SID

فیلم های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه‌های آموزشی مرکز اطلاعات علمی

آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله

اصول تنظیم قراردادها

مقاله نویسی علوم انسانی

Archive of SID

ساخت یک موتان حساس به حرارت در مخمر *S. pombe* به منظور استفاده از آن در یک غربالگری ژنتیکی

فرنوش خسروبخش*[۱]، آرزو محمدیان فارسانی[۲]
۱- دانشگاه کردستان، دانشکده علوم، گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی
۲- دانشگاه کردستان، دانشکده علوم، گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی
Arezomohamadian@yahoo.com

چکیده - ساختار میتوکندریهای سلولی به دو مکانیسم متقابل شکافتن و بهم ملحق شدن غشاءهای میتوکندریایی وابسته است. فیوژن غشاءها به عملکرد پروتئینهای متعلق به خانواده دینامین یعنی OPA1 در پستانداران و Msp1p در مخمر وابسته است. جهش‌های مربوط به ژن *OPA1* در انسان عامل ایجاد بیماری آتروفی اپتیک اتوزومال غالب است که با از دست دادن تدریجی سلولهای گانگلیونی شبکیه ظاهر و در نهایت منجر به نابینایی می‌شود.

درک عملکرد پروتئین Msp1p نیازمند شناسایی پروتئین‌های همکار است. در این مطالعه برای انجام یک غربالگری ژنتیکی به منظور جستجوی ژن‌های رمزگذار این پروتئین‌ها یک موتان حساس به حرارت در مخمر *S. pombe* با موتاسیون نقطه‌ای در توالی ژن $msp1^+$ ساخته شد. جهش P300S با کمک نوترکیبی هومولوگ در جایگاه ژن $msp1^+$ وارد شد. مشاهده‌ی ساختار میتوکندری‌های این سلولها با کمک میکروسکوپ فلوروسنس نشان داد که این موتاسیون عملکرد پروتئین در مکانیسم فیوژن غشاء میتوکندری را تحت تاثیر قرار داده است. عدم توانایی موتان Msp1P300S در شرایط محیط کشت غیر تخمیری حاوی قند گالاکتوز می‌تواند برای انجام غربالگری ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه- غربالگری ژنتیکی، مخمر، میتوکندری، Msp1p

مقدمه

میتوکندری یک اندامک با عملکردهای حیاتی در داخل سلول است و قسمت عمده‌ی انرژی موردنیاز سلول را تولید می‌کند. این اندامک از نظر ریخت‌شناسی ظاهری متغیر دارد که با توجه به نوع سلول می‌تواند بصورت رشته‌های طویل به هم پیوسته دیده شود و یا بصورت ساختارهای کروی کاملاً مجزا نمایان شود. کنترل این ظاهر متغیر به عهده‌ی دو مکانیسم خارجی و داخلی است. مکانیسم خارجی شامل برهم کنش و تعامل سیتواسکلت سلولی با میتوکندری می‌باشد. مکانیسم داخلی یا Mitochondrial Dynamics نتیجه تعادل بین دو فرایند به هم ملحق شدن یا فیوژن (Fusion) و شکافته شدن (Fission) غشاهای خارجی و داخلی میتوکندری می‌باشد. پروتئین‌های متعددی شناسایی شده‌اند که در این دو فرایند دخیل می‌باشند و تعداد زیادی از آنها متعلق به خانواده بزرگ پروتئین‌های GTPase می‌باشند. این پروتئین‌ها در تمام موجودات از تک سلولی‌های ساده‌ای مانند مخمر گرفته تا پستاندارانی

www.SID.ir

Archive of SID

مانند انسان بصورت حفاظت شده حضور دارند که این نشانه‌ی اهمیت حضور آنها در سلول است. در پستانداران پروتئین‌هایی مانند FIS1 و DRP1 در Fission غشاء خارجی میتوکندری نقش دارند و MFN1/MFN2 و OPA1 به ترتیب در Fusion غشاء خارجی و غشاء داخلی این ارگانل دخیل هستند [۸, ۹].

اهمیت مکانیسم "میتوکندریال دینامیک" و نقش آن در عملکرد میتوکندری و متعاقبا در عملکرد سلول‌ها زمانی بیشتر مشخص شد که محققین دریافتند که تعدادی از بیماری‌های نورودژنرتیو در انسان با حضور جهش در بعضی از ژن‌های رمزگذار پروتئین‌های درگیر در این مکانیسم مانند MFN1/MFN2 و OPA1 مرتبط است [۸, ۹].

مخمر *Schizosaccharomyces pombe* مدل یوکاریوتی شناخته شده‌ای است که برای انجام مطالعات سلولی و بویژه تحقیقات بر روی عملکرد و ساختار میتوکندری‌ها در داخل سلول و پاتولوژی‌های مرتبط با این ارگانل کاربرد دارد [۴]. این قارچ تک سلولی ظاهری میله‌ای شکل دارد و تقسیم سلولی آن شبیه سلولهای پستانداران است. رشد این ارگانیسم که بیشتر به صورت هوازی زندگی می‌کند به مقدار زیادی به فرایند تخمیر وابسته است. مخمر *S. pombe* نسبت به مخمر نانوایی[۱] از نظر مکانیسم‌های بیوژنز و عملکرد میتوکندریایی شباهت‌های بیشتری به سلولهای پستانداران دارند. بعنوان مثال میتوکندری‌های آن مانند میتوکندری‌های پستانداران به وسیله شبکه سیتواسکلت میکروتوبول در داخل سلول توزیع می‌شوند در حالیکه میتوکندری‌های مخمر نانوایی بوسیله سیتواسکلت اکتین جابجا می‌شوند. اندازه ژنوم میتوکندریایی[۲] در *S. pombe* و انسان بسیار کمتر از ژنوم میتوکندریایی در *S. Cerevisiae* می‌باشد. شباهت دیگری که بین این مخمر و سایر یوکاریوتهای پیچیده‌تر وجود دارد عدم تحمل فقدان ژنوم میتوکندریایی است. در واقع *S. pombe* بر خلاف *S. cerevisae* در صورت از دست دادن mtDNA توانایی ادامه حیات خود را از دست می‌دهد [۳].

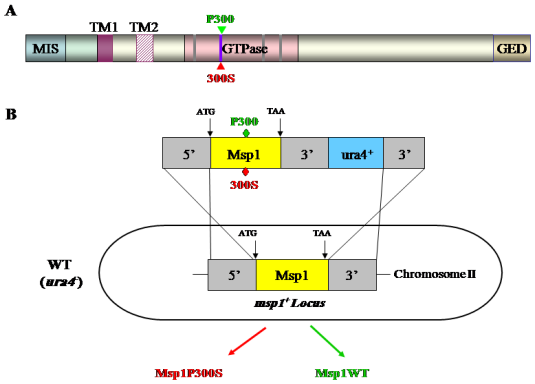
پروتئین دینامین Msp1p در سال ۱۹۹۸ در مخمر *S. pombe* شناسایی شد [۱۱]. این پروتئین، هومولوگ پروتئین OPA1 [۳] در انسان می‌باشد [۱۱]. پروتئین Msp1p جزء پروتئین‌های میتوکندریایی است که بوسیله ژنوم هسته‌ای رمزگذاری می‌شود و بعد از سنتز در سیتوپلاسم وارد میتوکندی می‌شود و مانند پروتئین هومولوگش، OPA1، در غشاء داخلی میتوکندری به سمت فضای بین غشایی جای می‌گیرد [۷]. ژن *msp1*$^{+}$ برای حیات سلول ضروری است و حذف آن باعث از دست دادن ژنوم میتوکندریایی و مرگ مخمر در داخل محیط کشت تخمیری می‌شود [۱۰]. مطالعات انجام شده نقش Msp1p را در فرایند فیوژن میتوکندری‌ها نشان می‌دهد [۷, ۱۰]. پروتئین Msp1p دارای سه ناحیه حفاظت شده است : نواحی GTPase، GED[۴]، TM1[۵] و TM2 (شکل ۱A). حضور هر سه ناحیه در عملکرد پروتئین در داخل میتوکندری ضروری است. در واقع ایجاد موتاسیون در این نواحی باعث قطعه قطعه شدن[۶] ساختار میتوکندری‌ها، از دست دادن ژنوم میتوکندری و در نهایت مرگ سلولها می‌شود [۶].

[1] Saccharomyces cerevisiae
[2] mtDNA

[3] Optic atrophy 1
[4] GTPase Effector Domain
[5] Transmembrane domain
[6] Fragmentation

www.SID.ir

Archive of SID

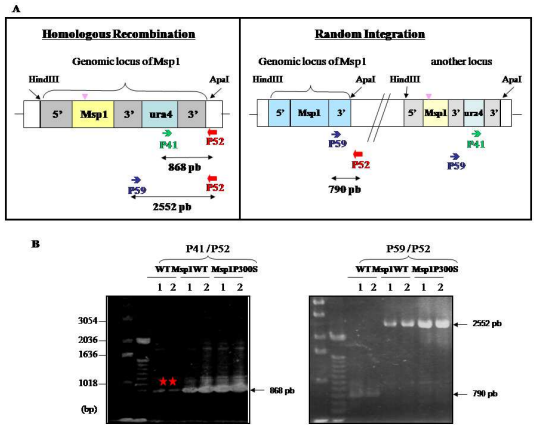


شکل ۱: (A) تصویر ساختار پروتئین Msp1p همراه با دومین‌های مختلف آن. جایگاه جهش Msp1P300S در داخل دومین GTPase با باند بنفش رنگ نشان داده شده است. (B) استراتژی ایجاد جهش Msp1P300S در داخل ژنوم مخمر.

متن اصلی

در این تحقیق به منظور جستجوی ژن‌های همکار ژن *msp1*$^{+}$ به کمک روش غربالگری ژنتیکی یک موتان حساس به حرارت تولید شد. این موتان دارای جهش نقطه‌ای در داخل ناحیه‌ی حفاظت شده‌ی GTPase است و از روی جهش شناخته شده‌ای در همین ناحیه بر روی سکانس ژن پروتئین دینامین DYN-1 در نماتود *C. elegans* انتخاب شد [۵]. موتاسیون P300S با جابجا شدن اسیدآمینه پرولین با اسیدآمینه سرین در موقعیت ۳۰۰ در داخل ناحیه‌ی GTPase ایجاد شده است. سکانس *msp1P300S* با روش PCR معکوس ساخته شد و سپس به منظور ایجاد مخمرهای جهش یافته این سکانس از طریق تکنیک نوترکیبی هومولوگ جایگزین ژن هسته‌ای شد. برای انجام این کار قطعه‌ی DNA بریده شده با دو آنزیم محدودگر HindIII و ApaI که حاوی قالب خواندن باز ژن وحشی (Msp1WT) و یا حاوی قالب خواندن باز ژن جهش یافته (Msp1P300S) به همراه نواحی غیر ترجمه‌ای '5 و '3 می‌باشد، در یک سویه‌ی مخمر فاقد توان تولید باز نوکلئوتیدی اوراسیل، ترانسفورم شده است. لازم به ذکر است که این قطعه‌ی DNA حامل ژن *ura4*$^{+}$ در ناحیه‌ی '3 می‌باشد (شکل B ۱). سپس کلون‌های نوترکیبی که کاست DNA در آنها وارد شده است با استفاده از کشت آنها در داخل محیط کشت فاقد اوراسیل جدا شدند.

برای تعیین اینکه آیا قطعه مورد نظر در داخل لوکوس ژن *msp1*$^{+}$ با کمک نوترکیبی هومولوگ وارد شده است و یا به صورت تصادفی در جای دیگری در داخل ژنوم جای گرفته است، کلون‌های به‌دست آمده با انجام PCR بر روی استخراج DNA مورد بررسی قرار گرفتند. در این PCR سه پرایمر P41، P52 و P59 مورد استفاده قرار گرفت. محل اتصال این پرایمرها با DNA و نتایج این PCR در شکل ۲ نشان داده شده است. مطابق با این شکل تشکیل باند با اندازه ۸۶۸ جفت باز نشان دهنده‌ی نوترکیبی هومولوگ در کلوهای مورد آزمایش است و عدم حضور باندهایی با اندازه‌ی ۷۹۰ جفت باز نشان دهنده‌ی عدم ورود کاست DNA وارد شده به صورت نوترکیبی هترولوگ می‌باشد.

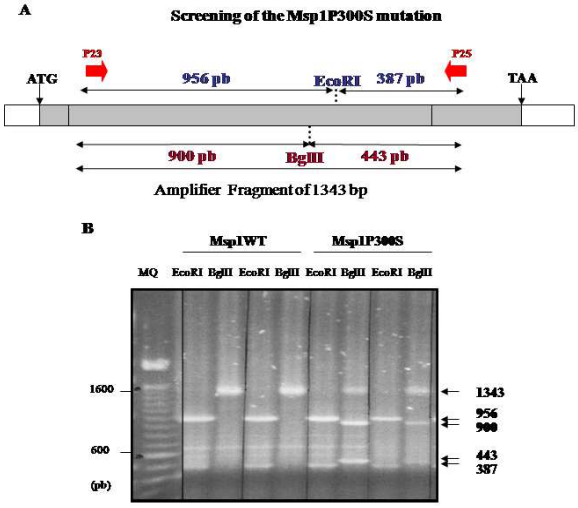


شکل ۲: جداسازی کلون‌های نوترکیب با روش PCR. (A) شمای طراحی شده برای نشان دادن مکانیسم‌های نوترکیبی هومولوگ و ادغام تصادفی کاست نوترکیب Msp1P300S در داخل ژنوم مخمر را نشان می‌دهد. پرایمرهای مورد استفاده در PCR برای تفکیک دو مکانیسم است و محصولات به‌دست آمده در هر دو مکانیسم در شمای شکل A نشان داده شده است. (B) نتایج PCR برای دو کلون والدینی، دو کلون نوترکیب شده با کاست حامل ژن وحشی (Msp1WT) و دو کلون نوترکیب شده با کاست حامل ژن جهش یافته (Msp1P300S) نشان داده شده است. محصولات PCR به‌دست آمده با جفت پرایمرهای P41/P52 و P59/P52 با کمک ژل آگاروز و روش الکتروفورز و سپس رنگ آمیزی با برومور اتیدیوم مورد بررسی قرار گرفته شد. ★ = نشان دهنده‌ی محصول غیراختصاصی است.

www.SID.ir

Archive of SID

برای بررسی صحت ورود ژن $ura4^+$ در ناحیه‌ی 3'، مکانیسم نوترکیبی هومولوگ بوسیله‌ی تهیه‌ی نقشه‌ی فیزیکی کاست وارد شده در داخل ژنوم کلون‌های بدست آمده مورد بررسی قرار گرفت. با انجام PCR بر روی کلون‌های به‌دست آمده با استفاده از یک جفت پرایمر P23/P25، قطعه‌ی حامل موتاسیون P300S تقویت شده به اندازه‌ی ۱۳۴۳ جفت باز است. اگر این کاست به درستی وارد ساختار ژنوم شده باشد، ایجاد محل برش برای آنزیم‌های محدودگر BglII و EcoRI در داخل قالب خواندن باز ژن $msp1^+$ می‌کند. بنابرین محصول PCR با این دو آنزیم برش داده شد. نتیجه‌ی برش با آنزیم BglII دو قطعه با اندازه‌های ۹۰۰ و ۴۴۳ جفت باز است و برش با آنزیم EcoRI ایجاد دو قطعه با اندازه‌های ۹۵۶ و ۳۸۷ می‌کند که صحت حضور این قطعات با کمک ژل آگاروز و رنگ آمیزی با برومور اتیدیوم تایید شد (شکل ۳).



شکل ۳: جداسازی ادغام جهش P300S در داخل قالب خواندن باز ژن $msp1^+$. (A) شمای طراحی شده برای تکنیک PCR با یک جفت پرایمر P23/P25 و محل برش برای آنزیم‌های محدودگر BglII و EcoRI را در داخل قالب خواندن باز ژن $msp1^+$ نشان می‌دهد. (B) نتایج برش قطعه‌ی تقویت شده برای دو کلون نوترکیب Msp1WT و دو کلون نوترکیب Msp1P300S با دو آنزیم مذکور. محصولات PCR به‌دست آمده با جفت پرایمر P23/P25 با کمک ژل آگاروز و روش الکتروفورز و سپس رنگ آمیزی با برومور اتیدیوم مورد بررسی قرار گرفته شد.

در ضمن جابجا شدن ژن $msp1^+$ با کاست نوترکیب بوسیله تکنیک Southern blot نیز تایید شد (نتایج نشان داده نشده است).

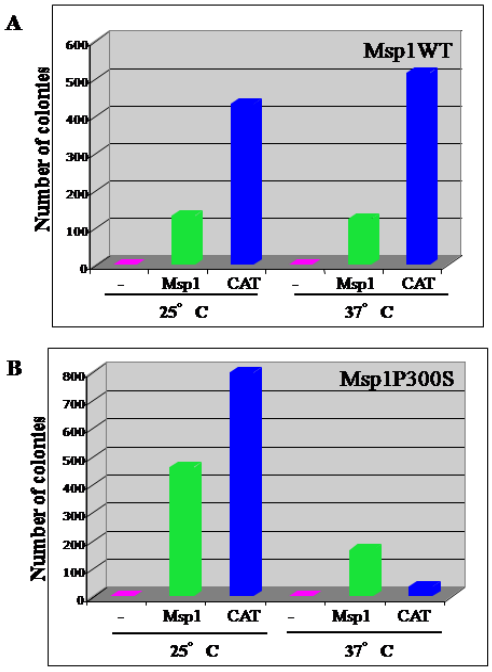
در ادامه ویژگی‌های این موتان مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی نشان داد که موتان P300S در دمای بالا (۳۷°C) تحت تاثیر قرار گرفته است. در واقع ساختار میتوکندری‌های آن که بوسیله‌ی میکروسکوپ فلورسنس مورد بررسی قرار گرفت، بر خلاف ساختارهای رشته‌ای در دمای طبیعی ۲۵ درجه، این اندامک‌ها در دمای بالا به‌صورت قطعه‌قطعه شده مشاهده می‌شوند. همچنین رشد این مخمرها در دمای ۳۷ درجه در محیط‌های کشت متفاوت تغییر کرده است. یکی از نتایج جالبی که در این تحقیق به‌دست آمد عدم رشد مخمرهای موتان در محیط کشت حاوی قند گالاکتوز است.

جستجوی ژن‌های همکار ژن $msp1^+$ در داخل بانک ژنومی مخمر نیازمند غربالگری ژنتیکی است. برای این منظور باید استراتژی خاصی را طراحی کرد که این مخمرها قادر به ادامه حیات در این شرایط نباشند. در چنین شرایطی عدم رشد مخمرهای موتان که ناشی از غیرفعال شدن ژن $msp1^+$ می‌باشد می‌تواند بوسیله‌ی انتقال بانک ژنومی سالم مخمر به این سلول‌ها جبران شود. همان‌طور که اشاره شد تنها در حضور محیط کشت حاوی قند گالاکتوز موتان‌های P300S می‌میرند که می‌تواند بهترین شرایط برای انجام غربالگری ژنتیکی باشد. برای تایید این شرایط قبل از انجام غربالگری، وکتور pREP41 حامل ژن $msp1^+$ سالم و یا حامل ژن کلرآمفینیکل استیل ترانسفراز باکتریایی (CAT) در مخمرهای موتان (Msp1P300S) و مخمرهای شاهد (Msp1WT) انتقال داده شد. مخمرهای ترانسفورم شده در محیط کشت مینیمم جامد حاوی قند گالاکتوز در دماهای ۲۵ و ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد کشت داده شدند و سپس تعداد کلونی‌های به‌دست آمده مورد بررسی قرار گرفت. تعداد کلونی‌های به‌دست آمده در مخمرهای موتان حامل وکتور CAT (کنترل منفی) بیشتر ازکلونی‌های حامل وکتور بیان کننده‌ی ژن $msp1^+$ در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتیگراد است (شکل۴B). این نتیجه می‌تواند مربوط به بیان بیش از حد دینامین Msp1p باشد که می‌تواند اثر منفی در رشد مخمرها داشته باشد

www.SID.ir

Archive of SID

[۱۰]. در مقابل در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد تعداد کلونی‌های حامل ژن CAT کمتر از مخمرهای موتان حامل ژن *msp1*$^{+}$ می‌باشد. این نتیجه می‌تواند اثر پروتئین سالم Msp1p را در جبران عملکرد از دست رفته‌ی ناشی از پروتئین معیوب را (در مقایسه با پروتئین کنترل CAT) نشان دهد. لازم به ذکر است که برخلاف سلول‌های جهش یافته، مخمرهای Msp1WT در هر دو دما به‌صورت مشابه رشد کرده‌اند و تعداد کلونی‌ها در مخمرهای حامل ژن CAT سه تا چهار برابر بیشتر از مخمرهای حامل ژن طبیعی *msp1*$^{+}$ است (شکل ۴A).



شکل ۴: تعداد کلون‌های ترانسفورم شده‌ی به‌دست آمده بر روی محیط کشت حاوی قند گالاکتوز. مخمرهای Msp1P300S (شکل B) و مخمرهای Msp1WT (شکل A) با وکتور pREP41 حامل ژن وحشی *msp1*$^{+}$ و یا حامل ژن باکتریایی CAT با روش الکتروپوریشن ترانسفورم شده‌اند و سپس سلول‌های ترانسفورم شده بر روی محیط جامد حاوی ۲ درصد قند گالاکتوز و در دمای ۲۵ و یا ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شده‌اند. نتایج نشان داده شده در این شکل میانگین سه آزمایش مستقل می‌باشند.

نتیجه‌گیری

این نتایج نشان می‌دهد که بیان ژن *msp1*$^{+}$ طبیعی می‌تواند اثر مرگ سلولی ناشی از موتاسیون P300S را در محیط کشت حاوی گالاکتوز در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد جبران کند.

مخمر Msp1P300S در محیط کشت حاوی اتانول/گلیسرول و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد کاهش رشد را نشان می‌دهد در حالیکه این سلولها در محیط کشت حاوی گالاکتوز می‌میرند. منابع مختلف نشان می‌دهند موتان‌های تنفسی مخمر *S. pombe* که مکانیسم فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری‌های آنها به‌درستی انجام نمی‌شود، در محیط‌های تنفسی (که رشد در این شرایط وابسته به تولید انرژی در میتوکندری‌های سلول می‌باشد) مانند محیط حاوی اتانول/گلیسرول و یا گالاکتوز می‌میرند. در این پروژه به دلیل نامشخص بودن ماهیت مرگ موتان حساس به حرارت Msp1P300S در حضور قند گالاکتوز انجام غربالگری ژنتیکی به تعویق انداخته شد. تصمیم گرفته شد که ابتدا بیان و عملکرد ژن‌هایی که در ورود گالاکتوز به داخل این مخمرها نقش دارند (ژن‌های شرکت کننده در مسیر Leloir) مورد بررسی قرار گیرند.

شناسایی ژن‌های همکار ژن *msp1*$^{+}$ در غربالگری ژنتیکی می‌تواند در درک بهتر مکانیسم "میتوکندریال دینامیک" و همچنین در درک اهمیت آن نقش داشته باشد. به این ترتیب این مطالعات در شناخت مکانیسم پاتولوژی‌های انسانی مرتبط با "میتوکندریال دینامیک" مانند بیماری نورورتینوپاتی ارثی: آتروفی اپتیک غالب اتوزومال (ADOA-1) و بیماری نورولوژیکی میوپاتی ارثی: Charcot-Marie-Tooth (CMT2A) به ما کمک می‌کند.

با توجه به نتایج به‌دست آمده سوالی که مطرح می‌شود این است که آیا در مخمر Msp1P300S که یک موتان ساختاری میتوکندریایی است عملکرد میتوکندری‌ها نیز تحت تاثیر قرار گرفته است؟ برای پاسخ به این سوال بایستی عملکرد زنجیره‌ی تنفسی این مخمرها از نظر میزان تولید رادیکالهای آزاد و همچنین میزان مصرف اکسیژن توسط این سلولها مورد بررسی قرار گیرد. اگر این عملکرد تحت تاثیر قرار گرفته باشد، می‌تواند نشان دهنده‌ی اهمیت و نقش مکانیسم "میتوکندریال دینامیک" در کار میتوکندری‌های سلولی باشد. این نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

می‌تواند تایید کننده‌ی مطالعاتی باشد که روی پروتئین OPA1 در سلولهای فیبروبلاست جنین موش انجام شده است. در این مطالعات غیر فعال کردن ژن رمزگذار پروتئین OPA1 بوسیله‌ی RNA مداخله‌گر باعث ایجاد نقص در تنفس این سلول‌ها و کاهش فعالیت کمپلکس-های تنفسی I، III و IV شده است [۱] و همچنین کاهش تعداد نوکلئوتیدها در میتوکندری‌های سلول‌های فیبروبلاست جنین موش که حامل الل‌های $OPA1^{-/-}$ هستند مشاهده شده است [۲].

سپاسگزاری

این کار به‌وسیله‌ی سازمان National Center for Scientific Research متعلق به وزارت علوم کشور فرانسه حمایت شده است. قسمت اصلی پروژه شامل ساخت موتان و غربالگری کلون‌های ساخته شده با روش PCR و Southern blot در آزمایشگاه "Metabolisme, Plasticite, Mitochondrie" دانشگاه پاول ساباتیه در تیم تحقیقاتی "Mitochondrial Dynamics" زیر نظر پروفسور Pascale Belenguer انجام شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

Abstract
Mitochondrial morphology depends on the equilibrium between antagonistic fission and fusion forces acting on mitochondrial membranes. Mitochondrial fusion depends on the evolutionary conserved dynamin, OPA1/Msp1p in mammals and yeast respectively. Furthermore It has been shown that mutations in the *OPA1* gene are associated with the most frequent form of autosomal dominant optic atrophy that features a progressive loss of retinal ganglion cells, often leading to blindness.
Understanding the function of the dynamin Msp1p requires identification of its partners. To perform a genetic screen for *msp1*$^{+}$ interactors, we generated a temperature-sensitive (ts) mutant of *msp1*$^{+}$ (Msp1P300S). The mutation was integrated at the *msp1*$^{+}$ locus by homologous recombination. Observation of mitochondrial network of these cells with fluorescence microscope indicate that this mutation induced mitochondrial fragmentation under restrictive temperature. We then characterized this mutant to search for conditions of lethality. The results of this study show that Msp1P300S mutant is incapable of growth on non-fermentable galactose-containing media. As a perspective, we plan to take advantage of this latter property to screen a cDNA library for the presence of multicopy suppressors of thermolethality.

Key word : genetic screen, mitochondria, Msp1p, yeast

www.SID.ir

Archive of SID

[۱] **Chen, H., A. Chomyn & D. C. Chan (2005)** Disruption of fusion results in mitochondrial heterogeneity and dysfunction. *J Biol Chem,* 280**,** 26185-92.

[۲] **Chen, H., J. M. McCaffery & D. C. Chan (2007)** Mitochondrial fusion protects against neurodegeneration in the cerebellum. *Cell,* 130**,** 548-62.

[۳] **Chen, X. J. & G. D. Clark-Walker (2000)** The petite mutation in yeasts: 50 years on. *Int Rev Cytol,* 194**,** 197-238.

[۴] **Chiron, S., M. Gaisne, E. Guillou, P. Belenguer, G. D. Clark-Walker & N. Bonnefoy (2007)** Studying mitochondria in an attractive model: Schizosaccharomyces pombe. *Methods Mol Biol,* 372**,** 91-105.

[۵] **Clark, S. G., D. L. Shurland, E. M. Meyerowitz, C. I. Bargmann & A. M. van der Bliek (1997)** A dynamin GTPase mutation causes a rapid and reversible temperature-inducible locomotion defect in C. elegans. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 94**,** 10438-43.

[۶] **Diot, A., E. Guillou, M. Daloyau, L. Arnaune-Pelloquin, L. J. Emorine & P. Belenguer (2009)** Transmembrane segments of the dynamin Msp1p uncouple its functions in the control of mitochondrial morphology and genome maintenance. *J Cell Sci,* 122**,** 2632-9.

[۷] **Guillou, E., C. Bousquet, M. Daloyau, L. J. Emorine & P. Belenguer (2005)** Msp1p is an intermembrane space dynamin-related protein that mediates mitochondrial fusion in a Dnm1p-dependent manner in S. pombe. *FEBS Lett,* 579**,** 1109-16.

[۸] **Landes, T., I. Leroy, A. Bertholet, A. Diot, F. Khosrobakhsh, M. Daloyau, N. Davezac, M. C. Miquel, D. Courilleau, E. Guillou, A. Olichon, G. Lenaers, L. Arnaune-Pelloquin, L. J. Emorine & P .Belenguer (2010)** OPA1 (dys)functions. *Semin Cell Dev Biol,* 21, 593-8.

[۹] **Liesa, M., M. Palacin & A. Zorzano (2009)** Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease. *Physiol Rev,* 89**,** 799-845.

[۱۰] **Pelloquin, L., P. Belenguer, Y. Menon & B. Ducommun (1998)** Identification of a fission yeast dynamin-related protein involved in mitochondrial DNA maintenance. *Biochem Biophys Res Commun,* 251**,** 720-6.

[۱۱] **Pelloquin, L., B. Ducommun & P. Belenguer (1999)** Interaction between the fission yeast nim1/cdr1 protein kinase and a dynamin-related protein. *FEBS Lett,* 443**,** 71-4.

www.SID.ir

SID

فیلم های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه‌های آموزشی مرکز اطلاعات علمی

آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله

اصول تنظیم قراردادها

مقاله نویسی علوم انسانی