

عنوان مقاله:

بهینه سازی بیان و تخلیص پروتئین نوترکیب لکتین نوع سی انگل توکسوکارا کنیس در باکتری اشیریشیا کلای سویه BL۲۱(DE۳)

محل انتشار:

فصلنامه تحقیقات دامپزشکی، دوره 76، شماره 2 (سال: 1400)

تعداد صفحات اصل مقاله: 9

نویسندگان:

مهسا شه بخش - گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

فاطمه جالوسیان - گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

سیدحسین حسینی - گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

پرویز شایان - گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

عبدالرضا ناصر مقدسی - مرکز تحقیقات ام اس، پژوهشکده علوم و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

خلاصه مقاله:

زمینه مطالعه: توکسوکاریازیس یک بیماری مهم زئونوز است که توسط نوزاد مرحله دوم توکسوکارا کنیس و توکسوکارا کتی ایجاد می شود. در خیلی از کشورهای معتدل توکسوکاریازیس رایج ترین عفونت کرمی است و سبب بروز عوارض شدید می شود. لکتین نوع سی از محصولات تولیدی در مرحله نوزادی این انگل است. این پروتئین در واکنش های ایمنی از جمله ارسال سیگنال سلول های ایمنی در مهره داران، فعال کردن ایمنی ذاتی در مهره داران و بی مهرگان و القا هموستاز دخالت دارد. هدف: مطالعه حاضر با هدف بهینه سازی تولید پروتئین نوترکیب لکتین نوع سی انگل توکسوکارا کنیس و بررسی خواص آنتی ژنی (یادگنی) آن صورت گرفته است. روش کار: توالی نوکلئوتیدی مرجع مربوط به لکتین نوع سی (CTL) انگل توکسوکارا کنیس از بانک ژن استخراج شد. سپس پلاسمید pET۳۲a حاوی توالی مورد نظر توسط شرکت GENERAY سنتز گردید. پلاسمید نوترکیب به باکتری اشیریشیا کلای سویه BL۲۱(DE۳) منتقل شد. بیان این پروتئین با استفاده از روش های SDS-PAGE و دات بلات بررسی و با سرم انسانی مثبت، مورد تایید قرار گرفت. نتایج: مطالعه حاضر نشان داد که بهینه سازی شرایط برای دستیابی به بیشترین میزان تولید پروتئین با انتخاب باکتری اشیریشیا کلای سویه BL۲۱(DE۳)، دمای ۳۷ درجه سانتی گراد پس از القا و غلظت ۱ میلی مولار IPTG حاصل گردید. پس از بهینه سازی پروتئین نوترکیب با غلظت ۱۱۶±۴/۰ میکروگرم بر میلی لیتر استخراج شد. وزن مولکولی پروتئین حاصل ۴۲ کیلودالتون بود. پاساژ پلاسمید نوترکیب قبل از القا، در باکتری اشیریشیا کلای سویه DH۵α باعث افزایش معنی دار بیان پروتئین گردید. نتایج ارزیابی بهینه سازی شرایط، با روش های SDS-PAGE و دات بلات نشان داد که بیشترین میزان تولید پروتئین نوترکیب لکتین نوع سی انگل توکسوکارا کنیس در شرایط بهینه سازی حاصل شده است. نتیجه گیری نهایی: جهت تولید هر پروتئین نوترکیب به ویژه در مقادیر زیاد و به منظور مصارف تجاری لازم است که بهینه سازی مخصوص آن پروتئین، انجام شود و دقیقاً براساس شرایط بهینه سازی تعیین شده، تولید پروتئین نوترکیب قابل انجام است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شرایط بهینه جهت تولید پروتئین نوترکیب لکتین نوع سی، انتخاب باکتری اشیریشیا کلای سویه BL۲۱(DE۳)، دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و مدت زمان ۴ ساعت پس از القا است که با حفظ ویژگی های ایمنی زایی نیز همراه است. به طور کلی می توان چنین نتیجه گیری کرد که سویه باکتری انتخاب شده و همچنین دما و زمان القا بر میزان بیان و تولید پروتئین های نوترکیب مانند لکتین نوع سی انگل توکسوکارا کنیس تاثیر مستقیم دارد.

کلمات کلیدی:

توکسوکارا کنیس، پروتئین نوترکیب لکتین نوع سی، باکتری اشیریشیا کلای سویه BL۲۱(DE۳)، باکتری اشیریشیا کلای سویه BL۲۱، پلاسمید pET۳۲a

