

عنوان مقاله:

کلونینگ و بیان ژن RTB در باکتری E. Coli

محل انتشار:

هفتمین همایش بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران (سال: 1390)

تعداد صفحات اصل مقاله: 7

نویسندگان:

صادق صفائی - دانش آموخته کارشناسی ارشد سلولی و مولکولی، استادیار. گروه علوم زیستی دانشکده علوم پایه- دانشگاه امام حسین(ع)

حسین هنری - دانش آموخته کارشناسی ارشد سلولی و مولکولی، استادیار. گروه علوم زیستی دانشکده علوم پایه- دانشگاه امام حسین(ع)

محمد صدراثیان - دانش آموخته کارشناسی ارشد سلولی و مولکولی، استادیار. گروه علوم زیستی دانشکده علوم پایه- دانشگاه امام حسین(ع)

خلاصه مقاله:

ژن مولد سم ریسین Ricin . دارای منشأ گیاهی Ricin به صورت یک هتروداپمر بوده و از دو زیر واحد متفاوت تشکیل و به وسیله یک باند دی سولفیدی به همدیگر متصل می شوند. RTA (زیر واحد A) جزء سمی محسوب شده و با فعالیت گالاکتوزیدازی خود باعث تخریب RNA ریبوزوم ها شده و با این عمل سبب مهار سنتز پروتئین می گردد. RTB قسمت غیر سمی ریسین است که به رسپتور خود در سطح سلول ها متصل شده و سبب ورود RTA به درون سلول می شود. توکسین RTB (B) ریسین یک لکتین اختصاصی برای گالاکتوز بوده که به عنوان یک ادجوانت و حامل برای آنتی ژن ها در واکسن های خوراکی عمل می کند DNA ژنومی گیاه کرچک به روش CTAB تخلیص شد. قطعه 786 جفت بازی ژن RTB با جایگاه های آنزیمی HindIII و Sall توسط PCR تکثیر و به کلونینگ وکتور همسانه سازی و بعد از جداسازی به وکتور pET28a(+) با جایگاه های آنزیمی NotI و Sall همسانه سازی و به باکتری E.coli سوپه (Rosetta DE3) ترانسفورم شد. RTB کلون شده در وکتور بیابانی pET28a(+) به وسیله ی توالی یابی، PCR و آنالیز آنزیمی همچنین پروتئین تولیدی به وسیله SDS-PAGE مورد تأیید قرار گرفت. بیان ژن RTB با القای IPTG انجام و پروتئین تولید و تخلیص شده توسط وسترن به لات تایید گردید.

کلمات کلیدی:

ریسین، RTB ، پروتئین نوترکیب، وسترن بلاتینگ

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/376470>

