لینک های مفید

سرویس های ویژه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

فیلم های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی STRS

کارگاه های آموزشی

عضویت درخبرنامه

Archive of SID

بیان ژن پروتئین پوششی یک جدایه ایرانی ویروس پیچیدگی برگ سیب زمینی در *Escherichia coli*

مسعود نادرپور[۱]، سید علی اکبر بهجت‌نیا[۲]، محمدحسن عصاره[۱]، کرامت‌اله ایزدپناه[۲]، فضل‌اله صفی‌خانی[۱]، سعید تابعین[۲]، راحله شهبازی[۱] و ابوذر قربانی[۲]

۱. موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، کرج
۲. مرکز تحقیقات ویروس شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز
m.naderpour@spcri.ir

یکی از مهم‌ترین روش‌های تشخیص ویروس‌های بیماری‌زا، استفاده از روش‌های سرولوژیکی مبتنی بر الایزا با تکیه بر آنتی‌بادی‌های اختصاصی است. تهیه این آنتی‌بادی‌ها با روش های سنتی طاقت فرسا و تامین آنها از منابع خارجی هزینه بر و مشکل است. از جمله روش های جایگزین برای تهیه آنتی‌بادی‌های اختصاصی که با پیشرفت تکنولوژی دی ان آ نوترکیب حاصل شده است، بیان پروتئین مورد نظر در برخی از باکتری ها از جمله باکتری *Escherichia coli* و تزریق آن به حیوان خونگرم است. به منظور تهیه آنتی بادی نوترکیب علیه ویروس پیچیدگی برگ سیب زمینی (PLRV) که از نظر اقتصادی از مهمترین ویروس های سیب زمینی بوده و حضور یا عدم حضور آن در اکثر طبقات بذری این محصول حائز اهمیت است، ابتدا جدایه های این ویروس از مزارع تولید بذر سیب زمینی در استان های اردبیل، همدان و آذربایجان شرقی جمع آوری شد. آلودگی نمونه ها به ویروس با آزمون های الایزا و استفاده از آنتی بادی های اختصاصی ویروس (اگدیا، آمریکا) تایید شد. دو جفت آغاز گر اختصاصی یونیورسال برای تکثیر قطعه ۱۰۶۷ نوکلئوتیدی حاوی قطعه ۶۲۷ نوکلئوتیدی ناحیه ژنومی مربوط به پروتئین پوششی ویروس بر اساس توالی های ثبت شده آن از نقاط مختلف دنیا از جمله آسیا، اروپا و کانادا و با استفاده از نرم افزارهای آنلاین ClustalW و Primer3 طراحی شد. قطعه مورد نظر از تعداد شش، چهار و یک جدایه به ترتیب از استان های همدان، اردبیل و آذربایجان شرقی تکثیر و توالی یابی شد. پس از مقایسه توالی های بدست آمده، توالی غالب در بین جدایه ها (جدایه ای از استان اردبیل) انتخاب و در ناقل pTG-19T (شرکت سیناکلون) همسانه سازی شد. صحت همسانه نوترکیب حاصل (pTG-PLRV-CP) از طریق تعیین ترادف ژن وارد شده مورد تایید قرار گرفت. برای بیان توالی مذکور از ناقل بیان pET28 دارای دنباله هیستیدین در ناحیه '5 استفاده شد. قطعه مورد نظر در ناقل همسانه سازی ابتدا با آغازگرهای اختصاصی دارای سایت های برشی *Hind*III و *Kpn*I به ترتیب در انتهای '5 آغازگرهای فوروارد و مکمل تکثیر و سپس با همین آنزیم ها هضم شد. قطعه هضم شده در ناقل بیان هضم شده با این آنزیم ها وارد شد. پلاسمید نوترکیب بدست آمده (pET-PLRV-CP) به باکتری منتقل گردید. در نهایت بیان پروتئین پوششی با استفاده از ترکیب IPTG در باکتری القا شد. استخراج پروتئین پوششی بیان شده با استفاده از رزین Ni-NTA انجام شد. آزمون لکه گذاری وسترن با استفاده از آنتی بادی anti-His از بیان باند حدود ۲۴ کیلودالتونی مربوط به پروتئین پوششی ویروس PLRV حکایت داشت. پروتئین بیان شده می تواند برای تولید انبوه آنتی ژن و نهایتا تولید آنتی بادی نوترکیب، شناسایی PLRV در طبقات مختلف بذری سیب زمینی و مطالعات برهمکنش ویروس-میزبان مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: ویروس پیچیدگی برگ سیب زمینی، بیان ژن، پروتئین پوششی.

www.SID.ir

لینک های مفید

سرویس های ویژه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

فیلم های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی STRS

کارگاه های آموزشی

عضویت درخبرنامه