SID

فیلم های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

ابزارهای پژوهش

کارگاه‌های آموزشی مرکز اطلاعات علمی

آموزش نرم‌افزار Word برای پژوهشگران

روش تحقیق کمی

آموزش مهارت‌های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI

Archive of SID

همسانه سازی و تنوع ژنتیکی ژن $2A^{HP}$ ویروس برگ بادبزنی مو

مرضیه انتشاری[۱]، شاهین نوری نژاد زرقانی[۱]، حشمت اله امینیان[۱] و سید محسن نساج حسینی[۲]

۱.گروه حشره شناسی و بیماری‌های گیاهی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲.گروه توسعه فن آوری‌های نوین کشاورزی، جهاد دانشگاهی واحد استان گیلان، رشت، ایران.
sh_nourinejhad@ut.ac.ir

ویروس برگ بادبزنی مو (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV) متعلق به جنس *Nepovirus* از خانواده *Secoviridae* است. این نپوویروس در تاکستان‌های سراسر جهان که انگور (*Vitis* spp.)کشت می‌شود، بروز می‌کند و توسط نماتد انگل خارجی *Xiphinema index* انتقال می‌یابد. ژنوم آن از دو مولکول RNA خطی تک لا با قطبیت مثبت تشکیل شده است که در انتهای '۵ خود VPg و نیز در انتهای '۳ خود دارای یک دنباله‌ی آدنوزینی می‌باشند. هر یک از مولکول‌هایRNAی ژنومی یک پلی‌پروتئین رمزگردانی می‌کند. RNA2 پلی‌پروتئین P2 را رمز می‌کند که به پروتئین‌های $2A^{HP}$، حرکتی و پوششی هضم می‌شود. پروتئین $2A^{HP}$ در همانند سازی RNA2 نقش دارد. تنوع ژنتیکی ژن‌های حرکتی و پوششی جدایه‌های ایرانی GFLV در برخی مناطق ایران به خصوص استان‌های شمال غرب مورد بررسی قرار گرفته‌اند، اما این اطلاعات در مورد ژن$2A^{HP}$ بسیار کم است. این پژوهش، به منظور تعیین تنوع ژنتیکی و همسانه سازی ژن $2A^{HP}$ نخست، توالی‌های موجود در بانک اطلاعاتی GenBank با استفاده از نرم افزار Clustal W زیرهمچینی و سپس بر اساس بخش‌های ابتدایی و انتهایی ژن $2A^{HP}$ چندین جفت آغازگر دژنره‌ی توسط نرم افزار Primer3 طراحی شدند. نمونه‌های برگی انگور با علایم موزاییک زرد و رگبرگ نواری طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ از استان‌های آذربایجان شرقی، زنجان و قزوین جمع‌آوری شدند و RNAی کل آن‌ها استخراج شد. حدود ۱۰۰ نانو گرم از RNAی کل استخراج شده با جفت الیگونوکلئوتیدهای طراحی شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با نسخه برداری معکوس (RT-PCR) استفاده شدند. محصولات RT-PCR از ژل استخراج و به حاملpTG19 که یک حامل همسانه‌سازی A/T است، الحاق شدند. پلاسمیدهای نوترکیب به باکتری *Escherchia coli* انتقال یافت و پس از کشت در محیط کشت جامد دارای آنتی بیوتیک و مواد زمینه‌ای، همسانه‌های مورد نظر انتخاب و توالی یابی شدند. نتایج نشان داد طراحی یک جفت آغازگر که به تنهایی ژن $2A^{HP}$ را در تمامی جدایه‌های گزارش شده تکثیر نماید بسیار مشکل است و قادر نیستند این ژن را در تمامی جدایه‌ها تکثیر دهند. بنابراین نواحی حفاظت شده موجود در دو طرف ناحیه ژنومی$2A^{HP}$ برای طراحی پرایمر استفاده شدند. در نهایت دو جفت آغازگر شناسایی شدند که تکثیر ژن $2A^{HP}$ به همراه نواحی اطراف آن را به صورت موفقیت آمیز سبب شدند. اطلاعات حاصل از تعیین توالی نشان داد که ناحیه ژنومی $2A^{HP}$ از نظر اندازه و توالی بسیار متنوع است. درخت فیلوژنتیک ترسیم شده براساس ژن$2A^{HP}$ در سطح اسیدهای نوکلئیک، تمامی ۱۱۱ جدایه‌ی GFLV گزارش شده از دنیا به همراه دو جدایه تعیین توالی شده از ایران و شش جدایه تعیین توالی شده در این مطالعه را به شش گروه تقسیم کرد که طیف اندازه آن‌ها از ۷۶۵ تا ۷۹۸ نوکلئوتید بود، اما آن‌ها براساس آنالیزهای فیلوژنتیکی در سطح اسیدهای آمینه به هشت گروه تقسیم شدند. در حالیکه انتهای آمینی پروتئین $2A^{HP}$ منطقه بسیار متنوعی بود، در بیشتر جدایه‌ها منطقه مرکزی و انتهای کربوکسیل محافظت شده بودند. احتمالاً تنوع در ابتدای ژن $2A^{HP}$ باعث عدم اتصال آغازگرها به آن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: انگور، طراحی آغازگر، نپوویروس، فیلوژنی.

www.SID.ir

SID

فیلم های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

ابزارهای پژوهش

کارگاه‌های آموزشی مرکز اطلاعات علمی

آموزش نرم‌افزار Word برای پژوهشگران

روش تحقیق کمی

آموزش مهارت‌های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI