



تأثیر توالی کوزاک در بیان موقت مینی ژنی از فاکتور ۹ انعقادی در سلول‌های پستاندار

علی اکبر حداد مشهدریزه^۱، محمدرضا سام^۲، صدیقه صفری^۳، دکتر علیرضا زمردی پور^{۴*}، دکتر سیدجواد حسینی^۵، دکتر فرزانه صابونی^۶

^۱ کارشناس ارشد بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری و مرکز تحقیقات آسم و آلرژی، تهران

^۲ دانشجوی دکترای ژنتیک مولکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

^۳ کارشناس ارشد میکروبیولوژی پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

^۴ دانشیار ژنتیک مولکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

^۵ استادیار زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

^۶ استادیار بیوشیمی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

چکیده

زمینه: قابلیت توالی کوزاک در افزایش بیان ژن‌های یوکاریوتی مشخص شده است. با توجه به این موضوع می‌توان از این توانمندی در جهت افزایش بیان پروتئین‌های نوترکیب استفاده کرد.

مواد و روش‌ها: با هدف بالا بردن بیان ژن فاکتور IX انعقادی، سازه‌ای بیانی مجهز به پروموتور سایتومگالو ویروس انسانی (CMV) که بیان یک مینی ژن فاکتور IX را تحت کنترل داشت، به توالی کوزاک تجهیز شد. پس از تأیید صحت سازه نوترکیب، این سازه به همراه یک سازه بیان کننده فاکتور IX فاقد کوزاک (به عنوان کنترل مثبت) و یک پلاسمید pcDNA3 (به عنوان کنترل منفی) برای ترانسفکشن سلول‌های تخمدان هامستر چینی (CHO) در سه آزمایش مستقل مورد استفاده قرار گرفتند. محیط کشت سلول‌های ترانسفکت شده به منظور آشکارسازی بیان فاکتور IX انسانی پس از ۲ و ۳ روز جمع‌آوری و مورد آزمون یک مرحله‌ای انعقاد قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده در مقایسه با کنترل منفی بیانگر بیان فاکتور IX فعال توسط دو گروه سلول‌های ترانسفکت شده با پلاسمیدهای نوترکیب بود. مقایسه ابتدایی میزان بیان دو گروه سلول‌های ترانسفکت شده با دو سازه نوترکیب، نشانگر افزایش بیان توسط سلول‌هایی است که حاوی توالی کوزاک هستند.

نتیجه‌گیری: علاوه بر تأیید نقش افزاینده کوزاک بر بیان فاکتور IX، در این طرح با ساخت پلاسمیدهای بیانی ابزار مناسبی برای مطالعه سیستماتیک بیان فاکتور IX انسانی فعال فراهم شد.

واژگان کلیدی: توالی کوزاک، ژن‌های یوکاریوتی، پروتئین نوترکیب، فاکتور IX

دریافت مقاله: ۸۶/۱۲/۲۵ - پذیرش مقاله: ۸۷/۳/۴

* تهران، اتوبان تهران کرج، بلوار پژوهش، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، ص. پ: ۶۳۴۳-۱۴۱۵۵