4th Iranian Conference Of Plant Physiology
چهارمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران
2,3 Sep 2015: Tarbiat Modares University, Biological Sciences
۱۱و۱۲ شهریور ۱۳۹۴: دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی

بهینه‌سازی روش ISSR-PCR در جنس مریم‌گلی با استفاده از برخی آنزیم‌های استاندارد PCR

مرضیه فتوت[۱]، طیبه رجبیان*[۱]، سید علیرضا سلامی[۲]، عذرا صبورا[۳]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

[۲] گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

[۳] گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران

پست الکترونیک نویسنده مسئول: rajabian@shahed.ac.ir

شماره تماس: ۰۹۱۲۳۹۰۵۳۹۲

مریم‌گلی (*Salvia* L.) یکی از جنس‌های مهم و بزرگ تیره نعناعیان (Lamiaceae) با حدود ۱۰۰۰ گونه در سرتاسر جهان است. گونه‌های مختلف مریم‌گلی بدلیل دارا بودن خواص دارویی بسیار، مدت طولانی است که در طب مردم و صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. شناخت ژنوتیپ‌ها در گونه‌های مریم‌گلی به علت تشابه ریخت‌شناختی و بروز هیبریداسیون طبیعی مشترک دشوار است. جستجو به منظور دستیابی به یک ابزار کارآمدتر از تکثیر PCR، در جهت بازدهی و کیفیت بالاتر منجر به توسعه انواع پروتکل‌ها شده است، با این حال اصول تکثیر PCR در همه آن‌ها بطور یکسان حفظ می‌شود. هدف اصلی این مطالعه بهینه‌سازی کاربرد روش ISSR-PCR در جنس مریم‌گلی، به منظور معرفی یک پروتکل PCR کارآمد برای مطالعات زیست مولکولی در گیاهان دارویی بود. DNA ژنومی از برگ‌های گونه‌های مورد مطالعه به روش Doyle & Doyle استخراج شد. سپس تکثیر PCR با استفاده از آغازگرهای ISSR شامل: UBC825 و UBC827 و آنزیم‌های PCR شامل: Taq DNA polymerase، DreamTaq DNA polymerase و PCR master mix انجام شد. DNA polymerase و PCR master mix نتایج بهتری را در مقایسه با Taq DNA polymerase نشان دادند. DreamTaq DNA polymerase یک Taq DNA polymerase بهبود یافته است که برای تکثیر PCR با توان بالا بهینه‌سازی شده است. PCR master mix مواد کلیدی لازم برای انجام PCR را در یک شکل بهینه شده و مخلوط شده ای فراهم می‌کند، به طوریکه روند کاری PCR را آسان و ساده‌تر می‌کند. PCR master mix مخلوطی از DNA polymerase، نمک‌ها، منیزیم، dNTPs و بافر واکنش بهینه شده است، در نتیجه PCR master mix به علت تاثیر روی تکثیر، الگوهای نواری و تکرارپذیری، همچنین صرفه جویی در زمان و هزینه می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنزیم‌های دیگرPCR باشد.

واژه‌های کلیدی: DreamTaq DNA polymerase، ISSR-PCR، PCR master mix، مریم‌گلی (*Salvia* L.)، Taq DNA polymerase

4th Iranian Conference Of Plant Physiology
چهارمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران
2,3 Sep 2015: Tarbiat Modares University, Biological Sciences
۱۱و۱۲ شهریور ۱۳۹۴: دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی

Optimization of ISSR-PCR in the *Salvia* L. genus by the application of some standard PCR enzymes

Marzieh Fotovvat[1] , Tayebeh Radjabian*[1], Sayed Alireza Salami[2], Azra Saboora[3]
[1]Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran
[2]Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[3]Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
Corresponding author e-mail address: rajabian@shahed.ac.ir

Salvia L. belongs to Lamiaceae family with nearly 1000 specie worldwide has many medicinal properties. Various species of *Salvia* have long been used in folk medicine and food industries. Due to the morphological similarity and common occurrence of natural hybridization within species, identification of genotypes in *Salvia* species is difficult. The search for a more efficient means of PCR amplification of both higher quality and yield has led to the development of a variety of protocols, however the basics of PCR amplification remains the same. The major purpose of this study was optimization of ISSR-PCR method in the *Salvia* genus to determine the best PCR protocol for further molecular biological studies of medicinal plants. Genomic DNA was extracted using Doyle & Doyle method. Subsequently the PCR amplifications were performed using inter simple sequence repeat (ISSR) primers consist of: UBC825 and UBC827 and PCR enzymes including: Taq DNA polymerase, DreamTaq DNA polymerase and PCR master mix. The PCR master mix and DreamTaq polymerase showed better results as compared to the Taq DNA polymerase. DreamTaq DNA polymerase is an enhanced Taq DNA polymerase optimized for high throughput PCR applications. It ensures higher sensitivity, longer PCR products and higher yields compared to conventional Taq DNA polymerase. PCR master mix provides the key ingredients necessary for performing PCR in a premixed and optimized format that streamlines and simplifies the PCR workflow. Master Mix comes pre-mixed, containing DNA polymerase, salts, magnesium, dNTPs, and optimized reaction buffer. Water, template and primers are the only additions necessary to perform PCR. Consequently, the PCR master mix due to having an effect on amplification, banding patterns and reproducibility, also saving in time and cost can be suitable replacement for the other PCR enzymes.

Key words: Dream Taq polymerase, ISSR-PCR, PCR master mix, *Salvia* L., Taq DNA polymerase