

عنوان مقاله:

همسانه سازی، بهینه سازی شرایط بیان و تخلیص دمین کاتالیتیکی توکسین آدنیلات سیکلاز بوردتلا پرتوسیس از یک سویه بومی ایران

محل انتشار:

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دوره 18، شماره 1 (سال: 1395)

تعداد صفحات اصل مقاله: 10

نویسندگان:

هانیه هاشمی جزه - *Microbiology Dept., Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran*

فهیمه باغبانی آرانی - *Genetics and Biotechnology Dept., Varamin-pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran*

فرزاد بادمستی - *Bacteriology Dept., Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran*

فرشته شاهچراغی - *Bacteriology Dept., Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran*

خلاصه مقاله:

زمینه و هدف: توکسین آدنیلات سیکلاز (Adenylate cyclase Toxin= ACT) یکی از فاکتورهای ویروالانس ترشچی و ایمونوزنیک بوردتلا پرتوسیس است که دارای یک دمین کاتالیزوری با ۴۰۰ اسید آمینه، به نام AC، در ناحیه N-ترمینال خود می باشد. این دمین با تحریک غیر قابل بازگشت cAMP در سلول یوکاریوت نقش مهمی در ایجاد بیماری سیاه سرفه ایفا می کند و به عنوان یک ابزار زیست شناسی سلولی بوده و در داروهای ضد سرطانی نیز مورد استفاده قرار گرفته است؛ لذا هدف از این مطالعه، دستیابی به بیان بالایی از ناحیه AC به منظور بررسی خواص آنتی ژنیک آن در جهت استفاده از آن در واکسن، ادجونت و یا تهیه ی کیت های تشخیصی می باشد. روش بررسی: در این مطالعه تجربی، قطعه AC، توسط واکنش PCR تکثیر و در وکتور pET۲۸a کلون و در باکتری (E.coli BL۲۱(DE۳))، بیان و پس از بهینه سازی شرایط بیان، آنالیز پروتئین توسط ژل SDS PAGE و وسترن بلات انجام و سپس تخلیص آن بر روی ستون کروماتوگرافی (NI-NTA) صورت پذیرفت. یافته ها: قطعه AC با موفقیت در وکتور بیانی pET۲۸a کلون شده و تحت سیستم بیانی القا شونده توسط IPTG با غلظت ۵/۰ میلی مولار، پس از ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه می تواند قابلیت حداکثر بیان با بازدهی ۲۵ میلی گرم بر لیتر و خلوص ۹۵% را داشته باشد. نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد با القای تنها ۵/۰ میلی مولار IPTG، می توان بیان بالای دمین کاتالیزوری پروتئین ACT، با حداکثر میزان خلوص را دارا بود که این میزان برای اکثر کاربردهای تحقیقی و تشخیصی مناسب است.

کلمات کلیدی:

Key words: Cloning, expression optimization, adenylate cyclase catalytic domain, Bordetella pertussis

واژه های کلیدی: همسانه سازی، بهینه سازی بیان، دمین کاتالیتیکی آدنیلات سیکلاز، بوردتلا پرتوسیس.

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/1227195>

