ژنتیک نوین
دوره هجدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲
صفحه ۳۱۲- ۳۰۱

مطالعه سراسری ژنومی ژن‌های خانواده AHL در گیاه *کاردامینه هیرسوتا* (*Cardamine hirsuta*)

Genome-wide identification of AHL family genes in *Cardamina hirsuta* plant

محمود قربانی مرغشی*[1]، هدایت باقری[2]

۱- استادیار، گروه باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ایران
۲- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بو علی سینا، همدان، ایران

Ghorbani Marghashi M*[1], Bagheri H[2]

1- Assistant Professor, Department of Horticulture and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran
2- Associate Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:m.ghorbani@malayer.uc.i

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۹)

چکیده

خانواده ژن‌های موتیف AT-hook بسیار حفاظت شده هستند و نقش بسیار مهمی در فرآیندهای بیولوژیکی گیاهان ایفا می‌کنند. با وجود این تاکنون هیچ‌گونه بررسی این خانواده ژنی در گیاه *کاردامینه هیرسوتا* انجام نشده است. در این مطالعه با توجه به یافته‌های خانواده ژن موتیف AT-hook در *آرابیدوپسیس تالیانا*، خانواده ژن‌های موتیف AT-hook در ژنوم *کاردامینه هیرسوتا* شناسایی، بررسی و تفسیر شد. با استفاده از بررسی‌های In Silico، ویژگی‌های ساختار پروتئین‌ها و ژن‌ها، مکان‌های کروموزومی، رویدادهای تکراری ژن و روابط فیلوژنتیکی ارزیابی شد. در ابتدا ۲۹ ژن AHL در *کاردامینه هیرسوتا* شناسایی شد تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک نشان داد که AHLها در *کاردامینه هیرسوتا* به ۲ کلاد، کلاد A بدون اینترون و کلاد B با ۵-۴ اینترون مشابه *آرابیدوپسیس تالیانا* تکامل یافته‌اند. بر اساس ترکیب موتیف(های) AT-hook و دامنه PPC، پروتئین‌های AHL به سه نوع (Type-I/-II/-III) طبقه‌بندی شدند به‌طوری که کلاد A نوع یک و کلاد B نوع دو و سه را تشکیل دادند. همچنین بررسی موتیف‌ها نشان داد که سه ژن AHL1، AHL10 و AHL11 اگرچه دارای موتیف AT-hook هستند اما بدون دومین PCC بوده و بر این اساس، تعداد واقعی ژن‌های خانواده AHL در گیاه *کاردامینه هیرسوتا* ۲۶ می‌باشد. بررسی وضعیت مضاعف شدن در خانواده ژن‌های AHL در کاردامینه هیرسوتا نشان داد ۱۶ ژن همولوگ ناشی از دوبرابر شدن قطعه‌ای می‌باشند و توالی تاندمی در هیچکدام از ژن‌ها مشاهده نشد. بررسی نسبت نرخ جانشینی غیر مترادف به نرخ جانشینی مترادف، یعنی Ka/Ks در ۵ جفت ژن همولوگ نشان داد که آن‌ها با Ka/Ks <1 در معرض انتخاب منفی قرار گرفته‌اند. این نتایج و تجزیه و تحلیل آن، یک ارتباط تکاملی احتمالی را برای خانواده ژن‌های AHL در گیاه *کاردامینه هیرسوتا* نشان می‌دهد و امکان مطالعات جدید برای بررسی عملکرد بیولوژیکی آن‌ها را تسهیل می‌کند.

واژه‌های کلیدی

آرابیدوپسیس تالیانا
آنالیز فیلوژنتیکی
خانواده AHL
کاردامینه هیرسوتا
موتیف AT-hook

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]

مقدمه

از زمان پراکنش گیاهان، ژنوم گیاهان به سرعت گسترش یافته و از اجداد مشترک خود از طریق فرآیند تکامل به تنوع بیشتر منجر شده است. تکامل با تغییرات مختلفی از جمله مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و ژنومی همراه است که به ارگانیسم اجازه می‌دهد تا با شرایط چالش برانگیز مقابله کند. در طول دوره طولانی انتخاب طبیعی که مورفولوژی و سازگاری گیاهان با محیط آن‌ها شکل گرفته است، برخی از ژن‌ها که فرآیندهای مهم رشد و نمو گونه‌های گیاهی اجدادی را تنظیم می‌کنند، در اثر وقایعی همچون دو برابر شدن ژنومی، تقویت شده و به تدریج به خانواده‌های ژنی چند عضوی گسترش یافته‌اند (Lynch and Conery 2003; Bowman and Floyd 2007). یکی از این خانواده‌های ژنی، ژن‌های خانواده دارای موتیف AT-hook (AHL) است که به‌دلیل حفاظت شدگی بالا و اهمیت آن در رشد و نمو گیاهان، در همه گونه‌های گیاهی که تاکنون توالی‌یابی شده‌اند، از خزه *Physcomitrella patens* (Rensing et al. 2008) گرفته تا گیاهان دو لپه‌ای و تک لپه‌ای مانند *A. thaliana* (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000)، *Oryza sativa* (Yu et al. 2002; Goff et al. 2002)، Sorghum bicolor (Paterson et al. 2009)، *Populus trichocarpa* (Tuskan et al. 2006)، انگور (Li et al. 2021)، پنبه (Zhao et al. 2020) و *Brassica napus* (Zhang et al. 2021) وجود دارند.

پروتئین‌های AHL دارای یک یا دو موتیف حفاظت‌شده AT-hook و یک دومین گیاهی و پروکاریوت حفاظت‌شده (PPC) هستند که به‌نام دومین عملکرد ناشناخته شماره ۲۹۶ (DUF296) نیز شناخته می‌شود (Fujimoto et al. 2004). موتیف‌های AT-hook توالی توافقی متفاوتی دارند که منجر به واگرایی آن‌ها به دو نوع (Type-I و Type-II) شده است (Zhao et al. 2013). موتیف‌های نوع I دارای توالی مشترک Gly-Ser-Lys-Asn-Lys هستند در حالی‌که موتیف نوع II دارای Arg-Lys-Tyr در انتهای C و توالی مرکزی Arg-Gly-Arg هستند. تفاوت‌های موتیف AT-hook امکان طبقه‌بندی پروتئین‌های AHL را به سه نوع مختلف (I، II و III) می‌دهد. Type- I متعلق به Clade-A، Type-II و Type-III متعلق به Clade-B است. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک آن‌ها در نهاندانگان، کلادهای A و B را به‌ترتیب به پنج و چهار زیر خانواده تقسیم کرده و الگوهای بیان مشابه مشاهده شده در هر کلاس، نشان می‌دهد که AHLها عملکردهای بیولوژیکی خود را در طول تکامل حفظ کرده‌اند (Zhao et al. 2014). دومین PPC دارای ۱۲۰ اسید آمینه هست و این دومین برای جایگیری هسته‌ای ضروری بوده و با سایر عوامل رونویسی در تعامل است (Fujimoto et al. 2004). مطالعات نشان داده‌اند که دومین PPC فعال‌سازی رونویسی پروتئین‌های AHL را تنظیم می‌کند (Zhao et al. 2013). با این حال، اطلاعات کمی در مورد نقش مستقیم این دومین در تنظیم رشد و نمو گیاه در دسترس است.

خانواده ژن‌های موتیف AT-hook نقش بسیار مهمی در فرآیندهای بیولوژیکی همانند کنترل رشد، نمو و تمایز، سیگنال دهی هموستاز، جیبرلین (Matsushita et al. 2007)، جاسمونات (Vom et al. 2007)، طول عمر برگ (Lim et al. 2007)، مورفوژنز (Street et al. 2008)، گلدهی (Xiao et al. 2009)، الگوسازی تمایز اندام تولید مثلی (Ng et al. 2009) و تحمل به استرس در گیاهان از طریق برهمکنش با پروتئین‌های دیگر و DNA ایفا می‌کنند (Zhang et al. 2021). برای مثال در برنج، ژن DP1، کدکننده پروتئین AT-hook اتصال دهنده به DNA، نقش مهمی در رشد گل ایفا می‌کند (Jin et al. 2011). علاوه بر این، خانواده ژن موتیف AT-hook همچنین قادر به تنظیم بیان ژن‌های اختصاصی سلول می‌باشد (Ng and Ito 2010). در آرابیدوپسیس، ژن (AHL BoMF2) ترجیحاً در پرچم بیان می‌شود و بیان بیش از حد آن باعث کوتاه‌تر شدن غلاف بذر و کاهش قدرت گرده نسبت به نوع وحشی می‌شود (Kang et al. 2005). AHL18 در افزایش طول و تقسیم سلولی در مریستم نوک ریشه آرابیدوپسیس و AHL15 در فعالیت کامبیوم و تشکیل اوند چوبی ثانویه نقش دارند (Sirl et al. 2020; Rahmi et al. 2022). همچنین ژن‌های AHL با تنظیم رشد تولیدمثلی گیاه و تشکیل گرده و بلال و پاسخ به خشکی و پیری در ذرت مرتبط هستند (Gallavotti et al. 2011; Bishop et al. 2019). تاکنون، چندین ژن از خانواده ژن AHL برای تنظیم تعادل هورمونی در گیاهان به‌ویژه جیبرلین (Matsushita et al. 2007)، اسید جاسمونیک و ژن‌های مرتبط با اکسین شناسایی شده‌اند (Wong et al. 2019; Vom et al. 2007).

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]

پروتئین‌های AHL همچنین می‌توانند حالت کروماتین را تنظیم کنند (Yun et al. 2012). چندین مطالعه نشان داده است که خانواده ژن AHL نقش مهمی در تنظیم افزایش طول هیپوکوتیل دارند. در *A. thaliana* برخی از اعضای خانواده ژن AHL، مانند AHL6، AHL15، AHL22، AHL29 و AHL27، با سرکوب ژن‌های مرتبط با سیگنال دهی اکسین، از طولانی شدن هیپوکوتیل جلوگیری می‌کنند. (Xiao et al. 2009; Street et al. 2008; Zhao et al. 2013; Favero et al. 2016) اخیراً مشخص شده است دو ژن AHL1 و AHL2 برای القاء و بیان مناسب NCR169 برای ایجاد گره‌های ریشه تثبیت‌کننده نیتروژن در یونجه و سویا ضروری هستند (Zhang et al. 2023).

مطالعات ژنتیکی موازی در گیاهان خویشاوند نزدیک، که دارای یک بازه نسبتاً کوتاه تکاملی هستند، یک استراتژی قدرتمند برای تشخیص تغییرات ژنتیکی می‌باشد که تغییرات فنوتیپی را باعث شده‌اند و از اهمیت تکاملی برخوردار هستند (Hay et al. 2014). در دهه اخیر، *کاردامینه هیرسوتا* به‌عنوان یک سیستم ژنتیکی برای مطالعات مقایسه‌ای معرفی شده است که قرابت نزدیکی با *آرابیدوپسیس تالیانا* دارد (Lihova et al. 2006). *کاردامینه هیرسوتا* دارای برگ‌های پیچیده است و به‌طور جالب توجهی میزان فتوسنتز مؤثر در برگ‌های *کاردامینه هیرسوتا* دو برابر برگ‌های *آرابیدوپسیس تالیانا* است. با این حال، اساس ژنتیکی بالا بودن نرخ فتوسنتز در این گیاه هنوز ناشناخته است. *کاردامینه هیرسوتا* همانند *آرابیدوپسیس تالیانا*، که یک ارگانیسم مدل برای بسیاری از تحقیقات ژنتیکی می‌باشد، به‌علت داشتن دوره کوتاه تولید مثل، اندازه کوچک، تولید بذر فراوان، خودگشنی و سادگی امکان کشت در مقیاس وسیع برای کارهای آزمایشگاهی انتخاب شده است. مهم‌تر آن‌که، گیاهی است دیپلویید با ژنوم کوچک و ۸ عدد کروموزوم که از ساختار اجدادی در خانواده براسیکا پیروی می‌کند. دارای یک نقشه ژنتیک متراکم و جمعیت‌های جهش یافته شیمیایی است که ابزار مناسب مورد نیاز در تحقیقات برای بررسی چگونگی اثر تغییرات ژنتیکی در مورفوژنز را مهیا می‌کند. انگیزه اصلی برای مطالعه و توسعه منابع برای *کاردامینه هیرسوتا* خویشاوند با *آرابیدوپسیس تالیانا* مربوط به درک مبانی ژنتیکی برای تکامل مورفولوژیکی است (Hay Canales et al. 2010; et al. 2014). بر این اساس در این تحقیق برای اولین بار تجزیه و تحلیل دقیق ژنومی خانواده ژن‌های AHL در *کاردامینه هیرسوتا* انجام گرفت. در این مطالعه با توجه به یافته‌های خانواده ژن موتیف AT-hook در آرابیدوپسیس، خانواده ژن موتیف AT-hook در ژنوم کاردامینه تفسیر شد. در ابتدا ۲۹ ژن AHL شناسایی شد اما بررسی ساختار پروتئین ها تعداد واقعی این ژن‌ها را به ۲۶ کاهش داد. سپس ساختار این ژن‌ها تجزیه و تحلیل شد. در این بررسی ویژگی‌های ساختار پروتئین مربوطه و همچنین مکان‌های کروموزومی آن‌ها، رویدادهای تکراری ژن و روابط فیلوژنتیکی ارزیابی شد. مسلماً این نتایج درک عملکردهای بیولوژیکی خانواده AHL در *کاردامینه هیرسوتا* را در تحقیقات ازمایشگاهی اتی تقویت خواهد کرد و زمینه را برای بررسی‌های عمیق‌تر از جمله انتخاب ژن‌های AHL تغییر یافته و ژن‌های همولوگ و ارتولوگ در دو گیاه در آزمایشات مقایسه‌ایی بیان ژن و انتخاب ژن‌های مؤثر AHL جهت خاموش گردن این ژن‌ها از طریق کریسپر فراهم خواهد کرد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی توالی‌های ژن‌های خانواده AHL، از بانک‌های مختلف اطلاعات ژن استفاده شد. از بانک اطلاعات ژنومی مرتبط با ژن‌های خانواده AHL در آرابیدوپسیس (https://www.arabidopsis.org/browse/genefamily/mads_tffamily.jsp) توالی ژن های خانواده AHL، پروتئین‌های مرتبط و نواحی اگزونی تعیین شد با استفاده از شبکه ژنومیکی اطلاعات (https://genomevolution.org/coge/CoGeBlast.pl)، که مختص ژنوم *کاردامینه هیرسوتا* و ارابیدوپسیس می‌باشد توالی‌های ژنی مشابه با ژن‌های AHL ارابیدوپسیس تعیین شدند و در انتها از طریق مرکز بین‌المللی اطلاعات بیوتکنولوژی (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)، توالی‌های تکراری حذف و صحت ژن‌ها تایید شد. با استفاده از سرور ExPASy اطلاعات مرتبط با پروتئین‌ها شامل وزن مولکولی، نقطه ایزوالکتریک، تعداد و ترکیب اسید آمینه‌های موجود در AHLهای گیاه کاردامینه هیرسوتا تعیین شد. با استفاده از برنامه CD Search (Marchler-

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]

(Bauer and Bryant, 2004) دومین‌های محافظت شده تعیین شد و توالی‌های فاقد AHL حذف شد (جدول۱).

با استفاده از برنامه ClustalX 1.81 همردیفی توالی‌های پروتئینی گیاه *کاردامینه هیرسوتا* و *آرابیدوپسیس تالیانا* از خانواده AHL با استفاده از روش هم‌ردیفی چندگانه انجام شد و با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 درخت فیلوژنتیکی رسم شد. برای رسم درخت فیلوژنتیکی از روش neighbor-joining استفاده شد. برای اعتماد پذیری درخت، بوت استرپ ۱۰۰۰ درنظرگرفته شد و سپس با استفاده از برنامه iTOL ساختار ژن های AHL به درخت اضافه شد.

توالی‌های کدکننده دومین AHL (CDS) *کاردامینه هیرسوتا* و توالی‌های کامل ژنومی آن‌ها از CoGeBlast و TAIR مشخص شده و برای پیش‌بینی ساختار ژنی آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت. از ابزار آنلاین سرور نمایش دهنده ساختار ژنی GSDS 2.0 (http://gsds.cbi.pku.edu.cn/index.php) برای تعیین ساختار اگزون و اینترون ژن‌ها استفاده شد (Hu et al. 2015). برای تشخیص حضور و توزیع موتیف‌های محافظت شده در طول تکامل، توالی‌های پروتئین‌های AHL از پایگاه اطلاعاتی MEME5.1.1 (http://meme-suit.org) طبق روش به‌کار گرفته شده توسط Bailey و همکاران (2015) (http://meme-suite.org/tools/meme) و مطابق پارامترهای زیر، تعیین شد.

۱-۱۰ موتیف مختلف

۲- اندازه طول موتیف بین ۶ تا ۲۰۰ اسیدآمینه با هر تعداد تکرار

برای محاسبه میزان Ks، دو ژن روی یک شاخه در انتهای درخت فیلوژنتیک به‌عنوان یک جفت ژن در نظر گرفته شدند. بر اساس توالی کد کننده DNA (CDS) این ژن‌ها، مقدار Ks جفت ژن را می‌توان با TBtools محاسبه نمود (Chen et al. 2020). بر اساس $T = Ks/2\lambda$، زمان تکثیر این جفت‌های ژنی با نرخ‌های زمانی مانند (λ) از ۱,۴ ۱۰ × ۸ جایگزینی مترادف در هر سایت در سال محاسبه شد (Wang et al. 2011).

نتایج

شناسایی ژن‌های AHL در *کاردامینه هیرسوتا*

برای شناسایی ژن‌های AHL ،پروتئین ۲۹ ژن AHL مربوط به *آرابیدوپسیس تالیانا* با استفاده از برنامه بلاست دربانک اطلاعاتی NCBI و برنامه CoGe برای پیدا کردن توالی‌های مشابه در *کاردامینه هیرسوتا* (آکسفورد) استفاده شدند. ۲۹توالی که دارای بالاترین همپوشانی و مشابهت بود، مشخص شده و در جدول ۱ به‌عنوان CH-AHL نام‌گذاری شدند. ویژگی‌های مولکولی این۲۹ ژن AHL بر اساس طول توالی اسید آمینه، وزن مولکولی پروتئین و نقطه ایزوالکتریک آن‌ها در *کاردامینه هیرسوتا* آنالیز شد (جدول ۴-۲). نتایج نشان داد که طول توالی ۳۰ پروتئین شناسایی شده در *کاردامینه هیرسوتا* بین ۱۵۳ تا ۴۳۶ اسید آمینه، وزن مولکولی آن‌ها بین ۱۶کیلو دالتون (CH-AHL1) تا ۴۵ کیلو دالتون (CH-AHL6) و نقطه ایزوالکتریک (IP) بین ۵/۱۹ (CH-AHL29) تا ۱۰/۳۸ (CH-AHL7) متغیر است.

جدول ۱- اطلاعات مرتبط به ژن‌های خانواده AHL

ژن	شماره کروموزوم	طول	وزن مولکولی(KDa)	IP	محل کروموزوم	ID
CH-AHL1	Chr8	۱۵۳	۱۶۰۶۳,۹۶	۱۰,۰۶	۲۷۲۱۲۲۶-۲۷۲۱۶۸۴	*CARHR254150.1*
CH-AHL2	Chr8	۴۲۰	۴۴۶۲۹,۷۶	۸,۴	۱۸۵۸۱۵۶۸-۱۸۵۸۳۷۰۲	*CARHR276040.1*
CH-AHL3	Chr4	۳۵۰	۳۶۹۵۸,۴۶	۱۰,۰۴	۲۱۹۸۴۹۶۰-۲۱۹۸۶۷۱۰	*CARHR141120.1*
CH-AHL4	Chr5	۳۵۳	۳۶۶۵۰,۷۸	۹,۲۳	۲۰۸۶۴۵۵۸-۲۰۸۶۶۲۲۰	*CARHR171620.1*
CH-AHL5	Chr6	۳۹۰	۴۱۳۱۱,۶۹	۸,۴۸	۶۱۰۹۴۶-۶۱۲۵۵۰	*CARHR174870.1*
CH-AHL6	Chr7	۴۳۶	۴۵۷۹۰,۳۹	۹,۶۳	۱۴۵۵۱۲۹۱-۱۴۵۵۲۹۳۳	*CARHR224690.1*
CH-AHL7	Chr3	۴۱۰	۴۳۲۷۳,۳۳	۸,۸۹	۱۲۵۴۱۵۸-۱۲۵۶۳۷۸	*CARHR078770.1*
CH-AHL8	Chr7	۳۶۹	۳۸۵۲۹,۱۲	۹,۱۱	۵۵۱۶۱۴-۵۵۳۶۹۵	*CARHR213080.1*
CH-AHL9	Chr2	۳۸۵	۴۰۲۲۲,۰۹	۹,۴۴	۸۹۰۳۸۵-۸۹۲۳۲۷	*CARHR047890.1*
CH-AHL10	Chr7	۱۶۶	۱۷۸۳۴,۱۸	۱۰,۱۸	۱۷۸۴۵۷۳۵-۱۷۸۴۶۲۳۵	*CARHR232730.1*

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]

CH-AHL11	Chr2	۱۵۳	۱۶۸۰۶,۲۶	۹,۵۲	۱۰۳۰۷۸۷-۱۰۳۱۹۶۳	*CARHR048240.1*
CH-AHL12	Chr6	۳۷۲	۳۸۶۸۵,۳۹	۷,۹۴	۱۳۳۹۹۵۰۰-۱۳۴۰۱۶۸۶	*CARHR185160.1*
CH-AHL13	Chr7	۳۰۳	۳۰۳۲۴,۷۰	۶,۴۳	۲۱۸۳۸۹۴۹-۲۱۸۳۹۸۶۰	*CARHR243720.1*
CH-AHL14	Chr4	۲۸۹	۲۹۲۴۹,۴۵	۶,۵۶	۱۷۱۲۳۱۰۷-۱۷۱۲۳۹۷۶	*CARHR129430.1*
CH-AHL15	Chr7	۳۰۰	۳۰۵۰۵,۷۶	۵,۹۶	۱۴۴۴۸۰۷۳-۱۴۴۴۸۹۷۵	*CARHR224530.1*
CH-AHL16	Chr4	۲۵۹	۲۷۱۲۸,۸۴	۹,۴	۲۰۸۶۴۳۰۹-۲۰۸۶۵۰۸۸	*CARHR138000.1*
CH-AHL17	Chr7	۲۸۱	۲۹۴۵۱,۸۱	۵,۹۷	۱۲۱۸۶۸۲۰-۱۲۱۸۷۶۶۵	*CARHR220680.1*
CH-AHL18	Chr8	۲۶۹	۲۸۱۵۹,۶۱	۷,۷۵	۷۸۹۸۹۶۹-۷۸۹۹۷۷۸	*CARHR259140.1*
CH-AHL19	Chr5	۳۰۹	۳۲۶۹۱,۰۶	۵,۴۲	۱۸۷۰۱۳۹۵-۱۸۷۰۲۳۲۴	*CARHR165620.1*
CH-AHL20	Chr5	۲۷۷	۲۹۷۶۰,۵۲	۵,۶۴	۲۰۷۴۹۲۵۴-۲۰۷۵۰۰۸۷	*CARHR171260.1*
CH-AHL21	Chr3	۳۱۵	۳۲۱۴۹,۶۴	۵,۹	۱۲۴۶۵۵۶-۱۲۴۷۵۰۳	*CARHR078750.1*
CH-AHL22	Chr1	۲۴۱	۲۵۲۱۷,۴۹	۸,۴۸	۵۲۲۴۹۳۶-۵۲۲۵۶۶۱	*CARHR014940.1*
CH-AHL23	Chr4	۳۱۷	۳۳۴۳۰,۰۸	۶,۴۵	۲۱۷۹۹۶۷۱-۲۱۸۰۰۶۲۴	*CARHR140620.1*
CH-AHL24	Chr8	۳۲۵	۳۴۱۷۱,۱۰	۶,۲۵	۲۷۴۱۸۹۵-۲۷۴۲۸۷۲	*CARHR254180.1*
CH-AHL25	Chr6	۳۳۲	۳۵۴۶۹,۲۰	۶,۲۶	۱۶۷۲۸۱۶۱-۱۶۷۲۹۱۵۹	*CARHR229840.1*
CH-AHL26	Chr8	۳۰۷	۳۲۴۲۹,۵۵	۸,۸۸	۹۱۲۲۹-۹۲۰۵۰	*CARHR248250.1*
CH-AHL27	Chr8	۴۳۱	۴۵۵۱۲,۱۳	۵,۵۰	۱۳۵۰۶۷۲۷-۱۳۵۰۸۶۴۳	*CARHR264390.1*
CH-AHL28	Chr2	۲۸۱	۲۸۸۸۷,۷۵	۵,۱۹	۱۸۳۹۲۱۰۹-۱۸۳۹۲۹۵۱	*CARHR070050.1*
CH-AHL29	Chr1	۲۹۷	۳۰۵۱۵,۵۰	۶,۵۹	۷۴۲۱۱۸۲-۷۴۲۲۱۳۵	CARHR021330.1

آنالیز ساختار ژن‌های *AHL* در *کاردامنیه هیرسوتا*

بررسی ساختار اگزون/اینترون ۲۹ توالی کامل ژن‌های AHL *کاردامینه هیرسوتا* حاصل از برنامه IGV، همراه با توالی‌های CDs توسط برنامه GSDS (Gene Structure Display Server) انجام گرفت. بر اساس تنوع ساختار ۲۹ ژن *AHL*، دو گروه نوع A و نوع B تعیین شد (شکل ۳-۵). تعداد اینترون در ژن‌های AHL *کاردامینه هیرسوتا* بین ۱ تا ۵ است. در گروه B به‌جز سه ژن CH-*AHL1*، *CH-AHL10* و *CH-AHL18* در *کاردامینه هیرسوتا* و یک ژن *AR-AHL17* در *آرابیدوپسیس تالیانا*، بقیه ژن‌ها دارای اینترون هستند و در گروه A تمامی ژن‌ها فاقد اینترون می‌باشند. ژن‌های AHL در آرابیدوپسیس در گروه B بیش از یک اینترون دارند در حالی‌که در کاردامینه به‌جز CH-AHL1 و CH-AHL10 که فاقد اینترون هستند بقیه ژن‌ها بیش از یک اینترون دارند (شکل ۱).

شناسایی موتیف‌های محافظت شده:

برای کسب اطلاعات بیشتر در مورد موتیف‌های پروتئین‌های AHL انتخاب شده از CoGe BLAST، برنامه (Multiple Expectation Minimization for Motif Elicitation (version5.1.1 http://meme.sdsc.edu/meme/meme.html/ MEME استفاده شد (Bailey et al. 2015). در مجموع ۱۰ موتیف با شماره ۱ تا ۱۰ تعیین شد (شکل ۳-۶). همان‌طور که مورد انتظار بود پروتئین‌های AHL دارای دو نوع موتیف AT-hook و یک موتیف محافظت شده در دومین PCC بودند که از نظر داشتن AT-hook ژن‌ها به سه دسته تقسیم شدند. گروه اول دارای AT-hook1 گروه دوم دارای AT-hook2 و گروه سوم هر دو نوع را با هم دارا هستند. از نظر داشتن دومین PCC به‌جز سه ژن *CH-AHL1*، *CH-AHL10* و *CH-AHL11* که فاقد موتیف محافظت شده و دومین PCC بودند در بقیه ژن‌ها این دومین و موتیف مشاهده شد (شکل ۲).

آنالیز فیلوژنتیکی ژن‌های *AHL*

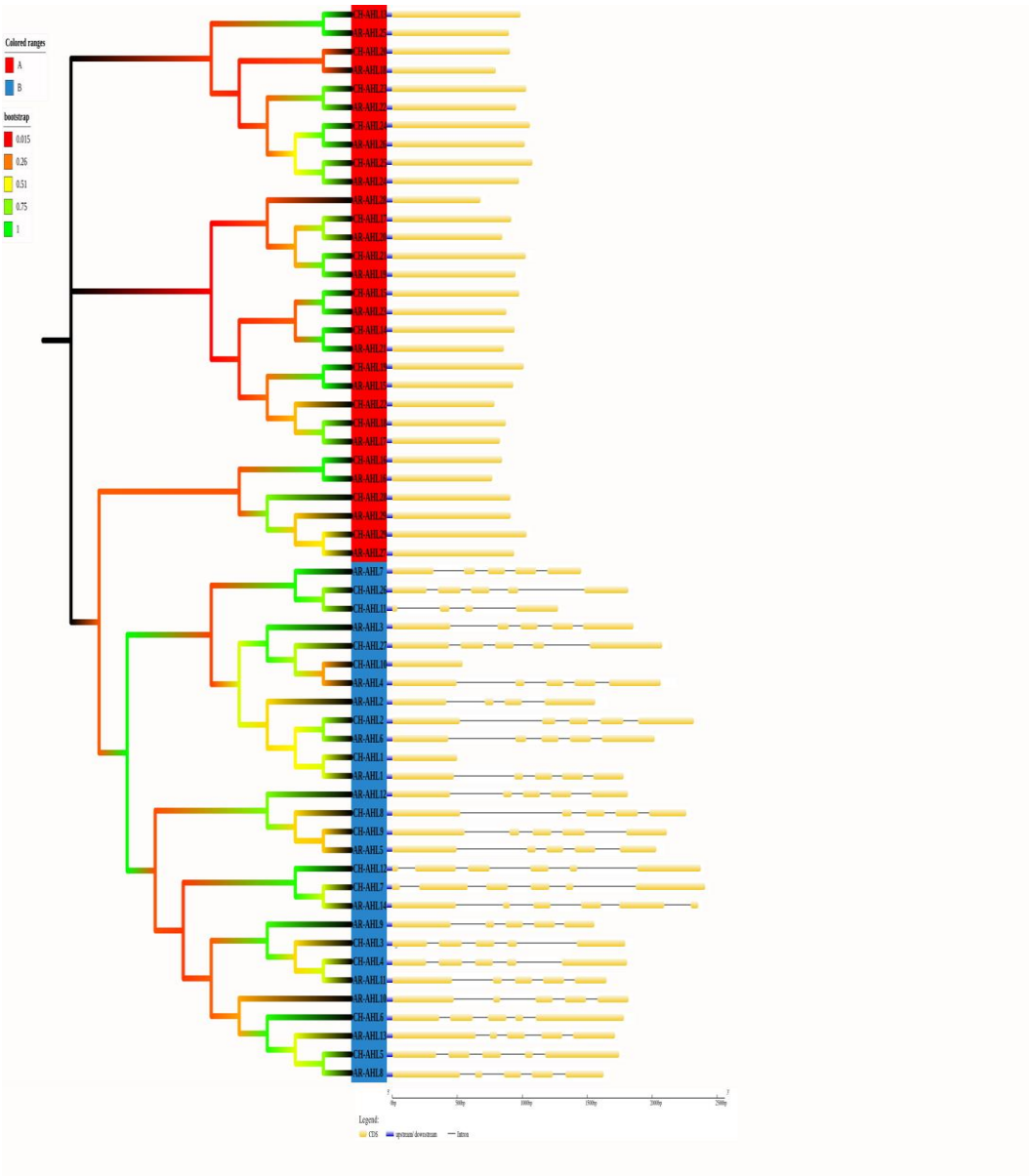
درخت فیلوژنی با استفاده از همردیفی چندگانه توالی‌های پروتئین‌های AHL *کاردامینه هیرسوتا* (CH-AHL) و آرابیدوپسیس (AR-AHL) به‌وسیله روش اتصال همسایه (Neighbor-Joining) در نرم‌افزار MEGA7 (شکل ۳-۵) انجام شد. همانند آرابیدوپسیس، ۳۰ ژن *AHL کاردامینه هیرسوتا* در دو گروه A و B طبقه‌بندی شد. خانواده AHL *کاردامینه هیرسوتا* شامل ۳ زیر گروه شدند. ارتولوگ‌های AHL در *کاردامینه هیرسوتا* با استفاده از BLASTP با e-Value کمتر از 10^{e-10} و

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]

بیشتر از ۸۰ درصد پوشش در طول و بهترین تطابق همولوژی، انتخاب شدند (شکل ۲).

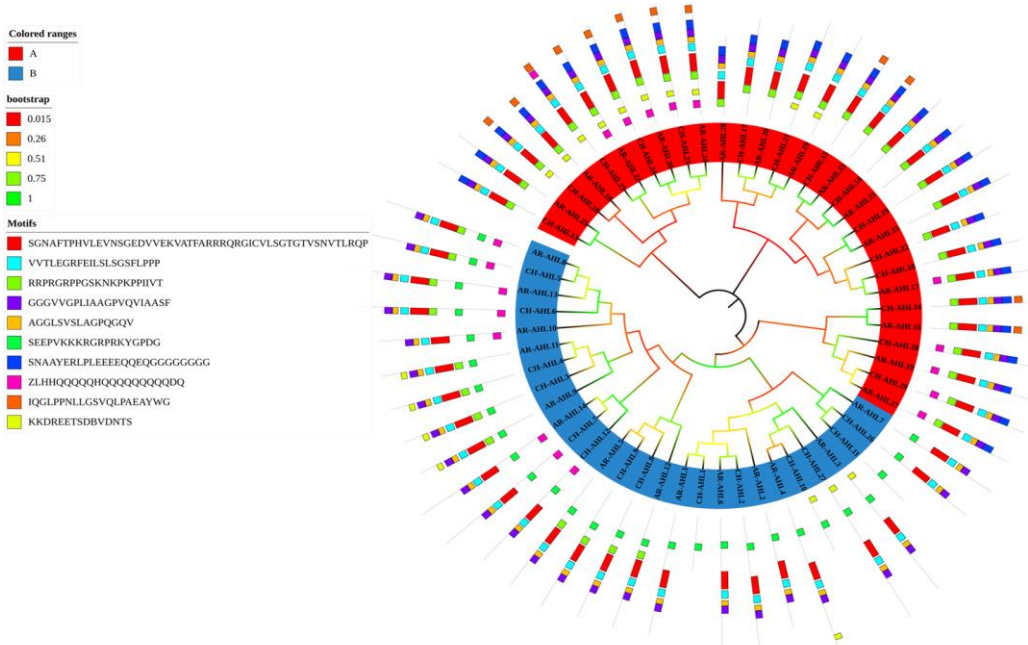
توزیع ژن‌های AHL *کاردامینه هیرسوتا* روی کروموزوم

برای مکان‌یابی کروموزومی ژن‌های AHL *کاردامینه هیرسوتا* و آرابیدوپسیس، داده‌های مکان‌های فیزیکی روی ژنوم از CoGe و TAIR استخراج شده و همه ژن‌های AHL در کروموزوم‌های مرتبط تشخیص داده شد.



شکل ۱- روابط فیلوژنتیک و ساختار ۲۹ ژن CH-AHL از *C. hirsuta* و ۲۹ ژن AR-AHL از *A. thaliana* درخت فیلوژنتیک با استفاده از MEGA 7 با روش اتصال همسایه (NJ) با ۱۰۰۰ تکرار بوت استرپ ساخته شد. برای انجام تجزیه و تحلیل ساختار اگزون-اینترون از پایگاه داده نمایش سرور ساختار ژن (GSDS) استفاده شد. جعبه‌های آبی نشان‌دهنده بالا دست/پایین دست، جعبه‌های زرد نشان‌دهنده اگزون‌ها و خطوط سیاه نشان‌دهنده اینترون‌ها هستند. طول اگزون‌ها و اینترون‌ها برای هر ژن AHL به‌طور متناسب نشان داده شده است.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]



شکل ۲- روابط فیلوژنتیک خانواده ژن‌های AHL با استفاده از MEGA 7 با روش اتصال همسایه (NJ) با ۱۰۰۰ تکرار بوت استرپ ساخته شد. دو کلاد A و B به‌صورت دایره رنگی قرمز و آبی به‌ترتیب نشان داده شد. توزیع موتیف‌های حفاظت شده در پروتئین‌های AHL توسط MEME پیش‌بینی شد. موتیف‌های مختلف با رنگ‌های مختلف ۱-۱۰ نشان داده شد و با برنامه ITOL اضافه شد

از نرم‌افزار TBtools برای مکان‌یابی موقعیت فیزیکی ژن‌های AHL استفاده شد. در *کاردامینه هیرسوتا* بیشتر ژن‌های AHL روی کروموزوم ۷ قرار داشتند و کروموزوم‌ها ۱، ۳ و ۶ کمترین تعداد را دارا بودند (شکل ۳).

بررسی وضعیت مضاعف شدن (Duplication) در خانواده ژن‌های AHL در *کاردامینه هیرسوتا* نشان داد ۱۶ ژن همولوگ ناشی از دوبرابر شدن قطعه‌ای می‌باشند و توالی تاندمی در هیچ‌کدام از ژن‌ها مشاهده نشد. همچنین رابطه هم خطی بودن توالی این ژن‌ها بین کاردامینه و آرابیدوپسیس نشان داد که اکثر ژن‌های *کاردامینه هیرسوتا* به‌جز CH-AHL1، CH-AHL8 و CH-AHL11، در آرابیدوپسیس وجود دارند (شکل ۴).

محاسبه نسبت نرخ جانشینی غیر مترادف به نرخ جانشینی مترادف یعنی Ka/Ks نشان داد که مقدار ka/ks<1 و انتخاب منفی است همچنین نتایج نشان داد که مقادیر Ka و Ks بین هر جفت ژن از ۰,۰۹۰۱۶۸ تا ۰,۲۳۰۵۳ در ka، و از ۰,۴۷۵۸تا ۱,۱۸ در Ks متغیر است.

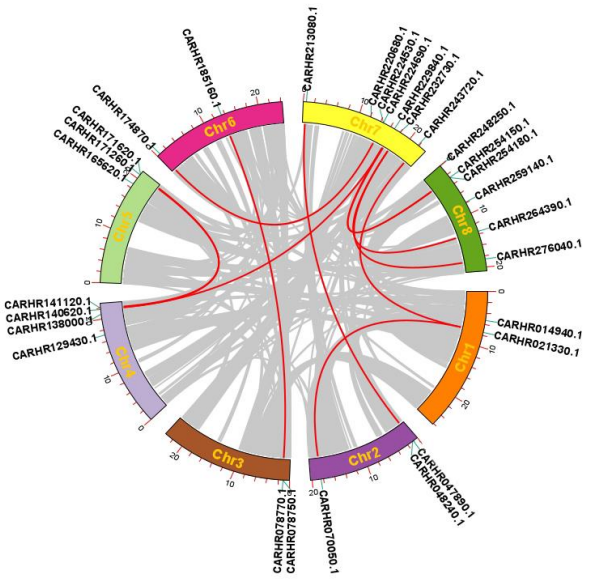
بحث

خانواده ژن AHL در تمامی گیاهان، بسیار حفاظت شده است و نقش مهمی در رشد و نمو و پاسخ به تنش دارد. مطالعات نشان داده اند که اعضای خانواده ژن AHL می‌توانند انواع فرآیندهای رشدی را تنظیم کنند (Zhang et al. 2021). تحقیقات در مورد خانواده ژن AHL در *A. thaliana*، و سایر گیاهان تک لپه‌ای و دو لپه‌ای انجام شده است. در این مطالعه، شناسایی جامع از خانواده AHL در گیاه *کاردامینه هیرسوتا* انجام گرفت. بر اساس بررسی تکاملی، ژن‌های AHL در گیاهان به دو شاخه فیلوژنتیکی Clades-A و Clades-B تقسیم شده‌اند.

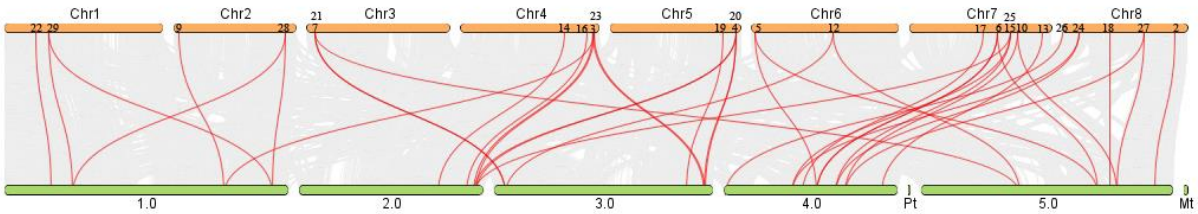
Clade-A فقط یک موتیف AT-hook Type-I و یک دامنه PPC/DUF296 Type-A بدون اینترون دارد.

Clade-B به دو شاخه تقسیم می شود: یک نوع AHL شامل دو AT-hook (نوع I و Type-II) و یک دامنه Type-B PPC/DUF296 است. نوع دیگر AHLها شامل یک موتیف AT-hook نوع II و یک دامنه PPC/DUF296 نوع B است (Zhao et al. 2014). برخلاف Clades-A، Clades-B دارای اینترون است (Bishop et al. 2020).

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]



شکل ۳- تجزیه و تحلیل سینتنی و هم خطی ژن‌های AHL در *کاردامینه هیرسوتا*. موقعیت ژن‌های AHL در کروموزوم‌های *کاردامینه هیرسوتا* (شماره ID) نشان داده شده‌اند. بلوک‌های رنگی به‌ترتیب نشان‌دهنده کروموزوم‌های مختلف است. تصویر با Tb-TOOLS ترسیم شده است



شکل ۴- توزیع و تکثیر ژنی ژن‌های AHL در گیاه *کاردامینه هیرسوتا*. مقیاس بر حسب مگابیس است. هر نوار رنگی قهوه‌ای، نشان‌دهنده یک کروموزوم است. شماره ژن‌های CH-AHL بر اساس موقعیت آن‌ها روی کروموزوم‌ها برچسب‌گذاری شده‌اند. خطوط به رنگ قرمز نشان‌دهنده سینتنی (Synteny) یا هم خطی بودن (Collinearity) بین کروموزوم‌ها است. WGD یا تکثیر قطعه‌ای (سگمنتال) با خطوط قرمز پیوند خورده است، خطوط خاکستری در پس زمینه، بلوک‌های هم خطی را در بین کروموزوم‌های مختلف نشان می‌دهد.

نتایج آنالیز فیلوژنتیکی نشان داد که همانند دیگر گیاهان، خانواده AHL در *کاردامینه هیرسوتا* به دو شاخه تقسیم می‌شود. شاخه اول یا کلادA فاقد اینترون و دارای یک AT-hook و کلاد B دارای اینترون و یک یا دوAT-hook می‌باشد (شکل ۱). اگرچه این نتایج به‌خوبی نشان دادکه ژن‌های هر دو شاخه از نظر داشتن و نداشتن اینترون تا حد زیادی محافظت شده و اکثراً مشابه هم هستند با این وجود در کلاد B ۲ ژن AHL10 و AHL1 فاقد اینترون بوده و با توجه به اینکه اینترون‌ها می‌توانند فعال سازی رونویسی AHLها را افزایش دهند (Zhao et al. 2014) به‌نظر می‌رسد این امر باعث کاهش بیان این دو ژن نسبت به ارتولوگ‌های خود در آرابیدوپسیس می‌شود. با این وجود بررسی موتیف‌ها نکات جالب توجه دیگری را در مورد این دو ژن نشان می‌دهد. همان‌طور که در بالا بیان شد خانوده AHL دارای یک یا دو موتیف AT-hook و یک دومین PCC می‌باشند اما همان‌طور که در شکل ۲ مشخص است این دو ژن (AHL10 و AHL1) به‌همراه AHL11 اگرچه دارای موتیف AT-hook هستند اما فاقد دومین PCC هستند. دومین PPC/DUF296 با توجه به تفاوت‌های توالی، به دو نوع تقسیم می‌شود: دامنه PPC/DUF296 دارای یک دنباله مرکزی از اسیدهای آمینه Leu-Arg-Ser-His است که به‌عنوان نوع A تعریف می‌شود، در حالی‌که نوع B دارای

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]

Phe–Thr-Pro-His در ناحیه بالادست دومین است (Zhao et al. 2014). همه دومین‌های PPC/DUF296 همچنین دارای یک توالی حفاظت‌شده Gly-Arg-Phe-Glu-Ile-Leu هستند که اعتقاد بر این است که واسطه برهمکنش با فاکتورهای رونویسی برای ارتقای عملکرد پروتئین‌های AHL هستند (Zhao et al. 2013; Zhang et al. 2022). در واقع نبود این دومین، این سه ژن را فاقد عملکرد ژن‌های خانواده AHL می‌کند و بر این اساس تعداد واقعی ژن‌های خانواده AHL در گیاه *کاردامینه هیرسوتا* ۲۶ ژن می‌باشد که ۳ ژن نسبت به آرابیدوپسیس کمتر است. از نظر تعداد ژن‌های خانواده AHL نتایج متفاوتی در گیاهان مختلف به‌دست آمده است به‌طوری که کمترین تعداد ۱۴ژن در گیاه انگور(Li et al. 2021) و بیشترین تعداد ۱۲۲ ژن در Brassica napus (Zhang et al. 2021) تاکنون گزارش شده است. این تغییرات در تعداد ژن‌ها با تغییرات پلی پلوئیدی دو برابر شدن، حذف شدن و وقایع تکاملی در هر گیاه کاملاً مرتبط است در واقع یک راهکار است که گیاهان برای سازگاری با شرایط محیطی در طول تکامل برای بقا استفاده کرده‌اند (Segraves et al. 2017).

بررسی توزیع ژن‌ها روی کروموزوم‌های *کاردامینه هیرسوتا* نشان داد که ژن‌های خانواده AHL همانند *آرابیدوپسیس تالیانا* بر روی تمامی کروموزوم‌ها توزیع شده‌اند (شکل ۳). گسترش خانواده‌های ژنی در گیاهان ناشی از وقایعی مانند دو برابر شدن ژنوم، (به‌صورت قطعه‌ای و یا متوالی) می‌باشد (Vision et al. 2001; cannon et al. 2004). بررسی ژن‌های این خانواده در کاردامینه نشان داد گسترش این ژن‌ها ناشی از وقایع دو برابر شدن قطعه‌ایی یا دو برابر شدن ژنومی است و وقایع دو برابر شدن متوالی همانند خانوده AHL در پنبه (Zhao et al. 2020) و گردو (Jia et al. 2023)، نقشی در این گسترش ندارد با وجود این بررسی روند گسترش این خانواده ژنی در گیاهان آرابیدوپسیس (Wang et al. 2011)، هویج (Machaj and Grzebelus, 2021)، ذرت(Bishop et al. 2020) و سویا (Wang et al. 2021) نشان داده است که حداقل ۱۰ تا ۱۵ درصد گسترش این ژن‌ها مربوط به وقایع دو برابر شدن تندومی است. همچنین بررسی وجود سینتنی بین دو ژنوم آرابیدوپسیس و کاردامینه هیر سوتا نشان داد به‌جز ژن‌های CH-AHL1، CH-AHL8 و CH-AHL11 بقیه ژن‌ها با یکدیگر مرتبط هستند. اگر چه در مورد ژن‌های CH-AHL1 و CH-AHL11 که فاقد دومین PCC هستند چنین عدم ارتباطی قابل پیش‌بینی بود اما این موضوع در مورد ژن AHL10 صادق نبود. این ژن روی کروموزوم ۷ کاردامینه با ژن AHL27 کاردامینه روی کروموزم ۸ و همچنین با دو ژن AHL آرابیدوپسیس روی کروموزوم‌های ۴ و ۵ مرتبط است که نشان می‌دهد این ژن در روند تکاملی ناحیه PCC خود را از دست داده است و این واقعه پس از جدایی دو گیاه از جد مشترک شان اتفاق افتاده است علاوه بر این، ژن AHL10 به‌همراه ژن AHL1 اینترون‌های خود را از دست داده‌اند که قطعاً با توجه به نقش اینترون‌ها در بیان ژن (Jia et al. 2023)، احتمالاً بررسی بیان ژنی آن‌ها تغییرات بیانی را نشان خواهد داد.

نسبت نرخ جانشینی غیر مترادف به نرخ جانشینی مترادف، یعنی Ka/Ks، روشی برای تشخیص تکامل توالی است. برای کشف محدودیت‌های انتخابی در بین ژن‌های همولوگ AHL در *کاردامینه هیرسوتا*، ما Ks، Ka و نسبت Ka/Ks را برای جفت‌های ژن AHL محاسبه کردیم. عموماً اعتقاد بر این است که مقدار Ks تحت تأثیر انتخاب طبیعی قرار نگرفته است اما مقدار Ka تحت تأثیر انتخاب طبیعی قرار گرفته است. مقدار Ka/Ks همچنین می‌تواند انتخاب مثبت (Ka/Ks> 1)، انتخاب خنثی (Ka/Ks = 1) و انتخاب منفی (Ka/Ks <1) را در طول تکامل توضیح دهد (Zhao et al. 2020). در این مطالعه ۵ جفت CH-AHL همولوگ طبق درخت فیلوژنی که بیشترین شباهت را داشتند، انتخاب شدند. Ka از ۰,۰۹۰۱۶۸ تا ۰,۲۳۰۵۳، در حالی‌که Ks از ۰,۴۷۵۸تا ۱,۱۸ متغیر است. این نتایج نشان داد که ۵ جفت ژن با Ka/Ks <1 در معرض انتخاب منفی قرار گرفته‌اند. بر این اساس کمترین زمان جدایی ژن‌ها مربوط به ژن‌های همولوگ CH-AHL18 و CH-AHL22 ۱۶ میلیون سال و دورترین زمان مربوط به ژن‌های CH-AHL15 و CH-AHL14 ۴۲ میلیون سال قبل تعیین شد با توجه به اینکه جدایی *کاردامینه هیرسوتا* به۳۲ میلیون سال قبل و زمان جدایی آرابیدوپسیس، ۱۳ میلیون سال قبل رخ داده است و هر دو از جد مشترک (MRCA) با ۵۷ میلیون سال قبل جدا شده‌اند (Gan et al. 2016) پیش‌بینی می‌شود که برخی از این همولوگ‌ها قبل از جدایی *کاردامینه هیرسوتا* از جد مشترک و

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]

برخی پس از جدایی از جد مشترک اتفاق افتاده است. بر اساس بررسی‌های In Silico، پروتئین‌های AHL *کاردامینه هیرسوتا* به‌طور متوسط ۳۱۹ اسید آمینه طول داشتند که کمترین آن ۱۵۳ اسید امینه مربوط به AHL1 و بیشترین آن مربوط به AHL8 با ۴۳۰ اسید آمینه تعیین شد. میانگین وزن مولکولی پیش‌بینی‌شده پروتئین‌های AHL کاردامینه ۳۲ کیلو دالتون با نقطه ایزوالکتریک (pI) بین ۵،۱۹ و ۱۰،۱۸ بود (جدول۱). این نتایج با داده‌های AHL هویج و آرابیدوپسیس تقریباً یکسان بود و نشان می‌دهد با توجه به اهمیت کارکرد این ژن‌ها در فرایندهای اساسی رشد و نمو گیاه، ثبات آن‌ها در طی تکامل حفظ شده است.

نتیجه‌گیری کلی

تحقیقات قبلی اهمیت خانواده AHL را به‌دلیل شرکت در فرایندهای مختلف رشد و نمو نشان داده است بر این اساس میزان حفاظت شدگی این ژن‌ها در گیاهان بسیار بالاست با این وجود این تحقیق نشان داد تعداد ژن‌های AHL در *کاردامینه هیرسوتا* روند کاهشی نسبت به *آرابیدوپسیس تالیانا* داشته است به‌طوری که تعداد این ژن‌ها از ۲۹ ژن در گیاه ارابیدوپسیس به ۲۶ ژن در گیاه *کاردامینه هیرسوتا* با وجود پیچیدگی‌های بیشتر تکاملی و تعداد بیشتر کروموزوم در این گیاه کاهش یافته است با این وجود روابط فیلوژنتیک نشان داد که به ازای هر ژن AHL در ارابیدوپسیس یک ژن ارتولوگ ان در کاردامینه *هیرسوتا* وجود دارد که این نتیجه نشان می‌دهد که برخی از ژن‌ها احتمالاً وظایف ژن‌های حذف شده را بر عهده دارند. این تحقیق به روشنی روابط و ارتباطات همولوگ‌ها و ارتولوگ‌های دو گیاه را نشان می‌دهد بر این اساس راه را برای تحقیقات گسترده ازمایشگاهی هموار خواهد کرد و بینش ما را از روند تکاملی این ژن‌ها در دو گیاه با قرابت ژنتیکی بالا افزایش می‌دهد.

منابع

Arabidopsis Genome Initiative (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. Nature 408:796-815.

Bailey TL, Johnson, J, Grant, CE, Noble WS (2015) The MEME suite. Nucleic Acids Research 43:39-49.

Bishop, E. H, Kumar, R, Luo, F, Saski, C. and Sekhon, R. S. (2019) Genome-wide identification, expression profiling, and network analysis of AT-hook gene family in maize. Genomics 112:1233-44.

Bowman JL, Floyd SK (2007) The ancestral developmental tool kit of land plants. International Journal Plant Science 168:1-35.

Canales C, Barkoulas M, Galinha C, Tsiantis M (2010) Weeds of change: *Cardamine hirsuta* as a new model system for studying dissected leaf development. Journal Plant Research 123:25-33.

Cannon SB, Mitra A, Baumgarten A, Young ND, May G (2004) The roles of segmental and tandem gene duplication in the evolution of large gene families in *Arabidopsis thaliana*. BMC Plant Biology 4:1-21.

Chen C, Chen H, Zhang Y, Thomas HR, Frank MH, He Y, et al. (2020). TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. Molecular Plant 13:1194-1202.

Favero DS, Jacques CN, Iwase A, Le KN, Zhao J, Sugimoto K, Neff MM (2016) SUPPRESSOR OF PHYTOCHROME B4-#3 represses genes associated with auxin signaling to modulate hypocotyl growth. Plant Physiology 171:2701-16.

Fujimoto S, Matsunaga S, Yonemura M, Uchiyama S, Azuma T, Fukui K (2004) Identification of a novel plant MAR DNA binding protein localized on chromosomal surfaces. Plant Molecular Biology 56:225-39.

Gallavotti A, Malcomber S, Gaines C, Stanfield S, Whipple C, Kellogg E, et al. (2011) BARREN STALK FASTIGIATE1 is an AT-hook protein required for the formation of maize ears. Plant Cell 23:1756-71.

Gan X, Hay A, Kwantes M, Haberer G, Hallab A, DelloIoio R, Hofhuis H, Pieper B, Cartolano M, Neumann U, Nikolov LA, Song B, Hajheidari M, Briskine R, Kougioumoutzi E, Vlad D, Broholm S, Hein J, Meksem K, Lightfoot D, Shimizu KK, Shimizu-Inatsugi R, Imprialou M, Kudrna D, Wing R, Sato S, Huijser P, Filatov D, Mayer KFX, Mott R. Tsiantis M (2016) The *Cardamine hirsuta* genome offers insight into the evolution of morphological diversity. Nature Plants 2:16167.

Goff SA, Ricke D, Lan TH, Presting G, Wang R, Dunn M, Glazebrook J, Sessions A, Oeller P, Varma H et al. (2002) A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). Science 296:92-100.

Hay A. Tsiantis M (2016) *Cardamine hirsuta*: a comparative view .Current Opinion in Genetics and Development 39:1-7.

Hu B, Jin J, Guo A, Zhang H, Luo J, Gao G (2015) GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. Bioinformatics 31:1296-1297.

Jia P, Liu J, Yan R, Yang K, Dong Q, Luan H, Zhang X, Li H, Guo S, Qi G (2023) Systematical Characterization of the AT-Hook Gene Family in *Juglans regia* L. and the

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]

Functional Analysis of the JrAHL2 in Flower Induction and Hypocotyl Elongation. International Journal Molecular Science 24-7244.
Jin Y, Luo Q, Tong H, Wang A, Zhu L (2011) An AT-hook gene is required for Palea formation and floral organ number control in rice. Development Biology 359:277-88.
Kang J, Guo Y, Chen Y, Li H, Liu H (2014) Upregulation of the AT-hook DNA binding gene BoMF2 in OguCMS anthers of *Brassica oleracea* suggests that it encodes a transcriptional regulatory factor for anther development. Molecular Biology Report 41:2005-14.
Kim HB, Oh CJ, Park YC, Lee Y, Choe S, An CS et al. (2011) Comprehensive analysis of AHL homologous genes encoding AT-hook motif nuclear localized protein in rice. BMB Report 44:680-685.
Li X, He H, Wang H, Wu X, Wang H, Mao J (2021) Identification and expression analysis of the AHL gene family in grape (*Vitis vinifera*) Plant Gene 26:100285.
Lihova´ J, Marhold K, kudoh H, Koch MA (2006) Worldwide phylogeny and biogeography of *cardamine flexuosa* (brassicaceae) and its relatives America . Journal Of Botany 93:1206-1221.
Lim PO, Kim Y, Breeze E, Koo JC, Woo HR, Ryu JS, Park DH, Beynon J, Tabrett A, Buchanan- Wollsston V Nam HG (2007) Overexpression of a chromatin architecture-controlling AT-hook protein extends leaf longevity and increases the post-harvest storage life of plants. Plant Journal 52:1140-1153.
Lynch M, Conery JS (2003) The origins of genome complexity. Science 302:1401-1404.
Machaj G, Grzebelus D (2021) Characteristics of the AT-Hook Motif Containing Nuclear Localized (AHL) Genes in Carrot Provides Insight into Their Role in Plant Growth and Storage Root Development. Genes 12:764.
Marchler-Bauer A, Bryant SH (2004) CD-Search: protein domain annotations on the fly. Nucleic Acids Research 32:327-331.
Matsushita A, Furumoto T, Ishida S, Takahashi Y (2007) AGF1, an AT-hook protein, is necessary for the negative feedback of AtGA3ox1 encoding GA 3-oxidase. Plant Physiology 143:1152-62.
Ng KH, Ito T (2010) Shedding light on the role of AT-hook/PPC domain protein in *Arabidopsis thaliana*. Plant Signal Behavior 5:200-1.
Ng KH, Yu H, Ito T (2009) AGAMOUS controls GIANT KILLER, a multifunctional chromatin modifier in reproductive organ patterning and differentiation. Plos Biology 7:e1000251.
Paterson AH et al. (2009) The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses. Nature 457:551-556.
Rahimi R, A, Karami O, Lestari AD, Werk T, Amakorova P, Shi D, Nova´ k OR, Greb T, Offringa R (2022) Control of cambium initiation and activity in Arabidopsis by the transcriptional regulator AHL15. Current biology 32:1-12.
Rensing SA, Lang D, Zimmer AD, Terry A, Salamov A, Shapiro H, Nishiyama T, Perroud PF, Lindquist EA, Kamisugi Y, Tanahashi T, Sakakibara K, Fujita T, Oishi K, Shin-I T, Kuroki Y, Toyoda A, Suzuki Y, Hashimoto SI, ... Boore JL (2008). The Physcomitrella genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants. Science 319: 64-69.
Segraves AK (2017) The effects of genome duplications in a community context. The New Phytologist 215:57-69.
Sirl M, Snajdrova T, Gutierrez-Alanis D, Dubrovsky JG, Vielle-Calzada JP, Kulich I et al. (2020). At-hook motif nuclear localised protein 18 as a novel modulator of root system architecture. International Journal Molecular Science 21:1886.
Street IH, Shah PK, Smith AM, Avery N, Neff MM (2008) The AT-hook-containing proteins SOB3/ AHL29 and ESC/AHL27 are negative modulators of hypocotyl growth in Arabidopsis Plant Journal. 54:1-14.
Tuskan GA et al. (2006) The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr.and Gray). Science 313:1596-1604.
Vision TJ, Brown DG, Tanksley SD (2001) The origins of genomic duplications in Arabidopsis. Science. 290:2114-7.
Vom ED, Soares ES M, Kijne JW, Pasquali G, Memelink J (2007) Identification of a bipartite Jasmonate-responsive promoter element in the *Catharanthus roseus* ORCA3 transcription factor gene that interacts specifically with AThook DNA-binding proteins. Plant Physiology 144:1680-1689.
Wang M, Chen B, Zhou W, Xie L, Wang L, Zhang Y, Zhang Q (2021) Genome-wide identification and expression analysis of the AT-hook Motif Nuclear Localized gene family in soybean. BMC Genomics 22:361.
Wang X, Wang H, Wang J, Sun R, Wu J, Liu S et al. (2011) The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. Nature Genetic 43:1035-1039.
Wang Y, Wang X, Tang H, Tan X, Ficklin SP, Feltus FA, Paterson AH (2011) Modes of Gene Duplication Contribute Differentlyto Genetic Novelty and Redundancy, but Show Parallels across Divergent Angiosperms. PLoS ONE 6:e28150.
Wong MM, Bhaskara GB, Wen TN, Lin WD, Nguyen TT, Chong GL et al. (2019) Phosphoproteomics of Arabidopsis Highly ABA-Induced1 identifies ATHook–Like10 phosphorylation required for stress growth regulation. PNAS 116:2354-63.
Xiao C, Chen F, Yu X, Lin C, Fu YF (2009) Over-expression of an AT-hook gene, AHL22, delays flowering and inhibits the elongation of the hypocotyl in *Arabidopsis thaliana*. Plant Molecular Biology 71:39-50.
Yu J, Hu S, Wang J, Wong GK, Li S, Liu B, Deng Y, Dai L, Zhou Y, Zhang X et al. (2002) A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). Science 296:79-92.
Yun J, Kim, YS, Jung JH, Seo PJ, Park CM (2012) The AT-hook motif-containing protein AHL22 regulates flowering initiation by modifying FLOWERING LOCUS T chromatin in Arabidopsis. Journal Biology Chemistry. 287:15307-16.
Zhang S, Wang T, Lima RM, Pettkó-Szandtner A, Kereszt A, Downie JA, Kondorosi E (2023) Widely conserved AHL transcription factors are essential for NCR gene

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]

expression and nodule development in Medicago. Nature plants 9:280-288.
Zhang WM, Cheng XZ; Fang D, Cao J (2022) AT-HOOK MOTIF NUCLEAR LOCALIZED (AHL) proteins of ancient origin radiate new functions. International Journal Biology Macromolecular 214:290-300.
Zhang w, Fang D, Cheng XZ, Cao J, Tan XL (2021) Insights Into the Molecular Evolution of AT-Hook Motif Nuclear Localization Genes in *Brassica napus*. Frontiers in Plant Science 12:714305.
Zhao J, Favero DS, Qiu J, Roalson EH, Neff MM (2014) Insights into the evolution and diversification of the AT-hook motif nuclear Localized gene family in land plants. BMC Plant Biology 14:266.
Zhao J, Faveroa DS, Pengb H, Neffa MM (2013) *Arabidopsis thaliana* AHL family modulates hypocotyl growth redundantly by interacting with each other via the PPC/DUF296 domain. PNAS 110:4688-97.
Zhao L, Lü Y, Chen W, Yao J, Li Y, Li Q, Pan J, Fang S, Sun J, Zhang Y (2020) Genome-wide identification and analyses of the AHL gene family in cotton (Gossypium) BMC Genomics 21:69.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-17]