

عنوان مقاله:

بیان ژن کیتیناز کایمر 42 (کیتیناز 42 + دمین متصل شونده به کیتین) در باکتری اشرشیاکلی

محل انتشار:

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

تعداد صفحات اصل مقاله: 4

نویسندگان:

عطیه عطائی - پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

مصطفی مطلبی - پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

محمد رضا زمانی - پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

محبوبه ضیائی - پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

خلاصه مقاله:

آنزیم کیتیناز 42 بر روی دیواره قارچهای پاتوژن گیاهی اثر تخریبکنندگی داشته و باعث هیدرولیز پیوندهای گلیکوزیدی میگردد. بررسی هایی که تاکنون در جهت بهبود عملکرد این آنزیم انجام گرفته، نشان میدهند که افزودن دمین متصل شونده به کیتین اثرافزایندهای بر فعالیت این آنزیم در میزبان قارچی، داشته است. در این تحقیق همسانسازی ژن کایمر 42 که حاوی ژن کیتیناز 42 متعلق به گونه *Trichoderma atroviride* دمین متصلشونده به کیتین در انتهای آمینی آن متعلق به *T. atroviride* 18.10 انجام و بیان پروکاریوتی آن مورد مطالعه قرار گرفت. در نهایت فعالیت این آنزیم با آنزیم کیتیناز 42 مقایسه گردید. بدین منظور ابتدا ژن کایمر 42 توسط آغازگرهای اختصاصی ژن تکثیر و در ناقل pJET همسانسازی شد. سپس این ژن به روش هضم آنزیمی از این ناقل جدا شده و در ناقل بیانی pET26.b (+) همسانسازی گردید. برای تأیید این سازه از PCR الگوی هضم آنزیمی و در نهایت توالیابی استفاده شد که در هر سه حضور ژن کایمر 42 به طول 1402 جفتباز تأیید شد. سپس این سازه به میزبان *E. coli* BL21-DE3 منتقل شده و بیان گردید. برای تأیید بیان این آنزیم از تکنیک SDS_PAGE استفاده شد. همچنین برای تأیید فعالیت آنزیم از روش رنگ سنجی استفاده شد که در این روش فعالیت این آنزیم در حضور کیتین کلونیدی و در طول موج 544 نانومتر اندازهگیری شد. نتایج حاصل نشان داد که فعالیت آنزیم کیتیناز کایمر 42 نسبت به کیتیناز 42 بیشتر است.

کلمات کلیدی:

کایمر 42، دمین متصل شونده به کیتین، همسانسازی، بیان پروکاریوتی، فعالیت آنزیمی

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/328330>

