

EWA BORZEŃKA
ANNA HAWLICZEK
PIOTR GAWROŃSKI
MAGDALENA PAWEŁKOWICZ
KATARZYNA TOFIL
HANNA BOLIBOK-BRAGOSZEWSKA

Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin — Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie

e-mail: hanna_bolibok_bragoszevska@sggw.pl

Biblioteka BAC i technologia Oxford Nanopore w poszukiwaniu genów warunkujących istotne użytkowo cechy żyta *

Żyto (*Secale cereale* L.) to zboże ważne dla polskiego rolnictwa, charakteryzujące się dobrą odpornością na różne stresy biotyczne i abiotyczne, efektywnym wykorzystywaniem składników pokarmowych, a także właściwościami prozdrowotnymi. Podstawowymi przeszkodami w efektywnej identyfikacji genów warunkujących istotne cechy żyta jest jego duży genom (ok 8 Gpz) o bardzo wysokiej zawartości sekwencji powtórzonych (>90%) oraz obcocyplność i depresja wsobna, utrudniające uzyskiwanie odpowiednich materiałów roślinnych do analiz genetycznych. W efekcie wiedza o genach warunkujących ważne cechy żyta jest bardzo ograniczona.

Jednym z najpopularniejszych narzędzi wykorzystywanych w izolacji genów oraz analizach genomicznych są biblioteki BAC. Zastosowanie technik DArT i DArTseq pozwoliło na zakotwiczenie na zintegrowanej mapie genetycznej żyta łącznie 5631 klonów biblioteki BAC linii wsobnej żyta L318 oraz przypisanie poszczególnym klonom biblioteki w sumie 4482 markerów DArT i 41438 markerów DArTseq (Borzęcka i in., 2018). Informacje te w połączeniu z wynikami adnotacji funkcjonalnej markerów DArT (Gawroński i in., 2016) pozwoliły na wskazanie klonów BAC zawierających sekwencje powiązane z odpornością na choroby.

Obecnie pracujemy nad poznaniem pełnych sekwencji żytnich genów związanych z odpornością na choroby. W tym celu przy wykorzystaniu metody Oxford Nanopore zsekwencionowano dotychczas 7 klonów BAC o długości od ok. 105 do ok. 140 kbp,

* Badania sfinansowane ze środków NCN — projekt DEC-2014/14/E/NZ9/00285

przypuszczalnie zawierających geny odporności. Średnia długość otrzymanych odczytów wyniosła ok. 9500 pz, przy pokryciu ok. 2000. Najdłuższy uzyskany odczyt miał długość 99961 pz. Dotychczasowe wyniki sugerują, że jakość złożenia sekwencji klonu BAC uzyskanego na podstawie sekwencjonowania Nanopore jest lepsza w porównaniu do jakości złożenia uzyskanego na podstawie krótkich odczytów (Illumina). Dokładność sekwencjonowania, oszacowana poprzez porównanie uzyskanej sekwencji wektora pIndigoBAC-5 z sekwencją zdeponowaną w bazie GenBank wyniosła 99,5%. Analizy bioinformatyczne uzyskanych sekwencji klonów BAC pozwoliły na potwierdzenie w nich obecności poszukiwanych markerów DArT i wskazanie pełnej sekwencji przypuszczalnych genów, w których są te markery zlokalizowane. Wykazują one podobieństwo do opisanych u innych gatunków genów związanych z odpornością.

Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że przyjęta strategia pozwala na efektywną identyfikację poszukiwanych genów, stanowią również dodatkową weryfikację wiarygodności wyników przeglądania biblioteki BAC metodami DArT i DArTSeq.

LITERATURA

- Borzęcka i in., 2018. *Scientific Reports* 8: 8428.
Gawroński i in., 2016. *Frontiers in Plant Science* 7: 1600.