پایان نامه گزارش ارشد: ملیکا فصیح فر، ۱۳۹۲

چادوئی، همسانه سازی و تهیه سازه مناسب اولیه جهت انتقال فاكتور خونی انسانی به گیاه IX

بیماری هموفیلی B یکی از شایع ترین بیماری‌های انعقادی زندریکی می‌باشد که در نتیجه حذف یا کاهش سطح فاكتور IX فعال در خون ایجاد می‌شود. درمان معمولاً این بیماری به روش گرافن درمانی انجام می‌گیرد که شامل تزریق فاكتور IX مشتق شده از پلاسما افراد نرمال و یا استفاده از فاكتور IX در نتریک کردن می‌باشد. یکی از روش‌های تویید شکل نتریک کردن فاكتور IX، استفاده از یک بیوراکتور کارآمد جهت تولید محصول زن است که امروزه از گیاهان به عنوان بیوراکتور و کارشناهای زیستی بطور گسترده‌ای استفاده می‌شود. لذا با هدف جداسازی فن فاكتور انعقادی IX انسانی بدون چشمه و کلون‌نگ کننده آن در وکتور از hFIX-R و hFIX-F-BamHI بیانگیاهی، تکثیر زن فاكتور انعقادی IX انسانی با استفاده از پرایمرهای پلیمراز، پس از خالص سازی از ال و cDNA کتابخانه‌های مولکولی، محصول تکثیر شده با آنلایی بندان pTZR/T کلون گردید. پلاسمیدهای نتریک کردن با کائتری های E. coli DH5 آدنیلی گروه با استفاده از NCBI M13F- و M13R-pUC ترانسفورم شده استخراج و ژن فاكتور IX با استفاده از پرایمرهای درون و کتیوم NCBI در دو جهت تعیین نسل گردن. مقایسه این نسل با تولید ثبت شده این فاکتور سلول گیاهی و انتقال زن مذکور به گیاه استفاده نمود. کلیدواژه‌ها: هموفیلی ب، فاكتور انعقادی IX، بیوراکتور، گیاه تراپیک

M.A. Thesis:
Isolation cloning and preparation of appropriate primary vector for transferring of human blood factor IX gene to plant
Hemophilia B is one of the most common inherited disorder in which human coagulation factor IX (hFIX) needed to form blood clots is missing or reduced. The current treatment for hemophilia B patients consists of replacement therapy with either pooled plasma concentrates or recombinant FIX, but patients treated with pooled plasma concentrates are at a high risk of possible viral infection. So the development of alternative approaches to produce virus-free FIX preparations is therefore of general interest. One method of producing a recombinant factor IX is using plants as an efficient bioreactor for the production of the gene product. So, in order to isolation of human coagulation factor IX gene with no mutation and its cloning in plant expression vectors, gene amplification of hFIX from liver cDNA library with hFIX-F and hFIX-R primers were done. After adenylation, Pfu DNA polymerase-PCR product was cloned in T- vector. The recombinant plasmids were transformed into E.coli DH5a bacteria and after extraction, cloned factor IX gene were sequenced in both directions with the T7 promote and BGH-r vector primers. Comparison of nucleotide sequence of this gene with the Genbank data confirmed this amplified gene as hFIX with no mutation. Finally, GusA from pBI121 plant expression vector was replaced with the cloned hFIX. This construct could be used to express hFIX protein in plant cell suspension and transform plants with hFIX gene.