

Diversity Arrays Technology (DArT)

david kopecký

*centrum strukturní a funkční genomiky rostlin
ústav experimentální botaniky av ČR
šlechtitelů 31, olomouc
<http://olomouc.ueb.cas.cz>*



Institute of Experimental
Botany of the AS CR, v. v. i.



1 December 2019

Early Bird registration opens

7 February 2020

Call for abstracts opens

23 March 2020

Deadline for abstracts

31 May 2020

Deadline for poster abstracts

15 June 2020

Programme finalised

23 August 2020

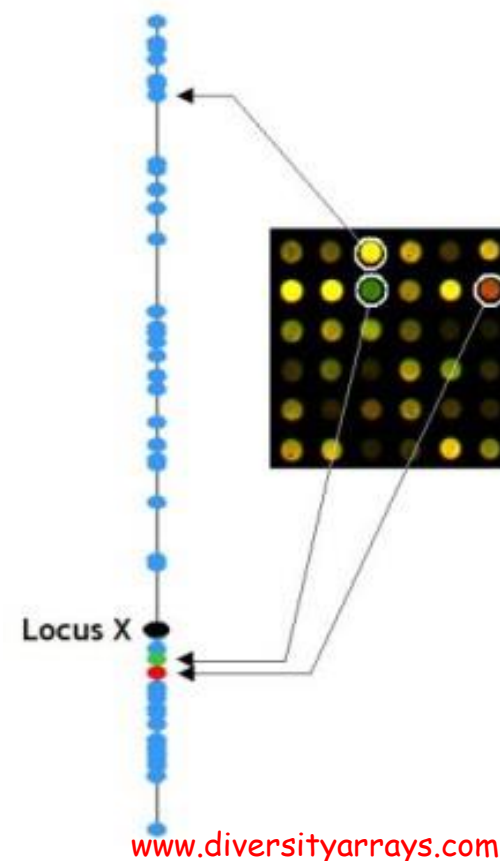
Symposium starts

<https://eucarpia2020.org/>

DArT technologie

Diversity Array Technology (původní)

- vyvinuta Dr. Andrzejem Kilianem (Canberra, Australia) (Jaccoud et al., 2001)
- Čipová (microarray) technologie
- dominantní DNA markery
- pozitiva: vysoký počet markerů, anonymní markery (mohou být sekvenované)
- negativa: u některých druhů nízký polymorfismus

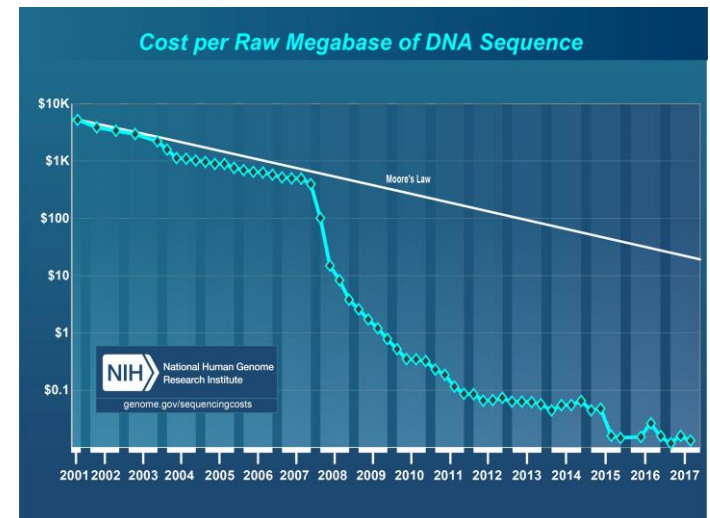


DArT technologie



Diversity Array Technology (nová)

- Od roku 2010 přechod na **DArTseq**
- Technologie založená na NG sekvenaci
- kodominantní DNA markery
- pozitiva: extrémně vysoký počet markerů
- negativa: ? (94 vzorků/cena)



DArT technologie

Redukce complexity DNA – genově bohaté sekvence

DArTseq 1.0 (low-medium-high) – cena 3tis., 5 tis. či 7tis. AUD

DArTseqLD (low density) – jen pro některé druhy

DArTseqMet – pro studium epigenetické regulace – jen pro některé druhy

DArT technologie

Izolace DNA (doporučeně CTAB – na webovkách DArT) – min. 10µl
(koncentrace 50-100ng/µl)

Důležité: dobře si rozmyslet soubor vzorků a nezapomenout na kontroly!!!

Uspořádat do misky, vyplnit formulář, dát pozor na označení vzorků a umístění a poslat (Fedex)

Do dvou měsíců výsledky: SNP a Silico

Info Meta Scores900912317019

18.02.2020 11:22

DArTFest array

První čip pro trávy komplexu *Festuca-Lolium*

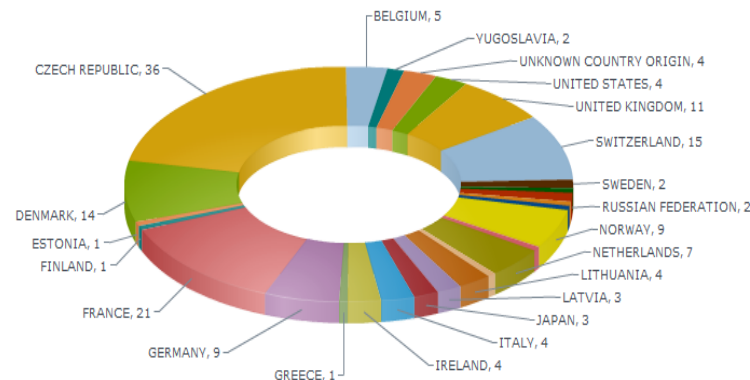
materiál: 5 druhů

- 40 genotypů *Lolium perenne* (2x, 4x)
- 40 genotypů *L. multiflorum* (2x, 4x)
- 40 genotypů *Festuca pratensis* (2x, 4x)
- 40 genotypů *F. arundinacea* (6x)
- 7 genotypů *F. glaucescens* (4x)

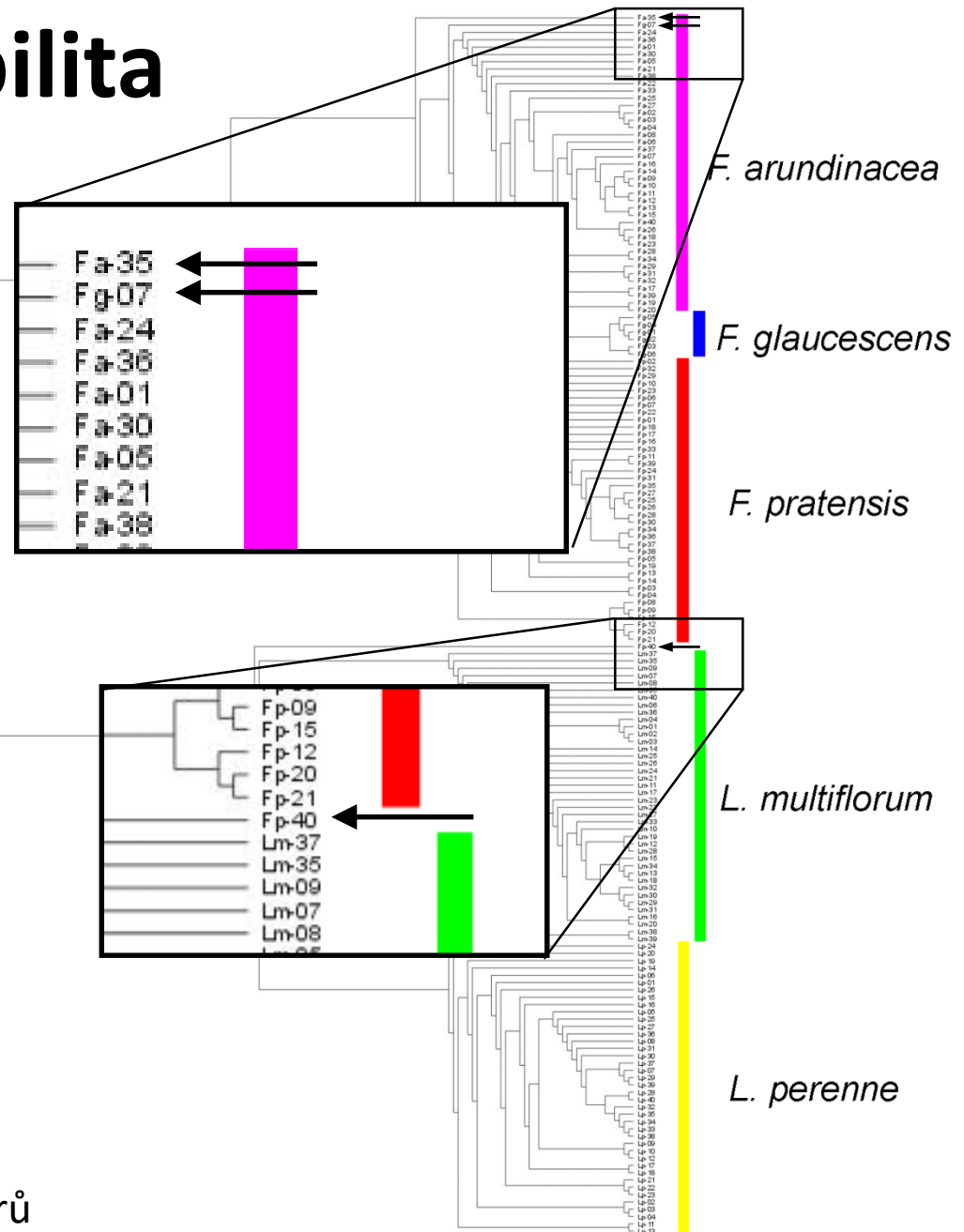
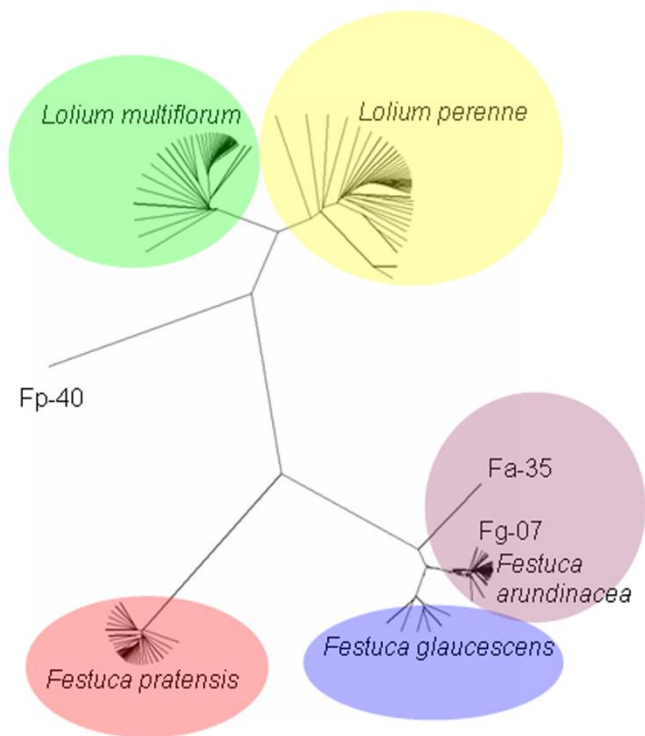
Čip: 7680 sond

Počet polymorfních markerů: ~4500

Cena: ~ \$50,000



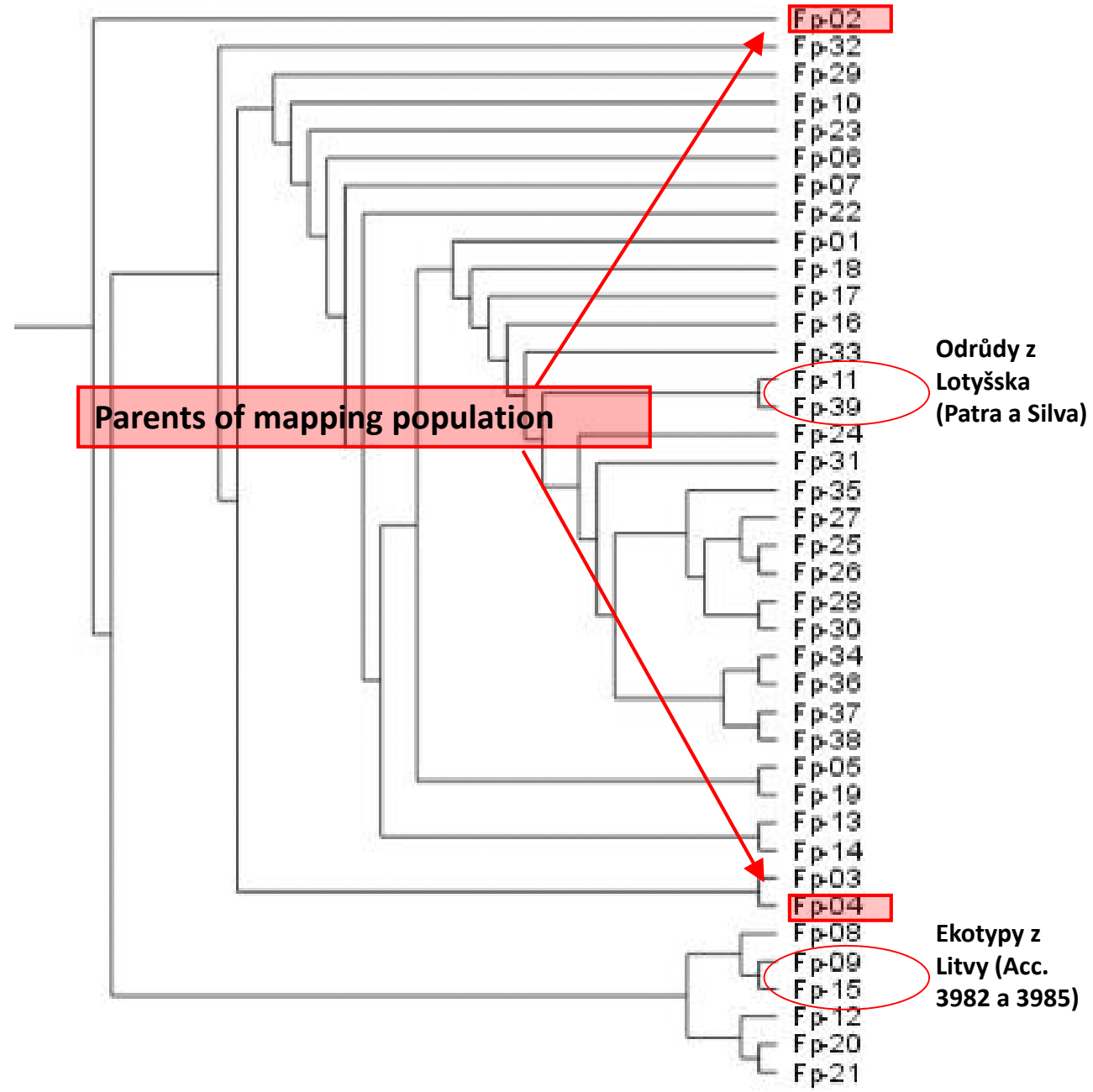
Genetická variabilita



Založeno na analýze 2637 DArT markerů

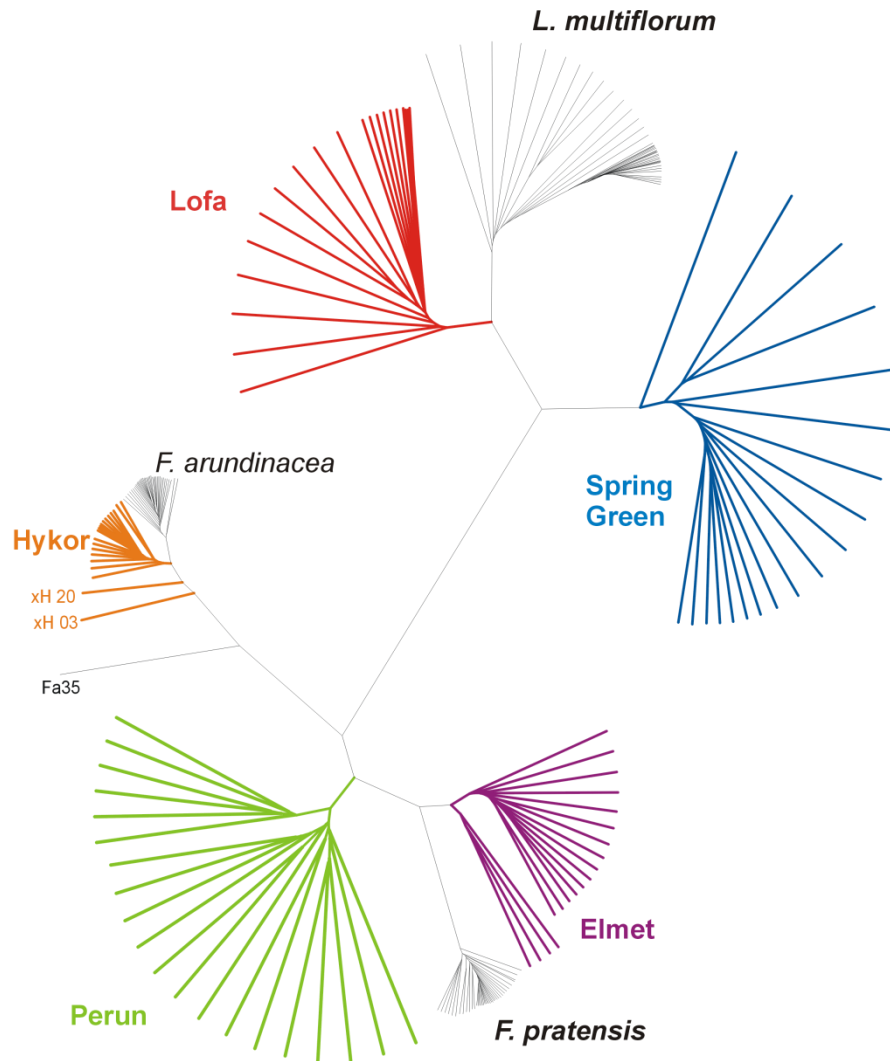
Genetická variabilita

(*F. pratensis*)

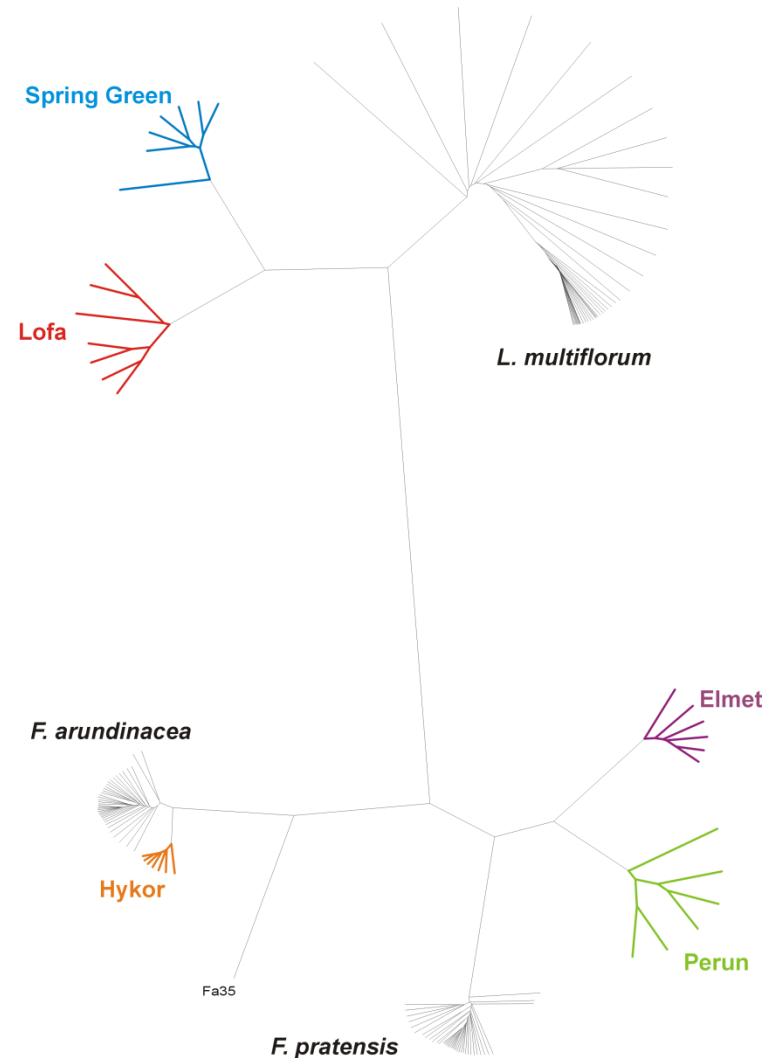


Genetická variabilita u hybridů

jednotlivé rostliny

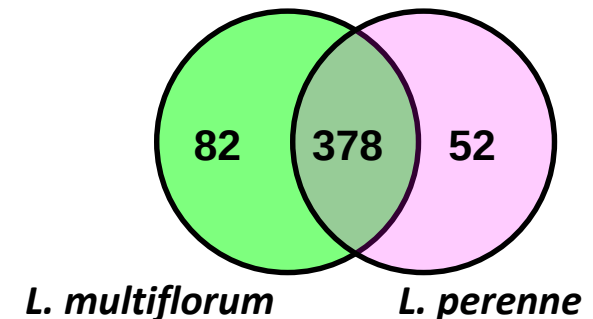
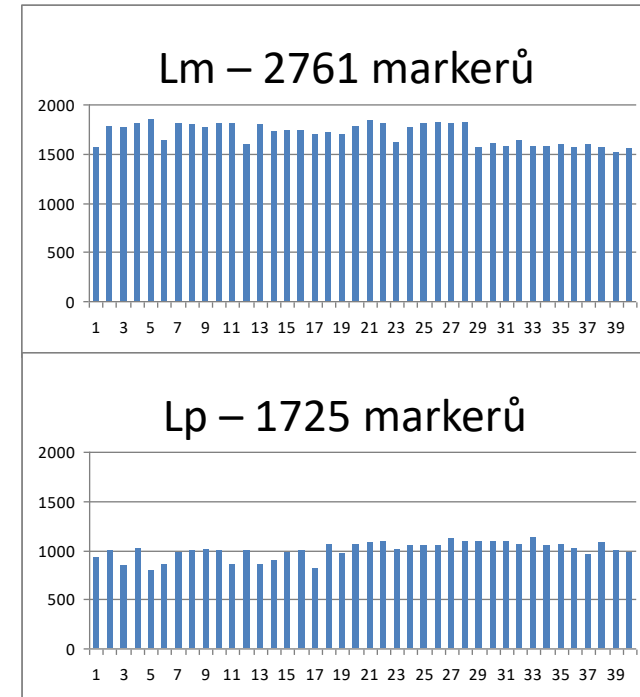
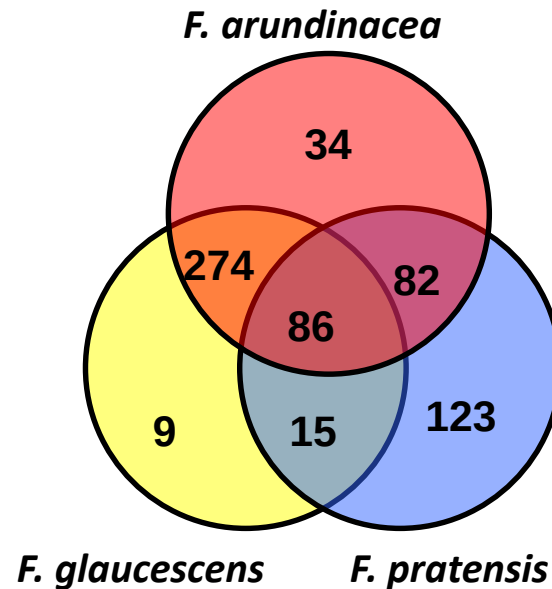
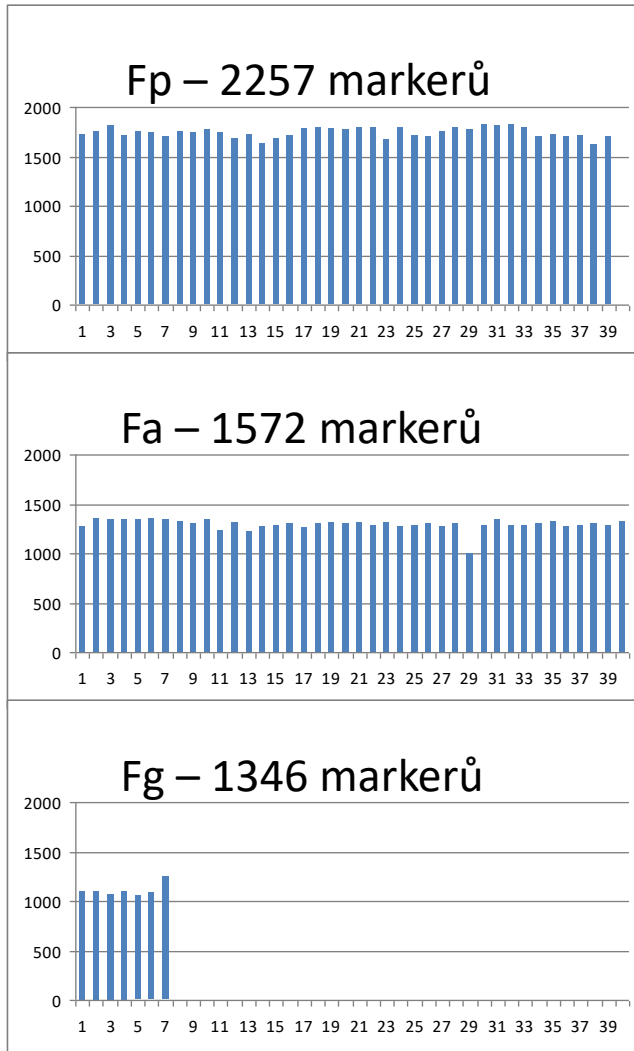


Směsné vzorky

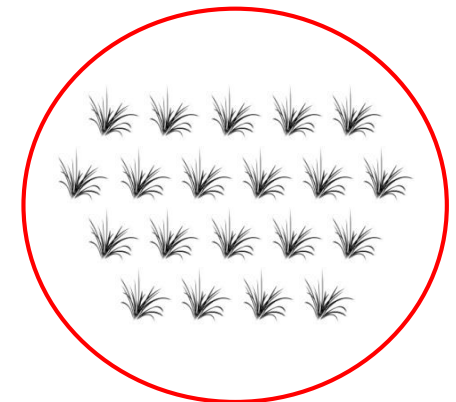
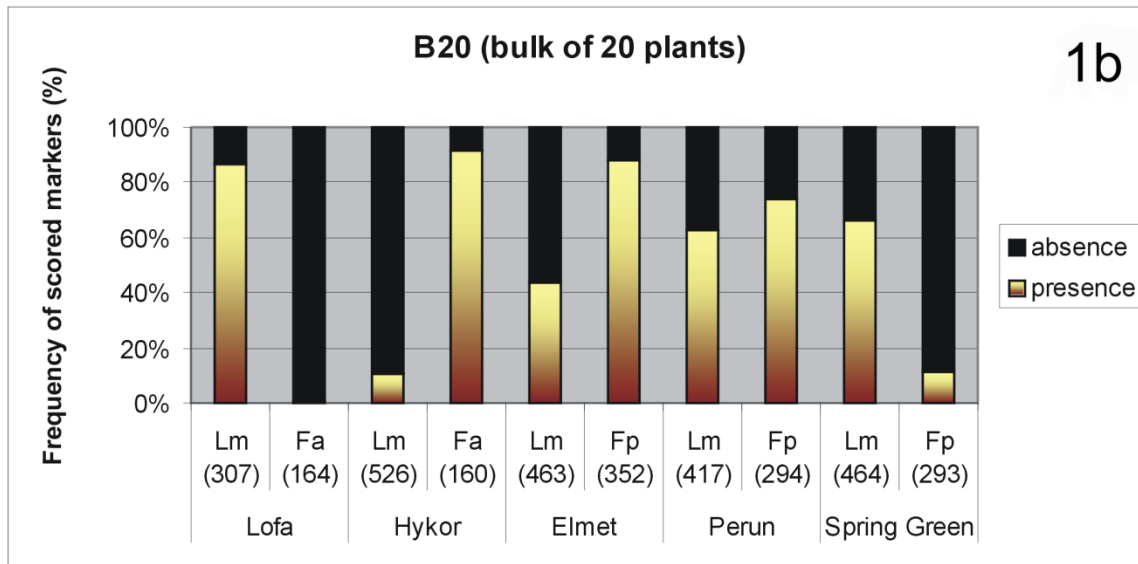
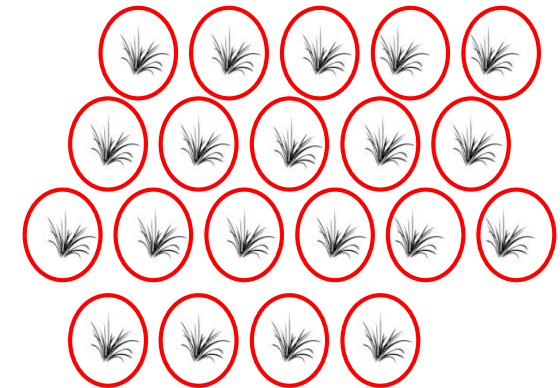
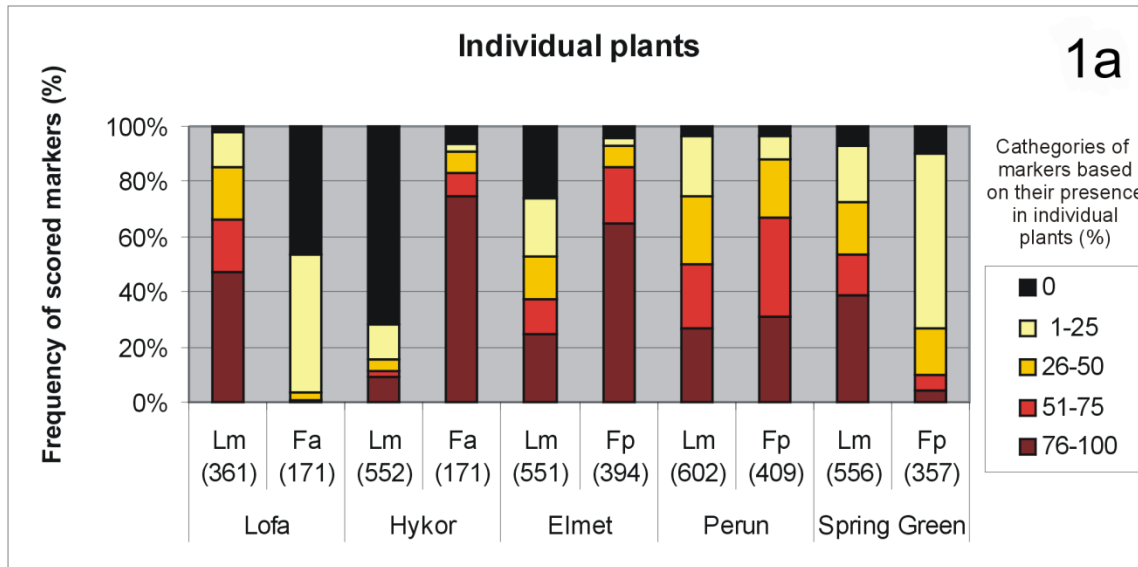


Na základě 1471 DArT markerů

DArTFest : rodově- a druhově-specifické markery

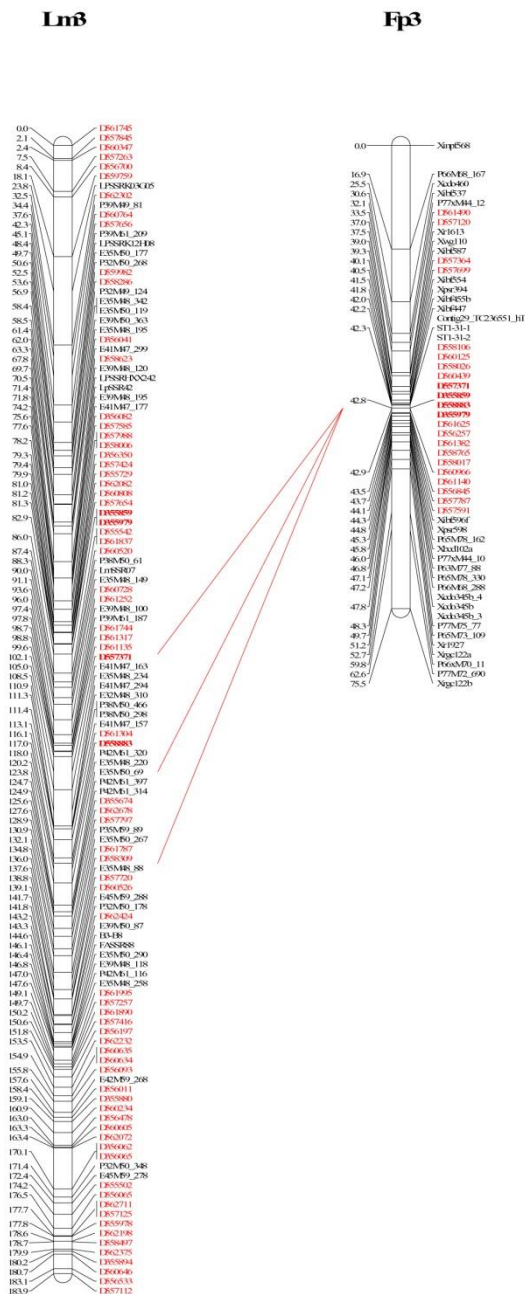


Genomové složení hybridů xFestulolium



genetické mapování

	<i>Festuca pratensis</i>		<i>Lolium multiflorum</i>	
	pre-DArT markery	DArT	pre-DArT markery	DArT
LG1	61	23	63	67
LG2	26	10	43	73
LG3	34	22	49	73
LG4	68	22	61	106
LG5	70	12	43	71
LG6	49	27	35	63
LG7	65	32	68	76
Celkem	373	148	352	529



sekvenování

Přes 1000 DArT markerů sekvenováno

Výsledky pro 621 markerů zamapovaných na genetických mapách

303,297 bp (=488.4 bp)

399 markerů byly singletony (64.3%)

222 markerů bylo redundantních (to 90 marker bins)

= 489 non-redundant markers/bins

44 markerů obsahovalo repetitivní elementy (=7.1%)

368 (59.3%) DArT markerů mělo homologii k přepisovaným sekvencím

163 (26.2%) DArT markerů mělo homologii ke známým nebo hypotetickým proteinům

379 DArT markerů (293 non-redundant bins) bylo identifikováno jako sekvence odvozené ze známých genových oblastí

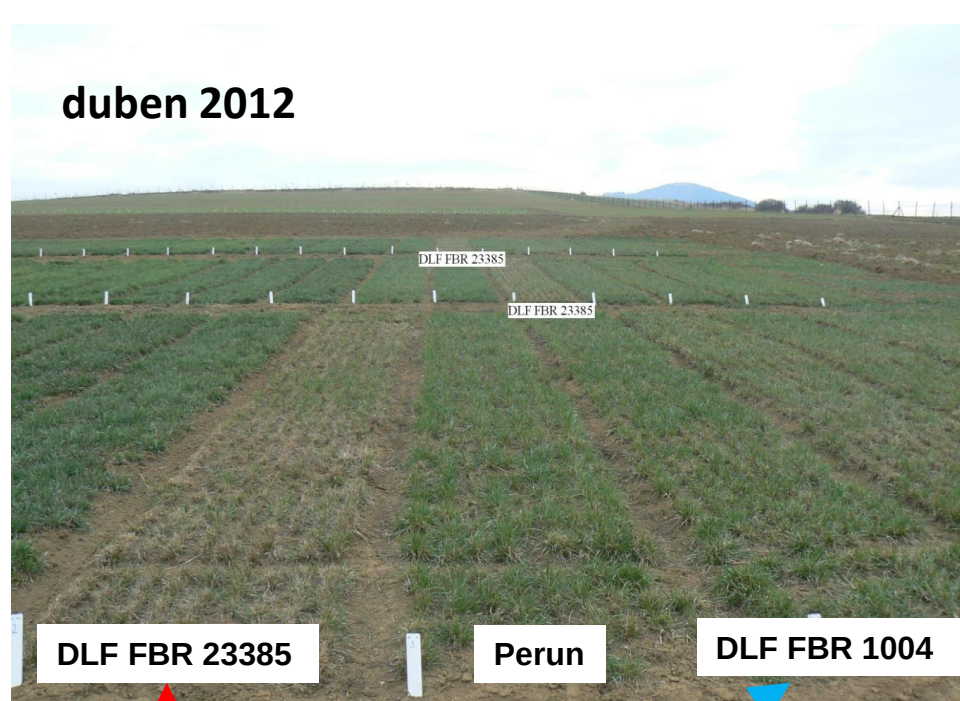


Šlechtění pomocí markerů???

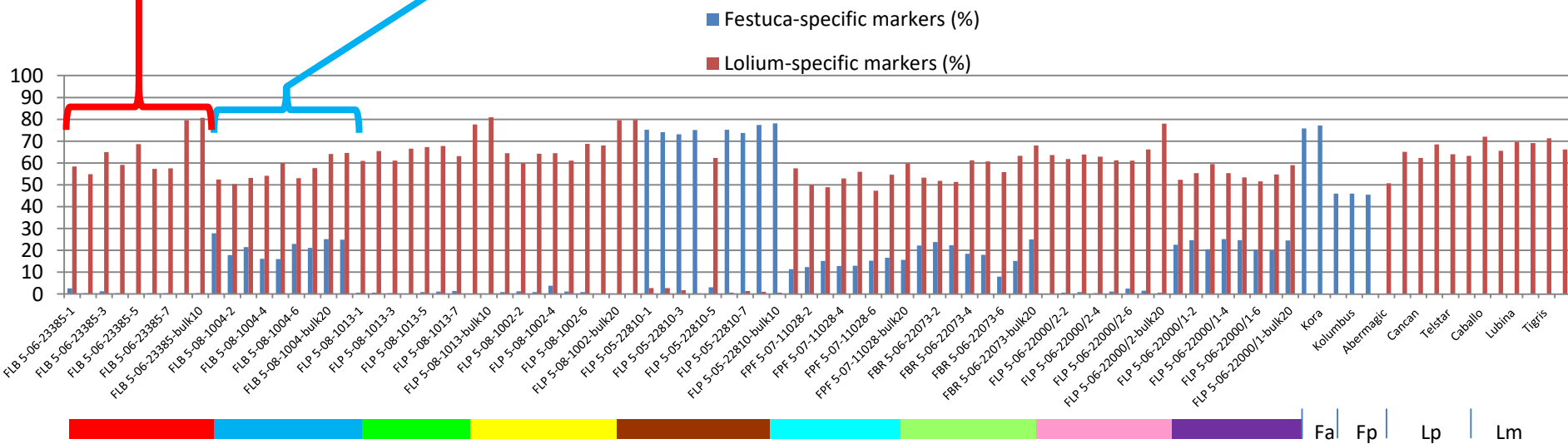
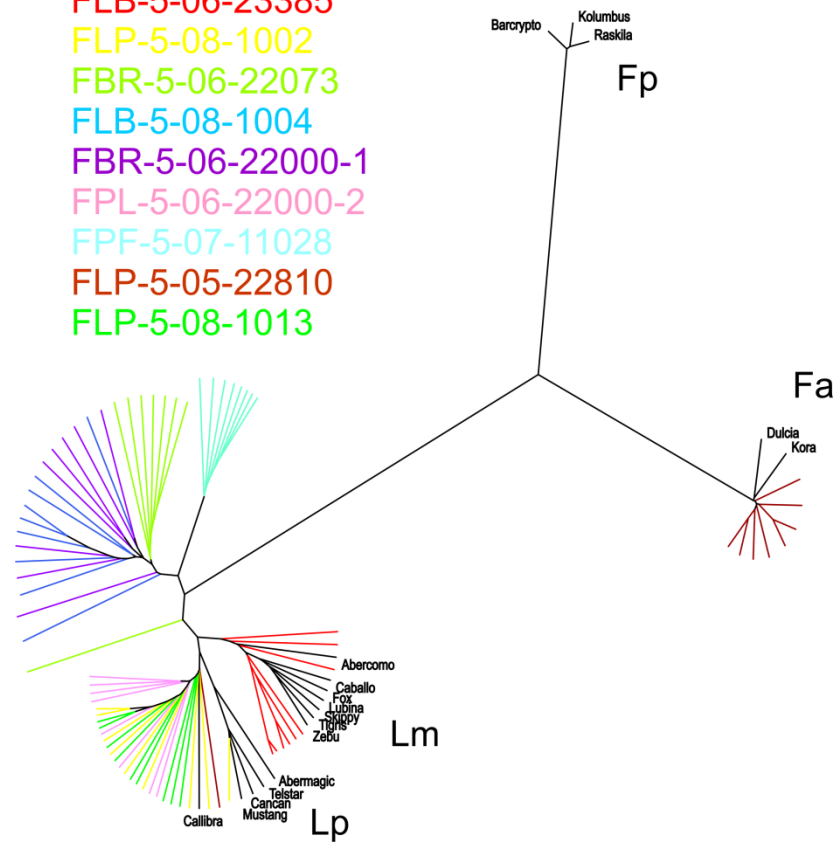
	++	--
mrazuvzdornost	51	45
Plíseň sněžná	47	49
Rez	71	14

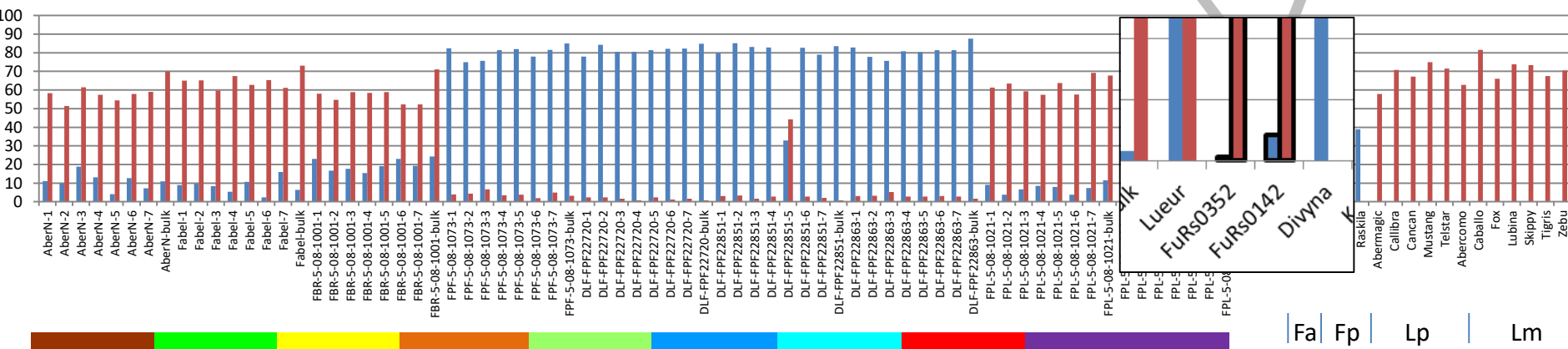
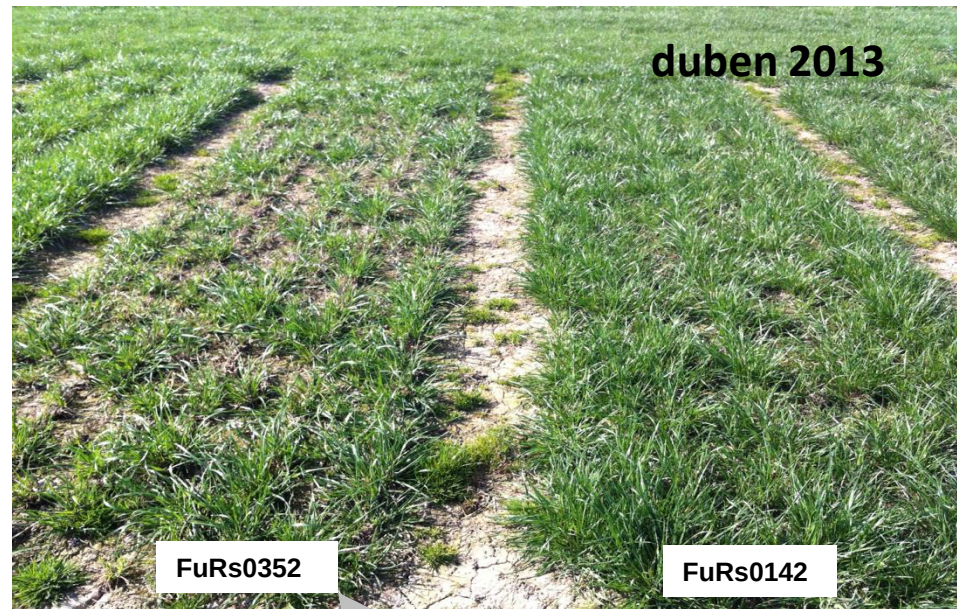
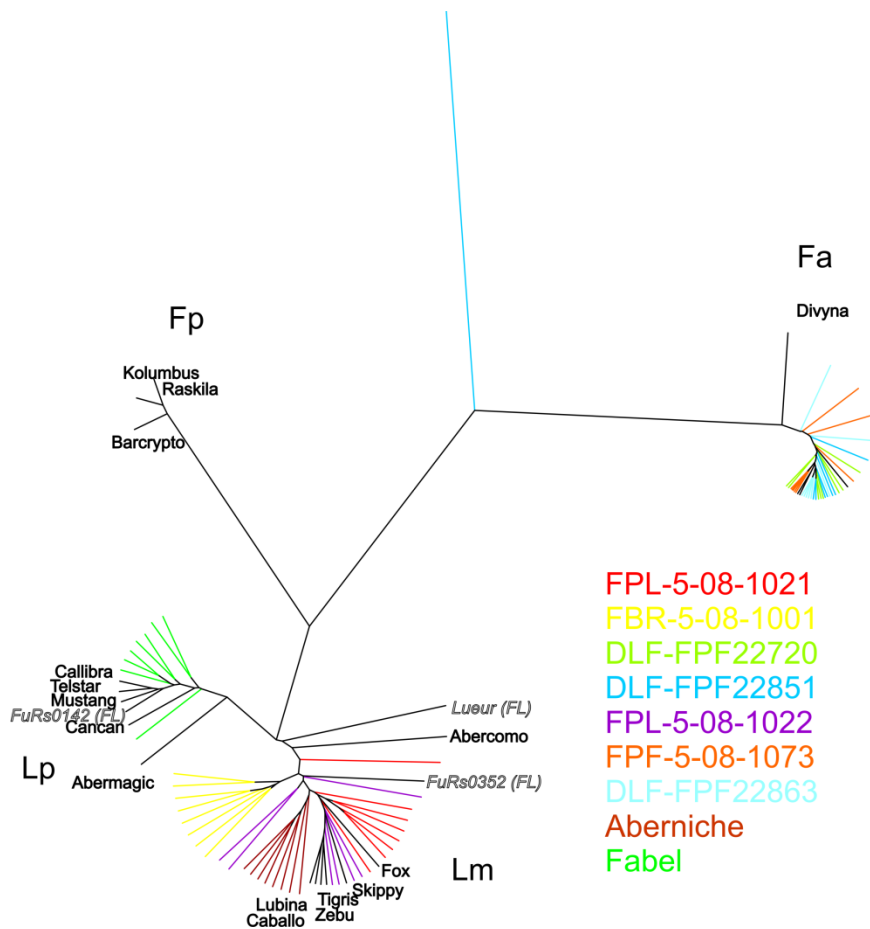


duben 2012



FLB-5-06-23385
 FLP-5-08-1002
 FBR-5-06-22073
 FLB-5-08-1004
 FBR-5-06-22000-1
 FPL-5-06-22000-2
 FPF-5-07-11028
 FLP-5-05-22810
 FLP-5-08-1013



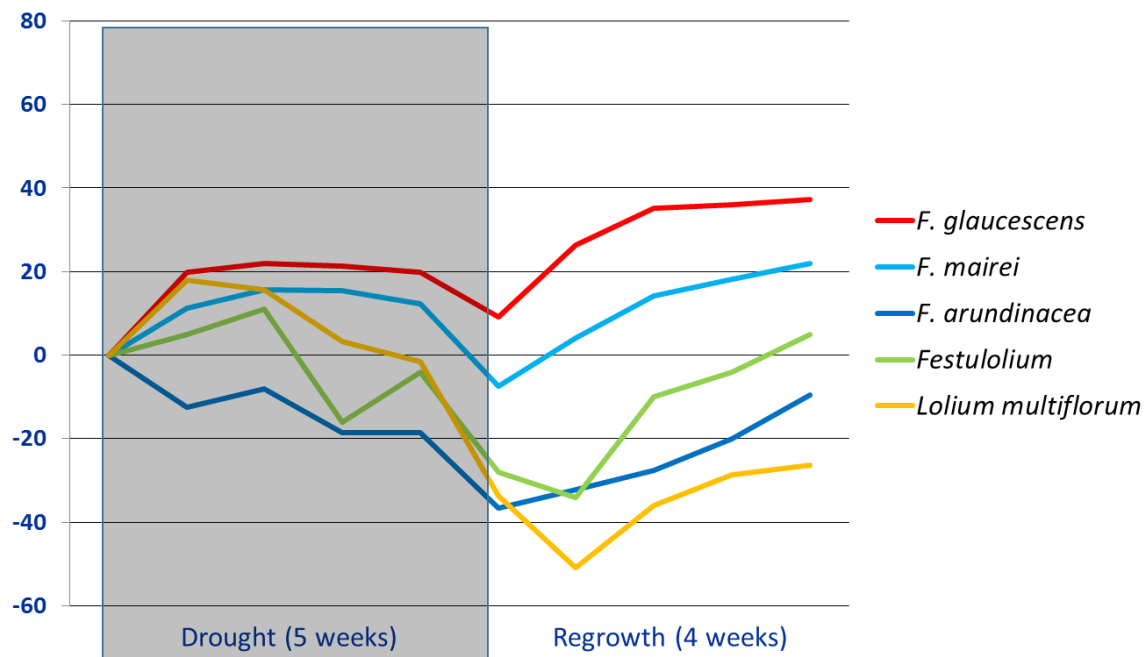


Suchovzdornost

Tříletý projekt (2017-2019)

Každý rok některé genotypy nové

48 genotypů (každý 12 klonů)



Suchovzdornost

potential_drought_DAR_markers [jen pro člen] - Excel

Soubor Domů Vlození Rozložení stránky Vzorce Data Revize Zobrazení Řekněte mi, co chcete udělat...

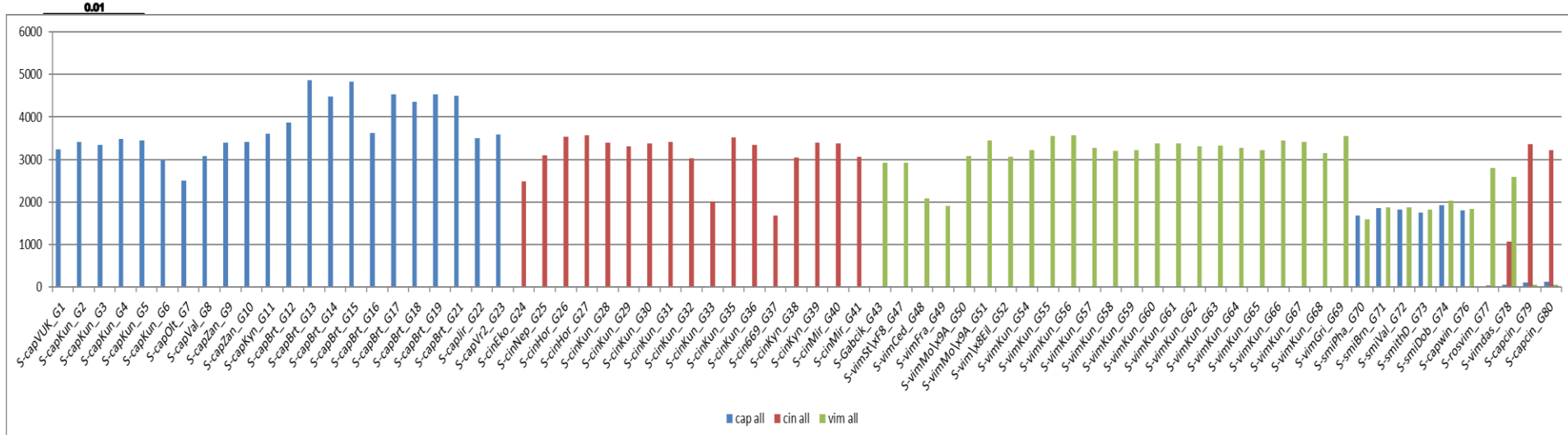
Vložit Vymout Kopírovat Kopírovat formát Schránka Písmo Zalomit text Obecný Podmíněné formátování jako tabulku Formátovat Normální Neutrální Správně Špatně Kontrolní buňka Poznámka Propojená buňka Text upozor...

Automatické shrnutí Vyplnit Vymazat Seřadit a filtrovat Najít vybrat Úpravy

B1 Corresponding Barley chromosome

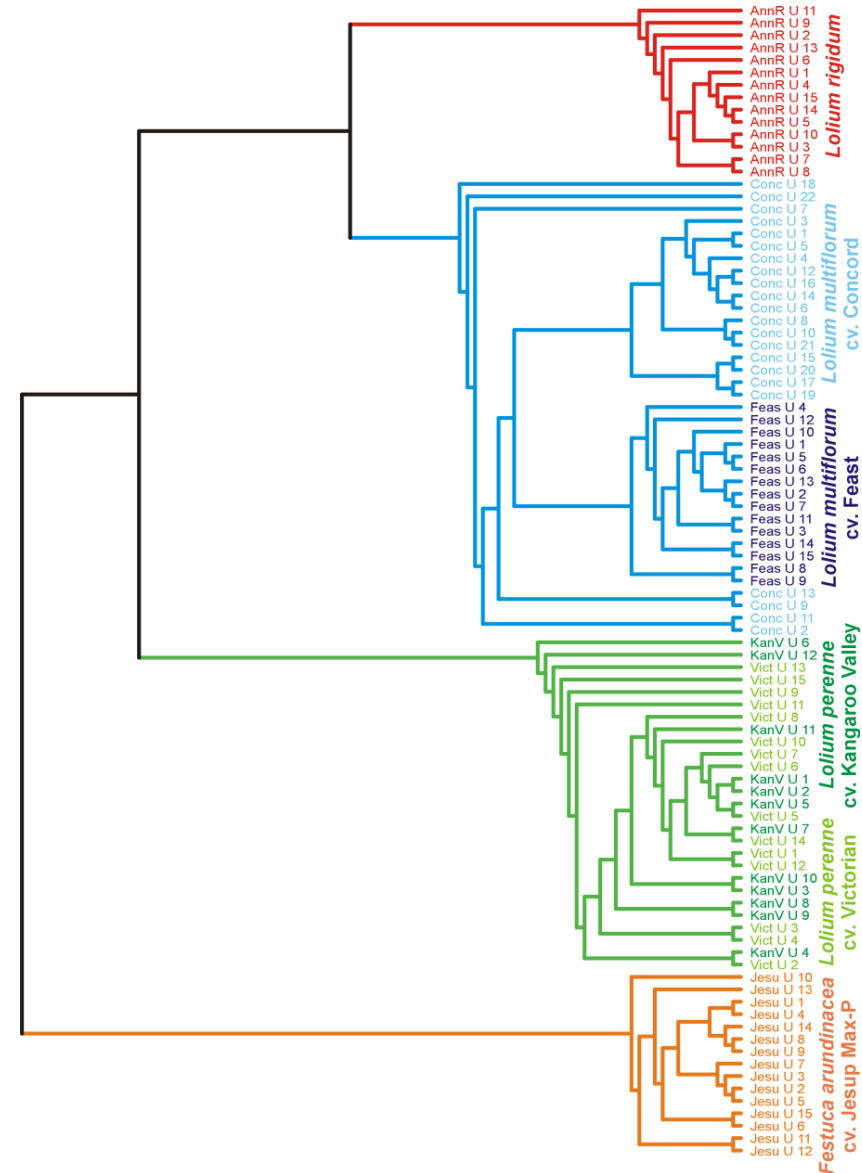
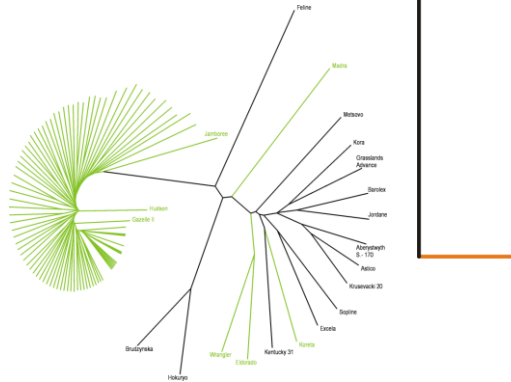
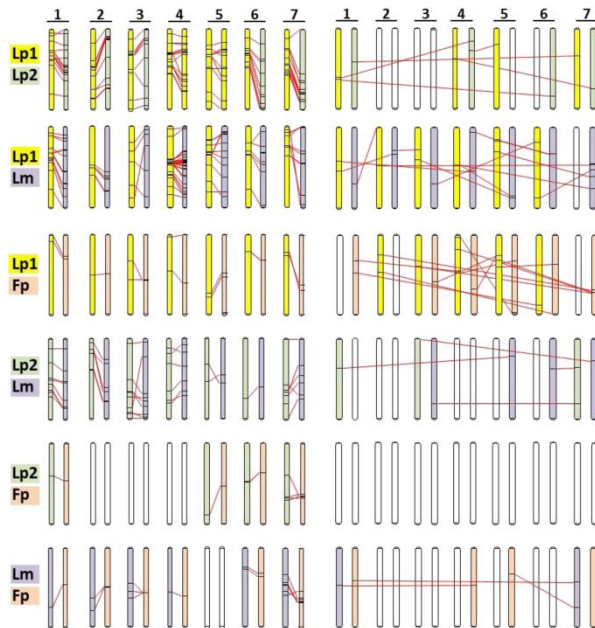
	A	B	C	D	E	F	G
	CloneID	Corresponding Barley chromosome	Chromosome length [bp]	Marker position	Gene name	Gene description	Ontology terms: MF-molecular function, BP-biological process, CC-cellular component
1	12293535	1H	522466905	21145001-21145069	HORVU MOREX.r2.1HG0007740.1	ABC transporter G family member	GO:000166(MF:nucleotide binding),GO:0005524(MF:ATP binding),GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane),GO:0016887(MF:ATPase activity),GO:0005460(MF:UDP-glucose transmembrane transporter activity),GO:0005886(CC:plasma membrane),GO:0010044(BP:response to aluminum ion),GO:0003674(MF:unknown),GO:0005575(CC:unknown),GO:0005654(CC:nucleoplasm),GO:0008150(BP:unknown),GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane),GO:0003676(MF:nucleic acid binding),GO:0015074(BP:DNA integration)
2	8954549	1H	522466905	22673767-22677417	HORVU MOREX.r2.1HG0008100.1	Protein aluminum sensitive 3	
3	8934320	1H	522466905	46924375-46924307	HORVU MOREX.r2.1HG0012930.1	Pentatricopeptide repeat-containing protein	
4	8918210	1H	522466905	142972563-142972507	HORVU MOREX.r2.1HG0023610.1	IQ domain-containing protein	
5	41545286	1H	522466905	331871637-	HORVU MOREX.r2.1HG0038760.1	Transmembrane and coiled-coil domain-co	GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane)
6	8942962	1H	522466905	481283071-481283123	HORVU MOREX.r2.1HG0062440.1	ATP-dependent chaperone ClpB	GO:000166(MF:nucleotide binding),GO:0005524(MF:ATP binding),GO:0019538(BP:protein metabolic process)
7	8916937	1H	522466905	506313207-506313275	HORVU MOREX.r2.1HG0072720.1	WUSCHEL-related homeobox	GO:0003677(MF:DNA binding),GO:0005634(CC:nucleus)
8	8937872	1H	522466905	509954238-509954179	HORVU MOREX.r2.1HG0074020.1	3-keotacyl-CoA synthase	GO:0003824(MF:catalytic activity),GO:0006633(BP:fatty acid biosynthetic process),GO:0008152(BP:metabolic process),GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane)
9	Marker count		8				
10	12293535	2H	675310294	32750486-32750536	HORVU MOREX.r2.2HG0091310.1	WUSCHEL-related homeobox	GO:0003677(MF:DNA binding),GO:0005634(CC:nucleus)
11	8916937	2H	675310294	140488821-140488769	HORVU MOREX.r2.2HG0108280.1	Zinc finger protein-like protein	GO:0003676(MF:nucleic acid binding)
12	8951237	2H	675310294	149870576-149870643	HORVU MOREX.r2.2HG0109290.1	Kinase, putative	GO:0001665(BP:MAPK cascade),GO:0000186(BP:activation of MAPKK activity),GO:0004672(MF:protein kinase activity),GO:0004674(MF:protein serine/threonine kinase activity),GO:0003676(MF:nucleic acid binding)
13	8921375	2H	675310294	163019933-163019865	HORVU MOREX.r2.2HG0110630.1	Protein phosphatase-2c, putative	GO:0003824(MF:catalytic activity),GO:0004721(MF:phosphoprotein phosphatase activity),GO:0004722(MF:protein serine/threonine phosphatase activity),GO:0003676(MF:nucleic acid binding)
14	8920342	2H	675310294	163019865-163019865	HORVU MOREX.r2.2HG0110630.1	Protein phosphatase-2c, putative	GO:0003824(MF:catalytic activity),GO:0004721(MF:phosphoprotein phosphatase activity),GO:0004722(MF:protein serine/threonine phosphatase activity),GO:0003676(MF:nucleic acid binding)
15	12233991	2H	675310294	643305467-643305467	HORVU MOREX.r2.2HG0177470.1	Endo-1,4-beta-xylanase	GO:0004553(MF:hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl compounds),GO:0005975(BP:carbohydrate metabolic process),GO:0008152(BP:metabolic process),GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane)
16	Marker count		5				
17	12293535	3H	628753756	13998133-13998058	HORVU MOREX.r2.3HG0187360.1	ABC transporter G family member	GO:000166(MF:nucleotide binding),GO:0005524(MF:ATP binding),GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane),GO:0016887(MF:ATPase activity),GO:0005460(MF:UDP-glucose transmembrane transporter activity),GO:0005886(CC:plasma membrane),GO:0010044(BP:response to aluminum ion),GO:0003674(MF:unknown),GO:0005575(CC:unknown),GO:0005654(CC:nucleoplasm),GO:0008150(BP:unknown),GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane),GO:0003676(MF:nucleic acid binding),GO:0015074(BP:DNA integration)
18	8918210	3H	628753756	46849995-46850058	HORVU MOREX.r2.3HG0195490.1	IQ domain-containing protein	
19	12302735	3H	628753756	186513870-186513936	HORVU MOREX.r2.3HG0211600.1	TRAM, LAG1 and CLN8 (TLC) lipid-sensing	GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane)
20	12302735	3H	628753756	187220591-187220652	HORVU MOREX.r2.3HG0211610.1	TRAM, LAG1 and CLN8 (TLC) lipid-sensing	GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane)
21	12217526	3H	628753756	215850707-215850773	HORVU MOREX.r2.3HG0214090.1	Magnesium-protoporphyrin IX monomethyl	GO:0005506(MF:iron ion binding),GO:0009507(CC:chloroplast),GO:0009534(CC:chloroplast thylakoid),GO:0009535(CC:chloroplast thylakoid membrane),GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane)
22	9051164	3H	628753756	351505455-351505390	HORVU MOREX.r2.3HG0223640.1	Galactose-binding protein	GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane)
23	12251858	3H	628753756	365804949-365804949	HORVU MOREX.r2.3HG0225000.1	Cysteine protease	GO:0004197(MF:cysteine-type endopeptidase activity),GO:0005615(CC:extracellular space),GO:0005764(CC:lysosome),GO:0006508(BP:proteolysis),GO:0016020(CC:membrane),GO:0016021(CC:integral to membrane)
24	8916937	3H	628753756	423845200-423845132	HORVU MOREX.r2.3HG0230800.1	Wuschel home	

Vrby



Co je možné

- Genetická variabilita
- Genetické mapování
- Genomové složení hybridů
- Šlechtění pomocí markerů
- Srovnávací analýzy





Díky, že jste přijeli

