

Mikrosatellitmarkörer kan minska världssvälten

Christoffer Fransson

Populärvetenskaplig sammanfattning av Självständigt arbete i biologi 2014

Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Människan fortsätter att expandera på jorden både i termer av befolkningens mängd och i anspråk på jordens resurser. Fram till 2050 kommer matproduktionen att behöva fördubblas på grund av både en ökande befolkning och en med ökad köpkraft. De stora samhällsproblemen som förespås innefattar bland annat den kommande bristen på fossila bränslen och rent vatten. Tyvärr förbrukar dagens jordbruk dessa resurser i stor mängd. Matproduktionen behöver fördubblas utan att öka användningen av fossila bränslen och vatten, vilket självklart ställer jordbruket inför en stor utmaning. Den kan tacklas på flera sätt. Ett lovande sådant är att använda sig av mikrosatellitmarkörer.

Den ineffektiva odlingen av dioika växter

Med hjälp av ny teknik kan man odla dioika växter med mindre resurser. Med dioika växter menas de växter där hanplantor skiljer sig från honplantorna. Vanligtvis får dioika honer frukt medan hanarnas uppgift är att sprida pollen. Exempel på dioika växter av kommersiellt värde är humle, hampa, papaya, pistasch och muskotträdet (figur 1). Vanligtvis är det enbart honplantorna som är av kommersiellt värde, eftersom de bär frukt, medan hanplantorna är oönskade. Det stora problemet är att det är svårt att tidigt urskilja könet hos flera dioika växter med hjälp av morfologiska karaktärer (fysiska skillnader). Hos humle behöver man vänta två år och hos muskotträdet ännu längre, sex till sju år. Tidsåtgången medför att man i onödan har odlat hanar som man spenderat vatten, gödsel och bekämpningsmedel på. I den verksamheten används dessutom fossila bränslen i form av drivmedel till traktorer.



Figur 1. Ett urval av dioika växter. Med start i övre vänstra hörnet och beskrivet medurs: humle, hampa, pistasch, papaya och i mitten muskotnöt. Foto: Stock.xchng.

Lösningen skulle vara att tidigt kunna urskilja hanarna för att därigenom undvika resursslöseriet. Att använda sig av morfologiska karaktärer för könsbestämning innebär att man behöver vänta tills typiskt hanliga karaktärer uppkommer. Men det finns andra, mer effektiva, sätt. Genom att mäta halter av könspecifika enzymer, så kallade biokemiska markörer, kan man könsbestämma tidigare. För att dra en parallell till oss människor skulle en biokemisk könsmarkör kunna vara halten av testosteron. Könsbestämning av växter med hjälp av biokemiska markörer kräver dock en provtagning med efterföljande analys, vilket är mer kostsamt jämfört med att använda sig av morfologiska karaktärer. Fördelen med biokemiska markörer är emellertid att de kan användas för könsbestämning långt innan de morfologiska karaktärerna blir synliga och därigenom kan man tjäna in de pengar man spenderat på provtagningen och analysen genom att inte slösa med resurser på värdelösa hanar.

Ett stort problem med biokemiska markörer är risken att få ett falskt resultat, eftersom halter av enzymer kan bero på mängden solljus, eventuella skadedjursangrepp, näringsbrister och otaliga andra faktorer. Det blir inte enklare att analysera provet när denna stora mängd av faktorer dessutom samverkar. Ett sätt att undvika de problem med yttre faktorer som biokemiska markörer stöter på är att använda sig av genetiska markörer.

Mikrosatellitmarkörer

Med genetiska markörer menas markörer som baserar sig på själva arvsmassan, DNA. Den finns tillgänglig i alla våra celler och utgör därför en bra utgångspunkt för att skapa en metod för könsbestämning. Med hjälp av genetiska markörer kan en växt könsbestämmas oavsett ålder och yttre faktorer.

En vanlig sorts genetisk markör är mikrosatellit-DNA (även kallat mikrosatelliter). Det är korta sekvenser om en till sex kvävebaser som upprepas flera gånger på rad. Mikrosatelliter finns utspridda i hela arvsmassan hos både växter och människor. Längden på mikrosatelliter (antalet upprepningar) kan variera väldigt mycket mellan individer. Denna variation kan man koppla till olika egenskaper, däribland kön. Mikrosatelliter används genom att man först tar reda på vilka varianter som finns inom en population och därefter ser om det finns könsspecifika varianter. Om man kan hitta en viss variant av mikrosatelliten bara hos ett visst kön kan man bestämma könet hos en växt genom att ta reda på vilken variant av mikrosatelliten som den har.

Man identifierar mikrosatellitens längd, det vill säga vilken variant det är, är med hjälp av tekniken PCR (Polymerase Chain Reaction). En PCR-reaktion ger många kopior av mikrosatelliterna så att man därefter kan längdsortera dem med hjälp av en gelelektrofores. Anledningen till att man behöver skapa kopior är för att kunna detektera mikrosatelliterna på gelelektroforesen. En gelelektrofores har möjlighet att skilja på de olika längdvarianterna även om det bara är ett fåtal kvävebaser i längdskillnad. Könsspecifika mikrosatellitvarianter som hittas med hjälp av PCR och gelelektrofores är grundstommen i könsbestämningen men det finns ändå flera olika sätt att använda sig av mikrosatelliter.

Mikrosatelliternas position

Dioika växter har, i likhet med människor, könskromosomer som benämns X och Y (undantag finns). Om man har två stycken X-kromosomer är man en hona och om man har en X-kromosom och en Y-kromosom så är man hane. Vilken kromosom mikrosatelliten befinner sig på har betydelse för hur pålitligt resultatet av PCR-reaktionen blir.

Det finns mikrosatelliter som befinner sig på både X och Y-kromosomen och man får då två PCR-produkter (två kopierade mikrosatelliter) hos både honor och hanar. För att kunna könsbestämma letar man efter könsspecifika längder på mikrosatelliterna. När man har identifierat en könsspecifik längd på en mikrosatellit kan man uttala sig om könet. Det finns dock två typer av mikrosatellitmarkörer där man inte behöver bestämma längden på mikrosatelliterna; istället identifierar man *antalet* mikrosatellitvarianter. Tabell 1 sammanfattar hur många typer av mikrosatellitkopior man får beroende på vilken könskromosom mikrosatellitmarkören befinner sig på.

Tabell 1. Mikrosatellitens position på könskromosomerna och hur många PCR-produkter (typer av mikrosatellitkopior) man får hos hanar respektive honor.

Mikrosatelliternas position	Antal PCR-produkter	
	Hanar	Honor
X + Y	2	2
Y	1	0
X	1	2

Den första typen är om mikrosatelliten befinner sig på en Y-kromosom. Då kommer enbart hanar (XY) att ge en produkt i PCR-reaktionen. Honorna (XX) saknar Y-kromosomen varifrån mikrosatelliten kan kopieras och ger därför ingen PCR-produkt. Eftersom att man inte behöver åtskilja några olika längdvarianter – enbart att mikrosatelliten har kopierats räcker för könsbestämning – kan det underlätta analysarbetet. Om PCR-reaktionen däremot misslyckas (inte ger någon produkt) kan provet feltolkas som att tillhöra en hona fast det egentligen är en hane.

För att undvika denna risk för ett falskt resultat kan man istället använda sig av den andra typen av mikrosatelliter där ingen längdåtskillnad behöver göras. En mikrosatellit på X-kromosomen ger PCR-produkt hos både hanar och honor, men i olika antal, eftersom bägge könen har en X-kromosom. Två typer av PCR-produkter (två mikrosatellitvarianter) betyder att det är en hona, på grund av att honor har två X-kromosomer. En PCR-produkt tolkas som en hane, eftersom hanar har en X-kromosom. Får man ingen PCR-produkt kan resultatet säkert identifieras som en misslyckad PCR-reaktion.

Framtiden för mikrosatellitmarkörer

En nackdel med mikrosatelliter är svårigheten att tolka resultatet av PCR-reaktionen. I de fall där en längdåtskillnad krävs är elektrofores nödvändigt, vilket försvårar metoden avsevärt. Alternativet är att använda sig av X eller Y-kromosomkopplade markörer där de förra är ett bättre alternativ eftersom att de har en inbyggd säkerhet mot falska resultat. Det går även att använda sig av Y-kromosomkopplade markörer med då krävs det att man använder flera markörer samtidigt för att undvika falska resultat. Framtida metoder behöver bli enklare att använda i stor skala. I nuläget finns det enkla och effektiva metoder att detektera mikrosatellitmarkörer för att upptäcka sjukdomar hos människor och i framtiden kan denna enkla teknik förmodligen användas på växter. Framförallt krävs ett bredare samarbete mellan genetiker, växtförädlare och flera andra kompetensgrupper för att utvecklingen ska gå framåt.

Mikrosatelliter kan användas till mer än könsbestämning. Gener som bestämmer fruktstorlek och färg eller som gör att växten tål torka bättre kan även de kopplas ihop med mikrosatelliter. Genom att indirekt identifiera dessa gener med hjälp av mikrosatelliterna som markörer kan man underlätta och framförallt snabba på den traditionella växtförädlingen. Nya förbättrade grödor och förbättrade odlingstekniker är bägge viktiga delar i framtidens jordbruk och mikrosatellitmarkörer kan användas för bägge syften.

För mer information:

Fransson C. 2014. Könsbestämningstekniker i kampen mot svält. Självständigt arbete i biologi. Uppsala universitet