پلاک کاست ژنی blf1-stxB در باکتری E. coli و بررسی تیتر آنتی‌بادی در موش

پژوهشکده کره‌روده، حسین هنری، مسعود عبدالقیه

چکیده
مقیده: یکی از راه‌های تقویت اثر واکسن‌ها استفاده از باورها می‌باشد. مجوز کردن این زن‌های کاندیدای واکسن با این ادوات به توپیل واکسن مناسب پرداخت. BLF1 نش مفیدی در بیماری‌ای و احیا نورتاتی استفاده در باکتری E. coli که توسط کوتور انتی‌بادی آن در موش است.

روش بررسی: در این مطالعه، پلاسما 57 حاوی زن blf1 با باکتری آنزیمی pUC57 در کوتور با نام Sall و BamHI زیر‌همان‌سازی گردید و به باکتری STXB تراکم‌زد و تاریخت (تاتوریوز) بود. باید که کلاسیکی تاریخت STXB تراکم‌زد و تاریختی شده بود.

نتایج: این مطالعه زن blf1-stdXB کلی شده در کوتوربایی (+) pET28a(+) در سیستم PCR بود. پروتئین نوترکیب تولید شده به وسیله و همچنین PCR pET28a(+) به وسیله شده از سرم موش جداسازی و توسط کاتیا استفاده گردید.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه برخی پروتئین BLF1 تولیدی توانایی تغییر بیماری‌سازی و STXB درازی تقسیم‌بندی این پروتئین نوترکیب می‌تواند به عنوان کاندیدای واکسن علیه بیماری‌های این باکتری سودا نیست و مشابه با باکتری E. coli

واژه‌های کلیدی: بیماری‌های ویروسی، انتی‌بادی، تیتر، BLF1، تیتر

درباره نویسنده:

نام نویسنده: تهران

نام تهران: honari.hosein@gmail.com

پیشنهاد مطالعه: تبریخ دریافت: 39/08/3181

تبریخ پذیرش: 1395/08/18

جله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید chuẩnی برد
دوره 24 شماره 11 بهمن 1395
صفحه 876-886
به یکی (Burkholderia Pseudomallei) بوده و از باکتری‌های خطرناک است که در حال حاضر هیچ واکسنی برای آن وجود ندارد. بورکولاکریا سودومالی به باسیل گرم منفی کوچک، هوازی و محترک است که عامل بیماری میلیون‌ها وسیع در انسان است. این باکتری در سال ۱۹۸۱ توصیف شد. بیشتر از تغییرات در سلولها به دلیل سیلیکون و غیر منجر به فلج، فقس و اسپور و نازک است. باکتری STX۱ خطرناک بوده که از B. thailandensis STX۲ و STX۳ است. STX۱ تا حدی محبوب‌ترین واکسن ساختگی است. این باکتری در دستگاه‌های شاخه‌ای شریک در حمله به سلول‌های جلوگیری‌کننده می‌باشد. STXB نیز به دلیل طولانی‌تری به حساب می‌آید. این باکتری در آب مقرت می‌تواند تا ۱۰ سال زندی بماند (۱۱).}

این باکتری در طبقه‌بندی جزء عوامل Bioterrorism رد CDC قرار دارد. بورکولاکریا سودومالی در مناطق گرم‌مسیری و همچنین در هوای سرد نیز می‌تواند رشد کند و همچنین نیاز به شرایط مخصوصی را دارد. علاوه بر این باکتری در آب مقرت می‌تواند تا ۱۰ سال زندی بماند (۱۱).

این باکتری بورکولاکریا سودومالی توانایی زندگی ماندن در تمام اندازه‌هاش بدن و طور نهفته را دارد و عواملی مثل مصرف اکل، گروه‌های D۱، D۲، D۳ و D۴ داشت. این باکتری به دلیل تفاوت اسیدی‌بودن و دیگر عوامل از طریق خوراک به دنبال انتقال می‌شود. به عنوان نمونه، در سال ۲۰۱۲ برای شناسایی شده است که باکتری و میکروبیون‌های ناشناخته در کنار باکتری از تغییرات در سلولها به دلیل STxB نتایج داشته‌اند.}

روش بررسی

برای تولید واکسن در بیماری‌های جهت طراحی کاست زنی bflf-stxB تولید شده است. کامل بیماری بورکولاکریا سودومالی از پایین روند استخراج (Accession No: NC_006350.1 NCBI) و گروه و زن STxB در پژوهش از آزمایشگاه‌های moln نمونه‌گیری شدند. STxB از رشته‌های بسیار دانشگاه جامع امام خمینی (ع) بهره‌برداری شده و در تینکتور گرفت. سپس با توجه به نتایج رشته‌های بسیار از واکسن bflf با واکسن کنار STxB اقدام بود. این واکسن می‌تواند در پژوهش‌های آزمایشگاهی استفاده شود.
دانلود شده با شناسه دیجیتال: ۱۴۰۰/۰۳/۲۷، ساعت: ۲۳:۱۰ مسئول ثبت نشریات: پریچا حسنپور مسئول اجرای تخصصی و علمی: جواد اوجانی مسئول تیپ‌گرایی، جواد اوجانی مسئول طراحی و همبسته‌گیری: نیک‌اله گلزاری مسئول نگهداری از نسخه‌های الکترونیک: مهدی ثقفی
تیتر آنتی‌بادی، با توجه به رعایت اصول اخلاقي کار با حیوانات از 5 عدد موش سری ماده به عنوان تست و 4 عدد به عنوان نمونه کنترل استفاده گردید. برای هر موش از گروه تست، 20 میکروگرم پروتون T تخلیص شده به صورت داخل حرارتی در 4 نوبت با فاصله زمانی 14 روز تریق گردید. در کنار هر مرحله تریق به حیوانات نمیدشت. به همراه کنترل فقط محلول ادجوان و استریل همگی شده تریق گردید. تیتر آنتی‌بادی آنها توسط آزمایش ایزای اندازه‌گیری شد.

نتایج

دیدار با حساسیت کست زنی pUC57 و کوکر pET-28a (+) سیستم آزمایش با استفاده شده که زندگی نظر با طول زمانی 32 هفته پس از کور ولک و تخلیص گردم شکل‌های pET-28a (+) در بخش 1 و 2 عرضه شدند. خود خاصه. این قاعده این پلاسمید با آزمایش‌های محلول اندازه‌گیری محدود در pET-28a (+)-stxB با استفاده از کیت تخلیص شد. بلافاصله پس از بدست آوردن الکتروفوژ در راستای بند حدو 609 خفته باید (شکل 1-B).

شفای 1: الکتروفوژ واکنش صورتی کست و هضم دوگانه pET-28a (+) و pUC57. شفای 2: الکتروفوژ واکنش صورتی کست و هضم دوگانه pET-28a (+)-stxB.

تولید آنتی‌بادی مطلوب در این مطالعه از pET-28a (+) می‌تواند به دست آورد. به وسیله 20 تا 25 گرم همکاری مربع دارای تحقیقات واکسن و مربی‌کاری رازی به همراه در مرکز بروخ و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی بخش زندگی شناسی دانشگاه علوم پایه دانشگاه جامع امام حسین (ع) نگهداری می‌شود استفاده شده که در صورت استفاده با سیکل نوری، 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی و در حرارت 25-27 درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شودند. آب و غذا به صورت آزاد در دسترس تمامی گروه‌ها بود. به منظور بررسی
برای تایید زیرهمسانه‌سازی برای باکتری E. coli در باکتری، PCR هضم آنزیمی-گذاشته شد. پس از تکثیر زن پدیده blf1-stxB به روش PCR محصول روی زل 1/ آغاز مورد ارزیابی قرار گرفت و قطعه مورد نظر (876 جفت بار) از لحاظ اندازه با زن هدف ما.

و پس از تیمار خام بر روی زل SDS-PAGE مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به وزن پروتئین نوترکیب از زل 12/ استفاده شد (شکل 3). با توجه به شکل بند پروتئین مورد نظر در محدوده 1/0/01 kDa مشاهده شد.

برای بررسی بانی زن پدیده (+) BLF1-STxB پس از کشت سلول‌ها و افزایش با IPTG بانی زن چربی قرار گرفت و پس از تیمار خام بر روی زل SDS-PAGE مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ای از پدیده (باف ایرانی B)، رشته 2 کنترل منفی که در آن پدیده حیاتی از سر زن جذب نوری به 0/0 در طول موج 6/0 نانومتر با ماده IPTG کاهش داده (باف ایرانی B).

شکل 3: الکتروفورز روی زل SDS-PAGE به منظور بررسی بانی پروتئین مورد نظر

ردیف 1: مارکر پروتئینی 3000 نانومتره. ردیف 2: محتوی پروتئین باکتری‌هایی که پس از ریسیدن جذب نوری آنها به 0/0 در طول موج 6/0 نانومتر با ماده IPTG کاهش داده (باف ایرانی B).

شکل 2: تاپ نشان دهنده باکتری از E. coli با PCR مورد بررسی قرار گرفت.

هملوایی داشت (شکل 2-الف). همچنین پلاسمیدها با دو آنزیم‌های محدود الاتر HXol و BamHI هضم شدند سپس به کمک نشانگر اندازه قطعه خارج شده از وکتور تایید شد (شکل 3-ب).
به منظور تأیید محصول پروتئینی از تکنیک استفاده شد. در این روش از آنتی‌بردی پیل کلونال Blotting موسی استفاده شد. در ستون دوم که مربوط به نمونه الفاقهه

به منظور ارزیابی آنتی‌بردی تولید شده و محاسبه میزان آن در هر مرحله تزیزی از روش الایزای غیرمستقیم استفاده شد. یک هفته بعد از هر یک تزیزی (به استثنای تزیزی اول) از موش‌های تست و شاهد درون گربه به عمل آمد و بعد از چندم شماردهای آنها، آزمایش الایزای انجام شد که نمودار

نمودار ۱: پرسری نمودار آنتی‌بردی با استفاده از تکنیک الایزای

بحث

توسعه تولید واکسن‌های جدید بر یکی از آنتی‌ژن‌های حفاظتی خالص شده به علت اینکه هر یک از آنتی‌ژن‌های محلول و

مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی بوده

دوره بیست و چهارم، شماره پنجم، بهمن ۱۳۹۵
امتحانی ایده‌ای با کاست شیلیBlf1 در باکتری E. coli انجام شده بود. در این اقدام، تحقیقات انجام شده نشان داد که این باکتری در مواد مختلفی از STxB گرفته تا انواع گیاهان مثل کاهو و... همسانی زیادی به است. در این تحقیق، خاصیت امتحانی این پروتئین BLF1 و خاصیت آنیتی و ادجوانتی این پروتئین با استفاده از تکنیک‌های متنوع مورد نظر بود.

سلامان زاده است که نشان داده شده است که نشان داده شده است که

کویوشی شیکا نام‌گذاری شده بود. به عنوان یکی از عوامل پیشگیری

شیکا دیسانتی در ایجاد اسهال وخونی مطرح است. اسهال

خونی با علائم شیکا در بیشتر موارد جدی جویده و در

صدای درمان، به مصرف می‌آمده (31). از

این لحاظ با بسیاری سایر عوامل این شیکا دارای اهمیت فراوانی

است. در سال 1911 اقدام اولیه شده بود. این فرآیند و

بحث مطلب مشخص را در افتادن و نجای معادل مربی در

فراوانی برای نشان داده شده که این از تحقیقات این پروتئین که باکتری بی‌خودی مانند ایجاد می‌شود یا این

اگزنسی منتقلی از بیناری مانندش که باکتری بی‌خودی

آسایش و اهمیت علیه شیکا و بی‌خودی باکتری بی‌خودی

می‌کند. این پروتئین با مصرف سایر مذکور سایر می‌شود و تا

امروز، این سایر مانندش، باکتری بی‌خودی و

برای این است. یکی از مهم‌ترین فاکتورهای بهبودی اصلی

شیکا دیسانتی تبی، اثرات نشان داده شده است.

شیکا توده STX1 که توده دیسانتی توده می‌شود.

با (Shiga like toxin) در حالی که توده‌ای شیکا

شیکا همچنین بی‌خودی لیسترشیکی و پروردگری ریس تعبیه

دیده به است.
می شود پروتئین Gb3 (STB، گذرنده) در سلول‌های طبیعی انسان، بیان‌نامحدودی دارد و در بعضی از سلول‌های سرطانی به میزان بسیار بالایی بیان می‌شود و با توجه به عملکرد پروتئین BLF1 که مُهر کندنه قوی ترجمه است می‌توان با اتصال دو پروتئین STB-FLxB به طور اختصاصی به عنوان یک عامل ضد سرطان قوت مورد استفاده قرار داد. این نتیجه در تحقیق انجام شده نشان دهنده گردیده‌بودن بیانگر آن است که پروتئین BLF1-STxB کاندیدای مناسبی جهت تولید واکسن برخودری و شبیه‌سالاری باشد.

سیاستگذاری

بعدهزینه از اساتید پژوهشگران و کارکنان مرکز و گروه زیست‌شناسی انجام مامام حسین (ع) که در این پژوهش از لحاظ علمی و مالی ما را یاری نمودند تقدیر و تشکر می‌شود.

References:


Expression of Blf1-Stx B Gene Cassette in E. coli and Investigation Antibody Titer in Mice

Mehdi Masoudi Kerahroudi¹, Hossien Honari², Masoud Abdollahi³

¹,³ Department of Molecular Cell Biology, Biological Research Center, Imam Hossein Comprehensive University, Tehran, Iran
² Department of Genetics, Biological Research Center, Imam Hossein Comprehensive University, Tehran, Iran

Received: 9 oct 2017 Accepted: 19 Jan 2017

Abstract

Introduction: One of the ways to strengthen the effect of vaccines is using the adjuvant. STxB has a carrier and adjuvant role that we can fuse it with vaccine candidate antigens and produce efficient vaccines. BLF1 has an important role in the pathogenesis and infection by Burkholderia pseudomallei. The aim of this study was investigation of expression blf1-stxB gene Cassette in E. coli and antibody production in mice.

Methods: In this study, pUC57 plasmid containing blf1 with BamHI, SalI restriction enzyme sites was subcloned in pET28a(+) expression vector and transformed into E. coli BL21 DE3. Expression blf1-stxB gene Cassette was induced by IPTG. After extraction by affinity chromatography, the recombinant protein was injected four times to mice.

Results: In this study, blf1-StxB cloned gene in pET28a (+) expression vector was approved by PCR and enzymatic analysis. Also recombinant protein confirmed by SDS-PAGE and Western blotting. Then, antibody produced from the mice serum were isolated and confirmed by ELISA.

Conclusion: Given that BLF1 protein has the ability to stop protein synthesis and STxB has a carrier and adjuvant role, it’s as a vaccine candidate against B. pseudomallei and Shigella dysenteriae.

Keywords: Burkholderia pseudomallei, Melioidosis, Shigella, eIF4A

This paper should be cited as:

*Corresponding author: Tel: 09123848187, Email: honari.hosein@gmail.com