

ساب کلونینگ ژن آنزیم گلوکوسربروزیداز موش سوری در وکتور لنتی ویرال و انتقال آن به رده سلولی HEK

همایون نادریان^{۱*}، بهرام کاظمی^۲، آنتوان دو وریس^۳

خلاصه

سابقه و هدف: ژن درمانی یکی از مهم ترین شیوه های تحقیقات بالینی است که ارایه دهنده ی روش های جدیدی برای درمان نقص های ژنتیکی می باشد. نقص ژنتیکی آنزیم گلوکوسربروزیداز (Gba) عامل بیماری گوشه بیش از بقیه ی بیماری ها در ژن درمانی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از انجام این پروژه کلونینگ و انتقال ژن آنزیم گلوکوسربروزیداز توسط لنتی ویرال وکتور ارتقایافته به رده ی سلول های HEK می باشد. **مواد و روش ها:** مطالعه به روش تجربی و به منظور تولید و تکثیر cDNA ژن آنزیم گلوکوسربروزیداز به کمک پرایمرهای اختصاصی به روش PCR انجام گرفت و در وکتور غیر بیان کننده، کلون و ترادف یابی گردید. سپس ژن نو ترکیب را در لنتی ویرال وکتور ارتقایافته دارای ژن گزارش گر GFP ساب کلون شد. پس از کشت سلول های HEK وکتور نو ترکیب لنتی ویرال به آنها منتقل شد و انتقال ژن Gba با استفاده از ژن گزارش گر GFP بررسی گردید.

نتایج: تکثیر و کلونینگ ژن آنزیم گلوکوسربروزیداز با استفاده از آنزیم های محدودگر تایید گردید. ترادف های ژن Gba با ترادف های گزارش شده ی آن کاملاً تطبیق داشت. ساب کلونینگ ژن Gba در وکتور لنتی ویرال با استفاده از آنزیم های محدود کننده ی مختلف تایید شد. انتقال ژن نو ترکیب Gba توسط بیان ژن گزارش گر با استفاده از پروتئین های فلورسنتی تایید گردید.

نتیجه گیری: در این تحقیق بخشی از فرآیند پروتکل ژن درمانی با انتقال ژن آنزیم گلوکوسربروزیداز موش به سلول های HEK توسط وکتور لنتی ویرال انجام گرفت.

واژگان کلیدی: ژن درمانی، انتقال ژن، گلوکوسربروزیداز

۱- استادیار گروه علوم تشریح دانشکده ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی

۲- دانشیار گروه انگل شناسی دانشکده ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی شبکه پزشکی مولکولی کشور، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی

۳- استاد بخش ژن درمانی دپارتمان بیولوژی سلولی مولکولی دانشگاه لیدن هلند

* نویسنده مسؤل: همایون نادریان

آدرس: کاشان، ۵ کیلومتر ۵ بلوار قطب راوندی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، گروه علوم تشریح

پست الکترونیک: Naderian_H@kaums.ac.ir

تلفن: ۰۹۱۳ ۳۶۱ ۰۶۶۱

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۱/۲

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۶/۲/۲۷

دورنویس: ۰۳۶۱ ۵۵۵۱۱۱۲

مقدمه

ژن درمانی، انتقال مواد ژنتیکی نو ترکیب به سلول های هدف به منظور تغییر در بیان ژن و دستیابی به اثرات درمانی آنها می باشد. استراتژی اولیه ی ژن درمانی برای درمان بیماری های تک-ژنی نظیر بیماری گوشه بوده است [۱]. بیماری گوشه به دلیل جهش در ژن آنزیم گلوکوسربروزیداز (Gba) ایجاد می شود [۲]. این آنزیم، مسؤل هیدرولیز گلوکوسربروزید است که در صورت نقص ژنتیکی آنزیم گلوکوسربروزیداز، ماکروفاژهای بافت های کبد، طحال و مغز استخوان گلوکوسربروزید را فاگوسیت می کنند و سبب بزرگی کبد، بزرگی طحال و نشانه های نوروپاتیک می گردد

[۳]. بیماری گوشه یکی از بهترین انتخاب ها برای ژن درمانی می باشد [۴]. پس از تکثیر و کلونینگ ژن آنزیم گلوکوسربروزیداز در وکتور بیان کننده با انتقال و سپس بیان آن در سلول های خونی می توان بیماری را درمان نمود. وکتورهای مختلفی جهت انتقال ژن وجود دارند، یکی از مناسب ترین وکتورها برای انتقال و بیان ژن های نو ترکیب وکتور لنتی ویرال است. وکتورهای لنتی ویرال مشتق از HIV-1 قابلیت انتقال ژن های نو ترکیب را به سلول های قابل تقسیم و غیر قابل تقسیم دارند. سلول های هدف وکتور لنتی ویرال انواع سلول های تمایز یافته تخصصی نظیر سلول های دستگاه