استفاده از کاوشگرهای TopA و SucA در مطالعه تنوع Bradyrhizobium Japonicum

امیر لکزیان
عضو هیأت علمی دانشگاه فردوسی مشهد

مقدمه

روش‌های متفاوتی برای مطالعه تنوع باکتری‌ها نظیر، پروفیل پلاسمیدی، الکتروفورز آنزیم‌ها، پروفیل لیپوپلی ساکاریدی و به کارگیری تکنیک‌های مختلف PCR وجود دارد(۱). استفاده از تکنیک PCR/RFLP برای مطالعه تنوع باکتری ها مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است(۲). استفاده از تکنیکPCR/RFLP همراه هیبریداسیون DNA برای مطالعه باکتری‌ها به ویژه باکتری های تثبیت کننده نیتروژن جایگاه خاصی را در این گونه مطالعات به خود اختصاص داده است(۳). استفاده از این تکنیک در بسیاری از مقالات علمی جدید رواج پیدا کرده است که این امر بر اهمیت موضوع و کارایی این روش دلالت دارد.

مواد و روش‌ها

دو ژن SucA و TopA که به ترتیب مسئول تولید آنزیم‌های آلفا کتوگلوتارات دهیدروژناز و DNA توپوایزومراز می باشند از روی توالی بازهای آلی سویه بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم USDA110 که در سایت مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) امریکا قابل دسترسی است، انتخاب گردید. توالی بازهای آلی این دو ژن به عنوان کاوشگر برای مطالعه تنوع باکتری های جنس بردی ریزوبیوم استفاده شد. توالی متناظر دو کاوشگر فوق به کمک تکنیک PCR تکثیر شدند. ژنوم سویه‌های مختلف بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم با آنزیمهای SacI، XhoI هضم و محصول عمل بر روی غشای سلولزی منتقل شد. سپس ژنوم هضم شده تمامی سویه ها با کاوشگرهای فوق هیبرید و با مطالعه الگوهای هیبریداسیون، نزدیکی و قرابت سویه ها از نقطه نظر ژنتیکی بررسی شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از هیبریداسیون این دو کاوشگر با ژنوم ۱۸سویه هضم شده بردی ریزوبیوم ژاپونیکوم نشان داد که الگوهای هیبریداسیون برای سویه‌ها متفاوت می‌باشد. بر اساس نتایج حاصله ۱۸ سویه بردی ریزوبیوم ژاپونیکوم در۴ و ۵ گروه جداگانه به ترتیب بر اساس الگوهای هیبریداسیون دو کاوشگر SucA و TopA قرار گرفتند. بنابراین به نظر می‌رسد که ردیف بازهای آلی این دو ژن در بین سویه‌های مختلف بردی ریزوبیوم ژاپونیکوم از تنوع بسیار خوبی برخوردار است، به گونه‌ای که این دو کاوشگر می‌توانند در مطالعات تنوع ژنتیکی این باکتری ها مورد استفاده قرار گیرند. نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که ردیف بازهای آلی کاوشگر TopA در مقایسه با کاوشگر SucA از قدرت تمایز دهندگی بیشتری برخوردار است.

منابع مورد استفاده

1- Pepper, I.L., K.L. Josephson, C.S. Nautiyal and D.P. Bourqu. 1989. Strain identification of highly-competitive bean rhizobia isolated from root nodules: Use of fluorescent antibodies,plasmid profiles and gene probes. Soil Biology and Biochemistry, 21:749-753.

2- Madrzak, C.J., B. Golinska, J., Kroliczak, K. Pudelko, D. Lazewska, B. Lampka, and M.J. Sadowsky. 1995. Diversity among Field Populations of Bradyrhizobium japonicum in Poland. Applied Environmental. Microbiology, 61:1194-1200.

3- Willems, A., F. Doignon-Bourcier, J. Goris, R. Coopman, P. Lajudie, P. Vos and M. Gillis. 2001. DNA--DNA hybridization study of Bradyrhizobium strains. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 51:1315-1322.