

دستکاری ژن EPSPS به منظور ایجاد مقاومت به گلايفوسیت در برنج

سمیه حسن نژاد پیربستی^۱، محمد مهدی سوهانی^۲، جعفر اصغری^۲

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، هیات علمی گروه بیوتکنولوژی کشاورزی و زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

چکیده:

گلايفوسیت، پرمصرف ترین علف کش جهان، علف کشی غیرانتخابی (عمومی) است که پس از سبز شدن گیاه مورد استفاده قرار می گیرد. گلايفوسیت با اولین نفوذ به درون گیاه آنزیم کلیدی 5-enol pyrovyI shikimate 3-phosphste synthase (EPSPS) را مهار می کند. این آنزیم یکی از آنزیم های کلیدی مسیر شیکیمات است که مسئول ساخت اسیدآمیننه های حلقوی در گیاهان و باکتری ها می باشد. بدون حضور آنزیم فوق، ارگانسیم قادر به ادامه حیات نخواهد بود. مؤثرترین مکانیسم برای ایجاد مقاومت نسبت به گلايفوسیت در گیاهان، وارد نمودن ژن تغییر یافته آنزیم EPSPS با میل ترکیبی کمتر به گلايفوسیت به گیاه است. در این تحقیق، ساختار تغییر یافته از طریق ایجاد موتاسیون هدفمند تهیه گردیده است و موجب تغییر یک اسیدآمیننه خاص شد که پس از انتقال این ساختار به برنج، در نهایت برنج مقاوم به گلايفوسیت تولید می شود. برای ایجاد جهش نقطه ای در آنزیم EPSPS باکتری (*E. coli* (K12)، ابتدا نژاد مورد نظر تهیه و DNA آن استخراج و طول کامل آن در وکتور مورد نظر کلون شد. تبدیل اسیدآمیننه گلابسین در جایگاه ۹۶ به آلانین، تمایل آنزیم به اتصال با گلايفوسیت را به مقدار قابل توجهی کاهش می دهد. به گونه ای که آنزیم مذکور ضمن حفظ عملکرد خود، تمایل کمتری برای اتصال به علف کش داشته یا آن را از دست می دهد. لذا در این مطالعه اسیدآمیننه گلابسین شماره ۹۶ این ژن جهت تغییر در نظر گرفته شد. با استفاده از روش مگاپرایمر اسیدآمیننه گلابسین به آلانین تبدیل شد. تایید این تغییر با انجام توالی یابی دو طرفه محصول PCR انجام شد.