

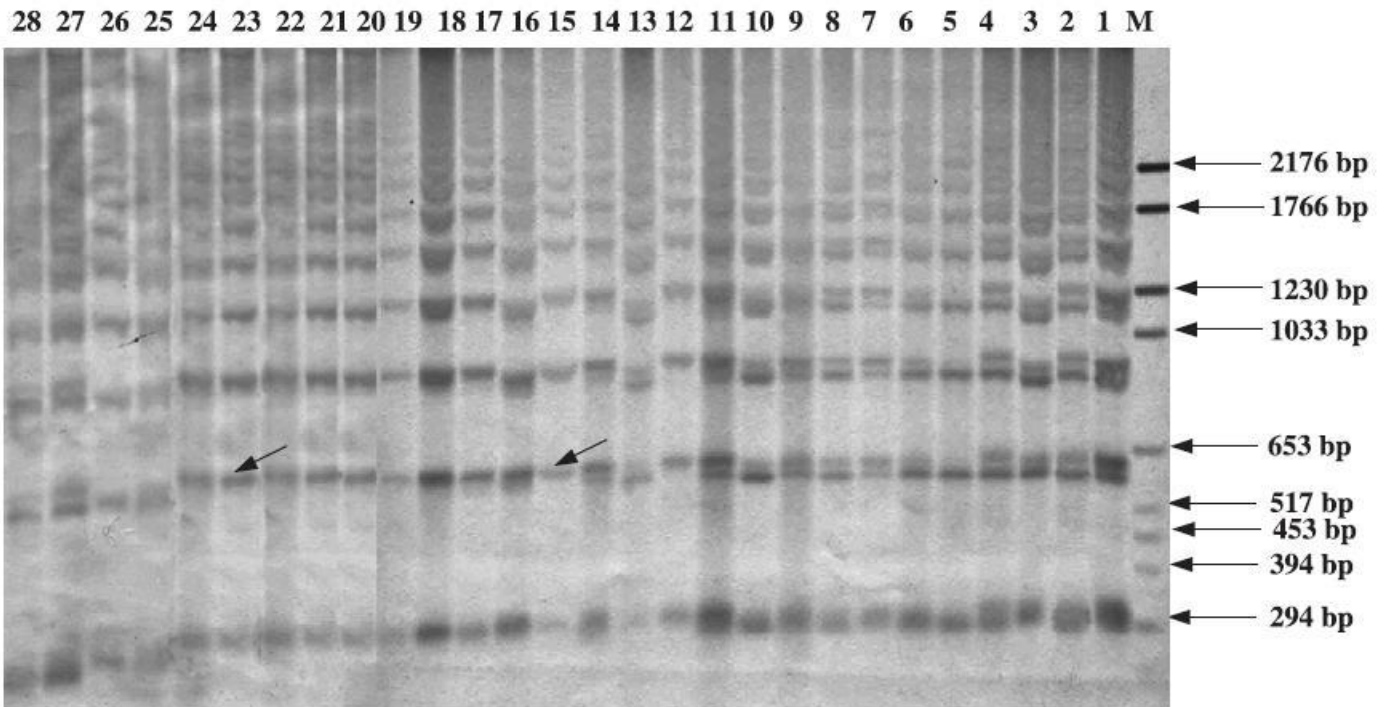
Çay'da 5S rDNA Gen Farklılığı ve Varyete Tanımlanmasında Kullanımı

Dharam Singh ve Paramvir Singh Ahuja
Himalaya Bio Kaynak Teknoloji Enstitüsü, Hindistan
NRC Araştırma Bülteni 13 Ocak 2006

Özet

5S rDNA'nın tekrarlanma oranlarındaki değişkenlik çeşitli ürünlerdeki filogenetik çalışmalar için yararlıdır. Southern Hibridizasyon (hücrelerden DNA çekerek genomik değişikliği saptayan teknik) süresince çay (*Camellia sinensis* (L) O.Kuntze) genomundaki 5S rDNA geni nin tekrarlanma değişkenliklerini tespit ettik. Spesifik endonükleaz sınırlama ile 5S rDNA'nın tekrarlanmalarındaki değişkenlik, 3 çay tipini temsil eden 28 farklı çay klonunda analiz edilmiştir (Sau3AI, BamHI ve ApoI). Sonuçlarımızın net olarak gösterdiği ; çay'da ki 5S rDNA geninin Assam ve Kamboçya adlı diğer önemli çay tiplerinden Çin çayı, *Camellia sinensis*'i ayırt etmek için bir moleküler markör olarak kullanılabilir. Endonükleaz sınırlamalı analizlerde, çay genomundaki 5S rDNA geninin yoğun olarak metillenmiş olduğu da tespit edilmiştir.

Çalışmada analiz edilmiş olan 28 Çay klonu içerisinde Çin varyetlerine ait 5S rDNA gen tekrarlamalarının Southern blot yöntemi sonucunda elde edilmiş otoradyogram görüntüsü.



Southern blot yöntemi

Bu yöntemde izole edilen DNA uygun bir restriksiyon enzimi ile kesilir ve belirli sayı ve uzunlukta DNA fragmentlerinin oluşumu sağlanır. Agaroz jel elektroforez yöntemi ile jel üzerinde büyüklüklerine göre birbirinden ayrılan bu fragmentler önce yüksek pH ile denatüre edilip blot yöntemi ile nitroselüloz filtre üzerine geçirilir. 32p (ya da başka bir radyoaktif olmayan nükleotit analogu) ile işaretli denatüre edilmiş ve incelenecek bölgeye özgü prob, filte üzerinde tutulan fragmentler ile uygun koşullar sağlanarak hibridize edilir. Sonra filtre üzerine bir röntgen filmi konularak otoradyografi işlemi gerçekleştirilir. Prob yalnızca kendisine tümleyici bazları içeren DNA fragmenti ile hibridize olacak ve otoradyogram sonucu bu bandın üzerinde gözlenebilecektir.

Kaynak:

Dharam Singh ve Paramvir Singh Ahuja. 2006. [5S rDNA gene diversity in tea \(Camellia sinensis\(L.\) O. Kuntze\) and its use for variety identification](http://genome.nrc.ca). NRC Research Press Web site at <http://genome.nrc.ca> on 13 January 2006. Institute of Himalayan Bioresource Technology, Post Box No. 6, Palampur (H.P.),176 061, India.

Kamil Engin İSLAMOĞLU,
Ziraat Mühendisi,