مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ٦، شماره ٢، پاییز و زمستان ٩٦
صفحه ٢٤٤-٢٣٧

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 6, Number 2

همسانه‌سازی مولکولی و بیان ژن سوماتومدین C در سیستم باکتریایی

Molecular cloning and expression of Somatomedin C in bacterial system

ندا حسن‌پور[1]، محمد احمدآبادی[2]، محمد پاژنگ[3]

Neda Hassanpor[1], Mohammad Ahmadabadi[*2], Mohammad Pazhang[3]

۱- کارشناسی ارشد گروه بیوتکنولوژی، ۲- دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی،

۳- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

1- MSc, Department of Biotechnology, 2- Associate Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, 3- Department of Biology, Faculty of Science, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ahmadabadiir@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۲- تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۰)

چکیده

سیستم‌های باکتریایی، به ویژه باکتری اشرشیا کولی، با توجه به مزیتهایی از قبیل هزینه پایین، سهولت کشت و سرعت رشد بالا به عنوان اصلی‌ترین سیستم بیان پروتئین‌های دارویی نوترکیب به شمار می‌روند. در این پژوهش، از این سیستم برای بیان ژن سوماتومدین C به عنوان یک فاکتور ارزشمند رشد انسانی استفاده شد. cDNA این ژن پس از تهیه و تکثیر، با استفاده از آنزیم‌های برشی *Nde*I و *Bam*HI داخل ناقل بیانی همسانه‌سازی شد. نتیجه این همسانه‌سازی، تولید ناقل نوترکیبی بود که در آن ژن سوماتومدین C تحت کنترل پیشبر القایی T7 قرار گرفت. ناقل نوترکیب حاصل به سلول‌های باکتری *E. coli* انتقال داده شد و بیان پروتئین تحت تاثیر القا بوسیله غلظت‌های یک مولار IPTG مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه نشان داد که القای باکتری-های تراریخت به مدت ۲۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منجر به تولید مقادیر قابل توجه از این پروتئین انسانی نوترکیب در باکتری می‌شود.

واژه‌های کلیدی

داورهای نوترکیب،
سوماتومدین C،
فاکتور رشدی شبه انسولین،
سیستم بیان باکتریایی،

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.5.9]

مقدمه

با پیشرفت علوم زیستی به ویژه ژنومیکس، پروتئومیکس، و بیوانفورماتیک، تعداد پروتئین‌های نوترکیب تولید شده از طریق تکنیک‌های مهندسی ژنتیک رو به گسترش است. با رشد سریع جمعیت و افزایش بیماری‌های ناشی از آلودگی-های زیست-محیطی، نیاز به داروهای زیستی به شدت افزایش یافته است. سیستم‌های باکتریایی با توجه به مزیتهای زیادی از قبیل هزینه پایین تولید و سرعت رشد بالا، روش غالب برای تولید پروتئین‌های دارویی نوترکیب محسوب می-شوند (Berlec and Strukelj 2013)، بطوری‌که در حال حاضر از این سیستم برای تولید برخی داروهای نوترکیب از قبیل انسولین، هورمون رشد انسانی، گلوکاگون، اینترفرون آلفا و بتا (Walsh 2014) استفاده می‌شود. فاکتور رشدی سوماتومدین C که فاکتور رشد شبه انسولین I نیز نامیده می-شود، یکی از فاکتورهای رشد مهم در انسان می‌باشد که در پیشگیری از برخی بیماری‌ها از جمله سرطان و نیز درمان بیماری‌های متعددی از قبیل دیابت، پوکی استخوان، اختلالات عصبی و عضلانی، چاقی، و مقاومت انسولین استفاده می‌شود (Frysak et al. 2015, Luey and May 2016). در دنیا، بیشتر از سیستم‌های باکتریایی (Joly et al. 1998) و مخمر (Gill et al. 1999) برای تولید این فاکتور ارزشمند استفاده می‌شود. در سال‌های گذشته، سیستم گیاهی نیز به‌عنوان سیستم مناسبی برای تولید IGF-I معرفی شده است (Daniell et al. 2009). تا به‌حال گزارش‌های محدودی از پژوهش‌ها روی تولید این پروتئین در ایران به ثبت رسیده است (جعفری و همکاران 1392). با توجه به محدوده وسیع اثرات دارویی این فاکتور، تلاش‌های بیشتر برای ایجاد بستر مناسب برای تولید این پروتئین در کشور ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین در این پژوهش همسانه‌سازی و بیان این پروتئین با استفاده از سیستم باکتریایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

سنتز cDNA ژن سوماتومدین C

برای سنتز cDNA، ابتدا RNAی کل از سلولهای انسانی (سلول‌های هلا کشت شده در شرایط درون‌شیشه‌ای، اهدایی دانشگاه لوئی‌پاستور فرانسه) و با استفاده از روش تریزول بر اساس دستورالعمل شرکت تولید کننده (ThermoFicher Scientific) استخراج شد. سپس ۵ µg از RNAی استخراج شده، در واکنشی حاوی ۱۰ پیکومول الیگونوکلوتید پلی T و ۱۰ mM از مخلوط dNTP در حجم نهایی ۱٤ میکرولیتر اضافه و در دمای ٦٥ °C قرار داده شد. پس از ۵ دقیقه، نمونه بلافاصله روی یخ منتقل شد و پس از یک دقیقه، ٤ µl بافر ۵ برابر غلظت مخصوص واکنش رونویسی معکوس، ۱ µl DTT یک دهم مولار، ۱ µl $MgCl_2$ پنجاه میلی مولار و ۲ واحد آنزیم رونویسی معکوس Super Script III، اضافه، و سنتز رشته اول به مدت ۱ ساعت در دمای ۵۰ °C انجام گرفت. برای تکثیر cDNAی مربوط به ژن سوماتومدین C از جفت آغازگر اختصاصی AAA CAT ATG GGA CCG (آغازگر روبه‌جلو) و AAT CTA GAG GAT GGG AAA AAT CAG CAG TCT TCC AA GAG ACT CTG (آغازگر روبه‌عقب) که بر اساس توالی های موجود در سایت NCBI با کد دسترسی NM-000618 از ناحیه ابتدا و انتهای ژن طراحی شده بودند، استفاده شد. برنامه PCR شامل یک مرحله ٤ دقیقه‌ای در دمای ۹۵ °C، سپس ۳۰ چرخه، هر کدام شامل ٤۵ s در ۹۵ °C، ٤۵ s در ۵۵ °C و ۹۰ s در ۷۲ °C، و در پایان، یک مرحله ۱۰ دقیقه‌ای در دمای ۷۲ °C بود.

تهیه ناقل نوترکیب بیانی برای انتقال و بیان ژن سوماتومدین C در باکتری

cDNAی تکثیر شده از واکنش RT-PCR برای ژن سوماتومدین، پس از خالص‌سازی از روی ژل آگارز نقطه ذوب پایین (LMP)، با استفاده از سایت‌های برشی *Nde*I و

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.5.9]

*Bam*HI که به ترتیب در ساختار آغازگرهای روبه‌جلو و روبه‌عقب طراحی شده بودند، در ناقل pGBKT7 همسانه-سازی شد. pGBKT7 یک ناقل بیان دوگانه برای مخمر و باکتری است، و با تهیه این ناقل نوترکیب، ژن سوماتومدین C می‌تواند در سیستم‌های مخمر و باکتری بیان شود.

مراحل تایید ناقل نوترکیب حامل ژن سوماتومدین C

برای تایید وجود ژن سوماتومدین C همسانه‌سازی شده در داخل ناقل نوترکیب، دو آزمایش انجام شد. ابتدا از روش PCR و با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی استفاده شد. در مرحله‌ی دوم، تعدادی از نمونه‌هایی که در PCR مثبت بودند (باند مورد نظر را نشان دادند) برای استخراج پلاسمید و تایید با هضم آنزیمی انتخاب شدند. بطور خلاصه، مقداری از DNAی پلاسمید استخراج شده از نمونه‌ها با آنزیم‌های برشی *Nde*I و *Bam*HI که برای همسانه‌سازی نیز استفاده شده بودند، برش داده شدند. نمونه‌های تایید شده با این روش، برای تایید نهایی توالی‌یابی شدند.

انتقال ناقل نوترکیب به باکتری *E. coli* و بررسی بیان پروتئین سوماتومدین C

انتقال ناقل بیانی PGBKT7-IGF-I به باکتری *E. coli* سویه BL21 با روش شوک حرارتی انجام شد. برای تایید انتقال ناقل به کلنی‌های حاصل، از تکنیک PCR استفاده شد. یکی از کلنی‌های تایید شده در محیط Luria-Bertani (LB) Broth مایع کشت و به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در نهایت، برای تهیه کشت اصلی، ۲۵۰ میلی-لیتر محیط LB با ۳ میلی‌لیتر از محلول پیش‌کشت شبانه تلقیح شد. پس از رسیدن تراکم کشت به OD~۰/۷، نمونه‌های ۵۰ میلی‌لیتری تهیه و پس از القای هر نمونه با یک میلی‌مولار IPTG (Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside) در دماهای مختلف ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد و زمانهای ۱۲، ۱۶ و ۲۲ ساعت، باکتری‌ها رسوب داده شده، و هم‌حجم آن بافر لیزکننده (Tris ۲۵ mM، NaCl ۳۰۰ mM، ۱۰ mM Imidazol، pH=۷) اضافه شد. نمونه‌های لیز شده روی ژل اکریل آمید ۲۰٪ الکتروفورز شدند.

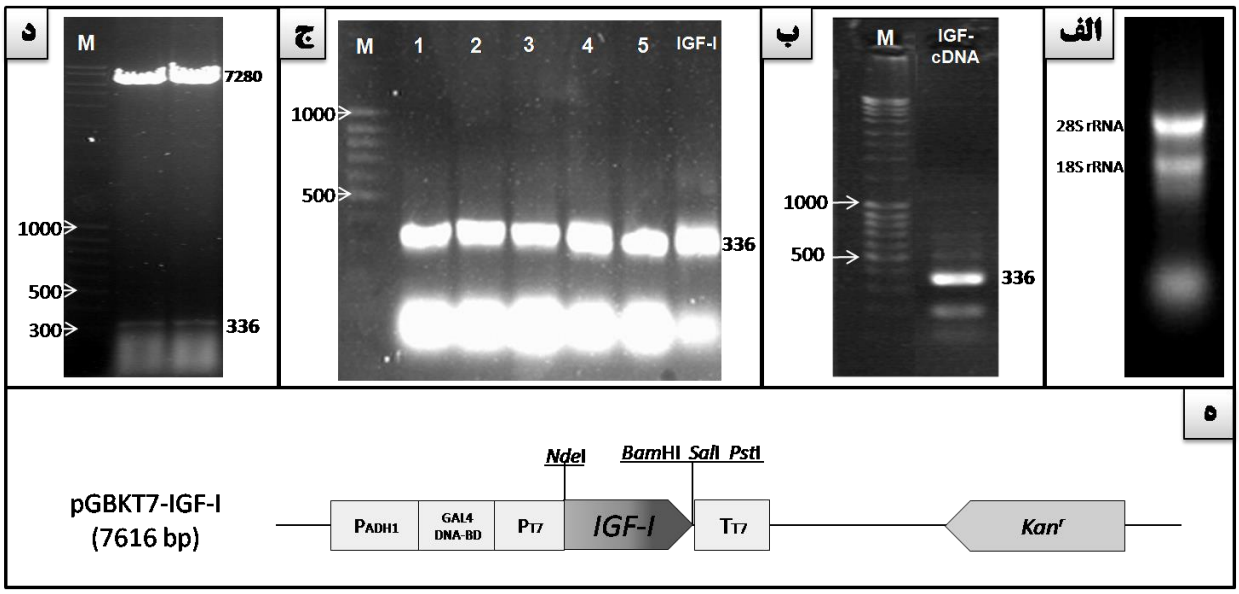
رنگ‌آمیزی پروتئین‌ها

رنگ‌آمیزی پروتئین‌ها روی ژل با استفاده از محلول رنگ-آمیزی Coomassie Blue (۰/۱٪ کوماسی‌بلو، ۵۰٪ متانول و ۱۰٪ استیک اسید) انجام شد. سپس رنگ‌زدایی از ژل با محلولی شامل ۲۰٪ متانول و ۱۰٪ استیک اسید انجام گرفت.

نتایج

در این پژوهش، برای بررسی بیان پروتئین سوماتومدین C انسانی در سیستم باکتریایی، cDNAی این ژن از سلول‌های باکتریایی جداسازی و در ناقل بیانی pGBKT7 همسانه‌سازی شد (شکل ۱). به این منظور از یک جفت آغازگر اختصاصی که از روی توالی ثبت شده برای این ژن در سایت NCBI با کد دسترسی NM-000618 طراحی شد، استفاده شد. پس از تایید ناقل نوترکیب به روش PCR و هضم آنزیمی (شکل ۱)، تعدادی از نمونه‌ها توالی‌یابی شده، و یکی از ناقل‌های نوترکیب که توالی cDNAی همسانه‌سازی شده در آن کاملا منطبق بر توالی ثبت شده بود، برای مراحل بعدی آزمایش انتخاب شد (نتایج نشان داده نشده است).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.5.9]



شکل ۱- مراحل سنتز cDNAی ژن سوماتومدین c و نقشه ناقل نوترکیب حاصل از همسانه‌سازی آن. (**الف**) استخراج RNA از سلولهای کشت شده انسانی. (**ب**) سنتز cDNA انسانی و تکثیر اختصاصی cDNAی ژن سوماتومدین C (IGF-I) با استفاده از یک جفت آغازگر انتخابی. باند ۳۳۶ جفت بازی مربوط به cDNAی ژن IGF-I جداسازی، و پس از خالص‌سازی از ژل داخل ناقل pGBKT7 همسانه‌سازی شد. (**ج**) تصویر الکتروفورز نتیجه واکنش PCR روی تعدادی از کلنی‌های حاوی ناقل نوترکیب pGBKT7-IGF-I (محصول لیگاسیون IGF-I و ناقل pGBKT7 با استفاده از آنزیم‌های برشی *Nde*I و *Bam*HI). تشکیل باند اختصاصی ۳۳۶ جفت بازی، همسانه‌سازی موفقیت‌آمیز ژن IGF-I در کلنی‌های تشکیل شده را نشان می‌دهد. (**د**) الکتروفورز محصول واکنش هضم آنزیمی pGBKT7-IGF-I با آنزیم‌های برشی *Nde*I و *Bam*HI جهت تایید نهایی ناقل نوترکیب pGBKT7-IGF-I. تشکیل باند ۳۳۶ جفت بازی مربوط به ژن IGF-I و باند ۷۲۸۰ جفت بازی مربوط به ناقل pGBKT7، همسانه‌سازی موفق ژن IGF-I داخل ناقل pGBKT7 را نشان می‌دهد. (**ه**) تصویر شماتیک ناقل نوترکیب حاصل که pGBKT7-IGF-I نامگذاری شد. (M): نشانگر مولکولی.

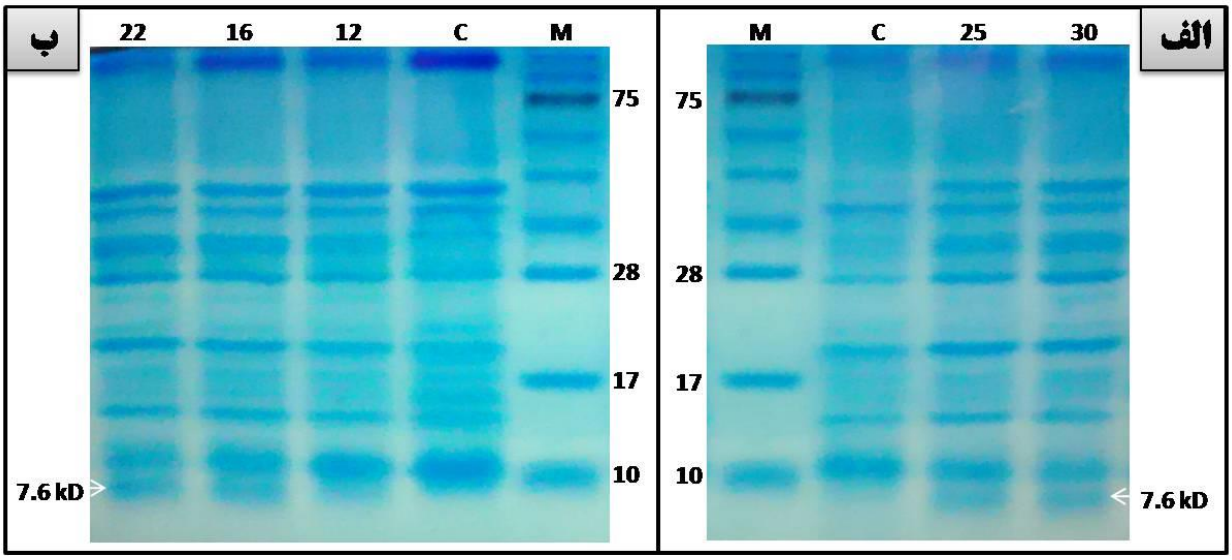
Figure 1. Synthesis of the cDNA of the somatomedin c gene and the recombinant vector map derived from its cloning. (A) Extraction of RNA from cultured human cells. (B) The synthesis of human cDNA and the specific amplification of the cDNA of the somatomedin c (IGF-I) gene using a pair of specific primers. A 336 bp band related to the cDNA of the IGF-I gene was isolated and cloned in the pGBKT7 vector after purification from the gel. (C) Electrophoresis of the result of the PCR reaction on a number of colonies containing the pGBKT7-IGF-I (ligation product of IGF-I cDNA and pGBKT7 vector using *Nde*I and *Bam*HI restriction enzymes) recombinant vector. The formation of a specific bond of 336 bp size represents the successful cloning of the IGF-I gene in the colonies formed. (D) Electrophoresis of the product of the pGBKT7-IGF-I digestion reaction with *Nde*I and *Bam*HI enzymes for final confirmation of the pGBKT7-IGF-I vector. The formation of the 336 bp size specific bands related to the IGF-I gene and 7280 bp related to the pGBKT7 vector, represent the successful cloning of the IGF-I gene in the pGBKT7 vector. (E) The schematic image of the recombinant vector that was named pGBKT7-IGF-I. (M): Molecular marker.

پس از انتقال ناقل نوترکیب تایید شده به سلول‌های مستعد باکتری *E. coli* سویه BL21 به روش شوک حرارتی، تولید پروتئین سوماتومدین C با اندازه ۷/۶ کیلودالتون مورد بررسی قرار گرفت. نتایج الکتروفورز پروتئین‌ها نشان داد که پس از القای باکتری‌ها به مدت ۱۲ تا ۲۲ ساعت در دمای ۲۵ و یا ۳۰ درجه سانتی‌گراد با IPTG ۱ مولار، باعث تولید مقادیر قابل تشخیصی از پروتئین خارجی توسط سلول‌های باکتری می‌شود (شکل ۲). این پروتئین به عنوان یک هورمون آنابولیکی، نقش مهمی در تحریک فرآیندهای مختلف از قبیل تقسیم و تمایز بسیاری از انواع سلول‌ها و بازسازی و ترمیم بافت‌ها

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.5.9]

دارد (Kostecka and Blahovec 2002). بنابراین، افرادی که از کمبود این پروتئین رنج می‌برند، با مشکلات زیادی دست و پنجه نرم می‌کنند (Kim and Lee 1996). برای درمان کمبود این پروتئین، روزانه به حدود ۲-۱/۵ میلی‌گرم برای هر نفر لازم است. علاوه بر آن، این پروتئین در درمان برخی دیگر از بیماری‌ها از قبیل کوتولگی (Laron et al. 1992) و دیابت (Migdalis et al. 1993) کاربرد دارد. در سال‌های گذشته، نقش این پروتئین در سنتز کلاژن تاندون از طریق تزریق موضعی به اثبات رسیده است (Hansen et al. 2013). بنابراین، تولید این پروتئین از ارزش اقتصادی بسیار بالایی برخوردار است.

با وجود اهمیت پروتئین سوماتومدین C و مطالعات زیاد برای افزایش تولید آن در سیستم‌های مختلف بیان از قبیل *E. coli* (Joly et al. 1998)، مخمر (Gill et al. 1999) و گیاه (Daniell et al. 2009) در مراکز پژوهشی مختلف در دنیا، متاسفانه تا به‌حال مطالعات محدودی برای تولید آن در ایران گزارش شده است (Jafari et al. 2013). با توجه به موفقیت حاصل در این پژوهش در بیان این پروتئین از سیستم باکتریایی، می‌توان به بهینه‌سازی و توسعه این تکنولوژی برای تولید نیاز داخلی کشور امیدوار شد. با استفاده از ستون کروماتوگرافی سفاروز می‌توان پروتئین حاصل را خالص-سازی نمود (Daniell et al. 2009).



شکل ۲- الکتروفورز پروتئین کل استخراج شده از باکتری *E. coli*. (**الف**) تصویر الکتروفورز پروتئین و مشاهده باند مربوط به بیان پروتئین سوماتومدین C (فلش) در نمونه‌های القا شده با IPTG به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۲۵ یا ۳۰ درجه سانتی‌گراد. (**ب**) تصویر الکتروفورز ژل SDS-PAGE جهت تایید بیان پروتئین انسانی در باکتری BL21 پس از القای باکتریهای تراریخت با IPTG به مدت ۱۲، ۱۶ و ۲۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد. C: شاهد، M: نشانگر مولکولی پروتئین (اندازه‌ها بر اساس کیلو دالتون می‌باشند).

Figure 2. Electrophoresis of total protein extracted from *E. coli*. (a) Electrophoresis of protein and observation of the bond related to the expression of the somatomedin c protein in IPTG-induced samples for 12 hours at 25 or 30 ºC. (B) SDS-PAGE gel electrophoresis image for confirmation of human protein expression in BL21 bacteria after induction of transgenic bacteria with IPTG for 12, 16 and 22 hours at 25 ° C. C: Control, M: Molecular marker of protein (sizes based on kDa).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.5.9]

با اینکه این سیستم بیان می‌تواند به نوبه خود در تهیه مقادیر مورد نیاز از این پروتئین استفاده شود، با این حال، با توجه به مزیتهای بیشتر گیاهان از قبیل هزینه پایین تولید، امکان انبارداری پروتئین بصورت طبیعی داخل اندامهای ذخیره‌ای، و به‌ویژه عدم نیاز به خالص‌سازی پروتئین در صورت استفاده از گیاهان خوراکی (Gruber et al. 2001, Kusnadi et al. 1997, Yao et al. 2015)، توصیه می‌شود در کنار بهینه‌سازی سیستم باکتریایی حاضر، بیان این پروتئین با استفاده از سیستم‌های مناسب گیاهی نیز در دستور کار قرار گیرد. در سالهای گذشته، با توجه به مزیتهای قابل توجه، تولید پروتئین‌های نوترکیب از طریق انتقال ژن به اندامک کلروپلاست گیاهان مورد توجه قرار گرفته است (Aronsson et al. 2016, Berecz et al. 2016, Scotti and Cardi 2012).

اندامک کلروپلاست در کنار مزیتهای دیگر (Maliga 2004)، ویژگیهای سیستم‌های پروکاریوتی از قبیل سازماندهی ژن‌ها و کدون‌ها، سیستم بیان پلی‌سیسترونیک و نوترکیبی هومولوژی را از اجداد پروکاریوتی احتمالی خود به ارث برده‌اند (Maliga 2004). بنابراین، با توجه به موفقیت این پژوهش در بیان پروتئین نوترکیب سوماتومدین C در یک سیستم پروکاریوتی، می‌توان به موفقیت تولید آن در اندامک کلروپلاست به عنوان یک بیورآکتور مناسب‌تر امیدوار بود.

سپاسگزاری

از دانشگاه شهید مدنی آذربایجان بخاطر حمایت مالی و معنوی این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

Aronsson H, Larsson P, Bains S. 2017. Plastid Molecular pharming II. Production of biopharmaceuticals by plastid transformation. Mini Rev Med Chem. 17:1316 - 1330.

Berecz BB, Zelenyanszki H, Polya S, Tamas-Nyitrai C, Oszvald M. 2017. Plastid molecular pharming I. Production of oral vaccines via plastid transformation. Mini Rev Med Chem. 17:1292-1315.

Berlec A, Strukelj B. 2013. Current state and recent advances in biopharmaceutical production in Escherichia coli, yeasts and mammalian cells. J Ind Microbiol Biotechnol 40:257-274.

Daniell H, Ruiz G, Denes B, Sandberg L, Langridge W. 2009. Optimization of codon composition and regulatory elements for expression of human insulin like growth factor-1 in transgenic chloroplasts and evaluation of structural identity and function. Bmc Biotechnology 9:33.

Frysak Z, Schovanek J, Iacobone M, Karasek D. 2015. Insulin-like growth factors in a clinical setting: Review of IGF-I. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 159:347-351.

Gill R, Verma C, Wallach B, Urso B, Pitts J, Wollmer A, De Meyts P, Wood S. 1999. Modelling of the disulphide-swapped isomer of human insulin-like growth factor-1: implications for receptor binding. Protein Engineering 12:297-303.

Gruber V, et al. 2001. Large-scale production of a therapeutic protein in transgenic tobacco plants: effect of subcellular targeting on quality of a recombinant dog gastric lipase. Molecular Breeding 7:329-340.

Hansen M, Boesen A, Holm L, Flyvbjerg A, Langberg H, Kjaer M. 2013. Local administration of insulin-like growth factor-I (IGF-I (stimulates tendon collagen synthesis in humans. Scand J Med Sci Sports 23:614-619.

Jafari S. Babeipor V, Jahromi MR, Fallah J. 2013. Optimization of human recombinant IGF-I production in non-continuous cultures in *Escherichia coli.* The 8th Biotechnology

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.5.9]

Conference of the Islamic Republic of Iran. 17th-15th of July, Tehran, Iran (In Persian).

Joly JC, Leung WS, Swartz JR. 1998. Overexpression of *Escherichia coli* oxidoreductases increases recombinant insulin-like growth factor-I accumulation. Proc Natl Acad Sci USA 95:2773-2777.

Kim SO, Lee YI. 1996. High-level expression and simple purification of recombinant human insulin-like growth factor I. Journal of Biotechnology 48:97-105.

Kostecka Z, Blahovec J. 2002. Animal insulin-like growth factor binding proteins and their biological functions. Veterinarni Medicina 47:75-84.

Kusnadi AR, Nikolov ZL, Howard JA. 1997. Production of recombinant proteins in transgenic plants: Practical considerations. Biotechnology and Bioengineering 56:473-484.

Laron Z, Anin S, Klipperaurbach Y, Klinger B. 1992. Effects of insulin-like growth-factor on linear growth, head circumference, and body-fat in patients with Laron-type dwarfism. Lancet 339:1258-1261.

.

Luey BC, May FE. 2016. Insulin-like growth factors are essential to prevent anoikis in oestrogen-responsive breast cancer cells: importance of the type I IGF receptor and PI3-kinase/Akt pathway. Mol Cancer 15:8.

Maliga P. 2004. Plastid transformation in higher plants. Annu Rev Plant Biol 55:289-313.

Migdalis IN, Kalogeropoulou K ,Kalantzis L, Nounopoulos CH, Bouloukos A, Samartzis M. 1993. Insulin-like growth factor-I and Igf-I receptors in type-2 diabetic-patients with neuropathy. Diabetologia 36:A20-A20.

Scotti N, Cardi T. 2012. Plastid transformation as an expression tool for plant-derived biopharmaceuticals. Methods Mol Biol 847:451-466.

Walsh G. 2014. Biopharmaceutical benchmarks **2014**. Nat Biotechnol 32:992-1000.

Yao J, Weng YQ, Dickey A, Wang KY. 2015. Plants as factories for human pharmaceuticals: applications and challenges. International Journal of Molecular Sciences 16:28549-28565

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.5.9]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 6, Number 2

Molecular cloning and expression of Somatomedin C in bacterial system

Neda Hassanpor[1], Mohammad Ahmadabadi[*2], Mohammad Pazhang[3]

1- MSc, Department of Biotechnology, 2- Associate Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, 3- Department of Biology, Faculty of Science, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

*Email corresponding author: ahmadabadiir@yahoo.com

Abstract

Because of several advantages such as low cost, simple culture, and high growth rate, bacterial systems, in particular *Escherichia coli*, are the main expression system for production of recombinant pharmaceutical proteins. In this research, we used this system to produce a valuable human growth factor, somatomedin C. cDNA of this gene was prepared and cloned into an expression vector using *Nde*I and *Bam*HI restriction sites. The cloning process resulted in the generation of a recombinant vector in which the somatomedin cDNA was placed under control of the T7 inducible promoter. This recombinant vector was introduced into the *E. coli* and the protein expression was evaluated following induction with 1 M IPTG solution. The results showed that transgenic bacteria produce noticeable amount of human protein after 22 hrs induction at 25 degree centigrade.

Keywords: Recombinant pharmaceuticals, Somatomedin C, Insulin-like growth factor, Bacterial system

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.5.9]