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

عنوان مقاله:

طراحی و ساخت وکتور بیانی اختصاصی کراتینوسیت های اپیدرمو بررسی بیان فاکتورIX انسانی به عنوان مدل

محل انتشار:

فصلنامه پژوهشی خون, دوره 3, شماره 1 (سال: 1384)

تعداد صفحات اصل مقاله: 11

نویسندگان:

S.J سید جواد حسینی
A.R دکتر علیرضا زمردی پور
R دکتر راضیه جلال
F دکتر فرزانه صابونی

خلاصه مقاله:

چکیده سابقه و هدف کراتینوسیت یک مدل مناسب برای بیان ژن به صورت ex vivo برای رهاسازی سیستمیک پروتئین است. با توجه به این نکته عناصر کنترلی اختصاصی کراتینوسیت ها، گزینه های مناسبی برای بیان ژن با واسطه کراتینوسیت ها هستند. در پژوهش حاضر یک وکتور برای بیان اختصاصی پروتئین های نوترکیب در کراتینوسیت های اپیدرم با استفاده از پروموتر ژن کراتین ۱۴ انسانی طراحی گردید. توانایی پلاسمید ساخته شده به وسیله بیان cDNA فاکتور انعقادی IX انسان ی در کراتینوسیت های اولیه انسانی نشان داده شد. مواد وروش ها مطالعه انجام شده از نوع تجربی بود. با قرار گرفتن یک قطعه حاوی پروموتر ژن کراتین ۱۴ انسانی به جای پروموتر سیتومگالوویروس (CMV) در پلاسمید pcDNA۳ ، پلاسمید بیانی phPK۱۴H ساخته شد. در مرحله بعد cDNA فاکتور IX انسانی که از کتابخانه cDNA کبدی جدا شده بود، وارد پلاسمید بیانی شد و پلاسمید pK۱۴hFIX ساخته شد و برای ترانسفکشن کراتینوسیت ها مورد استفاده قرار گرفت. کراتینوسیت های انسانی از پوست ختنه نوزادان جدا و با استفاده از محیط کشت عاری از سرم مخصوص کراتینوسیت ها کشت داده شدند. سلول های مزبور با پلاسمید نوترکیب جدید ساخته شده (pK۱۴hFIX) با استفاده از فیوجین-۶ ترانسفکت شدند. حدود ۷۲ ساعت پس از ترانسفکشن، محیط کشت به دست آمده از سلول های ترانسفکت شده برای بررسی بیان فاکتور IX جمع آوری و سلول ها به محیط کشت انتخابی حاوی جنیتیسین منتقل شدند. ادامه کشت سلول های مزبور در محیط انتخابی منجر به پدیدار شدن ۹ کلنی شد که در ادامه هر یک به صورت جداگانه کشت داده شده و مورد مطالعه قرار گرفتند. بیان cDNA فاکتور IX با استفاده از آزمون انعقادی یک مرحله ای بر روی محیط های کشت و هم چنین انجام RT-PCR بر روی سلول های کراتینوسیت ترانسفکت مورد مطالعه قرار گرفت. یافته ها زمان های انعقاد به دست آمده از محیط های کشت سری های مختلف ترانسفکشن با کنترل های منفی مقایسه شد. فعالیت انعقادی فاکتور IX نوترکیب در محیط کشت کراتینوسیت های ترانسفکت شده قبل از تیمار جنیتیسین وپس از انتخاب کلنی ها با جنیتیسین نشان داده شد. بیان cDNA فاکتور IX در سلول های ترانسفکت شده هم چنین با انجام RT-PCR تایید شد. نتیجه گیری نتایج اولیه ما نظریه ای که کراتینوسیت های انسانی قادر به تولید فاکتور IX فعال تحت کنترل پروموتر کراتین ۱۴هستند را تایید می کند. علاوه بر این پلاسمید ساخته شده حاصل از این تحقیق ابزار مناسبی برای بررسی بیان پروتئین هایی که از اهمیت درمانی برخوردارند را در کراتینوسیت ها برای مطالعات مختلف بیوشیمیایی و سلولی فراهم ساخته است.
کلمات کلیدی: فاکتور IX ، کراتینوسیت، کراتین ۱۴، ژن درمانی سوماتیک

کلمات کلیدی:

Factor IX, Keratinocyte, Keratin-۱۴, Somatic gene therapy, فاکتور IX, کراتینوسیت, کراتین ۱۴, ژن درمانی سوماتیک

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

https://civilica.com/doc/1822004