

عنوان مقاله:

ساخت وکتور دوسیسترونی مبتنی بر دومین فیوژن IntF2A برای بیان همزمان زنجیره های پلی پپتیدی آنتی بادی بواسیزوماب و بررسی تظاهر موقت آن در گیاه توتون

محل انتشار:

فصلنامه بیوتکنولوژی کشاورزی، دوره 16، شماره 1 (سال: 1403)

تعداد صفحات اصل مقاله: 24

نویسندگان:

پری انداز - دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

مراد جعفری - دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

خلاصه مقاله:

هدف: بواسیزوماب (با نام تجاری آوستین) یک آنتی بادی مونوکلونال (mAb) انسانی شده است که به طور گسترده ای در درمان سرطان های مختلفی کاربرد دارد. این دارو جزء گرانبهاترین و پرفروش ترین داروهای دنیا است. بواسیزوماب از طریق تکنولوژی DNA نوترکیب در سیستم بیان پستانداری، تخمدان همستر چینی تولید می شود. در سال های اخیر، سیستم های بیان گیاهی به دلیل مزایای مختلف برای تولید پروتئین های نوترکیب دارویی، توجه جهانی را به خود جلب کرده اند. تولید موفقیت آمیز mAb ها به تاشدگی و گردایش مناسب زنجیره سبک (HC) و زنجیره سنگین (LC) بستگی دارد. بیان همزمان کارآمد و کنترل شده این زنجیره های پپتیدی یک ملاحظه مهم در طراحی وکتورهای بیان آنتی بادی است. هدف این تحقیق ساخت وکتور دو سیسترونی برای بیان همزمان زنجیره های پپتیدی HC و LC آنتی بادی بواسیزوماب با استفاده از دومین فیوژن IntF2A و ارزیابی آن از طریق بیان موقت در گیاه توتون است. مواد و روش ها: به منظور ساخت وکتور نوترکیب، توالی ژن های رمزکننده بواسیزوماب و IntF2A از نظر کدونی بهینه سازی شد و برای بیان در گیاه توتون به طور مصنوعی سنتز شدند. وکتور نوترکیب دوسیسترونی بواسطه IntF2A با روش معمول هضم آنزیمی-اتصال ساخته شد. در نهایت، سازه نوترکیب برای بیان گذرا بواسیزوماب در گیاهان توتون از طریق روش آگروفریلتراسیون استفاده گردید. برای تعیین حضور رونوشت تراژن ها از آنالیز RT-PCR استفاده شد. تولید و میزان تجمع آنتی بادی نوترکیب از طریق آنالیز وسترن بلات مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج: ساختار مولکولی وکتور نوترکیب ساخته شده از طریق آنالیز های PCR، هضم آنزیمی و توالی یابی تایید شد. آنالیز RT-PCR نشان داد تراژن ها به صورت یک رونوشت واحد بیان می شوند. آنالیز وسترن بلات تولید آنتی بادی هتروترامر کامل در برگ های آگرواینفیلتر شده را تایید نمود. سطح تجمع آنتی بادی به طور متوسط ۲۰/۶۷ میلی گرم بواسیزوماب به ازای هر کیلوگرم وزن تر (معادل ۳۶/۳ درصد پروتئین محلول کل) برآورد شد. نتیجه گیری: نتایج نشان داد وکتور دو سیسترونی مبتنی بر IntF2A بیان همزمان کارآمد ژن های رمزکننده زنجیره های پپتیدی آنتی بادی و تجمع بالای mAb با فرم کامل را در سلول های گیاهی فراهم می کند. از وکتور ساخته شده می توان برای امکان توسعه و ساخت آنتی بادی بواسیزوماب در سیستم بیان گیاهی استفاده کرد.

کلمات کلیدی:

آگرواینفیلتراسیون، بواسیزوماب، توتون، ساخت وکتور دوسیسترونی، IntF2A

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/1916342>

