

کلون نمودن ژن فلاونوئید ۳-هیدروکسیلاز، یکی از آنزیم‌های مسئول

ساخت آنتوسیانین در انگور رقم شیراز

عبادی، علی^۱ و سیمون رابینسون^۲

۱ گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و ۲ واحد باغبانی بخش صنعت گیاهی، CSIRO، آدلاید استرالیا

یکی از روش‌های مهم برای افزایش درآمد تولید کننده افزایش کیفیت میوه است. به این منظور، بهبود رنگ میوه خیلی اهمیت دارد. در انگورهای قرمز و سیاه رنگ، آنتوسیانین‌ها مسئول برای ایجاد رنگ هستند. قبل از انجام هر گونه مهندسی ژنتیک برای افزایش رنگ میوه در انگور، لازم است که ژنهای مختلف مسئول ساخت آنتوسیانین شناسایی و کلون شوند. فلاونوئید ۳-هیدروکسیلاز (F3H) یکی از این ژنهاست که نازنین را به اریودکتول، دی هیدروکامفرول را به دی هیدروکسی کوئرستین و لئوکویلاگونیدین را به لئوکوسیانیدین تبدیل می‌کند که در نهایت منجر به ساخت انواع مختلف آنتوسیانین‌ها می‌گردد.

به منظور کلون کردن این ژن mRNA از حبه‌های انگور چند هفته بعد از شروع رسیدن حبه‌ها استخراج گردید و cDNA با استفاده از پرایمر B26 ساخته شد و با کاربرد پرایمرهای مناسب میانی ORF ژن تولید گردید. محصول PCR این قسمت پس از استخراج از ژل درون وکتور مناسب قرار داده شد و با انتقال به درون *E. coli* تکثیر گردید. DNA تکثیر شده از باکتری استحصال و توالی‌یابی شد. به علاوه، همین پروسه برای قسمتهای انتهایی 5 و 3 ژن با استفاده از پرایمرهای مناسب انجام گرفت. در نهایت، توالی یابی ژن تکمیل گردید و با استفاده از برنامه Angis با ژنهای توالی یابی شده موجود در بانک داده‌ها مقایسه گردید. نتایج نشان داد که ژن F3H در انگور ۷۲٪ تشابه با ژن F3H در *Callistephus chinensis*، ۶۶٪ تشابه با *Mathiola incana* و ۵۱٪ تشابه با *Petunia hybrida* دارد. بنابراین ژن‌های مسئول برای اعمال مشابه در گیاهان متفاوت اختلافاتی در توالی نشان می‌دهند که این منجر به برخی تفاوت‌ها در پروتئین تولیدی آنها

خواهد شد. همچنین ساترن بلاتینگ نیز انجام شد تا اینکه مشخص شود که آیا یکی و یا تعداد بیشتری ژن و یا بیشتر از یک نسخه از همین ژن در این پروسه دخیل هستند.