

طراحی، کلون، بیان و ارزیابی جایگزین های سیستمی مولکول استرپتوکیناز در اندازه های کامل و کوتاه شده

نسترن منزوی^{۱،۲}، محمدرضا آقاصادقی^۲، رضا عربی^۲، آرش معمارنژادیان^۲، سید مهدی سادات^۲، حسین خان احمد^۲،
ملانیا ابراهیمی^{۲،۳}، فرزین روحوند^{۲،۳*}

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه خاتم، تهران

۲. بخش هیپاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران

۳. آزمایشگاه بانک ژن نو ترکیب، انستیتو پاستور ایران، تهران

پذیرش: ۱۲ اسفند ۸۸

دریافت: ۱۹ مرداد ۸۸

چکیده

مقدمه: ترومبوز یا انسداد عروق خونی توسط لخته، می تواند منجر به سکتة قلبی و گاهی اوقات مرگ شود. صرف نظر از رفع انسداد به کمک جراحی، تنها درمان موجود تجویز عوامل ترومبولیتیک بمنظور از بین بردن لخته است. استرپتوکیناز رایجترین داروی فیبرینولیتیک برای این منظور است، اما با این وجود تجویز آن با مشکلاتی از جمله تحریک سیستم ایمنی، نیمه عمر کوتاه دارو و خونریزی همراه می باشد. پگیلاسیون پروتئینهای دارویی با واسطه اسید آمینه سیستمی یک روش نوین کاستن از ایمنی زائی دارو و همچنین افزایش پایداری و نیمه عمر آنها است. هدف نهائی این مطالعه طراحی و ساخت جایگزینهای سیستمی استرپتوکیناز کامل و نیز اشکال کوتاه شده آن، که با داشتن اختصاصیت به فیبرین اثرات همورازیک کمتری دارند، می باشد.

روشها: با استفاده از تکنیک موتاسیون زائی در ناحیه دلخواه به کمک PCR موتانتهای ژنهای استرپتوکیناز، دارای جایگزینی کدون AGC (سرین) با TGC (سیستئین)، که پروتئینهای با طول کامل (اسیدهای آمینه ۴۱۴-۱) و کوتاه شده (اسیدهای آمینه ۳۸۶-۶۰ و ۳۸۶-۱۴۳) را کد می کردند ساخته شده و در پلاسمید pET41a کلون شدند. بدنبال القاء باکتری های ترانسفورم شده *E. coli* استرپتوکیناز های نو ترکیب بیان شدند و پروتئینهای حاصل با انجام وسترن بلات تأیید شده، به روش کروماتوگرافی میل ترکیبی تخلیص شده و در نهایت از نظر فعالیت بیولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافتهها: بیان ژنهای استرپتوکیناز موتانت بخوبی صورت گرفته و پروتئین های نو ترکیب با اندازه های کامل و کوتاه شده بواسطه اتصال به برچسب هیستیدینی ناشی از ناقل ژنی به راحتی تخلیص شدند. علیرغم جایگزینی سرین با سیستمی در جایگاه اسید آمینه ای ۲۰۸، پروتئینهای نو ترکیب جدید همچنان فعالیت بیولوژیک خود را حفظ کردند. **نتیجه گیری:** پروتئینهای موتانت تولید شده در این مطالعه امکان انجام فرآیند پگیلاسیون اختصاصی بر روی سیستمی و به این ترتیب ارتقاء فعالیت بالینی پروتئین استرپتوکیناز را فراهم می آورند.

واژه های کلیدی: استرپتوکیناز، پگیلاسیون، موتاسیون زائی، جایگزین سیستمی

مقدمه

قلبی و مغزی به خوبی نشان داده شده است [۳]. در میان عوامل ترومبولیتیک، استرپتوکیناز (Streptokinase) دارویی است که به طور متعارف به ویژه در کشورهای در حال توسعه به دلیل قیمت پایین و بهره وری بالا در حال استفاده بوده است [۱۹، ۱۵]. استرپتوکیناز یک پپتید تک زنجیره ای با ۴۱۴ اسید

مزایای درمان ترومبولیتیک در بیماران مبتلا به سکتة های

rfarzin@pasteur.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله: