

عنوان مقاله:

طراحی، ساخت و آنالیز توالی وکتور نوترکیب pET28a/ctx-M2e

محل انتشار:

نخستین همایش ملی تازه های سلولی مولکولی (سال: 1391)

تعداد صفحات اصل مقاله: 1

نویسندگان:

نیما میرزائی - دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، باشگاه پژوهشگران جوان، تهران، ایران

فرهاد رضائی - دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه ویروس شناسی، تهران، ایران

خلاصه مقاله:

از آنجا که دومین خارجی پروتئین ماتریکس آنفلونزا ایمونوژن ضعیفی است انتخاب مناسبی جهت تولید واکسن نمی باشد. زیر واحد B انتروتوکسین وبا بخش غیر سمی و موجب اتصال هولوتوکسین به GM1 موجود در سطح سلول های اپیتلیال روده می شود. CTB به شدت ایمونوژن می باشد. از اینرو اتصال این دو ژن کاربرد زیادی در تهیه واکسن نوترکیب آنفلونزا خواهد داشت. از طریق PCR و با استفاده از پرایمر های اختصاصی حاوی جایگاه برش آنزیم محدود کننده و لینکر سرین گلیسین، ژن ctb تکثیر شد. سویه استاندارد آنفلونزا نوع A تهیه و ژن M2e از طریق RT-PCR و با استفاده از پرایمر های اختصاصی حاوی جایگاه برش تکثیر گردید. جهت اتصال دو ژن ctb و M2e واکنش PCR دوم به وسیله پرایمر F ژن ctb و پرایمر R ژن M2e انجام گرفت. محصول PCR با استفاده از آنزیم های BamH1 و EcoR1 هضم و در وکتور pET28a کلون گردید. تأیید کلونینگ با استفاده تع بین توالی صورت گرفت. پس از تأیید، وکتور نوترکیب pET28a/ctx-M2e در باکتری E.coli سویه Top10 ترانسفورم گردید. تأیید نهایی فیوژن، کلونینگ و ترانسفورمیشن از طریق PCR کلنی، subcloning و تع بین توالی صورت گرفت. آنالیز توالی نشان داد ژن M2e در فریم مناسب به ژن ctb متصل شده بود. از آنجا که توالی ژن M2e آنفلونزا دچار تغ ییرات آنتی ژنیک سالیانه نمی شود کاندید مناسبی جهت تولید واکسن آنفلونزا می باشد. ولی با توجه به اینکه M2e ایمونوژن بسیار ضعیفی می باشد فیوژن آن با ایمونوژن های قوی مانند CTB می تواند روشی نوین در تهیه واکسن نوترکیب آنفلونزا باشد.

کلمات کلیدی:

آنفلونزا، زیر واحد B انتروتوکسین وبا، واکسن، کلونینگ، پروتئین ماتریکس

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/289359>

