خلاصه فارسی:

مقدمه: CD19 پان مارکر سلول B و یک هدف جالب توجه در زمینه تولید آنتی‌بادی مونوکلونال درمانی جهت استفاده برای درمان بیماری‌های اتوایمیون و بدخیم می‌باشد.

هدف: هدف از این مطالعه کلون‌کردن cDNA کدکننده‌ی CD19 انسانی و ایجاد یک لاین سلولی موشی دارای بیان پایدار مولکول CD19 برای تهیه ایمونوژن مناسب بعنوان اولین گام در تولید آنتی‌بادی در طی طرح‌های آتی بود.

روش کار و مواد: RNA تام از سلول‌های Raji پس از تأیید بیان CD19 با تکنیک فلوسیتومتری استخراج گردید. سپس cDNA سنتز شد و برای تکثیر ژن CD19 به روش PCR با آنزیم Pfu مورد استفاده قرار گرفت. محصول PCR با وکتور pGEM-T Easy ترکیب گردید و مخلوط الحاق به باکتری‌های مستعد DH5α ترانسفورم شد. بر روی کلنی‌های سفید غربال شده به روش گزینش آبی-سفید، واکنش کلنی-PCR با پرایمرهای اختصاصی ژن صورت گرفت و پلاسمید یک کلنی مثبت استخراج گردید و تعیین توالی شد. سپس توالی کدکننده‌ی CD19 به روش برش دو آنزیمی با استفاده از آنزیم‌های KpnI و HindIII در وکتور بیانی pCMV6-Neo ساب کلون شد. کانستراکت حاصل پس از بررسی صحت توالی و با استفاده از ماده JetPEI به سلول NIH-3T3 ترانسفکت گردید. پس از ۴۸ ساعت، بیان سطحی CD19 در سلول‌های ترانسفکت شده با استفاده از فلوسیتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس سلول‌های ترانسفکت شده‌ی دارای بیان پایدار CD19 با افزودن آنتی‌بیوتیک G418 در غلظت‌های افزاینده به محیط کشت انتخاب شدند.

یافته‌ها: تکثیر ژن CD19 منجر به قطعه‌ای به طول ۱۷۰۱ bp شد که در قیاس با توالی مرجع در بانک اطلاعاتی NCBI مورد تأیید قرار گرفت. نتایج فلوسیتومتری نشان از بیان موفقیت‌آمیز CD19 بر سطح سلول‌های NIH-3T3 داشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه NIH-3T3 یک رده سلولی فیبروبلاست موشی می‌باشد، سلول‌های دارای بیان پایدار CD19 انسانی بعنوان یک ایمونوژن مناسب برای تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال با استفاده‌ی گسترده در زمینه‌های تشخیصی، درمانی و تحقیقاتی، قابل استفاده خواهند بود.

کلمات کلیدی: CD19، کلونینگ، بیان پایدار، NIH-3T3، ایمونوتراپی