پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد: سودابه اقبالی، ۱۳۹۴

تهیه و همسانه سازی فاکتور نه انسانی جهش یافته بر اساس جایگاه شناسایی آنزیم گاما کربوکسیلاز

فاکتور IX بعنوان یک فاکتور انعقاد خون و وابسته به ویتامین K، برای عملکرد بیولوژیک خود نیاز به تغییرات پس از ترجمه از جمله گاماکربوکسیلاسیون دارد. گاماکربوکسیلاسیون توسط آنزیمی به نام گاماکربوکسیلاز کاتالیز می شود و پروپپتید پروتئین های وابسته به ویتامین K، اولین مکان شناسایی گاماکربوسیلاز می باشند. اسیدهای آمینه خاص در این توالی پروپپتیدی مسئول تفاوت تمایل آنزیم برای گاماکربوسیلاز هستند. هرچه میزان Ki بیشتر شود تمایل آنزیم کم و پروتئین به طور کامل گاماکربوسیله می شود. از آنجایی که آنزیم گاماکربوسیلاز کمترین تمایل را برای پروترومبین دارد، در این مطالعه سازه بیانی pMT-FIX-M واجد cDNA فاکتور IX جهش یافته در اسیدآمینه 9- بر اساس پروپپتید پروترومبین ساخته شد. میزان بیان و فعالیت فاکتور IX نوترکیب جهش یافته و طبیعی در زمان های مختلف بعد از ترنسفکشن توسط الایزا و انعقاد بررسی شد. نتایج نشان داد که غلظت و فعالیت فاکتور IX و در نتیجه گاماکربوکسیلاسیون فاکتور IX جهش یافته بیشتر از فاکتور IX طبیعی است.

کلیدواژه‌ها: فاکتور IX- گاما کربوکسیلاز- پروپپتید - پروترومبین

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۲۷۳۰۵۶۰۹۴۱۰۱۰
تاریخ دفاع: ۱۳۹۴/۱۰/۲۰
رشته‌ی تحصیلی: زیست فناوری (بیوتکنولوژی) گرایش میکروبی
دانشکده: علوم پایه
استاد راهنما: دکتر جعفر وطن دوست
استاد مشاور: دکتر علی‌اکبر جنت‌آبادی

M.A. Thesis:

Preparation and cloning of mutated human factor IX based on -carboxylation recognition site

Factor IX as a vitamin K-dependent blood coagulation factor requires post-translational modifications such as gamma carboxylation for its biological function. Gamma carboxylation catalyzed by an enzyme called gamma carboxylase and propeptide of vitamin K dependent proteins is first recognition site of gamma carboxylase. Specific amino acids within these propeptide sequences are responsible for differences in affinity for the gamma carboxylase. Increases of Ki result in decrease of enzyme affinity but fully gamma carboxylation of protein. Since the gamma carboxylase enzyme have least affinity for

prothrombin, in this study the pMT-FIX-M9 expression vector constructed contains mutant factor IX cDNA in amino acid -9 on the basis of prothrombin propeptide. The expression and activity of the normal and mutant recombinant factor IX were investigated by ELISA and APTT after various times of transfection. The results showed that the concentrations and activity of factor IX and so gamma carboxylation in mutant factor IX is more than normal factor IX