

عنوان مقاله:

جداسازی، همسانه سازی و بیان ژن سرین پروتئاز yyxA استخراج شده از باکتری Bacillus licheniformis در باکتری Escherichia coli

محل انتشار:

فصلنامه بیوتکنولوژی کشاورزی، دوره 13، شماره 4 (سال: 1400)

تعداد صفحات اصل مقاله: 20

نویسندگان:

زهرا آقایی جشوقانی - گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی قزوین (ره)

رامین حسینی - گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی قزوین

خلاصه مقاله:

هدف: پروتئازها از مهم ترین آنزیم های صنعتی محسوب می شوند. معمولا برای تولید این آنزیم ها برای مصارف صنعتی از باکتری های متعلق به جنس باسیلوس استفاده می شود. هدف از این پژوهش جداسازی، همسانه سازی، تعیین توالی، بیان و بررسی بیوانفورماتیکی ژن سرین پروتئاز yyxA استخراج شده از باکتری باسیلوس لیکنی فورمیس بود. مواد و روش ها: در این مطالعه، پس از استخراج DNA باکتریایی، ژن سرین پروتئاز با نام yyxA از باکتری Bacillus licheniformis با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره ای پلی مرار جداسازی و در ناقل pTG19-T و سپس ناقل pET28a همسانه سازی شدند و ساختار مولکولی، ویژگی های بیوشیمیایی و فیلوژنتیکی آن مورد بررسی قرار گرفت. ساختار سه بعدی آنزیم همسانه سازی شده با استفاده از ابزارهای I-TASSER، PHYRE2، RAPTORX و Modeller پیش بینی شد. تایید بیان ژن yyxA توسط آنالیز SDS-PAGE و دات بلا تینگ انجام شد. نتایج: درستی همسانه سازی به وسیله توالی یابی تایید شد. تولید پروتئین نوترکیب با القاء IPTG به میزبان حاوی پلاسمید pET28a-yyxA با موفقیت انجام شد. بهینه سازی تولید پروتئین نوترکیب مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین مقادیر بیان در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و طی زمان ۴ ساعت و با IPTG یک میلی مولار به دست آمد. نتایج حاصل از بررسی های فیلوژنتیکی، توالی پروتئینی به دست آمده شباهت زیادی را با توالی های سایر باسیلوس ها از قبیل B. subtilis، B. gobiensis و B. pumilus نشان دادند. پس از ارزیابی مدل های ترسیم شده مشخص گردید که مدل ارائه شده توسط نرم افزار PHYRE2 و I-TASSER مدل های مطلوبی برای پیش بینی ساختار سه بعدی این پروتئاز هستند. نتیجه گیری: توالی نوکلئوتیدی ژن yyxA به طول ۱۲۱۲ نوکلئوتید بوده که پروتئینی با ۴۰۳ آمینواسید را رمز می کند. بررسی ها نشان داد که آنزیم کد شونده توسط این ژن در دسته آنزیم های پایدار قرار گرفته و در باکتری اشریشیاکلای به صورت محلول بیان خواهد شد که این مزایا موجب می شود که آنزیم مذکور به عنوان گزینه مناسب برای استفاده در صنعت در نظر گرفته شوند.

کلمات کلیدی:

باسیلوس لیکنی فورمیس، بیان پروتئین نوترکیب، سرین پروتئاز، مدل سازی پروتئین، همسانه سازی مولکولی

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/1373229>

