

گزارش فرصت تحقیقاتی در دانشگاه وسترن استرالیا بر روی بیماری ساق‌سیاه کلزا (بخش ششم)

Research opportunity on Canola blackleg disease in Western university of Australia (part six)

با پشت سر گذاشتن آزمایشات اولیه برای شناسایی روی جدایه‌های قارچ عامل بیماری‌زا و اطمینان از غلظت اولیه برای امکان توالی‌یابی کامل ژنوم جدایه‌ها، وارد حساس‌ترین مرحله انجام آزمایشات شده بودم و مرور همه زحمات انجام شده از ابتدای تهیه پروپوزال، نمونه‌برداری‌های منطقه‌ای، کشت نمونه‌ها تا جداسازی و استخراج DNA، پیگیری اخذ مراحل طاقت‌فرسای فرصت مطالعاتی و مجموعه اتفاقات و مراحل که در سه-چهار ماه اولیه فرصت پشت سر گذاشته بودم و از طرفی زمانیکه، فشار ناشی از به اتمام رسیدن دوره پژوهشی و احتمالاتی که در ذهنم مبنی بر عدم امکان در اختیار داشتن زمان کافی برای تکمیل طرح به خاطر می‌آوردم فشار بیشتری بر من وارد می‌نمود. با امید به آینده و کمک مسئول آزمایشگاه (آنیتا) مراحل شروع ساخت کتابخانه ژنومی را که پیش‌نیاز ارسال نمونه‌های برای توالی‌یابی ژنومی بود شروع کردیم. مجموع کل این فرآیند در دو مرحله انجام گرفت. در مرحله اول بر روی ۱۰ نمونه و پس از تأیید نتیجه مرحله اول، بخش دوم بر روی ۸۵ نمونه باقیمانده و مجموعاً بر روی ۹۵ جدایه جداسازی شده قارچ عامل بیماری ساق سیاه کلزا از شمال ایران تهیه کتابخانه ژنومی انجام گرفت. این طرح در نوع خود و پیش از این تا تاریخ تهیه این گزارش در هیچ مرکز تحقیقات و دانشگاه بین‌المللی و داخلی و با این حجم انجام نشده است. کل این فرآیند در حدود یک ماه نیز طول کشید. تهیه کتابخانه ژنومی براساس دستور شرکت ایلومینا Illumina و براساس دستورالعمل Nextera DNA Flex Library Prep, October 2018 انجام گرفت. مجموعه کل این دستورالعمل در پنج گام انجام گرفت که به ترتیب شامل

۱- Tagment Genomic DNA (شامل حداقل چهار مرحله)

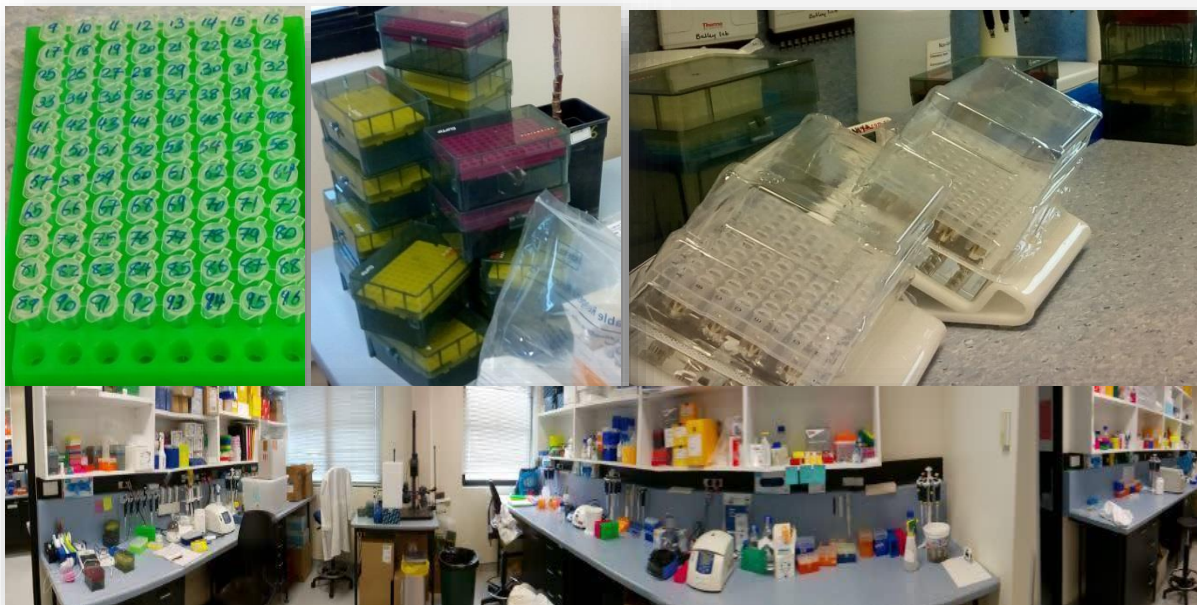
۲- Post tagmentation Cleanup (شامل حداقل شش مرحله)

۳- Amplify tagmented DNA (شامل حداقل شش مرحله)

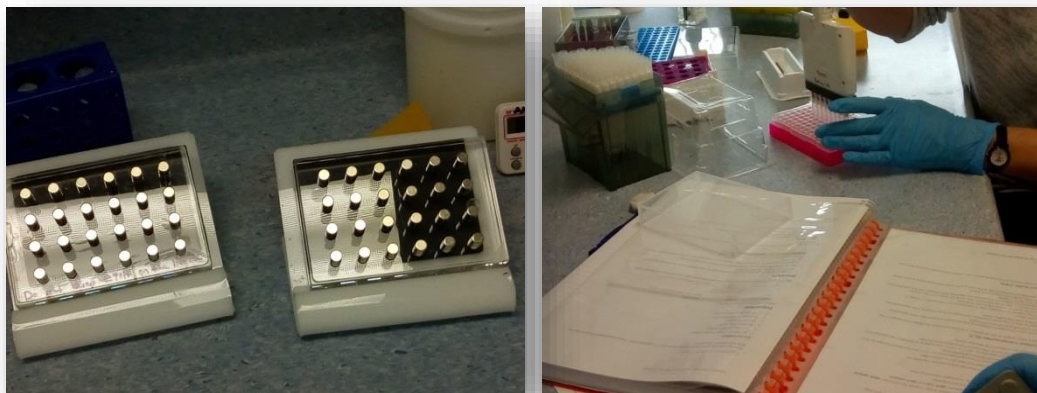
۴- Clean Up Libraries (شامل حداقل ۱۵ مرحله)

۵- Pool Libraries (شامل دو مرحله)





تمامی مراحل فوق در دستورالعمل ذکر شده وجود داشته و با توجه به حجم بالای توضیحات مربوطه در اینجا صرفاً به ذکر عناوین آن اشاره شده است. علت ذکر کلمه "حداقل" به دلیل این است که در مراحل انجام کار گام‌هایی وجود دارد که به صورت اختیاری بوده و جهت بالا رفتن کیفیت کار انجام می‌شود. پس از تهیه کتابخانه ژنومی نمونه‌ها برای شرکت طرف قرارداد با دانشگاه ارسال گردید و دقیقاً یک هفته قبل از برگشت بنده به ایران داده‌های خام آن که حدود 80Gb بوده برای دانشگاه ارسال گردید. در زمان نوشتن این گزارش ۹۸/۰۷/۱۸ به دلیل حجم بالای داده و پس از شش ماه برگشتن بنده از دوره فرصت تحقیقاتی هنوز بخش بیوانفورماتیک دانشگاه UWA بر روی تجزیه و تحلیل این داده‌ها در حال بررسی هستند. حسب پیشنهاد همکاران گروه بخش Biological Science دانشگاه UWA بنده چند روز قبل از عزیمت به ایران یک سمیناری در خصوص فعالیت‌های انجام شده روی این پروژه ارائه دادم که مورد استقبال همگی قرار گرفت به‌طوری‌که بعد از ارائه مجموعه فعالیت‌ها سرپرست گروه پروفیسور ژاکلین بتلی که در همین زمان به‌عنوان



دانشمند زن نمونه استرالیا در حوزه کشاورزی به دلیل نقش مؤثرش شناخته شده بود از بنده به دلیل فعالیت انجام شده قدردانی نمود. بلیط برگشت را قبل از عزیمت به استرالیا تهیه نمودم که به دلیل اینکه دوره تحقیقاتی بنده بیشتر از شش ماه به طول انجامید با پرداخت ۶۰ دلار تاریخ بلیط را تغییر داده و پس از خداحافظی از دوستان ایرانی و خارجی که پیدا کرده بودم به ایران بازگشتم. داده‌های حاصل از این آزمایشات آنقدر زیاد است که اگر تصمیم به بهره‌گیری از این داده‌ها شود حداقل بیش از ده‌ایی به طول خواهد انجامید. در پایان از حامیان مالی و معنوی انجام این پروژه تحقیقاتی در داخل و خارج از کشور سپاسگزارم.

۱. وزارت علوم، بخش تحصیلات تکمیلی دانشگاه زنجان با تأمین ۸۵ درصد هزینه‌های اقامت در استرالیا
۲. استاد راهنما، سرکار خانم دکتر رقیه همتی، دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه زنجان با حمایت‌های علمی و اداری در اخذ و گذراندن این فرصت و دوره تحقیقاتی
۳. استاد مشاور، پروفسور ژاکلین دانشگاه UWA در تأمین تمامی امکانات آزمایشگاهی و فضای کاری و تأمین هزینه حدود ۷۰ هزار دلار
۴. مدیرعامل شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی جناب آقای امیر عطایی فر برای صدور مجوز مأموریت کاری برای گذراندن این دوره در زمان اشتغال بنده
۵. مدیر تحقیقات و بذر شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی جناب آقای مهندس فروزان برای موافقت و تصویب اجرای طرح تحقیقاتی مذکور در شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

