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

دانشگاه علوم پزشکی قزوین

دانشکده پیراپزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد

گروه بیوتکنولوژی پزشکی

عنوان:

بیان و تخلیص پروتئین نوترکیب FGFR2b

و

بررسی تغییرات ساختاری آن بر اثر برهمکنش با فلزات سمی

نگارنده: مریم توده روستا

اساتید راهنما:

دکتر نعمت الله غیبی

دکتر داریوش ایلغاری

استاد مشاور:

دکتر مجید سیرتی ثابت

پاییز ۹۳

چکیده

زمینه: عوامل رشد فیبروبلاست (**FGF**) و گیرنده های آنها (**FGFR**) نقش اساسی در سلول ایفا می کنند. عدم تنظیم در مسیرهای سیگنالینگ **FGF / FGFR** با بسیاری از ناهنجاری ها و گسترش سرطان همراه است. از این گروه گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی نوع دو در مسیر پیام‌رسانی سلولی و تنظیم فرآیندهای مهم زیستی از جمله تمایز و تکثیر سلولی نقش اساسی دارد. اختلال در انتقال پیام این گیرنده با چندین اختلال پاتولوژیکی انسانی مرتبط می باشد. در این میان مسمومیت با فلزات سمی نیز یکی از مشکلات عمده در زیست شناسی سلولی است که اثرات آنها بر مسیرهای مختلف سیگنالینگ به اثبات رسیده است.

هدف: این مطالعه به منظور تخلیص ناحیه کینازی **FGFR2b** و بررسی اثر فلزات سمی سرب، کادمیوم، نیکل و آلومینیوم بر ساختار ناحیه کینازی رسپتور فاکتور رشد فیبروبلاستی نوع دو انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی پروتئین نوترکیب با استفاده از پلاسمید**pLEICS-01** ، باکتری **BL21**، القائ **IPTG** ، الکتروفورز و ستون حاوی **Ni2+ -NTA** بیان و خالص شد. فعال بودن نمونه پروتئین بعد از دیالیز توسط تعامل با ناحیه **SH2** فسفولیپاز**C(PLC)** طبیعی و موتان توسط روش **PAGE** بررسی شد. طیف فلوئورسانس، **CD, FTIR** و دناتوراسیون شیمیایی پروتئین خالص شده در حضور غلظت های مختلف سرب، کادمیوم، نیکل و آلومینیوم بررسی و ارزیابی گردید.

یافته‌ها: بررسی **SDS-PAGE** قبل و بعد از القا شدن نشان داد که پروتئین بیان شده در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد محلول است. نتایج **PAGE** فعال بودن پروتئین خالص شده را تأیید کرد. بررسی طیف سنجی فلوئورسانس کاهش شدت نشر را با افزایش تدریجی غلظت هر چهار فلز سمی نشان داد. طیف **CD** نشان داد ناحیه ی کینازی مورد مطالعه ما دارای ترکیب بتای بیشتری نسبت به آلفا می باشد و نیز حضور کادمیوم، نیکل و آلومینیوم در محلول، ساختار دوم کیناز را تغییر نمی دهد، ولی سرب قادر به تغییر این ساختار می باشد. آزمایش انجام شده توسط **FTIR** نیز اثر سرب را تایید کرد. دناتوراسیون شیمیایی ساختار سوم در حضور کادمیوم، نیکل و آلومینیوم ناحیه کینازی را تغییر نداد. ولی این تغییر در حضور سرب مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری: باتوجه به یافته ها، ناحیه کینازی گیرنده نوترکیب عامل رشد فیبروبلاستی **2b** که یک

پروتئین ۳۸ کیلودالتونی است تولید و خالص گردید و نشان داده شد که به صورت محلول و فعال است. تغییرات ساختار سوم و دوم ناحیه کینازی موجب ناپایدار شدن آن در حضور سرب گردید. این ناپایداری در سطح مولکولی می تواند موجب اختلال در مسیر پیام رسانی سلول شود. گرچه این ناپایداری در حضور کادمیوم، نیکل و آلومینیوم مشاهده نشد.

کلیدواژه‌ها: گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی، ناحیه کینازی، سیگنالینگ، فلزات سمی، طیف سنجی فلوئورسانس، **CD**، **FTIR**