

عنوان مقاله:

بیان موفق و بالای پروتئین های نو ترکیب انسانی در کلروپلاست، مطالعه موردی: پروتئین فعال کننده پلاسمینوژن بافتی (tPA)

محل انتشار:

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

تعداد صفحات اصل مقاله: 7

نویسندگان:

مریم عبدلی نسب - دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان، پژوهشکده علوم محیطی، گروه بیوتکنولوژی دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه اص

مختار جلالی جواران - دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

هوشنگ علیزاده - دانشگاه تهران، دانشکده علوم کشاورزی، گروه اصلاح نباتات

ارسلان رضایی - دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

خلاصه مقاله:

با شناخت کلروپلاست به عنوان یک اندامک ارزشمند در انتقال ژن، بر بسیاری از مشکلات مربوط به تراریختی هسته گیاه از جمله مسائل مرتبط با ایمنی زیستی محصولات تراریخت غلبه شد. در این مقاله ضمن بر شمردن خصوصیات منحصر بفرد کلروپلاست در تولید پروتئین های نو ترکیب انسانی مختلف، به قابلیت این اندامک در بیان پروتئین tPA فعال کننده پلاسمینوژن بافتی اشاره خواهد شد. پروتئین انسانی tPA فعال کننده پلاسمینوژن بافتی نو ترکیب یکی از مهمترین پروتئینهای نو ترکیب دارویی است که به منظور از بین بردن لخته خون در بخشهای مختلف بدن از جمله رگهای خونسازان به قلب و مغز استفاده میشود. به منظور انتقال ژن K2S فرم اصلاح شده پلاسمینوژن بافتی) به کلروپلاست گیاه توتون cDNA مربوطه ابتدا در ناقل pTZ57R/T درج و پس از برش آنزیمی در ناقل کلروپلاستی pK2S خاص گیاه توتون درج و در باکتری E.coli سویه DH5α همسانسازی شد. جهت تسهیل تخلیص محصول پروتئین تولیدی از طریق کروماتوگرافی، توالی شش هیستیدین و توالی پروتئازی فاکتور Xa به انتهای آمینی ژن K2S الحاق یافت. ناقل حامل ژن هدف با استفاده از روش زیستپرتابی، به ریزنمونههای برگ شلیک شد پس از انتقال ریزنمونههای به محیط گزینشگر حاوی آنتی بیوتیک اسپکتینومایسین، جوانههای تراریخته باززایی، به منظور رسیدن به هموپلاسمی زیرکشتهای متعدد و حداقل سه دوره باززایی نوساقه در حضور آنتی بیوتیک گزینشگر انجام شد. حضور و تلفیق تراژن K2S در گیاهان ترانس پلاستومیک با آنالیز PCR و هموپلاسمی به کمک کاوشگرهای طراحی شده و آزمون دورگهسازی به روش سادرین به تایید رسید. ارزیابی بیان ژن هدف K2S و میزان پروتئین تولیدی با آنالیز RT-PCR، SDS-PAGE لکهگذاری نقطهای، وسترنبلات و الایزا انجام شد. فعال بودن پروتئین تولید شده در گیاهان تراریخته با آزمون زیموگرام تایید شد. بذور گیاهان تراریخت به منظور اطمینان از انتقال ژن به نسل بعد، کشت و گیاهان نسل T1 از نظر حضور، بیان ژن tPA مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج این تحقیق مبین انتقال و بیان موفق ژن tPA و حضور پروتئین در شکل فعال در گیاهان تراریخت و انتقال موفق ژن TPA در نسل T1 است. نتایج نشان داد اندامک کلروپلاست به عنوان یک بیوراکتور طبیعی از پتانسیل خوبی جهت بیان TPA برخوردار است

کلمات کلیدی:

کشاورزی مولکولی، تراریختی کلروپلاست، پروتئین نو ترکیب ، Tpa

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/327948>



