



ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

تنظیمات الگودهی گل توسط ژن های زمان گلدهی

خلاصه

الگودهی گل در *Arabidopsis* نیاز به فعال سازی ژن های رشد ساختارهای خاص گل توسط ژن هویت بافت جنینی گل، *LEAFY (LFY)* دارد. در اینجا ما نشان می دهیم که فعال سازی دقیق ژنهای رشد ساختارها خاص کلاس B و C در بافت جنینی گل توسط سه ژن زمانی گلدهی، *SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP)*، *AGAMOUS-LIKE 24* و *CONSTANS OF OVEREXPRESSION OF SUPPRESSOR (SOC1)* از طریق کنترل مستقیم تنظیم کننده همزمان *LFY*، *SEPALLATA3 (SEP3)* تنظیم می شود. سرکوب هماهنگ شده *SEP3* توسط *SVP* و *AGL24* و *SOC1* به واسطه به کارگیری دو تنظیم کننده تعاملی *Terminal Flower 2* / *LIKE* پروتئین هتروکروماتین ۱ و *SAP18*، عضو پیچیده *histone deacetylase SIN3* صورت می گیرد. یافته های ما از تنظیمات هماهنگ *SEP3* توسط ژن های زمانی گل نشان دهنده یک مسیر ژنتیکی ناشناخته است که مانع از تمایز زودرس از بافت جنینی گل می شود و زمانبندی مناسب الگودهی اندام گل را تعیین می کند.

مقدمه

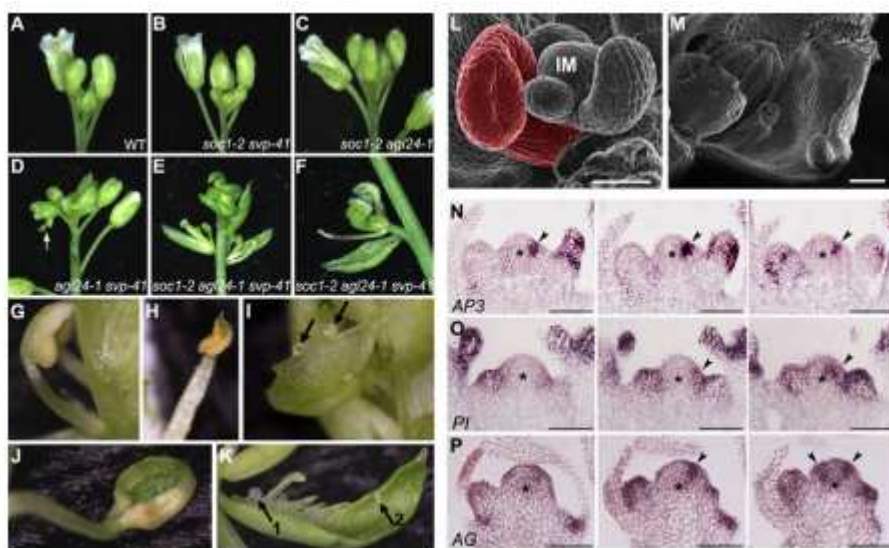
هر چند گل های تولید شده از گونه های مختلف گیاهی به طور گسترده متنوع هستند، مکانیزم های ژنتیکی و مولکولی مورد نظر که رشد گل را تنظیم می کنند عمدتاً حفظ می شوند. در *Arabidopsis*، درک ما از مکانیسم های کنترل کننده رشد گل در مدل "ABC" خلاصه می شود که توضیح می دهد که چگونه هر حلقه از اندام های گل توسط یک عمل ترکیبی از ژن های رشد ساختارهای خاص گل در کلاس های A، B و C تعیین می شود (Bowman و همکاران، ۱۹۹۱، Coen و Meyerowitz، 1991). کشف بیشتر ژن های *SEPALLATA* (مهر) منجر به مدل تجدید نظر شده "ABCE" می شود که در آن ژن های *SEP* کلاس E به طور زائد با دیگر ژن های

رشد ساختارها در مشخص نمودن اندام گل عمل می کنند (Ditta و همکاران، ۲۰۰۴، Pelaz و همکاران، ۲۰۰۱؛ Theissen و Saedler، 2001).

یک تنظیم کننده کلیدی در الگودهی اولیه گل، ژن هویت جنینی گل، LEAFY (LFY) است که در سراسر بافت جنینی جوان گل ظاهر می شود و ژن های مختلف جنینی گل را در ترکیب با تنظیم کننده های دیگر فعال می کند (Parcy و همکاران، ۱۹۹۸، ۱۹۹۲). LFY به طور مستقیم APETALA1 (AP1) را فعال می کند که نقش دوگانه ای را در تعیین بافت جنینی گل بازی می کند و به عنوان یک ژن از طبقه A برای تعیین هویت اندامهای پوشش گل عمل می کند (Mandle و همکاران، ۱۹۹۲؛ Wagner و همکاران، ۱۹۹۹). فعال سازی ژن کلاس B، APETALA3 (AP3)، که گلبرگ و پرچم ها را مشخص می کند، نیاز به عمل هماهنگ ارگان های AP1، LFY و غیرمعمول گل و ژن کادر F دارد (Ng و Yanofsky، 2001؛ Parcy و همکاران، ۱۹۹۸). LFY نیز با یک ژن homeobox، WUSCHEL (WUS) برای فعال کردن این ژن کلاس C، AGAMOUS (AG) همکاری می کند که هویت پرچم ها و برچه ها را مشخص می کند (Lenhard و همکاران، ۲۰۰۱، Lohmann و همکاران، ۲۰۰۱). این مشاهدات یک نقش ضروری از LFY را در واسطه گری الگودهی اولیه گل اثبات نموده است که منجر به ظهور محدود ژن های رشد ساختارهای خاص گل شرح داده شده در مدل ABC می شود.

اگر چه بیان ژن های کلاس C و B در جهش های خالی Ify-6 کاهش می یابد، ظهور آنها لغو نمی شود (Weigel و Meyerowitz، 1993) که نشان می دهد که برخی عوامل دیگر نیز ممکن است در فعال شدن ژن رشد ساختارهای خاص گل کمک نمایند. در این مطالعه، ما گزارش می کنیم که یک مسیر ژنتیکی با واسطه سه ژن زمانی گلدهی، OVEREXPRESSION OF SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP), SUPPRESSOR OF CONSTANS 1 (SOC1), and AGAMOUSLIKE (AGL24) ۲۴ برای تنظیم الگودهی اولیه گل در Arabidopsis مورد نیاز است. این سه ژن، رمزگذاری فاکتورهای مرتبط کادر MADS مرتبط در کنترل زمان گلدهی را انجام می دهند (Hartmann و همکاران، ۲۰۰۰؛ Lee و همکاران، ۲۰۰۰؛ Michaels و همکاران، ۲۰۰۳؛ Yu و همکاران، ۲۰۰۲). در بافت های جنینی در حال ظهور گل، بیان این ژن ها به طور معمول توسط AP1

برای جلوگیری از معکوس شدن بافت جنینی گل به ساختارهای مختلف ساقه تنظیم می شود (Liu و همکاران ، ۲۰۰۷؛ Yu و همکاران، ۲۰۰۴). جهش های تک و دابل آنها، به جز برای *agl24-2* - *SVP-41*، گل های طبیعی را تحت درجه حرارت رشد استاندارد تولید می کند که در آن چند گل در موقعیت های اساسی گل آذین، نقایص خفیف گل را نشان می دهند (Gregis و همکاران ، ۲۰۰۶). نقایص توسط رشد در دمای بالاتر (مثلا ۳۰ C) و یا در پس زمینه جهش های *AP1* ارتقا می یابند که نشان دهنده دخالت *AP1* و زمان گلدهی این ژن در رشد گل است. با بررسی نقایص چشمگیر گل در سه جهش *SVP-41 agl24-1 soc1-2*، ما دریافتیم که این سه ژن زمان گلدهی، الگودهی گل را مستقیماً با جلوگیری از ظهور نابجای *SEP3*، یک عضو از ژن های کلاس E، کنترل می کنند که با *LFY* برای فعال سازی بیان ژن های کلاس B و C در بافت جنینی گلدهی در مرحله ۳ عمل می کند. برای حفظ کروماتین *SEP3* در حالت سکوت، *SVP* در تعامل با ترمینال گل *LIKE/۲* هتروکروماتین پروتئین ۱ (*TFL2/LHP1*) برای مدوله نمودن H3 histone trimethylation $H3K27me3$ عمل می کند در حالی که *SOC1* و *AGL24* با *SAP18*، عضو مجموع *Sin3 /deacetylase* histone (HDAC) برای مدوله نمودن histone استیله شده H3 ارتباط برقرار می کنند. نتایج ما نشان می دهد که سرکوب هماهنگ *SEP3* با ژن گلدار زمانی، مانع از تمایز زودرس از بافت جنینی گل و تعیین زمان الگودهی اندام گل می شود.



شکل ۱. نقایص *agl24-1 SVP-41 soc1-2* گل

(A-E) راس گل آذین از نوع وحشی (A)، (B) soc1 -2 SVP -41، (C) soc1 -2 agl24 -1، (D) 1-41، و (E) soc1 -2 agl24 -1 SVP -41. پیکان (فلش) نشان دهنده تغییر شکل گلبرگ در- agl24 SVP -41 1 است.

(F) هر ساختار گل ۲ soc1 agl24 - 1 SVP - 41 توسط یک برگچه زیرگل گنجانده می شود.

(G-K) تحول رشد ساختارهای اندام گل در (G) A petaloid . soc1 -2 agl24 - 1 SVP -41 .

(H) یک پرچم با نوک سبز.

(I) کاسبرگ carpelloid. فلش ها، تخمک را بر روی لبه نشان می دهد. (J) یک پرچم کاسبرگی. توجه داشته باشید که این حفره تا حدی توسعه یافته است. (K) برگه carpelloid با یک تخمک (فلش ۱) و بافت بد (فلش ۲) بر روی لبه آن.

(L و M) اسکن تحلیل الکترومیکروگراف یک کاکل گل آذین (L) و کاسبرگ carpelloid با تخمک و کلالة (M) (L) . soc1 -2 agl24 - 1 SVP -41 یک پرچم برجسته شده به رنگ قرمز به طور مستقیم از بافت جنینی گل آذین (IM) پدیدار می شود. میله های مقیاس، ۱۰۰ میکرو متر. (N-P) هیبریداسیون در محل که نشان دهنده ظهور نابجای AP3 (N)، PI (O)، و AG (P) در بخش های سریال کاکل گل آذین از soc1 -2 agl24 - 1 SVP -41 است. فلش ها، ظهور نابجای آنها را در ابتدای گل نشان می دهد. ستاره ها نشان دهنده بافت جنینی گل آذین است. میله های مقیاس، ۱۰۰ میکرو متر هستند.

نتایج

SOC1، AGL24، و SVP به طور زائد، رشد گل را تنظیم می کنند

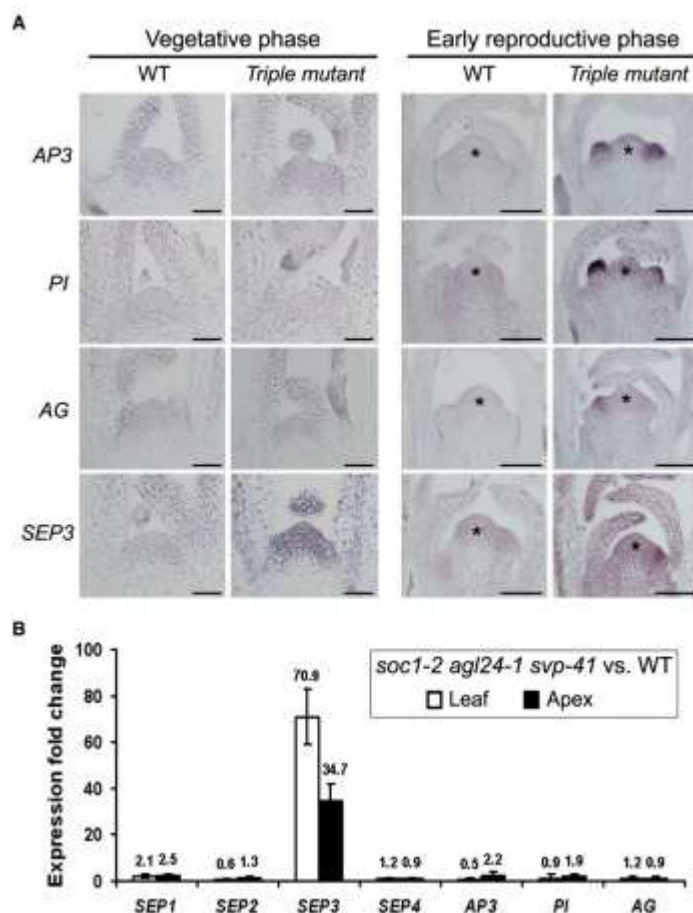
مطالعه قبلی ما در مورد ژن های زمان گلدهی، منجر به تولید ترکیبات مختلف جهش ها در میان soc1 2 agl24 - 1، و SVP -41 می شوند. (Li و همکاران، ۲۰۰۸). در میان تمام جهش های تک و دوبل، تنها گل های agl24 -1 SVP -41 نقایص خفیفی را نشان می دهند از جمله ارگان های گل کاهش یافته و تولید گاه به گاه گلبرگ تغییر شکل یافته در دمای رشد استاندارد (۲۲ C) (شکل 1D-A). جدول S1 به صورت آنلاین در دسترس است) که

سازگار بامشاهدات قبلی (Gregis و همکاران ، ۲۰۰۶) بود. با این حال، جهش سه گانه soc1 -2 agl24 -1 SVP -41، نقایص قابل توجه گل را با افت بسیاری از ارگان های گل و تولید ساختارهای مختلف بی اساس گل نشان داد (S1 جدول اشکال E1 و G - 1M1). شدت رشد این فنوتیپ ها از بالا به پایین افزایش می یابد. علاوه بر این، هر یک از ساختارهای گل در soc1 -2 agl24 -1 SVP -41 توسط یک برگه (شکل F1) گنجانده می شود. فنوتیپ های گل soc1 -2 -1 agl24 SVP - 41 توسط ژن حاوی هر قطعه ژنومی SOC1، AGL24 یا SVP (شکل S1) نجات داده می شوند که نشان می دهد که این ژن ها نقش های اضافی را در تنظیم رشد گل بازی می کنند.

ژن های کلاس B و C در soc1 -2 agl24 - 1 SVP -41 تنظیم زدایی می شوند.

برای بررسی این مورد که آیا نقایص گل در soc1 -2 agl24 - 1 SVP -41 با توجه به تنظیم زدایی ژن های رشد ساختارهای خاص گل است، ما هیبریداسیون را در محل برای تشخیص بیان ژن های رشد ساختارهای خاص گل در کاکل گل آذین انجام می دهیم. برای ژن های کلاس A، APETALA2 (AP2) در یک الگوی مشابه با الگوی نوع وحشی و گیاهان بیان شد، در حالی که AP1 الگوی ظهور مشابهی را به نمایش گذاشت اما با شدت کمی کاهش یافت (شکل S2)، که احتمالاً به دلیل فرونشاندن شدن توسط فعالیت نابجای AG است (پایین را ببینید) (Brwon - Gustafson و همکاران، ۱۹۹۴). با این حال، دو ژن کلاس B، AP3 و PISTILLATA (PI)، و یک ژن کلاس C، AG، به طور نابجا در ابتدای گل در بافت جنینی گل آذین ظاهر شدند و به طور نامنظم در بافت های در حال ظهور جنینی گل قبل از مرحله ۳ ظاهر شدند (شکل N - 1P1) (SMYTH و همکاران، ۱۹۹۰). این مورد با ظهور آنها در گیاهان نوع وحشی در تضاد زیادی قرار دارد، جایی که آنها در مرحله ۳ بافت جنینی گل شروع به ظهور می نمایند (Meyerowitz، 1994، Jack و همکاران، ۱۹۹۲؛ Yanofsky و همکاران، ۱۹۹۰) چنین تنظیم زدایی در ژن های جنینی کلاس C B در جهش های دوپل (داده ها نشان داده نشده است) مشاهده نشد، که نشان می دهد که SOC1، SVP، و AGL24 به طور زائد، ظهور کلاس B و C را در ژن های بافت جنینی گل جوان کنترل می نمایند، قبل از اینکه الگودهی گل رخ دهد.

ما علاوه بر این بررسی می کنیم که آیا ژن های کلاس B و C توسط *SVP*، *SOC1* و *AGL24* در دیگر زمینه های رشد تنظیم می شوند یا خیر. در *soc1-2 agl24-1 SVP-41*، نه ژن های کلاس C و نه ژن های کلاس B به طور نابجا در طول مرحله رویشی ظاهر نمی شوند، بلکه آنها در مرحله ۱ بافت جنینی گل بلافاصله پس از انتقال گل به نظر می رسند (شکل A۲). این نشان می دهد که تنظیم زدایی ژن های کلاس B و C در *soc1-2 agl24-1 SVP-* در 41 همزمان با رشد زایشی است. جالب توجه است که زمانی که گل آذین *SVP soc1-2 agl24-1-41* پیچیده می شوند، ظهور نابجای *AP3* عمدتاً بدون تغییر باقی ماند، در حالی که حوزه و شدت ظهور نابجای *AG* به تدریج در کاکلهای (شکل S3) افزایش می یابد. چنین بیانی از مشخصات با مشاهداتی سازگار بود که ساختارهای *carpeloid* از پایین به بالا در گل آذین از جهش سه گانه (جدول S1) افزایش می یابند.



شکل ۲. ظهور نابجای ژن های رشد ساختارهای خاص گل در *soc1-2 agl24-1 SVP-41*

(A) موضع یابی ژن های رشد ساختارهای خاص گل در کاکل ساقه نوع وحشی و گیاهان soc1-2 agl24-1 SVP-41 در طول مراحل رویشی و اوایل باروری. ستاره ها، گل آذین بافت جنینی را نشان می دهد. میله مقیاس، ۵۰ میلی متر (کاکل رویشی)، ۱۰۰ میلی متر (کاکل باروری).

(B) تغییر بیان ژن رشد ساختارهای خاص گل در soc1-2 agl24-1 SVP-41 ۹ روزه در برابر رشد آن در تخم های نوع وحشی. لپه ها و برگ های روزت شامل دمبرگ به صورت "برگ" جمع آوری می شوند،" در حالی که بافت های هوایی دیگر به صورت کاکل جمع آوری می شوند." مقدار متوسط این تغییر در بالای هر ستون نشان داده شده است. میله های خطا، SD را نشان می دهد.

زمانی که ساختارهای carpelloid و تحول رشد ساختارهای کاسبرگ به گلبرگ هنوز در soc1-2. agl24-1 SVP-41 ap3-3 و soc1-2 agl24-1 SVP-41 AG-1 مشاهده می شود (شکل S4)، تنظیم زدایی کلاس B و C ژن ها در soc1-2 agl24-1 SVP-41 حداقل تا حدی مستقل از یکدیگر است. این نتایج، همراه با مشاهده فعال سازی همزمان ژن های کلاس B و C در soc1-2 agl24-1 SVP-41 (شکل A2، شکل S3)، حاکی از آن است که یک مکانیسم هماهنگ با میانجیگری این ژن زمان گلدهی می تواند هر دو کلاس B و C ژن را در بافت جنینی گل تنظیم نماید. از آنجا که سنجش کروماتین (ChIP)، پیوند SOC1، SVP و AGL24 را به ارتقادهنده های کلاس B و C از ژن ها نشان نداد، تعامل آنها می تواند به واسطه عامل (ها) دیگری صورت گیرد.

SEP3 توسط SOC1، AGL24، و SVP فرونشاندن می شود

برای شناسایی تنظیم کننده هایی که واسطه تنظیم ژن های کلاس B و C توسط SOC1، SVP، و AGL24 هستند، ظهور تنظیم کننده های شناخته شده ژن های کلاس B و C، از جمله LEUNIG (LUG) (Liu و Meyerowitz، 1995)، SEUSS (SUE) (Franks و همکاران، ۲۰۰۲) و SEP3 را بررسی نمودیم (Castillejo و همکاران، ۲۰۰۵) و متوجه شدیم که تنها ظهور SEP3 به طور نابجا در هر دو کاکل رویشی و گل آذین از جهش سه گانه ظاهر می شود (شکل A2؛ داده ها نشان داده نشده است). علاوه بر این، ما متوجه شدیم که در میان تمام ژن های آزمایش شده رشد ساختارهای خاص گل، تنها SEP3 در برگ ها و کاکل تخم ۹ روزه - 2 agl24 - soc1 - 41 SVP - 1 در مرحله انتقالی گل (شکل B2) به طور قابل توجهی مورد تنظیم مثبت قرار گرفته اند. بررسی بیشتر تخم های ۶ روزه نشان داد که SEP3 در SVP 41 دارای تنظیم مثبت است و بیشتر در soc1 - 2 SVP - 41

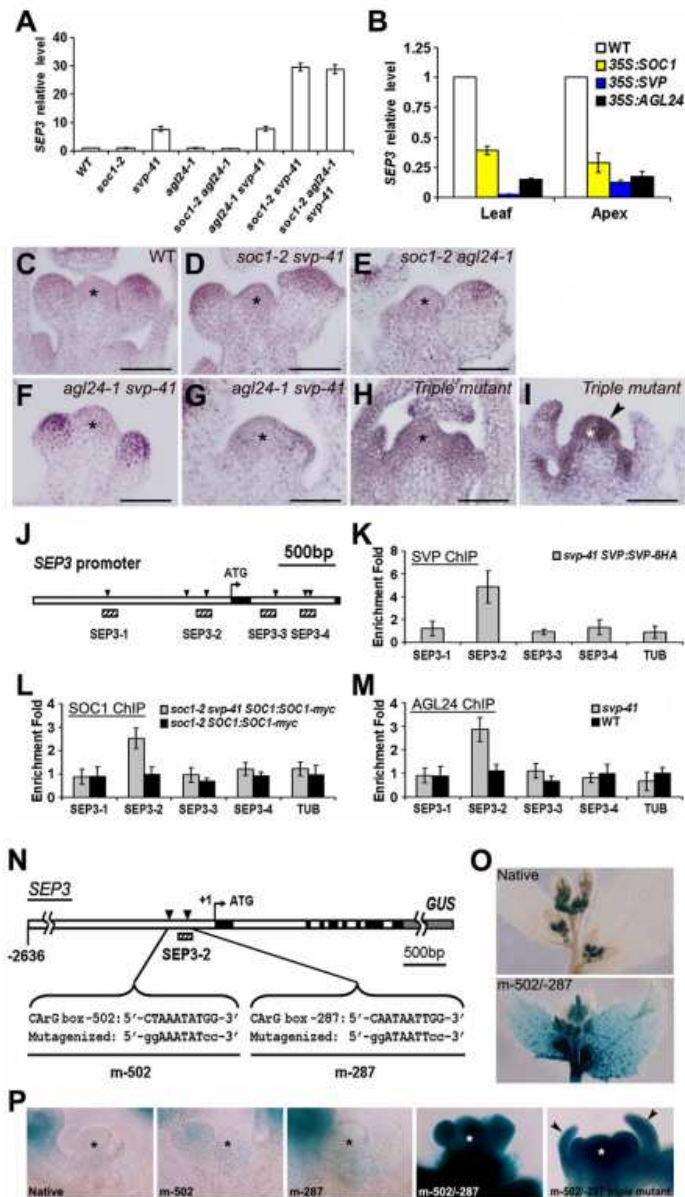
تقویت می شود (شکل A۳). زمانی که AGL24 عمدتاً در کاکل ساقه تخم جوان ظاهر شود (Liu و همکاران ، ۲۰۰۸)، اثر افت عملکرد آن روی SEP3 در تخم کل مشاهده نمی شود. بر خلاف انتظار، ظهور بالای SOC1، SVP، یا AGL24 همه و همه به طور چشمگیری SEP3 را به طور قابل توجهی در برگ و ساقه کاکل فرو می نشاند (شکل B۳).

علاوه بر این ما ظهور SEP3 را در کاکل گل آذین در جهش های مختلف مقایسه نمودیم. در گیاهان نوع وحشی، ظهور SEP3 برای اولین بار در بخش فوقانی در اواخر مرحله ۲ در بافت جنینی گل آشکار شد (Mandle و Yanofsky، 1998)، که با ظهور آن در soc1 - 2 SVP -41 و soc1 - 2 agl24 - 1 قابل مقایسه بود (اشکال 3E۳ - C و S6). در SVP- 41 ، ظهور نابجای SEP3 در agl24 - 1 در مرحله ۱ و ۲ بافت جنینی گل گلدهی گل آذین مشاهده شد، اما در گل آذین دارای ارتفاع ۱۰ سانتی متر مشاهده نشد (شکل F۳ و G۳ و شکل S6). در soc1 - 2 agl24 - 1 SVP -41 ، ظهور نابجای SEP3 در بافت جنینی کاکل و بافت جنینی مرحله ۱ گل از گل آذین قابل تشخیص بود، و در بافت جنینی کاکل گل آذین با ۱۰ سانتی متر ارتفاع قوی تر بود، به خصوص در ابتدای گل (اشکال H۳ و I۳ ، شکل S6). این روند از تغییرات در الگوهای ظهور SEP3 در گلدهی گل آذین به خوبی با فنوتیپ agl24 1 SVP -41 یا soc1 - 2 agl24 - 1 SVP -41 در ارتباط بود، زمانی که نقایص گل از پایین به بالا در مورد قبلی برطرف شده بودند، در حالی که در دومی تشدید شده بودند (جدول S1). این مشاهدات نشان می دهد که SEP3 به طور زائد توسط SOC1، SVP، یا AGL24 فرونشاندن شده است و نشان می دهد که ظهور نابجای SEP3 ممکن است به نقایص گل در soc1 - 2 agl24 - 1 SVP -41 کمک نماید.

SOC1، AGL24 و SVP را از طریق اتصال به یک ناحیه پرموتور فرو می نشاند

ما سنجش های ChiP بیشتری را برای بررسی اینکه آیا SOC1، AGL24 و SVP به طور مستقیم ظهور SEP3 را کنترل می کنند انجام دادیم. ما دنباله های ژنومی SEP3 را برای موضوع CC (A / T) 6GG (CARG) ، یک محل اتصال استاندارد برای پروتئین های حوزه MADS، با حداکثر عدم تطابق نوکلئوتید و پرایمرهای طراحی شده در نزدیکی زمینه های مشخص شده برای اندازه گیری غنی سازی DNA اسکن نمودیم (شکل J۳). SVP-6HA با

منطقه ای در نزدیکی قطعه SEP3-2 (شکل K۳) مرتبط بود، در حالی که SOC1 Myc و AGL24 با همان منطقه در غیاب SVP (3L و M۳) مرتبط بودند. این نشان می دهد که SVP یک سرکوبگر اولیه SEP3 است، در حالی که SOC1 و AGL24 به طور زائد عمل می کنند. این مورد مطابق با تجزیه و تحلیل ظهور است که نشان می دهد که SVP قویترین اثر را در سرکوب SEP3 (شکل B۳ و 3A) داشته است.



شکل ۳. SEP3 توسط AGL24 SVP، و SOC1 سرکوب می شود

ظهور SEP3 (A و B) در جهش های ۶ روزه (A) یا تخم های تراریخت با بیان بالا (B). بافت های گیاهی در (B) همانطور که در شکل B۲ توصیف شده اند، جدا می شوند. سطح ظهور SEP3 در نوع وحشی به عنوان ۱ تنظیم شده است. میله خطا نشان دهنده SD است.

(C-E) موقعیت یابی در آزمایشگان در مورد ظهور SEP3 در کاکل گل آذین از نوع وحشی، (C)، soc1 - 2 SVP - 41 و (D) soc1 - 2 agl24 - 1 (E). در این گیاهان، الگوی بیان SEP3 با گل آذین ها در ارتفاع های مختلف، سازگار باقی مانده است.

(F-I) موقعیت یابی در محل در مورد ظهور SEP3 در کاکل گل آذین از agl24 1 SVP - 41 (F و G) و soc1 - 2 agl24 (I) 41 SVP - 1 (H و F). (H و I) انتهای گل آذین. (G و I) انتهای گل آذین ها با ارتفاع ۱۰ سانتی متر. نوک پیکان در (I) نشان دهنده ظهور SEP3 های قوی در ابتدای گل است. ستاره (C) - (I) نشان دهنده گل آذین بافت جنینی است. میله ها در مقیاس بزرگ در (C) (I) - ، 100 میکرومتر هستند.

(J) دیگرام شماتیک پروموتور SEP3. فلش خم شده نشان دهنده شروع محل انتقال است. اگزون ها و اینترون ها توسط کادرهای سیاه و سفید نشان داده شده اند. سر فلش ها نشان دهنده محل های حاوی هر یک از عدم تطابق یا تطبیق کامل رشته اتصال اجماع (CARgbox) برای پروتئینهای حوزه MADS است. کادرهای هاشورزده شده نشان دهنده قطعه های DNA تکثیر شده در سنجش های Chip است.

(K) تجزیه و تحلیل ChiP برای SVP متصل به پروموتور SEP3. کاکل گل آذین 41 SVP - 6HA SVP : SVP (Li و همکاران، ۲۰۰۸) برای سنجش ChiP برداشت شده اند.

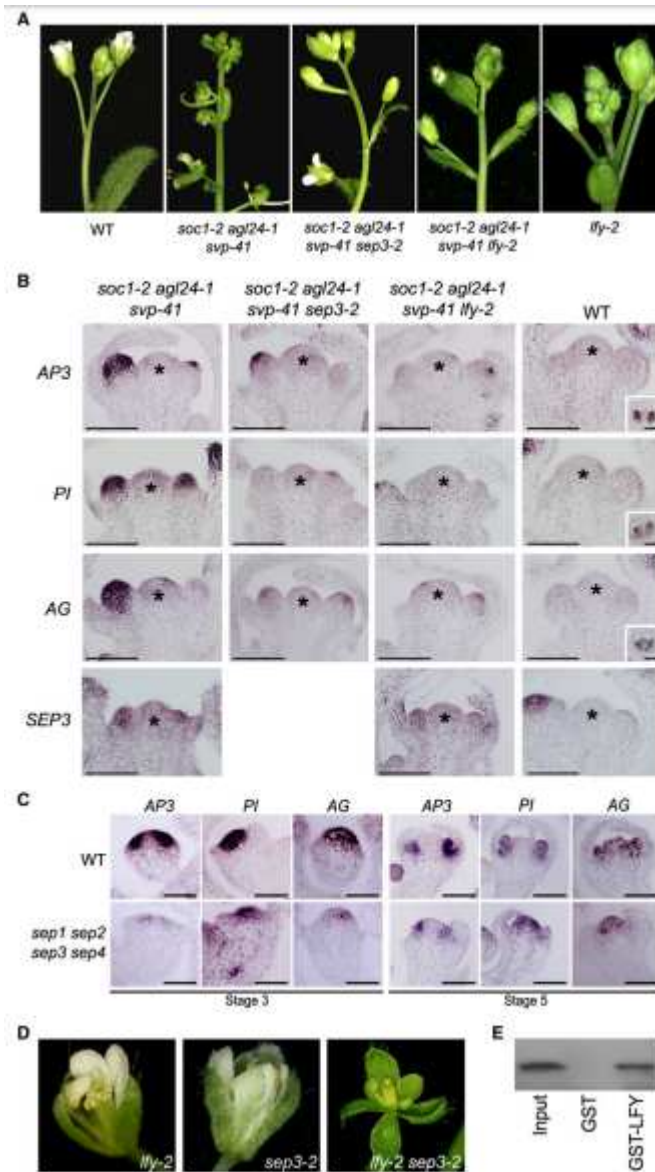
(L) تجزیه و تحلیل ChiP برای SOC1 متصل. کاکل های گل آذین SOC1 Myc : SOC1 Myc : soc1 - 2 SOC1 که نمایش دهنده فنوتیپ هایی مانند گیاهان نوع وحشی هستند، برای آزمایش ChiP برداشت شده اند. برای تست این مورد که آیا SVP روی SOC1 متصل تاثیر می گذارد، سنجش ChiP از SOC1 : soc1 - 2 SVP - 41 SOC1 Myc نیز انجام شد.

(M) تجزیه و تحلیل ChiP از AGL24 متصل. کاکل گل آذین گیاهان نوع وحشی و برای آزمایش ChiP برداشت شده اند. برای تست اینکه آیا SVP بر AGL24 متصل تاثیر می گذارد، روش SVP - 41 ChiP نیز انجام شد.

(N) نمودار شماتیک SEP3: ساختار GUS که در آن یک قطعه SEP3 ۴,۷ کیلو بایت ژنومی شامل حوزه برنامه نویسی آن با ژن GUS ترکیب شد. دو کادر CARg بومی در نزدیکی SEP3 2 به صورت نشان داده شده جهش یافته اند.

(O) رنگ آمیزی GUS برای کاکل گل آذین از ترانسفورم های حاوی GUS : SEP3 (پانل بالایی) و ساختار جهش یافته (پانل پایینی).

(P) مقایسه دقیق رنگ آمیزی GUS از کاکل آذین ترانسفورم های حاوی GUS : SEP3 و سازه جهش یافته مختلف. سر فلش ها در تصویر گذشته نشان دهنده برگچه های شامل بافت جنینی گل در soc1 - 2 agl24 - 1 SVP - 41 است. ستاره ها نشاندهنده گل آذین بافت جنینی است.



شکل ۴. نقایص گل *soc1-2 agl24-1 SVP-41* وابسته به *SEP3* و *LFY* می باشد.

(A) نقایص گل *soc1-2 agl24-1 SVP-41* تا حدی توسط *sep3-2* یا *lfy-2* رفع می شوند.
 (B) بیان نابجای *AP3*، *PI*، و *AG* در *soc1-2 agl24-1 SVP-41* توسط *sep3-2* یا *lfy-2* سرکوب می شود. دهانه ها نشانه‌دهنده ظهور زن های رشد ساختارهای خاص گل در گل های نوع وحشی مرحله ۵ است. ستاره ها نشان دهنده گل آذین بافت جنینی است. میله مقیاس، ۱۰۰ میلی متر است.
 (C) بیان *AP3*، *PI*، و *AG* در مرحله ۳ و ۵ گل نوع وحشی و گیاهان *sep1 sep2 sep3 sep4*. میله مقیاس، ۱۰۰ میلی متر است.
 (D) اثر هم افزایی *lfy-2* و *sep3-2* بر رشد گل.

(E) در سنجش آزمایشگاهی GST با پروتئین های LFY و SEP3. SEP3 برچسب گذاشته شده-HA توسط انتقال آزمایشگاهی با GST بی حرکت و GST-LFY، انکوبه شد. ورودی، ۵٪ در محصول انتقال آزمایشگاهی. تجزیه و تحلیل Immunoblot (تکنیک شناسایی پروتئین ها از واکنش های آنتی-آنتی ژن) با استفاده از آنتی بادی ضد HA انجام شد.

برای آزمایش آزمایشگاهی این مورد که آیا دو زمینه CARg در نزدیکی SEP3 2 به عنوان محل اتصال SVP، SOC1 و AGL24 برای سرکوب SEP3 (شکل J۳) به کار گرفته می شوند، ما SEP3: GUS و ساختارهای جهش یافته گرفته شده از آن را ایجاد نمودیم که در آن دو نقوش CARg نزدیک SEP32 جهش یافته شدند (شکل N۳). گیاهان تراریخته حامل SEP3: GUS یک الگوی رنگ آمیزی شبیه به الگوی بیان آندوژن SEP3 (3O و P۳) را به نمایش گذاشتند. در بسیاری از خطوط تراریخته تولید شده، جهش زایی زمینه تک CARg (M-287 و M-502) الگوی رنگ آمیزی GUS را تغییر نخواهد داد، در حالی که جهش زایی دو نقوش CARg (m-502/-287)، باعث رنگ آمیزی نابجای چشمگیر GUS در کل گیاهان از جمله کاکل گل آذین (اشکال O۳ و P۳) می شود. علاوه بر این، معرفی خط گزارشگر m-502/-287 به soc1-2. agl24-1 SVP-41 رنگ آمیزی (3P GUS شکل) را ارتقا نمی دهد. این مشاهدات نشان می دهد که SVP، SOC1 و AGL24 به طور خاص به هر دو نقوش CARg در نزدیکی SEP3 2 با سرکوب ظهور SEP3 متصل می شوند.

نتیجه فعالیت نابجای SEP3. ظهور نابجای ژن کلاس B و C است.

برای تست این مورد که آیا ظهور نابجای SEP3 مربوط به ظهور نابجای ژن های کلاس B و C در soc1-2 agl24 -1 SVP -41 است، ما soc1 - 2 agl24 -1 SVP -41 sep3 - 2 را ایجاد نمودیم. این جهش، قابل به طور قابل توجهی فنوتیپ های گل را کاهش داد (شکل A۴) که نشان می دهد که SEP3 در نقایص گل در soc1-2 agl24 -1 SVP -41 سهم دارد.

زمانی که اعضای کلاس E تنظیم کننده های رشد ساختارهای خاص، از جمله SEP3، کمپلکسهای پروتئینی را با سایر پروتئین های رشد ساختارهای خاص گل برای تعیین هویت بافت گل تشکیل می دهند، (Goto و Honma، ۲۰۰۱)، سرکوب نقایص گل در soc1 - 2 agl24 - 1 SVP -41 توسط sep3 - 2 می تواند با توجه به حذف

SEP3 از کمپلکسهای پروتئینی رشد ساختارهای خاص باشد، نه بیان تغییر یافته ژن های کلاس B و C. بنابراین ما بیان ژن را در *soc1-2 agl24-1* با *SVP-41 sep3-2* و *SVP-41 SVP-1 agl24-1 . soc1-2* ، مقایسه نمودیم و دریافتیم که ژن های کلاس B و C از لحاظ حوزه و شدت به طور قابل توجهی در چهار جهش تنظیم می شوند (شکل B۴). این نتایج نشان دهنده ظهور نابجای ژن های کلاس B و C ناشی از ظهور نابجای SEP3 مسئول فنوتیپ ها در *soc1-2 agl24-1 SVP-41* است.

ژن های SEP، بیان ژن های کلاس B و C را فعال می کنند.

نتایج از *soc1-2 agl24-1 SVP-41* ، نتایج مطالعه قبلی ما را به خاطر می آورد که نشان دهنده فعال سازی نابجای ژن های کلاس B و C توسط بیان بیش از حد ژن SEP3 است (Castillejo و همکاران، ۲۰۰۵). علاوه بر این، ظهور SEP3 اولیه در انتهای کاکل بافت جنینی گل در اواخر مرحله ۲ (Mandle و Yanofsky، 1998) این منطقه را پوشش می دهد که در آن ژن های کلاس B و C و فعال می شوند (Meyerowitz، 1994، جک و همکاران، ۱۹۹۲؛ Yanofsky و همکاران، ۱۹۹۰). این ما را وادار به این فرض می کند که SEP3 همراه با دیگر ژن های SEP می توانند نقش مهمی در فعال کردن کلاس ژن B و C در گیاهان نوع وحشی بازی نمایند.

خانواده SEP متشکل از چهار همولوگ در *Arabidopsis* است. در حالی که جهش های تک آنها، تنها نمایشگر فنوتیپ های ظریف است، افت همزمان عملکرد آنها، تمام ارگان های گل را به بافتهای برگ مانند تبدیل می کند (Ditta و همکاران، ۲۰۰۴؛ Pelaz و همکاران، ۲۰۰۰) که نشان دهنده نقش حیاتی و افزون ژن های SEP در رشد گل است. هیبریداسیون محلی، به طور قابل توجهی نشان دهنده بیان کاهش یافته ژن های کلاس B و C و در مرحله ۳ بافت جنینی گل از *sep1 sep2 sep3 sep4* (شکل C۴، شکل S7B) بود. بافت های جنینی گل در مرحله ۵ از *sep1 sep2 sep3 sep4*، حوزه بیان AP3 یا AG محدود به یک منطقه کوچکتر شد، در حالی که PI به طور کامل در در مرکز بافت جنینی (شکل C۴، شکل S7B) به طور نامناسبی ظاهر شد. قابل ذکر است که بیان فعالساز شناخته شده ژن های رشد ساختارهای خاص گل، LFY، در *sep1 sep2 sep3 sep4* (شکل S7A) تغییر

نیافت. این نتایج نشان می دهد که ژن های SEP برای فعال کردن بیان ژن های کلاس B و C و در مراحل اولیه حتی در حضور LFY مورد نیاز هستند.

SEP3 و قانون LFY کنسرت به فعال کردن بیان ژن های کلاس B و C

ما متوجه شدیم که در 41 SVP -1 agl24 -2 soc1 - ، اگر چه SEP3 به طور نابجا در کل تخم ظاهر شد، ژن های کلاس B و C تنها تا ظهور فاز اول گل (شکل ۲) بیان نشدند. این نتیجه نشان میدهد که SEP3 نیاز به برخی از کوفاکتورهای معین خاص گل (بازدید کنندگان) در فعال کردن ژن های کلاس B و C دارد. LFY، به دلیل عملکرد شناخته شده آن در فعال کردن کلاس B و C ژن و بیان آن در سراسر بافت جنینی جوان گل ممکن ترین تنظیم کننده همزمان است (Parcy و همکاران ، ۱۹۹۸ ؛ Weigel و همکاران ، ۱۹۹۲). در -2 agl24 - soc1 41 SVP -1 LFY، عمدتاً در بافت های جنینی در حال ظهور گل (شکل S8) ظاهر شدند، که در آن SEP3 همچنین به صورت نابجا ابراز شد (شکل A۲، 3H، و I۳). برای بررسی اینکه آیا فعال سازی رونویسی ژن های کلاس B و C و SEP3 به LFY وابسته است، ما 41 SVP -1 agl24 -2 soc1 را با 2 lfy عبور دادیم که در آن عملکرد LFY تا حدی از دست رفته بود (Schultz و Haughn 1993). در 2 lfy - 41 SVP -1 agl24 -2 soc1 ، ظهور نابجای کلاس ژن B و C تا حد زیادی کاهش می یابد (شکل B۴). بر این اساس، 1 -2 agl24 - soc1 2 lfy - 41 SVP -1 agl24 -2 soc1 -2 lfy - 2 SVP -41 طور قابل توجهی نشان دهنده فنوتیپ های گل نجات یافته در مقایسه با 1 -2 agl24 - soc1 41 SVP -1 agl24 -2 soc1 -2 lfy - 2 SVP -41 (شکل A۴) بود. این نتایج نشان می دهد که عملکرد SEP3 و LFY به صورت هماهنگ در فعال شدن بیان ژن های کلاس B و C و در 41 SVP -1 agl24 -2 soc1 است.

برای آزمایش بیشتر اثر هماهنگ SEP3 و LFY روی رشد گل، ما 2 sep3-2 lfy-2 را ایجاد نمودیم. رشد گل در 2 sep3-2 تقریباً نرمال بود، در حالی که 2 lfy-2 نقایص خفیفی را با تعداد کمی از گلبرگ و پرچم های کاهش یافته نشان داد (شکل D۴). بر خلاف انتظار، 2 sep3-2 lfy-2 نشان دهنده نقایص چشمگیر گل، مانند از دست دادن بسیاری از ارگان های گل و تحول رشد ساختارهای پرچم ها و گلبرگ ها به ساختارهای برگ مانند بود (شکل D۴) که تایید می نمود که LFY و SEP3 برای تنظیم ژن های کلاس های B و C عمل می کنند. این مورد، امکان تعامل

مستقیم بین LFY و SEP3 را مطرح می کند که توسط روش کشش به پایین GST حمایت می شد که نشان دهنده تعامل فیزیکی آنها در شرایط آزمایشگاهی (شکل E۴) بود.

SAP18 و AGL24 با SOC1 تعامل دارند

ما بیشتر به دنبال روشن نمودن این مطلب هستیم که چگونه SVP، SOC1 و AGL24، ظهور SEP3 را سرکوب می کنند. همترازی دنباله پروتئین نشان دهنده یک شکل حفاظت شده C-ترمینال در SOC1، SVP، AGL24، و دیگر پروتئین های کادر MADS، AGL15 (شکل 5A) بود. این شک حفاظت شده C-ترمینال، همراه با حوزه K، از AGL15 به عنوان واسطه ای برای تعامل بین AGL15 و SAP18، عضو مجتمع Sin3/HDAC مشخص شد (Silverstein و Ekwall، 2005، Hill و همکاران ۲۰۰۸). بنابراین، ما آزمایش نمودیم که آیا SVP، SOC1، و AGL24 نیز می توانند با SAP18 تعامل داشته باشند یا خیر. یک روش GST کشش به پایین نشان داد که SAP18 با SOC1 و AGL24 در تعامل قرار دارد، اما نه SVP (شکل B۵). تجزیه و تحلیل های Coimmunoprecipitation بیشتر نشان دهنده تعامل محیطی SOC1 و AGL24 با SAP18 بود (اشکال C۵ و D۵). علاوه بر این، تجزیه و تحلیل دو مولکولی فلورسانس متمم (BiFC)، که فعل و انفعالات پروتئین-پروتئین را از طریق نظارت بر فلورسانس ساطع شده توسط بازسازی یک پروتئین فلورسنت زرد رنگ ارتقایافته از دو قطعه متصل به دو پروتئین تعاملی آشکار می کند، نشان دهنده تعامل مستقیم SOC1 SAP18 (شکل E۵) و SAP18 و AGL24 (شکل 5F) در هسته سلول های زنده گیاهی زندگی بود. این نتایج به شدت نشان می دهد که AGL24 و SOC1 با SAP18 در هسته ارتباط برقرار می کنند. زمانی که جهش حفاظت شده شکل C-ترمینال تنها، تعامل پروتئین SAP18 و SOC1 را لغو می کند، اما نه AGL24 (اشکال G۵ و H۵)، تعامل AGL24 با SAP18 ممکن است به حوزه (های) دیگر به جای شکل C-ترمینال متکی باشد.

تعامل AGL24 و SOC1 با SAP18 این امکان را مطرح می کند هر دو SOC1 و AGL24 ممکن است رونویسی SEP3 را با استخدام یک مجموعه HDAC سرکوب نمایند. بنابراین ما وضعیت histone استیله شده را در منبع SEP3 در جهش های مختلف تجزیه و تحلیل نمودیم. به طور کلی، استیله شدن H3 histone و H4 با مناطق

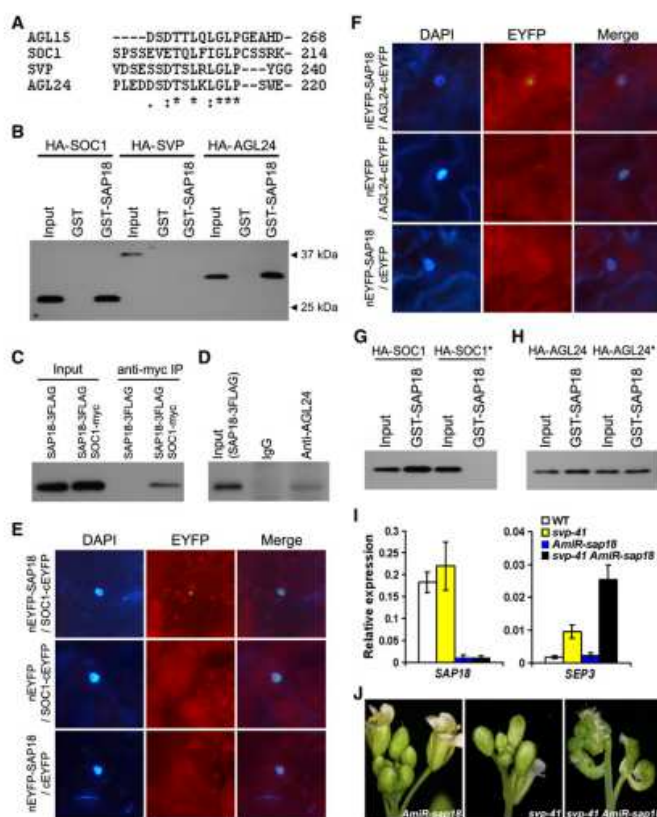
پروموتور ژن های رونویسی شده به طور فعالانه مرتبط است (Li و همکاران، ۲۰۰۷). برای کروماتین SEP3، H3 histone، اما نه H4، در تخم های soc1-2 SVP-41 و soc1 agl24-1 ۲ SVP-41 استیله شد (شکل S9)، که در آن SEP3 عمدتاً بیان شد (شکل A۳). این مشاهده، همراه با نتایج ChiP (اشکال L۳ و M۳)، با از نقش SOC1 و AGL24 در جلوگیری از استیله نمودن H3 SEP3 در غیاب SVP پشتیبانی می کند.

زمانی که SAP18 با SVP تعامل ندارد، این دو پروتئین ممکن است شامل مکانیزم های مختلف برای سرکوب رونویسی SEP3 باشد. برای آزمایش این مورد، ما خطوط مجزای SAP18 را با دخالت micro RNA ایجاد نمودیم (Scwab و همکاران، ۲۰۰۶)، و یک خط نماینده AmiR sap18- را با SVP 41 عبور دادیم. همانطور که انتظار می رود، SVP-41 AMIR-sap18 دارای ظهور SEP3 بالاتر از SVP-41 و amir-sap18 بود (شکل ۱۵). در نتیجه، sap18 AmiR SVP-41، نقایص مهم گل (شکل J۵) را نشان داد که تا حدی مشابه نقایص soc1-2 SVP-41 و agl24-1 SVP-41 بود. ما بیشتر دریافتیم که استیله نمودن H3 از SEP3 در AMIR-sap18 در پس زمینه SVP-41 (شکل S9) افزایش می یابد. این نتایج نشان می دهد که، SAP18 به کار گرفته شده توسط AGL24 و SOC1 منجر به دی استیله شدن H3 SEP3 در غیاب SVP می شود.

SVP در تعامل با TFL2 قرار دارد

برای درک اینکه چگونه SEP3 توسط SVP سرکوب می شود، ما غربالگری مخمر دو ترکیبی را برای شناسایی شرکای پروتئین آن انجام دادیم. با استفاده از توالی SVP به عنوان طعمه، ما توالی های کدگذاری TFL2/LHP1 و تنها هومولوگ Arabidopsis را از HP1 metazoans و S. pombe یافتیم (Gaudin و همکاران، ۲۰۰۱). Kotake و همکاران، (۲۰۰۳). مطالعات قبلی نشان داده است که TFL2 توسط شناخت H3K27me3، مانع از ژن های دخیل در مراحل مختلف رشد و نمو می شود (Larsson و همکاران، ۱۹۹۸؛ Turck و همکاران، ۲۰۰۷؛ Zhang و همکاران، ۲۰۰۷). در مخمر، TFL2 با SVP تعامل داشت نه نزدیکترین هومولوگ آن AGL24 (شکل A۶). تعامل بین SVP و TFL2 توسط GST سنجش های کشش پایین (شکل B۶ و C۶) تایید شد. تعامل آنها نیاز به حوزه chromoshadow از TFL2 و شکل حفاظت شده C-ترمینال SVP داشت (شکل A۶ و D۶ و شکل

(S10). تجزیه و تحلیل BiFC بیشتر تعامل داخل بدن را برای این دو پروتئین در هسته (شکل E۶) نشان داد. این نتایج نشان می دهد که SVP با TFL2 در هسته در تعامل قرار دارد.



شکل ۵. SOC1 و AGL24 با SAP18 تعامل دارند

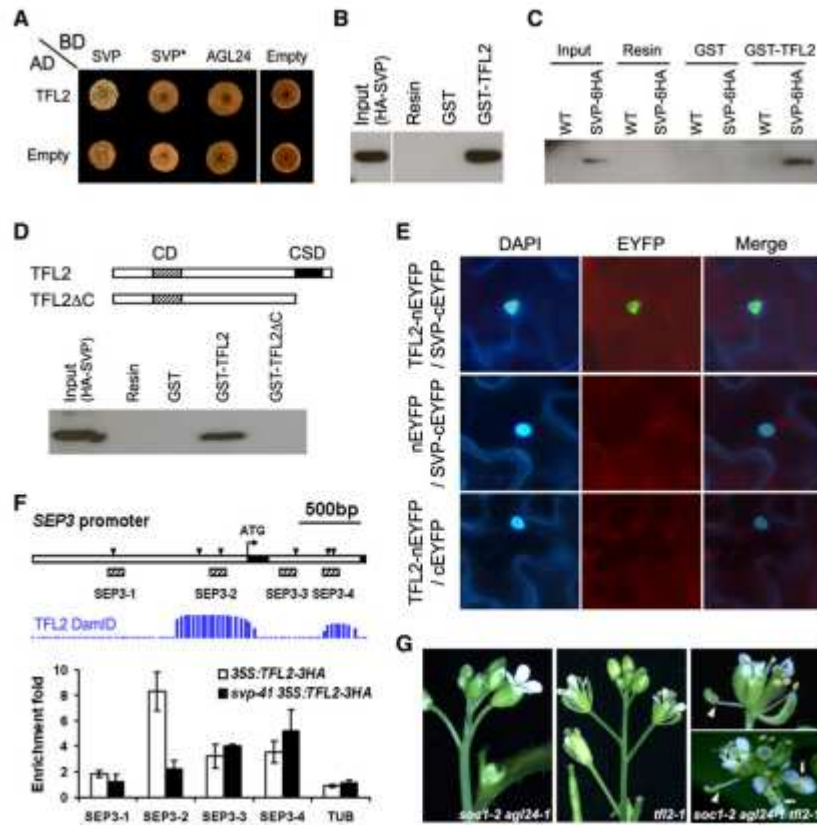
(A) همترازی نقوش C-ترمینال حفاظت شده AGL15 و AGL24، SVP، SOC1، و AGL24. باقیمانده اسیدهای آمینه حفاظت شده یکسان یا کمتر با ستاره یا نقطه مشخص شده است.

(B) سنجش GST در شرایط آزمایشگاهی. SOC1، SVP، و AGL24 با برچسب HA- تولید شده توسط شرایط آزمایشگاهی ترمه با GST بی حرکت و یا ST-SAP18، به ترتیب انکوبه شدند. ورودی، ۵٪ در محصول انتقال آزمایشگاهی. تجزیه و تحلیل Immunoblot با استفاده از آنتی بادی ضد HA انجام شد.

(C) تعامل در شرایط محلی بین SAP18 و SOC1. عصاره های گیاهی هسته ای 3FLAG^{۳۵}SAP18 S: و 3FLAG^{۳۵}SAP18 S: توسط 3FLAG SOC1 توسط مهره های آگارز ضد Myc طراحی از رسوب مصون شدند. پروتئین های مصون شده از رسوب، توسط آنتی بادی ضد FLAG آشکار شدند.

(D) تعامل در شرایط آزمایشگاهی بین SAP18 و AGL24. عصاره های گیاهی هسته ای از 3FLAG^{۳۵}SAP18 S: توسط سرم ضد AGL24 یا سرم preimmune (IgG) از رسوب مصون ماندند. پروتئین مصون از رسوب، توسط آنتی بادی ضد FLAG تشخیص داده شد.

(E و F) تجزیه و تحلیل BiFC از تعامل بین SAP18 و SOC1 (E) و یا (F) AGL24، DAPI، فلورسانس از ۴۰،۶ EYFP، diamino-2-phenylindol، فلورسانس افزایش پروتئین فلورسنت زرد؛ ادغام، ادغام DAPI و EYFP. (H و G) سنجش GST با استفاده از عمل نقوش C-ترمینال در تعامل بین SAP18 و AGL24 (G) SOC1 نفر (H). ، نقوش C-ترمینال، LFIGL، در SOC1* به AFAGA (G) جهش یافته شد، در حالی که در *AGL24، LKLGL به AKAGA جهش یافته شد. (H) تجزیه و تحلیل Immunoblot با استفاده از آنتی بادی ضد HA انجام شد. (I) تنظیم SAP18 بیشتر، ظهور SEP3 را در SVP-41 کم رنگ می کند. سطوح بیان SAP18 و SEP3 در تخم ۶ روزه در مقابل سطوح TUB2 نرمال شد. میله خطا نشان دهنده SD است. (J) تنظیم SAP18 در SVP 41 منجر به از دست دادن اندام های گل و تولید سازه های carpelloid می شود. برای بررسی نقش SVP در هدایت TFL2 به پروموتور SEP3، ما تجزیه و تحلیل ChiP را با استفاده از خطوط تراریخت 3⁵ S : TFL2 3HA انجام دادیم که به طور کامل جهش های افت عملکرد 1 - tfl2 را رفع نمود (داده ها نشان داده نشده است). در توافق با داده های قبلی تجزیه و تحلیل گسترده ژنوم در مورد اتصال TFL2 (Zhang و همکاران ، ۲۰۰۷)، ما متوجه شدیم که TFL2 3HA با منبع SEP3 (شکل F۶) مرتبط است. از آن مهمتر، TFL2 3HA و SVP - 6HA (SEP3 -2) با بالاترین میزان غنی سازی (اشکال K۳ و F۶) محدود به همان منطقه ژنومی هستند. در SVP -41، غنی سازی اتصال TFL2 3HA به SEP3 -2 به طور معنی داری کاهش یافت (شکل F۶). این نتایج نشان می دهد که SVP نقش مهمی در هدایت TFL2 به منطقه SEP3 -2 دارد. علاوه بر این ما دریافتیم که H3K27me3 در هندسه SEP3 تقریباً به طور کامل در 1-tfl2 (شکل S11) از دست رفته است. این امر ممکن است تا حد قابل توجهی ظهور افزایش یافته SEP3 در tfl2 را (Kotake و همکاران ، ۲۰۰۳) توضیح دهد، که نشان می دهد که TFL2، SEP3 را توسط مدوله نمودن H3K27me3 سرکوب می نماید. در SVP -41، که در آن محلی سازی TFL2 به هندسه SEP3، تا حدی در معرض خطر قرار گرفته است، H3K27me3 در منبع SEP3 نیز کاهش یافته بود (شکل S11). بنابراین، SVP حداقل، TFL2 را به منبع SEP3 با سرکوب SEP3 که بر روی H3K27me3 تاثیر می گذارد، راهنمایی می کند.



شکل ۶. تعامل SVP با TFL2

(A) یک سنجش دو ترکیبی مخمر، تعامل بین SVP و TFL2 را نشان می دهد. سلول های مخمر تبدیل شده بر روی محیط SD-His/-Trp/-Leu رشد می کنند. در SVP*، شکل C-ترمینال، LRLGL، به ARAGA جهش یافت.

(B) سنجش آزمایشگاهی GST با پروتئین های SVP و TFL2. HA-SVP برچسب گذاشته شده توسط GST بی حرکت و GST-TFL2، انکوبه شد. رزین، دانه های بدون پروتئین بی حرکت شدند. ورودی، ۵٪ در محصول انتقالی آزمایشگاهی.

(C) سنجش آزمایشگاهی GST در مورد تعامل TFL2 و SVP 6HA در SVP 6HA: SVP 41 SVP. دانه ها با یا بدون پروتئین (GST و GST-TFL2) بی حرکت با عصاره پروتئین ۶ روزه SVP-SVP 41 گیاهان SVP 6HA انکوبه شدند.

(D) تعامل بین TFL2 و SVP به واسطه بخش C-ترمینال TFL2 صورت می گیرد. سنجش GST همانطور که در (B) شرح داده شده است، انجام شد. کادرفای هاشور خورده و یا پر نشان دهنده حوزه کروموزوم (CD) و یا حوزه chromoshadow (CSD) در TFL2 است. تجزیه و تحلیل Immunoblot در (B) - (D) و با استفاده از آنتی بادی ضد HA انجام شد.

(E) تجزیه و تحلیل BiFC از تعامل بین SVP و TFL2.

(F) تجزیه و تحلیل ChIP از اتصال TFL2 3HA به پروموتور SEP3. کاکل گل آذین ۳۵ TFL2: HA^۳ S و SVP-41 35S برای آزمایش ChIP برداشت شدند. تجزیه و تحلیل گسترده ژنوم از TFL2 متصل توسط شناسایی متیل آدنین DNA همراه با روش (DamID ChIP) microarray <http://epigenomics.mcdb.ucla.edu/H3K27m3>

مناطق اتصال مشابه در SEP3 را همانطور که در این مطالعه نشان داده است، را نشان می دهد. میله های خطا، SD را نشان می دهد.

(G) تحول soc1-2 agl24-1 tfl2-1 نمایشگر رشد ساختارهای اندام گل است. دیدگاه جانبی soc1-2 agl24-1 tfl2-1 گل (پانل های فوقانی) پرچم کاسبرگی (نوک پیکان) را نشان می دهد، در حالی که دید بالایی همان ساختار، (قسمت پایین) گلبرگ stamenoid اضافی (فلش) را نشان می دهد.

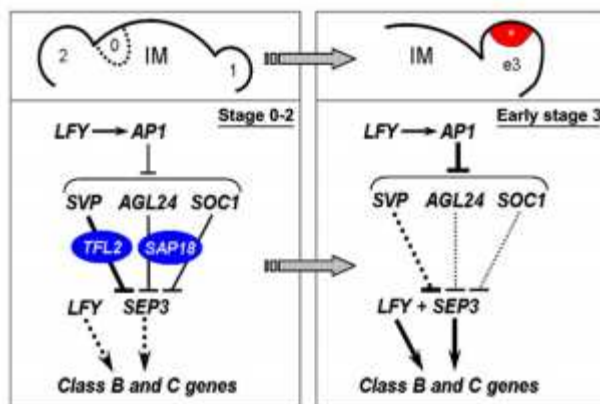
زمانی که عملکرد SVP با TFL2 مرتبط است، ما استدلال می کنیم که فقدان TFL2 در soc1-2 agl24-1 ممکن است فنوتیپ خاص گل را تولید کند مانند فنوتیپ های در soc1-2 agl24-1 SVP-41. soc1-2 agl24-1. tfl2-1 نشاندهنده گل آذین معین پیشرفته با تنها دو یا سه گل ترمینال بود. این گل ها، پرچم های کاسبرگی و گلبرگ stamenoid را در دو حلقه بیرونی (شکل 6G) توسعه دادند که فعالیت های نابجای کلاس ژن B و C را نشان می دهد. این نتیجه بیشتر نشان می دهد که TFL2، در تعامل با SVP، با SOC1 و AGL24 برای تنظیم کلاس ژن B و C عمل می کند.

بحث و بررسی

کنترل الگودهی گل توسط ژن های زمانی گلدهی

تنظیم ژن رشد ساختارهای خاص گل که هویت ارگان گل را مشخص می کند یک رویداد کلیدی برای الگودهی مناسب اندام گل است. یافته های ما یک مسیر ژنتیکی ناشناخته را نشان می دهد که بیان به موقع ژن های رشد ساختارهای خاص C و B را در بافت جنینی گل نشان می دهد (شکل 7). تنظیم کننده های مرکزی این مسیر، سه فاکتور کادر رونویسی MADS، SVP، SOC1، و AGL24 است که در اوایل به عنوان ژن گلدهی زمانی مشخص شده اند. این ژن ها به طور زائد برای جلوگیری از بیان زودرس ژن های کلاس B و C و بافت در حال ظهور جنینی گل از طریق سرکوب SEP3 نیاز می شوند. در بافت های جنینی گل قبل از اواخر مرحله ۲، ژن های کلاس B و C ظاهر نمی شوند، زیرا SEP3 توسط SOC1، SVP، و AGL24 سرکوب می شود. زمانی که بافت های جنینی گل در اواخر مرحله ۲ عمل می کنند، سرکوب مستقیم SVP، SOC1، و AGL24، توسط ژن هویت جنینی گل

AP1 (Liu و همکاران، ۲۰۰۷؛ Yu و همکاران، ۲۰۰۴) به تدریج SEP3 فرو می برد. بنابراین، در انتهای کاکل آنها از بافت جنینی گل در اوایل مرحله ۳، SEP3 و LFY با هم برای فعالسازی بیان طبقه ژن B و C عمل می کنند. زمانی که که SEP3 به طور نابجا در تخم های کل -41 SVP -1 agl24 -2 soc1 بیان می شود، سرکوب SEP3 توسط SVP، SOC1، و AGL24 به احتمال زیاد یک رویداد سازنده است. این سرکوب در بافت جنینی در حال ظهور گل برای رشد گل حیاتی است، همانطور که به گسترش طبیعی ابتدای گل ها به بافت های جنینی بزرگ گل امنیت می بخشد که حاوی سلول های کافی برای الگودهی مناسب ارگان های ماریپیچی توسط ژن های رشد ساختارهای خاص گل است حذف کامل این سرکوب در -41 SVP -1 agl24 -2 soc1، کلاس B و C ژن ها را در اوایل زائده گل فعال می کند که به نوبه خود باعث تمایز زودرس از بافت جنینی گل و در نتیجه تولید تعداد محدودی از ساختارهای بی اساس گل می شود. در گیاهان نوع وحشی، AP1 با سرکوب SVP، SOC1، و AGL24 در یک پنجره زمانی کوتاه، اما حیاتی در بافت جنینی جوان گل قبل از مرحله ۳، نقش پیشرونده را در غلبه بر این سرکوب بازی می کند (Liu و همکاران، ۲۰۰۷؛ Yu و همکاران، ۲۰۰۴). این منجر به فرو بردن به موقع SEP3 می شود که به نوبه خود با LFY برای فعال کردن ژن های کلاس B و C در مرحله ۳ بافت جنینی گل عمل می کند. بنابراین، مطابق با مطالعات قبلی نشان دهنده اثرات های هماهنگ LFY و AP1 در تنظیم کلاس B و C ژن (Weigel و همکاران، ۱۹۹۲؛ Weigel و Meyerowitz، 1993)، نتایج ما یک مسیر ژنتیکی را پیشنهاد می دهد که در آن AP1 از طریق تنظیم سرکوب از SEP3 توسط SVP، SOC1 و AGL24 به الگودهی گل کمک می نمایند.



فعال سازی رونویسی ژن های کلاس B و C توسط SEP3 و LFY

تنظیم کننده های کلاس E گل، از جمله SEP3، برای تشکیل کمپلکسهای پروتئینی مرتبه بالاتر با پروتئین های رشد ساختارهای خاص برای تعیین هویت اندام گل پیشنهاد شده است (Goto و همکاران، ۲۰۰۱؛ Honma و Goto، ۲۰۰۱؛ Pelaz و همکاران، ۲۰۰۰؛ Theissen، 2001). نتایج ما نشان می دهد که SEP3 در ترکیب با LFY، نقش داخلی را در تنظیم رونویسی ژن های کلاس B و C بازی می کند.

اگرچه LFY با SEP3 در شرایط آزمایشگاهی تعامل دارد، سنجش ما از GST-LFY و سه پروتئین SEP دیگر هیچ تعاملی را (داده ها نشان داده نشده است) نشان نداد. تعامل SEP3 با LFY می تواند نقش دوگانه ای را در فعال کردن بیان کلاس ژن B و C بازی کند. ابتدائاً، SEP3، اطلاعات خاص منطقه ای را برای عملکرد LFY فراهم می کند، چرا که در میان تمام ژنهای SEP، تنها SEP3 به طور خاص در انتهای اپیکالی و اواخر مرحله ۲ بافت جنینی در گل بیان می شود که در آن بیان ژن های کلاس B و C آغاز می شود، در حالی که LFY در سراسر بافت جنینی جوان گل بیان می شود. دوم، پروتئین SEP3 دارای قویترین فعالیت رونویسی در میان ژن رشد ساختارهای خاص گل است که مورد آزمایش قرار اند (Honma و Goto، ۲۰۰۱). بنابراین، SEP3 می تواند پتانسیل فعالیت رونویسی LFY را بالا ببرد. در واقع، بیان بیش از حد SEP3 و LFY نمایشگر فنوتیپ هایی مانند فنوتیپ های LFY: VP16 قوی است که در آن LFY با حوزه فعال سازی قوی فاکتور رونویسی ویروسی VP16 ترکیب می شود (Castillejo و همکاران، ۲۰۰۵؛ Parcy و همکاران، ۱۹۹۸). بنابراین، تنظیم هماهنگ SEP3 توسط SVP، SOC1 و AGL24 در بافت جنینی جوان گل برای تعیین زمان الگودهی گل ضروری است.

تنظیمات بیان SEP3 توسط SOC1، AGL24 و SVP از طریق به کارگیری عوامل مختلف کروماتین

برای حل نمودن مکانیسم های زیربنایی که SEP3 توسط SOC1، SVP، و AGL24 سرکوب می شود، ما یک سناریوی معمولی را نشان داده ایم که در آن عوامل مختلف کروماتین مربوط به اصلاحات مختلف histone، توسط سه عامل رونویسی به یک منبع خاص هدایت می شوند. برای حفظ کروماتین SEP3 در حالت سکوت، SVP، TFL2

را برای مدوله نمودن H3K27me3 به کار می گیرد، در حالی SOC1 و AGL24 با SAP18 برای مدوله نمودن استیله histone در غیاب SVP عمل می کنند (شکل ۷).

مطالعات قبلی در مورد TFL2، پیشنهاد کرده اند که TFL2 به طور خاص با مناطق ژنوم مشخص شده با H3K27me3 در حفظ سرکوب ژن درگیر می شود (Turck و همکاران، ۲۰۰۷، Zhang و همکاران، ۲۰۰۷). SEP3 به عنوان یکی از اهداف بالقوه TFL2 از طریق های میکروآرایه ها و تجزیه و تحلیل ChIP در سطح ژنوم (Zhang و همکاران، ۲۰۰۷ Kotake و همکاران، ۲۰۰۳) شناخته شده است. نتایج ما نشان دهنده فاکتور رونویسی خاص (SVP) است که نقشی را در هدایت عامل کروماتین عمومی TFL2 در منبع SEP3 بازی می کند و در نتیجه SEP3 را حداقل تحت تاثیر H3K27me3 سرکوب می کند. اگر چه مقایسه توزیع H3K27me3 در کروموزوم Arabidopsis ۴ در tfl2 و گیاهان نوع وحشی پیشنهاد کرده است که TFL2 ممکن است در رسوب H3K27me3 (Turck و همکاران، ۲۰۰۷) درگیر نشود، هومولوگ TFL2، HP1 پستانداران، نه برای کشف کد histone، بلکه برای کدگذاری آن عمل می کند (Kourmouli و همکاران، ۲۰۰۵). H3K27me3 در منبع SEP3 در tfl2-1 تقریباً به طور کامل از دست می رود، و همچنین در SVP-41 کاهش می یابد که در آن TFL2 متصل به منبع SEP3 به خطر می افتد (شکل S11) که نشان دهنده یک لینک نزدیک بین TFL2 و سطح H3K27me3 است.

SAP18 تاکنون شناخته نشده است، اما به طور کلی یک پروتئین ساختاری در نظر گرفته می شود که مجموعه Sin3/HDAC و از غیرساختاری متعامل آن را تثبیت می نماید (Silverstein و Ekwall، 2005). SAP18 در تعامل با HDA19، یک Arabidopsis histone deacetylase نشان داده شده است، و کمپلکس HDAC را به سرکوبگران رونویسی مرتبط می نماید که به مناطق کروماتین خاص (هیل و همکاران ۲۰۰۸، Song و Galbraith، ۲۰۰۶) اتصال دارند. در این مطالعه، ما متوجه شدیم که در غیاب SVP، SOC1 و AGL24 به پروموتور SEP3 متصل می شوند، و تعامل آنها با SAP18 استیله H3 را در منبع SEP3 مدوله می کند و نشان می دهد که SOC1 و AGL24، SEP3 را با به کارگیری کمپلکس HDAC سرکوب می نمایند.

سرکوب هماهنگ SEP3 توسط SOC1، SVP، و AGL24 با استخدام عوامل کروماتین مختلف نشان دهنده انعطاف پذیری تنظیمات کروماتین در طول رشد گیاه است. زمانی که SEP3 در نهایت به رشد باروری مرتبط می شود، باید به طور مداوم سرکوب شود تا زمانی که شرایط برای رشد گل مناسب هستند. اگرچه روند بیان SVP در طول انتقال گل مخالف روند بیان SOC1 و AGL24 است (Hartmann و همکاران، ۲۰۰۰؛ Li و همکاران، ۲۰۰۰؛ Michaels و همکاران، ۲۰۰۳؛ یو و همکاران، ۲۰۰۲)، ظرفیت آنها در استخدام عوامل کروماتین مختلف آنها را قادر می سازد تا به طور مداوم یک محیط کروماتین غیرمجاز را برای ظهور SEP3 ایجاد نمایند. این انعطاف پذیری رشد اجازه می دهد تا گیاهان به طور معمول به مرحله باروری پیشرفت نمایند حتی اگر برخی از تنظیم کننده های اضافی از دست برود.

روش های تجربی

مواد گیاهی و شرایط رشد

تمام گیاهان Arabidopsis در ۲۲ درجه سانتیگراد در روز طولانی رشد داده شدند (۱۶ ساعت نور / ۸ ساعت تیره). جهش های soc1-2، SVP-41، agl24-1، ify-2، sep3-2، و tfl2-1 در زمینه Col هستند، در حالی که AG-1 و ap3-3 در زمینه LER قرار دارند. بجز برای گیاهان تراریخت حاوی 3FLAG^{SAP18} S که در محیط کشت MS با کانامایسین تکمیل شده انتخاب شدند، گیاهان تراریخته با سایر ساختارهای Basta در خاک انتخاب شدند.

ساختار پلاسمید

برای ساخت SOC1: و SOC1 Myc، قطعه ژنومی SOC1، همانطور که قبلاً شرح داده شده است، تقویت شد (Liu و همکاران، ۲۰۰۸)، اما با توالی رمزگذار یک Myc گنجانیده شده در پرایمر معکوس. محصول PCR حاصل به PHY105 (Liu و همکاران، ۲۰۰۷) هضم و تولیدمثل شد.

قطعات ژنومی SOC1، SVP، و AGL24 مورد استفاده برای آزمایش متمم (Liu و همکاران، ۲۰۰۸، Li و همکاران ۲۰۰۸) شرح داده شدند. در قطعات ژنومی فاقد شکل حفاظت شده ترمینال C، C-ترمینال ۲۲، ۲۲، و ۲۱ اسید آمینه از SOC1، SVP، و AGL24 به ترتیب از توالی ژنومی دست نخورده فرونشاندن شدند.

برای ساخت SEP3: GUS، یک 4.7 kb SEP3 قطعه ژنومی با آغازگرهای (50- gSEP3-F-XmaI AAGGATCCAA -۵۰) و (AATGATCTCA CATCAAATGGGACCTGTG-30 gSEP3-R-BamHI) (Liu و همکاران، ۲۰۰۷) (TAGAGTTGGTGTGTCATAAGGTA-30) تقویت و به HY107 (Liu و همکاران، ۲۰۰۷) (50-CATCGTCGTC CTTG TAGTCC ATGTAAATTGCCACATCCAGATAATCTCC-30) تولیدمثل شد. بر اساس این ساختار، جهش های دو کادر CarG در نزدیکی قطعه 2 SEP3 با استفاده از QuikChange II XL- Stratagene) Site-Directed Mutagenesis Kit (تولید شد.

برای ساخت SAP18 3FLAG^{۳۵}، S: SAP18 cDNA مربوط به رمزگذاری SAP18 با آغازگرهای (50- SAP18-FLAG-F (CGTCGAAGCT CTGTCGTTTCATGGCTGAAG CAGC-30 GAGAAGACAAGG SAP18-FLAG-R و (50-CATCGTCGTC CTTG TAGTCC ATGTAAATTGCCACATCCAGATAATCTCC-30) تقویت شد. محصول PCR به pCHF3 3FLAG (بین و همکاران، ۲۰۰۵) هضم و تولیدمثل شد.

برای ساخت AMIR-sap18، طراحی micro RNA، با توجه به پروتکل منتشر شده روی وب سایت ([http://wmd2 weigelworld.org](http://wmd2.weigelworld.org)) انجام شد. بر اساس ژن ارائه شده، مجموعه ای از چهار آغازگر ایجاد شد.

پس از سه دور تقویت PCR، محصول به دست آمده با EcoRI و BamHI تحت درمان قرار گرفت، و به pGreen-35S (Yu و همکاران، ۲۰۰۴) تولید مثل شد. برای ساخت S:-3HA TFL2^{۳۵}، cDNA مربوط به رمزگذاری برای TFL2 با آغازگرهای (50-CCCCCGGGA TGAAAGGGGCAAGTGGTG-30) TFL2-F2-XmaI و (50-GGACTAGTAG GCGTTCGATTGTA-30) R3-SpeI تقویت شد و به pGreen-35S-3HA

تولید مثل شد.

تجزیه و تحلیل بیان

RNA کلی با توجه به RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) جداسازی شد و با سیستم ThermoScript RT-PCR (Invitrogen) مطابق با دستورالعمل های سازنده رونویسی معکوس شد. PCR زمان واقعی در سه تکرار روی سیستم HT Fast Real-Time PCR^{۹۰۰} (بیوسیستم کاربردی) با SYBR Green PCR Master Mix (بیوسیستم کاربردی) انجام شد. سطح بیان نسبی همانطور که قبلا گزارش شده است (Liu و همکاران، ۲۰۰۷) محاسبه شد. هیبریداسیون غیررادیاکتیو در محل همانطور که قبلا توضیح داده شد (Liu و همکاران، ۲۰۰۷) انجام شد. همه توالی های آغازگر مورد استفاده در PCR زمان واقعی و پلاسمیدها و پرایمرهای مورد استفاده برای سنتز پروب ها در محل در جدول S2 ذکر شده اند.

تولید آنتی بادی

توالی پپتیدی DKLETLERAKLTTL از AGL24 برای تولید آنتی بادی (پایه ST1، سنگاپور) مورد استفاده قرار گرفت. آنتی بادی ضد AGL24 به طور خاص می تواند AGL24 درون زا را در زمینه های ژنتیکی مختلفی آشکارسازی نماید (شکل S12A). برای تست این مورد که آیا ضد AGL24 می تواند با SVP هیبرید شود، نزدیکترین هومولوگ AGL24، ما آنتی بادی ضد AGL24 را با HA-AGL24 یا HA-SVP تولید شده توسط TNT T7 سریع همراه رونویسی انتقال / سیستم (Promega) قرار دادیم. با ردیابی پروتئین ها با آنتی بادی ضد HA، ما متوجه شدیم که تنها HA-AGL24، اما نه HA-SVP را می توان به طور خاص توسط آنتی بادی ضد AGL24 (شکل S12B) از رسوب مصون نمود.

روش ChiP

مواد گیاهی روی یخ برای ۴۰ دقیقه در ۱٪ فرمالدئید تحت خلاء تثبیت شدند. بافت های ثابت هموژنیزه شدند و کروماتین جدا شد و برای تولید قطعات DNA حدود ۵۰۰ bp به صورت توصیف شده جدا شدند (Liu و همکاران، ۲۰۰۷). پروتئین Myc SOC1، SVP-6HA، TFL2 3HA و AGL24 توسط ترکیب ضد Myc آگارز (سیگما)، ترکیب آگارز ضد-HA (سیگما)، و ضد AGL24 متصل به پروتئین G PLUS آگارز از رسوب مصون شدند (بیوتکنولوژی Santa Cruz). استیله نمودن H3 و H4 و H3K27me3 توسط ضد استیل-H3، ضد استیل-H4 و

آنتی بادی ضد H3K27me3 (بیوتکنولوژی شمال ایالت)، به ترتیب آشکارسازی شد. ما سه سنجش ChiP را به طور کامل مستقل و با استفاده از نمونه های جمع آوری شده به طور جداگانه انجام دادی. غنی سازی DNA با PCR کمی زمان واقعی به بار همان طور که قبلا گزارش شده است (لی و همکاران، ۲۰۰۸) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. غنی سازی قطعه ژنومی توبولین (TUB2) به عنوان یک کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت. همه توالی های آغازگر مورد استفاده برای سنجش ChiP در جدول S2 ذکر شده است.

روش دو ترکیبی مخمر

مناطق کدگذاری SVP، AGL24، و TFL2 تقویت شدند و به pGBKT7 و pGADT7 (Clontech) تولیدمثل شدند. پس از آن سنجش مخمر دو هیبرید با استفاده از سیستم انتقال Yeastmaker مخمر با توجه به دستورالعمل ساخت (Clontech) انجام شد ۲. برای غربالگری کتابخانه، BD-SVP به عنوان طعمه، برای غربالگری کتابخانه های cDNA مربوط به گل آذین (CD4-30 از ABRC)، مورد استفاده قرار گرفت. ترانسفورم های مخمر در محیط کشت SD فاقد هیستیدین، تریپتوفان، و لوسین (SD؟) / او / تریپتوفان / ل) انتخاب شدند و با غلظت mg / gal-ml XA ۰,۲ تکمیل شدند. پلاسمیدهای طعمه با EZNA بازیافت شد. Omega) Yeast Plasmid Kit (Bio-TEK). برای آزمایش مستقیم فعل و انفعالات پروتئین ها، سلول های مخمر AH109 با طعمه خاص و ساختارهای طعمه همزمان تبدیل شدند و بر روی محیط انتخابی SD (SD تریپتوفان / ل یا SD؟) / او / تریپتوفان / LEU) اندود شدند.

روش PULL-DOWN در محیط آزمایشگاهی

cDNA کدگذاری کننده LFY، SAP18، و TFL2 به بردار pGEX-4T-1 (Pharmacia) تولیدمثل شدند. این بیان به باکتری Rosetta E.coli (Novagen) (DE3) تبدیل شد، و بیان پروتئین توسط IPTG القا شد. پروتئین های همجوشی GST محلول استخراج شدند و بر روی دانه های گلوکاتایون سفاروز بی حرکت شدند (Amersham زیستی)، و پس از آن برای سنجش GST مورد استفاده قرار گرفتند. پروتئین های HA-برچسب گذاشته شده توسط SOC1، SEP3، SVP، و AGL24 و اشکال جهش مربوطه همانطور که قبلا توضیح داده شد، سنتز شدند (Li و

همکاران، ۲۰۰۸). این پروتئین های برچسب گذاشته شده توسط پروتئین های همجوشی GST و GST بی حرکت انکوبه شدند. پروتئین انباشته در دانه ها توسط SDS-PAGE حل شدند و با آنتی بادی ضد HA یا ضد Myc طراحی (سانتا کروز بیوتکنولوژی) آشکارسازی شدند.

آزمایش مصون سازی همزمان از رسوب

مواد گیاهی برداشت شدند و پروتئین های هسته ای بر اساس پروتکل ChiP، اما بدون تثبیت بافت استخراج شدند. پروتئین SOC1-Myc یا AGL24 به ترتیب توسط ترکیب آگارز ضد Myc (سیگما) و یا آنتی بادی ضد AGL24 محدود به ProteinGLUS آگارز (سانتا کروز بیوتکنولوژی)، از رسوب مصون شدند. پروتئین های محدود شده توسط دانه ها توسط SDS-PAGE حل شدند و توسط آنتی بادی ضد FLAG (سیگما) آشکارسازی شدند.

تجزیه و تحلیل BiFC

cDNA حاصل از SOC1، AGL24، SAP18، SVP، و TFL2، به بردارهای pSAT1 تولیدمثل شدند. کاست های حاصل از جمله پروتئین های همجوشی و پروموتورهای سازنده به بردار دودویی pGreen HY105 تولیدمثل شدند و به آگروباکتریوم تبدیل شدند. برای آزمایش BiFC، برگ های تنباکوی (*Nicotiana benthamiana*) ۳ هفته ای با آگروباکتریوم همزمان تراوش شدند همانطور که قبلا شرح داده شده است (Sparkes و همکاران، ۲۰۰۶).

داده های مکمل

داده های تکمیلی شامل دوازده اشکال و دو جدول می شود و می توان آن را با این مقاله آنلاین در http://www.cell.com/developmental-cell/supplemental/S1534_5807_09_00132-4 یافت.

قدردانی

ما از P. Huijser, I. Lee, R. Amasino, M. Yanofsky, and K. Goto برای دانه های مختلف جهش، S. Arabidopsis Biological Resource Center برای بردارهای pCHF3 3FLAG، Yin .Y، pSAT1، و T. Ito, F. Berger, and D. Jose برای قرائت انتقادی Center برای ساخت کتابخانه cDNA (CD4-30)، و T. Ito, F. Berger, and D. Jose برای قرائت انتقادی

مقاله تشکر می نمایم. این کار را با وجوه علمی پژوهشی T208B3113 از وزارت آموزش و پرورش، سنگاپور، و R-

Life Temasek 154-000-282-112 از دانشگاه ملی سنگاپور، و بودجه های تحقیقاتی داخل علوم آزمایشگاهی

حمایت شده است. L.C. توسط Foundation Singapore Millennium مورد حمایت قرار گرفته است.

Li, D., Liu, C., Shen, L., Wu, Y., Chen, H., Robertson, M., Helliwell, C.A., Ito, T., Meyerowitz, E., and Yu, H. (2008). A repressor complex governs the integration of flowering signals in *Arabidopsis*. *Dev. Cell* 15, 110–120.

Liu, Z., and Meyerowitz, E.M. (1995). LEUNIG regulates AGAMOUS expression in *Arabidopsis* flowers. *Development* 121, 975–991.

REFERENCES

Bowman, J.L., Smyth, D.R., and Meyerowitz, E.M. (1991). Genetic interactions among floral homeotic genes of *Arabidopsis*. *Development* 112, 1–20.

Castillejo, C., Romera-Branchat, M., and Pelaz, S. (2005). A new role of the *Arabidopsis* SEPALLATA3 gene revealed by its constitutive expression. *Plant J.* 43, 586–596.

Coen, E.S., and Meyerowitz, E.M. (1991). The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature* 353, 31–37.

Ditta, G., Pinyopich, A., Robles, P., Pelaz, S., and Yanofsky, M.F. (2004). The SEP4 gene of *Arabidopsis thaliana* functions in floral organ and meristem identity. *Curr. Biol.* 14, 1935–1940.

Franks, R.G., Wang, C., Levin, J.Z., and Liu, Z. (2002). SEUSS, a member of a novel family of plant regulatory proteins, represses floral homeotic gene expression with LEUNIG. *Development* 129, 253–263.

Gaudin, V., Libault, M., Pouteau, S., Juul, T., Zhao, G., Lefebvre, D., and Grandjean, O. (2001). Mutations in LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN 1 affect flowering time and plant architecture in *Arabidopsis*. *Development* 128, 4847–4858.

Goto, K., and Meyerowitz, E.M. (1994). Function and regulation of the *Arabidopsis* floral homeotic gene PISTILLATA. *Genes Dev.* 8, 1548–1560.

Goto, K., Kyozuka, J., and Bowman, J.L. (2001). Turning floral organs into leaves, leaves into floral organs. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 11, 449–456.

Gregis, V., Sessa, A., Colombo, L., and Kater, M.M. (2006). AGL24, SHORT VEGETATIVE PHASE, and APETALA1 redundantly control AGAMOUS during early stages of flower development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 18, 1373–1382.

Gustafson-Brown, C., Savidge, B., and Yanofsky, M.F. (1994). Regulation of the *Arabidopsis* floral homeotic gene APETALA1. *Cell* 76, 131–143.

Hartmann, U., Hohmann, S., Nettesheim, K., Wisman, E., Saedler, H., and Huijser, P. (2000). Molecular cloning of SVP: a negative regulator of the floral transition in *Arabidopsis*. *Plant J.* 21, 351–360.

Hill, K., Wang, H., and Perry, S.E. (2008). A transcriptional repression motif in the MADS factor AGL15 is involved in recruitment of histone deacetylase complex components. *Plant J.* 53, 172–185.

Honma, T., and Goto, K. (2001). Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs. *Nature* 409, 525–529.

Jack, T., Brockman, L.L., and Meyerowitz, E.M. (1992). The homeotic gene APETALA3 of *Arabidopsis thaliana* encodes a MADS box and is expressed in petals and stamens. *Cell* 68, 683–697.

Liu, C., Zhou, J., Bracha-Drori, K., Yalovsky, S., Ito, T., and Yu, H. (2007). Specification of *Arabidopsis* floral meristem identity by repression of flowering time genes. *Development* 134, 1901–1910.

Liu, C., Chen, H., Er, H.L., Soo, H.M., Kumar, P.P., Han, J.H., Liou, Y.C., and Yu, H. (2008). Direct interaction of AGL24 and SOC1 integrates flowering signals in *Arabidopsis*. *Development* 135, 1481–1491.

Lohmann, J.U., Hong, R.L., Hobe, M., Busch, M.A., Parcy, F., Simon, R., and Weigel, D. (2001). A molecular link between stem cell regulation and floral patterning in *Arabidopsis*. *Cell* 105, 793–803.

Mandel, M.A., and Yanofsky, M.F. (1998). The *Arabidopsis* AGL9 MADS box gene is expressed in young flower primordia. *Sex. Plant Reprod.* 11, 22–28.

Mandel, M.A., Gustafson-Brown, C., Savidge, B., and Yanofsky, M.F. (1992). Molecular characterization of the *Arabidopsis* floral homeotic gene APETALA1. *Nature* 360, 273–277.

Michaels, S.D., Ditta, G., Gustafson-Brown, C., Pelaz, S., Yanofsky, M., and Amasino, R.M. (2003). AGL24 acts as a promoter of flowering in *Arabidopsis* and is positively regulated by vernalization. *Plant J.* 33, 867–874.

Ng, M., and Yanofsky, M.F. (2001). Activation of the *Arabidopsis* B class homeotic genes by APETALA1. *Plant Cell* 13, 739–753.

Parcy, F., Nilsson, O., Busch, M.A., Lee, I., and Weigel, D. (1998). A genetic framework for floral patterning. *Nature* 395, 561–566.

Pelaz, S., Ditta, G.S., Baumann, E., Wisman, E., and Yanofsky, M.F. (2000). B and C floral organ identity functions require SEPALLATA MADS-box genes. *Nature* 405, 200–203.

Schultz, E.A., and Haughn, G.W. (1993). Genetic analysis of the floral initiation process (FLIP) in *Arabidopsis*. *Development* 119, 745–765.

Schwab, R., Ossowski, S., Rieker, M., Warthmann, N., and Weigel, D. (2006). Highly specific gene silencing by artificial microRNAs in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 18, 1121–1133.

Silverstein, R.A., and Ekwall, K. (2005). Sin3: a flexible regulator of global gene expression and genome stability. *Curr. Genet.* 47, 1–17.

Smyth, D.R., Bowman, J.L., and Meyerowitz, E.M. (1990). Early flower development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2, 755–767.

Song, C.P., and Galbraith, D.W. (2006). AtSAP18, an orthologue of human SAP18, is involved in the regulation of salt stress and mediates transcriptional repression in *Arabidopsis*. *Plant Mol. Biol.* 60, 241–257.

Sparkes, I.A., Runions, J., Kearns, A., and Hawes, C. (2006). Rapid, transient expression of fluorescent fusion proteins in tobacco plants and generation of stably transformed plants. *Nat. Protocols* 1, 2019–2025.

- Kotake, T., Takada, S., Nakahigashi, K., Ohto, M., and Goto, K. (2003). *Arabidopsis* TERMINAL FLOWER 2 gene encodes a heterochromatin protein 1 homolog and represses both FLOWERING LOCUS T to regulate flowering time and several floral homeotic genes. *Plant Cell Physiol.* **44**, 555–564.
- Kourmouli, N., Sun, Y.-M., van der Sar, S., Singh, P.B., and Brown, J.P. (2005). Epigenetic regulation of mammalian pericentric heterochromatin in vivo by HP1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **337**, 901–907.
- Larsson, A.S., Landberg, K., and Meeks-Wagner, D.R. (1998). The TERMINAL FLOWER2 (TFL2) gene controls the reproductive transition and meristem identity in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* **149**, 597–605.
- Lee, H., Suh, S.S., Park, E., Cho, E., Ahn, J.H., Kim, S.G., Lee, J.S., Kwon, Y.M., and Lee, I. (2000). The AGAMOUS-LIKE 20 MADS domain protein integrates floral inductive pathways in *Arabidopsis*. *Genes Dev.* **14**, 2366–2376.
- Lenhard, M., Bohnert, A., Jurgens, G., and Laux, T. (2001). Termination of stem cell maintenance in *Arabidopsis* floral meristems by interactions between WUSCHEL and AGAMOUS. *Cell* **105**, 805–814.
- Li, B., Carey, M., and Workman, J.L. (2007). The role of chromatin during transcription. *Cell* **128**, 707–719.
- Yin, Y., Vafeados, D., Tao, Y., Yoshida, S., Asami, T., and Chory, J. (2005). A new class of transcription factors mediates brassinosteroid-regulated gene expression in *Arabidopsis*. *Cell* **120**, 249–259.
- Yu, H., Xu, Y., Tan, E.L., and Kumar, P.P. (2002). AGAMOUS-LIKE 24, a dosage-dependent mediator of the flowering signals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 16336–16341.
- Theissen, G. (2001). Development of floral organ identity: stories from the MADS house. *Curr. Opin. Plant Biol.* **4**, 75–85.
- Theissen, G., and Saedler, H. (2001). Plant biology. Floral quartets. *Nature* **409**, 469–471.
- Turck, F., Roudier, F., Farrona, S., Martin-Magniette, M.L., Guillaume, E., Buisine, N., Gagnot, S., Martienssen, R.A., Coupland, G., and Colot, V. (2007). *Arabidopsis* TFL2/LHP1 specifically associates with genes marked by trimethylation of histone H3 lysine 27. *PLoS Genet.* **3**, e86.
- Wagner, D., Sablowski, R.W., and Meyerowitz, E.M. (1999). Transcriptional activation of APETALA1 by LEAFY. *Science* **285**, 582–584.
- Weigel, D., and Meyerowitz, E.M. (1993). Activation of floral homeotic genes in *Arabidopsis*. *Science* **261**, 1723–1726.
- Weigel, D., Alvarez, J., Smyth, D.R., Yanofsky, M.F., and Meyerowitz, E.M. (1992). LEAFY controls floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Cell* **69**, 843–859.
- Yanofsky, M.F., Ma, H., Bowman, J.L., Drews, G.N., Feldmann, K.A., and Meyerowitz, E.M. (1990). The protein encoded by the *Arabidopsis* homeotic gene *agamous* resembles transcription factors. *Nature* **346**, 35–39.
- Yu, H., Ito, T., Wellmer, F., and Meyerowitz, E.M. (2004). Repression of AGAMOUS-LIKE 24 is a crucial step in promoting flower development. *Nat. Genet.* **36**, 157–161.
- Zhang, X., Germann, S., Blus, B.J., Khorasanizadeh, S., Gaudin, V., and Jacobsen, S.E. (2007). The *Arabidopsis* LHP1 protein colocalizes with histone H3 Lys27 trimethylation. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **14**, 869–871.



این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

لیست مقالات ترجمه شده ✓

لیست مقالات ترجمه شده رایگان ✓

لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI ✓

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی