بهینه سازی نانوذرات آهن-نیکل در تخلیص پروتئین نوترکیب GRP-78

خدیجه اسکندری

مرکز تحقیقات علوم پرتوی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله عج، تهران، ایران

چکیده

پروتئین اتصال‌دهنده (GRP78) یک پروتئین شوک حرارتی چاپرونی است که به شدت مورد اهمیت می باشد. تاکنون روشهای متعددی جهت ارزیابی و تعیین پروتئین GRP78 انجام شده است که شامل سنجش کمی پروتئین در نمونه حجیم الایزا (ELISA) بررسی وزن مولکولی پروتئین وسترن بلات (Western Blot) مشاهده محل پروتئین در بافت یا سلول ایمونوهیستوشیمی (IHC)/ایمونوسایتوشیمی (ICC)، تعیین دقیق محل زیرسلولی میکروسکوپی کانفوکال، بررسی بیان در جمعیت‌های سلولی ناهمگن فلوسایتومتری، سنجش سطح فعالیت ژن qRT-PCR، شناسایی پروتئین‌های متقابل کو-ایمونوپرسیپیتیشن (Co-IP) ، مطالعه نقش عملکردی مهار با siRNA یا داروهای کوچک مولکولی می باشد. با این حال در سالهای اخیر ستون های کرواتوگرافی سنتی نیکل (Ni-NTA Agarose) نیز برای تخلیص پروتئین GRP78 ابداع شده است که برای مقیاس های بالا و متوسط کارایی خوبی دارد. جداسازی مغناطیسی یکی از روش‌های سریع و آسان برای جداسازی پروتئین‌ها، سلول‌ها و مولکول‌های مختلف از میان نمونه خام اولیه می‌باشد. در پژوهش حاضر، مطالعه روش‌های مختلف سنتز و پوشش دهی نانو کامپوزیت مغناطیسی حاوی نیکل-آهن بررسی‌شده و کاربرد آن در جداسازی پروتئین‌ها مدنظر بوده است تا جهت جمع‌آوری پروتئین نوترکیب GRP-78 مورداستفاده قرار گیرد. در این تحقیق نانو کامپوزیت آهن-نیکل به روش شیمیایی اکسیداسیون و احیاء ساخته شد سپس نانو کامپوزیت‌های سنتز شده در هر روش به‌وسیله روش اسپکتروسکوپی بررسی شد تا اندازه نانو کامپوزیت و مورفولوژی سطحی آن سنجیده شود. در مرحله نهایی این نانو ذرات در معرض پروتئین قرار گرفت تا به تگ هیستیدین آن متصل شود و سپس پروتئین با مگنت خارجی جمع‌آوری و تغلیظ و تخلیص شد.

واژه های کلیدی: تخلیص پروتئین، نانو کامپوزیت آهن- نیکل، جداسازی مغناطیسی، GRP-78