بررسی انتقال ژن اندوگلوکاناز از اکتینومایست Thermobifida fusca در مخمر Pichia pastoris

محمد کریمی بابا احمدی[۱]، نسرین مشتاقی[۲]، سعید ملک زاده[۲]، حسام دهقانی[۳]، عبد الرضا باقری[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- هیات علمی گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- هیات علمی گروه علوم پایه ،دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

m.karimi444@gmail.com

سلولز به عنوان فراوان ترین منبع تجدید شدنی در سطح زمین می باشد که برای تبدیل شدن به منابع قابل دسترس انرژی، نیازمند همکاری دسته ای از آنزیم ها به نام سلولاز می باشد. لذا تولید فراوان این آنزیم ها از اهمیت بالایی برخوردار است. در این بررسی از مخمر Pichia pastoris به منظور مطالعه قابلیت بیان این آنزیم و همچنین به عنوان یک منبع فراوان و ارزان تولید آنزیم سلولاز استفاده شد. ژن Cel5 (اندوگلوکاناز) از آکتینومایست Thermobifida fusca در وکتور بیانی pPICZα A تحت پیشبر قدرتمند AOX1 و فاکتور ترشحی مناسب قرار گرفت و سپس به P. pastoris سویه KM71 مخمر منتقل شد. سویه های تراریخته با این ژن بر روی محیط کشت مناسب حاوی آنتی بیوتیک زئوسین انتخاب و در محیط القا قرار گرفتند. نتایج آنالیز PCR نشان داد که این ژن با موفقیت در وکتور بیانی مخمر در جهت درست قرار گرفته است. افزایش غلظت آنتی بیوتیک زئوسین در محیط کشت منجر به انتخاب سویه هایی با تولید بیشتر این آنزیم گردید. همچنین در این بررسی تولید پروتئین ترشحی توسط روش رنگ آمیزی محیط کشت Cmc-agar تایید شد.

واژگان کلیدی: مخمر ، Thermobifida fusca ، سلولاز ، اندو گلوکاناز، سلولز.

مقایسه تاثیر متقابل سویه آگروباکتریوم و واریته در تراریزش کلزا

نازیلا نیاپور، مسعود توحید فر، امین باقی زاده، علی نیاپور، سپیده قطب زاده کرمانی

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوریهای نوین، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی کرمان

استادیار گروه کشت بافت و انتقال ژن، پژوهشکده ی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج

دانشیار گروه بیوتکنولوژی، مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان

استادیار گروه علوم تشریح و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

کارشناس آزمایشگاه گروه بیوتکنولوژی، مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان

nazilaniapour@yahoo.com

کلزا سومین دانه مهم روغنی در سطح جهان می‌باشد و نقش مهمی در تامین نیاز روغن کشور دارد. از طرفی امروزه بهبود در صفات گیاهان زراعی با استفاده از روشهای سنتی محدود بوده و بنابراین توجه بیشتری به استفاده از تکنیک انتقال ژن برای ایجاد صفات مورد نظر می شود که به طور مستقیم متاثر از اثر متقابل بین واریته گیاه و سویه باکتری می‌باشد. در این تحقیق بذرهای دو رقم تجاری Elite و RJS003 بوسیله چهار سویه باکتریایی C58، LBA4404، AGL0، EHA101 تلقیح شدند که حاوی وکتور PBI121 و حامل ژنهای NPTII و GUS بودند. برای این منظور بذرهای کلزا پس از ضد عفونی سطحی، در شرایط کاملاً استریل و به مدت ۷ روز روی محیط کشت جوانه زنی نگهداری شدند. سپس اکسپلنتهای هیپوکوتیل ۸-۱۰ میلی متری انتخاب شده و به محیط MS حاوی ۱ mg/l از 2,4-D به منظور پیش تیمار و سپس هم کشتی منتقل شدند. کالوس زایی نیز تحت شرایط کنترل شده؛ در روی محیط انتخابی حاوی ۱ mg/l از 2,4-D و ۵۰ mg/l از کاناماسین انجام گرفت. انتقال ژن GUS در مرحله کالوس زائی با استفاده از تست