

آنالیز یک ژن یوکاریوتی

دکتر عبدالحسین کاظمی: استادیار گروه انگل شناسی و اینمنی شناسی دانشگاه علوم پزشکی تبریز؛ نویسنده رابط
دکتر جفری رابسون: دانشیار زیست شناسی مولکولی و زیست فن آوری دانشگاه علوم حیاتی دانشگاه منچستر
دکتر دیوید دنینگ: استاد بیماری های عفونی و فوق تخصص میکروزهای ریوی دانشگاه علوم حیاتی دانشگاه منچستر

دریافت: ۸۲/۴/۱۱ باز نگری نهایی: ۸۲/۱۰/۲۷ پذیرش: ۸۲/۱۱/۱

چکیده

زمینه و اهداف: ساختار یک ژن در برگیرنده اجزای مختلفی در قسمت های بالا دست، پایین دست و همچنین در طول ژن است که شامل توالی های ایفاگر نقش پرموموتور (راه انداز)، توالی های ویژه قبل از کد آغازگر، توالی های تنظیم ییان ژن، توالی های محفوظ در مسیر تکاملی، ایترون (ها)، اگرون (ها) و توالی های خاص آغاز و پایان آنها و در نهایت، علامت دنباله پلی A است.

روش بررسی: در این بررسی پس از جداسازی، کلونیگ و توالی ییان ژن فسفولیپاز B₄ (plb₄)، قارچ کپکی و بیماریزای آ. فومیگاتوس توالي کامل این ژن از نظر وجود و نحوه آرایش عناصر ساختاری در یک ژن یوکاریوتی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: آنالیز ژن plb₄ آ. فومیگاتوس نشان دهنده وجود حداقل سه بسته TATA در فواصل ۷۱-۲۵۲-تا-۲۵۲-از نوکلتوئید +۱ دو توالی CAAT در فواصل bp ۱۲۴-۲۲۷bp و همچنین دو توالی CAAC در فواصل ۴۶bp-۱-۳۰-۷bp از نوکلتوئید +۱ و یک کلون آغازگر غیر معمول GTG در ژن plb₄ آ. فومیگاتوس است که با فاصله سه نوکلتوئید از یک منطقه غنی از اسیدهای نوکلئیک CT واقع شده است. همچنین در این ژن چند ناحیه غنی از پرمیدین در قسمت بالا دست ژن وجود دارد. یک ایترون به طول ۵۹bp در ژن plb₄ آ. فومیگاتوس رديابی شد که این ایترون حاوی توالي متداول در طول ایترون ژن های قارچی یعنی توالي TACTCAC از اسیدهای نوکلئیک است. در ژن plb₄ آ. فومیگاتوس همچنین وجود شش توالي GATA به عنوان توالي مؤثر در مهار ییان ژن با نیتروژن و موسوم به AREA در قسمت بالا دست ژن و یک توالي مؤثر در مهار ییان ژن با کربن موسوم به CREA شناسایی شد. توالي مؤثر در ییان ژن به وسیله H و موسوم به PACC در توالي این ژن و ترجمه توالي اسیدهای نوکلئیک آن به اسیدهای آmine مشاهده نشد.

نتیجه گیری: بسته TATA و توالی های CAAT و CAAC و مناطق غنی از اسیدهای نوکلئیک CT در فواصل متداول از نوکلتوئید +۱ به عنوان پرموموتورهای محتمل در ژن plb₄ آ. فومیگاتوس وجود دارند. این ژن دارای یک کلون آغازگر غیر معمول GTG. یک ایترون مشابه با ایترون ژن فسفولیپاز در سایر قارچ های کپکی و غیر کپکی، توالي های مربوط به تنظیم ییان ژن با نیتروژن و کربن و فاقد توالي مؤثر در ییان ژن به وسیله H است.

کلید واژه ها: آنالیز ژن، آ. فومیگاتوس، فسفولیپاز B₄

مقدمه

ایفا می کند(۱ و ۴). وجود توالي مربوط به تنظیم مهار ییان ژن توسط یون های قوی (آمونیوم) و ضعیف (نیترات) نیتروژن موسوم به AREA (۶-۹) و توالي مربوط به تنظیم مهار ییان ژن توسط کربن موسوم به CREA (۱۰-۱۲) و همچنین توالي مربوط به نقش H در تنظیم ییان ژن موسوم به PACC در ساختار ژن نیز از اجزای مهم و مورد توجه است (۱۳-۱۵). شناسایی کلون آغازگر در اولین نقطه طول ژن و همچنین توجه به وجود قطعات کاتالیتیک عمومی و اختصاصی در طول هر ژن (در سطح اسیدآmine) و جزء ترشحی و مزید بر این موارد، عنایت به وجود یا عدم وجود ایترون و طول (توالي) و تعداد ایترون (ها) و توالي های ویژه آغاز و پایان ایترون (ها) نیز از موارد مهم و قابل توجه است (۱۸-۱۶). شناسایی دامنه های احتمالی فسفریلاسیون و گلیکوزیلاسیون در طول توالي ژنی (در سطح اسیدآmine) نیز توجه ویژه ای را طلب می کند (۱، ۴، ۱۹، ۲۴، ۲۶) و در ناحیه پایین دست ژن نیز شناسایی کلون بی معنی یا پایان دهنده و علامت پلی A یا دنباله متشکل از اسیدنوکلئیک آدنین که ناحیه ختم طول ژن را برای ما مشخص خواهد کرد (۱۴، ۱۹ و ۲۵) و توجه

ساختار یک ژن در برگیرنده اجزای مختلفی است که امکان ییان و سطح بیان آن ژن، و در نتیجه، سمتز میزان معنی از محصول ژن را مقدور می سازد. این اجزا شامل قسمت هایی از ساختار ژن در منطقه بالا دست ژن، طول ژن و همچنین منطقه پایین دست ژن^۱ است (۱-۳). در منطقه بالا دست ژن عموماً قسمتی غنی از اسیدهای نوکلئیک AT وجود دارد که اصطلاحاً بسته TATA نامیده می شود. در بعضی از ژن ها، توالي AT با پذیرش تغییراتی در ترتیب منظم AT به صورت قسمتی غنی از AT با آرایش نسبتاً غیر منظم از این دو اسید نوکلئیک تظاهر می یابد و محل اتصال آنزیم DNA پلیمراز II همراه با سایر عوامل رونویسی است (۲، ۴ و ۵). جزء ساختاری دیگری در این قسمت از ژن به صورت توالي CAAT و احیاناً با مختصر تغییراتی در این توالي دیده می شود که به نظر می رسد این دو قسمت نقش پرموموتور را برای ییان ژن بازی می کنند (۲ و ۳). در ژن های فاقد دو ناحیه فوق الذکر، امکان وجود یک منطقه غنی از اسیدهای نوکلئیک CT وجود دارد که در غیاب منطقه غنی از AT و ناحیه CAAT احتمالاً نقش پرموموتور قوی را در ژن های دارای میزان بالای ییان ژنی

منطقهٔ غنی از اسیدهای نوکلئیک CT واقع شده است. همچنین در این ژن چند ناحیهٔ غنی از پریمیدین (CT) در قسمت بالادست ژن وجود دارد که طولانی ترین توالی غنی از CT همان توالی ما قبل نوکلئوتید +1 است که با فاصله سه اسیدنوکلئیک آدنین از نوکلئوتید +1 قرار گرفته است. وجود یک ایترون به طول ۵۹ bp در طول ژن که با توالی های متداول GTA در ابتدای توالی ایترون های ژن های قارچی و CAG در انتهای توالی ایترون های ژن های قارچی احاطه شده است، ردیابی شد. این ایترون حاوی توالی متداول در طول ایترون ژن های قارچی یعنی توالی TACTCAC از اسیدهای نوکلئیک است. علاوه بر ایترون فوق الذکر در طول توالی ژن، دو ایترون در توالی قسمت ما قبل ژن plb، آ. فومیگاتوس شناسایی شد که مربوط به انتهای ۳' ریک ژن دیگر در ژنوم آ. فومیگاتوس هستند و هر دو آنها با توالی متداول GTA آغاز شده ولی فقط یکی از آنها با توالی متداول CAG خاتمه یافته است (شکل ۱). فسفولیپازها آنزیم های دارای فعالیت استرازی هستند که در همه موجودات زنده یافت می شوند و با توجه به نوع فعالیت آنزیمی خود به دو گروه آسیل هیدرولازها و فسفودی استرازها تقسیم می شوند. آسیل هیدرولازها، شامل فسفولیپاز A۱ و A۲، فسفولیپاز B و لیزوفسفولیپازها بوده و فسفودی استرازها شامل فسفولیپاز C و فسفولیپاز D هستند. علیرغم امکان وجود تقاضات های فراوان در فعالیت فسفولیپاز های مختلف در میکروارگانیسم های گوناگون، دو فعالیت اصلی برای این آنزیم ها شناسایی شده است. فسفولیپاز های ترشحی خارج سلولی عموماً در هیدرولیز فسفولیپید های خارج سلولی، و در نتیجه، تهیه منابع تغذیه ای کربن، نیتروژن و فسفات برای سلول دخالت دارند ولی فسفولیپاز های های درون سلولی عموماً دارای فعالیت کاتالیتیکی اندکی هستند و در قیاس با فسفولیپاز های ترشحی خارج سلولی در حد بسیار پایینی تولید می شوند. فسفولیپاز های درون سلولی در کنترل اعمال متابولیکی سلول مؤثر هستند و نقش تنظیمی برای فعالیت بیولوژیک سلول بر عهده دارند و برای جلوگیری از سیتولیز خود سلول های تولید کننده این آنزیم ها فعالیت آنها تحت کنترل چند جانبه قرار دارد. همچنین این آنزیم ها از نظر دخالت در تولید تعدادی از واسطه های بیوشیمیابی مانند دی آسیل گلیسریل، لیزوفسفاتیدیک اسید و اینوزیتول تری فسفات مورد توجه هستند.

آنالیز ژن plb، آ. فومیگاتوس همچنین نشان دهنده وجود شش توالی GATA به عنوان توالی مؤثر در مهار بیان ژن با نیتروژن و موسم به عنوان AREA در قسمت بالادست ژن و یک توالی GTGGGG به عنوان توالی مؤثر در مهار بیان ژن با کربن موسوم به CREA است. توالی مؤثر در بیان ژن به وسیله pH و موسوم به PACC نیز در توالی این ژن و ترجمه توالی اسیدهای نوکلئیک آن به اسیدهای آمینه مشاهده نشد. از ترجمه توالی اسیدهای نوکلئیک ژن plb، آ. فومیگاتوس به اسید آمینه بعد از حذف ۵۹ bp از اسیدهای نوکلئیک مربوط به ایترون موجود در طول ژن، نتیجه ای به طول ۶۰۷ اسیدآمینه حاصل شد که برای توالی اسیدآمینه ای حاصل، وزن مولکولی ۶۵/۱ کیلو دالتون (KD) و نقطهٔ پیزوالکتریک PI=۵/۰۹ محاسبه شد (شکل ۲).

به توازن جهت ژن مورد نظر با ژن های مجاور نیز اهمیت ویژه ای دارد، زیرا امکان دارد که منطقه بالا دست ژن مجاور، بعد از منطقه پایین دست ژن قبلی قرار نگرفته باشد. بدین معنی که جهت ژن مجاور با ژن قبلی متفاوت بوده، و در نتیجه، منطقه پایین دست ژن مجاور، نزدیک به همان منطقه پایین دست ژن قبلی و منطقه بالادست ژن مجاور دور از منطقه پایین دست ژن قبلی قرار گرفته باشد، و حال آنکه در صورت تشابه جهت ژن های مجاور با همدیگر، منطقه بالا دست ژن مجاور، نزدیک به منطقه پایین دست ژن قبلی و بر عکس خواهد بود (او ۱۹).

مواد و روش ها

با استفاده از ردیف های نوکلئوتیدی محفوظ برای ژن plb در چند میکروارگانیسم، پرایمرهای (آغازگرهای) لازم برای تکثیر یک قطعه تخمینی با روش PCR دژنراتیو به طول ۵۵۰ bp طراحی و قطعه مورد نظر با موقعیت تکثیر شد. پرایمرهای مورد استفاده برای PCR دژنراتیو عبارت بودند از:

Forward primer:

5' GAYGGIGGIGARGAYAACARAA 3'

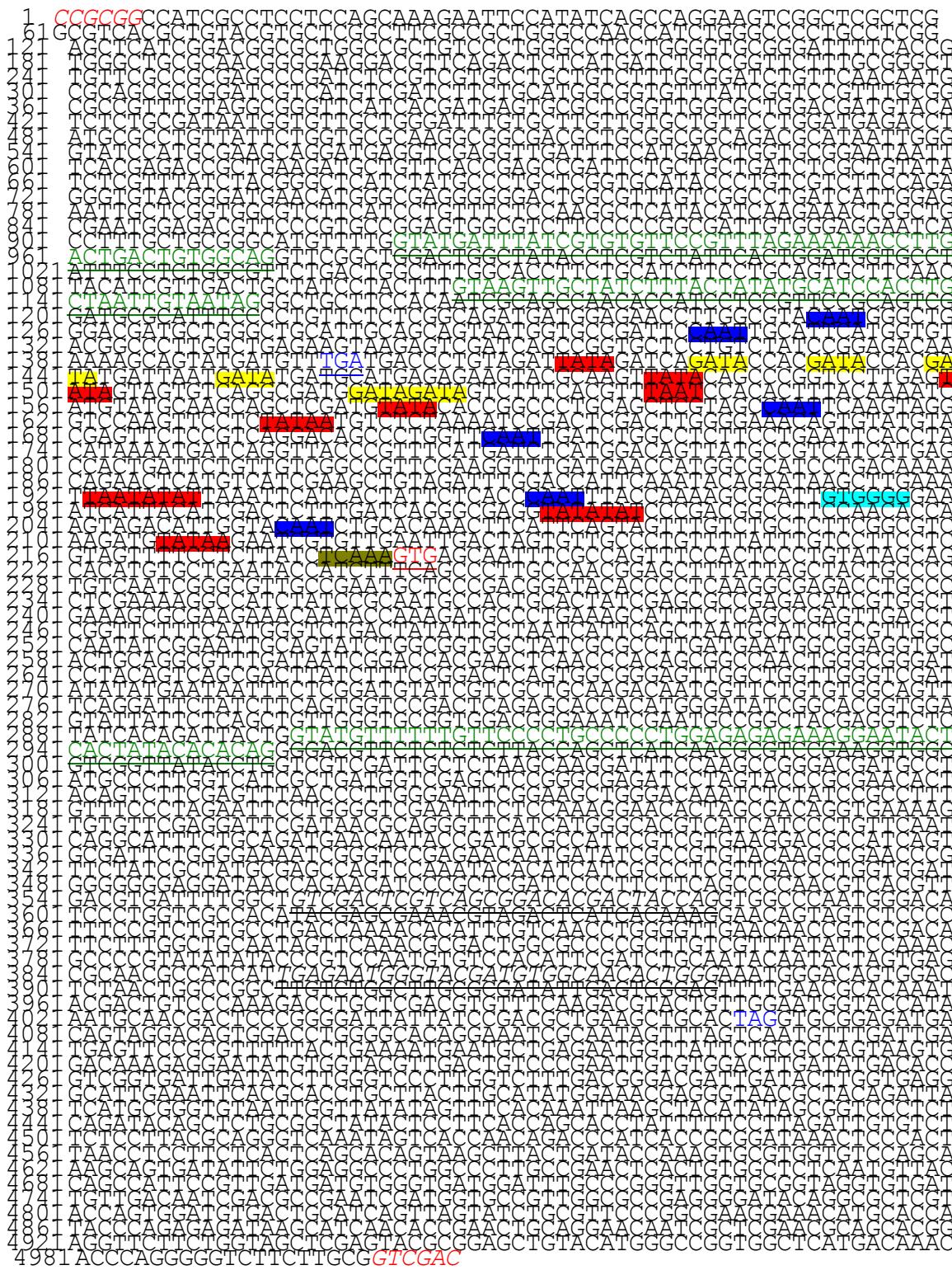
Reverse Primer:

5' AYIGTICCRCCARCARATA 3'

برای کلونینگ و توالی یابی طول بیشتری از ژن، روش PCR برگشتی (IPCR) در چند مرحله مورد استفاده قرار گرفت و برای هر مرحله پرایمرهای لازم طراحی و استفاده شد. برای انجام PCR برگشتی، DNA، ژنومی میکروارگانیسم با استفاده از چند آنزیم محدودالاگر مستحب هضم گردید و سپس قطعات DNA حاصل از هضم ژنومی با استفاده از آنزیم T4 DNA ligase (T4 DNA ligase) به حلقوی تبدیل شد و به عنوان DNA الگو برای واکش PCR برگشتی مورد استفاده قرار گرفت. از فرآورده های مراحل فوق پس از انجام ترانسفورماسیون و جداسازی قطعات ترانسفورم شده، برای تعیین توالی نوکلئوتیدی قطعات استفاده شد و با تلفیق توالی های نوکلئوتیدی حاصل از مراحل مختلف، توالی نوکلئوتیدی ژن کامل فسفولیپاز B، آ. فومیگاتوس به دست آمد. این تحقیق در گروه PME دانشکده علوم حیاتی دانشگاه منچستر انگلستان انجام پذیرفت.

آنالیز ژن

یافته ها: در توالی ژن کامل فسفولیپاز B، آ. فومیگاتوس به طول ۱۸۴۴ bp، سه منطقه غنی از اسیدنوکلئیک AT در فواصل ۷۱ bp-۱۶۲ bp-۲۲۷ bp به صورت TATATAT در TATAA، در ۱۶۲ bp- به صورت TATATT یعنی حالت کلاسیک و در ۲۵۲ bp- با توالی TATATT در منطقه بالا دست نوکلئوتید +1 شناسایی شد. توالی های مشابهی با تغییر مختص در توالی TATA نیز به صورت مناطق غنی از AT در این منطقه وجود دارند. همچنین دو توالی CAAT در فواصل ۱۲۴ bp- و ۲۲۷ bp- از نوکلئوتید +1 در طول این ژن واقع شده است. دو توالی CAAC نیز در این قسمت شناسایی شد که در فواصل ۱۴۶ bp- و ۱۶۶ bp- از ۳۰۶ bp- نوکلئوتید +1 واقع شده اند. کدون آغازگر در ژن plb، آ. فومیگاتوس یک کدون غیر معمول GTG است که با فاصله سه نوکلئوتید از یک



شکل ۱: ژن afplb آ. فومیگاتورس. ۱۳۹۷ bp ابتدای توالی فوق مربوط به ORF ۴۰۶۷ ژن afplb، خاتمه می‌باشد. توالی مربوط به منطقه برش توسط آنزیم *sac II* محدودالاگر با رنگ قرمز و توالی های مربوط به پرایمرهای PCR به صورت خمیده و دارای خط زیرین، ایترون ها با رنگ سبز و خط زیرین و کدون متوقف کننده با رنگ آبی و خط زیرین و کدون آغازگر با رنگ قرمز و خط زیرین مشخص شده است. بسته GATA به رنگ زرد، بسته TATA به رنگ قرمز، بسته CAAT به رنگ آبی کم رنگ و توالی CREA به رنگ سبز پر رنگ نشان داده شده است.

1 VSNFASFHSLYSSTCAEYHLSALANGALLATAPVNRALPNAPDGYTPQGE
 51 TCPSKRPSIRNATALSSAETSWLKARRNNTKDALKAFLSRVDLGSFNGSD
 101 YIANHSANASALPNIGIAVSGGGYRALMNGGALQAFDNRTNSTHSGQL
 151 GGILOQSATYLSGLSGGSWLVGSIYMNNFSDVSSIQDNGSVWQFQDSI FSG
 201 PTQSTTWDIGTVEYYSQLLGAVDGKSNAGYEVSITDYWGRSLSYQLINAS
 251 EGGVGYTWS SIALSKDFQAGTMPMPLVIADGRAPGEILVPANTTVFEFNP
 301 WEFGSWDKSLSAFVSLEFLGSNF SKGTLATGEKCVRGF DNAGFIMGTSSS
 351 LFNQAFLQMNNTDAPS VVKDAISAILGKIGSENNDIAVYKP NPFYRYASQ
 401 SKYTSSPSLTLDQNIPLDPLLQPQRHV DVLAVDSSADTT RWP
 451 NGTSLV ATYRNVDSSQRNSSL PFPSPV DQNTFVN ILGLNNRPTFFGCNSN
 501 ATGAPL VVYIPNAPYIYP SNVSTFDLQ YNTSERNAIENG YDVATLGN
 551 VDSNWPACLA CAILSRSFERTNTVPKTCSTCFKTYCWNGT INATT PGDY
 601 YPTLKLH

شکل ۲: ترجمة توالی اسیدهای نوکلئیک ژن *plb*^۲. فومیگاتوس به اسید آمینه بعد از حذف ۵۹ bp از اسیدهای نوکلئیک ژن *plb*^۲. آ. فومیگاتوس در طول ژن. توالی های قرمز، مناطق محفوظ در مسیر تکاملی و دارای تشابه زیاد با قسمت های دارای فعالیت کاتالیتیک در فسفولیپازهای یوکاریوت ها را نشان می دهد.

آ. فومیگاتوس این توالی در ۱۷bp- به صورت TATAA در TATATT- به صورت ۲۵۲bp در ۱۶۲bp و همچنین توالی های مشابه دیگر در فواصل دورتر از نوکلئوتید +۱ دیده می شود (۱،۳-۱۹). علیرغم نظر علمی به عنوان احتساب بسته TATA به عنوان پرومотор ژن، مطابق گزارش هامر و تیمبرلاک حذف این ناحیه از قسمت بالا دست ژن *trpC*/*Aspergillus nivalensis* در میزان بیان این ژن، تأثیری ایجاد نکرد (۱۷) و به نظر می رسد که ایفای نقش پرومоторی به وسیله ترکیبی پیچیده از توالی های متفاوت در ناحیه بالا دست ژن ها، بیان ژن ها و سطح فعالیت آن ها را کنترل می کند که به عنوان مثال، از توالی های CAAT و توالی نواحی غنی از CT به عنوان ایفاگر نقش پرومotor یاد می شود، زیرا معمولاً در فواصل ۱۲۰bp- تا ۷۰bp از نوکلئوتید +۱ وجود توالی CAAT از اسیدهای نوکلئیک نیز پرومотор بیان ژن محسوب می شود (۲۵،۳،۲۱) و لی گاهی این توالی در ناحیه ۲۱۳- از نوکلئوتید +۱ ژن ۲۸-۳۱ (۱۷) ولی گاهی این توالی در ناحیه ۲۱۳- از نوکلئوتید +۱ نوکلئوتید ۱۰ در ژن *trpC*/*Aspergillus nivalensis* مشاهده شده است. در مرود مشارکت و تداخل اثر توالی CAAT با توالی TATA و همچنین تأثیر تعداد کپی این توالی ها در کنترل بیان ژن و سطح بیان اتفاق نظر قطعی وجود ندارد. ضمن آنکه برای وجود یک توالی مشابه با CAAT یعنی توالی CAAC در ناحیه بالا دست ژن هم نقش پرومоторی در نظر گرفته می شود (۱،۲،۳ و ۲۲) (۲۳). توالی CAAC در ژن *trpC* آسپرژیلوس *nivalensis* در فاصله ۳۰۶- از نوکلئوتید +۱ قرار گرفت (۱۷). در ژن *plb*^۲ آ. فومیگاتوس دو توالی CAAT در فواصل bp ۲۲۷- و ۱۴۴bp- از نوکلئوتید +۱ ژن و دو توالی CAAT دیگر نیز در فاصله بسیار دورتر قرار گرفته اند. همچنین دو توالی CAAC نیز در ناحیه بالا دست نوکلئوتید +۱ ژن وجود دارد که یکی از آنها در فاصله ۱۴۴bp- و دیگری در فاصله ای بسیار دورتر قرار گرفته است. همچنین بیان و سطح بیان ژن از وجود نواحی غنی از پیریمیدین یعنی اسیدهای نوکلئیک سیتوزین و تیمین متأثر می شود که این ناحیه را اصطلاحاً قطعه غنی از CT می نامند و حضور این قطعه در قسمت بالا دست ژن هایی که فاقد نواحی CAAT و TATA می باشد، و در عین حال در سطح قوی و چشمگیری بیان می شوند، قابل تأمل است. به

توالی اسید آمینه ای فوق در بردارنده قطعه توالی GLSG (G/S,S=CG) ما می شماره های ۱۶۰-۱۶۶ در طول توالی اسید آمینه ای است که این قطعه به صورت محفوظ در همه آنزیم های دارای فعالیت لیولیتیک وجود دارد. همچنین در طول توالی اسید آمینه ای فوق، قطعه کاتالیتیک فسفولیپازی با توالی اسیدهای آمینه (QSGGGXRA(M/L,S=CG, R=AG) ما می شماره های ۱۱۹-۱۲۶ مستقر است که انتظار علمی مربوط به ساختمن فسفولیپازی این آنزیم را همراه با توالی اسیدهای آمینه شماره ۱۶۰-۱۶۶ برآورده می سازد. آنالیز توالی اسید آمینه ای آنزیم برای یافتن خوش اسیدهای آمینه آب گریز (۲۳) به عنوان جزء ترشحی در ساختمن آنزیم، فقدان این خوش را در انتهای N آنزیم نشان داد.

آنالیز توالی اسید آمینه ای آنزیم با نرم افزارهای رایانه ای موجود در سایت <http://ca.eapasy.org/cgi-bin/nicesite.pl> وجود ۲۳ موقعیت N- گلیکوزیلاسیون بالقوه، شش موقعیت بالقوه فسفوریلاسیون پروتئین کیناز C، دوازده موقعیت بالقوه فسفوریلاسیون کازئین کیناز دو را در ساختار آنزیم نشان داد.

بحث

در یوکاریوت های عالی، یکی از پرومоторهای وصفی ژن ها یک منطقه غنی از اسیدهای نوکلئیک آدنین و تیمین ارزیابی می شود که معمولاً در حدود ۳۰bp- از نوکلئوتید +۱ ژن قرار گرفته و بسته TATA نایبلد می شود. در باکتری ها این قطعه معمولاً در حدود ۱۰- از نوکلئوتید +۱ ژن قرار می گیرد. علاوه بر این قطعه، قطعاتی با توالی مشابه تا موقعیت ۲۷۵bp- از نوکلئوتید +۱ ژن نیز به عنوان مناطق غنی از AT و دارای نقش پرومоторی برای ژن شناسایی شده اند (۱-۳ و ۱۸). در ساختار ژن های تعدادی از قارچ های کپکی، مثلاً در ژن های *alcC*, *autB*, *autG*, *glaA*, *glcC*, *pcbC*, *cbh₁*, *cbh₂*, *cbh₃*, *cbh₄*, *cbh₅*, *cbh₆*, *cbh₇*, *cbh₈*, *cbh₉*, *cbh₁₀*, *cbh₁₁*, *cbh₁₂*, *cbh₁₃*, *cbh₁₄*, *cbh₁₅*, *cbh₁₆*, *cbh₁₇*, *cbh₁₈*, *cbh₁₉*, *cbh₂₀*, *cbh₂₁*, *cbh₂₂*, *cbh₂₃*, *cbh₂₄*, *cbh₂₅*, *cbh₂₆*, *cbh₂₇*, *cbh₂₈*, *cbh₂₉*, *cbh₃₀*, *cbh₃₁*, *cbh₃₂*, *cbh₃₃*, *cbh₃₄*, *cbh₃₅*, *cbh₃₆*, *cbh₃₇*, *cbh₃₈*, *cbh₃₉*, *cbh₄₀*, *cbh₄₁*, *cbh₄₂*, *cbh₄₃*, *cbh₄₄*, *cbh₄₅*, *cbh₄₆*, *cbh₄₇*, *cbh₄₈*, *cbh₄₉*, *cbh₅₀*, *cbh₅₁*, *cbh₅₂*, *cbh₅₃*, *cbh₅₄*, *cbh₅₅*, *cbh₅₆*, *cbh₅₇*, *cbh₅₈*, *cbh₅₉*, *cbh₆₀*, *cbh₆₁*, *cbh₆₂*, *cbh₆₃*, *cbh₆₄*, *cbh₆₅*, *cbh₆₆*, *cbh₆₇*, *cbh₆₈*, *cbh₆₉*, *cbh₇₀*, *cbh₇₁*, *cbh₇₂*, *cbh₇₃*, *cbh₇₄*, *cbh₇₅*, *cbh₇₆*, *cbh₇₇*, *cbh₇₈*, *cbh₇₉*, *cbh₈₀*, *cbh₈₁*, *cbh₈₂*, *cbh₈₃*, *cbh₈₄*, *cbh₈₅*, *cbh₈₆*, *cbh₈₇*, *cbh₈₈*, *cbh₈₉*, *cbh₉₀*, *cbh₉₁*, *cbh₉₂*, *cbh₉₃*, *cbh₉₄*, *cbh₉₅*, *cbh₉₆*, *cbh₉₇*, *cbh₉₈*, *cbh₉₉*, *cbh₁₀₀*, *cbh₁₀₁*, *cbh₁₀₂*, *cbh₁₀₃*, *cbh₁₀₄*, *cbh₁₀₅*, *cbh₁₀₆*, *cbh₁₀₇*, *cbh₁₀₈*, *cbh₁₀₉*, *cbh₁₁₀*, *cbh₁₁₁*, *cbh₁₁₂*, *cbh₁₁₃*, *cbh₁₁₄*, *cbh₁₁₅*, *cbh₁₁₆*, *cbh₁₁₇*, *cbh₁₁₈*, *cbh₁₁₉*, *cbh₁₂₀*, *cbh₁₂₁*, *cbh₁₂₂*, *cbh₁₂₃*, *cbh₁₂₄*, *cbh₁₂₅*, *cbh₁₂₆*, *cbh₁₂₇*, *cbh₁₂₈*, *cbh₁₂₉*, *cbh₁₃₀*, *cbh₁₃₁*, *cbh₁₃₂*, *cbh₁₃₃*, *cbh₁₃₄*, *cbh₁₃₅*, *cbh₁₃₆*, *cbh₁₃₇*, *cbh₁₃₈*, *cbh₁₃₉*, *cbh₁₄₀*, *cbh₁₄₁*, *cbh₁₄₂*, *cbh₁₄₃*, *cbh₁₄₄*, *cbh₁₄₅*, *cbh₁₄₆*, *cbh₁₄₇*, *cbh₁₄₈*, *cbh₁₄₉*, *cbh₁₅₀*, *cbh₁₅₁*, *cbh₁₅₂*, *cbh₁₅₃*, *cbh₁₅₄*, *cbh₁₅₅*, *cbh₁₅₆*, *cbh₁₅₇*, *cbh₁₅₈*, *cbh₁₅₉*, *cbh₁₆₀*, *cbh₁₆₁*, *cbh₁₆₂*, *cbh₁₆₃*, *cbh₁₆₄*, *cbh₁₆₅*, *cbh₁₆₆*, *cbh₁₆₇*, *cbh₁₆₈*, *cbh₁₆₉*, *cbh₁₇₀*, *cbh₁₇₁*, *cbh₁₇₂*, *cbh₁₇₃*, *cbh₁₇₄*, *cbh₁₇₅*, *cbh₁₇₆*, *cbh₁₇₇*, *cbh₁₇₈*, *cbh₁₇₉*, *cbh₁₈₀*, *cbh₁₈₁*, *cbh₁₈₂*, *cbh₁₈₃*, *cbh₁₈₄*, *cbh₁₈₅*, *cbh₁₈₆*, *cbh₁₈₇*, *cbh₁₈₈*, *cbh₁₈₉*, *cbh₁₉₀*, *cbh₁₉₁*, *cbh₁₉₂*, *cbh₁₉₃*, *cbh₁₉₄*, *cbh₁₉₅*, *cbh₁₉₆*, *cbh₁₉₇*, *cbh₁₉₈*, *cbh₁₉₉*, *cbh₂₀₀*, *cbh₂₀₁*, *cbh₂₀₂*, *cbh₂₀₃*, *cbh₂₀₄*, *cbh₂₀₅*, *cbh₂₀₆*, *cbh₂₀₇*, *cbh₂₀₈*, *cbh₂₀₉*, *cbh₂₁₀*, *cbh₂₁₁*, *cbh₂₁₂*, *cbh₂₁₃*, *cbh₂₁₄*, *cbh₂₁₅*, *cbh₂₁₆*, *cbh₂₁₇*, *cbh₂₁₈*, *cbh₂₁₉*, *cbh₂₂₀*, *cbh₂₂₁*, *cbh₂₂₂*, *cbh₂₂₃*, *cbh₂₂₄*, *cbh₂₂₅*, *cbh₂₂₆*, *cbh₂₂₇*, *cbh₂₂₈*, *cbh₂₂₉*, *cbh₂₃₀*, *cbh₂₃₁*, *cbh₂₃₂*, *cbh₂₃₃*, *cbh₂₃₄*, *cbh₂₃₅*, *cbh₂₃₆*, *cbh₂₃₇*, *cbh₂₃₈*, *cbh₂₃₉*, *cbh₂₄₀*, *cbh₂₄₁*, *cbh₂₄₂*, *cbh₂₄₃*, *cbh₂₄₄*, *cbh₂₄₅*, *cbh₂₄₆*, *cbh₂₄₇*, *cbh₂₄₈*, *cbh₂₄₉*, *cbh₂₅₀*, *cbh₂₅₁*, *cbh₂₅₂*, *cbh₂₅₃*, *cbh₂₅₄*, *cbh₂₅₅*, *cbh₂₅₆*, *cbh₂₅₇*, *cbh₂₅₈*, *cbh₂₅₉*, *cbh₂₆₀*, *cbh₂₆₁*, *cbh₂₆₂*, *cbh₂₆₃*, *cbh₂₆₄*, *cbh₂₆₅*, *cbh₂₆₆*, *cbh₂₆₇*, *cbh₂₆₈*, *cbh₂₆₉*, *cbh₂₇₀*, *cbh₂₇₁*, *cbh₂₇₂*, *cbh₂₇₃*, *cbh₂₇₄*, *cbh₂₇₅*, *cbh₂₇₆*, *cbh₂₇₇*, *cbh₂₇₈*, *cbh₂₇₉*, *cbh₂₈₀*, *cbh₂₈₁*, *cbh₂₈₂*, *cbh₂₈₃*, *cbh₂₈₄*, *cbh₂₈₅*, *cbh₂₈₆*, *cbh₂₈₇*, *cbh₂₈₈*, *cbh₂₈₉*, *cbh₂₉₀*, *cbh₂₉₁*, *cbh₂₉₂*, *cbh₂₉₃*, *cbh₂₉₄*, *cbh₂₉₅*, *cbh₂₉₆*, *cbh₂₉₇*, *cbh₂₉₈*, *cbh₂₉₉*, *cbh₃₀₀*, *cbh₃₀₁*, *cbh₃₀₂*, *cbh₃₀₃*, *cbh₃₀₄*, *cbh₃₀₅*, *cbh₃₀₆*, *cbh₃₀₇*, *cbh₃₀₈*, *cbh₃₀₉*, *cbh₃₁₀*, *cbh₃₁₁*, *cbh₃₁₂*, *cbh₃₁₃*, *cbh₃₁₄*, *cbh₃₁₅*, *cbh₃₁₆*, *cbh₃₁₇*, *cbh₃₁₈*, *cbh₃₁₉*, *cbh₃₂₀*, *cbh₃₂₁*, *cbh₃₂₂*, *cbh₃₂₃*, *cbh₃₂₄*, *cbh₃₂₅*, *cbh₃₂₆*, *cbh₃₂₇*, *cbh₃₂₈*, *cbh₃₂₉*, *cbh₃₃₀*, *cbh₃₃₁*, *cbh₃₃₂*, *cbh₃₃₃*, *cbh₃₃₄*, *cbh₃₃₅*, *cbh₃₃₆*, *cbh₃₃₇*, *cbh₃₃₈*, *cbh₃₃₉*, *cbh₃₄₀*, *cbh₃₄₁*, *cbh₃₄₂*, *cbh₃₄₃*, *cbh₃₄₄*, *cbh₃₄₅*, *cbh₃₄₆*, *cbh₃₄₇*, *cbh₃₄₈*, *cbh₃₄₉*, *cbh₃₅₀*, *cbh₃₅₁*, *cbh₃₅₂*, *cbh₃₅₃*, *cbh₃₅₄*, *cbh₃₅₅*, *cbh₃₅₆*, *cbh₃₅₇*, *cbh₃₅₈*, *cbh₃₅₉*, *cbh₃₆₀*, *cbh₃₆₁*, *cbh₃₆₂*, *cbh₃₆₃*, *cbh₃₆₄*, *cbh₃₆₅*, *cbh₃₆₆*, *cbh₃₆₇*, *cbh₃₆₈*, *cbh₃₆₉*, *cbh₃₇₀*, *cbh₃₇₁*, *cbh₃₇₂*, *cbh₃₇₃*, *cbh₃₇₄*, *cbh₃₇₅*, *cbh₃₇₆*, *cbh₃₇₇*, *cbh₃₇₈*, *cbh₃₇₉*, *cbh₃₈₀*, *cbh₃₈₁*, *cbh₃₈₂*, *cbh₃₈₃*, *cbh₃₈₄*, *cbh₃₈₅*, *cbh₃₈₆*, *cbh₃₈₇*, *cbh₃₈₈*, *cbh₃₈₉*, *cbh₃₉₀*, *cbh₃₉₁*, *cbh₃₉₂*, *cbh₃₉₃*, *cbh₃₉₄*, *cbh₃₉₅*, *cbh₃₉₆*, *cbh₃₉₇*, *cbh₃₉₈*, *cbh₃₉₉*, *cbh₄₀₀*, *cbh₄₀₁*, *cbh₄₀₂*, *cbh₄₀₃*, *cbh₄₀₄*, *cbh₄₀₅*, *cbh₄₀₆*, *cbh₄₀₇*, *cbh₄₀₈*, *cbh₄₀₉*, *cbh₄₁₀*, *cbh₄₁₁*, *cbh₄₁₂*, *cbh₄₁₃*, *cbh₄₁₄*, *cbh₄₁₅*, *cbh₄₁₆*, *cbh₄₁₇*, *cbh₄₁₈*, *cbh₄₁₉*, *cbh₄₂₀*, *cbh₄₂₁*, *cbh₄₂₂*, *cbh₄₂₃*, *cbh₄₂₄*, *cbh₄₂₅*, *cbh₄₂₆*, *cbh₄₂₇*, *cbh₄₂₈*, *cbh₄₂₉*, *cbh₄₃₀*, *cbh₄₃₁*, *cbh₄₃₂*, *cbh₄₃₃*, *cbh₄₃₄*, *cbh₄₃₅*, *cbh₄₃₆*, *cbh₄₃₇*, *cbh₄₃₈*, *cbh₄₃₉*, *cbh₄₄₀*, *cbh₄₄₁*, *cbh₄₄₂*, *cbh₄₄₃*, *cbh₄₄₄*, *cbh₄₄₅*, *cbh₄₄₆*, *cbh₄₄₇*, *cbh₄₄₈*, *cbh₄₄₉*, *cbh₄₅₀*, *cbh₄₅₁*, *cbh₄₅₂*, *cbh₄₅₃*, *cbh₄₅₄*, *cbh₄₅₅*, *cbh₄₅₆*, *cbh₄₅₇*, *cbh₄₅₈*, *cbh₄₅₉*, *cbh₄₆₀*, *cbh₄₆₁*, *cbh₄₆₂*, *cbh₄₆₃*, *cbh₄₆₄*, *cbh₄₆₅*, *cbh₄₆₆*, *cbh₄₆₇*, *cbh₄₆₈*, *cbh₄₆₉*, *cbh₄₇₀*, *cbh₄₇₁*, *cbh₄₇₂*, *cbh₄₇₃*, *cbh₄₇₄*, *cbh₄₇₅*, *cbh₄₇₆*, *cbh₄₇₇*, *cbh₄₇₈*, *cbh₄₇₉*, *cbh₄₈₀*, *cbh₄₈₁*, *cbh₄₈₂*, *cbh₄₈₃*, *cbh₄₈₄*, *cbh₄₈₅*, *cbh₄₈₆*, *cbh₄₈₇*, *cbh₄₈₈*, *cbh₄₈₉*, *cbh₄₉₀*, *cbh₄₉₁*, *cbh₄₉₂*, *cbh₄₉₃*, *cbh₄₉₄*, *cbh₄₉₅*, *cbh₄₉₆*, *cbh₄₉₇*, *cbh₄₉₈*, *cbh₄₉₉*, *cbh₅₀₀*, *cbh₅₀₁*, *cbh₅₀₂*, *cbh₅₀₃*, *cbh₅₀₄*, *cbh₅₀₅*, *cbh₅₀₆*, *cbh₅₀₇*, *cbh₅₀₈*, *cbh₅₀₉*, *cbh₅₁₀*, *cbh₅₁₁*, *cbh₅₁₂*, *cbh₅₁₃*, *cbh₅₁₄*, *cbh₅₁₅*, *cbh₅₁₆*, *cbh₅₁₇*, *cbh₅₁₈*, *cbh<*

همچنین نوکلئوتید ۱+ ژن *egII* در تریکوودرما ریسیئی و ژن *cutA* کاندیلا گلائوسپوریوئیس نیز بعد از توالی نوکلئوتیدی CCAAA قرار گرفته اند که تشابه بسیار زیادی با توالی های ذکر شده قبلی دارند (۱، ۴، ۵-۱۳، ۱۹، ۲۴ و ۳۴).

مقایسه جهت^۳ →^۵ ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس در ژنوم آ. فومیگاتوس با جهت^۳ →^۵ ژن فسفولیپاز B پنیسیلیوم نوتاتوم (۳۶ و ۳۵) نشان داد که هر دو ژن درجهت مشابهی قرار گرفته اند. این مقایسه با ترجمه توالی اسیدهای نوکلئیک طول ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس و ژن *plb* پنیسیلیوم نوتاتوم به اسید آمینه امکان پذیر شد زیرا توالی اسیدهای نوکلئیک تشکیل دهنده هر دو ژن در الگوی مشابهی قابل ترجمه به اسیدهای آمینه بود. نکته قابل توجه این است که بلا فاصله بعد از ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس ژن اسید فسفاتاز در ژنوم قارچ در روی همان کروموزوم ولی با جهتی مخالف قرار دارد، بدین معنی که انتهای^۳ ژن اسید فسفاتاز مجاور و انتهای^۳ ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس انتهای^۵ ژن اسید فسفاتاز دور از انتهای^۳ ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس است و حال آنکه در صورت مشابهت^۳ →^۵ ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس است و حال آنکه در صورت مشابهت^۳ →^۵ این دو ژن، باید انتهای^۳ ژن اسید فسفاتاز دور از انتهای^۳ ژن *afplb*_۲ آ. فومیگاتوس و انتهای^۵ ژن اسید فسفاتاز باید مجاور انتهای^۳ ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس واقع می شد.

وجود یا عدم وجود قطعات تنظیم کننده بیان ژن مانند PACC و CREA نیز از عواملی است که رونویسی mRNA از روی ژن، و در نتیجه، ساخت PLB را در سلول قارچی تحت تأثیر قرار می دهد (۵-۷، ۹-۱۱، ۱۳-۱۵، ۲۲ و ۳۵). با توجه به وجود شش توالی GATA مربوط به AREA در قسمت بالا دست نوکلئوتید ۱+ ژن، به نظر می رسد که بیان ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس تحت تأثیر یون های قوی نیتروژن یعنی آمونیوم و یون های ضعیف نیتروژن یعنی نیترات نخواهد بود، ولی برای تأیید حتمی این موضوع، رشد قارچ در محیط های کشت حاوی غلظت های مختلف از یون های فوق الذکر و اندازه گیری تولید فسفولیپاز B خارج و داخل سلولی باید انجام گیرد، و در عین حال، در انجام این مطالعه، توجه به وجود کپی های دیگری از ژن های تولید کننده فسفولیپاز باید مدنظر باشد یا اینکه با کلون کردن ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس در یک سلول میزان دیگر (ترجیحاً یوکاریوتی)، تأثیر یون های فوق الذکر بر بیان ژن فوق سنجیده شود. همچنین وجود تنها یک قطعه مؤثر در مهار تنظیم بیان ژن توسط کرین، یعنی CREA در قسمت بالا دست نوکلئوتید ۱+ ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس نشان دهنده این موضوع است که این ژن به صورت ضعیف یا خیلی ضعیفی تحت تأثیر وجود، عدم وجود یا تغییر منابع کرین قرار خواهد گرفت همچنان که مطالعه تولید فسفولیپاز B تحت تأثیر منابع مختلف کرین در مراحل مختلف رشد این قارچ مؤید این موضوع بود، زیرا تغییر معنی داری درسطح تولید فسفولیپاز B با حذف یا جایگزینی منابع مختلف کرین در محیط کشت مشاهده شد. عدم وجود منطقه یا مناطق مربوط به تنظیم بیان ژن توسط pH خارجی به

نظر می رسد که در فقدان قطعات CAAT و TATA این ناحیه غنی از CT نقش پرموتور را ایفا می کند. این قطعه به صورت چسیله به نوکلئوتید ۱+ ژن و یا با فاصله کوتاهی از این نوکلئوتید ۱+ در توالی ژن های تعدادی از قارچ های کپکی مشاهده شده است (۱-۴، ۱۶، ۱۷، ۱۸ و ۱۹). در ژن *oliC* آسپرژیلوس نیلولانس در فاصله ۹۰۰ bp از نوکلئوتید ۱+ قرار دارد (۴، ۸ و ۲۷). در ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس، نواحی غنی از CT به صورت متعدد در ناحیه بالا دست نوکلئوتید ۱+ ژن وجود دارند که دو قطعه در فاصله بسیار نزدیک به نوکلئوتید ۱+ ژن در ۹bp-۳bp-و ۱۰۲bp-و ۹۰bp-و نواحی دورتر نیز وجود دارند و معمولاً چنین به نظر می رسد که قطعات CAAT، TATA، mRNA و نواحی غنی از CT در رونویسی از DNA مؤثر بوده و شروع رونویسی از mRNA در روی رشته DNA و تعداد کمی های رونویسی شده، و در نتیجه، شروع بیان و میزان بیان هر ژن به وسیله آنها کنترل می شود، زیرا محصول نهایی ژن، از ترجمه رمز ژنتیکی mRNA به اسیدهای آمینه حاصل خواهد شد (۱، ۲ و ۴). بعد از قطعات فوق الذکر موسوم به عوامل رونویسی کلون آغازگر ATG (او ۱۸) که این کلون در ژن *plb*_۲ آ. فومیگاتوس به صورت GTG مشاهده شد. عدم وجود کلون آغازگر معمول و مشاهده یک تغییر نوکلئوتیدی در کلون آغازگر ژن، استثنای ژنتیکی بسیار مهمی است که توصیف آن در مجال نمی گردد ولی بدین نکته اشاره می شود که تاکنون فقط دو مورد از این استثنای ژنتیکی در ساختار ژنتیکی ژن های یوکاریوتی گزارش شده است (۲۸ و ۳۴).

در توالی ژن های شناسایی شده از ژنوم آسپرژیلوس ها مثلاً در ژن *tubB* و *benA* در آسپرژیلوس نیلولانس و ژن *niaD* در آسپرژیلوس نیجر و *bexA* در آسپرژیلوس اواموری، ساختار مشخصی از توالی نوکلئوتید ۱+ ژن یعنی بلا فاصله چسیله به نوکلئوتید ۱+ مشخص شده است که این توالی به صورت TCAAAA یا توالی های بسیار مشابه بوده است (۱، ۴، ۵-۱۱، ۱۳-۱۵، ۲۲ و ۲۴). در ژن *afplb*_۲ آ. فومیگاتوس قرار دارد که همسانی بسیار زیادی با توالی نوکلئوتیدی موجود در ناحیه چسیله به نوکلئوتید ۱+ در سایر ژن های آ. فومیگاتوس را نشان می دهد و از جمله دلایل و مستندات احتساب کلون آغازگر در این قسمت GTG به عنوان کلون آغازگر در این قسمت TCAAAA از طول ژن نیز محسوب می شود. توالی های مشابه با درست در ناحیه قبل از نوکلئوتید ۱+ ژن، در ساختار ژن های سایر قارچ ها نیز مشاهده شده است. در ژن های *H3* و *PI-1* و *H4* و *cum-1* و *act-1* و *alcA* از آسپرژیلوس نیلولانس، نوکلئوتید ۱+ این ژنها درست بلا فاصله بعداً از توالی *TCAAAA* فوق الذکر قرار گرفته است و در ژن های *H3* و *acp-1* و *benA* در ژن های *oliC* و *tubB* و *niaD* از نوروسپورا کراسا، نوکلئوتید ۱+ بعد از توالی آسپرژیلوس نیلولانس، نوکلئوتید ۱+ بعد از توالی *TCAAG* اسیدهای نوکلئیک قرار گرفته است که تشابه زیادی با توالی *TCAAAA* نشان می دهد.

۲۴). در ساختار فسفولیپاز B قارچ های مخمری ساکارومایسین سرویسیه، کاندیدا آلبیکانس و تورولاسپورا دلبروکتی، توالی ای از اسیدهای آمینه، متشكل از دو اسید آمینه آبگریز مانند ایزولوسین، لوسین، فیل الائین و والین در انتهای N آنزیم وجود دارد که امکان عبور آنزیم را از غشای سیتوپلاسمی فراهم می آورد. قارچ های کپکی آسپرژیلوس نیجر و آسپرژیلوس اورینیزه آ نیز در ساختمان آنزیم های لیزوفسفولیپاز یک (LPL1) و لیزوفسفولیپاز دو (LPL2) هم واجد چنین توالی ای به عنوان جزء ترشحی است (۲۳ و ۲۴) ولی این جزء ترشحی در ساختار *afplb* نشان می دهد که این آنزیم یک آنزیم درون سیتوپلاسمی است. با توجه به شناسایی و اندازه گیری وجود و فعالیت فسفولیپاز B در آ. فومیگاتوس در مراحل دیگر این پژوهش، به نظر می رسد که فسفولیپاز B ترشحی، ناشی از محصول ژن فسفولیپاز B1 آ. فومیگاتوس (*plb*) باشد که در نوشتاری مجرزا در مورد آن بحث شده است. انتساب فعالیت فسفولیپازی خارج سلولی آ. فومیگاتوس به *plb* از آن جهت صورت می گیرد که آنالیز DNA ژنومی این قارچ بالکه گذاری ساترن در چند مرحله و در شرایط منعطف، وجود ژن فسفولیپاز دیگری غیر از دو ژن *plb* و *plb* در ژنوم آ. فومیگاتوس را نشان نداد.

نتیجه گیری

بسته TATA و توالی های CAAT و CAAC و مناطق غنی از اسیدهای نوکلئیک CT در فواصل متداول از نوکلئوتید ۱+ به عنوان پرومۆنورهای محتمل در ژن *afplb* وجود دارند. این ژن دارای یک کدون آغازگر غیر معمول GTG، یک ایترون مشابه با ایترون ژن فسفولیپاز در سایر قارچ های کپکی و غیر کپکی، توالی های مربوط به تنظیم بیان ژن با نیتروژن و کربن و فاقد توالی موثر در بیان ژن به وسیله pH است.

صورت توالی GCCAGG یا GCCARG موسوم به *pacC* در ساختمان ژن *plb* آ. فومیگاتوس نیز نشان دهنده این موضوع است که بیان این ژن، و در نتیجه، میزان تولید فسفولیپاز B تحت تأثیر pH محیط رشد قارچ قرار نخواهد گرفت و این موضوع با ساختار عمومی رشد قارچ های کپکی نیز تابع دارد، زیرا قارچ ها قادر به حفظ قدرت رشد خود در طیف وسیعی از pH (۳/۵-۷/۵) هستند.

ایترون موجود در طول ژن *plb* آ. فومیگاتوس با طول ۵۹bp دارای توالی های معمول GAT در ابتدا و CAG در ابتدا و انتهای خود است و دارای طول منتظره برای ایترون های موجود در ژن های قارچی است (۹، ۱۹، ۲۰، ۳۲ و ۳۳). در ژنوم ساکارومایسین سرویسیه، ایترون های شناسایی شده دارای حداقل طول ما بین ۲۵۶ نوکلئوتید هستند که اکثر آنها از ۵۰-۱۰۰ نوکلئوتید تشکیل یافته اند و ایترون های دارای طول بیش از ۲۰۰bp یا کمتر از ۵۰bp اندک هستند (۱۹). در مجموع، حدود دو سوم ژن های توالی شده قارچی دارای ۱-۸ ایترون در طول خود هستند (۱، ۴ و ۹). علاوه بر این، مقایسه همسانی ژن *plb* آ. فومیگاتوس با ژن های توالی شده فسفولیپاز B در قارچ هایی مانند پپیسلیوم نوتانوم، کاندیدا آلبیکانس، کریپتوکوکوس نوفرمنس و ... (۳۷ و ۳۸) نشان داد که ژن فسفولیپاز B در همه این قارچها دارای ایترونی با طول و توالی مشابه ایترون *plb* آ. فومیگاتوس است که نمایانگر انتقال محافظه کارانه ژن فسفولیپاز B در مسیر تکاملی ما بین قارچ ها است و جالب تر آنکه ایترون موجود در ژن فسفولیپاز B سایر قارچ ها نیز در طول این ژن ها در همان موقعیتی در طول ژن ها قرار گرفته است که ایترون ژن *plb* آ. فومیگاتوس در آن موقعیت قرار دارد.

آنالیز ژن *plb* آ. فومیگاتوس برای یافتن دامنه ای از اسیدهای آمینه آبگریز در انتهای N پروتئین حاصل از ترجمه رونوشت ژن به اسیدهای آمینه، وجود چنین خوش ای را نشان نداد. خوش اسیدهای آمینه انتهای N پروتئین جزء ترشحی برای پروتئین محسوب می شود و امکان عبور پروتئین از غشای سیتوپلاسمی را فراهم می آورد (۲۳ و

References

- Kinghorn JR, In: Gene Structure in Eukaryotic Microbes. Oxford press. U.K. 1995; P: 93-139.
- Nussinov R, Owens J, Maizel JV. J.r. Sequence signals in eukaryotic upstream regions. *Biochem Biophys Acta* 1986; 26: 866(2-3): 109-19.
- Nussinov R. Compilation of eukaryotic sequences around transcription initiation sites. *J Theor Biol* 1986 Jun; 21: 120(4): 479-87.
- Nussinov R, Strong sequence patterns in eukaryotic promoter regions: potential implications for DNA structure. *Int J Biochem* 1993; 25(4): 597-607.
- Unkles SE, Campbell EI, Punt PJ, Hawker, KL, Contreras R, Hawkins AR, Van den Hondel CA, Kinghorn JR. The *Aspergillus niger niaD* gene encoding nitrate reductase: upstream nucleotide and amino acid sequence comparisons. *Gene* 1992; 111(2): 149-55.
- Kuruvilla FG, Shamji AF, Schreiber SL. Carbon- and nitrogen-quality signaling to translation are mediated by distinct GATA-type transcription factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Jun 19;98(13):7283-8.
- Scazzocchio, C. The fungal GATA factors. *Curr Opin Microbiol*. 2000; 3(2): 126-31.
- Ravagnani A, Gorfinkel L, Langdon T, Diallinas G, Adjadj E, Demais S, Gorton D, Arst HN Jr, Scazzocchio C. Subtle hydrophobic interactions between the seventh residue of the zinc finger loop and the first base of an HGATAR sequence determine

- promoter-specific recognition by the *Aspergillus nidulans* GATA factor AreA. *EMBO J* 1997; 16(13): 3974-86.
9. Conlon H, Zadra I, Haas H, Arst HN Jr, Jones MG, Caddick MX. The *Aspergillus nidulans* GATA transcription factor gene *areB* encodes at least three proteins and features three classes of mutation. *Mol Microbiol* 2001 Apr; 40(2): 361-75.
 10. Cubero B, Scazzocchio C. Two different, adjacent and divergent zinc finger binding sites are necessary for CREA-mediated carbon catabolite repression in the proline gene cluster of *Aspergillus nidulans*. *EMBO J* 1994; 13(2): 407-15.
 11. Kulmburg P, Mathieu M, Dowzer C, Kelly J, Felenbok B. Specific binding sites in the *alcR* and *alcA* promoters of the ethanol regulon for the CREA repressor mediating carbon catabolite repression in *Aspergillus nidulans*. *Mol Microbiol* 1993 Mar; 7(6): 847-57.
 12. Kubicek CP, Messner R, Gruber F, Mandels M, Kubicek-Pranz EM. Triggering of cellulase biosynthesis by cellulose in *Trichoderma reesei*. Involvement of a constitutive, sophorose-inducible, glucose-inhibited beta-diglucoside permease. *J Biol Chem* 1993; 268(26): 19364-8.
 13. Espeso EA, Tilburn J, Sanchez-Pulido L, Brown CV, Valencia A, Arst HN Jr, Penalva, MA. Specific DNA recognition by the *Aspergillus nidulans* three zinc finger transcription factor PacC. *J Mol Biol* 1997; 274(4): 466-80.
 14. Denison SH. pH regulation of gene expression in fungi. *Fungal Genet Biol* 2000; 29(2): 61-71.
 15. Kubicek CP, Messner R, Gruber F, Mach RL, Kubicek-Pranz EM. The Trichoderma cellulase regulatory puzzle: from the interior life of a secretory fungus. *Enzyme Microb Technol* 1993; 15(2): 90-99.
 16. Tilburn J, Sarkar S, Widdick DA, Espeso EA, Orejas M, Mungroo J, Penalva MA, Arst HN Jr. The *Aspergillus* PacC zinc finger transcription factor mediates regulation of both acid- and alkaline-expressed genes by ambient pH. *EMBO J*. 1995; 14(4): 779-90.
 17. Hamer JE, Timberlake WE. Functional organization of the *Aspergillus nidulans* trpC promoter. *Mol Cell Biol* 1987; 7(7): 2352-9.
 18. Kozak M. At least six nucleotides preceding the AUG initiator codon enhance translation in mammalian cells. *J Mol Biol* 1987; 196(4): 947-50.
 19. Radford A, Parish JH. The genome and genes of *Neurospora crassa*. *Fungal Genet Biol* 1997; 21(3): 258-66.
 20. Rio DC. RNA processing. *Curr Opin Cell Biol* 1992; 4(3): 444-52.
 21. Iida Y. Quantification analysis of splice signal sequences: mutation of 3'-splice signal sequence and mechanism of unslicing in a beta-thalassemia pre-mRNA. *Nucleic Acids Symp Ser* 1999; (42): 63-4.
 22. Nussinov R. Some guideline for identification of recognition sequences: regulate sequences frequently contain (T)GTG/CAC(A), TGA/TCA and (T)CTC/GAG(A). *Biochem Biophys Acta* 1986; 866(2-3): 93-108.
 23. Kyte J, Doolittle RF. A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein. *J Mol Biol* 1982; 157(1): 105-32.
 24. Conesa A, Punt PJ, van Luijk N, van den Hondel CA. The secretion pathway in filamentous fungi: a biotechnological view. *Fungal Genet Biol* 2001 Aug; 33(3): 155-71.
 25. Nussinov R. Sequence signals which may be required for efficient formation of mRNA 3' terminal. *Nucleic Acid Res* 1986; 14(8): 3557-71.
 26. Kuhls K, Lieckfeldt E, Samuels GJ, Kovacs W, Meyer W, Petrini O, Gams W, Borner T, Kubicek CP. Molecular evidence that the asexual industrial fungus *Trichoderma reesei* is a clonal derivative of the ascomycete *Hypocreja jecorina*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(15): 7755-60.
 27. Gouka RJ, Stam H, Fellinger AJ, Muijsenberg RJ, van de Wijngaard A, Punt PJ, Musters W, van den Hondel CA. Kinetics of mRNA and protein synthesis of genes controlled by the 1,4-beta-endoxylanase A promoter in controlled fermentations of *Aspergillus awamori*. *Appl Environ Microbiol* 1996 Oct; 62(10): 3646-9.
 28. Moon RP, Uncles SE, Duncan JM, Hawkis AR, Kinghorn JR. sequence of *Phytophotora infestans* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding gene (*gpdA*). *Plant Molecular Biology* 1992; 1209-11.
 29. Nussinov R. The eukaryotic CCAAT and TATA boxes, DNA spacer flexibility and looping. *J Theor Biol* 1992; 155(2): 243-70.
 30. Nussinov R. DNA spatial considerations in the arrangement of G/C and A/T blocks. *Comput Biol Med* 1992; 22(1-2): 97-112.
 31. Nussinov R. DNA sequences at and between the GC and TATA boxes: potential DNA looping and spatial juxtapositioning of the protein factors. *J Biomol Struct Dyn* 1992; 9(6): 1213-37.
 32. Nussinov R. Signals in DNA sequences and their potential properties. *Comput Appl Biosci* 1991; 7(3): 295-9.
 33. Simpson AG, MacQuarrie EK, Roger AJ. Eukaryotic evolution: early origin of canonical introns. *Nature* 2002; 419(6904): 270.
 34. Gutierrez S, Diez B, Montenegro E, Martin JF. Characterization of the *Cephalosporium acremonium* *pcbAB* gene encoding alpha-aminoacidipyl-cysteinyl-valine synthetase, a large multidomain peptide synthetase: linkage to the *pcbC* gene as a cluster of early cephalosporin biosynthetic genes and evidence of multiple functional domains. *J Bacteriol* 1991; 173(7): 2354-65.
 35. Morozov IY, Galbis-Martinez M, Jones MG, Caddick MX. Characterization of nitrogen metabolite signalling

- in *Aspergillus* via the regulated degradation of *areA* mRNA. *Mol Microbiol* 2001; 42(1): 269-77.
36. Berbee ML, Carmean DA, Winka K. Ribosomal DNA and resolution of branching order among the ascomycota: how many nucleotides are enough? *Mol Phylogenet Evol* 2000; 17(3): 337-44.
 37. Sharp PA. Splicing of messenger RNA precursors. *Science* 1987; 235(4790): 766-71.
 38. Cox GM, McDade HC, Chen SC, Tucker SC, Gottfredsson M, Wright LC, Sorrell TC, Leidich SD, Casadevall A, Ghannoum MA, Perfect JR. Extracellular phospholipase activity is a virulence factor for *Cryptococcus neoformans*. *Molecular Microbiology* 2001; 39(1):166-175.
 39. Sugiyama Y, Nakashima S, Mirbod F, Kanoh H, Kitajimo Y, Ghannoum MA, and Nozawa Y. Molecular cloning of a second phospholipase B gene, *caplb2* from *Candida albicans*. *Med Myco* 1999; 137: 61-67.