

عنوان مقاله:

امکان سنجی تولید واکسن نو ترکیب کلستریدیائی از طریق بیان ژن توکسین اپسیلون کلستریدیوم پرفرینجنز تیپ D در E. Coli

محل انتشار:

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

تعداد صفحات اصل مقاله: 6

نویسنده:

رضا پیله چیان لنگرودی - بخش تحقیق و تولید واکسن های بی هوازی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی

خلاصه مقاله:

باکتری *Clostridium perfringens* یک باسیل گرم مثبت، بی هوازی، اسپورزا است. کلستریدیوم پرفرینجنز باکتری بیماریزای مهمی است که انسان و دام را مبتلا کرده و باعث ایجاد محدوده وسیعی از بیماری ها شامل اسهال، بیماری های نکروز دهنده بافتی و گازگنگرن در انسان و انتروتوکسمی کشنده در دام می گردد. این باکتری حداقل 15 نوع توکسین مختلف تولید می کند که در بیماریزائی آن نقش دارند. بر اساس تولید چهار توکسین مهم و اصلی آلفا، بتا، اپسیلون و یوتا در پنج گروه A, B, C, D, E قرار داده شده است. هدف: تولید توکسین اپسیلون کلستریدیوم پرفرینجنز تیپ D به روش نو ترکیب. روش تحقیق: ژنوم باکتری کلستریدیوم پرفرینجنز تیپ D تخلیص شده و ژن کد کننده توکسین اپسیلون *etx* به وسیله آنزیم *pfu* تکثیر و در پلاسمید *pJET1.2blunt* لایگیت شد *E. coli*/TOP10 با استفاده از *pJETε* ترانسفورم شد و غربالگری آن به روش مقاومت آنتی بیوتیکی و *colony PCR* انجام شد. پلاسمید های نو ترکیب *pET22b(+)* و *pJETε* با استفاده از *XhoI* و *NdeI* برش خورده و ژن *etx* و پلاسمید خطی شده *pET22b(+)* تخلیص و به وسیله الکتروفورز ژل آگاروز ارزیابی شدند. ژن *etx* در *pET22b(+)* لایگیت و به *E. coli/rosetta* منتقل شد. سلول های نو ترکیب به روش مقاومت آنتی بیوتیکی و *colony PCR* هویت یابی شدند. کلون های نو ترکیب در محیط کشت حاوی آمپی سیلین در 37 درجه سانتیگراد تا $OD_{600}=0.6$ کشت داده شدند. بیان توکسین اپسیلون با افزودن $0/5 \text{ mM IPTG}$ القاء گردید، برای تایید بیان-SDS PAGE و سترن بلاتینگ و تخلیص پروتئین با رزین Ni-NTA انجام شد. نتیجه: با بررسی های بیان مشاهده گردید که بیان توکسین اپسیلون در کلون نو ترکیب *E. coli/rosetta/pETε* به خوبی صورت گرفته است. این تحقیق که برای اولین بار در ایران صورت پذیرفته است از نظر تهیه واکسن نو ترکیب کاملا ضروری و با اهمیت است

کلمات کلیدی:

کلستریدیوم پرفرینجنز، توکسین اپسیلون، ژن *etx*، کلونینگ، بیان، واکسن نو ترکیب

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/328529>

