

عنوان مقاله:

همسانه سازی، بیان و تخلیص بخش خارج غشایی پروتئین Tir از باکتری E.coli O157:HY و ارزیابی ساختاری آن

محل انتشار:

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی، دوره 12، شماره 46 (سال: 1400)

تعداد صفحات اصل مقاله: 10

نویسندگان:

شیدا فلسفی - *Department of Biochemistry, Pharmaceutical Sciences Branch, Faculty of New Technologies, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

جعفر امانی - *Applied Microbiology Research Center, Systems Biology and Poisonings Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

سیدعلی میرحسینی - *Applied Microbiology Research Center, Systems Biology and Poisonings Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

خلاصه مقاله:

سابقه و هدف باکتری اشرشیاکلی انتروهموراژیک (Enterohemorrhagic E. coli) سویه O157:HY یک پاتوژن مهم انسان و حیوان است که در انسان موجب بروز اسهال خونریزی دهنده و سندروم اورمی همولیتیک می شود. اتصال به سلول های میزبان اولین گام در تثبیت این باکتری است که به واسطه سیستم ترشحی نوع III (T3SS) و از طریق میان کنش بین پروتئین های ترشحی صورت می گیرد. Tir پروتئینی است که پس از بیان در باکتری و از طریق T3SS به سلول میزبان منتقل و در غشای آن مستقر می شود و نقش مهمی در اتصال باکتری به میزبان دارد. هدف از این تحقیق ساخت سازه ژنی است که دارای فاکتورهای ویروالانس Tir می باشد. مواد و روش ها: طراحی پرایمر اختصاصی برای ژن tir با استفاده از نرم افزار Oligo انجام شد و تکثیر ژن به وسیله واکنش PCR از روی DNA الگو صورت گرفت. پس از واکنش های هضم آنزیمی و الحاق ژن درون ناقل بیانی pET28a، انتقال ناقل به درون میزبان بیانی انجام شد. پس از تایید همسان سازی ژن، بیان نوترکیب پروتئین Tir با استفاده از القاگر IPTG صورت گرفت. برای تایید پروتئین Tir آنالیز وسترن بلات انجام شد. یافته ها: همسان سازی ژن tir درون وکتور pET28a به شکل مناسب بین جایگاه های مطلوب انجام شد و پروتئین Tir پس از القا، پروتئین نوترکیب بیان مناسب و قابل توجهی نشان داد. آنتی بادی مورد استفاده در وسترن بلات نیز توانست به شکل مناسبی Tir را شناسایی کند. نتیجه گیری: در این مطالعه، سازه پایدار محتوی ژن tir ساخته شد که بیان نوترکیب قابل توجهی از پروتئین Tir را از خود نشان داد. بنابراین این سازه را می توان برای تولید پروتئین Tir جهت مطالعات ایمنی زایی علیه E.coli O157:HY به کاربرد.

کلمات کلیدی:

E.coli O157:HY, Recombinant protein, Cloning, Tir, IAU Science
همسان سازی، Tir، IAU Science

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/1475988>



