مهندس مصطفی حق پناه
کارشناس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولید بذر
شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

ژنتیک مولکولی کاربردی در اصلاح گیاهان

الکتروفورز

به حرکات ذرات تحت تاثیر جریان الکتریکی، الکتروفورز (Electrophoresis) گویند. از این رو درشت مولکول‌های زیستی نظیر DNA، RNA و پروتئین که دارای بار الکتریکی می‌باشند را می‌توان در بستری خاص مانند ژل اکریل آمید بر اساس شکل فضایی، وزن مولکولی و نوع بار الکتریکی (مثبت، منفی و خنثی) تفکیک کرد. روش‌های مختلف الکتروفورز جهت تفکیک و تشخیص درشت مولکول‌ها ابداع شده است که در این مطلب به بخشی از آن‌ها پرداخته می‌شود.

الکتروفورز ژل آگارز

مولکول‌های DNA و RNA دارای بار منفی می‌باشند و تحت تاثیر میدان مغناطیسی به سمت بار مثبت میل می‌کنند. جهت کیفیت سنجی DNA و RNA استخراج شده از ژل اگارز رقیق (بین ۰/۷ تا ۱ درصد) استفاده می‌شود. ژل آگارز رقیق دارای خلل فرج نسبتا درشت می‌باشد که به DNA ژنومی و RNA اجازه می‌دهد که در ژل حرکت کنند. از ژل آگارز ۱/۲ تا ۲/۵ درصد جهت شناسایی قطعه‌ای از ژنوم (محصول PCR) استفاده می‌شود. ژل آگارز مولکول‌ها را بر اساس وزن مولکولی از هم جدا می‌کند و هرچه غلیظ‌تر باشد قدرت حرکت مولکول‌های درشت‌تر نسبت به مولکول‌های کوچک‌تر کم‌تر می‌شود. دو مولکول DNA (محصول PCR) با وزن مولکولی نزدیک به هم (طول باند نزدیک به هم) را معمولا با ژل آگارز بسیار غلیظ (بیش از سه درصد) از هم جدا می‌کنند، هر چند طول ژل هم در این امر بسیار مهم است (با افزایش طول ژل، توانایی تفکیک آن افزایش می‌یابد). برای کیفیت سنجی الیگونوکلئوتیدها (پروب و پرایمرها) نیز از ژل آگارز بسیار غلیظ استفاده می‌شود.

الکتروفورز ژل پلی اکریل‌آمید

از ژل پلی‌اکریل‌آمید (PAGE) شش درصد جهت الکتروفورز محصولات PCR استفاده می‌شود، قدرت تفکیک این ژل بسته به طول آن تا یک جفت باز می‌باشد و معمولا از نیترات نقره جهت رنگ آمیزی استفاده می‌شود. از ژل پلی اکریل‌آمید با ضخامت بیش از یک میلی‌متر جهت تفکیک مولکول‌های پروتئین بر اساس وزن مولکولی استفاده می‌گردد. در این تکنیک پروتئین استخراج شده با سدیم دو دسیل سولفات (SDS) تیمار می‌شود. این ماده به مولکول‌های پروتئین بار منفی می‌دهد و سبب می‌گردد تا کمپلکس‌های پروتئینی از فاز منفی به سمت فاز مثبت در ژل پلی اکریل آمید حرکت کنند و بر اساس وزن مولکولی از هم جدا شوند. این تکنیک که تحت عنوان SDS-PAGE شناخته می‌شود قادر است کمپلکس‌های پروتئینی تشکیل دهنده پروتئین کل را از هم تفکیک کند. برای تفکیک پروتئین‌های تشکیل دهنده یک کمپلکس پروتئینی می‌بایست از الکتروفورز دو بعدی (2-D) استفاده شود.