دانشکده کشاورزی
گروه علوم دامی

پایان نامه کارشناسی ارشد

کلونینگ و بیان ژن فیتاز ($PhyC$) در اشرشیاکلی

حمید آریان نژاد

استادان راهنما
محمدرضا نصیری
علی اصغر اسلمی نژاد

استادان مشاور
احمد آسوده
حسام دهقانی

شهریور ۱۳۹۱

- صفحه تعهد نامه

صفحهٔ تعهد نامه به صورت زیر تهیه شده، به امضاء دانشجو می رسد:

تعهد نامه

عنوان پایان نامه:

اینجانب **حمید آریان نژاد** دانشجوی دوره دکتری / کارشناسی ارشد رشته **ژنتیک و اصلاح دام** دانشکده **کشاورزی** دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی **دکترمحمدرضا نصیری و علی اصغر اسلمی نژاد** متعهد می شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد یگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ

نام و امضاء دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.**
- **استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.**

Ferdowsi University of Mashhad
Faculty of Agriculture

MSc Thesis

Cloning and Expression of Phytase Gene (*PhyC*) in *Escherichia coli*

Hamid Ariannejad

Supervisor(s)
Dr. MohamadReza Nassiri
Dr. Aliasghar Aslaminejad

Advisor(s)
Dr. Ahmad Asoodeh
Dr. Hesam Dehghani

September 2012

چکیده

فیتازها (مایواینزیتول هگزا فسفات فسفوهیدرولاز) آنزیم‌های هستند که اسید فایتیک را هیدرولیز و فسفر معدنی را برای حیوانات قابل دسترس می کنند. تولید طبیعی و نوترکیب این آنزیم ازجمله مسائل مهم حوزه مهندسی ژنتیک محسوب می‌گردد. در این پروژه، ژن فیتاز خارج سلولی باکتری *باسیلوس سابتیلیس* ATCC12711(*PhyC*) با استفاده از پرایمرهای لینکردار حاوی سایت‌های برشی *BamH*I و *Hind* III جداسازی شد. به منظور انجام توالی‌یابی و بررسی خصوصیات، ژن تکثیر شده *phyC* به ناقل pTZ57R/T منتقل و سپس به باکتری *اشرشیاکلی* DH5α انتقال داده شد. غربالگری کلونی آبی و سفید با استفاده از IPTG و X-Gal به منظور انتخاب کلونی‌های نوترکیب انجام گردید و کلونی های حاوی ژن هدف با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و روش کلونی PCR انتخاب شدند. آنالیز و بررسی همولوژی ژن هدف با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیک صورت گرفت. هضم آنزیمی وکتور کلونینگ با استفاده از آنزیم های محدودکننده ذکر شده صورت گرفت. ژن هدف به ناقل بیانی pET32a(+) به منظور بیان ژن وارد شد. ناقل نوترکیب به سویه *اشرشیاکلی* BL21 (DE3) انتقال و حضور ناقل نوترکیب با استفاده از کلونی PCR تایید گردید. سپس سویه بیانی حاوی ژن هدف با استفاده از IPTG در غلظت نهایی ۱ مولار در حضور CaCl2 ۱۰ میلی مولار تحریک شد. نتایج استخراج پروتئین در SDS-PAGE الکتروفورز شده و اندازه پروتئین فیتاز تولید شده ٦٤ kD تخمین زده شد. همچنین نتیجه دات‌بلات صحت تولید پروتئین فیتاز را تایید می‌نماید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی با استفاده از روش استاندارد فسفاتاز نشان داد که آنزیم نوترکیب تولید شده در این تحقیق، در pH=۷ بیشترین فعالیت را دارا می‌باشد. فعالیت آنزیم اندازه‌گیری شده برابر با U/ml ۷/٤٤ بود که وابسته به حضور یون کلسیم می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که این آنزیم به جهت مقاومت حرارتی و هزینه تولید پایین، قابلیت بالای برای استفاده در صنعت مواد افزودنی و دارویی دارد.

کلمات کلیدی

فیتاز قلیایی، مایو اینزیتول هگزا فسفات، مایو اینزیتول هگزا فسفات فسفوهیدرولاز، بیان ژن

Absteract

Phytases (*myo*-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase) are enzymes that catalyze the release of phosphate from phytate and available phosphorus for domestic animal. Productions of native and recombinant enzyme are major problem in genetics engineering area. In these project, the gene *phyC* encoding phytase was isolated from *Bacillus subtilis* ATCC12711 with using linker primer containing restriction sites of *BamH*I and *Hind*III. PCR product was inserted in pTZ57R/T vector for cloning and nucleotide characterization, then transformed to *Escherichia coli* DH5α. Wight and blue colony screening was performed with using IPTG and X gal and recombinant colony selected and tested with colony PCR. Target gene homology analysis is done with using bioinformatics tools. Recombinant plasmid containing target gene digested with *BamH*I and *Hind*III enzymes. Target gene was cloned in pET32a(+) as expression vector and transformed to *E. coli* BL21(DE3). Positive clones were confirmed by colony PCR with gene specific primers and restriction digestion. Expression host was induced by 1mM IPTG, in presence of 10mM calcium. SDS-PAGE demonstrated that molecular weight of *PhyC-Trx* protein was estimated about 64 kDa. Dot-blot analysis confirmed presence of recombinant protein. Phytase activity was performed by standard phosphatase methods and optimum pH for the degradation of phytate was 7. Phytase activity was 7.44 U/ml. The results showed that because of thermal stability and low production cost, this enzyme could be an attractive part for using in feed supplement and pharmaceutical applications.

Keywords

Alkaline phytase, *myo*-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase, Gene expression, *Bacillus subtilis*

فهرست مطالب

فصل اول- مقدمه ۱

۱-۱ اهمیت موضوع ۱

۱-۲ اهداف تحقیق ٤

فصل دوم- بررسی منابع ۵

۲-۱ اسید فیتیک ۵

۲-۱-۱ ساختار شیمیایی اسید فیتیک ۷

۲-۱-۲ عملکردهای فیزیولوژیکی اسید فیتیک ۷

۲-۱-۳ اثرات ضد تغذیه ای اسید فیتیک ۸

۲-۲ فیتاز ۹

۲-۲-۱ منابع تولید فیتاز ۱۰

۲-۲-۱-۱ منابع میکروبی ۱۰

۲-۲-۱-۲ منابع گیاهی ۱۲

۲-۲-۱-۳ منابع حیوانی ۱۲

۲-۲-۲ ویژگی های آنزیمی فیتاز ۱٦

۲-۲-۳ طبقه بندی فیتازها ۱٦

۲-۲-۳-۱ هیستیدین اسید فسفات (HAP): ۱۷

۲-۲-۳-۲ بتا پروپیل فیتاز (BPP) ۱۷

۲-۲-۳-۳ سیستئین فسفاتاز (CP) ۱۸

۲-۲-۳-٤ پروپیل اسید فسفاتاز (PAP) ۱۸
۲-۲-٤ همولوژی توالیهای فیتازی ۱۸
۲-۲-۵ تحریک تولید آنزیم فیتاز ۱۹
۲-۲-٦ ویژگی های ساختاری آنزیم فیتاز ۲۰
۲-۲-۷ pH بهینه ۲۳
۲-۲-۸ دما ۲٤
۲-۲-۹ تعدیل کنندهای فعالیت آنزیم فیتاز ۲٤
۲-۲-۱۰ ویژگی های سوبسترا و پارامترهای کینتیکی ۲۸
۲-۲-۱۱ محصولات نهایی هیدرولیز اسید فایتیک ۲۹
۲-۲-۱۲ کاربرد آنزیم فیتاز ۳۰
۲-۳ سیگنال پپتید ۳۱
۲-٤ تحقیقات انجام شده در این زمینه ۳۲
۲-۵ دات بلاتینگ ۳٦
۲-٦نرم افزار CLC Work Bench5 ..... ۳٦
۲-۷ نرم افزار Mega5 ..... ۳۷
۲-۸ ابزار BLAST ۳۷
فصل سوم- مواد و روشها ۳۹
۳-۱ تهیه باکتری باسیلوس سابتیلیس ۳۹
۳-۲ استخراج DNA و تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده ۳۹
۳-۲-۲ ژل آگارز ٤۰

۳-۲-٤ عکسبرداری از ژل آگارز ٤١
۳-۲-٥ تعیین غلظت DNA استخراج شده ٤١
۳-۳ طراحی آغازگرها ٤٢
۳-٤ انجام واکنش PCR ٤٣
۳-٥ استخراج ژن فیتاز ٤٥
۳-٦ واکنش A-tailing ٤٦
۳-٦-۱ استخراج محصول واکنش A-tailing ٤٦
۳-۷ طرز تهیه محلولهای مورد استفاده در کلونینگ ٤٧
۳-۷-۱ کلرید کلسیم ۱۰۰ میلی مولار ٤٧
۳-۷-۲ محلول غلیظ آنتی بیوتیک آمپیسیلین ٤٧
۳-۷-٤ محلول غلیظ IPTG (0.1M) ٤٧
۳-۷-٥ محلول غلیظ X-Gal (20mg/ml) ٤٧
۳-۷-٦ محیط کشت LB مایع ٤٨
۳-۷-۷ محیط کشت LB-Agar جامد ٤٨
۳-۷-۸ کلونینگ قطعه مورد نظر در باکتری DH5α ٤٩
۳-۷-۹ انجام واکنش الحاق محصول A-tailing با پلاسمید pTZ57R/T ٤٩
۳-۷-۱۰ جوان سازی باکتری DH5α ٥٠
۳-۷-۱۱ تهیه سلول‌های مستعد DH5α ٥٠
۳-۷-۱۲ انتقال پلاسمیدها به باکتری ٥١
۳-۷-۱۳ غربالگری پرگنه‌ها ٥٢

۳-۷-۱٤ تایید کلونی های سفید نوترکیب صحیح ۵۲
۳-۷-۱۵ کلونی PCR ۵۲
۳-۷-۱٦ استخراج پلاسمید نوترکیب ۵۲
۳-۷-۱۷ هضم آنزیمی ۵٤
۳-۷-۱۸ توالی یابی ۵٤
۳-۸ آنالیز توالی ژنی و پروتئینی ۵۵
۳-۹ کلونینگ قطعه مورد نظر در باکتری BL21(DE3) ۵۵
۳-۹-۱ آماده سازی قطعه ۵۵
۳-۹-۲ هضم پلاسمید pTZ-PhyC ۵۵
۳-۹-۳ استخراج محصول واکنش هضم پلاسمید ۵٦
۳-۹-٤ هضم pET-32a (+) ۵٦
۳-۹-۵ استخراج ناقل هضم شده از ژل ۵۷
۳-۹-٦ تهیه محیط کشت باکتری BL21(DE3) ۵۷
۳-۹-۷ تهیه سلول های مستعد از باکتری BL21(DE3) ۵۷
۳-۹-۸ تهیه سلول‌های مستعد باکتری BL21(DE3) ۵۸
۳-۹-۹ واکنش الحاق *PhyC* با pET-32a(+) ۵۸
۳-۹-۱۰ انتقال پلاسمیدها به باکتری DH5α ۵۸
۳-۹-۱۱ کشت خطی پرگنه‌ها ۵۹
۳-۹-۱۲ استخراج پلاسمید نوترکیب ۵۹
۳-۹-۱۳ تعیین کیفیت و کمیت پلاسمید نوترکیب استخراج شده ۵۹

۳-۹-۱٤ هضم آنزیمی pET-32a(+) PhyC ٥٩
۳-۹-۱٥ انتقال پلاسمید pET-32a(+) حاوی ژن هدف به باکتری BL21(DE3) ٦٠
۳-۱۰ تحریک بیان ژن هدف ٦٠
۳-۱۰-۱ استخراج پروتئین از باکتری ٦١
۳-۱۰-۲ الکتروفورز پروتئینها به روش SDS-PAGE ٦١
۳-۱۱ رنگ آمیزی نیترات نقره ٦٤
۳-۱۲ مراحل رنگ آمیزی کوماسی بلو ٦٥
۳-۱۳ دات بلات ٦٦
۳-۱۳-۱ محلولها و بافرها ٦٦
۳-۱۳-۱-۱ بافر شستشو یا محلول TBS ٦٦
۳-۱۳-۱-۲ محلول بلوکه کننده ٦٦
۳-۱۳-۱-۳ بافر شستشو یا محلول TBS-T ٦٦
۳-۱۳-۱-٤ آنتی بادی اولیه ٦٦
۳-۱۳-۱-٥ آنتی بادی ثانویه ٦٦
۳-۱۳-۱-٦ روش تهیه محلول رنگ آمیزی DAB ٦٧
۳-۱٤ خالص سازی پروتئین ٦٨
۳-۱٤-۱ محلولها و بافرها ٦٨
۳-۱٤-۱-۱ بافر PBS ٦٨
۳-۱٤-۱-۲ بافر لیز کننده ٦٨
۳-۱٤-۱-۳ بافر شستشو ٦٨

۳-۱٤-۱-٤ بافر باندکننده ٦٩
۳-۱۵ تعیین فعالیت آنزیمی ٦٩
فصل چهارم- نتایج و بحث ۷۳
٤-۱ تعیین کمیت و کیفیت DNA ۷۳
٤-۲ بررسی محصولات PCR ۷٤
٤-۳ استخراج محصول PCR از ژل ۷۵
٤-٤ استخراج از ژل محصول واکنش A-tailing ۷٦
٤-۵ کلونینگ ژن فیتاز در باکتری DH5α ۷٦
٤-۵-۱ تأیید صحت قطعه کلون شده در PTZ57R/T ۷۷
٤-۵-۲ نتایج کلونی PCR و هضم آنزیمی ۷۸
٤-۵-۳ استخراج پلاسمید و انجام هضم آنزیمی ۷۸
٤-۵-٤ توالی یابی ۷۹
٤-٦ آنالیز توالی ژن فیتاز ۷۹
٤-۷ آنالیز فیلوژنتیکی توالی آمینواسیدی فیتاز ۸۱
٤-۸ هضم پلاسمید نوترکیب و ناقل بیان ۸۳
٤-۸-۱ استخراج از ژل محصولات هضم ژن هدف و ناقل بیان ۸۳
٤-۸-۲ انتقال محصول الحاق به باکتری DH5α ۸٤
٤-۸-۳ کلونی PCR و هضم آنزیمی ۸٤
٤-۹ بیان ژن ۸۵
٤-۹-۱ SDS-PAGE ۸۵

٤-١٠ دات بلات ٨٦
٤-١١ تخلیص پروتئین ٨٧
٤-١٢ تعیین فعالیت آنزیمی ٨٨
٤-١٣ بحث ٨٩
فصل پنجم- نتیجه گیری و پیشنهادات ٩٣
٥-٢ پیشنهادات ٩٥
منابع ٩٦

فهرست شکل‌ها

شکل ۲-۱. مطلوب‌ترین ساختار شیمیایی اسید فیتیک.....۷

شکل ۲-۲. اثر متقابل اسید فیتیک با فلزات، پروتئین‌ها و کربوهیدرات.....۹

شکل ۲-۳. مسیرهای تئوری مایواینزیتول هگزاکیس فسفات به مایو اینزیتول‌های پایین‌تر ۱۰

شکل۲-٤. مجموعه واکنش آنزیمی فیتاز ۱۷

شکل ۲-۵. تاثیر یون‌های فلزی بر فعالیت فیتازی *باسیلوس سابتیلیس*.....۲۷

شکل ۲-٦. اثر دما بر روی فعالیت فیتازی و مقاومت گرمایی آنزیم.....۲۸

شکل ٤-۱. محصول استخراج DNA بر روی ژل آگارز.....۷۳

شکل ٤-۲. قطعه تکثیر شده توالی 16sRNA بر روی ژل آگارز ۷٤

شکل ٤-۳. قطعه تکثیر شده توالی فیتاز بر روی ژل آگارز ۷۵

شکل ٤-٤. قطعه تکثیر شده با استفاده از پرایمرهای لینکردار پس از استخراج از ژل بر روی ژل آگارز.....۷۵

شکل ٤-۵. قطعه فیتاز پس از A-tailing و استخراج از ژل بر روی ژل آگارز ۷٦

شکل ٤-٦. پرگنه‌های آبی رنگ تولید شده از باکتری‌های حاوی پلاسمید pTZ57R/T ۷٦

شکل ٤-۷. پرگنه‌های آبی و سفید رنگ تولید شده از باکتری‌های دریافت کننده پلاسمید نوترکیب.....۷۷

شکل ٤-۸. پرگنه های سفید حاصل از کشت خطی.....۷۷

شکل ٤-٩. محصول کلونی PCR جهت تأیید قطعه کلون شده در PTZ57R/T.....٧٨

شکل ٤-١٠. هضم پلاسمید نوترکیب pTZ57R/T با استفاده از آنزیم های BamHI و HindIII. ٧٩

شکل ٤-١١. توالی نوکلوتیدی و پروتئینی ژن فیتاز باکتری *باسیلوس سابتیلیس*ATCC12711.....٨٠

شکل٤-١٢. آنالیز فیلوژنتیکی توالی‌های اسید آمینه تولید کننده فیتاز قلیایی.....٨٢

شکل٤-١٣. شکل فضای پروتئین فیتاز باکتری باسیلوس سابتیلیس PTCC1156.....٨٢

شکل ٤-١٤. محصول هضم پلاسمید pET32a (+).....٨٣

شکل ٤-١٥. نتایج استخراج از ژل ژن فیتاز.....٨٤

شکل ٤-١٦. پرگنه‌های سفید رنگ تولید شده از باکتری‌های DH5α دریافت کننده پلاسمید نوترکیب.....٨٤

شکل ٤-١٧. هضم و کلونی PCR پلاسمید نوترکیب pET32a(+).....٨٥

شکل ٤-١٨. SDS-PAGE پروتئین‌های استخراج شده از باکتری‌های تحریک شده (کوماسی بلو) ٨٦

شکل ٤-١٩. SDS-PAGE پروتئین‌های استخراج شده از باکتری‌های تحریک شده (رنگ نیترات نقره).....٨٦

شکل ٤-٢٠. دات بلات پروتئین‌های استخراج شده.....٨٧

شکل ٤-٢١. الکتروفورز پروتئین‌تخلیص شده.....٨٧

شکل ٤-٢٢. رنگ آمیزی فسفر معدنی آزاد شده در محیط حاوی آنزیم فیتاز نوترکیب.....٨٨

شکل ٤-٢٣. فسفر معدنی آزاد شده از فسفات هیدروژن پتاسیم و جذب نوری آن.....٨٨

شکل٤-٢٤. فعالیت فیتازی اندازه گیری شده در pHهای مختلف.....۸۹

فهرست جدول‌ها

جدول ۲-۱. محتوای فسفر فیتاتی برخی از اجزای رایج خوراک..... ٦

جدول ۲-۲. منابع مختلف تولید کننده فیتاز ۱۳

جدول ۲-۳. خصوصیات بیوفیزیکی فیتازهای مختلف..... ۲۱

جدول ۲-٤. وزن مولکولی، دما و pH بهینه فیتازهای منابع مختلف..... ۲۵

جدول ۳-۱. ویژگی‌های آغازگرهای رفت و برگشت..... ٤۳

جدول ۳-۲. مواد و مقادیر لازم برای انجام PCR یک واکنش..... ٤۳

جدول ۳-۳. برنامه حرارتی مورد استفاده جهت تکثیر ژن 16sRNA..... ٤٤

جدول ۳-٤. مواد و مقادیر لازم برای انجام PCR یک واکنش ٤٤

جدول ۳-۵. برنامه حرارتی مورد استفاده جهت تکثیر ژن فیتاز..... ٤۵

جدول ۳-٦. مواد و مقادیر لازم برای انجام واکنش A-tailing..... ٤٦

جدول ۳-۷. مواد مورد نیاز جهت تهیه محیط کشتLB مایع..... ٤۸

جدول ۳-۸. مواد مورد نیاز جهت تهیه محیط کشت جامد LB-Agar..... ٤۸

جدول ۳-۹. مواد مورد نیاز جهت انجام واکنش الحاق T/A Cloning..... ٤۹

جدول ۳-۱۰. مواد و مقادیر لازم برای انجام واکنش هضم پلاسمید pTZ-PhyC..... ۵٤

جدول ۳-۱۱. مواد و مقادیر لازم جهت هضم پلاسمید pTZ57R/T نوترکیب..... ٥٦
جدول ۳-۱۲. مواد و مقادیر لازم برای انجام واکنش هضم pET-32a(+)..... ٥٧
جدول ۳-۱۳. مواد و مقادیر لازم برای انجام واکنش پیوند قطعه و ناقل..... ٥٨
جدول ۳-۱٤. مواد مورد نیاز برای تهیه بافر Laemmli buffer samples 5X ٦١
جدول ۳-۱٥. مواد و مقادیر لازم جهت تهیه ژل پایینی SDS-PAGE ٦٢
جدول ۳-۱٦. مواد لازم جهت بستن ژل بالایی SDS-PAGE ٦٢
جدول ۳-۱۷. مواد و مقادیر مورد نیاز برای بافر 5X تانک SDS-PAGE ٦٣
جدول ۳-۱۸. مواد و مقادیر مورد نیاز جهت تهیه بافر پایدارکننده..... ٦٤
جدول ۳-۱۹. مواد مورد نیاز در تهیه محلول نیترات نقره..... ٦٥
جدول ۳-۲۰. مواد و مقادیر مورد نیاز جهت تهیه محلول رنگ زا رنگ آمیزی نیترات نقره..... ٦٥

فهرست علائم و اختصارات

علامت اختصاری	معادل لاتین	معادل فارسی
ADP	Adenosine 5’-Diphosphate	**آدنوزین دی فسفات**
ATP	Adenosine 5’-Triphosphate	**آدنوزین تری فسفات**
bp	Base pair	**جفت باز**
BSA	Bovain serum albumin	**سرم البومین گاوی**
cPCR	Competitive PCR	**واکنش زنجیره‌ای پلیمراز رقابتی**
DAB	Diamino Benzidine	**دی آمینو بنزیدین**
ddW	Double Distilled Water	**آب دوبار تقطیر**
DNA	Deoxyribonocleic Acid	**اسید دزوکسی ریبو نوکلئیک**
EDTA	Ethylenediaminetetra-acetic acid	**اتیلن دیامین ترا- استیک اسید**
GRAS	Generally Regarded As Safe	**سازمان امنیت محصولات غذایی**
Ins P_6	myo-Inositol Hexakisphosphate	**میواینوزیتول هگزاکیس فسفات**
IPPs	Inositol Poly Phosphates	**اینوزیتول پلی فسفات‌ها**
IPTG	Isopropyl β -D-thiogalactopyranoside	**تیوگالاکتوپیرانوزید ایزوپروپیل**
IUPAC-IUB	International Union of Pure and Applide Chemistry- International Union of Biochemistry	**اتحادیه بین الملل شیمی خالص و کاربردی- اتحادیه بین المللی بیوشیمی**
kb	Kilobase (pair)	**کیلوباز**

kDa	kiloDalton	کیلودالتون
LB	Lauria – Bertani	لوریا- برتانی
NCBI	National Center of Biotechnology Information	بانک جهانی اطلاعات بیوتکنولوژی
OD	Optic Density	چگالی نوری
ORF	Open Reading Frame	چارچوب خواندن آزاد
PCR	Polymerase Chain Reaction	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
PTP	Protein Tyrosine Phosphatase	پروتئین تیروزین فسفات
RBS	Ribosomal Binding Site	جایگاه اتصال ریبوزوم
rpm	Round per minute	دور در دقیقه
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacryl Amide Gel Electrophoresis	سدیم دودسیل سولفات – ژل الکتروفورز پلی‌اکریل آمید