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

عنوان مقاله:

کلونینگ و بیان اریتروپویتین نوترکیب انسانی در Leishmania tarentolae

محل انتشار:

مجله دانشگاه علوم پزشکی گرگان, دوره 16, شماره 3 (سال: 1393)

تعداد صفحات اصل مقاله: 8

نویسندگان:

انورسادات کیان مهر - Ph.D Candidate in Medical Biotechnology, Pasteur Institute of Iran

حمید شهباز محمدی - Ph.D Candidate in Medical Biotechnology, Pasteur Institute of Iran

اسکندر امیدی نیا - Associate Professor of Medical Biotechnology, Genetics and Metabolism Research Group, Pasteur Institute of Iran

خلاصه مقاله:

زمینه و هدف : پروتئین اریتروپویتین انسانی هورمونی گلیکوزیله با وزن مولکولی ۴۰ کیلو دالتون است که در کلیه سنتز شده و در تکثیر و تمایز اریتروسیت ها نقش دارد. این پروتئین دارویی با نام تجاری «اپوپتین» شناخته شده و کاربرد موثری در درمان آنمی، سرطان و عفونت های ناشی از HIV ایفاء می کند. این مطالعه به منظور ارزیابی استفاده از میزبان انگلی لیشمانیا تارانتولا (Leishmania tarentolae) به منظور تولید فرم نوترکیب اریتروپویتین انجام شد. روش بررسی : در این مطالعه توصیفی ژن اریتروپویتین پس از بهینه سازی کدون توسط پایگاه های بیوانفورماتیکی سنتز شد و توسط استراتژی برش با آنزیم های KpnI و XbaI و خالص سازی از روی ژل در وکتور بیانی pLEXSY کلون گردید. سازه بیانی ساخته شده با روش الکتروپوریشن به لیشمانیا تارانتولا ترانسفکت شد. شناسایی و تایید کلونی های انگل ترانسفکت شده با سازه ژنی با استفاده از روش PCR با پرایمرهای تشخیصی سازه بیانی و پرایمرهای مخصوص اریتروپویتین انجام گرفت. ژن اریتروپویتین کلون شده توسط تتراسایکلین القاء گردید و بیان ژن در سوش های القاء شده با تکنیک SDS-PAGE و وسترن بلاتینگ آنالیز شد. تعیین مقدار پروتئین نوترکیب تولید شده نیز با روش ELISA انجام شد. سازه بیانی اریتروپویتین برای کلونینگ و بیان در میزبان لیشمانیا تارانتولا توسط روش های مهندسی ژنتیک تایید شد. یافته ها : نتایج آنالیز بیان ژن در سوش انگل ترانسفکت شده توسط الکتروفورز SDS-PAGE و وسترن بلاتینگ تایید کننده ورود سازه ژنی به کروموزم انگل و بیان اریتروپویتین بودند. بهترین شرایط بیان پروتئین نوترکیب، ۱۰ میکروگرم تتراسایکلین و زمان القاء ۷۲ ساعت بود. وزن مولکولی پروتئین بیان شده ۴۰ کیلو دالتون تخمین زده شد و میزان بیان آن نیز ۱۲.۴mg/l معادل با یک درصد کل پروتئین سلول تعیین گردید. نتیجه گیری : سازه بیانی برای کلونینگ و بیان ژن اریتروپویتین در لیشمانیا تارانتولا طراحی و ساخته شد و پروتئین مذکور با موفقیت القاء و شناسایی گردید. لیشمانیا تارانتولا می تواند به عنوان میزبان مناسب در تولید اریتروپویتین نوترکیب مورد استفاده قرار گیرد و این فناوری قابلیت بومی سازی نیز دارد.

کلمات کلیدی:

Erythropoietin, Leishmania tarentolae, Gene expression, Cloning, اریتروپویتین, لیشمانیا تارانتولا, بیان ژن, کلونینگ

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

https://civilica.com/doc/1723992