

عنوان مقاله:

کلون و بیان ژن vp1 ویروس تب برفکی و fliC سالمونلا در باکتری اشرشیاکلا

محل انتشار:

نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی، دوره 13، شماره 1 (سال: 1396)

تعداد صفحات اصل مقاله: 10

نویسندگان:

مهرنوش قدیر - گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج

سید محمود عظیمی - موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، بخش تب برفکی، کرج

ناصر هرندی - استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

خلاصه مقاله:

تب برفکی یک بیماری وزیکولی ویروسی است که منجر به بروز خسارات وسیع در صنعت دامپروری می گردد. امروزه برای کنترل این بیماری از ویروس غیرفعال شده استفاده می شود که مهمترین نقطه ضعف آن کوتاه بودن طول دوره ایمنی است. لذا تلاش های زیادی در زمینه بکارگیری ادجوانهای موثر تر در فرمولاسیون واکسن صورت گرفته است. هدف از این تحقیق تولید فیوژن پروتئین VP1 ویروس تب برفکی (Opanasia2) و فلاژلین سالمونلا (fliC) به عنوان یک ادجوانت ملکولی استرژن D1 که مسئول سنتز پروتئین VP1 است به طول 800 bp توسط PCR تکثیر داده شد و در وکتور PTZ57 کلون گردید. سپس این وکتور توسط آنزیم های HindIII و XhoI برش داده شده و در داخل ناقل بیانی pET41b که حاوی ژن فلاژلین سالمونلا بود کلون گردید. پلاسمید نوترکیب به باکتری (Escherichia coli(BL21DE3 انتقال داده شد و بیان توسط IPTG(0.5 mM القا گردید. بیان پروتئین توسط SDS-PAGE در ژل آکریل آمید 12% و وسترن بلات مورد بررسی قرار گرفت. الحاق ژن های vp1 و fliC با استفاده از روش PCR و هضم آنزیمی با دو آنزیم HindIII و XhoI با مشاهده باند هایی به طولهای تقریبی 700 bp و 1500 تایید گردید. برای خالص سازی از رزین Ni-NTA و گرادیان pH استفاده شد که بیشترین میزان بازیافت پروتئین در pH 5/4 مشاهده گردید. بیان پروتئین با مشاهده باند 76KDa در آزمایش SDS-PAGE در ژل 12% آکریل آمید و وسترن بلات توسط AntiHis در رسوب باکتریالقاء شده تایید گردید. با توجه به نتایج به دست آمده ژن فیوژن fliC-salmonella-vp1 با طول 2200 bp کلون گردیده و پروتئین حاصل با وزن 76KDa با موفقیت بیان و تخلیص گردید.

کلمات کلیدی:

ویروس تب برفکی- کلون و بیان- ژن vp1

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/891807>

