بررسی انتقال ژن اندوگلوکاناز از اکتینومایست Thermobifida fusca در مخمر Pichia pastoris

محمد کریمی بابا احمدی[۱]، نسرین مشتاقی[۲]، سعید ملک زاده[۲]، حسام دهقانی[۳]، عبد الرضا باقری[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- هیات علمی گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- هیات علمی گروه علوم پایه ،دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

m.karimi444@gmail.com

سلولز به عنوان فراوان ترین منبع تجدید شدنی در سطح زمین می باشد که برای تبدیل شدن به منابع قابل دسترس انرژی، نیازمند همکاری دسته ای از آنزیم ها به نام سلولاز می باشد. لذا تولید فراوان این آنزیم ها از اهمیت بالایی برخوردار است. در این بررسی از مخمر Pichia pastoris به منظور مطالعه قابلیت بیان این آنزیم و همچنین به عنوان یک منبع فراوان و ارزان تولید آنزیم سلولاز استفاده شد. ژن Cel5 (اندوگلوکاناز) از آکتینومایست Thermobifida fusca در وکتور بیانی pPICZα A تحت پیشبر قدرتمند AOX1 و فاکتور ترشحی مناسب قرار گرفت و سپس به P. pastoris سویه KM71 مخمر منتقل شد. سویه های تراریخته با این ژن بر روی محیط کشت مناسب حاوی آنتی بیوتیک زئوسین انتخاب و در محیط القا قرار گرفتند. نتایج آنالیز PCR نشان داد که این ژن با موفقیت در وکتور بیانی مخمر در جهت درست قرار گرفته است. افزایش غلظت آنتی بیوتیک زئوسین در محیط کشت منجر به انتخاب سویه هایی با تولید بیشتر این آنزیم گردید. همچنین در این بررسی تولید پروتئین ترشحی توسط روش رنگ آمیزی محیط کشت Cmc-agar تایید شد.

واژگان کلیدی: مخمر ، Thermobifida fusca ، سلولاز ، اندو گلوکاناز، سلولز.

مقایسه تاثیر متقابل سویه آگروباکتریوم و واریته در تراریزش کلزا

نازیلا نیاپور، مسعود توحید فر، امین باقی زاده، علی نیاپور، سپیده قطب زاده کرمانی

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوریهای نوین، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی کرمان

استادیار گروه کشت بافت و انتقال ژن، پژوهشکده ی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج

دانشیار گروه بیوتکنولوژی، مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان

استادیار گروه علوم تشریح و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

کارشناس آزمایشگاه گروه بیوتکنولوژی، مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان

nazilaniapour@yahoo.com

کلزا سومین دانه مهم روغنی در سطح جهان می‌باشد و نقش مهمی در تامین نیاز روغن کشور دارد. از طرفی امروزه بهبود در صفات گیاهان زراعی با استفاده از روشهای سنتی محدود بوده و بنابراین توجه بیشتری به استفاده از تکنیک انتقال ژن برای ایجاد صفات مورد نظر می شود که به طور مستقیم متاثر از اثر متقابل بین واریته گیاه و سویه باکتری می‌باشد. در این تحقیق بذرهای دو رقم تجاری Elite و RJS003 بوسیله چهار سویه باکتریایی C58، LBA4404، AGL0، EHA101 تلقیح شدند که حاوی وکتور PBI121 و حامل ژنهای NPTII و GUS بودند. برای این منظور بذرهای کلزا پس از ضد عفونی سطحی، در شرایط کاملاً استریل و به مدت ۷ روز روی محیط کشت جوانه زنی نگهداری شدند. سپس اکسپلنتهای هیپوکوتیل ۸-۱۰ میلی متری انتخاب شده و به محیط MS حاوی ۱ mg/l از 2,4-D به منظور پیش تیمار و سپس هم کشتی منتقل شدند. کالوس زایی نیز تحت شرایط کنترل شده؛ در روی محیط انتخابی حاوی ۱ mg/l از 2,4-D و ۵۰ mg/l از کانامایسین انجام گرفت. انتقال ژن GUS در مرحله کالوس زائی با استفاده از تست

هیستوشیمیایی و PCR تائید شد. این آزمایش در قالب بلوک کاملاً تصادفی اجرا گردید و بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس موید وجود اختلاف معنی دار بین اثر متقابل واریته و سویه باکتری بود. مقایسه میانگین با استفاده از تست LSD نشان داد که بهترین نتایج به میزان ۹۴.۸ مربوط به تلقیح واریته Elite کلزا با سویه C58 آگروباکتریوم می باشد.

واژگان کلیدی: انتقال ژن، واریته کلزا، سویه آگروباکتریوم، اثر متقابل

بررسی تعدادی از عوامل مؤثر بر ترانسفورماسیون و باززایی گیاه نارنج (C. aurantium)

بنفشه فتاح، محمد مهدی سوهانی، عبدالله حاتم زاده، بهروز گلمین، علیرضا افشاری فر، محمد حسین رضادوست

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

محقق موسسه تحقیقات مرکبات کشور، رامسر

عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

Banafsheh_fattah@yahoo.com

در این پژوهش به‌منظور به دست آوردن گیاهان تراریخت نارنج از ترانسفورماسیون قطعات اپی‌کوتیل و هیپوکوتیل نارنج به واسطه‌ی اگروباکتریوم استفاده شد. ترانسفورماسیون این قطعات از طریق هم‌کشتی با سویه‌ی EHA105 اگروباکتریوم تومفاشینس حامل وکتور pFGC5941 دارای ژن کد کننده‌ی پوشش پروتئینی ویروس تریستزای مرکبات انجام شد. این مطالعه با هدف القای مقاومت به بیماری تریستزا و هم‌چنین بهبود شرایط باززایی گیاهان تراریخت انجام شده است. ریزنمونه‌ها از گیاهچه‌هایی تهیه شدند که به مدت ۴ هفته در تاریکی رشد کرده بودند، و گیاهچه‌هایی که پس از ۴ هفته رشد در تاریکی، یک دوره‌ی روشنایی ۱۰ روزه با فتوپریود ۱۶ ساعته را طی کرده بودند. در محیط رشد شاخساره سطوح مختلف GA3 (۱ mg/l, ۰/۵, ۰) استفاده شد و اثر زخم زدن با ایجاد برش طولی در انتهای ریزنمونه‌ها و هم‌چنین اثر استفاده از وکیوم بر کارایی ترانسفورماسیون مورد بررسی قرار گرفت. تأیید ترانسفورماسیون در محیط انتخابی حاوی علفکش بستا و همچنین با انجام واکنش PCR صورت گرفت. بهترین نتایج از گیاهانی که پس از رشد در تاریکی دوره‌ی روشنایی را طی کرده بودند، در حضور GA3 ۱ mg/l و با انجام وکیوم به دست آمد.

واژگان کلیدی: اگروباکتریوم تومفاشینس، مقاومت به ویروس، هم کشتی، ویروس تریستزای مرکبات

Real time LAMPجهت تشخیص انتقال ژن GUS به گیاه توتون تراریخت

محمد رضا قزوینی، محمد امین الماسی، خدیجه باقری، جابر نصیری، سیوان احمدی، سید محمد حسینی

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

دانش آموخته کارشناس ارشد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زنجان

استادیار گروه زراعت واصلاح نباتات نباتات دانشگاه زنجان

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه تهران

دانش آموخته کارشناس ارشد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان