پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد: سعیده فخر زارعی، ۱۳۹۷

کلونینگ سیالیل ترانسفراز در سلولهای S۲ تولیدکننده فاکتور IX نوترکیب

با توجه به اینکه امروزه مشخص شده که سیستم بیانی حشرات قابلیت گسترده ای در زمینه تولید پروتئین های نوترکیب انسانی باتاخوردگی صحیح و تغییرات پس از ترجمه ای مناسب را دارند بیشتر از گذشته مورد علاقه زیست شناسان واقع شده است.ضمن اینکه سیستم بیانی S2 از جمله سیستم های بیانی حشرات است که کاربردهای متعددی دارد که برای مثال می توان از تشابه اضافه کردن واحدهای قندی در فرآیند گلیکوزیلاسیون باسامانه های پستانداران می باشد ولی در اضافه کردن واحدهای گالاکتوز و سیالیک اسید به پروتئین های ترشحی ناتوان است.باتوجه به توانایی این سلول ها و اهمیت انجام گلیکوزیلاسیون صحیح در پروتئین های نوترکیب انسانی،ایجاد تغییرات در این سیستمبیانی به منظورتولید پروتئین نوترکیب گلیکوزیله مشابه با سیستم های پستانداران ضروری است.در این پژوهش کلونینگ ژن بتا 1و4 گالاکتوزیل،آلفا 2 و 6 سیالیل ترانسفراز دروکتور Pmt و ترانسفکت کردن آن به سلول‌های S2 تولیدکننده فاکتور IX نوترکیب انجام گرفت. بعد از القای این سلول‌ها، محیط کشت این سلول‌ها در بازه‌های زمانی 24، 48 و 72 ساعت جمع آوری شد و میزان فعالیت و بیان فاکتور IX مترشحه با استفاده از تست انعقاد یک مرحله‌ای و الایزا بررسی شد. نتایج نشان داد که وارد کردن ژن بتا 1و4 گالاکتوزیل،آلفا 2 و 6 سیالیل ترانسفراز، تاثیر معناداری بر میزان بیان و فعالیت این پروتئین انعقادی نداشته است.

کلیدواژه‌ها: سیالیل ترنسفراز، سیستم بیانی حشرات، فاکتور ix

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۲۷۳۰۵۵۳۹۵۲۰۰۲
تاریخ دفاع: ۱۳۹۷/۰۳/۲۹
رشته‌ی تحصیلی: ژنتیک
دانشکده: علوم پایه
استاد راهنما: دکتر جعفر وطن‌دوست

M.A. Thesis:

cloning of sialyltransferase in factor IX producing S cell line

Given the fact that it has been shown today that the insect expressive system has a broad ability to produce recombinant human proteins with proper folding and post-translational modifications, biologists are more likely to be interested in the past. However, the S2 expression system Expression systems are insects that have many applications, for example, can be similar to the addition of sugar units in the process of glycosylation of mammalian

herbs, but it is incapable of adding galactose and sialic acid to secretion proteins. It is due to the ability of these cells And the importance of doing glycosylation Correct in recombinant human proteins, making changes in this system is essential for glycosylated recombinant protein synthesis, similar to that of mammals. In this study, the cloning of beta 1 and 4 galactosyl, alpha 2, and 6 of the transfer fluid of Pmt reagent and its transfection into S2-producing cells Recombinant IX factor was performed. After induction of these cells, the culture medium of these cells was collected at time intervals of 24, 48 and 72 hours, and the activity and expression of the secreted factor IX were studied using one-step coagulation and ELISA. The results showed that insertion of beta 1 and 4 galactosyl, alpha 2 and 6 sialyl transferase gene had no significant effect on the expression and activity of this coagulation protein.