

بررسی مقایسه‌ای خانواده ژنی CCCH Zinc finger در آراییدوپسیس تالیانا و برنج

پریسا رمضانپور^۱، حمید نجفی زرنی^{۲*}، سید حمیدرضا هاشمی پطرودی^۳، غلامعلی رنجبر^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۲. دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۳. استادیار، گروه مهندسی ژنتیک و بیولوژی، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۴. دانشیار گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۳)

Comparative study of CCCH Zinc finger gene family in *Arabidopsis thaliana* and riceParisa Ramezanpoor¹, Hamid Najafi Zarini^{2*}, Hamidreza Hashemi³, Gholamali Ranjbar⁴

1. Department of Biotechnology Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

2. Associate Professor, Department of Biotechnology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU) Sari, Iran.

3. Assistant Professor, Department of Genetic Engineering and Biology, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT), Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU) Sari, Iran.

4. Associate Professor, Department of Biotechnology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, Iran.

(Received: Jan . 23, 2023 - Accepted: Feb . 12, 2023)

Abstract

Zincfinger CCCH (C3HZNF) genes encode proteins with three cysteines and one histidine. The proteins of this family are an important group of zinc finger transcription factors that are effective in various activities such as plant growth and response to biotic and abiotic stresses and actually They are effective in stresses tolerance. In this article, C3HZNF protein data of *Arabidopsis* and rice plants were used to analyze phylogenetic relationships, exon/intron structure, motifs/domains organization. These studies showed the high homology of these genes with CCCH genes in rice. Analysis of the gene structure showed that AtC3Hs have a variable number of exons, but in general, genes with 1 and 7 exons contain the largest number. study the physical and chemical properties of this family showed that AtC3H36 is the most stable protein among the members of this family, and the highest isoelectric point belongs to the AtC3H7(9.96) protein. The observations showed that the members of this gene family have 1 to 6 Znf C3H domains and a total of 17 functional domains. Phylogeny comparison between C3H proteins in rice and *Arabidopsis* showed that these proteins are highly conserved. In the comparative phylogenetic analysis of AtC3H and OsC3H, the orthologous genes were placed in one group. For example, OsC3H8 showed close homology to HUA1 in *Arabidopsis* (AtC3H37), suggesting that this gene is involved in flower development. This study provides valuable information about the important CCCH zinc finger gene family in *Arabidopsis* and rice. This information can be helpful in understanding how these genes work to help plant tolerance when faced with biotic and abiotic stresses.

Keywords: abiotic stress, transcription factor, motif.

چکیده

ژن‌های خانواده زینک‌فینگر (C3HZNF) کد کننده پروتئین‌هایی با سه سیستین و یک هیستیدین می‌باشند. پروتئین‌های این خانواده دسته مهمی از فاکتورهای رونویسی زینک‌فینگر بوده که در فعالیت‌های مختلف از جمله رشد و نمو گیاه و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی و در واقع در مقاومت به تنش‌ها موثر می‌باشند. در این مقاله از داده‌های پروتئینی C3HZNF دو گیاه آراییدوپسیس و برنج برای تجزیه و تحلیل روابط فیلوژنتیک، ساختار اکزون/اینترون، سازماندهی موتیف‌ها/ دامنه‌ها استفاده شد. این بررسی‌ها نشان از همولوژی بالای این ژن‌ها با ژن‌های CCCH در برنج داشتند. تجزیه و تحلیل ساختار ژنی نشان داد که AtC3Hها دارای تعداد اکزون‌های متغیری می‌باشند، اما به طور کلی ژن‌هایی با ۱ و ۷ اکزون، بیشترین تعداد را در بر می‌گیرند. بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌های این خانواده نشان داد که AtC3H36 پایدارترین پروتئین در بین اعضای این خانواده می‌باشد همچنین بیشترین نقطه ایزوالکتریک متعلق به پروتئین AtC3H7 (9.96) است. مشاهدات نشان داد اعضای این خانواده ژنی دارای ۱ تا ۶ دمن C3H Znf و مجموعاً ۱۷ دمن عملکردی می‌باشند. مقایسه فیلوژنی بین پروتئین‌های C3H در برنج و *Arabidopsis* نشان داد که این پروتئین‌ها از حفاظت شدگی بالایی برخوردارند. در آنالیز فیلوژنتیکی مقایسه‌ای AtC3H و OsC3H، ژن‌های اورتولوگ در یک گروه قرار گرفتند. به عنوان مثال، OsC3H8 همولوژی نزدیکی با HUA1 در *Arabidopsis* (AtC3H37) نشان داد، که این ژن در توسعه گل نقش دارد. این مطالعه اطلاعات ارزشمندی در مورد خانواده مهم ژنی CCCH zinc finger در گیاه آراییدوپسیس و برنج ارائه می‌دهد. این اطلاعات می‌تواند در درک نحوه عمل این ژن‌ها برای کمک به مقاومت گیاه در هنگام مواجهه با تنش‌های زیستی و غیر زیستی کمک کننده باشد.

واژه‌های کلیدی: تنش غیرزیستی، فاکتور رونویسی، موتیف.

مقدمه

گیاهان اغلب با شرایط محیطی نامطلوب مانند دمای شدید، خشکسالی و شوری مواجه شده که با تغییر در الگوی بیان ژن، به این شرایط پاسخ می‌دهند. فاکتورهای رونویسی یکی از این خانواده‌های ژنی است که نقش مهم در فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی گیاه، از جمله هورمون‌های اصلی، دفاعی و پاسخ‌های استرسی دارد (Wan et al., 2021). فاکتورهای رونویسی اجزای اصلی تنظیم‌کننده مسیر سیگنال تنش‌های غیر زیستی و زیستی می‌باشند و به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های مهم فرآیندهای سلولی لحاظ می‌شوند. خانواده زینک فینگر یکی از بزرگترین خانواده‌های فاکتورهای رونویسی در یوکاریوت‌ها است که ژن‌ها را در سطح رونویسی یا پس از آن تنظیم می‌کند و در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی مانند ریخت‌زایی، انتقال سیگنال و پاسخ به تنش‌های محیطی نقش دارد (Chen et al., 2020). پروتئین‌های تنظیم‌کننده، در انتقال سیگنال‌های تنش با اثرگذاری روی بیان ژن‌های هدف پایین‌دست‌تر خود نقش دارند. این پروتئین‌های تنظیم‌کننده شامل کینازهای پروتئینی، پروتئین فسفاتازها، فاکتورهای رونویسی (TF)^۱ و پروتئین‌های دخیل در گردش فسفات معدنی (pi)^۲ هستند (Han et al., 2020). زینک فینگرها (zfn)^۳ ساختارهایی از زنجیره‌های پپتیدی هستند که در اطراف کلات یون روی جمع شده‌اند. موتیف زینک‌فینگر اولین بار در فاکتور رونویسی IIIA در *Xenopus* (قورباغه پنجه آفریقایی) شناسایی شد (Isalan, 2013). پروتئین‌های زینک فینگر یک خانواده بزرگ در یوکاریوت‌ها هستند که با مولکول‌های هدف خود

مانند یون فلز روی، DNA، RNA، پروتئین‌ها و لیپیدها از طریق موتیف‌های zinc finger اتصال پشت سرهم برقرار می‌کنند (Pi et al., 2018). سوپر خانواده زینک فینگر بر اساس تعداد و فاصله بین بقایای هیستیدین و سیستئین حفاظت شده به ۹ خانواده تقسیم می‌شوند که شامل C4HC3، C2HC5، C3HC4، C6، C8، C2H2، CCCH، C4، C2HC است (Pradhan et al., 2017). پروتئین زینک فینگر نوع C3H معمولاً دارای یک یا تعداد بیشتری موتیف بوده که با سه سیستئین و یک هیستیدین حفاظت شده شناسایی می‌شوند. بر اساس تعداد مختلف اسیدهای آمینه موجود بین سیستئین و هیستیدین در موتیف‌های C3H، توالی توافق شده برای این موتیف‌ها به صورت مقابل می‌باشد: C-X4-4-H-X3-6-C-X4-15-C-X (X نشان‌دهنده هر نوع آمینواسیدی است) (Yuan et al., 2015). گفته می‌شود که پروتئین‌های C3H غنی از توالی‌های فنیل آلانین و گلايسین هستند (Jiang et al., 2014).

پیشینه پژوهش

ژن‌های خانواده‌ی C3H ZNF در موجودات بسیاری مانند انسان (۵۵ژن)، موش (۵۸)، *Arabidopsis thaliana* (۶۸)، برنج (*Oryza sativa*) (۶۷) (Wang et al., 2008)، صنوبر (*Populus trichocarpa*) (۹۱)، گوجه (*Solanum lycopersicum*) (۸۰)، جو (*Hordeum vulgare*) (۵۳ ژن) (Ai et al., 2022)، ذرت (*Zea maize*) (۶۸) (Peng et al., 2012) شناسایی شده‌اند. پروتئین‌های C3H ZNF در بسیاری از فرآیندهای رشدی گیاه از جمله جوانه‌زنی بذر (مانند ژن‌های *HUA1*)، گلدهی (*KHZ1*) (*AtC3H36*)، رشد و

1. Transcription factors
2. Inorganic phosphate
3. Zinc finger

گیاهان، ژن‌های حاوی دامنه KH FLK^۵ و PEP^۶ گلهی را به ترتیب با بیان منفی و مثبت FLC تنظیم می‌کنند. ژن *HvC3H22* کلید اصلی برای افزایش طول سلول می‌باشد. همچنین پیش‌بینی شده ژن‌های *HvC3H1* و *HvC3H28* ممکن است نقش بالقوه‌ای در پاسخ به تنش خشکی ایفا کنند (Ai et al., 2022).

در مجموع، مطالعات فوق بیانگر نقش متنوع ژن‌های C3H ZNF در پاسخگویی به تنش‌های محیطی همچنین شرکت در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه و می‌باشد. از این رو، شناسایی و بررسی عملکردی خانواده ژنی C3H ZNF به‌عنوان مطالعات پایه‌ای در جهت درک بهتر مکانیسم‌های مولکولی و نقش این پروتئین‌ها در مسیر سیگنال‌های پاسخ‌دهنده به تنش، ضروری می‌باشد.

روش‌شناسی پژوهش

شناسایی اعضای خانواده CCCH Zinc finger شناسایی ژن‌های CCCH Zinc finger همچنین داده‌های اساسی شامل توالی ژنومی، CDNA و پروتئینی گیاه *Arabidopsis thaliana* از طریق پایگاه داده TAIR^۷ صورت گرفت. این اطلاعات برای گیاه *Oryza sativa* از طریق پایگاه داده RGAP بدست آمد^۸.

برای مشاهده حضور دمین CCCH در پروتئین‌ها نیز از پایگاه‌های داده PFAM (Punta et al., 2011) SMART (Letunic et al., 2004) و interproscan (de Mello et al., 2017) استفاده شد.

تنظیم پیری *KHZ2 (AtC3H52)*، رشد جنین (*AtC3H14*، *AtC3H15*)، شکل‌گیری جنین در مرحله قلبی و همچنین رشد بساک دخیل هستند (Yan et al., 2017; Chen et al., 2020). در صنوبر *PdC3H17* و *PdC3H18* تشکیل دیواره دومین را به صورت مثبت تنظیم می‌کنند (Chai et al., 2014). در برنج *OstZF1*، با تنظیم ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش، پیری برگ را به تاخیر می‌اندازد. ژن‌های C3H ZNF نه تنها به فرآیند رشد گیاه کمک می‌کنند بلکه تنظیم‌کننده پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیز هستند (Wang et al., 2008). برای مثال در کتان ژن *GhZFP1* به دلیل برهم کنش با پروتئین دهیدرات و یک پروتئین مرتبط با بیماری‌زایی به ترتیب باعث مقاومت به شوری و بیماری می‌شود. در آرابیدوپسیس بیان بیش از حد *AtTZF1* منجر به کوتاه شدن قد گیاهان، تاخیر در گلهی و همچنین مقاومت بیشتر به تنش‌ها می‌شود. مشاهده شده است که این ژن به طور مثبت پاسخ به قند و ABA^۱ را تنظیم و پاسخ‌های GA^۲ را به طور منفی تنظیم می‌کند (Pradhan et al., 2017). *AtTZF9* به وسیله کینازهای پروتئینی فعال شده با میتوزن (MAPKs)^۳ فسفریله می‌شود و برای پاسخ‌های ایمنی ناشی از الگوی مولکولی مرتبط با پاتوژن (PAMP)^۴ مورد نیاز است. در برنج ژن *Osc3H10* در هنگام تنش خشکی و سایر تنش‌های غیر زیستی بیان می‌شود (Seong et al., 2020). در گیاه جو ژن *HvC3H11* به‌عنوان یکی از اعضای خانواده ژنی C3H، حاوی دمین KH بوده که تمایل زیادی به بیان در گل‌آذین جوان دارد. در

5. Flowering Locus KH Domain

6. PEPPER

7. <https://www.arabidopsis.org/>

8. http://rice.uga.edu/analyses_search_locus.shtml

1. Abscisic acid

2. Gibberellic acid

3. Mitogen-activated protein kinases

4. Pathogen-associated molecular pattern

داده‌های ریزآرایه چیپ افی ماتریکس ATH1 (ATLAS Niolabs GmbH, Berlin, Germany) ارائه شده در پروژه اطلس بیانی AtGenExpress مورد بررسی قرار گرفت (Schmid *et al.*, 2005). این داده‌های بیانی شامل تنش‌های مختلف به همراه کد دسترسی آن‌ها می‌باشند. این تنش‌ها شامل، تنش سرما (ME00325)، خشکی (ME00338)، شوری (ME00328)، اکسیداتیو (ME00340)، گرمایی (ME00339)، پرتوهای UV-B (ME00329) است که از سایت TAIR دریافت شده‌اند. اعمال تنش در گیاهچه‌های ۱۸ روزه و در دو تکرار بیولوژیکی و در شرایط نوری $60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ در 38°C تنش‌های شوری (150 mM NaCl)، سرما (38°C ، for 3 h)، اکسداتیو (10 μM Methyl viologen)، خشکی (کاهش ۱۰ درصد از وزن تر گیاه)، گرما (38°C for 3 h) در دو بافت ریشه و شاخساره در دو زمان صفر (کنترل) و ۳۰ دقیقه پس از اعمال تنش بوده است (Kilian *et al.*, 2007). تغییرات بیان ژن‌ها در هر تنش نسبت به سطح کنترل (FC) محاسبه گردیده و ارائه نتایج $\text{Log}_2 \text{FC}$ در Heatmap با استفاده از نرم‌افزار $^3\text{heatmapper}$ انجام شد.

نتایج و بحث

آنالیز دمین و موتیف‌های حفاظت‌شده پروتئین‌های

C3H Znf

با توجه به اطلاعات بدست آمده از سایت TAIR ۶۸ ژن CCCH Zinc finger در گیاه آرآیدوپسیس وجود دارد که با کمک نرم افزارها و پایگاه داده مختلف این اطلاعات مورد بررسی قرار گرفت. به منظور شناسایی دمین‌ها و موتیف‌های حفاظت شده

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌ها

اطلاعاتی مانند وزن مولکولی، نقطه ایزوالکتریک، تعداد اسیدهای آمینه از پایگاه ExPASy به کمک ابزار ProtParam جمع آوری شد (Gasteiger *et al.*, 2003). شناسایی آگرون‌ها و اینترون‌ها با نرم‌افزار GSDS 2.0 صورت گرفت (Hu *et al.*, 2014).

شناسایی موتیف‌های حفاظت شده

برای شناسایی موتیف‌های حفاظت شده در توالی‌های پروتئینی CCCH ZNF از برنامه MEME استفاده شد (Bailey *et al.*, 2009) که شامل انتخاب موتیف‌ها بدون توجه به دفعات تکرار، شناسایی حداکثر ۱۰ موتیف با E-value کمتر از $1/10000$ و سایر گزینه‌ها نیز به حالت پیش فرض قرار گرفت (Arab *et al.*, 2021).

شناسایی ساختار ژنی و روابط فیلوژنتیکی

به منظور هم ردیفی دو توالی از الگوریتم muscle استفاده شد و ترسیم درخت فیلوژنتیک آنها براساس روش اتصال همسایه در نرم افزار MEGA ۱۱ با آزمون بوت استرپ با تکرار ۱۰۰۰ برای اطمینان از صحت گروه‌بندی، انجام شد (Tamura *et al.*, 2013). ترسیم ساختار ژنی با کمک نرم افزار DOG 2.0 و با استفاده از داده‌های پایگاه interpro انجام شد (Ren *et al.*, 2009).

آنالیز بیان ژن‌های AtC3H

بررسی پروفایل بیانی خانواده ژنی AtC3H در گیاه آرآیدوپسیس تحت تنش‌های مختلف غیرزیستی مورد بررسی قرار گرفت. این امر با استفاده از

3. <http://www.heatmapper.ca/expression>

1. <https://web.expasy.org/protparam/>

2. <http://gsds.gao-lab.org/>

آرابتوپسیس کمترین میزان این متغیر متعلق به AtC3H19 (۴/۶۹) و بیشترین آن متعلق به AtC3H7 (۹/۹۶) است. کمترین میزان شاخص ناپایداری (<۴۰ پایدار) را پروتئین AtC3H36 با شاخص ۲۷/۵۴ (پایدار) و بیشترین آن را پروتئین AtC3H9 با شاخص ۸۸/۷۳ (ناپایدار) دارد. به طور کلی در گیاه آرابتوپسیس ۶ پروتئین AtC3H پایدار وجود دارد. کمترین میزان شاخص آلفاتیک ۳۶/۶۷ (AtC3H16)، بیشترین آن ۸۵/۸۶ (AtC3H31) است. مطابق داده‌ها بیشترین و کمترین وزن مولکولی نیز در پروتئین‌های AtC3H19 (۱۷/۵۱۰۵۱) و AtC3H13 (۷۴/۹۴۵۰) مشاهده شد. برای خاصیت آبگریزی پروتئین نیز این میزان بین ۰/۱۹۳- (AtC3H48) و ۱/۷۹۴- (AtC3H9) متغیر بود. در برنج کمترین طول پروتئین متعلق به OsC3H29 (۱۴۶) و پروتئین OsC3H61 (۱۸۵۳) دارای بیشترین طول می‌باشد. پروتئین OsC3H28 دارای بیشترین نقطه ایزوالکتریک و پروتئین OsC3H61 (۴/۷۰) کمترین PI را دارد. OsC3H17 پایدارترین پروتئین (۲۸/۴۳) می‌باشد. بیشترین میزان شاخص آلفاتیک در پروتئین OsC3H4 (۹۱/۵۷) و کمترین میزان آن در OsC3H38 (۴۲/۳۴) مشاهده شد. خاصیت آبگریزی نیز بین ۰/۱۲۸- (OsC3H4) و ۱/۵۳- (OsC3H25) متغیر بود.

در انگور (*Vitis vinifera*) با ۶۹ پروتئین C3H بیشترین و کمترین طول پروتئین به ترتیب (VvC3H65) با ۲۲۰۳ و (VvC3H16) با ۱۱۳ آمینواسید می‌باشد همچنین نقطه ایزوالکتریک آن بین ۵/۱۵ (VvC3H6) و ۹/۵۲ (VvC3H20) متغیر است (Wang *et al.*, 2014). جو دارای پروتئین‌های C3H با طولی بین ۱۲۷ (HvC3H35) تا ۱۴۵۶ (HvC3H6) آمینو اسید است. نقطه ایزوالکتریک در پروتئین‌های آن عددی بین ۵/۱۳ تا

اعضای خانواده C3H Znf در پایگاه‌های داده SMART، PFAM، INTER PRO و بررسی شدند. در این بررسی هیچ دمینی برای پروتئین‌های AtC3H50، AtC3H40، AtC3H27، AtC3H6 در پایگاه داده SMART و پروتئین‌های AtC3H20، AtC3H19 در پایگاه PFAM یافت نشد. همچنین هیچ اطلاعاتی از دمین پروتئین‌های AtC3H45 و AtC3H68 در هر دو پایگاه داده بدست نیامد ولی تمامی این پروتئین‌ها دارای دمین C3H ZNF در پایگاه داده INTERPRO با شماره دسترسی IPR000571: Znf_CCCH بودند. مقایسه دمین‌های پروتئین‌های این گیاه بیانگر شباهت برخی از آنها با یکدیگر بود. برای مثال پروتئین‌های AtC3H47، AtC3H66، AtC3H29، AtC3H30 همگی دارای دو دمین ANK و دو دومین ZF C3H می‌باشند. پروتئین‌های AtC3H4، AtC3H25، AtC3H41، AtC3H46 همگی دارای یک دمین C3H Znf و یک دمین RRM هستند. همچنین پروتئین‌های AtC3H42، AtC3H5، AtC3H8، AtC3H60 همگی دارای دمین‌های کاملاً مشابه می‌باشند.

بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پروتئین


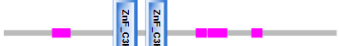
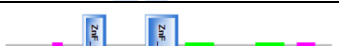



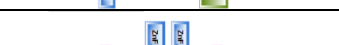






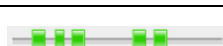
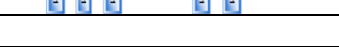
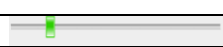

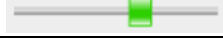




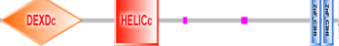

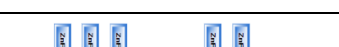

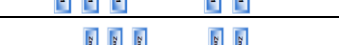
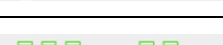
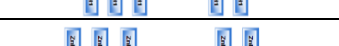
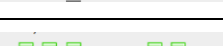
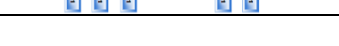
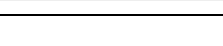
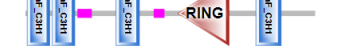









جهت آنالیز ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، طول پروتئین، وزن مولکولی، نقطه ایزوالکتریک (PI)، شاخص ناپایداری، شاخص آلفاتیک، Gravy (خاصیت آبگریزی پروتئین)، تعداد آگزون‌ها و اینترون‌ها در پروتئین‌های C3H بررسی شد. طول پروتئین (تعداد اسیدهای آمینه) در گیاه آرابتوپسیس بین ۸۲ (AtC3H13) تا ۱۷۷۳ (AtC3H19) آمینواسید متغیر است. نقطه ایزوالکتریک در گیاه

۱۰/۱۵ می‌باشد (Ai et al., 2022). طول این پروتئین در گیاه *Pyrus betulaefolia* محدوده‌ای بین ۱۴۲ (PbeC3H72) تا ۲۰۴۰ (PbeC3H110) است.
 آمینواسید بود. PI نیز متغیری بین ۴/۷۲ تا ۹/۶۹ (PbeC3H102) است (Liu et al., 2020).

جدول ۱. بررسی حضور دمین C3H ZNF در پروتئین‌های آرابییدوپسیس تالیانا در پایگاه‌های SMART، PFAM و Interproscan

Interproscan	Protein domain		Accession number	Gene name
	SMART	PFAM		
IPR000571:Znf_CCCH IPR001841: Znf_RING,			AT1G01350	AtC3H1
IPR000571: Znf_CCCH,			AT1G03790	AtC3H2
IPR000571: Znf_CCCH			AT1G04990	AtC3H3
IPR000504: RRM_dom, IPR000571: IPR032297: Torus, Znf_CCCH,			AT1G07360	AtC3H4
IPR000571: Znf_CCCH, IPR000504: RRM_dom, IPR003954: RRM_dom_euk,			AT1G10320	AtC3H5
IPR000571: Znf_CCCH, PS50103: ZF_C3H1			AT1G19860	AtC3H6
IPR000571: Znf_CCCH			AT1G21570	AtC3H7
IPR000571: Znf_CCCH, IPR000504: RRM_dom, IPR003954: RRM_dom_euk			AT1G27650	AtC3H8
IPR000571: Znf_CCCH, PF00642: zf-CCCH PS50103: ZF_C3H1, SM00356: c3hfinal6			AT1G29570	AtC3H9
IPR000571: Znf_CCCH, SM00356: c3hfinal6 PS50103: ZF_C3H1, PF00642: zf-CCCH			AT1G29600	AtC3H10
IPR007275: YTH_domain, IPR000571: Znf_CCCH			AT1G30460	AtC3H11
IPR000571: Znf_CCCH, IPR041367: Znf-CCCH_4			AT1G32360	AtC3H12
IPR000571: Znf_CCCH			AT1G48195	AtC3H13
IPR000571: Znf_CCCH			AT1G66810	AtC3H14
IPR000571: Znf_CCCH			AT1G68200	AtC3H15
IPR000571: Znf_CCCH IPR041367: Znf-CCCH_4			AT1G75340	AtC3H16
IPR000571: Znf_CCCH, IPR041686: Znf-CCCH_3			AT2G02160	AtC3H17
IPR000571: Znf_CCCH, IPR000504: RRM_dom IPR025605: OST- HTH/LOTUS_dom IPR034365: AtC3H46-like_RRM			AT2G05160	AtC3H18

ادامه جدول ۱. بررسی حضور دمین C3H ZNF در پروتئین‌های آرابتوپسیس تالیانا در پایگاه‌های SMART، PFAM، و Interproscan

Interproscan	Protein domain SMART	PFAM	Accession number	Gene name
IPR001965: Znf_PHD, IPR004343: Plus-3_dom IPR003121: SWIB_MDM2_domain IPR019787: Znf_PHD-finger IPR019835: SWIB_domain,			AT2G16470	AtC3H19
IPR000571: Znf_CCCH			AT2G19810	AtC3H20
IPR000571: Znf_CCCH IPR032378: ZC3H15/TMA46_C			AT2G20280	AtC3H21
IPR000467: G_patch_dom IPR041367: Znf-CCCH_4			AT2G24830	AtC3H22
IPR000571: Znf_CCCH IPR041367: Znf-CCCH_4			AT2G25900	AtC3H23
IPR000571: Znf_CCCH IPR025714: Methyltransfer_dom			AT2G28450	AtC3H24
IPR000504: RRM_dom, IPR000571: Znf_CCCH, IPR032297: Torus			AT2G29580	AtC3H25
IPR000571: Znf_CCCH			AT2G32930	AtC3H26
IPR000571: Znf_CCCH			AT2G33835	AtC3H27
IPR000571: Znf_CCCH			AT2G35430	AtC3H28
IPR000571: Znf_CCCH IPR041367: Znf-CCCH_4			AT2G40140	AtC3H29
IPR000571: Znf_CCCH			AT2G41900	AtC3H30
IPR001650: Helicase_C, IPR000571: Znf_CCCH IPR014001: Helicase_ATP-bd IPR011545: DEAD/DEAH_box_helicase_dom			AT2G47680	AtC3H31
IPR000571: Znf_CCCH			AT2G47850	AtC3H32
IPR000571: Znf_CCCH			AT3G02830	AtC3H33
IPR000571: Znf_CCCH			AT3G06410	AtC3H34
IPR041367: Znf-CCCH_4 IPR018957: Znf_C3HC4_RING-type IPR000571: Znf_CCCH, IPR001841: Znf_RING			AT3G08505	AtC3H35
IPR000571: Znf_CCCH IPR004087: KH_dom, IPR004088: KH_dom_type_1			AT3G12130	AtC3H36
IPR000571: Znf_CCCH			AT3G12680	AtC3H37
IPR000571: Znf_CCCH PS50103: ZF_C3H1			AT3G18640	AtC3H38
IPR000571: Znf_CCCH			AT3G19360	AtC3H39
IPR000571: Znf_CCCH			AT3G21810	AtC3H40

ادامه جدول ۱. بررسی حضور دمین C3H ZNF در پروتئین‌های آرآبیدوپسیس تالیانا در پایگاه‌های SMART، PFAM، و Interproscan

Interproscan	Protein domain	SMART	PFAM	Accession number	Gene name
IPR000504: RRM_dom, IPR000571: Znf_CCCH				AT3G27700	AtC3H41
IPR000571: Znf_CCCH, IPR000504: RRM_dom IPR041367: Znf-CCCH_4 IPR045844: RRM_Ist3-like				AT3G47120	AtC3H42
IPR000571: Znf_CCCH				AT3G48440	AtC3H43
IPR003169: GYF, IPR004343: Plus-3 IPR019787: Znf_PHD-finger IPR003121: SWIB_MDM2_domain IPR000571: Znf_CCCH, IPR001965: Znf_PHD IPR019835: SWIB_domain				AT3G51120	AtC3H44
IPR000571: Znf_CCCH				AT3G51180	AtC3H45
IPR034365: AtC3H46-like_RRM IPR000571: Znf_CCCH, IPR000504: RRM_dom				AT3G51950	AtC3H46
IPR000571: Znf_CCCH IPR041367: Znf-CCCH_4				AT3G55980	AtC3H47
IPR000571: Znf_CCCH				AT4G25440	AtC3H48
IPR000571: Znf_CCCH				AT4G29190	AtC3H49
IPR035587: DUS-like_FMN-bd IPR000571: Znf_CCCH				AT4G38890	AtC3H50
IPR000571: Znf_CCCH, PF00642: zf-CCCH IPR001841: Znf_RING, SM00184: ring_2				AT5G06420	AtC3H51
IPR000571: Znf_CCCH, IPR004087: KH_dom IPR004088: KH_dom_type_1				AT5G06770	AtC3H52
IPR000571: Znf_CCCH				AT5G07060	AtC3H53
IPR000571: Znf_CCCH,				AT5G07500	AtC3H54
IPR000571: Znf_CCCH, IPR000504: RRM_dom IPR034365: AtC3H46-like_RRM				AT5G12440	AtC3H55
IPR000571: Znf_CCCH				AT5G12850	AtC3H56
IPR000571: Znf_CCCH				AT5G16540	AtC3H57
IPR000571: Znf_CCCH				AT5G18550	AtC3H58
IPR000571: Znf_CCCH,				AT5G40880	AtC3H59
IPR000571: Znf_CCCH, IPR000504: RRM_dom IPR003954: RRM_dom_euk				AT5G42820	AtC3H60
IPR000571: Znf_CCCH				AT5G44260	AtC3H61

ادامه جدول ۱. بررسی حضور دمین C3H ZNF در پروتئین‌های آراییدوپسیس تالیانا در پایگاه‌های SMART, PFAM, و Interproscan

Interproscan	Protein domain		Accession number	Gene name
	SMART	PFAM		
IPR000571: Znf_CCCH			AT5G49200	AtC3H62
IPR000571: Znf_CCCH			AT5G51980	AtC3H63
IPR000571: Znf_CCCH IPR006767: Cwf19-like_C_dom-2 IPR006768: Cwf19-like_C_dom-1			AT5G56900	AtC3H64
IPR041367: Znf-CCCH_4 IPR000571: Znf_CCCH,			AT5G56930	AtC3H65
IPR000571: Znf_CCCH			AT5G58620	AtC3H66
IPR000571: Znf_CCCH,			AT5G63260	AtC3H67
IPR000571: Znf_CCCH,			AT5G66270	AtC3H68

جدول ۲. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی گیاه آراییدوپسیس تالیانا

شماره	نام ژن	طول پروتئین (aa)	وزن مولکولی (KDA)	نقطه ایزو الکتریک	شاخص ناپایداری	شاخص آلفاتیک	GRAVY	اگزون	ایترون
1	AtC3H1	343	38710.00	6.62	55.08	47.58	-1.093	3	2
2	AtC3H2	393	43614.50	8.12	76.54	52.21	-0.718	1	0
3	AtC3H3	404	44704.43	8.40	56.48	49.01	-0.663	7	6
4	AtC3H4	481	53587.95	7.21	63.92	55.03	-0.819	4	3
5	AtC3H5	757	89065.10	6.44	74.03	40.21	-1.594	9	8
6	AtC3H6	413	45126.96	5.21	47.45	66.39	-0.689	4	3
7	AtC3H7	470	53768.44	9.96	55.24	63.26	-0.784	9	8
8	AtC3H8	296	34572.30	9.48	76.10	47.50	-1.230	1	0
9	AtC3H9	321	39645.63	6.62	88.73	47.41	-1.794	10	9
10	AtC3H10	307	36281.56	9.44	78.03	44.76	-1.371	9	8
11	AtC3H11	631	70014.73	5.85	58.77	47.61	-0.941	7	6
12	AtC3H12	384	40705.97	8.01	46.60	52.84	-0.654	2	1
13	AtC3H13	82	9450.74	8.51	78.78	39.27	-0.960	1	0
14	AtC3H14	310	35108.58	6.86	63.11	69.84	-0.598	2	1
15	AtC3H15	308	34227.24	8.82	42.37	64.87	-0.805	2	1
16	AtC3H16	435	46797.94	8.81	53.01	36.67	-0.817	12	11
17	AtC3H17	669	75831.55	5.11	63.62	48.28	-1.245	3	2
18	AtC3H18	536	61349.16	6.56	50.26	70.37	-0.565	5	4
19	AtC3H19	1773	195051.17	4.69	54.19	63.65	-0.837	10	9
20	AtC3H20	359	39845.40	6.02	63.03	54.85	-0.706	1	0
21	AtC3H21	371	42389.09	4.96	47.48	56.33	-1.192	8	7
22	AtC3H22	497	55934.89	5.46	49.20	76.36	-0.743	4	3
23	AtC3H23	315	35464.66	7.09	76.78	53.62	-0.644	1	0
24	AtC3H24	809	89022.51	5.35	40.76	77.53	-0.448	13	12
25	AtC3H25	483	54252.42	7.00	62.05	53.73	-0.899	4	3
26	AtC3H26	453	49747.41	6.01	60.92	46.98	-0.763	7	6
27	AtC3H27	587	64375.50	6.07	42.73	62.76	-0.676	5	4
28	AtC3H28	252	27735.71	8.76	45.37	49.13	-0.766	2	1
29	AtC3H29	597	66153.44	6.66	57.31	63.05	-0.554	1	0
30	AtC3H30	716	77992.09	5.94	59.91	67.30	-0.501	1	0
31	AtC3H31	1015	115084.62	6.19	56.46	85.86	-0.239	14	13
32	AtC3H32	468	50040.50	9.03	58.57	57.99	-0.389	7	6
33	AtC3H33	397	44181.48	8.09	50.47	47.38	-0.676	7	6
34	AtC3H34	462	48851.59	8.29	63.81	52.55	-0.495	7	6
35	AtC3H35	323	36562.39	7.16	64.91	65.76	-0.550	5	4
36	AtC3H36	248	25952.10	9.51	27.54	49.96	-0.623	3	2
37	AtC3H37	524	57653.65	7.52	55.11	52.77	-0.632	12	11
38	AtC3H38	676	75581.40	7.75	53.58	50.46	-1.154	3	2
39	AtC3H39	386	43121.42	6.99	56.76	59.87	-0.746	2	1
40	AtC3H40	437	50519.42	5.63	69.19	54.44	-1.272	11	10

ادامه جدول ۲. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی گیاه آرآیدوپسیس تالیانا

شماره	نام ژن	طول پروتئین (aa)	وزن مولکولی (KDA)	نقطه ایزو الکتریک	شاخص ناپایداری	شاخص آلفاتیکی	GRAVY	اگزون	ایترون
41	AtC3H41	908	99228.30	6.40	46.52	56.07	-0.874	4	3
42	AtC3H42	352	40684.37	8.52	47.29	42.44	-1.462	5	4
43	AtC3H43	448	49863.94	5.42	59.34	46.79	-0.846	6	5
44	AtC3H44	1305	143645.22	6.33	51.30	74.39	-0.619	11	10
45	AtC3H45	521	57369.87	9.65	49.68	62.50	-0.649	4	3
46	AtC3H46	540	59789.16	6.48	59.12	71.85	-0.530	7	6
47	AtC3H47	580	64058.36	7.47	55.48	65.21	-0.491	1	0
48	AtC3H48	430	46661.82	7.08	27.59	80.67	-0.193	9	8
49	AtC3H49	356	40264.36	6.17	67.41	56.40	-0.667	1	0
50	AtC3H50	691	77573.89	6.10	41.65	74.79	-0.541	10	9
51	AtC3H51	378	42460.12	6.68	49.64	50.66	-1.001	3	2
52	AtC3H52	240	25367.57	9.66	35.72	56.54	-0.628	3	2
53	AtC3H53	363	41754.54	6.12	55.76	49.20	-0.888	4	3
54	AtC3H54	245	28175.42	6.75	56.51	52.24	-0.803	1	0
55	AtC3H55	650	71960.03	5.79	54.34	66.31	-0.650	6	5
56	AtC3H56	706	77775.32	6.48	55.97	70.48	-0.530	1	0
57	AtC3H57	375	41525.73	8.28	45.28	56.64	-0.493	6	5
58	AtC3H58	465	49463.92	6.39	68.61	44.69	-0.576	7	6
59	AtC3H59	472	51297.47	9.14	29.07	73.28	-0.292	4	3
60	AtC3H60	283	33231.93	9.67	77.50	51.34	-1.215	1	0
61	AtC3H61	381	42057.80	8.51	80.68	57.90	-0.664	1	0
62	AtC3H62	419	46069.57	8.82	37.59	77.71	-0.234	1	0
63	AtC3H63	437	47287.57	7.46	32.04	76.06	-0.232	8	7
64	AtC3H64	404	45694.77	7.86	56.04	71.68	-0.587	10	9
65	AtC3H65	675	73844.42	5.90	50.05	67.14	-0.663	7	6
66	AtC3H66	607	66447.61	5.38	59.33	67.46	-0.462	1	0
67	AtC3H67	435	48606.72	6.25	65.08	40.11	-0.935	7	6
68	AtC3H68	444	48909.82	8.91	43.57	77.51	-0.530	4	3

شناسایی موتیف‌های حفاظت‌شده پروتئین‌های AtC3H ZNF

با کمک نرم افزار MEME موتیف‌های حفاظت شده در پروتئین‌های آرآیدوپسیس شناسایی و جایگاه این موتیف‌ها در دمین مشخص گردید (شکل ۱). در آنالیز نرم افزار MEME، ۱۰ موتیف متفاوت حفاظت شده در این پروتئین‌ها بررسی گردید که طبق شکل به ترتیب از ۱ تا ۱۰ نام گذاری شدند. در گیاه آرآیدوپسیس بیشترین تکرار موتیف در پروتئین‌ها متعلق به موتیف شماره ۳ بود که به غیر از ۹ پروتئین AtC3H29، AtC3H56، AtC3H54، AtC3H48، AtC3H47، AtC3H30، AtC3H23، AtC3H20 و AtC3H2 در تمامی ۵۹ پروتئین دیگر یافت شد. همچنین موتیف شماره ۳ و موتیف شماره ۷ پرتکرارترین موتیف بوده و تقریباً در ۲۰ پروتئین یافت شدند. پروتئین‌های AtC3H2

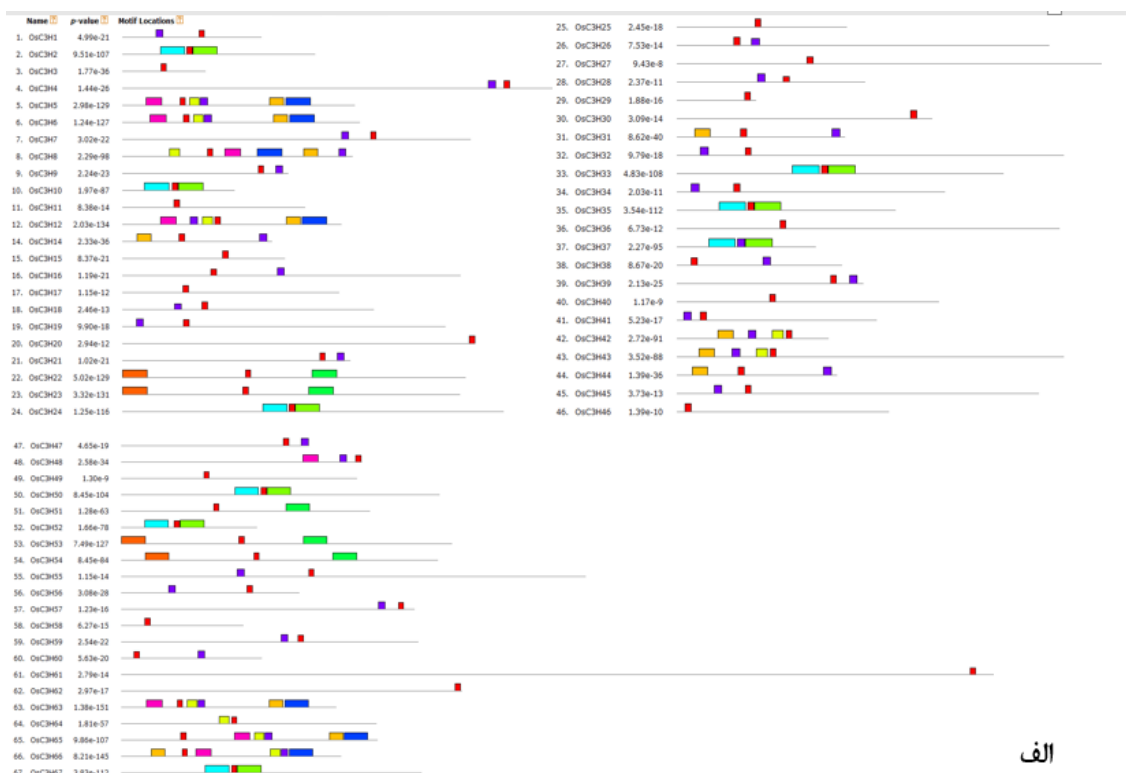
AtC3H20، AtC3H23، AtC3H49، AtC3H61، AtC3H54 همگی تنها دارای دو موتیف شماره ۱ و ۲ بودند. موتیف شماره ۱۰ تنها در ۵ پروتئین AtC3H29، AtC3H30، AtC3H47، AtC3H56، AtC3H66 تنها تکرارترین موتیف در این پروتئین‌ها موتیف‌های شماره ۹ و ۸ بودند که موتیف ۹ تنها در پروتئین‌های AtC3H48، AtC3H59، AtC3H62، AtC3H63 دیده شد. پروتئین‌های AtC3H18، AtC3H19، AtC3H46، AtC3H55 همگی دارای موتیف‌های مشابه (موتیف شماره ۸ و ۳) بودند. با کمک موتیف‌های محافظت شده در میان اعضای یک خانواده ژنی می‌توان اطلاعاتی از کارکرد این ژن‌ها به لحاظ عملکرد مولکولی و مسیر بیولوژیکی بدست آورد. پروتئین‌هایی با ترکیب موتیف‌های مشابه احتمالاً عملکردهای مشابهی دارند (Arab et al.,)

اعضای خانواده ژنی CCCH Znf آراییدوپسیس دارای ۱ تا ۶ دمین C3H Znf هستند. بیشتر اعضا دارای یک یا دو دمین C3H می‌باشند. (مطابق شکل ۲- الف) تعداد پروتئین‌های C3H در دو گیاه ذرت و آراییدوپسیس به یک اندازه است و هر دو دارای ۶۸ ژن از این خانواده می‌باشند. نکته جالب توجه در هر ۵ گیاه (مطابق شکل ۲ ب) بیشترین موتیف C3H مشاهده شده از نوع C-X7-C-X5- و C-X8-C-X5-C-X3-H و C-X3-H بود.

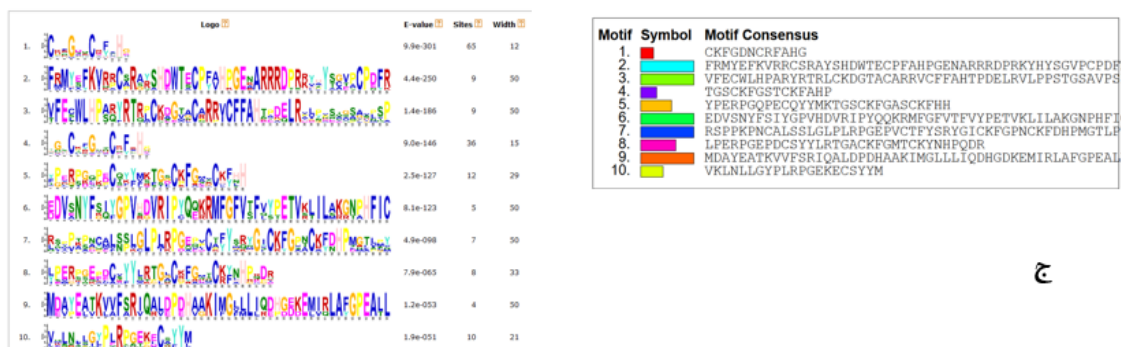
مقایسه‌ی این موتیف‌ها با موتیف‌های موجود در پروتئین‌های C3H برنج تشابه زیادی بین آن‌ها مشاهده شد برای مثال پروتئین‌های AtC3H2, 20, 23, 49, 54, 56, 61, 66 که همگی دارای دو موتیف شماره ۱ و ۲ بوده مشابه پروتئین‌های OsC3H2, 10, 24, 33, 35, 37, 50, 52, 67 پروتئین‌های AtC3H32, 33, 34, 37, 43, 57, 58, 67 همگی دارای موتیف‌هایی کاملا مشابه با پروتئین‌های OsC3H5, 6, 8, 12, 63, 67 در برنج بودند.



شکل ۱. الف) شناسایی موتیف و دمین در توالی‌های پروتئینی C3HZNF در گیاه آراییدوپسیس، ب) تصویر لوگو موتیف توالی پروتئینی AtC3H در MEME که در آن اندازه هر اسیدآمین، بیانگر فراوانی آن در دمین می باشد، ج) توالی موتیف‌های شناسایی شده.



الف



ج

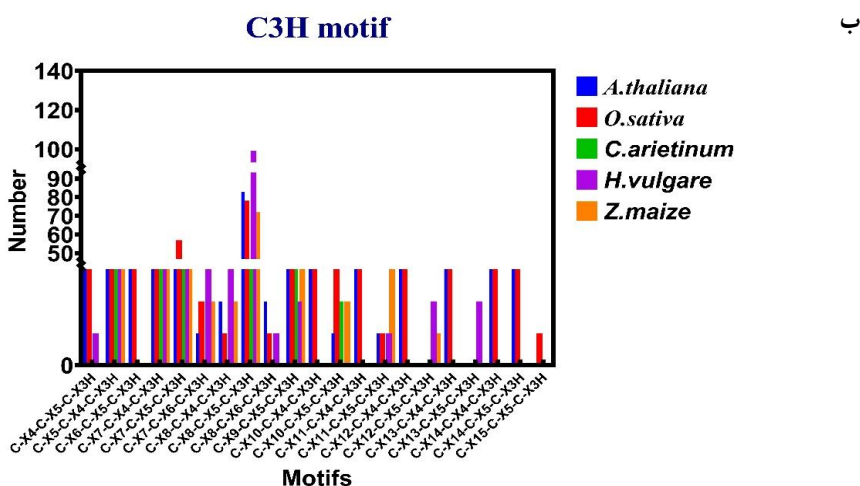
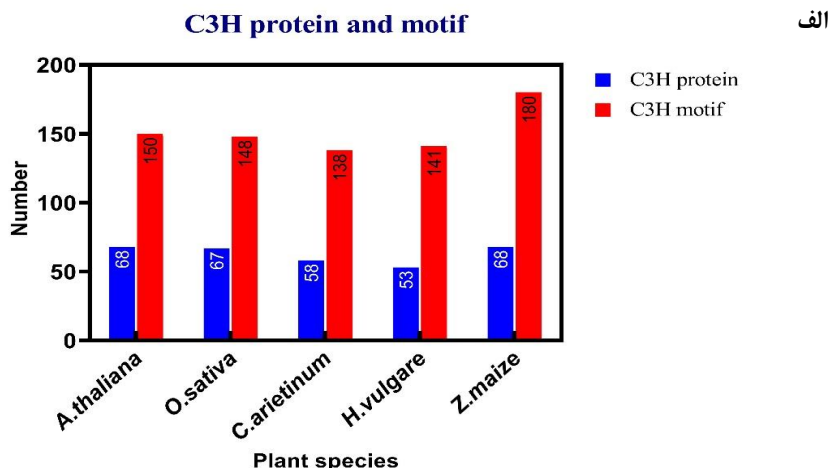
ب

شکل ۲. الف) شناسایی موتیف و دمین در توالی‌های پروتئینی C3HZNF در گیاه برنج (ب) تصویر لوگو موتیف توالی پروتئینی OsC3H در MEME که در آن اندازه هر اسید آمینه، بیانگر فراوانی آن در دمین می باشد. ج) توالی موتیف‌های شناسایی شده.

۱۳/۲۳٪، ژن‌هایی با ۳ اگزون و ۲ اینترون ۸/۸۲٪، ژن‌هایی با ۲ اگزون و ۱ اینترون ۷/۳٪ و در پایان ژن‌هایی با ۵ اگزون و ۴ اینترون، ۹ اگزون و ۸ اینترون، ۱۰ اگزون و ۹ اینترون هر کدام ۵/۸۸٪ جمعیت این خانواده ژنی را تشکیل می‌دهند. بیشترین تعداد اینترون در گیاه آرابیدوپسیس متعلق به پروتئین AtC3H31 با ۱۳ اینترون می‌باشد.

ساختار ژنی و روابط فیلوژنتیکی

بررسی تعداد اگزون و اینترون موجود در خانواده ژنی C3H ZNF در گیاه آرابیدوپسیس نشان داد که حدود ۲۲/۰۵٪ از ژن‌های AtC3H دارای یک اگزون و بدون اینترون هستند. در ادامه بیشترین درصد یعنی ۱۴/۷٪ متعلق به ژن‌هایی با ۷ اگزون و ۶ اینترون بود. ژن‌هایی با ۴ اگزون و ۳ اینترون حدود



شکل ۳. الف) مقایسه تعداد کل پروتئین‌ها و موتیف‌های C3H در ۵ گیاه آراییدوپسیس، برنج، نخود، جو و ذرت (ب) فراوانی موتیف‌های C3H در ۵ گیاه مورد بررسی.

C3H موجود در هر یک از گروه‌ها دارای سازماندهی ژنومی مشابهی هستند. ۱۷ موتیف عملکردی در اعضای خانواده AtC3H مشاهده شده است که برخی از آنها شامل: ۱- RRM (بزرگترین گروه پروتئین‌های تک‌رشته‌ای متصل شونده به RNA که در پردازش RNA و آنکیرین نقش دارند.) (Maris *et al.*, 2005), ۲- Zf-RING موتیف‌هایی که در فعل و انفعالات پروتئین-پروتئین نقش دارند (Klug,

برای ارزیابی روابط تکاملی در خانواده C3H ZNF در گیاه آراییدوپسیس آنالیز فیلوژنتیکی از توالی‌های آمینواسیدی پروتئین‌های C3HZNF در این گیاه رسم شد (شکل ۲). با مقایسه‌ی درخت فیلوژنتیکی و ساختار ژنی و تعداد اینترون و اگزون ژن‌ها در مجموع به ۱۱ گروه تقسیم شد و به صورت حروف لاتین نام گذاری شدند. نمایش دیمین‌های مختلف در توالی‌های پروتئین AtC3H نشان داد که اعضای یک گروه شباهت قابل توجهی در نوع دیمین‌های موجود نشان می‌دهند. بیشتر ژن‌های

1. RNA recognition motif

دارند این دمین حاوی بقایای سیستمین و هیستیدین حفاظت شده است و آرایشی شبیه به گروه C3H ZNF دارد. (Ohi Melanie *et al.*, 2002)، ۱۱- DEAD/DEAH_box_helicas (در جنبه‌های مختلف متابولیسم RNA، از جمله رونویسی هسته‌ای، پیوند پیش از mRNA، بیونز ریبوزوم، انتقال نوکلئوسیتوپلاسمی، ترجمه، فروپاشی RNA و بیان ژن اندامکی نقش دارند.) (Fuller-Pace, 2006) است.

مطابق شکل ۳ آنالیز فیلوژنتیکی اعضای خانواده CCCH Znf در گیاه برنج و آراییدوپسیس صورت گرفت و مشاهده شد که بیشتر اعضای خانواده C3H از نظر فیلوژنتیکی با همولوگ‌های خود در برنج بسیار مشابه هستند. برای نمونه برخی از این جفت‌ها مانند AtC3H12 / OsC3H56 (هر دو دارای ۲ اگزون و ۳ دمین C3H ZNF می‌باشند بسیار قابل توجه است که حتی تعداد آمینواسید در آنها بسیار مشابه هم و به ترتیب ۳۶۷ / ۳۸۴ می‌باشد)، OsC3H4 (۱۰۰۷ آمینواسید) / AtC3H31 (۱۰۱۵ آمینواسید) هر دو دارای ۲ دمین C3H و یک دمین Helicase_C و ۱۴ اگزون می‌باشند، OsC3H30 (۴۶۹ آمینواسید) / AtC3H6 (۴۱۳ آمینو اسید) هر دو دارای ۴ اگزون و یک دمین C3H ZNF در قسمت انتهایی توالی هستند، AtC3H14 (۳۱۰ آمینواسید) / OsC3H39 (۳۴۳ آمینواسید) هر دو دارای ۲ اگزون و دو دمین ZNF C3H می‌باشند.

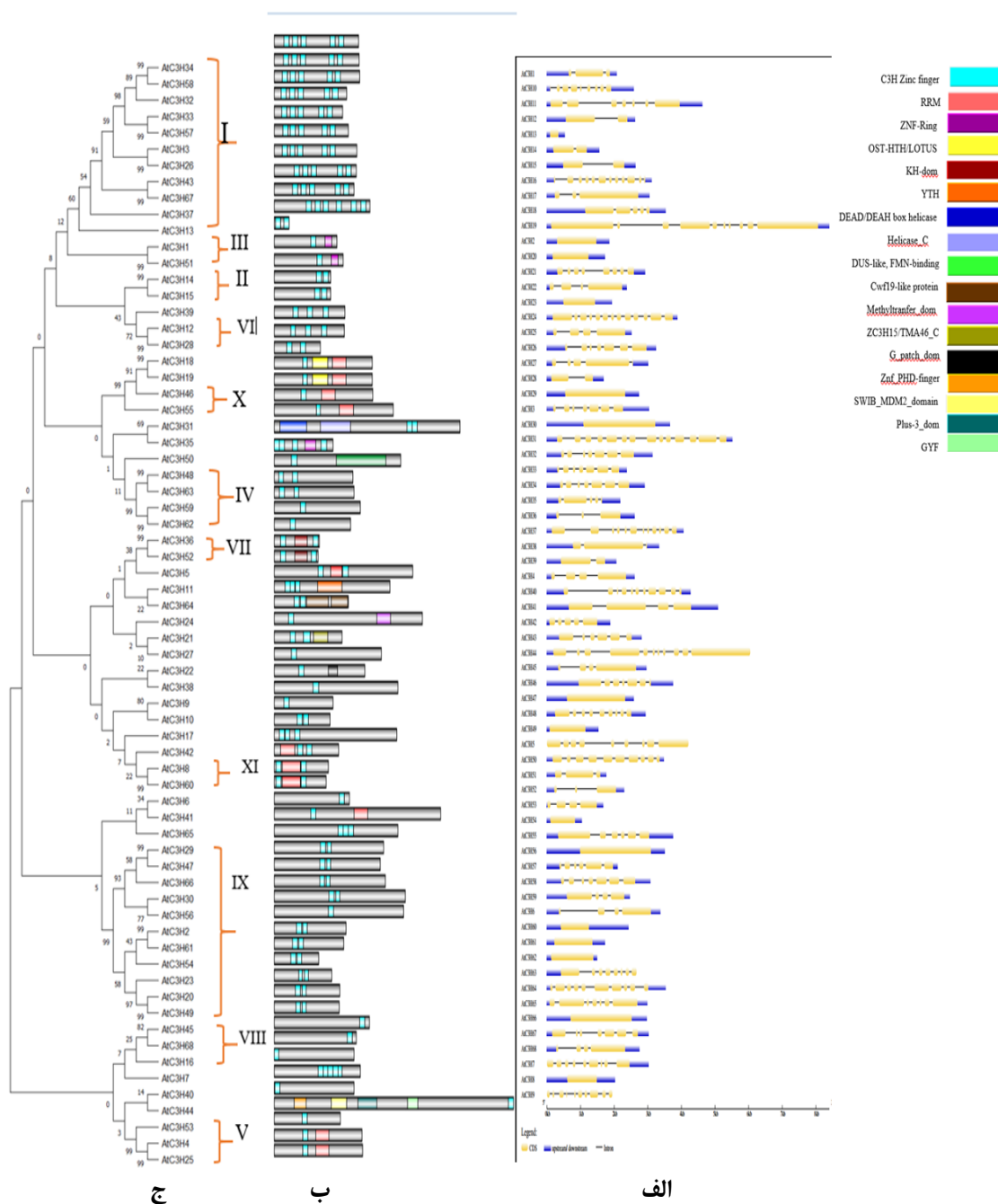
خانواده ژنی C3H ZNF در گیاهان دارای کارکردهای متنوعی بوده و در طیف وسیعی از پاسخ‌های بیولوژیکی، به خصوص در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی و زیستی، رشد و نمو گیاه و مقاومت به بیماری‌ها مشارکت دارند (Ai *et al.*, 2022). طبق تحقیقات صورت گرفته در گیاه آراییدوپسیس اعضای خانواده IX در پاسخ به تنش‌ها نقش دارند (Wang *et al.*, 2008). گزارش‌ها در برنج نشان می‌دهد که

(1999)، ۳- OST-HTH/LOTUS (پروتئین‌های دارای این دمین احتمالاً نقش کلیدی در شناسایی و محلی‌سازی dsRNA، از جمله miRNAها، piRNAها و rasiRNAهای هیبرید شده با اهداف خود دارند.) (Callebaut *et al.*, 2010)، ۴- دمین همولوگ 'k (دامنه KH در طیف گسترده‌ای از پروتئین‌های متصل شونده به اسید نوکلئیک وجود دارد. دامنه KH به RNA متصل می‌شود و می‌تواند در تشخیص RNA عمل کند.) (García-Mayoral *et al.*, 2007)، ۵- GYF (دامنه گلیسین- تیروزین-فنیل آلانین که یک دامنه حدود ۶۰ اسیدآمینو است که در تشخیص توالی غنی از پرولین نیز نقش دارد.) (Freund *et al.*, 1999)، ۵- Plus_3_dom (توانایی اتصال به DNA تک رشته‌ای را دارد و اغلب در ارتباط با دامنه GYF مشاهده می‌شود.) (Costa *et al.*, 2000; Blomme *et al.*, 2017)، ۶- SWIB_MDM2 (پروتئین‌های بازسازی‌کننده کروماتین وابسته به ATP هستند که فعال‌سازی رونویسی را تسهیل می‌کنند.) (Vieira *et al.*, 2016)، ۷- G-patch (عملکردی به خصوص در پردازش RNA دارد) (Aravind *et al.*, 1999)، ۸- Znf_PHD-finger (موتیفی مشابه زینک فینگر C4HC3، که در پروتئین‌های هسته‌ای قرار دارد و تصور می‌شود در تنظیم رونویسی با واسطه کروماتین دخیل است) (Gamsjaeger *et al.*, 2007)، ۹- Methyltransferases (آنزیم‌هایی که کار متیلاسیون را انجام می‌دهند و تقریباً هر نوع بیومولکول از مولکول‌های کوچک تا لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک را پوشش می‌دهند) (Moglia *et al.*, 2019)، ۱۰- Cwf19-like_C (Cwf19 بخشی از کمپلکس Cdc5p است که در پیوند mRNA نقش

آرابیدوپسیس، *SOMNUS* (*AtC3H2*) در یک مسیر سیگنالینگ با واسطه ABA و GA نقش دارد. آزمایشات نشان داد که *SOMNUS* مستقیماً توسط *PIL5* فعال می‌شود، که نشان می‌دهد *SOMNUS* متابولیسم ABA و GA را در پایین دست *PIL5* (فاکتور رونویسی) تنظیم می‌کند. همچنین در مسیرهای سیگنالینگ با واسطه رنگدانه گیاهی نقش دارد و بیان ژن‌های مربوط به متابولیسم هورمون را در پایین دست *PIL5* در طول جوانه زنی بذر تنظیم می‌کند (Han et al., 2021).

مقایسه فیلوژنی بین پروتئین‌های C3H در برنج و *Arabidopsis* نشان داد که خوشه‌بندی انجام شده بر اساس حضور زمین‌های عملکردی خاص صورت گرفته است و نه بر اساس گونه‌های گیاهی آن‌ها که این امر نشان می‌دهد این توالی اعضای این خانواده بسیار حفاظت شده می‌باشد. علاوه بر این، آنالیز فیلوژنتیکی مقایسه‌ای *AtC3H* و *OsC3H* همولوگ‌های مهمی را به نمایش گذاشت. به عنوان مثال، ژن *OsC3H8* همولوژی نزدیکی با *HUA1* در *Arabidopsis* (*AtC3H37*) نشان داد، گزارش شده است، این ژن در توسعه گل نقش دارد (Chen et al., 1999). پروتئین *OsC3H39* با *AtC3H14* همولوژی نشان داده، که به عنوان یک فعال کننده رونویسی عمل می‌کند و در بیوستنژ دیواره ثانویه نقش دارد (Chai et al., 2015)، *FES1* (*ATC3H27*) با *OsC3H58* همولوژی دارد و پروتئینی است که در نوک ساقه/ ریشه و رگبرگ‌ها بیان می‌شود که با همراهی FRI برای سرکوب گلدهی عمل می‌کند (Schmitz et al., 2006). فاکتورهای رونویسی خانواده CCCH Znf نقش حیاتی در رشد گیاه و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی ایفا می‌کنند (Han et al., 2021).

OsC3H12، به عنوان یک پروتئین متصل به اسید نوکلئیک، به طور مثبت و کمی، مقاومت برنج را به *Xoo* (سوختگی باکتریایی که یک بیماری ویرانگر برنج است) را تنظیم می‌کند و عملکرد آن احتمالاً با مسیر وابسته به جاسمونیک اسید مرتبط است (Deng et al., 2012). *OsGZF1* در تنظیم پروموتور *GluB-1* نقش دارد و تجمع گلوپلین‌ها را در طول رشد دانه کنترل می‌کند. بیان بیش از حد ژن *OsC3H10* سطح بیان ژن‌های پاسخگو به تنش را افزایش می‌دهد، از جمله پروتئین‌های جنین‌زایی دیررس (LEAs)، ژن‌های مرتبط با پاتوژن (PRs) و پروتئین‌های ژرمین مانند (GLP) در واقع *OsC3H10* در تنظیم مسیر مقاومت به خشکی با کاهش بیان ژن‌های مرتبط با تنش نقش دارد (Seong et al., 2020). در آرابیدوپسیس هنگام مواجهه با تنش شوری پروتئین‌های *AtSZF1* و *AtSZF2* تنظیم کننده پاسخ به تنش بوده و به مقاومت گیاه کمک می‌کنند (Sun et al., 2007). تحقیقات نشان داده است که *PEI1*، یک فاکتور رونویسی اختصاصی جنین در آرابیدوپسیس است که نقش مهمی در طول جنین‌زایی دارد (Peng et al., 2012). مطالعات دیگری روی گیاه ذرت صورت گرفت که نشان داد پروتئین‌های *ZmC3H4*، *ZmC3H43*، *ZmC3H44*، *ZmC3H45*، *ZmC3H46*، *ZmC3H47*، *ZmC3H48*، *ZmC3H49*، *ZmC3H50*، *ZmC3H51*، *ZmC3H52*، *ZmC3H53*، *ZmC3H54*، *ZmC3H55*، *ZmC3H56*، *ZmC3H57*، *ZmC3H58*، *ZmC3H59*، *ZmC3H60*، *ZmC3H61*، *ZmC3H62*، *ZmC3H63*، *ZmC3H64*، *ZmC3H65*، *ZmC3H66*، *ZmC3H67*، *ZmC3H68*، *ZmC3H69*، *ZmC3H70*، *ZmC3H71*، *ZmC3H72*، *ZmC3H73*، *ZmC3H74*، *ZmC3H75*، *ZmC3H76*، *ZmC3H77*، *ZmC3H78*، *ZmC3H79*، *ZmC3H80*، *ZmC3H81*، *ZmC3H82*، *ZmC3H83*، *ZmC3H84*، *ZmC3H85*، *ZmC3H86*، *ZmC3H87*، *ZmC3H88*، *ZmC3H89*، *ZmC3H90*، *ZmC3H91*، *ZmC3H92*، *ZmC3H93*، *ZmC3H94*، *ZmC3H95*، *ZmC3H96*، *ZmC3H97*، *ZmC3H98*، *ZmC3H99*، *ZmC3H100*، *ZmC3H101*، *ZmC3H102*، *ZmC3H103*، *ZmC3H104*، *ZmC3H105*، *ZmC3H106*، *ZmC3H107*، *ZmC3H108*، *ZmC3H109*، *ZmC3H110*، *ZmC3H111*، *ZmC3H112*، *ZmC3H113*، *ZmC3H114*، *ZmC3H115*، *ZmC3H116*، *ZmC3H117*، *ZmC3H118*، *ZmC3H119*، *ZmC3H120*، *ZmC3H121*، *ZmC3H122*، *ZmC3H123*، *ZmC3H124*، *ZmC3H125*، *ZmC3H126*، *ZmC3H127*، *ZmC3H128*، *ZmC3H129*، *ZmC3H130*، *ZmC3H131*، *ZmC3H132*، *ZmC3H133*، *ZmC3H134*، *ZmC3H135*، *ZmC3H136*، *ZmC3H137*، *ZmC3H138*، *ZmC3H139*، *ZmC3H140*، *ZmC3H141*، *ZmC3H142*، *ZmC3H143*، *ZmC3H144*، *ZmC3H145*، *ZmC3H146*، *ZmC3H147*، *ZmC3H148*، *ZmC3H149*، *ZmC3H150*، *ZmC3H151*، *ZmC3H152*، *ZmC3H153*، *ZmC3H154*، *ZmC3H155*، *ZmC3H156*، *ZmC3H157*، *ZmC3H158*، *ZmC3H159*، *ZmC3H160*، *ZmC3H161*، *ZmC3H162*، *ZmC3H163*، *ZmC3H164*، *ZmC3H165*، *ZmC3H166*، *ZmC3H167*، *ZmC3H168*، *ZmC3H169*، *ZmC3H170*، *ZmC3H171*، *ZmC3H172*، *ZmC3H173*، *ZmC3H174*، *ZmC3H175*، *ZmC3H176*، *ZmC3H177*، *ZmC3H178*، *ZmC3H179*، *ZmC3H180*، *ZmC3H181*، *ZmC3H182*، *ZmC3H183*، *ZmC3H184*، *ZmC3H185*، *ZmC3H186*، *ZmC3H187*، *ZmC3H188*، *ZmC3H189*، *ZmC3H190*، *ZmC3H191*، *ZmC3H192*، *ZmC3H193*، *ZmC3H194*، *ZmC3H195*، *ZmC3H196*، *ZmC3H197*، *ZmC3H198*، *ZmC3H199*، *ZmC3H200*، *ZmC3H201*، *ZmC3H202*، *ZmC3H203*، *ZmC3H204*، *ZmC3H205*، *ZmC3H206*، *ZmC3H207*، *ZmC3H208*، *ZmC3H209*، *ZmC3H210*، *ZmC3H211*، *ZmC3H212*، *ZmC3H213*، *ZmC3H214*، *ZmC3H215*، *ZmC3H216*، *ZmC3H217*، *ZmC3H218*، *ZmC3H219*، *ZmC3H220*، *ZmC3H221*، *ZmC3H222*، *ZmC3H223*، *ZmC3H224*، *ZmC3H225*، *ZmC3H226*، *ZmC3H227*، *ZmC3H228*، *ZmC3H229*، *ZmC3H230*، *ZmC3H231*، *ZmC3H232*، *ZmC3H233*، *ZmC3H234*، *ZmC3H235*، *ZmC3H236*، *ZmC3H237*، *ZmC3H238*، *ZmC3H239*، *ZmC3H240*، *ZmC3H241*، *ZmC3H242*، *ZmC3H243*، *ZmC3H244*، *ZmC3H245*، *ZmC3H246*، *ZmC3H247*، *ZmC3H248*، *ZmC3H249*، *ZmC3H250*، *ZmC3H251*، *ZmC3H252*، *ZmC3H253*، *ZmC3H254*، *ZmC3H255*، *ZmC3H256*، *ZmC3H257*، *ZmC3H258*، *ZmC3H259*، *ZmC3H260*، *ZmC3H261*، *ZmC3H262*، *ZmC3H263*، *ZmC3H264*، *ZmC3H265*، *ZmC3H266*، *ZmC3H267*، *ZmC3H268*، *ZmC3H269*، *ZmC3H270*، *ZmC3H271*، *ZmC3H272*، *ZmC3H273*، *ZmC3H274*، *ZmC3H275*، *ZmC3H276*، *ZmC3H277*، *ZmC3H278*، *ZmC3H279*، *ZmC3H280*، *ZmC3H281*، *ZmC3H282*، *ZmC3H283*، *ZmC3H284*، *ZmC3H285*، *ZmC3H286*، *ZmC3H287*، *ZmC3H288*، *ZmC3H289*، *ZmC3H290*، *ZmC3H291*، *ZmC3H292*، *ZmC3H293*، *ZmC3H294*، *ZmC3H295*، *ZmC3H296*، *ZmC3H297*، *ZmC3H298*، *ZmC3H299*، *ZmC3H300*، *ZmC3H301*، *ZmC3H302*، *ZmC3H303*، *ZmC3H304*، *ZmC3H305*، *ZmC3H306*، *ZmC3H307*، *ZmC3H308*، *ZmC3H309*، *ZmC3H310*، *ZmC3H311*، *ZmC3H312*، *ZmC3H313*، *ZmC3H314*، *ZmC3H315*، *ZmC3H316*، *ZmC3H317*، *ZmC3H318*، *ZmC3H319*، *ZmC3H320*، *ZmC3H321*، *ZmC3H322*، *ZmC3H323*، *ZmC3H324*، *ZmC3H325*، *ZmC3H326*، *ZmC3H327*، *ZmC3H328*، *ZmC3H329*، *ZmC3H330*، *ZmC3H331*، *ZmC3H332*، *ZmC3H333*، *ZmC3H334*، *ZmC3H335*، *ZmC3H336*، *ZmC3H337*، *ZmC3H338*، *ZmC3H339*، *ZmC3H340*، *ZmC3H341*، *ZmC3H342*، *ZmC3H343*، *ZmC3H344*، *ZmC3H345*، *ZmC3H346*، *ZmC3H347*، *ZmC3H348*، *ZmC3H349*، *ZmC3H350*، *ZmC3H351*، *ZmC3H352*، *ZmC3H353*، *ZmC3H354*، *ZmC3H355*، *ZmC3H356*، *ZmC3H357*، *ZmC3H358*، *ZmC3H359*، *ZmC3H360*، *ZmC3H361*، *ZmC3H362*، *ZmC3H363*، *ZmC3H364*، *ZmC3H365*، *ZmC3H366*، *ZmC3H367*، *ZmC3H368*، *ZmC3H369*، *ZmC3H370*، *ZmC3H371*، *ZmC3H372*، *ZmC3H373*، *ZmC3H374*، *ZmC3H375*، *ZmC3H376*، *ZmC3H377*، *ZmC3H378*، *ZmC3H379*، *ZmC3H380*، *ZmC3H381*، *ZmC3H382*، *ZmC3H383*، *ZmC3H384*، *ZmC3H385*، *ZmC3H386*، *ZmC3H387*، *ZmC3H388*، *ZmC3H389*، *ZmC3H390*، *ZmC3H391*، *ZmC3H392*، *ZmC3H393*، *ZmC3H394*، *ZmC3H395*، *ZmC3H396*، *ZmC3H397*، *ZmC3H398*، *ZmC3H399*، *ZmC3H400*، *ZmC3H401*، *ZmC3H402*، *ZmC3H403*، *ZmC3H404*، *ZmC3H405*، *ZmC3H406*، *ZmC3H407*، *ZmC3H408*، *ZmC3H409*، *ZmC3H410*، *ZmC3H411*، *ZmC3H412*، *ZmC3H413*، *ZmC3H414*، *ZmC3H415*، *ZmC3H416*، *ZmC3H417*، *ZmC3H418*، *ZmC3H419*، *ZmC3H420*، *ZmC3H421*، *ZmC3H422*، *ZmC3H423*، *ZmC3H424*، *ZmC3H425*، *ZmC3H426*، *ZmC3H427*، *ZmC3H428*، *ZmC3H429*، *ZmC3H430*، *ZmC3H431*، *ZmC3H432*، *ZmC3H433*، *ZmC3H434*، *ZmC3H435*، *ZmC3H436*، *ZmC3H437*، *ZmC3H438*، *ZmC3H439*، *ZmC3H440*، *ZmC3H441*، *ZmC3H442*، *ZmC3H443*، *ZmC3H444*، *ZmC3H445*، *ZmC3H446*، *ZmC3H447*، *ZmC3H448*، *ZmC3H449*، *ZmC3H450*، *ZmC3H451*، *ZmC3H452*، *ZmC3H453*، *ZmC3H454*، *ZmC3H455*، *ZmC3H456*، *ZmC3H457*، *ZmC3H458*، *ZmC3H459*، *ZmC3H460*، *ZmC3H461*، *ZmC3H462*، *ZmC3H463*، *ZmC3H464*، *ZmC3H465*، *ZmC3H466*، *ZmC3H467*، *ZmC3H468*، *ZmC3H469*، *ZmC3H470*، *ZmC3H471*، *ZmC3H472*، *ZmC3H473*، *ZmC3H474*، *ZmC3H475*، *ZmC3H476*، *ZmC3H477*، *ZmC3H478*، *ZmC3H479*، *ZmC3H480*، *ZmC3H481*، *ZmC3H482*، *ZmC3H483*، *ZmC3H484*، *ZmC3H485*، *ZmC3H486*، *ZmC3H487*، *ZmC3H488*، *ZmC3H489*، *ZmC3H490*، *ZmC3H491*، *ZmC3H492*، *ZmC3H493*، *ZmC3H494*، *ZmC3H495*، *ZmC3H496*، *ZmC3H497*، *ZmC3H498*، *ZmC3H499*، *ZmC3H500*، *ZmC3H501*، *ZmC3H502*، *ZmC3H503*، *ZmC3H504*، *ZmC3H505*، *ZmC3H506*، *ZmC3H507*، *ZmC3H508*، *ZmC3H509*، *ZmC3H510*، *ZmC3H511*، *ZmC3H512*، *ZmC3H513*، *ZmC3H514*، *ZmC3H515*، *ZmC3H516*، *ZmC3H517*، *ZmC3H518*، *ZmC3H519*، *ZmC3H520*، *ZmC3H521*، *ZmC3H522*، *ZmC3H523*، *ZmC3H524*، *ZmC3H525*، *ZmC3H526*، *ZmC3H527*، *ZmC3H528*، *ZmC3H529*، *ZmC3H530*، *ZmC3H531*، *ZmC3H532*، *ZmC3H533*، *ZmC3H534*، *ZmC3H535*، *ZmC3H536*، *ZmC3H537*، *ZmC3H538*، *ZmC3H539*، *ZmC3H540*، *ZmC3H541*، *ZmC3H542*، *ZmC3H543*، *ZmC3H544*، *ZmC3H545*، *ZmC3H546*، *ZmC3H547*، *ZmC3H548*، *ZmC3H549*، *ZmC3H550*، *ZmC3H551*، *ZmC3H552*، *ZmC3H553*، *ZmC3H554*، *ZmC3H555*، *ZmC3H556*، *ZmC3H557*، *ZmC3H558*، *ZmC3H559*، *ZmC3H560*، *ZmC3H561*، *ZmC3H562*، *ZmC3H563*، *ZmC3H564*، *ZmC3H565*، *ZmC3H566*، *ZmC3H567*، *ZmC3H568*، *ZmC3H569*، *ZmC3H570*، *ZmC3H571*، *ZmC3H572*، *ZmC3H573*، *ZmC3H574*، *ZmC3H575*، *ZmC3H576*، *ZmC3H577*، *ZmC3H578*، *ZmC3H579*، *ZmC3H580*، *ZmC3H581*، *ZmC3H582*، *ZmC3H583*، *ZmC3H584*، *ZmC3H585*، *ZmC3H586*، *ZmC3H587*، *ZmC3H588*، *ZmC3H589*، *ZmC3H590*، *ZmC3H591*، *ZmC3H592*، *ZmC3H593*، *ZmC3H594*، *ZmC3H595*، *ZmC3H596*، *ZmC3H597*، *ZmC3H598*، *ZmC3H599*، *ZmC3H600*، *ZmC3H601*، *ZmC3H602*، *ZmC3H603*، *ZmC3H604*، *ZmC3H605*، *ZmC3H606*، *ZmC3H607*، *ZmC3H608*، *ZmC3H609*، *ZmC3H610*، *ZmC3H611*، *ZmC3H612*، *ZmC3H613*، *ZmC3H614*، *ZmC3H615*، *ZmC3H616*، *ZmC3H617*، *ZmC3H618*، *ZmC3H619*، *ZmC3H620*، *ZmC3H621*، *ZmC3H622*، *ZmC3H623*، *ZmC3H624*، *ZmC3H625*، *ZmC3H626*، *ZmC3H627*، *ZmC3H628*، *ZmC3H629*، *ZmC3H630*، *ZmC3H631*، *ZmC3H632*، *ZmC3H633*، *ZmC3H634*، *ZmC3H635*، *ZmC3H636*، *ZmC3H637*، *ZmC3H638*، *ZmC3H639*، *ZmC3H640*، *ZmC3H641*، *ZmC3H642*، *ZmC3H643*، *ZmC3H644*، *ZmC3H645*، *ZmC3H646*، *ZmC3H647*، *ZmC3H648*، *ZmC3H649*، *ZmC3H650*، *ZmC3H651*، *ZmC3H652*، *ZmC3H653*، *ZmC3H654*، *ZmC3H655*، *ZmC3H656*، *ZmC3H657*، *ZmC3H658*، *ZmC3H659*، *ZmC3H660*، *ZmC3H661*، *ZmC3H662*، *ZmC3H663*، *ZmC3H664*، *ZmC3H665*، *ZmC3H666*، *ZmC3H667*، *ZmC3H668*، *ZmC3H669*، *ZmC3H670*، *ZmC3H671*، *ZmC3H672*، *ZmC3H673*، *ZmC3H674*، *ZmC3H675*، *ZmC3H676*، *ZmC3H677*، *ZmC3H678*، *ZmC3H679*، *ZmC3H680*، *ZmC3H681*، *ZmC3H682*، *ZmC3H683*، *ZmC3H684*، *ZmC3H685*، *ZmC3H686*، *ZmC3H687*، *ZmC3H688*، *ZmC3H689*، *ZmC3H690*، *ZmC3H691*، *ZmC3H692*، *ZmC3H693*، *ZmC3H694*، *ZmC3H695*، *ZmC3H696*، *ZmC3H697*، *ZmC3H698*، *ZmC3H699*، *ZmC3H700*، *ZmC3H701*، *ZmC3H702*، *ZmC3H703*، *ZmC3H704*، *ZmC3H705*، *ZmC3H706*، *ZmC3H707*، *ZmC3H708*، *ZmC3H709*، *ZmC3H710*، *ZmC3H711*، *ZmC3H712*، *ZmC3H713*، *ZmC3H714*، *ZmC3H715*، *ZmC3H716*، *ZmC3H717*، *ZmC3H718*، *ZmC3H719*، *ZmC3H720*، *ZmC3H721*، *ZmC3H722*، *ZmC3H723*، *ZmC3H724*، *ZmC3H725*، *ZmC3H726*، *ZmC3H727*، *ZmC3H728*، *ZmC3H729*، *ZmC3H730*، *ZmC3H731*، *ZmC3H732*، *ZmC3H733*، *ZmC3H734*، *ZmC3H735*، *ZmC3H736*، *ZmC3H737*، *ZmC3H738*، *ZmC3H739*، *ZmC3H740*، *ZmC3H741*، *ZmC3H742*، *ZmC3H743*، *ZmC3H744*، *ZmC3H745*، *ZmC3H746*، *ZmC3H747*، *ZmC3H748*، *ZmC3H749*، *ZmC3H750*، *ZmC3H751*، *ZmC3H752*، *ZmC3H753*، *ZmC3H754*، *ZmC3H755*، *ZmC3H756*، *ZmC3H757*، *ZmC3H758*، *ZmC3H759*، *ZmC3H760*، *ZmC3H761*، *ZmC3H762*، *ZmC3H763*، *ZmC3H764*، *ZmC3H765*، *ZmC3H766*، *ZmC3H767*، *ZmC3H768*، *ZmC3H769*، *ZmC3H770*، *ZmC3H771*، *ZmC3H772*، *ZmC3H773*، *ZmC3H774*، *ZmC3H775*، *ZmC3H776*، *ZmC3H777*، *ZmC3H778*، *ZmC3H779*، *ZmC3H780*، *ZmC3H781*، *ZmC3H782*، *ZmC3H783*، *ZmC3H784*، *ZmC3H785*، *ZmC3H786*، *ZmC3H787*، *ZmC3H788*، *ZmC3H789*، *ZmC3H790*، *ZmC3H791*، *ZmC3H792*، *ZmC3H793*، *ZmC3H794*، *ZmC3H795*، *ZmC3H796*، *ZmC3H797*، *ZmC3H798*، *ZmC3H799*، *ZmC3H800*، *ZmC3H801*، *ZmC3H802*، *ZmC3H803*، *ZmC3H804*، *ZmC3H805*، *ZmC3H806*، *ZmC3H807*، *ZmC3H808*، *ZmC3H809*، *ZmC3H810*، *ZmC3H811*، *ZmC3H812*، *ZmC3H813*، *ZmC3H814*، *ZmC3H815*، *ZmC3H816*، *ZmC3H817*، *ZmC3H818*، *ZmC3H819*، *ZmC3H820*، *ZmC3H821*، *ZmC3H822*، *ZmC3H823*، *ZmC3H824*، *ZmC3H825*، *ZmC3H826*، *ZmC3H827*، *ZmC3H828*، *ZmC3H829*، *ZmC3H830*، *ZmC3H831*، *ZmC3H832*، *ZmC3H833*، *ZmC3H834*، *ZmC3H835*، *ZmC3H836*، *ZmC3H837*، *ZmC3H838*، *ZmC3H839*، *ZmC3H84*

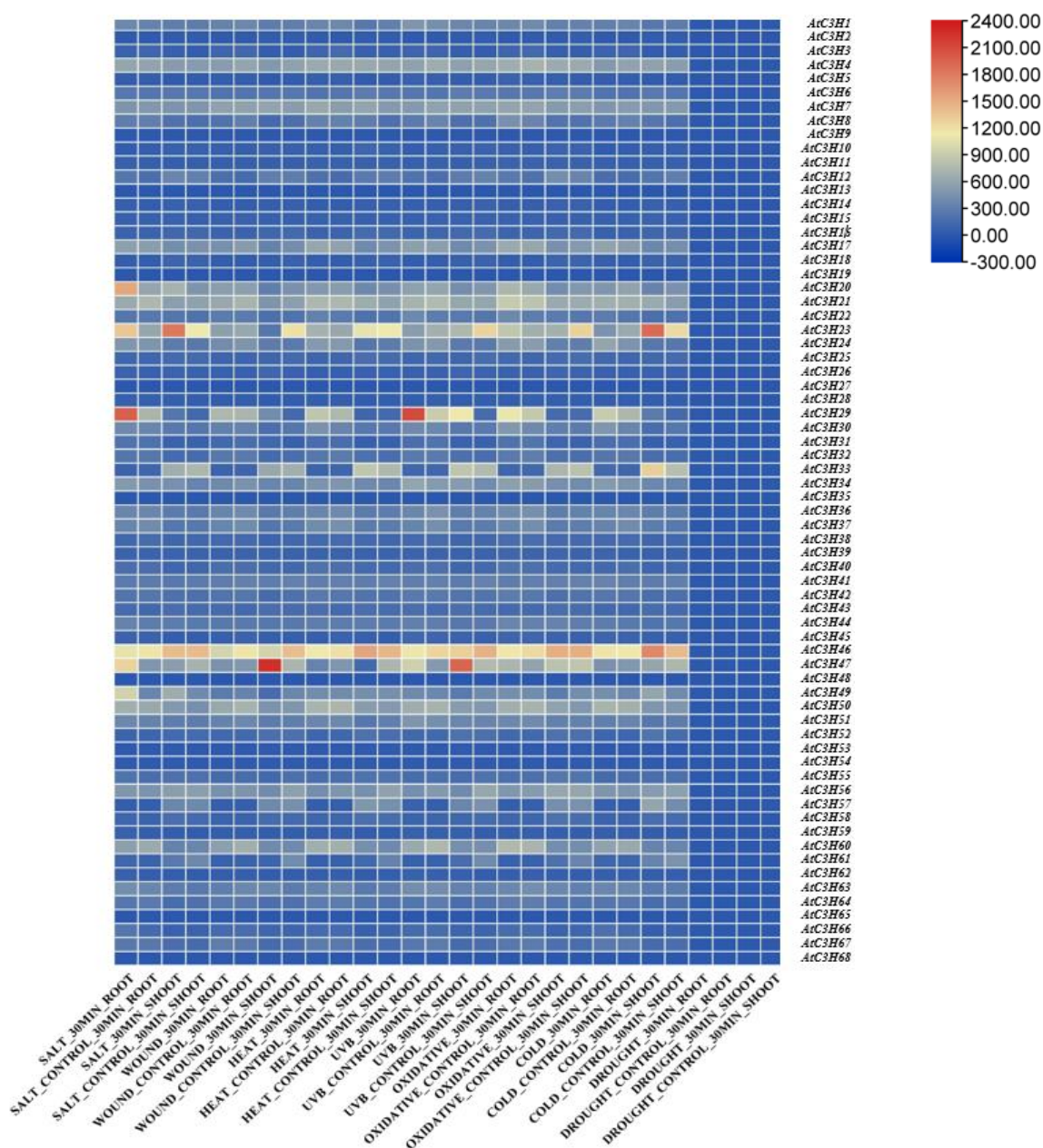


شکل ۴. الف) تعداد اینترون و اگزون، ب) ساختار ژنی، ج) درخت فیلوژنتیکی اعضای خانواده C3H ZNF در گیاه آرابیدوپسیس تالیانا.

تجزیه و تحلیل بیان ژن‌های *AtC3H*

به منظور بررسی الگوی بیان این خانواده ژنی، بیان ۶۸ ژن *AtC3H* تحت ۷ تنش غیرزنده در زمان ۳۰ دقیقه پس از اعمال تنش و شرایط کنترل مقایسه شد. نتایج حاصله در مقیاس \log_2FC در نمودار

Heatmap ارائه شد (شکل ۵). این مقایسه نشان داد که اکثر اعضای این خانواده ژنی در سطوح مختلف کنترل و تنش با کاهش بیان همراه بودند. مطابق شکل ۵ ژن *AtC3H23* (*AtTZF1*) در هنگام مواجهه با تنش سرمایی و شوری در شاخساره افزایش



شکل ۶ پروفایل بیانی ژن‌های *AtC3H*، Heatmap ارائه شده میزان تغییر بیان ژن‌های *AtC3H* تحت شرایط تنش شوری، گرما، اکسیداتیو، سرما، خشکی، زخم (آسیب فیزیکی)، پرتوهای UV-B در دو بافت ریشه و شاخساره را نشان می‌دهد. ارزش نسبی سیگنال به صورت نوار رنگی در کنار Heatmap ارائه شده است که در آن رنگ آبی نشان دهنده کاهش بیان، رنگ سفید نشان دهنده عدم تغییر بیان و رنگ قرمز نشان دهنده افزایش بیان است.

باشد. با مطالعه بر روی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌های C3H در گیاه آرابیدوپسیس مشاهده گردید که بیشترین طول پروتئین متعلق به پروتئین *AtC3H19* (۱۷۷۳ آمینو اسید) است و پایدارترین پروتئین *AtC3H36* (شاخص ناپایداری ۲۷/۵۴) است،

در این پژوهش تجزیه و تحلیل بر روی ۶۸ ژن از خانواده پروتئین‌های C3H در گیاه آرابیدوپسیس صورت گرفت. بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌ها می‌تواند در تعیین فرایندهای بیولوژیکی، کارکرد مولکولی قرارگیری آن‌ها در سلول تأثیرگذار

سیگنال‌دهی، پویایی اسکلت سلولی، نقل و انتقالات پروتئین، پردازش RNA نقش دارند. تکرارهای WD40 به ویژه در بازسازی هیستون و در رشد گل مهم می‌باشند (Pradhan *et al.*, 2017). تعدادی از پروتئین‌های CCCH مانند AtC3H4, 5, 8, 18, 19 که حاوی موتیف تشخیص RRM می‌باشند، در شناسایی RNA/DNA و تعامل پروتئین-پروتئین نقش دارند (Cléry *et al.*, 2008). آنالیز فیلوژنتیکی اعضای خانواده CCCH Znf در گیاه برنج و آرابیدوپسیس همولوگ‌های نزدیکی بین پروتئین‌های این دو گیاه نشان داد مانند AtC3H31 / OsC3H4 (هر دو دارای ۱۴ اگزون، ۲ دمین C3H ZNF و یک دمین Helicase_C)، همچنین پروتئین HIZ1 (AtC3H12) با پروتئین OsC3H56 همولوژی داشته و در سرکوب رشد گیاه نقش دارد. نتایج آنالیز بیان ژن نشان داد که ژن‌های AtC3H23 و AtC3H46 در هنگام مواجهه با تنش سرمایی به سرعت افزایش بیان می‌یابند همچنین AtC3H29 افزایش بیان شدید در بافت ریشه، هنگام مواجهه با تنش‌های شوری و UV-B دارد. تجزیه و تحلیل گسترده ژنومی خانواده‌های ژنی، بینش ارزشمندی را در مورد تنظیم فرآیندهای بیولوژیکی در گیاهان ارائه می‌دهد، همچنین در تحقیقات آینده به عنوان مطالعات پایه‌ای که به جهت شناسایی بیشتر ژن‌های دخیل در مقاومت گیاه به تنش هستند عمل می‌کند.

همچنین کم‌ترین و بیشترین PI متعلق به پروتئین‌های AtC3H19 (۴/۶۹)، AtC3H7 (۹/۹۶) می‌باشد. موتیف‌ها به‌عنوان الگوهای توالی کوتاه و معمولاً ثابت تعریف می‌شوند که ممکن است نمایانگر ویژگی‌های ساختاری یا عملکردی مهم در توالی‌های اسید نوکلئیک و پروتئین باشند. در مطالعه حاضر ۱۰ موتیف محافظت شده در بین پروتئین‌های C3H بررسی گردید، که پرتکرارترین موتیف مشاهده شده متعلق به موتیف شماره ۳ بود. همچنین این بررسی‌ها تشابه بسیاری بین موتیف‌های مشاهده شده در بین پروتئین‌های برنج و آرابیدوپسیس نشان داد. مقایسه‌ی بین موتیف‌های C3H موجود در ۵ گیاه برنج، آرابیدوپسیس، گندم، جو و ذرت نشان داد که بیشترین موتیف‌های مشاهده شده به صورت C-X7-C-X5- و C-X8-C-X5-C-X3-H و C-X3-H می‌باشد. منشا سیر و تکامل یک خانواده ژنی می‌تواند داده‌های مفیدی در مورد عملکرد و اهمیت نسبی آن در یک گونه ارائه دهد. بررسی تعداد اگزون‌ها و اینترون‌ها در میان ژن‌های این گیاه نشان داد که بیشتر ژن‌ها دارای یک اگزون و فاقد اینترون هستند. ۶۸ ژن C3H ZNF موجود در آرابیدوپسیس به ۱۱ گروه تقسیم شدند. در مطالعه بر روی دمین‌های عملکردی این پروتئین‌ها ۱۷ دمین شناسایی شد. اعضای گروه III و IV دارای موتیف‌های تکرار WD40 و دمین عملکردی Zn finger RING می‌باشند که در فرآیندهای بیولوژیکی مختلف مانند

REFERENCES

- Ai Q, Pan W, Zeng Y, Li Y, Cui L (2022) CCCH Zinc finger genes in Barley: genome-wide identification, evolution, expression and haplotype analysis. *BMC Plant Biology*. 22(1): 117.
- Arab M, Kazemitabar SK, Hashemi-Petroudi SH (2022) Bioinformatics analysis of CBL gene family members in *Sesamum indicum* under drought stress. *Crop Biotechnology*. 11(2): 17-31.
- Arab M, Najafi Zarrini H, Nematzadeh G, Hashemi-Petroudi SH (2021) Comparative study of cis-regulatory elements in the promoter regions of calcineurin B-like genes (CBLs) of *Aeluropus*, *Arabidopsis* and rice plants. *Crop Biotechnology*.

- Aravind L, Koonin EV (1999) G-patch: a new conserved domain in eukaryotic RNA-processing proteins and type D retroviral polyproteins. *Trends in Biochemical Sciences*. 24(9): 342-344.
- Bailey TL, Boden M, Buske FA, Frith M, Grant CE, Clementi L, Ren J, Li WW, Noble WS (2009) MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Res*. 37(Web Server issue): W202-208.
- Birkenbihl R, Somssich I (2011) Transcriptional Plant Responses Critical for Resistance Towards Necrotrophic Pathogens. *Frontiers in Plant Science*. 2.
- Blomme J, Van Aken O, Van Leene J, Jégu T, De Rycke R, De Bruyne M, Vercruyse J, Nolf J, Van Daele T, De Milde L, Vermeersch M, Des Francs-Small CC, De Jaeger G, Benhamed M, Millar AH, Inzé D, Gonzalez N (2017) The Mitochondrial DNA-Associated Protein SWIB5 Influences mtDNA Architecture and Homologous Recombination. *Plant Cell*. 29(5): 1137-1156.
- Callebaut I, Mornon J-P (2010) LOTUS, a new domain associated with small RNA pathways in the germline. *Bioinformatics*. 26(9): 1140-1144.
- Chai G, Kong Y, Zhu M, Yu L, Qi G, Tang X, Wang Z, Cao Y, Yu C, Zhou G (2015) Arabidopsis C3H14 and C3H15 have overlapping roles in the regulation of secondary wall thickening and anther development. *Journal of experimental botany*. 66.
- Chai G, Qi G, Cao Y, Wang Z, Yu L, Tang X, Yu Y, Wang D, Kong Y, Zhou G (2014) Poplar PdC3H17 and PdC3H18 are direct targets of PdMYB3 and PdMYB21, and positively regulate secondary wall formation in Arabidopsis and poplar. *New Phytologist*. 203(2): 520-534.
- Chen F, Liu H-L, Wang K, Gao Y-M, Wu M, Xiang Y (2020) Identification of CCCH Zinc Finger Proteins Family in Moso Bamboo (*Phyllostachys edulis*), and PeC3H74 Confers Drought Tolerance to Transgenic Plants. *Frontiers in Plant Science*. 11.
- Chen X, Meyerowitz EM (1999) HUA1 and HUA2 Are Two Members of the Floral Homeotic AGAMOUS Pathway. *Molecular Cell*. 3(3): 349-360.
- Cléry A, Blatter M, Allain FHT (2008) RNA recognition motifs: boring? Not quite. *Current Opinion in Structural Biology*. 18(3): 290-298.
- Costa P, Arndt K (2000) Synthetic Lethal Interactions Suggest a Role for the *Saccharomyces cerevisiae* Rtf1 Protein in Transcription Elongation. *Genetics*. 156: 535-547.
- De Mello G, Stocker M, Dappert A, Dasler R, Demeranville T, Garza K, Graef F, Mcentyre J, Schindler U, Kotarski RR (2017) Services that Enable Integration and Cross-Linking Across Different Types of Identifiers and Data Types.
- Deng H, Liu H, Li X, Xiao J, Wang S (2012) A CCCH-type zinc finger nucleic acid-binding protein quantitatively confers resistance against rice bacterial blight disease. *Plant Physiol*. 158(2): 876-889.
- Freund C, Dötsch V, Nishizawa K, Reinherz EL, Wagner G (1999) The GYF domain is a novel structural fold that is involved in lymphoid signaling through proline-rich sequences. *Nature Structural Biology*. 6(7): 656-660.
- Fuller-Pace FV (2006) DExD/H box RNA helicases: multifunctional proteins with important roles in transcriptional regulation. *Nucleic acids research*. 34 (15): 4206-4215.
- Gamsjaeger R, Liew CK, Loughlin FE, Crossley M, Mackay JP (2007) Sticky fingers: zinc-fingers as protein-recognition motifs. *Trends in Biochemical Sciences*. 32(2): 63-70.

- García-Mayoral M, Hollingworth D, Masino L, Díaz-Moreno I, Kelly G, Gherzi R, Chou C-F, Chen C-Y, Ramos A (2007) The Structure of the C-Terminal KH Domains of KSRP Reveals a Noncanonical Motif Important for mRNA Degradation. *Structure* (London, England : 1993). 15: 485-498.
- Gasteiger E, Gattiker A, Hoogland C, Ivanyi I, Appel R, Bairoch A (2003) ExPASy: The proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis. *Nucleic acids research*. 31: 3784-3788.
- Han G, Lu C, Guo J, Qiao Z, Sui N, Qiu N, Wang B (2020) C2H2 Zinc Finger Proteins: Master Regulators of Abiotic Stress Responses in Plants. *Frontiers in Plant Science*. 11.
- Han G, Qiao Z, Li Y, Wang C, Wang B (2021) The roles of CCCH zinc-finger proteins in plant abiotic stress tolerance. *International journal of molecular sciences*. 22(15): 8327.
- Hu B, Jin J, Guo A-Y, Zhang H, Luo J, Gao G (2014) GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*. 31(8): 1296-1297.
- Isalan M (2013) Zinc Fingers. In: Lennarz WJ, Lane MD. (ed) *Encyclopedia of Biological Chemistry* (Second Edition), Academic Press, Waltham, pp 575-579.
- Jiang A-L, Xu Z-S, Zhao G-Y, Cui X-Y, Chen M, Li L-C, Ma Y-Z (2014) Genome-Wide Analysis of the C3H Zinc Finger Transcription Factor Family and Drought Responses of Members in *Aegilops tauschii*. *Plant Molecular Biology Reporter*. 32(6): 1241-1256.
- Kilian J, Whitehead D, Horak J, Wanke D, Weigl S, Batistic O, D'angelo C, Bornberg-Bauer E, Kudla J, Harter K (2007) The AtGenExpress global stress expression data set: protocols, evaluation and model data analysis of UV-B light, drought and cold stress responses. *The Plant Journal*. 50(2): 347-363.
- Klug A (1999) Zinc finger peptides for the regulation of gene expression. *Journal of Molecular Biology*. 293(2): 215-218.
- Letunic I, Copley R, Schmidt S, Ciccarelli F, Doerks T, Schultz J, Ponting C, Bork P (2004) SMART 4.0: Towards genomic data integration. *Nucleic acids research*. 32: D142-144.
- Lin PC, Pomeranz MC, Jikumaru Y, Kang SG, Hah C, Fujioka S, Kamiya Y, Jang JC (2011) The Arabidopsis tandem zinc finger protein AtTZF1 affects ABA- and GA-mediated growth, stress and gene expression responses. *Plant J*. 65(2): 253-268.
- Liu C, Xu X, Kan J, Cheng Z, Chang Y, Lin J, Li H (2020) Genome-wide analysis of the C3H zinc finger family reveals its functions in salt stress responses of *Pyrus betulaefolia*. *PeerJ*. 8: e9328.
- Maris C, Dominguez C, Allain FHT (2005) The RNA recognition motif, a plastic RNA-binding platform to regulate post-transcriptional gene expression. *The FEBS Journal*. 272(9): 2118-2131.
- Moglia A, Gianoglio S, Acquadro A, Valentino D, Milani AM, Lanteri S, Comino C (2019) Identification of DNA methyltransferases and demethylases in *Solanum melongena* L., and their transcription dynamics during fruit development and after salt and drought stresses. *PLoS One*. 14(10): e0223581.
- Mottola A, Ramírez-Zavala B, Hünninger K, Kurzai O, Morschhäuser J (2021) The zinc cluster transcription factor Czf1 regulates cell wall architecture and integrity in *Candida albicans*. *Molecular Microbiology*. 116(2): 483-497.

- Ohi Melanie D, Link Andrew J, Ren L, Jennings Jennifer L, Mcdonald WH, Gould Kathleen L (2002) Proteomics Analysis Reveals Stable Multiprotein Complexes in Both Fission and Budding Yeasts Containing Myb-Related Cdc5p/Cef1p, Novel Pre-mRNA Splicing Factors, and snRNAs. *Molecular and Cellular Biology*. 22(7): 2011-2024.
- Peng X, Zhao Y, Cao J, Zhang W, Jiang H, Li X, Ma Q, Zhu S, Cheng B (2012) CCCH-Type Zinc Finger Family in Maize: Genome-Wide Identification, Classification and Expression Profiling under Abscisic Acid and Drought Treatments. *PLOS ONE*. 7(7): e40120.
- Pi B, He X, Ruan Y, Jang J-C, Huang Y (2018) Genome-wide analysis and stress-responsive expression of CCCH zinc finger family genes in *Brassica rapa*. *BMC Plant Biology*. 18(1): 1-15.
- Pi B, Pan J, Xiao M, Hu X, Zhang L, Chen M, Liu B, Ruan Y, Huang Y (2021) Systematic analysis of CCCH zinc finger family in *Brassica napus* showed that BnRR-TZFs are involved in stress resistance. *BMC Plant Biology*. 21(1): 555.
- Pradhan S, Kant C, Verma S, Bhatia S (2017) Genome-wide analysis of the CCCH zinc finger family identifies tissue specific and stress responsive candidates in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *PLOS ONE*. 12(7): e0180469.
- Punta M, Coggill P, Eberhardt R, Mistry J, Tate J, Boursnell C, Pang N, Forslund S, Ceric G, Clements J, Heger A, Holm L, Sonnhammer E, Eddy S, Bateman A, Finn R (2011) The Pfam protein families database. *Nucleic acids research*. 40: D290-301.
- Ren J, Wen L, Gao X, Jin C, Xue Y, Yao X (2009) DOG 1.0: illustrator of protein domain structures. *Cell Research*. 19(2): 271-273.
- Schmid M, Davison TS, Henz SR, Pape UJ, Demar M, Vingron M, Schölkopf B, Weigel D, Lohmann JU (2005) A gene expression map of *Arabidopsis thaliana* development. *Nature genetics*. 37(5): 501-506.
- Schmitz R, Hong L, Michaels S, Amasino R (2006) FRIGIDA-ESSENTIAL 1 interacts genetically with FRIGIDA and FRIGIDA-LIKE 1 to promote the winter-annual habit of *Arabidopsis thaliana*. *Development (Cambridge, England)*. 132: 5471-5478.
- Seong SY, Shim JS, Bang SW, Kim J-K (2020) Overexpression of OsC3H10, a CCCH-Zinc Finger, Improves Drought Tolerance in Rice by Regulating Stress-Related Genes. *Plants*. 9(10): 1298.
- Singh N, Swain S, Singh A, Nandi AK (2018) AtOZF1 Positively Regulates Defense Against Bacterial Pathogens and NPR1-Independent Salicylic Acid Signaling. *Mol Plant Microbe Interact*. 31(3): 323-333.
- Sun J, Jiang H, Xu Y, Li H, Wu X, Xie Q, Li C (2007) The CCCH-type zinc finger proteins AtSZF1 and AtSZF2 regulate salt stress responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*. 48(8): 1148-1158.
- mura K, Stecher G, Peterson D, Filipinski A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular biology and evolution*. 30.
- Vieira WA, Coetzer TL (2016) Localization and interactions of *Plasmodium falciparum* SWIB/MDM2 homologues. *Malar J* 15, 32 DOI: 10.1186/s12936-015-1065-9.
- Wan F-X, Gao J, Wang G-L, Niu Y, Wang L-Z, Zhang X-G, Wang Y-Q, Pan Y (2021) Genome-wide identification of NAC transcription factor family and expression analysis of ATAF subfamily members under abiotic stress in eggplant. *Scientia Horticulturae*. 289: 110424.

- Wang D, Guo Y, Wu C, Yang G, Li Y, Zheng C (2008) Genome-wide analysis of CCCH zinc finger family in Arabidopsis and rice. *BMC Genomics*. 9(1): 44.
- Wang X-L, Zhong Y, Cheng Z-M (2014) Evolution and Expression Analysis of the CCCH Zinc Finger Gene Family in *Vitis vinifera*. *The Plant Genome*. 7(3): plantgenome2014.2005.0019.
- Yan Z, Jia J, Yan X, Shi H, Han Y (2017) Arabidopsis KHZ1 and KHZ2, two novel non-tandem CCCH zinc-finger and K-homolog domain proteins, have redundant roles in the regulation of flowering and senescence. *Plant Molecular Biology*. 95(6): 549-565.
- Yuan S, Xu B, Zhang J, Xie Z, Cheng Q, Yang Z, Cai Q, Huang B (2015) Comprehensive analysis of CCCH-type zinc finger family genes facilitates functional gene discovery and reflects recent allopolyploidization event in tetraploid switchgrass. *BMC Genomics*. 16(1): 129.