دانشگاه پیام نور

پایان نامه
برای دریافت درجه کارشناسی ارشد
در رشته زیست گرایش بیوشیمی

دانشکده پیام نور مشهد
گروه علمی بیوشیمی

عنوان پایان نامه:
کلونینگ و بیا ن آلرژن Che a 2 گرده ی گیاه سلمه (*Chenopodium album*)

اساتید راهنما:
آقای دکتر سنگیان
خانم دکتر واحدی

استاد مشاور:
آقای دکتر صالح مقدم

نگارش:
اکرم امینی

خرداد ۱۳۸۸

۱۳۸۸/۴/۳۰

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران

۱۲۱۶۶۴

تاریخ: ۱۳۸۸/۳/۱۶
شماره: ۸۱۰/۵۹۳۶
پیوست: .....

جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه پیام نور
خراسان رضوی

باسمه تعالی

صورتجلسه دفاع از پایان نامه

پایان نامه تحت عنوان: کلونینگ و بیان آلرژن Che a 2 گرده ی گیاه سلمه (*Chenopodium album*) که توسط اکرم امینی تهیه و به هیئت داوران ارائه گردیده است مورد تأیید می باشد.

تاریخ دفاع: ۱۳۸۸/۳/۱۳ نمره: ۲۰ بیست درجه ارزشیابی: عالی

اعضای هیئت داوران:

نام ونام خانوادگی	هیئت داوران	مرتبه علمی	امضاء
مجتبی سنکیان	استاد راهنما	استادیار	
فاطمه واحدی	استاد راهنمای همکار	استادیار	
مسعود صالح مقدم	استاد مشاور	استادیار	
سیما افشار نژاد	استاد داور	استادیار	
جواد محمدی پور	نماینده گروه آموزشی		

مشهد: خیابان امام خمینی ۴۰– صندوق پستی: ۹۱۹ تلفن: ۸۵۲۸۵۲۸ (۰۵۱۱)
دورنگار: ۸۵۲۸۵۲۰ (۰۵۱۱) پست الکترونیک: mashhad @ pnu.ac.ir

جمهوری اسلامی ایران

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

تاریخ: ۱۳۸۸/۳/۱۶

شماره: ۸۱۰/۸۹۰۱

پیوست: .....

دانشگاه پیام نور

باسمه تعالی

تصویب نامه پایان نامه

پایان نامه تحت عنوان: کلونینگ و بیان آلرژن Che a 2 گرده ی گیاه سلمه (*Chenopodium album*) که توسط اکرم امینی تهیه و به هیئت داوران ارائه گردیده است مورد تأیید می باشد.

تاریخ دفاع: ۱۳۸۸/۳/۱۳ نمره: ۲۰ بیست درجه ارزشیابی: عالی

اعضای هیئت داوران:

نام ونام خانوادگی	هیئت داوران	مرتبه علمی	امضاء
مجتبی سنکیان	استاد راهنما	استادیار	
فاطمه واحدی	استاد راهنمای همکار	استادیار	
مسعود صالح مقدم	استاد مشاور	استادیار	
سیما افشار نژاد	استاد ممتحن	استادیار	
جواد محمدی پور	نماینده گروه آموزشی		

تقدیم به،

پیشوایم،

ثامن الحجج علی بن موسی الرضا(ع)

به امید شفاعتش در سرای باقی

تقدیم به همسر مهربانم

که بعد از خدا همتا ندارد،

خدا را شکر میکنم که در خیل موهبت هایی که به من ارزانی داشت همراهی را به همراهیم فرستاد که در لحظه های زندگیم احساس ناتوانی نکنم او همواره مشوق و تاثیرگذار بر فعالیت هایم بوده است و از آن قادر بی منت تقاضای مسرت خاطر و توفیق روز افزون در امور را برایش آرزو دارم.

و به آرامش بخش وجودم،

آذین بخش زندگیم

آذین

تقدیم به پدر عزیزم

عزیزی که، هستی اش را سرمایه وجودم ساخت و، هستی ام مرهون سایه پر مهر اوست.

و مادر مهربانم

اقیانوس محبت جاودان،

بر دستانت بوسه می زنم، و برای پاسخ محبتها و زحمات تا زمانی که روح و جسمم با یکدیگر آمیخته باشد، لحظه ای فروگذاری نخواهم کرد.

و برادران و خواهران عزیزم

که همیشه حامی بوده اند آنهایی که وجودشان شادی بخش دلم و آینده روشنشان آرزوی من است.

تقدیم به اساتید گرانقدر،

جناب آقای دکتر وارسته

جناب آقای دکتر سنگیان

سرکار خانم دکتر واحدی

جناب آقای دکتر صالح مقدم

بزرگوارانی که زحمت راهنمایی مرا در این پژوهش پذیرفتند و تجربیات و آموخته‌هایشان را بدون هیچ چشم داشتی در اختیار من قرار دادند.

با تشکر و سپاس فراوان از،

همکاران محترم بخش ایمونوبیوشیمی پژوهشکده بوعلی

سرکار خانم مقدم

به پاس زحمات بی دریغشان در انجام این پژوهش

سرکار خانم دکتر نوربخش سرکار خانم محدث فر جناب آقای دکتر تهرانی

جناب آقای دکتر فلک جناب آقای دکتر نوری جناب آقای دکتر مجیدزاده

جناب آقای دکتر فریدونی

با تشکر فراوان از،

مسوول محترم امور آموزشی دانشجویان تحصیلات تکمیلی سرکار خانم درخشانی و همکاران

با سپاس فراوان از دوستان و همکاران

خانمها: هدایتی، شهودیفر، دهقان، خواجه نصیر، ابریشمی، اصغری، بروک، رضوی، حکیمی، انوری، گلشنی،

بلوری مقدم، سنگلاخ، حسینی آقایان: فهیمی، عصایی

<<سلامت و بهروزی همه این عزیزان آرزوی من است>>

فهرست مطالب

(Contents)

عنوان — صفحه

فهرست ..... أ-ی

چکیده فارسی ..... ک

اختصارات ..... گ

فصل ۱ : معرفی پژوهش (Introduction)

۱-۱- عنوان پایان نامه ۲

۱-۱-۱- به فارسی ۲

۱-۱-۲- به انگلیسی ۲

۱-۲- مقدمه ۲

۱-۳- اهداف پژوهش ۳

۱-۳-۱- اهداف کلی ۳

۱-۳-۲- اهداف اختصاصی ۳

۱-٤- فرضیات پژوهش ٤

۱-۵- روش انجام پژوهش ٤

فصل ۲ : زمینه پژوهش (Literature Review)

۲-۱- آلرژنها وبیماریزایی ۷

۲-۲- کلونینگ ۲۷

فصل ۲- بخش اول- آلرژنها و بیماریزایی

۲-۱-۱- مقدمه ۷

۲-۱-۲- آلرژی به گرده گیاهان ۸

۲-۱-۳- خانواده آمارانتاسه ۱۱

۲-۱-٤- گیاه سلمه ۱۳

۲-۱-٥- شیوع آلرژی به گیاه سلمه در ایران و جهان ۱٤

۲-۱-٦- ساختار پروتئین ها ۱٥

۲-۱-۷- چگونگی آلرژن شدن یک پروتئین ۱٥

۲-۱-۷-۱- آنالیز اپی توپ های IgE (سلول B) ۱٦

۲-۱-۷-۱-۱- آنالیز اپی توپ های خطی IgE ۱۷

۲-۱-۷-۱-۲- آنالیز اپی توپ های فضایی سلول B ۱۷

۲-۱-۷-۱-۳- نقش کربوهیدرات ها در آلرژی زایی ۱۸

۲-۱-۷-۲- اپی توپ های IgE آلرژن های اصلی و فرعی ۱۸

۲-۱-۷-۳- آنالیز اپی توپ های سلول T ۱۹

۲-۱-۷-٤- واکنش متقاطع اپی توپ های سلول T و IgE ۲۰

۲-۱-۷-۵- آنالیز ساختار سه بعدی آلرژن ۲۰

۲-۱-۷-٦- آنالیز ویژگی های آنزیمی آلرژنها ۲۱

۲-۱-۸- راهکارهای درمان آلرژی ۲۲

۲-۱-۹- خصوصیات بیوشیمیایی آلرژنهای گرده گیاه سلمه ۲۲

۲-۱-۱۰- آلرژن Che a 2 ..... ۲٤

۲-۱-۱۰-۱- پروفیلین ۲٤

فصل ۲- بخش دوم- کلونینگ

۲-۲- کلونینگ ژن ۲۷

۲-۲-۱- شیوه های کلونینگ برای محصول PCR ۲۸

۲-۲-۲- کلونینگ وابسته به لیگیشن یا لیگاز ۲۸

۲-۲-۲-۱- کلونینگ محصول PCR با انتهای صاف ۲۹

۲-۲-۲-۱-۱- استفاده از قطعات اتصال دهنده (Linkers) ۲۹

۲-۲-۲-۱-۲- استفاده از قطعات آداپتور ۲۹

۲-۲-۲-۱-۳- استفاده از آنزیم ترمینال ترانسفراز ۳۰

۲-۲-۲-۱-٤- استفاده از DNA لیگاز T4 ..... ۳۰

۲-۲-۲-۲- کلونینگ محصول PCR با انتها های چسبنده ۳۰

۲-۲-۲-۲-۱- محصول PCR با انتهاهای حاوی جایگاه برش آنزیم محدودالاثر ۳۰

۲-۲-۲-۲-۲- محصول PCR با انتهاهای حاوی باز آدنین یا T/A کلونینگ ۳۱

۲-۲-۳- کلونینگ غیر وابسته به لیگیشن یا لیگاز ۳۱

۲-۲-٤- ابزارهای مهم مورد استفاده در کلونینگ ژن ۳۲

۲-۲-٥- آنزیم های مورد استفاده در کلونینگ ژن ۳۳

۲-۲-٥-۱- آنزیم های محدودالاثر (اندو نوکلئاز ها) ۳۳

۲-۲-٥-۲- لیگاز ۳٤

۲-۲-٥-۳- DNA پلی مراز ۳٤

۲-۲-٥-٤- فسفاتاز و کیناز ۳٥

۲-۲-٦- حامل ها یا وکتور های کلونینگ ۳٥

۲-۲-٦-۱- وکتورهای باکتریایی ۳٥

۲-۲-٦-۱-۱- وکتورهای پلاسمیدی ۳٥

۲-۲-٦-۱-۱-۱- وکتور pTZ57R/T ۳٥

۲-۲-٦-۱-۱-۲- وکتور pET101/D-TOPO® ۳۷

۲-۲-٦-۱-۱-۳- وکتور pET-32 a-c (+) ۳۸

۲-۲-٦-۲- وکتورهای باکتریوفاژی ٤۰

۲-۲-٦-۳-کاسمید ها ٤۰

۲-۲-٦-٤- فاژمیدها ٤۰

۲-۲-٦-٥- وکتورهای مخمری ٤۰

۲-۲-٦-٦- وکتورهای مورد استفاده برای سلولهای پستانداران ٤۱

۲-۲-۷- سیستم های بیان ژن ٤۱

۲-۲-۷-۱- سیستم های بیان پروکاریوتی ٤۱

۲-۲-۷-۲- سیستم های بیان یوکاریوتی ٤۱

۲-۲-۸- مراحل اساسی کلونینگ ٤۲

۲-۲-۸-۱- تکثیر DNA ٤۳

۲-۲-۸-۱-۱- واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR) ٤۳

۲-۲-۸-۱-۲- واکنش RT-PCR ٤۳

۲-۲-۸-۲- ادغام (اتصال مولکولهای DNA به یکدیگر) ٤٤

۲-۲-۸-۳- وارد کردن وکتور حامل ژن در یک میزبان ٤٤

۲-۲-۸-۳-۱- ترانسفورمیشن ٤٤

۲-۲-۸-۳-۲- الکتروپورشن ٤٤

۲-۲-۸-۳-۳- تفنگ ذره ای یا تفنگ اسید نوکلئیک ٤٥

۲-۲-۸-۳-٤- تزریق بسیار کم محلول حاوی DNA ٤٥

۲-۲-۹- بیان پروتئین نوترکیب بصورت محلول ٤٥

۲-۲-۹-۱-شیوه های جلوگیری از تغییرات غیر طبیعی در سلول میزبان ٤۷

۲-۲-۹-۱-۱- بیان پروتئین نوترکیب در شرایط دمای پایین ٤۸

۲-۲-۹-۱-۲- سوش *E. coli* مورد استفاده برای بهبود بیان پروتئین بصورت محلول ٤۹

۲-۲-۹-۱-۳- تغییر روشهای کشت باکتری برای افزایش تولید پروتئین محلول ٤۹

۲-۲-۹-۱-٤- چاپرونهای مولکولی مسبب چین خوردگی پروتئینهای نوترکیب ٥۰

۲-۲-۹-۱-٥- میانکنش پروتئین های همراه و چین خوردگی پروتئین ٥۱

۲-۲-۹-۲- شیوه های دستکاری ژن برای تولید پروتئین نوترکیب ٥۲

۲-۲-۹-۲-۱- فن آوری پروتئین ادغامی(اتصالی) ٥۲

۲-۲-۹-۲-۲- غربالگری و انتخاب اشکال (واریته های) محلول ٥۳

۲-۲-۱۰- خالص سازی پروتئین نوترکیب به روش متال افینیتی کروماتوگرافی ۵۳

۲-۲-۱۰-۱- سیستم تخلیص Ni-NTA ۵٤

۲-۲-۱۱- کاربرد های آلرژنهای نوترکیب ۵۵

۲-۲-۱۱-۱- کاربرد های آلرژنهای نوترکیب برای اهداف تشخیصی ۵۵

۲-۲-۱۱-۲- کاربرد آلرژنهای نوترکیب برای اهداف درمانی ۵٦

۲-۲-۱۱-۳- کاربرد های آلرژنهای نوترکیب برای اهداف پیشگیری کننده ۵۷

۲-۲-۱۲- بهره گیری از بیوانفورماتیک در مطالعات ساختار های پروتئینی ٦۰

۲-۲-۱۲-۱- آنالیز توالی و ساختار آلرژن پروتئینی ٦۱

۲-۲-۱۲-۲- ترسیم مدل سه بعدی ملکول به روش مدل سازی همسانی یا مقایسه ای ٦۲

فصل سوم : مواد و روشها (Materials and Methods)

۳-۱- مقدمه ٦۵

۳-۲- شناسایی و تأییدگیاه سلمه ٦٦

۳-۳- جمع آوری گرده گیاه سلمه ٦٦

۳-٤- استخراج RNA از گرده گیاه سلمه ٦۷

۳-۵- بررسی غلظت وکیفیت RNA استخراج شده ٦۷

۳-٦- حذف DNA موجود در RNA استخراج شده ٦۸

۳-۷- ساخت cDNA از RNA ٦۸

۳-۸- طراحی پرایمر جهت تکثیر قطعه Che a 2 ..... ٦۹

۳-۹- انجام PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ۷۰

۳-۱۰- انجام PCR با استفاده از پرایمرهای دژنره ۷۱

۳-۱۱- انجام PCR بهینه شده برای تکثیر Che a 2 با استفاده از آنزیم *Pfu* پلی مراز ۷۳

۳-۱۲- انجام T/A کلونینگ ۷٤

۳-۱۲-۱- جداسازی و خالص سازی باند PCR مورد نظر از ژل آگارز ۷٤

۳-۱۲-۲- تعیین کیفیت و مقدار محصول PCR خالص شده از ژل آگارز ۷۵

۳-۱۲-۳- ادغام فرآورده PCR با وکتور مورد استفاده در T/A کلونینگ (pTZ57R/T) ۷٦

۳-۱۲-٤- ترانسفورم نمودن باکتریهای TOP10 توسط پلاسمید pTZ57R/T ۷۷

۳-۱۲-۵- استخراج پلاسمید به روش قلیایی با SDS ۷۸

۳-۱۲-٦- استخراج پلاسمید با استفاده از کیت GENET BIO ۷۹

۳-۱۲-۷- تعیین توالی قطعه مورد نظر ۸۰

۳-۱۳- تهیه مدل مولکولی از آلرژن Che a 2 ..... ۸۰

۳-۱٤- طراحی پرایمر جهت کلون نمودن cDNA آلرژن Che a 2 در پلاسمید pET-32b(+) ۸۱

۳-۱۵- مراحل کلونینگ cDNA آلرژن Che a 2 در پلاسمید pET-32b(+) ۸٤

۳-۱۵-۱- انجام PCR با استفاده از پرایمرهای آداپتور طراحی شده ۸٤

۳-۱۵-۲- برش مضاعف محصول PCR توسط آنزیم *Xho* I و *Not* I ۸٤

۳-۱۵-۳- تکثیر و برش پلاسمید pET-32 b(+) با آنزیمهای محدودالاثر *Not* I و *Xho* I ۸۵

۳-۱۵-٤- واکنش ادغام (لیگاسیون) قطعه ۳۹۹bp در وکتور pET-32 b(+) ۸۷

۳-۱۵-۵- ترانسفورم نمودن باکتری TOP10 با پلاسمید نوترکیب pET-32 b(+)/Che a 2 ..... ۸۸

۳-۱۵-٦- کامپتنت نمودن باکتری TOP10 طبق روش تغییر یافته Inoue ۸۸

۳-۱٦- استخراج و خالص سازی پلاسمید pET-32 b(+)/Che a 2 نوترکیب ۹۰

۳-۱۷- غربالگری کلنی های رشد یافته از نظر وجود پلاسمید نوترکیب با روش هضم آنزیمی ۹۰

۳-۱۸- بیان وخالص سازی پروتئین نوترکیب ۹۰

۳-۱۸-۱- وارد نمودن پلاسمید pET-32 b(+)/Che a 2 نوترکیب به داخل باکتری BL21(DE3) ۹۱

۳-۱۸-۲- اثبات کلون های دارای پلاسمید pET-32 b(+)/Che a 2 نوترکیب از طریق برش آنزیمی ۹۱

۳-۱۸-۳- کشت باکتری نوترکیب و بیان پروتئین نوترکیب ۹۱

۳-۱۸-٤- آنالیز پروتئین بیان شده به روش SDS-PAGE ۹۲

۳-۱۸-٤-۱- رنگ آمیزی ژل SDS-PAGE با رنگ کوماسی بریلیانت بلو ۹۵

۳-۱۸-۵- بیان پروتئین نوترکیب در مقیاس بالا ۹۶

۳-۱۸-٦- خالص سازی پروتئین نوترکیب به روش متال افینیتی کروماتوگرافی ۹۷

۳-۱۹- جمعیت مورد مطالعه ۹۸

۳-۲۰- آزمون پوستی پریک ۹۸

۳-۲۱- شناسایی پروتئین نوترکیب Che a 2 با استفاده از سرم بیماران حساس به سلمه با روش ایمونوبلاتینگ . ۹۹

۳-۲۲- تهیه عصاره گرده گیاه سلمه ۱۰۰

۳-۲۳- اندازه گیری مقدار پروتئین توتال عصاره گرده گیاه سلمه و پروتئین نوترکیب تولید شده به روش برادفورد ۱۰۱

۳-۲٤- ایمونوبلاتینگ عصاره گرده گیاه سلمه با استفاده از سرم بیماران حساس به سلمه ۱۰۲

۳-۲۵- ایمونوبلاتینگ ممانعتی برای اثبات واکنش دهی پروتئین نوترکیب Che a 2 گیاه سلمه با IgE اختصاصی سرم افراد حساس به این گیاه ۱۰۲

فصل چهارم: نتایج پژوهش (Results)

٤-۱- تأیید و ثبت گونه گیاه ۱۰۵

٤-۲- استخراج RNA از گرده گیاه سلمه ۱۰۵

٤-۳- سنتز cDNA و انجام PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و دژنره ۱۰۷

٤-٤- T/A کلونینگ و غربالگری کلون های رشد یافته ۱۰۷

٤-۵- آنالیز توالی پروتئینی استنتاج شده از بخش کد کننده پروتئین cDNA پروفیلین گرده گیاه سلمه ۱۰۸

٤-٦- ساختار دوم و سه بعدی پروتئین استنتاج شده از cDNA پروفیلین گرده گیاه ۱۱۰

٤-۷- تکثیر قطعه bp ۳۹۹ با استفاده از پرایمرهای آداپتور حاوی جایگاههای برش آنزیمهای *Not* I و *Xho* I و استخراج از ژل ۱۱۳

٤-۸- برش مضاعف محصول PCR با آنزیم های محدودالاثر *Not* I و *Xho* I ۱۱۵

٤-۹- تکثیر و برش پلاسمید pET-32 b(+) با آنزیمهای محدودالاثر *Not* I و *Xho* I ۱۱۵

٤-١٠- ادغام و ترانسفورم نمودن باکتری BL21(DE3) با پلاسمید نوترکیب حاوی قطعه ٣٩٩ bp ١١٦

٤-١١- بیان پروتئین نوترکیب Che a 2 ..... ١١٨

٤-١٢- خالص سازی پروتئین نوترکیب Che a 2 ..... ١١٩

٤-١٣- واکنش دهی پروتئین Che a 2 نوترکیب با سرم افراد حساس به گیاه سلمه ١٢٠

٤-١٤- عصاره آلرژیک گرده گیاه سلمه ١٢٠

٤-١٥- واکنش دهی عصاره طبیعی گرده گیاه سلمه با سرم افراد حساس به گیاه سلمه ١٢٣

٤-١٦- ایمونوبلاتینگ ممانعتی برای اثبات واکنش دهی پروتئین نوترکیب Che a 2 گیاه سلمه با IgE اختصاصی سرم افراد حساس به این گیاه ١٢٤

فصل پنجم: بحث (Discussion)

بحث ١٢٧

نتیجه گیری ١٣٤

پیشنهادات ١٣٥

فهرست منابع ١٣٦

پیوست ها(Appendices)

پیوست الف : مواد شیمیایی و دستگاه ها ١٤٢

پیوست ب :محلول ها و بافرها ١٤٦

پیوست ج: فرم ثبت گیاه سلمه در هرباریوم دانشگاه فردوسی مشهد ١٥٢

چکیده انگلیسی ١٥٣

چکیده

مقدمه: سلمه (*Chenopodium album*)گیاهی پایا از خانواده Chenopodiaceae می باشد، که در خاکهای شور رشد می کند. استنشاق گرده گیاه سلمه به عنوان یکی از عوامل مهم ایجاد علائم آلرژی تنفسی در ایران گزارش شده است. مطالعات گذشته حاکی از آن است که Che a 2 به عنوان یکی از آلرژن های اصلی گرده گیاه سلمه به شمار می آید. هدف از این مطالعه تولید وتخلیص پروتئین نوترکیب Che a 2 در اشریشیاکلی و ارزیابی توانایی اتصال آن با IgE سرم افراد حساس به گیاه سلمه می باشد.

مواد و روشها: کلونینگ قطعه ژنی Che a 2 با استفاده از واکنش PCR و پرایمرهای دژنره که بر اساس توالی های پروفیلین مختلف طراحی شده بود، انجام شد. سیستم BL21 (DE3)/pET32b (+) برای بیان پروتئین Che a 2 نوترکیب در نظر گرفته شد. خالص سازی rChe a 2 با استفاده از متال (نیکل) افینیتی کروماتوگرافی انجام گردید. آزمایشات ایمونوبلاتینگ و ایمونوبلاتینگ مهاری با ۱۲ سرم فرد حساس به گیاه سلمه صورت گرفت.

نتایج: قطعه bp ۳۹۹ با موفقیت تکثیر گردید و پس از بیان در *E. coli* ، پروتئین نوترکیب ادغامی rChe a 2 با وزن مولکولی ۳٤ کیلودالتون بدست آمده و خالص شد. توالی آمینو اسیدی Che a 2 همولوژی بالایی را با سایر پروفیلین های گیاهی نشان داد. با توجه به اینکه سرم همه ۱۲ بیمار حساس به گرده گیاه سلمه با پروتئین نوترکیب Che a 2 واکنش دادند، به نظر می آید Che a 2 یکی از آلرژنهای اصلی در گیاه سلمه باشد.

بحث: آزمایشات ایمونوبلاتینگ نشان دادند که واکنش اتصالی پروتئین نوترکیب با IgE، مشابه پروتئین طبیعی می باشد و پروتئین نوترکیب Che a 2 کاندید مناسبی جهت اهداف تشخیصی و درمانی پیشنهاد می شود.

کلید واژه: سلمه، آلرژن Che a 2، کلونینگ، بیان، خالص سازی

اختصارات

(Abbreviation)

bp	Base pair
RT PCR	Reverse transcriptase- PCR
EtBr	Ethidium bromide
BSA	Bovine Serum Albumin
CCD	Cross reactive Carbohydrate Determinant
cDNA	Complementary DNA
DEPC	Diethylpyrocarbonate
DMSO	Dimethyl Sulfoxide
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic
HRP	Horseradish Peroxidase
IPTG	Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside
LB	Luria Bertani medium
mg	Miligram = 10^{-3} gram
ml	Milliliter
µg	Microgram
MW	Molecular Weight
2-ME	2-mercaptoethanol
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ORF	Open reading frame
PBS	Phosphate Buffer Saline
PCR	Polymerase chain reaction
PVDF	Polyvinil difluride
RPM	Revolutions per minute
SDS	Sodium dodecyl sulfate
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate polyacryl amide gel
TAE	Tris acetate EDTA
TE	Tris EDTA buffer

فصل اول

معرفی پژوهش

(Introduction)