SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

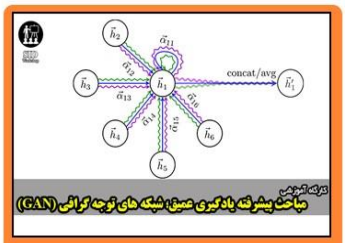
کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترفند های جستجو



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی (Graph Attention Networks)

کارگاه آنلاین مقاله نویسی IEEE و ISI ویژه فنی و مهندسی

Archive of SID

بیان و خالص سازی آنزیم پروتئاز Tobacco etch virus موتانت در باکتری *E.coli*

حسین محمدیان[۱و۲]، حمید میر محمد صادقی[۱و۲*]، محمد رضا گنجعلی خانی[۳]، وجیهه اکبری[۱و۲]، فاطمه موذن[۱و۲]
[۱] گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
[۲] مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
[۳] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
* نویسنده‌ی مسئول: h_sadeghi@pharm.mui.ac.ir

پروتئاز (Tobacco etch virus (TEVp یک دومین کاتالیتیک ۲۲ کیلو دالتونی از پروتئین ویروسی NIa است که به دلیل اختصاص یافتگی بالا و قابلیت ایجاد N ترمینال طبیعی در پروتئین بعد از برش، بطور گسترده برای حذف تگ ها از انتهای N یا C پروتئین های نوترکیب به کار می رود. واریانت موجود از این آنزیم که در واقع یک موتانت S219V از تیپ وحشی پروتئاز TEV است، بصورت فیوژن با پروتئین اتصالی به مالتوز (MBP) ساخته شده و همین امر باعث بیان آنزیم به صورت یک فرم محلول می شود. این پروتئین فیوژن در شرایط *in vivo* خودش را برش داده که این امر باعث حذف قسمت MBP و تولید دومین فعال کاتالیتیک پروتئاز TEV با یک تگ پلی هیستیدین در N ترمینال می شود. پروتئاز TEV حاوی تگ حاصل توسط ستون های کروماتوگراقی تمایلی حاوی فلز خالص سازی می شود. در نهایت خلوص آنزیم بدست آمده توسط روش SDS-PAGE بررسی شد و با استفاده از تکنیک وسترین بلاتینگ تائید گردید. در این مطالعه، یک روش ساده برای تولید مازاد و خالص سازی یک فرم حلال از پروتئاز TEV در *Bl21 E.coli* ارائه شده است.

واژه های کلیدی: پروتئاز TEV، تولید، خالص سازی

Expression and purification of a mutant Tobacco etch virus protease in *E.coli*

Hossein Mohammadian[1,2], Hamid Mirmohammad Sadeghi[1,2*], Mohamad reza ganjalikhany[3], Vajihe akbari[1,2], Fatemeh moazen[1,2]
[1] *Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Science*
[2] *Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences*
[3] *Department of Biology, Faculty of sciences, University of Isfahan*
* Corresponding author: h_sadeghi@pharm.mui.ac.ir

Tobacco etch virus protease (TEVp) is the 27 kDa catalytic domain of the viral protein NIa that is widely used for the removal of tags from fusion recombinant proteins due to its high specificity and ability to create unaltered N or C terminals in the digested proteins. This protease is a S219V TEV protease mutant and is fused to the C-terminus of *E. coli* maltose binding protein (MBP), which results in the accumulation of a soluble and active form of this enzyme. The fusion protein subsequently cleaves itself *in vivo* to remove the MBP moiety, yielding a soluble TEV protease catalytic domain with an N-terminal poly-histidine tag. The His-tagged TEV protease was purified using immobilized metal affinity chromatography (IMAC) and the purity of the enzyme was determined by SDS-PAGE and was confirmed by Western blotting technique. In this study, we developed a simple method for production and purification of a soluble form of the TEV protease in *E. coli*.

Keywords: TEV protease, Production, Purification

www.SID.ir

SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

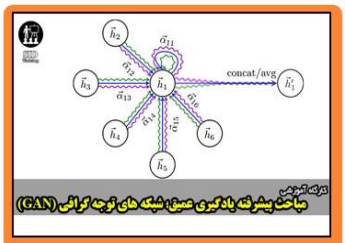
کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترفند های جستجو



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی (Graph Attention Networks)

کارگاه آنلاین مقاله نویسی IEEE و ISI ویژه فنی و مهندسی