مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هفتم، شماره بیست و ششم - بهار ۱۳۹۶

Research Article
مقاله تحقیقی

مرگ برنامه ریزی شده سلول در گیاهان

فرشاد رخشنده رو [*] ، میترا بهمن یار

گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران،ایران

چکیده:

سابقه و هدف: PCD در پاسخ‌های دفاعی در برابر بیمارگرها و نیز در پاسخ به تنش‌های محیطی شامل تنش‌های زیستی و غیر زیستی دخالت دارد و از لحاظ عملکرد در سلسله یوکاریوت‌ها در گیاهان و حیوان ها حفاظت شده است.

مواد و روش ها: در بسیاری از بیماری‌های انسان مانند اختلال های تنفسی و نیز بیماری‌هایی مانند آلزایمر و پارکینسون مشاهده شده است که فرایند PCD از تنظیم خارج شده و عمل نمی‌کند.

یافته ها: محققین ژن های مختلفی را مرتبط با PCD در گیاهان شناسایی نموده اند و مسیرهای ژنتیکی و بیوشیمیایی حفاظت شده آن تا حد زیادی مشخص شده است.

بحث: اگرچه تعدادی از تغییرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی که به طور عمومی در PCD در جانوران مشاهده می شود در گیاهان نیز مشاهده می شود اما در مورد چگونگی انجام فرایندهایی که منجر به مرگ سلول گیاهان می شود دانش کمی وجود دارد.

نتیجه گیری: با وجود آن‌که PCD در گیاهان و جانوران فرآیندی حفاظت شده است اما در گیاهان از لحاظ ژنتیکی و شیمیایی بسیار متفاوت اتفاق می افتد.

واژه‌های کلیدی: PCD، Apoptosis، HR، DNA، مسیرهای مولکولی

مقدمه:

فرایند مرگ سلولی حدود ۱۷۳ سال قبل و توسط دانشمندان علوم زیست شناسی کشف شد. Carl vogt دانشمند آلمانی اولین کسی بود که اصول مرگ سلولی را در سال ۱۸۴۲ تشریح نمود (۱،۳۴). Walther flemming دانشمند آناتومیست در سال ۱۸۸۵ تشریح دقیق‌تری را از مرگ برنامه ریزی شده سلول ارائه داد.

درسال ۱۹۷۲، Foxton و Kerr در حالی که در بخش پاتولوژی دانشگاه کوینزلند در شهر بریسبان استرالیا با استفاده از میکروسکوپ الکترونی بافت‌ها را بررسی می‌نمودند بین مرگ بدون برنامه قبلی و مرگ برنامه ریزی شده سلولی (PCD) تمایز قایل شدند (۲،۴۴). هنگامی که این محققین برای نخستین بار تفاوت میان نکروز و آپوپتوسیس را مشاهده نمودند گمان نمی‌بردند که پدیدهٔ اکتشافی آن ها روزی سرلوحه مطالعه‌های ضد سرطان قرار گیرد (۳،۲۲). Vaux در ۱۹۹۳ مرگ برنامه ریزی شده سلول را این گونه بیان نمود: تغییرهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در یک سلول یا سلول-های مجاور آن که به وسیله مسیرهای سیگنالی به وجود آمده و در طی آن سلول از بین می‌رود. Martin در ۱۹۹۴ ، PCD را یک جمله کاربردی "مرگ سلولی یک بخش زنده نرمال در یک ارگانیسم چند سلولی" می‌دانست. Zhivotovsky در ۱۹۹۷ ، PCD را به عنوان فرآیند حذف کنترل شده ژنتیکی یک سلول عنوان نمود (۴،۵،۲۳،۳۰). Gilchrist در ۱۹۹۸ ، PCDرا یک پایستگی فعالانه و فرآیند تنظیم شده مثبت از یک سلول خود تخریب عنوان کرد. آپوپتوزیس برای اولین بار

نویسنده مسئول:
بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران
پست الکترونیکی: rakhshandehroo_fa@srbiau.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۸

در سال ۱۹۷۲ در نتیجه پژوهش های Kerr و همکاران در جانوران شناسایی و تعریف شد. وی نتایج تحقیق خود را در مجله تحقیقات سرطان شناسی به چاپ رساند و برای اولین بار آپوپتوزیس را چنین تعریف نمود " با وجود آن‌که فرآیند خودکشی در موجودها امری غیر منطقی و اجباری است که هیچ گونه هماهنگی در اجرای آن وجود ندارد ولی در جانوران سیستمی وجود دارد که طی آن سلول‌ها در جهت تعادل با محیط و هماهنگی در رشد و یا در جهت رشد و نمو و حذف سلول‌های سرکش از طریق یک فرایند منطقی و هماهنگ که ریشه در ژنتیک موجودها دارد زمینه مرگ سلول ها را فراهم می‌آورند. این فرآیند که آپوپتوزیس نامیده می‌شود فرآیندی زیستی در جهت کنش (Kinetic) سلول می‌باشد" (۶،۲۱).

مرگ برنامه ریزی شده سلولی Programmed cell death (PCD) و آپوپتوزیس فرآیندهای حفاظت شده در سلول جانوران و گیاهان می‌باشد که در ذات تمام سیستم‌های زیستی وجود دارد. به مانند جانوران سلول گیاهان برای تحمل شرایط نامناسب محیطی و نیز رشد و نمو از آپوپتوزیس استفاده می‌نماید. در حقیقت در نتیجه فرآیند آپوپتوزیس و مرگ برنامه ریزی شده سلول در گیاهان اجزاء سلولی که دستور مرگ آن صادر شده است از همدیگر جدا شده و ارتباط آن با سلول‌های مجاور قطع می‌شود تا در نهایت سلول مورد نظر از بین برود. با وجود آن‌که نتایج تحقیق‌های Barlow و همکاران در سال ۱۹۸۲ مشخص ساخت که اجزاء فرآیند آپوپتوزیس در گیاهان نیز به مانند جانوران وجود دارد ولی چیزی در حدود ۱۶ سال پس از آن مشخص شد که فرایند مذکور در جهت رشد و نمو در گیاهان به صورت طبیعی رخ می‌دهد (۴،۷،۸،۱۴،۴۲).

در حال حاضر شناخت ویژگی‌های فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و به خصوص ژنتیکی فرآیند آپوپتوزیس در گیاهان و جانوران از آن جهت دارای اهمیت می‌باشد که می‌توان از طریق تحریک اجزاء ژنتیکی فرآیند مذکور موجب حذف سلول‌ها و نیز بافت‌های سرکش به صورت هدایت شده گردید و از این طریق نوعی درمان را برای بافت‌های آسیب دیده و سرطانی فراهم آورد و نیز گیاهان تراریخت مقاوم به آفت ها و بیماری‌ها تولید نمود.

۱- مرگ برنامه ریزی شده سلولی Programmed cell death (PCD)

با وجود آن‌که PCD در گیاهان و جانوران فرایندی حفاظت شده است اما در گیاهان از لحاظ ژنتیکی و شیمیایی متفاوت اتفاق می‌افتد. در گیاهان اندامک‌های میتوکندری و کلروپلاست با تأمین انرژی و گونه‌های فعال اکسیژنی در تنظیم واکنش‌های مرگ نقش اساسی دارند (۵۰). اگرچه تعدادی از تغییرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی مانند شکست و حبابی شدن غشاء پلاسمایی، تغلیظ و قطعه قطعه شدن هسته و خرد شدن درون نوکلئوزومی دی.ان.ای که به طور عمومی در PCD در جانوران مشاهده می‌شود در گیاهان نیز مشاهده می‌شود اما در مورد چگونگی انجام فرآیندهایی که منجر به مرگ سلول گیاهان می‌شود دانش کمی وجود دارد (۳۰). در گیاهان مقاوم به میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا واکنش فوق حساسیت با سازوکاری شبیه به PCD در سلول ها هدایت می‌شود. مرگ برنامه‌ریزی شده سلول در برخی اعمال حیاتی گیاهان مانند: پیری، شکل گیری آئرانشیم و بافت‌های تراکئیدی، جوانه زنی بذر و پاسخ فوق حساسیت (HR) به عوامل بیماری‌زا در ارقام مقاوم گیاهی نقش اساسی دارد (۶۴). از پایه مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی را می‌توان از زاویه‌های مختلفی مورد بررسی قرار داد گیاهی، جانوری،بیوشیمیایی و مورفولوژیکی، مولکولی و فیزیولوژیکی زمینه‌هایی مناسب برای مطالعه مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی هستند. شاید به همین دلیل است که دانشمندان تعریف‌ها و تقسیم بندی‌های متفاوتی را برای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی انجام داده اند (۹،۱۵،۳۰).

در طول رشد طبیعی و در زمان پاسخ به تنش‌های محیطی یا حمله بیمارگرها و نیز در جهت حفظ تعادل، سلول‌ها در موجودهای زنده پر سلولی دست به خودکشی می‌زنند. آنها از طریق تغییرهای متابولیکی دنباله‌دار و هدایت شده دقیق این کار را انجام می‌دهند. البته در مرگ برنامه‌ریزی شده از آنجائی که مرگ سلول بدون منطق و انگیزه قبلی صورت نمی‌پذیرد و مطابق یک دستور ژنتیکی هدایت شده و هوشمندانه انجام می‌شود لذا نباید به آن خودکشی گفت. در واقع PCD فرایند مرگ فیزیولوژیکی است که جهت حذف سلول‌های ناخواسته عمل می‌نماید. در حالت طبیعی کنترل اندازه بدن و اندام‌های موجودهای زنده با سه فرآیند اساسی ۱- رشد سلولی ۲- تقسیم سلولی و ۳- مرگ سلولی هدایت می‌شود. توازن بین تقسیم و مرگ سلولی برای رشد و نمو و حفظ موجودهای زنده اهمیت دارد. اگر تقسیم سلولی سریع تر از مرگ سلولی باشد تومور به وجود می‌آید و اگر تقسیم سلولی کندتر از مرگ سلولی باشد موجب از دست رفتن تعداد زیادی از سلول‌های مفید می‌شود (۱۰،۱۱،۳۴،۴۴،۳۷).

در سال ۲۰۰۰ سه نوع از مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی توسط محققین ژاپنی برای گیاهان مطرح گردید: ۱- شبه آپوپتوزی ۲- مرگ سلول در هنگام پیری و ۳- مرگ برنامه ریزی شده سلول که در آن واکوئل نقش اساسی بازی می‌نماید (۶۰). در سال ۲۰۰۵ محققین دریافتند که فرآیندهای مرگ سلولی در گیاهان با هیچ کدام از دسته‌بندی‌های فوق سازگاری ندارد و لذا دسته‌بندی جدیدی را برای واکنش‌های مرگ سلولی در موجودهای یوکاریوت ارائه دادند تا با ماهیت آن در سلول گیاهان سازگاری داشته باشد و بر این اساس واکنش‌های مرگ سلول را در سه دسته تقسیم نمودند. ۱- آپوپتوزیس Apoptosis ۲- اتوفاژی یاخودخوری Autophagy و ۳- مرگ غیرلیزوزومی non lysosomal. آپوپتوزیس: مرگ فیزیولوژیک سلولی است که سبب حذف سلول‌های پیر آسیب دیده، اضافی و مضر می‌شود و برای تکامل و تعادل بافتی ضروری است. اتوفاژی یا خود هضمی سلولی: به سلول‌هایی که به وسیله عوامل پاتوژنی آسیب دیده اند اجازه حذف می‌دهد. مرگ غیر لیزوزومی یا شبه نکروزیس: این نوع مرگ نوعی مرگ سلولی است که به طور معمول با انقباض کروماتین همراه است (۱۲،۱۳،۱۵).

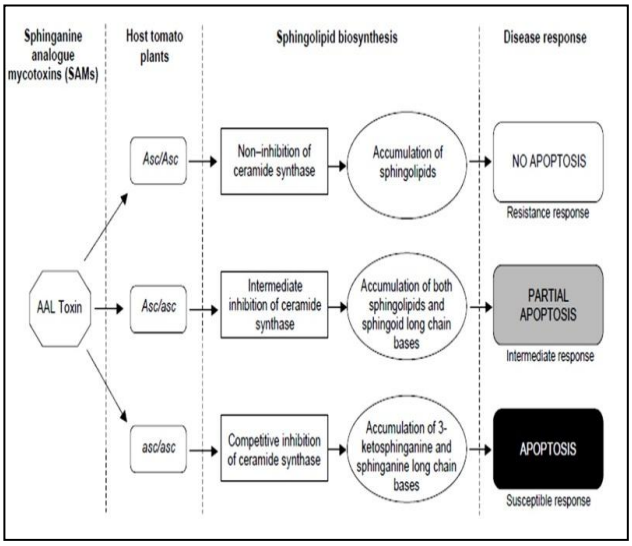
هم‌چنین دانشمندان بر مبنی ویژگی‌های مورفولوژیکی در سال‌های اخیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در گیاهان را به دو گروه عمده : ۱- نکروز و ۲- اتوفاژی بر مبنی مرگ واکوئلیزه شده سلول دسته‌بندی نموده‌اند (۵۹ ،۶۰). فرایند اتوفاژی به ۳ گروه تخصصی‌تر دسته‌بندی شد. ۱- میکرو اتوفاژی: به فرایند جذب اندامک‌ها و یا سایر اجزاء درون سلولی توسط ساختارهای تجزیه کننده واکوئل‌ها گفته می‌شود (۶۱). ۲- ماکرو اتوفاژی با دخالت ساختارهای دارای غشاء دو لایه‌ای که حاوی محتوی درون سلولی با نام اتوفاگوزوم می‌باشد صورت می‌پذیرد. در این مورد اتوفاگوزوم به واکوئل‌های دارای آنزیم‌های تجزیه کننده متصل می‌شود (۶۲) و ۳- مگا اتوفاژی با تخریب تنوپلاست و نشت آنزیم‌های هیدرولیتیک به درون سلول صورت می‌پذیرد و موجب تخریب کامل بافت‌ها و فرآیندهایی مانند پیری، تمایز آوندهای چوبی و حذف نگاهدارنده های جنینی می‌شود (۶۳).

تفاوت‌های میان مرگ بدون برنامه‌ریزی و برنامه‌ریزی شده سلولی:

نکروز به عنوان یک مرگ بدون برنامه‌ریزی سلول فرآیندی غیرفعال است و در غیاب ATP نیز اتفاق می‌افتد در حالی که فرایند آپوپتوزیس فرآیندی فعال بوده و به انرژی وابسته است.

PCD مرگ فیزیولوژیک سلولی است و در طی تحریک‌های خاص اتفاق می‌افتد درحالی که نکروز مرگ پاتولوژیک سلول بوده و در طی آسیب‌های شدید به سلول از قبیل سموم خارجی این نوع مرگ سلولی اتفاق می‌افتد. مرگ سلولی بدون برنامه قبلی با واکنش‌های التهابی همراه است در حالی که مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی بدون التهاب رخ می‌دهد (۱۴،۱۵،۳۵).

امروزه محققان قادر هستند تا با استفاده از ژن‌های نشانگر تفاوت‌های بین PCD و مرگ‌های بدون برنامه قبلی را دریابند. برای این منظور برخی ژن‌ها به عنوان مارکر در شناسایی مرگ سلول استفاده می‌شوند.



شکل ۱- مسیرهای مختلف پیامبری مولکولی درون سلولی که در فرآیندهای مرتبط با مرگ یک سلول یوکاریوت دخیل می‌باشند.

به عنوان مثال ژن نشانگر SAG 12 [1] در گیاه آرابیدوپسیس در سلول‌های مجاور نقاط آلوده به ویروس موزاییک توتون و باکتری‌های مولد پاسخ فوق حساسیت بیان می‌شود. در فرایند اتوفاژی نیز ژن‌هایی که مولد این فرایند هستند شناسایی شده‌اند. به عنوان مثال ژنی که در اصطلاح به آن جاروکش AMBRA1 [2] می‌گویند برای تشخیص اتوفاژی شناسائی شده است (۱۶،۱۷،۲۷،۳۳).

ژن‌های متنوع متفاوتی که در گیاهان وجود دارند به آن‌ها این امکان را می‌دهد تا پاتوژن‌های محیط را شناسائی نموده و

1 - senescence-associated gene 12
2 - activating molecule in Beclin 1- regulated autophagy

نسبت به آنها پاسخ مناسب را در جهت دفاع از خود بروز دهند . نمونه بارز این موضوع را در ایجاد پاسخ فوق حساسیت Hypersensitive response (HR) می‌توان یافت. دو ژن HIN 1[3] و HRS203J در گیاه توتون به عنوان نشانگر اختصاصی در تشخیص پاسخ فوق حساسیت شناسایی شده‌اند. پس به کمک ژن‌هایی مانند موارد ذکر شده می‌توان میان PCD و مرگ‌های بدون برنامه قبلی تمایز قائل شد (۱۸،۱۹،۲۷،۲۹،۳۶).

عوامل موثر در بروز PCD:

عواملی که موجب مرگ سلول می‌شوند بسیار متنوع هستند. PCD می‌تواند به وسیله فاکتورهای برون سلولی و درون سلولی تحریک شود. پیام‌های خارج سلولی که برای اثرگذاری بر روی پدیده PCD باید از عرض غشای سیتوپلاسمی عبور کنند عبارتند از: مواد شیمیایی خطرناک، اشعه‌های رادیو اکتیو مانند UV، بازگرفتن یک فاکتور رشد، فلزهای سنگین، تاکسین‌های گیاهی و قارچی، هورمون‌ها و گونه‌های فعال اکسیژنی و نیتروژنی در گیاهان (۲۰،۲۹،۳۴).

در بیش‌تر موارد هورمون‌ها در گیاهان به عنوان عوامل تنظیم کننده رشد و نمو گیاه مسئولیت تعادل سلول و پاسخ آگاهانه آن نسب به تنش‌های زیستی و غیر زیستی محیط را بر عهده دارند. در این بین می توان به هورمون‌های اکسین، جیبرلین، سیتوکنین، آبسسزیک اسید، سالسیلیک اسید، اتیلن جاسمونیک اسید، براسینو استروئیدها[4] و هورمون‌های پپتیدی اشاره نمود (۲۱،۴۳). به تازگی استرگولاکتون ها[5] به عنوان دسته‌ای جدید از هورمون‌های گیاهی معرفی شده‌اند (۵،۲۲،۳۰). از زمانی که محققین دریافتند که هورمون‌ها در پاسخ به آلودگی‌های پاتوژنیک در گیاهان تولید می‌شوند نقش آن‌ها در القاء مقاومت‌های ذاتی و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی نیز مشخص گردید. هر کدام از هورمون‌های گیاهی با تنظیم بیان ژن‌های اختصاصی موجب القاء نوع خاصی از مقاومت در گیاهان می‌شوند. به عنوان مثال هورمون سالیسیلیک اسید با القاء دفاع سیستمیک اکتسابی در برابر بیمارگرهای از نوع پارازیت اجباری مقاومت گیاه را موجب می‌شود و هورمون‌های اتیلن و جاسمونیک اسید مقاومت‌های القائی را در گیاه در برابر بیمارگرهای نکروتروف موجب می‌شوند. مشخص شده است که اسید سالیسیلیک در سنتز پروتئین کیناز وابسته به میتوژن MAPKs[6] نقش اساسی دارد (۲۳،۲۴،۳۲) . این پروتئین در مرگ سلولی و پاسخ فوق حساسیت در گیاهان بسیار مؤثر است. غلظت‌های کم این هورمون برای مرگ سلول کافی نیست اما می‌تواند پیام‌های مقاومتی را در گیاه فعال نماید. اسید سالیسیلیک با تأثیر بر روی آنزیم Alternative oxidae که وظیفه تخلیه رادیکال‌های آزاد اکسیژنی از میتوکندری را بر عهده دارد موجب تجمع گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS- Reactive oxygen species) در غشاء میتوکندری شده و از این طریق باعث صدمه به غشاء میتوکندری و نشت ROS و آنزیم‌های تنفسی اکسید کننده پروتئین به محیط درون سلولی و در نتیجه انفجار اکسیژنی در سلول شده و از این طریق موجب بروز PCD در زمان بروز تنش‌های زیستی می‌شود (۳۲) (شکل ۱).

گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS) که به عنوان پیامبرهای مهم در فرایند مرگ سلولی در گیاهان و جانوران نقش بازی می‌کنند عبارتند از OH، O و H_2O_2 فعال که می‌توانند در زمان افزایش فرایند تنفس در غشاءهای کریستای میتوکندری و یا پس از تعامل ژن برای ژن توسط سیستم‌های آنزیمی (اکسیدوردوکتازها) در غشاء سلول ناسازگار تولید شوند. با شروع تولید آن‌ها و رخدادهای اکسیداتیو غشاء سلول غیر قطبی شده و الکترولیت‌ها تجزیه می‌شوند. نتایج نشان می‌دهد که تولید ترکیب‌های خارج سلولی با تولید ترکیب‌های ROS در درون سلول همراه است. گونه‌های فعال اکسیژنی دارای الکترون مازاد در لایه آخر از مدار الکترونی خود بوده و برانگیخته می‌باشند. چنین مولکول‌هایی ناپایدار بوده و تمایل دارند تا با سایر مولکول‌ها پیوند برقرار نموده و به ثبات برسند و در نتیجه باعث اکسیداسیون‌های گسترده در سطح پروتئین‌های و سایر ماکرومولکول‌های درون غشاء یا سیتوپلاسم سلول شده و باعث مرگ سلول می‌شوند (۳۲) (شکل ۱).

مسیر آبشار فسفرلاسیون / دفسفریلاسیون درون سلولی به عنوان یکی از مسیرهای مهم انتقال پیام برای شروع واکنش دفاعی، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و تنظیم بیان ژن‌ها از غشاء به هسته نقش بازی می‌کند در این مسیر پروتئین کینازها نقش بازی می‌کنند. یکی از مهم‌ترین این پروتئین کینازها: mitogen-activated protein (MAP-Kinase) kinase می‌باشد. توسط این پروتئین پمپ پروتونی و کلسیم در درون غشاء تحریک می‌شود ولی خود موجب تحریک به انفجار اکسیژنی در درون سلول می‌گردد و در واقع واسطه بین

3 - identified harpin-induced 1
4 - brassinosteroids
5 - strigolactones
6 - Mitogen activated protein kinase

نفوذ کلسیم از غشاء و شروع انفجار اکسیژنی در درون سلول است (۴۹) (شکل ۱).

گیاه دارای خانواده منحصر به فرد و گسترده‌ای از پروتئین کینازهای حاوی مرکز فعال شبه کالمودولینی CDPKs هستند که از طریق آن نظام آبشاری فسفریله کردن پروتئین‌ها را فعال می‌کنند. نکته مهم این که در این فرآیند پیچیده محرک‌های خارج سلولی، پاسخ‌های درون سلولی ایجاد می‌کنند . در هنگام ایجاد پاسخ‌های مقاومتی پروتئین CDPKs[7] از جمله آنهاست و به نظر می‌رسد که در پاسخ به افزایش سطح کلسیم سیتوسولی موجب فعالیت NADPH اکسیداز می‌شود. وجود خانواده CDPKs در گیاه نشان دهنده آن است که آنها فاکتورهای خاص خود را به سیستم سیگنالی عمومی در موجودهای مختلف اضافه کرده‌اند (۱۰،۲۵،۲۶،۲۷).

یکی از مسیرهای مهم پیام‌دهی فرآیند PCD در سلول‌های گیاهی مسیر پیمرسانی وابسته به سرآماید Ceramide Signallng Pathway می‌باشد. این مسیر از تأثیر پاتوژن‌های قارچی تولید کننده تاکسین میزبان اختصاصی در گیاهان شناسائی گردید. مشخص شده است که توازن زیستی فعال بین ماده Sphingolipid وCeramid و مشتق‌های فسفریله شده آن در درون سلول می‌تواند موجب فعال‌سازی فرایند مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های گیاهی و جانوری شود.

Sphingolipidها از اجزاء اصلی سازنده غشاء پلاسمائی در سلول‌های یوکاریوتی و پروکاریوتی محسوب می‌شوند و از اضافه شدن گروه‌های قطبی به دنباله Ceramide در غشاء های سلولی ایجاد می‌شوند. تعامل و واکنش‌های بین مشتق‌های متابولیتی Sphingolipid های غشاء مانند sphingosine-1-phosphate و پروتئین‌های سه بخشی نامتجانس G-Protein در غشاء های سلولی موجودها موجب ارسال پیام‌های متفاوتی به سلول می‌شود که می‌تواند یکی از آنها پیام فعال‌سازی مرگ برنامه‌ریزی شده سلول باشد. به طور طبیعی تعامل مذکور موجب ارسال پیام‌های مربوط به رشد و تمایز سلول، انتقال های درون سلولی و ایجاد ارتباط بین سلول ها می‌شود. تحقیق ها نشان داده اند که مهار کننده‌های سنتز Ceramides مانند تاکسین‌های قارچی AAL-Toxin[8] و Fuminisin در درون سلول گیاه می‌تواند مو جب ارسال پیام PCD به درون سلول گیاهان حساس به آلودگی قارچی شود (شکل ۲) (۲۸،۲۹،۳۰،۳۳،۳۶).

۲- آپوپتوزیس:

محققان معتقدند که مهم‌ترین نوع مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی آپوپتوزیس می‌باشد. در گیاهان آپوپتوزیس در بافت‌های رویشی و زایشی اتفاق می‌افتد و در شکل‌گیری عناصر تراکئید، پیری برگ‌ها، مرگ‌های دوره‌ای گلبرگ‌ها پس از لقاح، جنین‌زایی رویشی و زیگوتی، شکل‌گیری کلاهک ریشه و فساد لایه‌های جنینی پس از لقاح نقش دارد.

در سلول گیاهان اندامک‌های میتوکندری و کلروپلاست با تولید گونه‌های فعال اکسیژنی و نیتروژنی نقش مهمی در تنظیم فرآیند مرگ در سلول دارند (۵۰). نتایج تحقیق‌های اخیر نشان داده است که در زمان بروز تنش‌های زیستی در سلول گیاهان توسط کلروپلاست-ها پروتئینی با نام پروتئین های شتاب‌دهنده مرگ accelerated cell death 2 (ACD2) تولید می‌شود که با تحریک میتوکندری پیام‌های مرگ را به هسته و سیتوپلاسم ارسال می‌نماید. تاکنون فعالیت پروتئازهای هضم کننده با نام کاسپاز که در پروتئین سوبسترا دنباله‌های اسید آمینه آسپارژین را شناسائی و برای هضم هدف قرار می‌دهند در گیاهان اثبات نشده است اما فعالیت شبه کاسپازی متا کاسپازها مشاهده شده است (۵۰،۵۲،۵۳). متاکاسپازها دارای ارتباط دوری با کاسپازها بوده و در پروتئین سوبسترا ردیف‌های اسید آمینه آرژنین را مورد هضم آنزیمی قرار می‌دهند و تاکنون تعداد ۹ عدد از آن‌ها در گیاهان شناسائی شده است. علاوه بر متاکاسپازها دسته دیگری از متاکاسپازهای هضم کننده دخیل در فرآیند مرگ برنامه‌ریزی شده سلول در گیاهان شناسائی شده است با نام vacuole processing enzymes (VPEs) که در واکوئل‌ها تجمع پیدا می‌کنند و بر خلاف دو گروه قبل سوبستراهای پروتئینی را در ردیف‌های تکراری سیستئین برش می‌زنند (۵۴،۵۵).

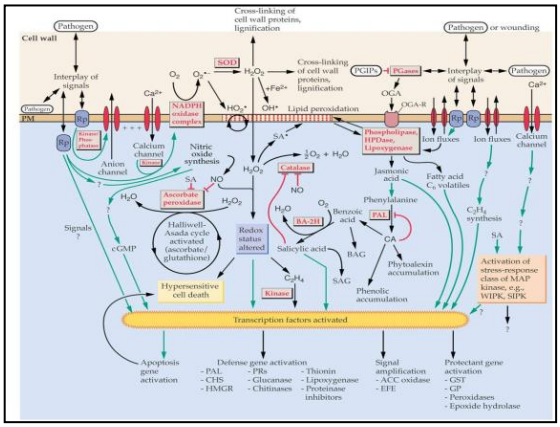
هم‌چنین مشخص شده است که سیتوکرم f که از اجزاء چرخه انتقال الکترون در غشاء تیلاکوئید کلروپلاست گیاهان می‌باشد در سلول گیاهان به مانند سیتوکرم c میتوکندریایی در سلول جانوران می‌تواند موجب تحریک فعالیت پروتئین‌های شبیه کاسپاز شده و موجب شروع واکنش مرگ برنامه‌ریزی شود (۵۵). سیتکرم f کلروپلاست‌ها با فعال نمودن سیستم‌های آنزیمی وابسته پروتئین (Ubiquitin proteasome system) موجب فعال نمودن شبه کاسپازها می‌شوند (۵۶). هم‌چنین دانشمندان مشخص نمودند که در غشاء کلروپلاست‌ها دو نوع پروتئین با عنوان CiD و Lrg وجود دارد که با تعامل با یکدیگر و یا با اتصال به پروتئین‌های ممانعت کننده Bax می-

7 - Calcium-dependent protein kinases
8 - Alternaria alternata toxin

توانند موجب شروع واکنش مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول گیاهان شوند (۵۸،۵۷). در سلول‌های یوکاریوتیک Apoptosis با چند ویژگی شناخته می‌شود (۳۱،۳۲،۳۳،۳۹، ۱۹) :

۲-۱- ویژگی‌های Apoptosis:

مکانیسم آپوپتوسیس بیش‌تر با هضم بیش از یک‌صد پروتئین ساختاری و غیر ساختاری سلول آغاز می‌شود و در این فرایند آنزیم‌های پروتئازی موسوم به کاسپاز یا آبشار نقش اصلی را عهده دار می‌باشند. کاسپازها جزء خانوادهٔ سیستئین پروتئاز هستند که نقش محوری در شروع و فاز اجرایی آپوپتوز ایفا می‌نمایند. به دنبال فعال شدن این آنزیم‌ها روی سوبستراهای خاصی عمل و تغییرهای بیوشیمیایی و مورفولوژیک در سلول آپوپتوتیک ایجاد می‌نمایند. از جمله آن‌ها می‌توان از چروکیدگی سلول، متراکم شدن کروماتین، قطعه قطعه شدن DNA کروموزومی به قطعه‌های ژنتیکی به طول ۱۸۰ جفت باز (نردبانی شدن ماده ژنتیک هسته) ، غلیظ شدن سیتوپلاسم و هسته، ایجاد ویژگی‌های مولکولی در سطح سلول که منجر به هضم آن توسط فاگوسیت‌ها می‌شود، حباب‌دار شدن سیستم‌های غشاءی سلول و شکل‌گیری اجسام آپوپتوتیک[9] نام برد (۳۴،۳۵،۴۸،۴۹).



شکل ۲- مسیر ارسال پیام از طریق Ceramide که منجر به بروز پاسخ حساسیت از طریق فعال شدن آپوپتوزیس در گیاه گوجه فرنگی آلوده به قارچ *Alternaria alternate* می‌شود.

AAL توکسین تولید شده توسط قارچ موجب فعال شدن فرآیند آپوپتوزیس در گوجه فرنگی آلوده می‌شود و این کار را از طریق رقابت مهار کننده با آنزیم سنتز کننده سرامید (سرامید سنتتاز) در سلول انجام می‌دهد (شکل ۲). آنزیم سرامید سنتتاز نقش کلیدی در بیوسنتز Sphingolipid در غشاء سلول دارد. در واقع تاکسین AAL قارچ با تأثیر بر روی لوکوس ژنی هتروزیگوس Asc/asc در گوجه فرنگی چنین تأثیر مهار کنندگی را موجب می‌شود. در حالت طبیعی سلول مقاوم گوجه فرنگی دارای لوکوس هترزیگوسی از ژن Asc می‌باشد (شکل ۲). در گیاهان حساس لوکوس مذکور مغلوب هوموزیگوس می باشد (۲۰).

خانواده چهارده عضوی کاسپازی طی فرآیند آپوپتوسیس فعال می‌شوند و از نظر درجه اهمیت شرکت در فرایند مرگ سلولی به دو دسته آغازگر و اجرایی دسته‌بندی می‌شوند. کاسپازهای آغازگر مانند کاسپاز۲،۸،۹،۱۰ با دریافت سیگنال‌های آپوپتوتیک در ابتدای فرایند فعال می‌شوند و کاسپازهای اجرایی یا عمل کننده مانند کاسپاز ۳،۶،۷ در مراحل بعدی و توسط کاسپازهای آغازگر فعال می‌شوند و آبشار کاسپازی را به راه می‌اندازند (شکل ۳).

تاکنون بیش از صد نوع از سوبستراهای کاسپاز شناخته شده است و پیوسته سوبستراهای جدیدی به این لیست اضافه می‌گردد. این سوبستراها پروتئین‌هایی هستند که اعمال مختلفی را انجام می‌دهند و دارای آسپارتات در وضعیت خاص در ساختار خود هستند که توسط کاسپاز کاتالیز می‌شوند بنابراین ارزیابی فعالیت کاسپاز به عنوان یک مارکر بیوشیمیایی آپوپتوز مطرح است. کاسپازهای عمل کننده، بیش از یک‌صد پروتئین مختلف را در درون سلول هضم می‌کنند. تخریب این پروتئین‌ها در اغلب موارد منجر به غیرفعال شدن آن‌ها و یا فعال شدن پروتئین‌های هدف می‌گردد. این پروتئین‌ها عبارتند از:

پروتئین‌های ساختاری نظیر برخی پروتئین‌های ایجاد کننده اسکلت سلولی (لامین و اکتین) و اسکلت هسته‌ای ، پروتئین‌های شرکت کننده در پیش‌برد چرخه سلولی مانند پروتئین رتینوبلاستوما ، برخی پروتئین‌های دخیل در متابولیسم سلولی ، پروتئین‌های بازدارنده آپوپتوسیس مانند IAP و Bclx[10] ، (**I**nhibitor of **A**poptosis **P**rotein) ، برخی پروتئین‌های مربوط به فرایند همانند سازی مانند RFC[11] و برخی پروتئین‌های دخیل در فرایند ترمیم DNA نظیر PARP[12] و DNA-PK (۱۹،۳۶،۳۷،۳۸،۳۹).

فعال شدن کاسپاز به صورت اختصاصی و به میزان زیاد در آپوپتوزیس وجود دارد و تعیین فعالیت کاسپازها برای تمایز بین نکروز و آپوپتوز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر

9 - Apoptotic like bodies

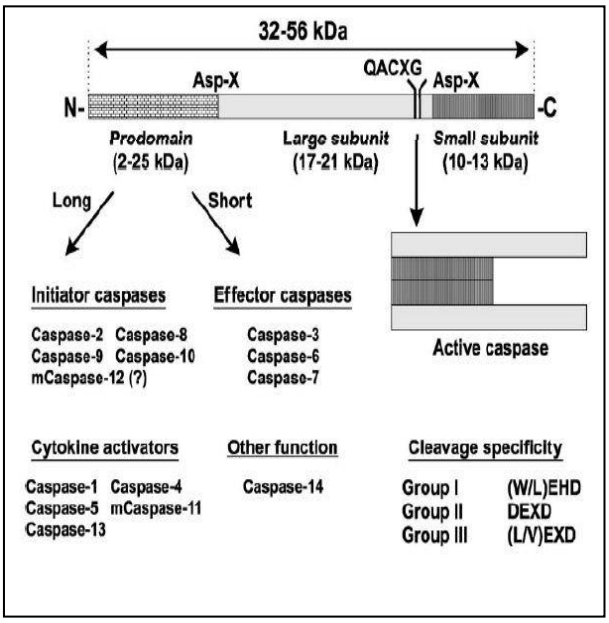
10 - B-cell lymphoma 2 related genes
11 -Replication factor C
12 - poly (ADP-ribose) polymerase 1

نقش و اهمیت کاسپازها در فرایند آپوپتوزیس، کاسپازها در فرایند تکامل، تمایز و التهاب نیز دخالت دارند. شباهت‌های زیادی بین کاسپازهای جانوری با شبه کاسپازها در گیاهان وجود دارد. در گیاهان آنزیم‌های پردازش کننده واکوئلی و نیز Metacaspases ها وجود دارند که از لحاظ عملکرد شبیه کاسپازهای جانوران می‌باشند.

یکی از مهم‌ترین انواع آنزیم‌های کاسپاز که فرآیند آپوپتوزیس Apoptosis را در سلول هدایت می‌نماید آنزیم کاسپاز شماره ۳ در جانوران می‌باشد. با وجود آن‌که بین مرگ برنامه‌ریزی سلول (PCD) Programmed cell death در گیاهان و آپوپتوزیس در جانوران شباهت‌های زیادی وجود دارد ولی ژن-های گیرنده مرگ شامل BAX[13] و Bcl-2 تاکنون در گیاهان مشاهده نشده است. ولی تحقیق‌ها نشان داده است که در گیاهان تراریختی که ژن‌های BAX و Bcl-2 جانوران بیان می‌شود فرایند مرگ فعال می‌شود. پژوهش‌های بیش‌تر مشخص ساخت مهار کننده فعالیت کاسپازها که بیش‌تر انواع به کار رفته آن‌ها از ژن‌های ویروس‌های پارازیت گیاهی به دست آمده بودند می‌توانند جلوی پاسخ فوق حساسیت در گیاهان را گرفته و از بروز پاسخ فوق حساسیت جلوگیری نمایند. حتی پس از مشخص شدن توالی ژنومی تمام ژن‌های گیاه آرابیدوپسیس، ژنی با توالی ژن‌های مسئول سنتز کاسپازها به مانند کاسپازهای جانوری در گیاه آرابیدوپسیس شناخته نشد ولی نتایج به دست آمده حکایت از حضور ژن-های مشابه در گیاهان داشت. لذا در نهایت محقیقن اعلام نمودند در گیاهان پروتئین‌های شبیه به کاسپازهای جانوری با نام metacaspase وجود دارند و کار پروتئازی مانند کاسپازهای جانوری را در زمان بروز پاسخ مرگ برنامه‌ریزی شده سلول انجام می‌دهند. هم‌چنین مشخص شده است که در گوجه فرنگی ژن LeMCA1 مسئول کد نمودن metacaspase type II می‌باشد (۲۴،۴۰،۴۱،۴۸).

۲-۲- مسیرهای مولکولی آپوپتوزیس:

آپوپتوزیس از طریق مسیرهای مختلفی برانگیخته می‌شود. بسته به این که پیام مرگ از چه طریقی به سلول ابلاغ شود، مسیر فعال‌سازی آپوپتوزیس متفاوت است. اگر پیام‌ها داخلی باشند اولین اندامک فعال شده میتوکندری خواهد بود و مسیر داخلی در آپوپتوزیس نقش خواهد داشت[14]. امکان دارد در اثر اتصال لیگاندهایی به گیرنده‌های سطح[15] سلول موسوم به گیرنده‌های مرگ [16] آپوپتوزیس فعال شود که در این زمان مسیر خارج سلولی نقش دارد[17]. اگر پیام از طریق گیرنده‌های سطحی سلولی بیان شود، انتقال پیام از طریق مولکول‌های سازگار کننده (Adaptor) به آبشار کاسپازی خواهند رسید. برخی دیگر از این مسیرها در اثر فقدان برخی فاکتورهای رشد فعال می‌شوند. آسیب‌های شدید به ماده ژنتیکی سلول نیز می‌تواند مسیرهای مختلفی که منجر به آپوپتوزیس می‌شوند را فعال نماید. میزان مرگ سلولی القا شده توسط رسپتورها شدیدتر از مسیر میتوکندریایی است (۹،۳۳،۴۲،۴۳) . با وجود آن‌که این دو مسیر به طور هم‌زمان برای مرگ سلول فعال نمی‌شوند ولی در نهایت تولیدهای هر دوی این مسیرها یک چیز و آن فعال سازی مجموعه‌ای از آنزیم‌ها با نام کاسپاز Caspase می‌باشد (۹،۳۳).



شکل ۳- ساختار پروتئینی کاسپاز که در آن تفاوت انواع بر مبنی مکان هضم پروتئولیتیک آنزیم های هضم کننده پروتئین مشخص شده است.

۲-۲-۱- مسیرهای فعال کننده آپوپتوزیس وابسته به گیرنده

در غشاء پلاسمایی اغلب سلول‌ها گیرنده‌های مرگ وجود دارد. گیرنده‌های مرگ اعضاء ابرخانوادهٔ گیرندهٔ فاکتور نکروز دهنده تومور (TNF) می‌باشند. مهم‌ترین گیرنده‌های مرگ خانواده

13 - BCL2 associated X protein
14 - intrinsic Pathway
15 - Receptor Dependent
16 - Death Receptor
17 - Extrinsic Pathway

رسپتوری TNF شامل: TNFR[18]، (CD95(Fas، TRAMP، TRAIL-1، و 2 -TRAIL زمانی که این گیرنده‌ها توسط لیگاندهای مربوطه تحریک شوند سبب فعال شدن کاسپازها و القاء آپوپتوسیس می‌گردند. ویژگی این ابر خانواده وجود توالی غنی از سیستئین (وجود ۵ کپی از سیستئین) در بخش خارج سلولی است. این گیرنده‌ها در بخش سیتوپلاسمی خود دارای توالی به نام دامنه مرگ (DD) [19] بوده و از این رو در انتقال پیام آپوپتوزی به درون سلول شرکت می‌نمایند. وقتی این گیرنده‌ها به لیگاند خود لیمفوتوکسین α، TNF، FasL و ... متصل می‌شوند مرگ سلولی اتفاق می‌افتد. تحریک گیرنده-های مرگ توسط لیگاندهای مربوط منجر به تریمرشدن گیرنده و به کارگیری پروتئین‌های آداپتور می‌گردد. برای مثال لیگاند FasL با گیرنده مخصوص خود به نام Fas میان‌کنش نموده و باعث القاء تریمر شدن آن می‌شود (شکل ۴). این عمل باعث تشکیل خوشهٔ مرگ در ناحیه سیتوزولی گیرنده گردیده و باعث می‌شود که پروتئین‌های آداپتور از قبیل [20] FADD به آن متصل شوند. FADD دارای دامنه مرگ DD در پایانه کربوکسیلی مولکول پروتئین است که این پروتئین را قادر می‌سازد تا به گیرنده تریمریزه شده از طریق میان‌کنش ناحیهٔ مرگ- ناحیهٔ مرگ متصل گردد. هم‌چنین این پروتئین در ناحیهٔ پایانه آمینی پروتئین دارای ناحیهٔ مؤثر مرگ DED[21] می‌باشد که با ناحیهٔ DED مشابه در دامنه پروکاسپاز ۸ میان‌کنش می‌کند. به این مجموعه پروتئین‌ها (مجموعه لیگاند- گیرنده مرگ - مولکول آداپتور- پروکاسپاز) کمپلکس علامت دهندهٔ القاء مرگ (DISC[22]) گفته می‌شود. به این طریق پروکاسپاز ۸ به کاسپاز ۸ یا شکل فعال تبدیل و باعث راه اندازی آبشار کاسپازی می‌شود. در مرحله بعد کاسپاز اجرایی ۳ فعال و به نوبه خود باعث فعال‌سازی سایرکاسپازهای اجرایی و پیشرفت چرخه آپوپتوسیس می شود (شکل ۴) (۱۶،۲۷،۴۴).

مشخص شده است که مولکول متفاوتی به نام (FLICE inhibitory protein) c-FLIP مسیر مرگ سلولی را از طریق Fas مهار می‌کند c-FLIP شبیه پروکاسپاز شماره ۸ است اما مکان فعال پروتئازی را ندارد. بنابراین اگرچه کمپلکس پیام رسانی Fas را به خدمت می‌گیرد اما پیام مرگ را منتقل نمی‌کند (۱۶،۳۳،۴۵،۴۶).

18 - tumor necrosis factor receptor
19 - Death Domain
20 - Fas-Associated protein with Death Domain
21 - Death effective domain
22 - death-inducing signaling complex

۲-۲-۲- مسیرهای فعال کننده آپوپتوزیس وابسته میتوکندری

میتوکندری هم در حیات و هم در مرگ سلولی دخالت دارد. این اندامک انرژی رایج سلول را به شکل ATP می سازد. تعادل داخل سلولی را در ارتباط با یون‌ها و استرس‌های اکسیداتیو حفظ می‌نماید. در پاسخ به پیام‌های مرگ سلولی نفوذپذیری غشاء خارجی میتوکندری سبب آزاد شدن مولکول‌های پروآپوپتوتیک از قبیل فاکتور القاء کنندهٔ آپوپتوسیس AIF[23]، سیتوکروم C و اندونوکلئاز G از فضای بین دو غشاء میتوکندری به داخل سیتوپلاسم می‌شوند. فاکتور القاء کنندهٔ آپوپتوسیس AIF یک فلاوپروتئین است که در حالت طبیعی نقش آنتی اکسیدانی در میتوکندری به عهده دارد. مشخص شده است که AIF آزاد شده از میتوکندری در طی روند آپوپتوزیس سبب آسیب به DNA هسته‌ای در مسیر مستقل از کاسپاز می‌شود. به نظر می‌رسد که آزادشدن سیتوکروم C یک واقعه معمول در آپوپتوزیس است و مکانیسمی که آزاد شدن آن را کنترل می‌کند در دست بررسی است. مکانیسم‌های احتمالی عبارتند از:

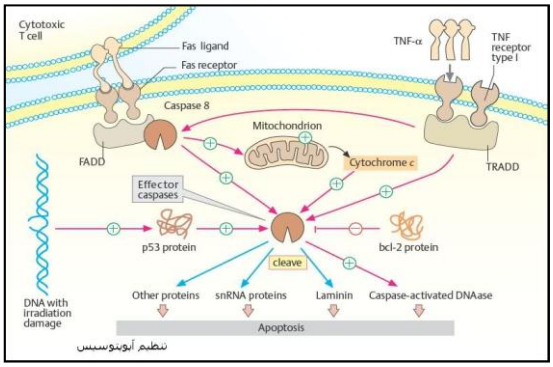
باز شدن منفذ انتقال نفوذپذیری یا Permeability transition pore میتوکندریایی ، وجود کانال اختصاصی برای سیتوکروم C در غشاء خارجی میتوکندری و یا تورم و پاره شدن غشاء خارجی میتوکندری بدون از دست دادن پتانسیل غشایی در مسیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی کاسپاز آغازگر کاسپاز ۹ می‌باشد که باعث فعال شدن کاسپازهای اجرایی می‌شود (۲۴،۳۵،۴۷).

در نتیجه کاسپازهای اجرایی روی سوبستراهای خود عمل می‌نمایند و فرایند آپوپتوز صورت می‌گیرد. در اغلب رده‌های سلولی آپوپتوز وابسته به کاسپاز ۳ می‌باشد. اما در برخی از رده‌های سلولی آپوپتوسیس غیر وابسته به کاسپاز۳ به دنبال تیمار با ترکیب‌های مختلف صورت می‌گیرد. در نهایت بعد از تمامی تغییرهای ذکر شده سلول به اجسام وزیکول مانندی تقسیم می‌شود که هر کدام از آن‌ها دارای مقداری از محتوی سلولی هستند. سلول‌های مجاور یا فاگوسیت‌های حرفه‌ای اجسام اجسام آپوپتوتیک را به دام می‌اندازند و هضم می‌کنند بدون این که واکنش‌های التهابی سلولی را فعال سازند. بدین ترتیب سرنوشت یک سلول آپوپتوزی به پایان می‌رسد و این چرخه ادامه می‌یابد (۴۸).

23 - Apoptosis inducing factor

بحث

در گیاهان PCD برای انجام فرایندهای فیزیولوژیکی مانند شکل‌گیری بافت‌های پارانشیمی، جنین زائی، پیری برگ، تشکیل



شکل ۴- نمای کارتونی از مسیرهای فعال کننده آپوپتوزیس وابسته به گیرنده که در آن چگونگی ارسال پیام برای آپوپتوزیس توسط گیرنده های TNF و Fas مشخص شده است.

آوندهای چوبی، تعادل سلول، پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی محیط، فرآیندهای مختلف رشد و نمو و توسعه بذرها صورت می‌پذیرد. با وجود آن‌که برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی و مرفولوژیکی PCD مانند حبابی شدن غشاء شبکه اندوپلاسمیک، شکننده شدن سلول، غلیظ شدن هتروکروماتین‌ها و شکست دی.ان.ای به صورت مشترک در گیاهان و جانوران مشاهده می‌شود ولی در مقایسه با جانوران فرآیند PCD در گیاهان به درستی مطالعه نشده است و دارای جنبه‌های متفاوت، پیچیده نامعلوم فیزیولوژیکی و ژنتیکی است که محققین در حال حاضر مشغول مطالعه و مسیریابی دقیق آن‌ها هستند (۵۱). نداشتن سیستم‌های ایمنی گردشی داشتن دیواره سلولی و حضور فضای واکوئلیزه شده بزرگ در سلول گیاهی در مقایسه با سلول‌های جانوری باعث شده است تا مکانیسم‌های مرتبط با فرآیندهای مولکولی در گیاهان بسیار متفاوت از جانوران صورت پذیرد (۵۱). به عنوان مثال شکل-گیری اندام‌های آپوپتوزی هنوز در گیاهان مشاهده نشده است و یا تعداد متفاوتی از اندونوکلئازها در شکست دی.ان.ای به قطعه‌های ژنتیکی به اندازه ۵۰ کیلوجفت باز در گیاهان نقش دارند که در PCD در سلول‌های جانوری مشاهده نشده است (۵۱).

نتیجه‌گیری

اکنون با پیشرفت‌های گسترده‌ای که در زمینه تکنیک‌های تصویربرداری سلولی، همسانه‌سازی ژن‌ها و نیز ریز آرایه‌ها[24] صورت پذیرفته است محققین قادر هستند تا علاوه بر بررسی تغییرهای موقتی در وقوع و تنظیم فرآیندهای مرگ سلولی و آپوپتوزیس ژن‌هایی که در مسیر انتقال پیام‌های مرتبط با فرآیندهای مذکور دخیل می‌باشند را از زمان دریافت تا بروز پاسخ دفاعی در سلول‌های گیاهان مقاوم به تنش‌های زیستی شناسائی نمایند. با وجود تمام پیشرفت‌هایی که در زمینه شناخت مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و آپوپتوزیس صورت پذیرفته است هنوز تعداد سئوال‌های بی‌پاسخ زیادی باقی مانده است. از جمله آن‌که مراحل آپوپتوزیس در پاسخ‌های مربوط به سلول‌های مقاوم و حساس به تنش‌های محیط تا چه میزان با یکدیگر مشابه می‌باشند؟ برای چه برخی از سلول‌های گیاهان استعداد بالایی برای دریافت پیام‌های فعال کننده آپوپتوزیس دارند در حالی که سایر سلول‌های مجاور سلول-های مذکور فاقد این توان می‌باشند؟ آیا اهداف آپوپتوزیس در سلول‌های حساس و مقاوم به عوامل تنشی محیط یکسان هستند؟

با وجود آن‌که مشخص شده است که آپوپتوزیس به صورت معمول هر روز در فرآیندهای مربوط به رشد و نمو موجودها اتفاق می‌افتد و باعث ایجاد نظم و حذف سلول‌های ناقص و پیر می‌شود ولی هنوز به طور دقیق مکانیسم آن در فرآیندهای مربوط به سلول‌های سرطانی در جانوران و یا درگیر در دفاع گیاهان نسبت به بیمارگرها مشخص نیست. امروزه محققیق به دنبال درک دقیق تر از ماهیت‌های مولکولی و بیوشیمیایی فرآیندهای PCD و آپوپتوزیس در موجودها می‌باشند تا بتواند با ارائه یک راه کار دقیق و از طریق علوم ترکیبی مانند زیست فناوری نسبت به پیاده سازی مسیرهای ژنتیکی گیاهان مقاوم به بیمارگرها در گیاهان حساس جهت ایجاد مقاومت‌های پایدار اقدام نمایند. هم‌چنین در علم پزشکی محققیق به دنبال شناخت ترکیب‌های زیستی و شیمیایی جهت القاء یا مهار گیرنده‌های القاء کننده مرگ در سلول‌ها هستند. محققین قادر خواهند بود تا از این طریق رشد و نمو طبیعی سلول‌های فاقد کنترل طبیعی را جهت ایجاد نظم مناسب در دست گرفته و بتوانند در بافت‌های بیمار نسبت به درمان ناهنجاری‌های سلولی مانند تومورها اقدام نمایند. در این خصوص از طریق دانش نانوتکنولوژی محققیقن امیدوارند تا بتوانند نانو داروهای مؤثری را تولید نمایند.

[24] - Microarray

منابع:

1- Aki T, Funakoshi T, Uemura K. Regulated necrosis and its implications in toxicology.Toxicology, 2015; 333: p. 118–126.
2- Appelmans F, Wattiaux R, De Duve Bortner CD, SifreMI, Cidlowski JA. Cationic gradient reversal and cytoskeleton-independent volume regulatory pathways define an early stage of apoptosis. J. Biol. Chem, 2008; 283: p. 7219–7229.
3- Bariola PA, Howard CJ, Taylor CB, Verburg MT, Jaglan VD, Green PJ. The Arabidopsis ribonuclease gene RNS1 is tightly controlled in response to phosphate limitation. Plant. J, 1994; 6: p. 673–685.
4- Bayles KW. Bacterial programmed cell death: making sense of a paradox. Nat. Rev. Microbiol, 2014; 12: p. 63–69.
5- Bollhöner B, Prestele J, Tuominen H. Xylem cell death: emerging understanding of regulation and function. J. Exp. Bot, 2012; 63: p. 1081–1094.
6- Bollhöner B, Zhang B, Stael S, Denancé N, Overmyer K, Goffner D, Van Breusegem F, Tuominen H. Post mortem function of AtMC9 in xylem vessel elements. New. Phytol, 2013; 200: p. 498–510.
7- Brady SM, Orlando DA, Lee JY, Wang JY, Koch J, Dinneny JR, Mace D, Ohler U, Benfey PN. A high-resolution root spatiotemporal map reveals dominant expression patterns. Science 2007; 318: p. 801–806.
8- Candat A, Paszkiewicz G, NeveuM, Gautier R, Logan DC, Avelange-Macherel MH, Macherel D. The ubiquitous distribution of late embryogenesis abundant proteins across cell compartments in Arabidopsis offers tailored protection against abiotic stress. Plant. Cell, 2014; 26: p. 3148–3166.
9- Chen X, Wang Y, Li JY, Jiang A, Cheng Y, Zhang W. Mitochondrial proteome during salt stress-induced programmed cell death in rice. Plant. Physiol. Biochem, 2009; 47: p. 407–415.
10- Coll NS, Epple P, Dangl JL. Programmed cell death in the plant immune system. Cell. Death. Differ, 2011; 18: p. 1247–1256.
11- Datan E, Shirazian A, Benjamin S, Matassov D, Tinari A, Malorni W et al. mTOR/p70S6K signaling distinguishes routine, maintenance-level autophagy from autophagic cell death during influenza A infection. Virology 2014; 452-453: p. 175–190.
12- Deal RB, Henikoff S. The INTACT method for cell type-specific gene expression and chromatin profiling in Arabidopsis thaliana. Nat. Protoc, 2011; 6: p. 56-68.
13- Demšar J, Curk T, Erjavec A, Gorup C, Ho-cevar T, Milutinovi M, Mo-zina M, Polajnar M, Toplak M, Stari A, et al . Orange: Data mining toolbox in Python. J. Mach. Learn. Res, 2013; 14: p. 2349-2353.
14- Fuchs Y, Steller H. Programmed cell death in animal development and disease. Cell, 2011; 147: p. 742-758.
15- Galluzzi L, Pietrocola F, Levine B, Kroemer G. Metabolic control of autophagy. Cell, 2014; 159: p. 1263-1276.
16- Golstein P, Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. Trends. Bioch. Sci, 2006; 32: p. 37-43.
17- Green DR, Galluzzi L, Kroemer G. Cell biology. Metabolic control of cell death. Science, 2014; 345: p. 1250-12256.
18-Hara-Nishimura I, Hatsugai N. The role of vacuole in plant cell death. Cell. Death. Differ, 2011; 18: p. 1298-1304.
19- Hardwick JM. Seeking day jobs for all apoptosis-related factors inside one perspective. In: Heimlich G, Bortner CD, Cidlowski JA. Apoptosis and cell volume regulation: the importance of ions and ion channels. Adv. Exp. Med. Biol, 2004; 559: p. 189-203.
20- Jones AM. Programmed Cell Death in Development and Defense. Plant. Physiol, 1972; 125: p. 94-97.
21- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kin. British J. Canc, 2001; 26: p. 239-257.
22- Kroemer G. Autophagy: a druggable process that is deregulated in aging and human disease. J. Clin. Invest, 2015; 125: p. 1-4.
23- Lam E. Controlled cell death, plant survival and development. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol, 2004; 5: p. 305-315.
24- Ma W, Berkowitz GA. The grateful dead: calcium and cell death in plant innate immunity. Cell. Microbiol, 2007; 9: p. 2571-2585.
25- McLean JE, Datan E, Matassov D, Zakeri ZF. Lack of Bax prevents influenza A virus-induced apoptosis and causes diminished viral replication. J. Virol, 2009; 83: p. 8233-8246.

26- McLean JE, Wudzinska A, Datan E, Quaglino D, Zakeri Z. Flavivirus NS4A-induced autophagy protects cells against death and enhances virus replication. J. Biol. Chem. 2011; 286: p. 22147-22159.
27- Mur LAJ, Kenton P, Lloyd AJ, Ougham H, Prats E. The hypersensitive response: The centenary is upon us but how much do we know. J. Exp. Bot, 2008; 59: p. 501–520.
28- Nawkar GM, Maibam P, Park JH, Sahi VP, Lee SY, Kang CH. UV Induced cell death in plants. Int. J. Mol. Sci, 2013; 14: p. 1608-1628.
29- Ohashi-Ito K, Oda Y, Fukuda H. Arabidopsis vascular-related NAC- domain6 directly regulates the genes that govern programmed cell death and secondary wall formation during xylem differentiation. Plant Cell, 2010; 22: p. 3461-3473.
30- Olvera-Carrillo Y, Campos F, Reyes JL, Garciarrubio A, Covarrubias AA. Functional analysis of the group 4 late embryogenesis abundant proteins reveals their relevance in the adaptive response during water deficit in Arabidopsis. Plant. Physiol, 2010; 154: p. 373-390.
31- Paul Khurana SM, Pandey SK, Sarkar D, Chanemougasoundharam A. Apoptosis in plant disease response: A close encounter of the pathogen kind. Curr. Sci, 2005; 88: p. 740-752.
32- Petrov V, Hille J, Mueller-Roeber B, Gechev TS. ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants. Front. Plant. Sci, 2015; 6: p. 69.
33- Qi Y, Wang H, Zou Y, Liu C, Liu Y, Wang Y, Zhang W. Over expression of mitochondrial heat shock protein 70 suppresses programmed cell death in rice. FEBS Lett, 2011; 585: p. 231-239.
34- Reape TJ, Molony EM, McCabe PF. Programmed cell death in plants: distinguishing between different modes. J. Exp. Bot, 2005; 59: p. 435-444.
35- Repnik U, Hafner-Cesen M, Turk B. Lysosomal membrane permeabilization in cell death: concepts and challenges. Mitochondrion, 2014; 19: p. 49-57.
36- Ritchie ME, Phipson B, Wu D, Hu Y, Law CW, Shi W, Smyth GK. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. Nuc. Acid. Res, 2015; 43: p. 47.
37- Rogers HJ. Cell death and organ development in plants. Curr. Top. Dev. Biol, 2005; 71: p. 225-261.
38- Rose TL, Bonneau L, Der C, Marty-Mazars D, Marty F. Starvation-induced expression of autophagy-related genes in Arabidopsis. Biol. Cell, 2006; 98: p. 53-67.
39- Rubinstein AD, Kimchi A. Life in the balance, a mechanistic view of the crosstalk between autophagy and apoptosis. J. Cell. Sci, 2012; 125: p. 5259-5268.
40- Thomas H. Senescence, ageing and death of the whole plant. New. Phytol, 2013; 197: p. 696–711.
41- Tsiatsiani L, Timmerman E, De Bock PJ, Vercammen D, Stael S, van de Cotte B, Staes A, Goethals M, Beunens T, Van Damme P, et al. The Arabidopsis metacaspases 9 degradome. Plant. Cell, 2013; 25: p. 2831-2847.
42- Van Doorn WG. Classes of programmed cell death in plants, compared to those in animals. J. Exp. Bot. 2011; 62: p. 4749-4761.

43- Van Doorn WG, Beers EP, Dangl JL, Franklin-Tong VE, Gallois P, Hara- Nishimura I, Jones AM, Kawai-Yamada M, Lam E, Mundy J, et al. Morphological classification of plant cell deaths. Cell. Death Differ, 2011; 18: p. 1241-1246.
44- Van Hautegem T, Waters AJ, Goodrich J, Nowack MK. Only in dying, life: programmed cell death during plant development. Trends. Plant. Sci, 2015; 20: p. 102-113.
45- Vanden Berghe T, Linkermann A, Jouan-Lanhouet S, Walczak H, Vandenabeele P. Regulated necrosis: the expanding network of non-apoptotic cell death pathways. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol, 2014; 15: p. 135-147.
46- Wang J, Bayles KW. Programmed cell death in plants: lessons from bacteria. Trends. Plant. Sci. 2013; 18: p. 133-139.
47- Wang W, Barnaby JY, Tada Y, Li H, Tor M, Caldelari D, et al. Timing of plant immune responses by a central circadian regulator. Nature, 2011; 470: p. 110-114.
48- Zhang D, Liu D, Lv X, Wang Y, Xun Z, Liu Z, Li F, Lu H. The cysteine protease CEP1, a key executor involved in tapetal programmed cell death, regulates pollen development in Arabidopsis. Plant Cell, 2014; 26: p. 2939-2961.
49- Levin-Salomon V, Bialik S, Kimchi A. DAP-kinase and autophagy. Apoptosis, 2014; 19: p. 346-356.
50- Ambastha V, Tripathy BC, Tiwari BS. Programmed cell death in plants: A chloroplastic connection. Plant. Sign. Behav. 2015; 10: p. 2-7.
51- Jan N, Hussain MU, Andrabi, KI. Programmed cell death or apoptosis: Do animals and plants share anything in common. Biotech. Mol. Biol. Rev. 2008; 3: p. 111-126.

52- Reape TJ, McCabe PF. Apoptotic-like regulation of programmed cell death in plants. Apoptosis: Int J Prog. Cell Death. 2010; 15: p. 249-256.
53- Watanabe N, Lam E. Recent advance in the study of caspase-like proteases and Bax inhibitor-1 in plants: their possible roles as regulator of programmed cell death. Mol. Plant. Pathol. 2004; 5: p. 65-70.
54- Kuroyanagi M, Yamada K, Hatsugai N, Kondo M, Nishimura M, Hara-Nishimura I. Vacuolar processing enzyme is essential for mycotoxin-induced cell death in Arabidopsis thaliana. J. Biol. Chem. 2005; 280: p. 32914-20
55- Rojo E, Martin R, Carter C, Zouhar J, Pan S, Plotnikova J, Jin H, Paneque M, S_anchez-Serrano JJ, Baker B, et al. VPEgamma exhibits a caspase-like activity that contributes to defense against pathogens. Curr. Biol. 2004; 14: p. 1897-906.
56- Wang H, Zhu X, Li H, Cui J, Liu C, Chen X, Zhang W. Induction of caspase-3-like activity in rice following release of cytochrome-f from the chloroplast and subsequent interaction with the ubiquitin-proteasome system. Sci. Rep. 2014; 4: p. 5989.
57- Vartapetian AB, Tuzhikov AI, Chichkova NV, Taliansky M, Wolpert TJ. A plant alternative to animal caspases: subtilisin-like proteases. Cell Death. Differ. 2011; 18: p. 1289-97.
58- Kim C, Meskauskiene R, Zhang S, Lee KP, Lakshmanan Ashok M, Blajecka K, Herrfurth C, Feussner I, Apel K. Chloroplasts of Arabidopsis are the source and a primary target of a plant-specific programmed cell death signaling pathway. Plant Cell 2012; 24: p. 3026-39.
59- Van Doorn WG, Woltering EJ: Many ways to exit? Cell death categories in plants. Trends. Plant. Sci. 2005; 10: p. 117–122.
60- Fukuda H. Programmed cell death of tracheary elements as a paradigm in plants. Plant Mol Biol 2000, 44 (3): 245–253. 24- Edinger AL, Thompson CB: Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. Curr. Opin. Cell Biol. 2004, 16: p. 663–669.
61- Denton D, Nicolson S, Kumar S. Cell death by autophagy: facts and apparent artefacts. Cell Death. Differ. 2012; 19: p. 87–95.
62- Van Doorn WG, Yoshimoto K. Role of chloroplasts and other plastids in ageing of plants and animals: a tale of Vishnu and Shiva. Ageing. Res. Rev. 2010; 9: p. 130–177.

63- Obara K, Fukuda H: Programmed cell death in xylem differentiation. In Programmed cell death in plants. Edited by Gray J. Oxford: Blackwell. 2004; p. 131–154.
64- Jan N, Hussain M, Andrabi KI. Programmed cell death or apoptosis: Do animals and plants share anything in common. Biotech. Mol. Biol. Rev. 2008; 3 (5): p. 111-126.