الملخص

تم في هذه الدراسة تنسيل ألجين المختص بهرمون النمو ألبقري أو السوماتوتروبين ألبقري من سلالات الأبقار المحلية لمدينه البصرة وتهيئه الظروف المثلى لتعبيره في بكتريا(HB101 Escherchia coli). حيث تم عزل واستخلاص الحامض النووي الرايبي RNA من دم الأبقار لاستخدامه كقالب لبناء وتضخيم cDNA الخاص بهرمون النمو ألبقري بواسطة زوج خاص من بادئاته و باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل\ الناسخ العكسي RT-PCR . إن الناتج من التضخيم تم إقحامه بالموقع الخاص بأنزيم القطع (Pst1) في بلازميد (pBR322) عبر استخدام تقنيه ((poly dC /dG للربط وإنتاج ناقل مكلون مع ألجين المحدد. تم تحول الناقل المكلون إلى خلايا (HB101 Escherchia coli) المهندسة وراثيا بعمليه التحول البكتيري ، وان الخلايا المتحولة تم انتقائها على أساس مقاومتها للمضاد الحيوي التتراسيكلين وحساسيتها للبنسلين. وتم استخلاص و أذابه وتنقيه هرمون النمو ألبقري من المكتنفات الخلوية في البكتريا و الناتج بروتين كامل البنية والذي تم الكشف عنه باستخدام 12% من هلامه متعدد الاكريلاميد . تبع هذه الخطوة تنقيه الهرمون بمتبادل ايوني سالب باستخدام عمود (DEAE-Sepharose) وكانت النتائج الحصول على حزمه مفرده واضحة بوزن جزيئي 22 كيلو دالتون باستخدام 12% من هلامه متعدد الاكريلاميد والتي تمثل هرمون النمو السوماتوتروبين ألبقري المنقى. ولاختبار فعاليه الهرمون في الحيوانات ألمختبريه فقد حقنت 20 فأر بعمر (8-10) أسابيع من سلاله (Albino , Mus muscles L, Balb/C) بهرمون السوماتوتروبين ألبقري المنتج و المنقى من هذه الدراسة لإنتاج الأجسام المضادة للهرمون في الفئران المحقونة. وتم الكشف عن هذه الأجسام المضادة باختبار الاليزا الغير مباشر ثنائي الطبقة (Indirect sandwich ELISA test).

Abstract

In the present study, we have undertaken the cloning of bovine growth hormone or bovine somatotropin (bST) gene from local cows breeds in Basrah city, and optimizing the conditions for its high-level expression in Escherchia coli. the ribonucleic acid RNA extraction from whole cow blood and used as a template for the synthesis of bovine growth hormone cDNA by RT-PCR, through using specific primers. The RT-PCR amplified product was inserted in to the Pst1 site of pBR322 via the poly (dC): poly (dG) joining technique to produce the recombinant vector. The cloning vector then transformed in to E.coli HB101 and the transformant cells colonies were selected by tetracycline resistant / ampicillin sensitive phenotype . The bST hormone then isolation, solubilization and purification from the inclusion bodies in bacterial cells and resulting in a full refolded protein form indicated by 12% SDS-Polyachrylamid gel. Followed by purification the hormone using DEAE-Sepharose ion-exchange chromatography and the result was a single visible band with 22KDa on 12% SDS-Polyachrylamid gel which represents the purified bST. The biological activity of the purified bST was detected using the indirect sandwich ELISA test for this purpose. Twenty (8-10) week inbred (Albino, Mus muscles L, Balb/C) mice were immunized with the purified bST to detect the mice specific anti-bovine ST growth hormone antibody.