

عنوان مقاله:

استفاده از روش PCR رقابتی و Real-time PCR مطلق به منظور کمی سنجی جمعیت باکتری تولید کننده بوتیرات:
بوتیریوبیوریو فیبری سالونس

محل انتشار:

فصلنامه پژوهشهای علوم دامی ایران، دوره 7، شماره 4 (سال: 1394)

تعداد صفحات اصل مقاله: 6

نویسندگان:

مجتبی طهمورث پور - دانشگاه فردوسی مشهد

امیر طاهری قهفرخی - دانشگاه فردوسی مشهد

محمدهادی سخاوتی - دانشگاه فردوسی مشهد

خلاصه مقاله:

سویه های باکتری بوتیریوبیوریو فیبری سالونس به عنوان عمده ترین گروه باکتری های تولید کننده بوتیرات در دستگاه گوارش بسیاری از حیوانات و همچنین انسان شناخته شده اند. در این مطالعه دو تکنیک مبتنی بر DNA شامل PCR رقابتی و Real-time PCR به منظور شمارش باکتری های گونه بوتیریوبیوریو فیبری سالونس استفاده شدند. در ابتدا آغازگرهای اختصاصی برای منطقه ۱۶S rDNA باکتری بوتیریوبیوریو فیبری سالونس به منظور تکثیر یک قطعه ۲۱۳ جفت بازی استفاده شدند. یک قطعه رقابتگر با تفاوت طول ۵۰ جفت باز بیشتر ساخته شد و در ناقل پلاسمیدی pTZ۵۷R/T همسانه سازی شد. کمیت رقابتگر پلاسمیدی با استفاده از نانودراپ اسپکتروفتومتری سنجیده شد و به صورت سریالی رقیق سازی شد. رقت های حاصل به همراه DNA استخراج شده از مایع شکمبه بطور همزمان تکثیر شدند. به منظور کمی سازی محصولات PCR پس از عکس برداری از ژل آگارز و استفاده از نرم افزار ImageJ، مقادیر تکثیر شده از DNA هدف در مقابل مقادیر تکثیر شده از رقابتگر به صورت لگاریتمی ترسیم شدند. از ضریب تبیین (R²) به عنوان معیاری جهت ارزیابی دقت تکنیک استفاده گردید. برای توسعه Real-time PCR، قطعه ۲۱۳ جفت بازی تکثیر شده و همسانه سازی شده در ناقل پلاسمیدی pTZ۵۷R/T به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد. نتایج نشان دادند که هر دو روش قابلیت استفاده برای شمارش باکتری های جنس بوتیریوبیوریو فیبری سالونس را دارا هستند و بنابراین می توانند به عنوان ابزارهای مناسب در تحقیقات مرتبط با این باکتری مورد استفاده قرار بگیرند.

کلمات کلیدی:

بوتیریوبیوریو فیبری سالونس، کمی سنجی اسیدهای نوکلئیک، QCPCR، Real-Time PCR

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/1420989>

