بسم الله الرحمن الرحيم

پردیس بین المللی ارس

گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

عنوان

همسانه‌سازی نواحی جناحین ناقل‌های پلاستیدی فلفل (*Capsicum annuum*)

استاد راهنما

دکتر بهرام باغبان

استاد مشاور

دکتر مجید نوروزی

پژوهشگر

میثم سمیعی

شهریور ۱۳۹۳

تقدیم به

خانواده عزیزم، بویژه به دو گل بی خار جهان، هستی، پدر و مادرم، آنهاییکه بی هیچ مزد و منتی مدام در پی آسایش و رفاه زندگانی ما هستند، کسانی که وجود مقدسشان تنها یکبار نصیب آدمی می شود. حضور پر مهرشان در کنارم به زندگانی ام رنگ معنا می بخشد.

سپاسگزاری

نخستین سپاس و ستایش از آن خداوندی است که بنده کوچکش را در دریای بیکران اندیشه، قطره ای ساخت تا وسعت آن را از دریچه اندیشه های ناب آموزگارانی بزرگ به تماشا نشیند. لذا اکنون که در سایه سار بنده نوازی هایش پایان نامه حاضر به انجام رسیده است، بر خود لازم می دانم تا مراتب سپاس را از بزرگوارانی به جا آورم که اگر دست یاریگرشان نبود، هرگز این پایان نامه به انجام نمی رسید.

از استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر باغبان که زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده داشتند، کمال سپاس را دارم. از استاد عالی قدرم جناب آقای دکتر نوروزی که زحمت مشاوره این پایان نامه را متحمل شدند، صمیمانه تشکر می کنم.

سپاس آخر را به مهربانترین همراهان زندگیم، به پدر، مادر عزیزم تقدیم می کنم که حضورشان در فضای زندگیم مصداق بی ریای سخاوت بوده است.

نام خانوادگی : سمیعی **نام : میثم**

عنوان پایان نامه: همسانه‌سازی نواحی جناحین ناقل‌های پلاستیدی فلفل(*Capsicum annuum*)

استاد راهنما : دکتر بهرام باغبان **استاد مشاور : دکتر مجید نوروزی**

مقطع تحصیلی : کارشناسی ارشد **رشته: بیوتکنولوژی کشاورزی** **گرایش: -**

دانشگاه: تبریز **دانشکده: پردیس بین‌المللی ارس** **تعداد صفحه: ۹۸**

تاریخ فارغ التحصیلی: شهریور ۱۳۹۳

واژه‌های کلیدی: پلاستید، فلفل، نواحی‌جناحین، همسانه‌سازی

چکیده:

فلفل با نام علمی *Capsicum annuum* L. گیاهی یک ساله متعلق به خانواده سولاناسه (Solanaceae) و دارای خواص دارویی بسیار ارزشمند بوده و در درمان بسیاری از بیماریها از جمله بیماریهای قلبی، فشارخون بالا، چاقی دیابت و نیز در افزایش اشتها کاربرد دارد. با توجه به اهمیت انواع پلاست در این گیاه، تولید گیاهان ترانس پلاستومیک فلفل ارزشمند بوده و اجرای این تحقیق به عنوان اولین حلقه‌ی اساسی هدف گیری شده است. مرحله نخست در این تحقیق تعیین نواحی جناحین در ژنوم کلروپلاست بوده که از ناحیه ژنومی کلروپلاست انتخاب شد. آغازگرهای اختصاصی بر اساس توالی نوکلئوتیدی دانلود شده از بانک اطلاعاتی NCBI و به کمک نرم‌افزار پرایمربلاست طراحی گردیده و قطعه DNA پلاستیدیِ هدف گیری شده، بوسیله واکنش زنجیره‌ایِ پلیمراز تکثیر و سپس به کمک تکنیک T/A-Cloning همسانه‌سازی شد. در این همسانه‌سازی از سویه DH5α باکتری‌های *E.coli* و ناقل خطی pTG19-T استفاده گردید. برای آنالیز باکتری‌های تراریخته از کلنی PCR و روش برش آنزیمی به کمک مکان‌های برشی تعبیه شده در آغازگرها استفاده شد. جهت توالی یابی قطعه همسانه‌سازی شده، پلاسمید هایِ نوترکیب استخراج شده به روش کیت به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال و نتایج توالی‌یابی صحت همسانه‌سازی را تایید کرد. **میزان تشابه نتایج توالی‌یابی شده با توالی مرجع ۹۹٪ و تغییرات نوکلئوتیدی در نواحی همسانه‌سازی شده مربوط به تغییرات جایگزینی و اضافه شدن بود.**

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
مقدمه	۱
فصل اول : بررسی منابع	۳
۱-۱- مبدا و تاریخچه فلفل	٤
۱-۲- گیاهشناسی	٥
۱-۳- ارزش اقتصادی	٥
۱-٤- پلاستیدها	٦
۱-٤-۱- خاستگاه پلاستید	٦
۱-٤-۲- ژنوم پلاستید	۷
۱-٤-۳- انواع پلاستید	۸
۱-٤-٤- مهندسی ژنتیک کلروپلاست	۹
۱-٤-٤-۱- مهندسی ژنتیک کلروپلاست در خانواده سولاناسه	۱۰
۱-٤-٥- تراریختگی پلاستیدی در گیاهان عالی	۱٤
۱-٤-٦- مزایا تراریختی کلروپلاستی	۱٤
۱-٤-۷- ناقل‌های پلاستیدی	۱٦
۱-٤-۷-۱- نواحی جناحین	۱۷
۱-٤-۷-۲- ژن نشانگر انتخابی	۱۹
۱-٤-۷-۳- ناقل‌های عمومی	۲۰

فصل دوم مواد و روش‌ها ۲۱

۲-۱- بررسی های بیوانفورماتیکی ۲۲

۲-۲- طراحی آغازگرها ۲۲

۲-۳- استخراج DNA کل ۲۳

۲-٤- بررسی کمیت و کیفیت DNA کل استخراجی ۲٦

۲-۵- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۲۷

۲-٦- خالص سازی DNA از ژل آگارز ۲۹

۲-۷- واکنش اتصال ۳۰

۲-۸- تهیه سلول‌های مستعدباکتریایی ۳۲

۲-۹- تراریختی باکتری‌های مستعد ۳۳

۲-۱۰- غربالگری ۳۳

۲-۱۱- آزمون کلنی PCR ۳٤

۲-۱۲- استخراج پلاسمید به روش لیز قلیایی ۳٤

۲-۱۳- بررسی حضور قطعه *rbcL-accD* توسط آنزیم برشی ۳٦

۲-۱۳-۱- برش با آنزیم *Eco*RI ۳٦

۲-۱٤- بررسی حضور قطعه *trnV-rps12* توسط آنزیم برشی ۳۷

۲-۱٤-۱- برش با آنزیم *Eco*RI ۳۷

۲-۱۵- استخراج پلاسمید دارای قطعه توسط کیت و ارسال جهت توالی‌یابی ۳۷

فصل سوم : نتایج و بحث ٤۰

۳-۱- شناسایی و تعیین نواحی جناحین ٤۱

۳-۲- آغازگرهای اختصاصی ٤۱

۳-۳- استخراج DNA کل	٤٨
۳-٤- بررسی کمیت و کیفیت DNA کل استخراجی	٤٩
۳-٥- واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز	٤٩
۳-٦- خالص سازی قطعات تکثیر یافته از ژل آگارز	٥١
۳-٦- اتصال قطعات تکثیریافته به ناقل همسانه‌سازی	٥٢
۳-۷- آماده سازی سلول های باکتریایی مستعد	٥٣
۳-۸- تراریختی باکتری‌های مستعد	٥٤
۳-۹- غربالگری	٥٤
۳-۱۰- آزمون کلنی PCR	٥٦
۳-۱۱- استخراج پلاسمید	٥٨
۳-۱۲- بررسی حضور قطعه توسط آنزیم برشی	٥٩
۳-۱۳- توالی‌یابی و بررسی‌های بیوانفورماتیکی	٦٠
۳-۱٤- نتیجه‌گیری و پیشنهادات	۷۱
منابع	۷۲
پیوست	۸۹
چکیده به انگلیسی	

فهرست جداول

جدول ۱-۱- ترکیب غذایی فلفل در ۱۰۰ گرم ماده تازه قابل مصرف ٦
جدول ۲-۱- مواد مورد نیاز واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۲۷
جدول ۲-۲- برنامه چرخه‌های دمایی واکنش PCR ۲۸
جدول ۲-۳- مواد واکنش اتصال ۳۰
جدول ۲-٤- ترکیبات برش با آنزیم *Eco*RI ۳٦
جدول ۲-۵- ترکیبات برش با آنزیم *Eco*RI ۳۸
جدول ۳-۱-آغازگرهای قطعه *rbcL-accD* ٤۷
جدول ۳-۲- آغازگرهای قطعه *trnV-rps12* ٤۸
جدول ۳-۳ تغییرات نوکلوتیدی در نواحی همسانه‌سازی شده ٦۳

فهرست اشکال

شکل ۱-۱- نقشه ژنوم کلروپلاست فلفل ۱۳

شکل ۱-۲- شمای کلی از ناقل‌های پلاستیدی مشتمل بر نواحی جناحین(Flanking Regions) ۱۶

شکل ۱-۳- نواحی جناحین بکار رفته در ناقل‌های پلاستیدی از گونه‌های گیاهی متفاوت ۱۸

شکل ۲-۱- جستجو در سایت NCBI ۲۲

شکل ۲-۲- کشت گلدانی فلفل دلمه‌ای رقم کالیفرنیا واندر ۲٤

شکل ۲-۳- دستگاه الکتروفورز ۲٦

شکل ۲-٤- دستگاه PCR ۲۷

شکل ۲-۵- گرادیان دمایی دستگاه PCR ۲۸

شکل ۲-٦- واکنش اتصال ۳۱

شکل ۲-۷- ناقل همسانه‌سازی pTG19-T ۳۱

شکل ۲-۸- برداشتن کلنی سفید و انتقال به میکروتیوب ۳٤

شکل ۲-۹- برش قطعه *rbcL-accD* با آنزیم *Eco*RI ۳۷

شکل ۲-۱۰- برش قطعه *trnV-rps12* با آنزیم *Eco*RI ۳۸

شکل ۳-۱- اولین جفت پرایمر طراحی شده ناحیه *rbcL-accD* توسط نرم‌افزار Primer-Blast ٤۲

شکل ۳-۲- اولین جفت پرایمر طراحی شده ناحیه *trnV-rps12* توسط نرم‌افزار Primer-Blast ٤۲

شکل ۳-۳- لیست آنزیم‌های غیربرشی و قرارگیری سایت‌های برشی در آغازگرهای قطعه *rbcL-accD* ٤٤

شکل ۳-٤- لیست آنزیم‌های غیربرشی و قرار گیری سایت‌های برشی در آغازگرهای قطعه *trnV-rps12* ٤۵

شکل ۳-۵- ساختارهای سنجاق سر و دایمرهای انفرادی و مخلوط آغازگرهای*rbcL-accD* ٤٦

شکل ۳-٦- ساختارهای سنجاق سر و دایمرهای انفرادی و مخلوط آغازگرهای*trnV-rps12* ٤۷

شکل ۳-۷- الکتروفورز DNA ژنومی ٤۹

شکل ۳-۸- الکتروفورز قطعه تکثیر یافته *rbcL-accD* در شیب دمایی ۵۰

شکل ۳-۹- الکتروفورز قطعه تکثیریافته *trnV-rps12* در شیب دمایی ۵۰

شکل ۳-۱۰- قطعه *rbcL-accD* خالص سازی شده ۵۱

شکل ۳-۱۱- قطعه *trnV-rps12* خالص سازی شده ۵۲

شکل ۳-۱۲- واکنش اتصال ۵۳

شکل ۳-۱۳- آزمون کارایی سلول‌های مستعد ٥٤

شکل ۳-۱٤- مبنای استفاده از دخول غیرفعال کننده در ژن Lac z ۵۵

شکل ۳-۱۵- غربالگری پلاسمیدهای حاوی قطعه ٥٦

شکل ۳-۱٦- آزمون کلنی PCR قطعه *rbcL-accD* ۵۷

شکل ۳-۱۷- آزمون کلنی PCR قطعه*trnV-rps12* ۵۷

شکل ۳-۱۸- استخراج پلاسمید نوترکیب ۵۸

شکل ۳-۱۹- برش ناقل همسانه‌سازی pTG19-T حاوی قطعه *rbcL-accD* با آنزیم *Eco*RI ۵۹

شکل ۳-۲۰- تصویر شماتیک برش ناقل همسانه‌سازی pTG19-T حاوی قطعه *rbcL-accD* با آنزیم *Eco*RI ۵۹

شکل ۳-۲۱- برش ناقل همسانه‌سازی pTG19-T حاوی قطعه *trnV-rps12* با آنزیم *Eco*RI ٦۰

شکل ۳- ۲۲- تصویر شماتیک برش ناقل همسانه‌سازی pTG19-T حاوی قطعه *trnV-rps12* با آنزیم *Eco*RI ٦۰

شکل ۳-۲۳- نمای شماتیک قطعات همسانه‌سازی *rbcL-accD* ٦۱

شکل ۳-۲٤- نمای شماتیک قطعات همسانه‌سازی *trnV-rps12* ٦۱

شکل ۳-۲۵- قطعه حاصل از توالی یابی ناحیه *rbcL-accD* ٦۲

شکل ۳-۲٦- قطعه حاصل از توالی یابی ناحیه *trnV-rps12* ٦۳

شکل ۳-۲۷- همردیفی قطعه *rbcL-accD* با توالی مرجع (NC_018552) ٦٦

شکل ۳-۲۸- همردیغی قطعه*trnV-rps12* با توالی مرجع (NC_018552) ٦۸

شکل ۳-۲۹- بلاست قطعه *rbcL-accD* در NCBI ٦۹

شکل ۳-۳۰- بلاست قطعه *trnV-rps12* در NCBI ۷۰

کروماتوگرام قطعه *rbcL-accD* ۹۳

کروماتوگرام قطعه *trnV-rps12* ۹۶

مقدمه

فلفل (*Capsicum annuum* L.) گیاهی یکساله و متعلق به خانواده سولاناسه هست (کیم وهمکاران، ۲۰۰۸). این گیاه همانند اغلب گونه‌های این خانواده، دارای مصارف تغذیه‌ای هستند (ونگ وهمکاران، ۲۰۰۸). بعلاوه، این سبزی سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی مثل ویتامین C است (وریزکو و میکالوج، ۲۰۱۱).

با توجه به میزان تولید و مصرف فلفل در کشور از یک سو که در سال ۲۰۱۱ در حدود ۵۰۸۰۰ تن بوده است (FAO,۲۰۱۱) و اهمیت فناوری تراریختی پلاستیدی از سوی دیگر، هر گونه تلاش برای دستیابی به تولید فلفل ترانس‌پلاستومیک[1] منطقی به نظر می‌رسد.

از زمان اولین گزارش تراریختیِ کلروپلاستی (بوینتن و همکاران، ۱۹۸۸، سواب و همکاران، ۱۹۹۰) امروزه این روش نسبت به تراریختی ژن‌های هسته‌ای با جذابیت بیشتری مورد توجه واقع شده است. مهندسی ژنتیک کلروپلاست نسبت به هسته چندین مزیت منحصر به فرد را داراست که شامل بیان بالای تراژن[2]، انتقال چند ژن در یک رویداد تراریختی (دانیل و ژینگرا، ۲۰۰۲، دانیل و همکاران، ۲۰۰۲، رویز و همکاران، ۲۰۰۳)، محصور نگه داشتن تراژن از طریق وراثت مادری، فقدان اثرات موضعی[3] تراژن (دانیل، ۲۰۰۲)، فقدان خاموشی ژن [4] (دکوزا و همکاران، ۲۰۰۱، لی و همکاران، ۲۰۰۳) و تولید انبوه پروتئین در کلروپلاست می‌باشد. تاکنون بیش از ۱٤ ناحیه بعنوان نواحی جناحین برای تراریختی پلاستیدی استفاده شده‌اند (مالیگا، ۲۰۰٤) .

بررسی تحقیقات انجام یافته نشان می‌دهد تاکنون فلفل ترانس‌پلاستومیک تولید نشده است. ناقل‌های انتقال ژن برای تراریختی پلاست‌ها دارای دومولفه‌ی جداگانه هستند و تامین این نیازها دارای اولویت می‌باشند. این دو مولفه یکی ناقل اختصاصی پایه بوده که بخاطر برخورداری از نواحی ژنومی مورد نیاز بایستی حاوی توالی کلروپلاستی از گونه مورد هدف باشد و دیگری کاست بیانی مورد نظر محقق است.

1. Transplastomic
2. Transgene
3. Position effect
4. *gene silencing*

توالی جناحین[1] ، توالی DNA ژنوم کلروپلاستی همسانه‌سازی شده و در ناقل‌های انتقال ژن به پلاست‌ها هستند که با مکان درج ژن(های) مورد نظر در ژنوم کلروپلاست‌ها همولوژی دارند. این نواحی، وقوع نوترکیبی نوترکیبی[2] را ممکن و ناحیه دقیق درج ژن(های) انتقالی به ژنوم کلروپلاست را معین می‌کند (ونکاتش و پارک، ۲۰۱۲). هدف از این تحقیق تعیین مکان درج ژن‌های مورد نظر و همسانه‌سازی این نواحی اختصاصی از ژنوم کلروپلاستی فلفل در یک ناقل پلاسمیدی است، بطوریکه این پلاسمید پایه اصلی ناقل پلاستیدی را تشکیل خواهد داد.

1. Flanking region
2. Recombination

فصل اول

بررسی منابع

۱-۱- مبدا و تاریخچه فلفل

فلفل (*Capsicum annuum*) اصل این گیاه از امریکای مرکزی بوده و پرو اولین کشوری بود که به کاشت آن اقدام کرد (اندروز، ۱۹۸٤). در حال حاضر کشت این گیاه در مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر در فضای آزاد ویا زیر پوشش‌های پلاستیکی رواج دارد. تا قرن نوزدهم انواع تند آن که دارای میوه‌های کوچکی بودند، کشت می‌شد. در دهه‌های اخیر به کاشت انواع شیرین آن که عاری از آلکالویید[1] کاپسایسین[2] است، اقدام می‌شود (پیوست، ۱۳۸۸).

فلفل از تیره بادنجانیان بوده بنابراین قرابت نزدیکی با گیاهان بادنجان، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و توتون دارد. در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری، ۲۰-۳۰ گونه مختلف از جنس *Capsicum* به صورت وحشی یافت می‌شود. انواع اهلی فلفل به ۵ گونه بزرگ و مهم تقسیم بندی شده که عبارتند از (اشبوگ، ۱۹۷۰) :

۱- *Capsicum annuum* L

۲- *C. chinenseIacqiuAcc*

۳- *C. pubescens Ruiz et ravon*

٤- *C. frutesens L.cv Tabasco*

۵- *C. baccatumVar pendulum*

سه گونه اولی دارای میوه‌های با طعم ملایم و درشت می‌باشند که به عنوان سبزی مورد استفاده قراز می‌گیرند و دوگونه بعدی (٤ و ۵) دارای میوه‌های تند و ریز هستند که جهت ادویه مصرف می‌گردند (شاموکالو، ۱۹۸۹).

تمام ارقام فلفل دیپلویید با $2n=2x=24$ می‌باشند. کلیه ارقام فلفل که کاشت آنها رایج است به گونه *annuum* تعلق دارد و فقط تاباسکو از گونه *frutesens* است که در آمریکا بطور تجارتی کشت می‌شود. رقم

1. Alkaloid
2. Capsaicin

کالیفرنیا واندر[1] که خاستگاه آمریکاست در ایران به عنوان بهترین رقم فلفل‌دلمه‌ای کاشته می‌شود (مبلی و پیراسته، ۱۳۷۳).

۱-۲- گیاهشناسی

گیاهی علفی، دارای ساقه‌هایی منشعب، محکم و ایستاده بوده و طول ساقه‌ها به ۰/۵ تا ۱/۵ متر هستند و ۳ تا ٤ میوه در انتهای هر ساقه تشکیل می‌شود (شیرانی و فیاض، ۱۳۹۰). نام فلفل همیشه با تیزی و تندی همرا بوده و منظور از آن نوعی فلفل با میوه‌های باریک و کشیده با طعم تند است که بعنوان ادویه و یا برای تهیه ترشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. عامل تندی در میوه‌های فلفل، ریزماده‌ای است آلکالوییدی بنام کاپسایسین که در جدار تخمدان بوجود می‌آید. هر چه مقدار این ماده در فلفل زیادتر باشد تندی آن هم بیشتر خواهد بود. با توجه به آلکالویید موجود در میوه، فلفل را به دو دسته تقسیم می‌کنند. فلفل دلمه‌ای، بدون آلکالویید بوده و دارای طعم شیرین می‌باشد و بعنوان سالاد و یا بصورت دلمه که داخل آن با گوشت و برنج پر می‌کنند، مورد تغذیه قرار می‌گیرد (مسیحا، ۱۳۷۳ و مبلی و پیراسته، ۱۳۷۳).

۱-۳- ارزش اقتصادی

فلفل حاوی آنتی‌بیوتیک کاپسایسین، پرووِیتامینA، ویتامین‌های B_2، B_1 (وریزکو و میکالوج، ۲۰۱۱) و سرشار از ویتامین D بوده و همچنین با دارا بودن مقدار قابل ملاحظه‌ای ویتامین C و مواد معدنی از ارزش غذایی و بهداشتی زیادی برخوردار می‌باشد. فلفل دلمه‌ای با دارا بودن ۱۰۰ تا ۱۲۵ میلی‌گرم ویتامین C در ۱۰۰ گرم ماده تازه قابل مصرف بعد از جعفری در صدر تمام سبزی‌ها قرار دارد (شاموکالو، ۱۹۸۹).

1. California wonder

جدول ۱-۱- ترکیب غذایی فلفل در ۱۰۰ گرم ماده تازه قابل مصرف (شاموکالو، ۱۹۸۹).

آب (درصد)	انرژی (درصد)	پروتئین (گرم)	کربوهیدرات (گرم)	چربی (گرم)	کلسیم (میلی‌گرم)	فسفر (میلی‌گرم)	آهن (میلی‌گرم)
۸۵/۵	۲۲	۲/۹	۵/۷	۰/٦	۳۰	۸۰	۱/۲
سدیم (میلی‌گرم)	پتاسیم (میلی‌گرم)	منیزیم (میلی‌گرم)	ویتامین A واحدبین‌المللی	ویتامین B_1 (میلی‌گرم)	ریبوفلاوین B_2 (میلی‌گرم)	نیاسین (میلی‌گرم)	ویتامین C (میلی‌گرم)
٦/۵	۲۱۷	۲٤	٦۳۰	۰/۱۹	۰/۳۹	۰/۵	۱۱۱

۱-٤- پلاستیدها

۱-٤-۱ خاستگاه پلاستید

کلروپلاست ها که مکان انجام فتوسنتز هستند، منبع اولیه‌ی تولیدات غذایی جهان را فراهم می‌کنند. از دیگر فعالیت های مهم که در پلاستیدها انجام می‌شود می‌توان به تولید اکسیژن، تثبیت کربن، تولید نشاسته، سنتز آمینواسیدها، اسیدهای چرب و رنگیزه ها و سوخت و ساز نیتروژن و سولفور اشاره کرد (ورما و دانیل، ۲۰۰۷). پلاستیدها، اندامک‌های سلول گیاهی با تعداد زیادی فرآیند بیوسنتتیک مهم دیگر از قبیل متابولیسم کارتنوییدها[1] و دیگر ایزوپرونوییدها[2] هستند(هیبرد وهمکاران، ۱۹۸۸ و ونویجک و باگینسکی، ۲۰۱۱).

کلروپلاست ها حاصل همزیستی داخلی سیانوباکتری‌های[3] فتوسنتزکننده در یک سلول یوکاریوتی می‌باشند که در طی تکامل بین هسته و این اندامک‌ها میزان زیادی از تبادل مواد ژنتیکی صورت پذیرفته هست (گولد وهمکاران، ۲۰۰۸، گرین، ۲۰۱۱، راوی و همکاران، ۲۰۰۸، ریس و همکاران، ۲۰۰۷ و سوگیورا، ۱۹۸۹).

1. Carotenoid
2. Isoprenoid
3. Cyanobacteria

پلاستیدها یک سیستم نوترکیبی فعال دارند (مالیگا و همکاران، ۱۹۹٤، کریوت و همکاران، ۱۹۹۵). بنابراین ژنوم یک حالت مداوم برای تبادل درون و برون مولکولی را دارد (گولدینگ و همکاران، ۱۹۹٦) که دقیقا درج هدفدار DNA کلون شده را تسهیل می‌کند. کلروپلاست بنظر می‌رسد که یک فضای ایده‌آل برای تجمع پروتئین‌های خاص و یا تولیدات بیوسنتیک شان می‌باشد که اگر این تجمع در سیتوپلاسم رخ دهد می‌تواند مضر هم باشد (دنیل و همکاران، ۲۰۰۱، ۲۰۰۵a، لی وهمکاران، ۲۰۰۳، لیلیاوتی و رِدی، ۲۰۰۳، رویز و دنیل، ۲۰۰۵).

۱-٤-۲ ژنوم پلاستید

گیاهان عالی دو ژنوم علاوه بر ژنوم هسته‌ای دارا می‌باشند : ژنوم اندامک‌ها یعنی میتوکندری و کلروپلاست (راهلمن، ۲۰۰۵). پلاستیدها ژنوم خودشان و دستگاه سنتز پروتئین را دارند. به هرحال ژن‌های هسته‌ای بسیاری از پروتئین‌های مورد استفاده در پلاستید را رمز می‌کنند (پاگسن و آلبرکت، ۲۰۱۱).

ژنوم کلروپلاستی یک مولکول DNA منفرد حلقوی و دارای مبدا همانندسازی مستقل بوده و بطور کلی می‌توان سه قسمت برای آن در نظر گرفت (گرویچ و دانیل، ۲۰۰۵) :

۱) دوناحیه تکراری معکوس[1]
۲) نواحی تک نسخه ای بزرگ[2]
۳) نواحی تک نسخه ای کوچک[3]

ژنوم کلروپلاست عمده گیاهان عالی دارای اندازه‌ی ۱۱۵-۱٦۵ کیلوبازی بوده و۹۰-۱۱۰ ژن منحصربفرد را دربرگرفته‌اند (جانسن و همکاران، ۲۰۰۵). هر سلول مزوفیلِ برگ حدود ۱۰۰۰-۱۰۰۰۰ نسخه از ژنوم پلاست را داراست (مالیگا، ۲۰۰۲ و۲۰۰۳). محصولات این ژن ها حدود ٪۲۰-۱۰ پروتئین پلاستید را تشکیل می دهند (سوگیورا، ۱۹۸۹).

1. Inverted Repeat
2. Larg Single Copy
3. Small Single Copy

تجزیه توالی بیش از ۱۷۰ گونه از گیاهان نشان می‌دهد که ساختار ژنوم کلروپلاستی و محتوای ژنی بشکل بسیار عالی محافظت شده است (دانیل و همکاران، ۲۰۰٦ و لزبرگ و دووال، ۲۰۰۹). اگر چه رویهم رفته ساختمان کلروپلاست بطور عالی محافظت شده است، بازآرایی و ساختارهای متفاوتی در چندین ژنوم کلروپلاستی کشف شده است که شامل واژگونی(گرینیر و همکاران، ۲۰۰۸ و کیم و لی، ۲۰۰۵)، دونسخه از ژن (پالمر و همکارن، ۱۹۸۷، کاملی و همکاران، ۲۰۰٦) و ناحیه آزاد تکراری معکوس (ساسکی و همکارن، ۲۰۰۵ و واکاسکی وهمکارن، ۱۹۹٤) می‌باشد. در سال های اخیر با افزایش تعداد ژنوم های کلروپلاستی که بطور کامل توالی‌یابی شده‌اند، دانش ما از سازماندهی و تکامل ژنوم های کلروپلاستی در حال گسترش است. شناخت توالی‌های ژنوم کلروپلاست به منظور شناسایی توالی‌های تنظیمی کلروپلاستی برای بیان مطلوب ژن خارجی امری ضروری محسوب می‌شود (ورما و دانیل، ۲۰۰۷).

۱-٤-۳ انواع پلاستید

بسته به نوع بافت و شرایط زیست محیطی، پروپلاست‌ها به انواع پلاستیدها از قبیل :

۱- کلروپلاست در فتوسنتز

۲- آمیلوپلاست در بافت ذخیره‌ای

۳- کروموپلاست در میوه و گلها

٤- گرانتوپلاست، پلاستیدهای برگ های پیر که برای تخصیص منابع مهم هستند

۵- اولئوپلاست که پلاستیدهای ذخیره‌ای روغن هستند

٦- اتیوپلاست که در مرحله پایانی رشد و نموِ پروپلاستید در بافت‌های فتوسنتز در تاریکی هستند، را شامل می‌شود.(هیبرد و همکاران، ۱۹۹۸).