سیویلیکا - ناشر تخصصی مقالات کنفرانس ها و ژورنال ها
گواهی ثبت مقاله در سیویلیکا
CIVILICA.com

عنوان مقاله:
کلون کردن ژن آنزیم L-آسپاراژیناز II Escherichia coli در Bacillus subtilis

محل انتشار:
مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی – مولکولی, دوره 4, شماره 16 (سال: 1393)

تعداد صفحات اصل مقاله: 1

نویسندگان:
حمید حسینیان - ۱. *Damghan-Islamic Azad University*

بهار برزمینی - ۱. *Damghan-Islamic Azad University*

خلاصه مقاله:
سابقه و هدف: ال-آسپاراژیناز II کاربرد موثری در درمان لوسمی لنفوبلاستیک (ALL) دارد. این آنزیم از منابع باکتریایی جدا شده و به صورت تجاری به عنوان داروی ضدسرطان عرضه می شود. سلول های سرطانی برخلاف سلول های نرمال، نیاز شدیدی به ال-آسپاراژین دارند، در صورت به کارگیری ال-آسپاراژیناز (E.C. ۳.۵.۱.۱) ال-آسپاراژین به ال-آسپارتات و آمونیوم تبدیل می شود که در نهایت به تخریب سلول های سرطانی منجر می شود. هدف از این پژوهش، کلون کردن ژن ال-آسپاراژیناز II E. coli در B. subtilis جهت تولید انبوه این آنزیم انجام گرفت. مواد و روش ها: ژن ال-آسپاراژیناز II (ansB) با روش PCR از E. coli BL۲۱ جدا گردید. قطعه تکثیر یافته و شاتل وکتور بیانی pMR۱۲ توسط آنزیم های BamHI، HindIII هضم شد. واکنش اتصال بین قطعه PCR و شاتل وکتور بیانی برش خورده با روش استاندارد انجام گرفت. در مرحله بعد، وکتور نوترکیب با روش شوک با CaCl۲ سرد به E. coli JM۱۰۱ ترانسفورم شد. در نهایت به میزبان B. subtilis با روش شیمیایی انتقال یافت. یافته ها: در این مطالعه، ژن ansB به وسیله PCR از E. coli BL۲۱ جدا و توسط تجزیه و تحلیل آنزیمی محصول PCR تایید گردید و در شاتل وکتور بیانی pMR۱۲ کلون شد. سپس وکتور نوترکیب ابتدا در E. coli کلون گردید و وجود ژن ۱۰۴۷bp با تجزیه و تحلیل آنزیمی و واکنش PCR تایید شد به دنبال آن داخل B. subtilis کلون شد و استخراج پلاسمید انجام گرفت و با باند شاتل وکتور بیانی pMR۱۲ دارای ژن ansB به صورت صحیح، مقایسه و تایید گردید. نتیجه گیری: در این تحقیق با استفاده از شاتل وکتور بیانی pMR۱۲ توانستیم ژن ansB را در B. subtilis کلون کنیم. این مطالعه، اولین گزارش کلونینگ ژن ansB در B. subtilis است.

کلمات کلیدی:
L-Asparaginase, E. coli, B. subtilis, Cloning, pMR۱۲ ,. ال-آسپاراژیناز II, کلونینگ, pMR۱۲, E. coli, B. subtilis

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:
https://civilica.com/doc/1417608