زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال ششم، شماره نوزدهم، بهار ۱۳۹۳، صفحه ۹۷-۱۱۰
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۶/۰۹
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۲/۰۷/۳۰
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۲/۱۰/۲۸

ساخت ناقل بیانی pGCGi حاوی ژن GUS اینترون‌دار و تأیید آن با روش‌های ریزپرتابی و تزریق اگروباکتریوم

فرهاد شکوهی‌فر [۱]، مصطفی مطلبی [۲] و محمدرضا زمانی [۲]*
[۱] پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[۲] گروه زیست فناوری مولکولی گیاهی، پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

چکیده

بیان موقت یک روش سریع و آسان در آنالیز بیان پروموتر است. این روش تحت تأثیر موقعیت ورود تراژن در ژنوم واقع نمی‌شود، زیرا این نکته می‌تواند بیان تراژن را در روش انتقال دایمی تحت تأثیر قرار دهد. بیان موقت از راه‌های مختلف نظیر: اگروانفیلتراسیون، ریزپرتابی و وکتورهای ویروسی قابل انجام است. بیان موقت مبتنی بر اگروباکتریوم کارآیی بالا و قابل قبول در آنالیز بیان تراژن، خاموشی ژن، برهمکنش پاتوژن-میزبان، پروتئین-پروتئین‌ها، توالی‌های تنظیمی-عوامل نسخه‌برداری استفاده شده است. به منظور آنالیز عناصر تنظیمی یک وکتور حامل، یک ژن گزارشگر تحت کنترل یک پروموتر رایج مورد نیاز است تا برای استاندارد نمودن سطح بیان مورد استفاده قرار گیرد. پژوهش حاضر، با هدف ساخت یک وکتور شاهد بر اساس توالی دو وکتور والدی به نام‌های pGPTV و pCAMBIA3301 طراحی و انجام شده است. وکتور ساخته شده به نام pGCGi دارای یک ژن گزارشگر GUS اینترون‌دار است که تحت کنترل پروموتر CaMV 35S قرار گرفته است. سنجش فعالیت آنزیم بتاگلوکورونیداز در سلول‌های اگروباکتریوم عدم بیان پروکاریوتی ژن گزارشگر را تأیید نمود. آنالیز عملکرد وکتور pGCGi با استفاده از روش تزریق اگروباکتریوم و ریزپرتابی در برگ توتون و بافت اپیدرم پیاز انجام شد. نتایج سنجش هیستوشیمیایی GUS نشان داد که وکتور pGCGi قادر است ژن گزارشگر را در سلول های گیاهی بیان نماید و می‌توان از آن به عنوان شاهد در آزمایش‌های بیان موقت استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: وکتورهای جفتی، بیان ژن موقت، تزریق اگروباکتریوم، روش ریزپرتابی، سنجش فعالیت GUS

مقدمه

در اختیار بودن سازه مناسب جهت بهینه‌سازی شرایط انتقال ژن دایمی و موقت ضروری است. در تکنیک‌های بیان موقت (transient expression analysis) یک تراژن پس از انتقال به درون سلول های گیاه و انتقال به درون هسته برای مدت زمان کوتاهی درون سلول های

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: zamani@nigeb.ac.ir، شماره تماس: ۰۲۱۴۴۵۸۰۳۶۳