مربوط به ماهیت، وظیفه، عملکرد بافت، نقش در مسیرهای تمایزی، نموی و حفاظتی این ترکیبات و برهمکنش گیاه و پاتوژن‌ها باشد. نتایج مربوط به بیان متفاوت ژن *SQS* در مسیر بیوسنتز استروئیدها در بافت‌های مختلف*Solanum nigrum*،*Euphorbia pekinensi* و تنباکو توسط محققان بررسی شده‌است (Sun et al. 2012; zheng Devarenne et al. 2002; et al. 2013). هم‌چنین بیان متفاوت این ژن در مراحل مختلف رویشی در *Dioscorea zingiberensis* مشخص شده‌است (Ye et al. 2014). مقایسه شدت بیان این ژن در بافت‌های مختلف آرابیدوپسیس با شماره دسترسی AT4G34640 در پایگاه مرورگر (http://www.bar.utoronto.ca/) نشان داد که بیشترین میزان بیان ژن *SQS* در بافت گل از جمله در اندام زایشی نر و ماده گزارش داده شده‌است (Winter et al. 2007) و در لاله واژگون نیز در تخمدان به‌عنوان بافت زایشی بیش‌ترین بیان مشاهده شد. بیان هزار برابری *SQS* در تخمدان در مرحله‌ی توسعه گل می‌تواند پتانسیل این ژن را در مهندسی متابولیت ثانویه جهت تولید پیش‌سازهای استروئیدی در مسیر بیوسنتز استروئیدآلکالوئیدها نسبت به سایر بافت‌ها در مراحل نموی مختلف نشان دهد. مطالعات مربوط به بررسی آنزیم‌های دخیل در مسیر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و افزایش بیان ژن‌ها گامی مهم در طراحی استراتژی‌های هدف‌دار جهت افزایش تولید متابولیت ثانویه در گیاهان دارویی می‌باشد به‌ویژه در لاله واژگون که به‌عنوان یکی از ژئوفیت‌های دارویی و بومی ایران شناخته می‌شود. همچنین این مطالعات می‌تواند رهنمودی هدفمند برای مهندسی متابولیت و مطالعات ژنومیک عملکردی و مقایسه‌ای تلقی شود.

سپاسگزاری

از دانشگاه شهرکرد برای فراهم نمودن بخشی از هزینه‌های این تحقیق کمال تشکر را داریم.

منابع

Akhtar MN, Choudhary MI, Sener B, Erdogan I and Tsuda Y (2003). New class of steroidal alkaloids from *Fritillaria imperialis*. Phytochemistry 63:115-122.

Ambawat S, Sharma P, Yadav NR, and Yadav RC (2013) MYB transcription factor genes as regulators for plant responses. Physiology and Molecular Biology of Plants 19:307-321.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.3.10.1]

Badfar-Chaleshtori S, Shiran B, Kohgard M, Mommeni H, Hafizi A, Khodambashi M, Mirakhorli N and Sorkheh K. (2012). Assessment of genetic diversity and structure of Imperial Crown (*Fritillaria imperialis L.*) populations in the Zagros region of Iran using AFLP, ISSR and RAPD markers and implications for its conservation. Biochemical Systematics and Ecology 42: 35-48.

Bailey LH (1966) Manual of cultivated plants. Mac Millan Company. New York 218-219.

Cordell GA (2008) The alkaloids: chemistry and biology. Academic Press, California, USA 109-144.

Devarenne TP, Ghosh A and Chappell J (2002) Regulation of squalene synthase, a key enzyme of sterol biosynthesis, in *tobacco*. Plant Physiology 129:1095-1106.

Kelly LJ, Renny-Byfield S, Pellicer J, Macas J, Novák P, Neumann P, Lysak MA, Day PD, Berger M, Fay MF and Nichols RA (2015) Analysis of the giant genomes of *Fritillaria* (Liliaceae) indicates that a lack of DNA removal characterizes extreme expansions in genome size. New Phytologist 208:596-607.

Mahalakshmi R, Eganathan P, Parida A (2013) Salicylic acid elicitation on production of srcondray metabolite by cell cultures of *Jatropha curcas* L. 5:655-659

McCurdy RD, McGrath JJ and Mackay-Sim A (2008) Validation of the comparative quantification method of real-time PCR analysis and a cautionary tale of housekeeping gene selection. Gene Molecular Biology 12:15-24.

Mustafa LH, Abdul-Razaq RT (2015) A Comparative Systematic Study of the Genus *Fritillaria L*. (Liliaceae) in Iraqi Kurdistan Region. Advances in Bioresearch 6:14-24.

Perry LM, Metzger J (1980) Medicinal plants of east and south-east Asia: attributed properties and uses. Massachusetts Institute of Technology Press, Cambridge, Massachusetts, USA 236-237.

Sun Y, Zhao Y, Wang L, Lou H, Cheng A (2012) Cloning and expression analysis of squalene synthase, a key enzyme involved in antifungal steroidal glycoalkaloids biosynthesis from Solanum nigrum. Drug Discoveries and Therapeutics 6:242-248.

Tholl D, Sungbeon L (2011) Terpene specialized metabolism in Arabidopsis thaliana. The Arabidopsis Book. The American Society of Plant Biologists Press. Washington, USA 143-146.

Winter D, Vinegar B, Nahal H, Ammar R, Wilson G.V and Provart N.J (2007) An "Electronic Fluorescent Pictograph" browser for exploring and analyzing large-scale biological data sets. PloS One 2:718-725.

Yang, C, Bolotin E, Jiang T, Sladek F.M, Martinez E (2007) Prevalence of the initiator over the TATA box in human and yeast genes and identification of DNA motifs enriched in human TATA-less core promoters. Gene Journal 389:52-65.

Ye Y, Wang R, Jin L, Shen J Li X, Yang T, Zhou M, Yang Z, Chen Y (2014) Molecular cloning and differential expression analysis of a squalene synthase gene from Dioscorea zingiberensis, an important pharmaceutical plant. Molecular Biology Reports 41:6097-6104.

Zheng Z, Cao X, Li C, Chen Y, Yuan B, Xu Y, Jiang J (2013) Molecular cloning and expression analysis of a squalene synthase gene from a medicinal plant Euphorbia pekinensis Rupr. Acta Physiologiae Plantarum 35:3007-3014.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.3.10.1]