



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 گاما کربوکسیلاسیون دارد. گاما کربوکسیلاسیون توسط آنزیمی به نام گاما کربوکسیلاز کاتالیز می شود و پروپیتید پروتئین های وابسته به ویتامین K، اولین مکان شناسایی گاما کربوسیلز می باشند. اسیدهای آمینه خاص در این توالی پروپیتیدی مسئول تفاوت تمایل آنزیم برای گاما کربوسیلز هستند. هرچه میزان Ki بیشتر شود تمایل آنزیم کم و پروتئین به طور کامل گاما کربوسیلز می شود. از آنجایی که آنزیم گاما کربوسیلز کمترین تمایل را برای پروترومبین دارد، در این مطالعه سازه بیانی PMT-FIX-M واجد cDNA فاکتور IX جهش یافته در اسید آمینه 9- بر اساس پروپیتید 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 گاما کربوکسیلاسیون فاکتور IX جهش یافته بیشتر از فاکتور IX طبیعی است.

**کلیدواژه‌ها:** فاکتور IX- گاما کربوکسیلاز- پروپیتید - پروترومبین

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۰۱۰۹۴۱۰۵۶۰۲۷۳۱۲

تاریخ دفاع: ۱۳۹۴/۱۰/۲۰

رشته‌ی تحصیلی: زیست فناوری (بیوتکنولوژی) گرایش میکروبی

دانشکده: علوم پایه

استاد راهنما: دکتر جعفر وطن دوست

استاد مشاور: دکتر علی اکبر 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