استمارة مستخلصات رسائل واطاريح الماجستير والدكتوراه في جامعة البصرة

اسم الطالب: زينب طعمة خلف الكلية: العلوم

القسم: علوم الحياة الحجاج اسم المشرف: ا.د. محمد عبد المحسن

الشهادة:الدكتوراه التخصص: هندسة وراثية

عنوان الرسالة او الاطروحة:

التعبير الجيني للانزيم البشري المركب بيتا الغلوكوسيريبروسايديز بكلونة الجين داخل النبات ملخص الرسالة او الاطروحة:

تعد الزراعة الجزيئية واحدة من أهم تجارب التقنيه الحيويه لانتاج محاصيل نباتية معدلة وراثيا لإنتاج بروتينات طبية وان بكتريا Agrobacterium واحدة من أدوات الهندسة الوراثية التي تستخدم لادخال الجينات المرغوبه داخل النبات. في السنوات الأخيرة زادت الحاجه لإنتاج بروتينات علاجيه بطرق الهندسة الوراثية، ويعد انزيم الـ Glucocerebrosidase المستخدم لعلاج المرض الوراثي Gaucher disease واحد من تلك البروتينات. في الدراسة الحاليه تم تصميم بادئات خاصة لتضخيم الجين البشري Hu-GBA1 المسؤل عن انتاج انزيم Glucocerebrosidase من CDNA الناتج من النسخ العكسى للحامض الرايبوسي المعزول من الدم البشري ومن cDNA المكلونه داخل البلازميد المركب PGEM-GBA بعدها تم كلونه الجين المضخم في ناقل التعبير النباتي PGEM-GBA للحصول على ناقل كلونة يحمل الصفه الوراثيه لتشفير انزيم Glucocerebrosidase. استخدام البلازميد المركب الناتج pCAMBIA1304-GBA لتحويل بكتريا Agrobacterium tumefaciens LBA4404 الى بكتريا حامله للبلازميد المركب. واستخدم العالق البكتيري لتحويل فلقات نبات دوار الشمس الى فلقات محورة وراثيا حاوية على الجين البشري GBA1 .اذ تم بنجاح إستزراع نبات دوار الشمس من الفلقات المحور وراثيا وقد تُبت وجود الجين Hu-GBA في الحمض النووّي للنبات المحور النامي بواسطه PCR كما قيس التعبير الجيني للانزيم فيه بواسطة الريال تايم PCR (gRT-PCR). استخدم الاختبار المناعي المرتبط بلانزيم ELISA وباستخدام عدة المحاليل الجاهزة (Human Glucosylceramide ELISA Kit) لتحديد هوية الانزيم المنتج من البروتيات الخام المستخلصه من النبات المحور وتحديد تركيزه ايضا

College: Science Name of student: Zainab Tuama

Khalaf

Dept.: Biology Name of supervisor: Prof. Dr.Mohamad A. Maarich Al-Hajaj

Specialization: Genetic engineering Certificate: Ph.D.

Title of thesis:

Expression of Recombinant Human β-Glucocerebrosidase by Gene Cloning in plant

Abstracts of Thesis:

Molecular farming has become one of the most significant experiment implementation of biotechnology to generate modified plant crops so as to produce medicinal proteins. Agrobacterium is one of plant genetic engineering tool that integrate genes of interest inside a host plant. In recent years needs to produce recombinant proteins as therapeutic, growing rapidly. Human glucocerebrosidase is one of these protein that is produced to treat gaucher disease. In this study's specific primers were designed to amplify Hu-GBA gene from cDNA was obtained by reversed transcription human blood RNA and from GBA cDNA provided in constructed PGEM-GBA plasmid which was cloned into the plant expression vector pCAMBIA1304. The generated recombinant pCAMBIA1304-GBA plasmid was used to transform A. tumefaciens LBA4404 and applied for transformation of sunflower cotyledon explants. Bacterial suspension was used to transform sunflower cotyledons. The transformed sunflower cotyledons were successfully generated complete plant with used 6-Benzylaminopurine and Naphthalene acetic acid as growth hormones. The presence of the *Hu-GBA gene* in the genomic DNA of transgenic sunflower plant was proven by PCR as a band of 1561bp size and (qRT-PCR) analysis. The concentration of recombinant glucocerebrosidase was determined by using Enzyme linked Immunoassay