

عنوان مقاله:

طراحی و ساخت یک لوسیفرز پایدار در مقابل حرارت با استفاده از جهش زایی هدفدار

محل انتشار:

اولین کنگره بین المللی و سیزدهمین کنگره ژنتیک ایران (سال: 1393)

تعداد صفحات اصل مقاله: 2

نویسندگان:

امین تشکر - گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

داریوش غلامی - مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران

سامان حسینخانی - گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

خلاصه مقاله:

در بیشتر سیستم های بیولومینسانس، آنزیم لوسیفرز اکسیداسیون لوسیفرین و تولید نور را کاتالیز می کند. لوسیفرز حشره شب تاب *Photinus pyralis* یک زنجیره پلی پپتیدی 62 کیلو دالتونی است که از سیستم های بیولومینسانس بسیار کارآمد بوده و در نقش گزارشگر ابزاری مناسب در نانوسامانه های زیستی می باشد. مطالعات دینامیک مولکولی نشان داده است که E428 نقش مهمی در پایداری حرارتی و فعالیت بیشینه آنزیم لوسیفرز دارد. این مطالعه جهت بررسی نقش این آمینو اسید و چگونگی تاثیر آن بر کارکرد آنزیم انجام گرفته است جهش زایی با روش PCR تغییر سریع انجام شد. سپس محصولات PCR به باکتری DH5a که یک میزبان متداول برای تکثیر پلازمید در آزمایشگاه های زیست شناسی است ترانسفورم گردید. برای حصول پروتئین، پلازمید استخراج شده، متعاقب آن به BL21 که یک میزبان بیانی پروتئین است ترانسفورم شد. پروتئین حاصل تخلیص شد و برای مطالعات بیشتر مورد استفاده قرار گرفت بر اساس داده های بدست آمده Km برای لوسیفرین و ATP بترتیب 15 و 103 میکرومولار بود. همچنین فعالیت ویژه محاسبه شده $2/5 \text{RLU} \times 10^8$ s-1 mg-1 بود. فعالیت باقیمانده به عنوان شاخصی از پایداری حرارتی در فواصل زمانی 0 تا 45 دقیقه انجام شد و داده ها پایداری حرارتی کمتری را برای نوع جهش یافته نشان داد. بعلاوه سرعت تخریب 1/61s-1 بود و تغییرات ساختاری با استفاده از فلوروسانس ذاتی و خارجی و دورنگ نمایی حلقوی مطالعه گردید نتایج بدست آمده نشان داد که E428 باعث کاهش فعالیت آنزیم می شود اما در پایداری حرارتی آنزیم تاثیر چشمگیری ندارد. این یافته با داده های حاصل از دینامیک مولکولی در تناقض می باشد. همچنین Km آنزیم در مقایسه با آنزیم طبیعی تفاوت اندکی را نشان داد

کلمات کلیدی:

لوسیفرز، *Photinus pyralis*، پایداری حرارتی، دینامیک مولکولی، PCR

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/328169>

