View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Qazvin University of Medical Sciences Repository

کلون، بیان و تخلیص پروتئین فیوژن حاوی آنتی ژنهای *L7/L12* و فرم کوتاه شده *Omp2b* از بروسلا آبورتوس

استاد راهنما:دکتر نعمت اله غیبی،دکتر سعید بوذری

مجری:ملینا قاسمیان

خلاصه

مقدمه: گونه های بروسلا باکتری های گرم منفی، داخل سلولی و میله ای شکل هستند که قادر به آلوده کردن انسان (بیماری تب مواج یا تب مالت) و گونه های مختلف حیوانات میباشند، ازین رو ضررهای مالی بزرگی به دولت ها وارد میکنند. در واقع کنترل شیوع بیماری وابسته به پیشگیری و از بین بردن حیوان بیمار میباشد، از طرفی واکسن هایی که امروزه در دسترس هستند مانند سویه ی تخفیف حدت یافته ی بروسلا آبورتوس*S19*، دارای محدودیت هایی چون واکنش متقاطع با آزمایش های سرولوژیک و ریسک بیماریزایی برای انسان و گاو ها میباشند. ازین رو تحقیقات فراوانی پیرامون دستیابی به واکسن مناسب در حال انجام است. در تحقیق پیش رو ما یک پروتئین نوترکیب فیوژن طراحی کرده ایم که خود شامل دو جزء پروتئینی است که ایمنی زایی آن ها قبلا اثبات گردیده: یکی پروتئین ریبوزومی(زیر واحد بزرگ) L7/L12 و دیگری پروتئین غشای خارجی کوتاه شده ی Omp2b بروسلا آبورتوس سویه ۵۴۴. یکی از نقاط قوت این تحقیق، این است که با توجه به مطالعات بیوانفورماتیک مشخص گردیده که این دو پروتئین در جنس های بروسلا آبورتوس و ملیتنسیس حفاظت شده اند.

مواد و روش ها: پس انجام مطالعات بیوانفورماتیک حول بررسی ساختمان سه بعدی پروتئین و اپی توپ های آن، باکتری اشریشیاکلی *BL21(DE3)* با وکتور حاوی قطعه ی فیوژن(*pET28a-L7/L12-Omp2b*) ترانسفورمه شد. سپس بیان پروتئین توسط IPTG القا گردید و پروتئین فیوژن نوترکیب با کمک ستون کرومتوگرافی تمایلی Ni-NTA تخلیص گردید. در نهایت وجود پروتئین توسط تکنیک وسترن بلات اثبات گردید.

نتایج: آنالیز های BLAST و تعیین سکانس حاکی از صحیح بودن سکانس پروتئین فیوژن بوده اند. بالواقع پروتئین فیوژن شده با موفقیت در وکتور pET28a کلون شد و نتایج وسترن بلات بیان آن را تایید کرد.

بحث: بنظر میرسد پروتئین خالص سازی شده یک کاندید مناسب برای تحریک ایمنی سلولار (که در واقع نقش مهم تری در مقاومت علیه باکتری های درون سلولی بازی میکند) علیه باکتری بروسلا آبورتوس و بروسلا ملی تنسیس میباشد که تحقیقات بیشتری در این زمینه در دست اجراست.