بیان ژن پروتئین پوششی ویروس تریستزای مرکبات در *Escherichia coli*

امیر امیری صادقان[1]، مسعود شمس‌بخش*[1] و باقر یخچالی[2]

۱- گروه بیماری‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۲- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری.
* پست الکترونیکی نویسنده مسئول مکاتبه: shamsbakhsh@modares.ac.ir
دریافت: ۲۳ دی ۱۳۹۱؛ پذیرش: ۴ تیر ۱۳۹۲

چکیده: ویروس تریستزای مرکبات (CTV) *Citrus tristeza virus* یکی از مهم‌ترین بیمارگرهای مخرب مرکبات می‌باشد و سالانه خسارت هنگفتی به صنعت تولید این محصول در دنیا وارد می‌کند. به‌دلیل گسترش و شیوع این بیمارگر و همچنین قابلیت انتقال آن توسط شته‌های ناقل موجود در ایران به‌عنوان یکی از کشورهای اصلی تولید مرکبات، ردیابی ویروس برای مدیریت کنترل خسارت آن اهمیت به‌سزایی یافته است. به‌منظور دست‌یابی به این هدف، معرفی یک روش ردیابی دقیق و حساس مانند Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA) اولین مرحله ردیابی ویروس تریستزای مرکبات برای تشخیص نمونه‌ها در سطوح وسیع است. از آنجایی‌که روش‌های سرولوژی نیازمند مقادیر فراوانی از آنتی بادی اختصاصی است، تأمین منبع آنتی‌ژن ویروسی برای استفاده در فرآیند تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال ضروری می‌باشد. در این پژوهش ژن رمزکننده پروتئین پوششی CTV، (CTV-CP25) جدا شده از ایران که در ناقل pTZ57R/T همسانه‌سازی شده بود با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تکثیر و در ناقل بیانی pET26b همسانه‌سازی و pET-CP25 نامیده شد. دو سویه BL21 و Rosetta Gami (DE3) باکتری *Escherichia coli*، با pET-CP25 تراریخته شد. بیان پروتئین پوششی نوترکیب با IPTG القاء گردید. پس از تأیید بیان پروتئین نوترکیب، به‌منظور بررسی ماهیت آن، لکه‌گذاری وسترن با استفاده از آنتی‌بادی پلی‌کلونال اختصاصی علیه پیکره ویروس تریستزای مرکبات انجام گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که ژن رمزکننده پروتئین پوششی CTV در سلول باکتری بیان شد. این پروتئین نوترکیب می‌تواند برای تولید انبوه آنتی ژن و نهایتاً آنتی‌بادی علیه آن استفاده شود.

واژگان کلیدی: پروتئین نوترکیب، لکه گذاری وسترن، الیزا