

کاربرد تکنیک های توالی یابی پیشرفته (next generation sequencing) در محصولات باغی

پرستو مجیدیان^{1*}، مهرشاد زین العابدینی²، زهرا نعمتی³

1- دانشجوی دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری. 2- استادیار بخش ژنومیکس، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج. 3- محقق، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی شیراز، شیراز.

چکیده

در سال های اخیر پیشرفت های وسیعی در زمینه های ژنومیکس کاربردی و ساختاری انجام شده است. توالی های ژنوم، ترانسکریپتوم داده ها و نقشه های ژنتیکی بدست آمده از گونه های مختلف گیاهی به صورت بالقوه منابع مفیدی برای بهبود برنامه های اصلاحی به شمار می روند. کاربرد روش های توالی یابی پیشرفته به علت ارزان و قابل دسترس بودن در گروه های مختلفی از محصولات باغی حائز اهمیت است. بعلاوه این تکنیک ها تاثیر زیادی بر روی استفاده از یکسری از روش های مولکولی حاضر در تکامل گیاهان، روابط فیلوژنی، کشف ژن ها، انگشت نگاری، نقشه پیوستگی و انتخاب به کمک نشانگرها دارند. از آنجایی که استفاده از ابزارها و دانش ژنومیکس در زمینه های مختلف اصلاح گیاهان یکی از موضوعات بحث برانگیز به شمار می رود، نیاز مبرم به توسعه ژنومیکس گیاهی با هدف اصلاح نبات به صورت مفیدتری وجود دارد. هدف از این تحقیق، کاربرد روش های پیشرفته توالی یابی ژنوم برای مطالعات ترانسکریپتوم به منظور فهم دقیق تر از چگونگی کارکرد سیستم های بیولوژیکی در محصولات باغی است.

کلمات کلیدی: توالی یابی پیشرفته ژنوم، گیاهان باغی

مقدمه

اصلاح نبات روشی ضروری برای پیشرفت در زمینه های کشاورزی و باغبانی محسوب می شود. در روش های سنتی اصلاح نبات، اصلاح گران بر اساس وجود اطلاعات ژنتیکی و فنوتیپی، ژرم پلاسما های مختلف را اصلاح می کردند. اطلاعات ژنتیکی مورد نظر معمولاً کامل نبود و تشخیص گیاهان با فنوتیپ های مناسب کاری دشوار و زمان بر محسوب می شد. از آنجایی که بدون داشتن دانش ژنتیک در مورد صفاتی خاص امکان بدست آوردن پیشرفت های رضایتبخش در زمینه برنامه های اصلاحی وجود ندارد، ژنومیکس گیاهی می تواند دانش ژنتیک و ابزارهای جدید را به منظور بهبود روش های اصلاحی و توسعه بهتر ارقام و ژرم پلاسما های مفید برای اصلاح کنندگان نبات فراهم کند (Matthews, 2004; Belo et al, 2008). توالی یابی کامل یا ناقص دی ان آ ژنوم گیاهی به همراه مکان یابی صفات مهم به عنوان منبعی گرانها برای اصلاح گران نبات به شمار می رود. توالی دی ان آ یک ژنوم گیاهی اطلاعاتی راجع به مکان یابی ژن، ساختار ژن، فواصل بین ژن ها و مکان یابی توالی های دی ان آ تکراری مانند ریزماهواره ها ترانسپوزون ها را به ما می دهد. آگاهی از توالی دی ان آ ژنوم یا ترانسکریپتوم گیاهی به صورت ترکیب با صفات مهم به ما اجازه توسعه نشانگرهای دی ان آ را برای انجام عملیاتی نظیر انتخاب به کمک نشانگر (MAS)، توصیف ژرم پلاسما ها و عملکرد ژن ها می دهد. توالی یابی جدید دی ان آ با نام توالی یابی پیشرفته (next generation sequencing) ابزاری قدرتمند برای کشف توالی ژنوم در گیاهان محسوب می شوند. هدف از این پژوهش، ارزیابی کاربرد روش های جدید ژنومیک از جمله توالی یابی پیشرفته در باغبانی است.

توالی یابی ژنوم گیاهی

مراحل اصلی توالی یابی ژنوم گیاهی شامل آماده سازی مواد گیاهی، توالی یابی، سر هم کردن توالی ژنوم و تفسیر نتایج در پایگاه های داده ای است. طی دهه های اخیر، پیشرفت های شگرفی در زمینه تکنولوژی توالی یابی دی ان آ انجام شده است (Metzker, 2010) از این قبیل، توسعه انواع روش های توالی یابی پیشرفته (Roche) 454، Illumina (Solexa)، SOLIDTM (Applied Biosystems) و Ion Torrent (Life Technologies) می باشد (Hamilton and Buell, 2012). در چندین سال اخیر، تعیین توالی بیش از 20 نوع ژنوم گیاهان باغی از جمله خیار (Cucumbers sativus)، کلم چینی (Brassica rapa)، نخود معمولی (Phaseolus vulgaris)، گوجه فرنگی، پاپایا (Carica papaya)، توت فرنگی جنگلی (Fragaria vesca)، هلو (Prunus persica) و سیب (Malus domestica) انجام شده است (Chen et al, 2011; Hamilton and Buell, 2012). پیشرفت های بدست آمده از تکنولوژی توالی یابی ژنوم این امکان را به وجود آورده تا از این روش برای گونه های گیاهی که هیچ منبع ژنتیکی ندارند استفاده شود. در سال های آتی، انتظار داریم تا ژنوم تعداد زیادی از گیاهان به ویژه محصولات باغی تعیین توالی گردد. بنابراین با توالی یابی مجدد ژنوم به عنوان مثال پروژه 1001 ژنوم Arabidopsis، اطلاعاتی در مورد تنوع ژنتیکی موجود در میان گونه های منحصر به فرد بدست خواهد آمد (Deschamps and Campbell, 2010; Cao et al, 2011). اخیرا روش Illumina به عنوان رایج ترین روش توالی یابی به انضمام روش های Sanger، 454 و SolidTM شناسایی شد. روش های توالی یابی نسل سوم از جمله روش های توالی یابی single molecule real time DNA (SMRT) و nanosequencing می باشد که به نظر می رسد توالی یابی ژنوم را با دقت بیشتر و هزینه کمتری انجام دهد (Schadt et al, 2010).

نتیجه گیری

ژنومیک گیاهی دانش جدیدی از تکامل و تنوع ژنوم را در اختیار ما می گذارد و به ما کمک می کند تا فهم بیشتری از کارکرد سیستم بیولوژیکی گیاه بدست آوریم. امروزه کاربرد ژنومیک به منظور اصلاح نبات به ارزشمند ترین گونه ها از نظر اقتصادی محدود شده است. به علت سهولت دستیابی به توالی یابی ژنوم و ترانسکریپتوم می توان از آن برای دیگر گونه های گیاهی از جمله محصولات باغی نیز استفاده کرد. شکی وجود ندارد که ژنومیک گیاهی تاثیر افزایشده ای روی سودمندی های اصلاح نبات به منظور توسعه ارقام گیاهی که انتظارات و نیازهای باغبانی مدرن را برطرف می کند، خواهد گذاشت. نتیجتا، داشتن تمرکز و جستجو کشفیاتی در زمینه ژنومیک به منظور توسعه ابزارها و تکنیک های پیشرفته که برای اصلاح گیاهان باغی سودمند باشند، امری حیاتی به شمار می رود.

منابع

- Belo, A., P. Zhang, S. Luck, B. Shen, D.J., Li. B. Meyer, S. Tingey, and A. Rafalski. 2008. Whole genome scan detects an allelic variant of fad2 associated with increased oleic acid levels in Maize. *Molecular of Genetic and Genomics*. 279: 1-10.
- Cao, J. K. Schneeberger, S. Ossowski, T. Gunther, S. Bender, J. Fitz, D. Koenig, C. Lanz, O. Stegle, C. Lippert, X. Wang, F. Ott, J. Muller, C. Alonso-Blanco, K. Borgwardt, K.J. Schmid, and D. Weigel. 2011. Whole-genome sequencing of multiple Arabidopsis thaliana populations. *Nature Genetics*. 43:956-963.
- Deschamps, S. and M.A., Campbell. 2010. Utilization of next generation sequencing platforms in plant genomics and genetic variant discovery. *Molecular Breeding*. 25:553-570.
- Matthews, B.F. 2004. Genomic approaches for developing soybeans with resistance to pests (soybean cyst nematodes) . p. 312-325. In: R.F. Wilson, H.T. Stalker and C. Brummer (eds.), *Legume crop genomics*. Am. Oil Chem. Soc. Press. Champaign, IL, USA.

Metzker, M.L. 2010. Sequencing technologies – the next generation. *Nature Reviews Genetics*. 11:31-46.
Hamilton, J.P. and C.R., Buell. 2012. Advances in plant genome sequencing. *Plant Journal*. 70:177-190.
Schadt, E.E. S. Turnur, and A. Kasarskis. 2010. A window into third generation sequencing. *Human Molecular Genetics*. 19:227-240.

Utilization of next generation sequencing in horticultural crops

P. Majidian^{1*}, M. Zeinalabedini² and Z. Nemati³

1*- Dept . of Plant Breeding, Sari University, Sari – Iran

2- Dept. of Genomics, Agriculture Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Karaj - Iran

3- Dept. of Plant Breeding, Shiraz University, Shiraz – Iran

AbstractIn the last few years there has been rapid progress in the area of plant structural and functional genomics. Annotated genome sequences, transcriptomic data and genetic maps of plant species are all potentially useful resources for improving crop breeding programs. Next generation DNA sequencing technologies which permit whole genome and transcriptome sequencing are relatively inexpensive and accessible for many research groups. In addition, these techniques will impact many of the current uses of molecular tools in plant evolution, phylogenetics, fingerprinting, linkage mapping and marker-assisted selection. As utilization of genomics knowledge and tools into different areas of plant breeding is still limited and challenging, so there is a strong need to push the development of plant genomics for the benefit of plant breeding. The objective of this study was to assess the next generation sequencing for transcriptome to know how the genome biological systems work.