

Analiza sekwencji promotorowych genów RelA/SpoT Homolog (RSH) u wybranych gatunków roślin uprawnych z rodzin amarylkowate (*Amaryllidaceae* J.St.-Hill) i kapustowate (*Brassicaceae* Burnett)

Autor: Weronika Dembińska, kl. 2b

Uniwersyteckie Liceum Ogólnokształcące w Toruniu

Opiekun: mgr Bożena Kmiecik

Streszczenie

Celem poniższej pracy była analiza promotorów genów RSH1 u *Brassica napus*, *Brassica oleracea*, i *Raphanus sativus* z rodziny *Brassicaceae* Burnett oraz *Allium sativum* z rodziny *Amaryllidaceae* J.St-Hill. Do jakościowego i ilościowego oznaczenia zawartości motywów w sekwencjach u poszczególnych gatunków wykorzystano metodę in silico. Wyniki przedstawiono na wykresach w formie udziału procentowego motywów o danej funkcji. Analiza wykazała zarówno podobieństwa i różnice w procentowym składzie CRE o danych funkcjach w promotorach genów RSH1 u badanych gatunków, jak i również ukazała różnorodność rodzajów CRE obecnych w badanych sekwencjach.

Wstęp

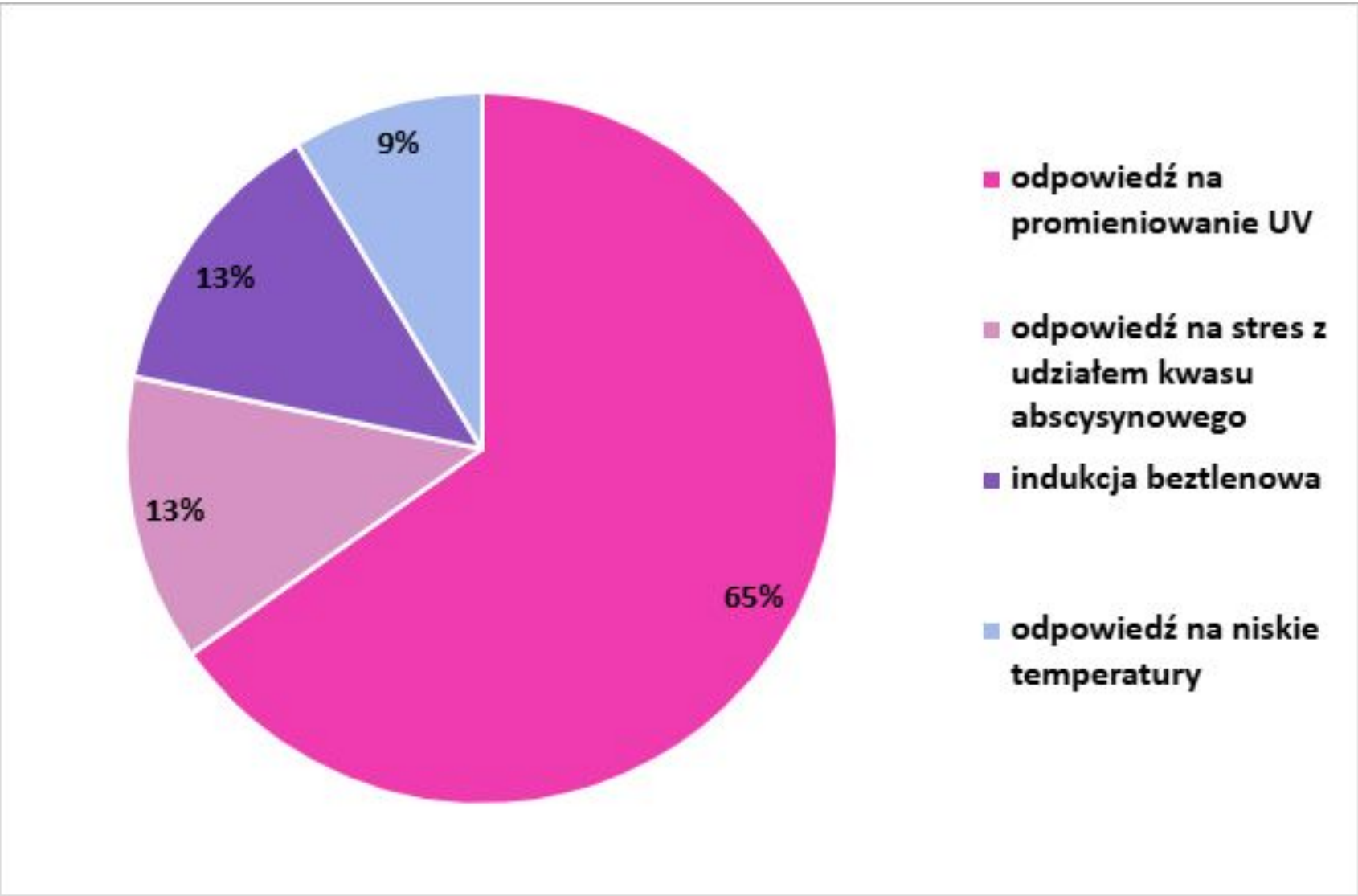
Rośliny wykształciły mechanizmy dostosowujące je do trudnych warunków środowiska, w tym odpowiedź ścisłą (ang. stringent response), która opiera się na alarmonach - głównie guanozyno tetra- i penta fosforanach - pp(p)Gpp. Za hydrolizę alarmonów odpowiadają białka kodowane przez gen RSH1 z grupy genów RSH (RelA/SpoT Homolog), pierwotnie opisanej u *Escherichia coli*. Alarmony kontrolują aktywność metaboliczną rośliny, w tym proces fotosyntezy oraz rozprowadzanie składników odżywczych tam, gdzie są potrzebne, więc regulują jej wzrost i rozwój[1]. *Brassica napus*, *Brassica oleracea*, *Raphanus sativus* oraz *Allium sativum* to rośliny uprawne, są istotne dla przemysłu paliwowego, nauki i medycyny - mają właściwości przeciwnowotworowe, są obiektem wielu badań [2,3,4]. Sekwencje promotorowe genów znajdujące się powyżej miejsca rozpoczęcia transkrypcji zawierają elementy cis-regulatorowe (CRE), które za pośrednictwem czynników transkrypcyjnych kontrolują ekspresję danego genu[5]. Celem pracy było potwierdzenie hipotezy, że promotory genów RSH1 różnią się pomiędzy gatunkami pod względem CRE w nich występujących.

Materiały i metody

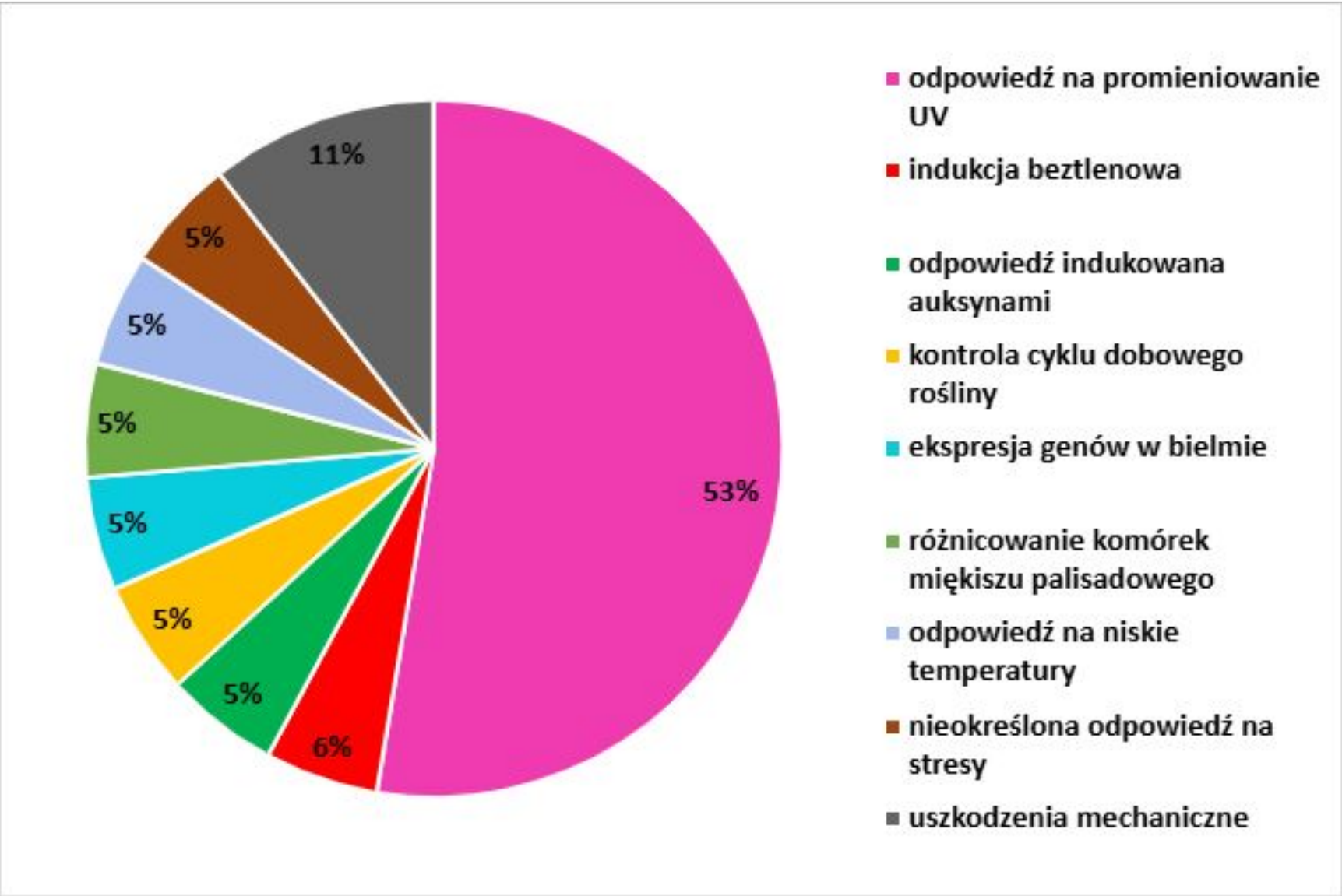
Sekwencje promotorowe genów RSH1 wybranych trzech gatunków z rodziny *Brassicaceae* Burnett o długości 2000pz pozyskano w formacie FASTA z bazy danych NCBI[8]. Pozycję genu RSH1 u *Allium sativum* otrzymano ze strony Allium DB[7], następnie na podstawie położenia genu w genomie pozyskano sekwencję jego promotora o długości 2000pz w formacie FASTA z bazy danych NCBI[8]. Sekwencje promotorowe poddano analizie przy użyciu programu PlantCARE[9] w celu oznaczenia w nich konkretnych elementów regulatorowych. Wyniki opracowano: oznaczono zawartość procentową elementów regulatorowych o danych funkcjach w genach RSH1, porównano te wartości między badanymi gatunkami oraz wyciągnięto wnioski z otrzymanych wyników.

Wyniki

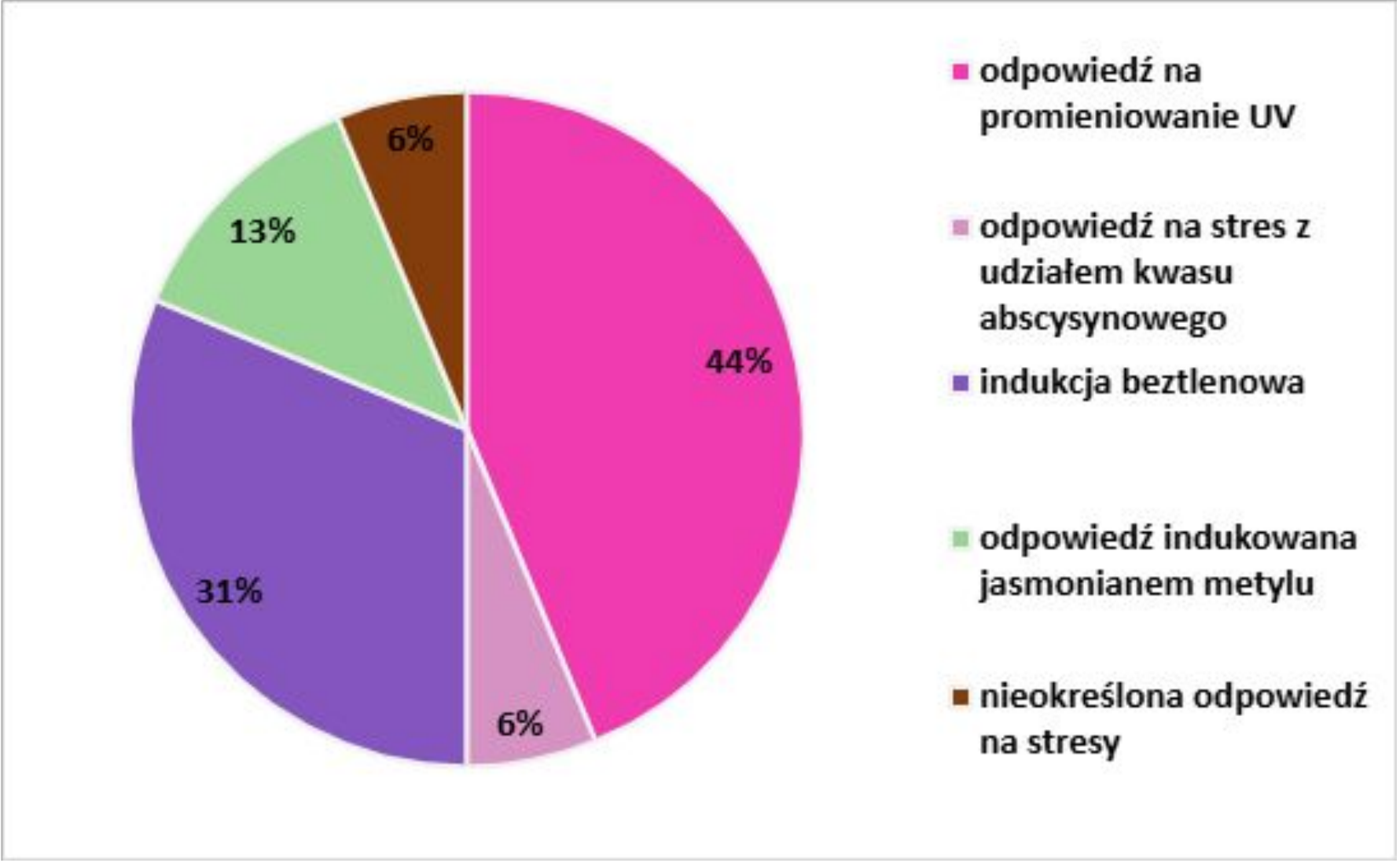
Sekwencje promotorowe z oznaczonymi CRE przeanalizowano pod względem jakościowym i ilościowym. Na wykresach kołowych przedstawiono procentowy udział elementów regulatorowych o danej funkcji w promotorze. Za 100% przyjęto wszystkie elementy znalezione przez program PlantCARE[9] o oznaczonej funkcji. W statystykach pominięto motywy TATA-box oraz CAAT-box, ponieważ są to elementy typowe dla każdej sekwencji promotorowej.



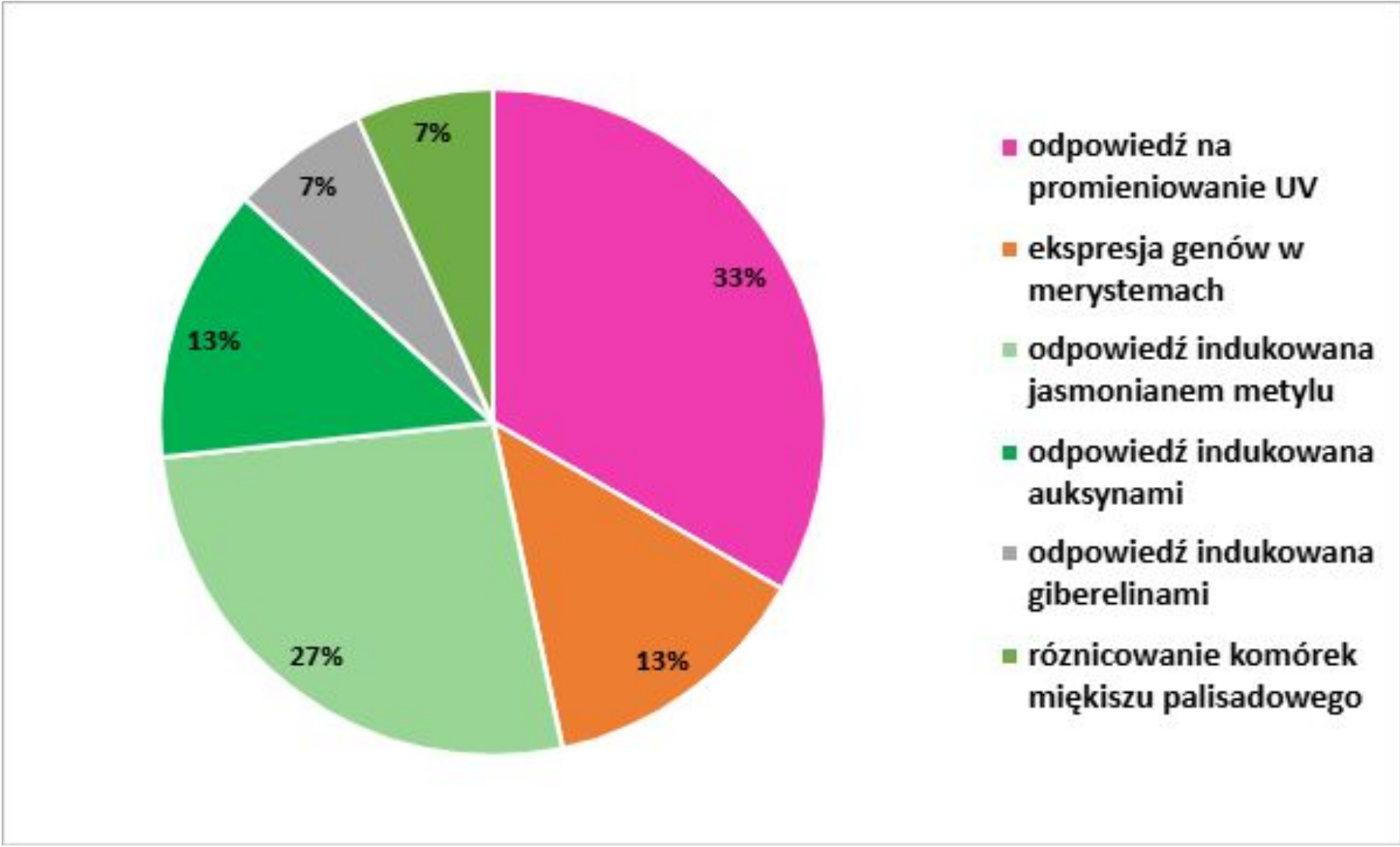
Ryc.1 Udział elementów cis-regulatorowych (motywów) w promotorze genu RSH1 u *Brassica napus* w odniesieniu do ich funkcji



Ryc.2 Udział elementów cis-regulatorowych (motywów) w promotorze genu RSH1 u *Brassica oleracea* w odniesieniu do ich funkcji



Ryc.3 Udział elementów cis-regulatorowych (motywów) w promotorze genu RSH1 u *Raphanus sativus* w odniesieniu do ich funkcji



Ryc.4 Udział elementów cis-regulatorowych (motywów) w promotorze genu RSH1 u *Allium sativum* w odniesieniu do ich funkcji

Dyskusja

Udział procentowy poszczególnych CRE różni się między analizowanymi gatunkami, ale można dostrzec też cechy wspólne. U każdego gatunku dominują elementy dotyczące odpowiedzi rośliny na światło, co pokazuje jak ważny jest to czynnik do ich funkcjonowania. Wykresy ukazują różnice między promotorami roślin w zależności od ich rodziny i rodzaju. *Allium sativum*, jedyny przedstawiciel rodziny *Amaryllidaceae* J.St-Hill, ma promotor RSH1 różniący się od promotorów RSH1 badanych roślin z rodziny *Brassicaceae* Burnett posiadając większy od reszty udział elementów związanych z odpowiedzią indukowaną hormonami roślinnymi(Ryc. 1,2,3,4).

Różnica jest widoczna również między promotorem u *Raphanus sativus* a tymi u gatunków z rodzaju *Brassica* - nie zawiera elementów związanych z odpowiedzią na niskie temperatury (prawdopodobnie nie wykształcił aż tak zaawansowanej na nie odpowiedzi)(Ryc.1,2,3).

W promotorach *Raphanus sativus* oraz *Brassica napus* występują elementy związane z odpowiedzią na stres z udziałem kwasu abscysynowego (ABA), co oznacza, że u tych gatunków geny RSH1 są indukowane pod jego wpływem[5](Ryc. 1,3). Ponadto, u *R.sativus* L. i *A.sativum* L. widzimy elementy dotyczące odpowiedzi indukowanej MeJA (jasmonianem metylu), ten fitohormon chroni rośliny przed stresem oksydacyjnym i czynnikami biotycznymi co wskazuje na wykształcenie przez te gatunki mechanizmów łączących hydrolizę pp(p)Gpp z ochroną przed powyższymi czynnikami[6](Ryc. 3,4). Wyniki badań pozwolą na skuteczniejszą pracę nad odpornością organizmów na poziomie genetycznym. Jest to szczególnie ważne w walce z zagrożeniami, takimi jak zmiany klimatyczne, rosnące zapotrzebowanie na żywność, czy wyczerpywanie się nieodnawialnych źródeł energii. Metoda in silico bazuje na narzędziach bioinformatycznych, w oparciu o gotowe bazy danych. Wnioski warto więc potwierdzić doświadczeniami.

Literatura

- Dąbrowska GB, Turkan S, Tylman – Mojżeszek W, Mierek – Adamska A (2021) In silico study of the rsh (Rela/spot homologs) gene family and expression analysis in response to pgpr bacteria and salinity in *Brassica napus*. International Journal of Molecular Sciences, 1;22(19):10666
- Hafidh RR, Abdulmir AS, Bakar FA, Jalilian FA, Jahanshiri F, Abas F, Sekawi Z (2013). Novel anticancer activity and anticancer mechanisms of *Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra. European Journal of Integrative Medicine, 5(5), 450-464.
- Nouroz F, Mehboob M, Noreen S, Zaidi F, Mobin T. (2015). A review on anticancer activities of garlic (*Allium sativum* L.). Middle East Journal of Scientific Research, 23(6), 1145-1151.
- Sorial AM (2022). Anticancer and Antioxidant Effects of *Brassica napus* and *Raphanus sativus* Seed Oils against Chemically Induced Liver Cancer in Rats. EC Veterinary Science, 7, 16-36.
- Wdowikowska A (2018) Charakterystyka sekwencji promotorowych w genach roślinnych i rola czynników transkrypcyjnych w odpowiedzi na stres abiotyczny i biotyczny. Postępy biologii komórki, TOM 45 2018 NR 3 (247-264).
- Yu XiaXia YX, Zhang WenJin ZW, Zhang Yu ZY, Zhang XiaoJia ZX, Lang DuoYong LD, Zhang XinHui ZX. (2019). The roles of methyl jasmonate to stress in plants. Functional Plant Biology, 46(3), 197-212
- Pengtao Yang, Yu Yuan, Chao Yan, Yue Jia, Qi You, Lingling Da, Ao Lou, Bingsheng Lv, Zhonghua Zhang, Yue Liu. (2024). AlliumDB: A central portal for comparative and functional genomics in Allium. Horticulture Research. doi: 10.1093/hr/uhad285.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI)[Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [1988] – [cited 2024 December 29]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- PlantCARE: a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. Lescot, M., Déhais, P., Moreau, Y., De Moor, B., Rouzé ,P.,and Rombauts, S., Nucleic Acids Res., Database issue(2002), 30(1):325-327.