طراحی و ساخت حامل لنتی و ویروس اینترگراز منفی جهت استفاده در 
زن درمانی

دارود نوری اینانلو، سیروس زینلی، حسن خان احمد، موسی گردن‌ه، نورج فرامندفر، حسام مونت، باقر یخچالی

1- پژوهشگاه ملی مهندسی زن‌ها و زنان فناوری
2- انسان‌شناسی جهان، مجمع تحقیقاتی - تولیدی، بخش ب ژن
3- انسان‌شناسی جهان، مرکز تحقیقات پرتوکولوژی، بخش پزشکی

مکمل
Bahar@nigeb.ac.ir

نریسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: *

(تاریخ دریافت: - تاریخ پذیرش: )

چکیده

زن درمانی با استفاده از روش هدف‌گیریژنی (Gene targeting) یکی از بهترین روش‌های درمان نافذی ژن‌یافته و دارای اهمیتی به‌شمار می‌آید. این روش برخلاف روش استفاده از حامل‌های ویروسی از کارایی بالاتری برخوردار است. هدف این تحقیق طراحی و ساخت یک حامل لنتی و ویروسی مدل کردیده اینترگراز است که با کارا یک وارد سلول شده وی قادیر با ادعام شدن در زن‌های مختلف شده نماید. در این تحقیق، پس از ادغام کردن سلول‌های با ویروس‌های انسان ترانسگر سلول‌های در سلول‌های انسان‌داکت شده با ویروس‌های انسانی و نوترکیب. در صد پروتئین‌های GFP در سلول‌های splash در حالت با ویروس اینترگری انسانی ژنی پس از زمان فوق‌کاهش می‌باشد که در حالی که با ویروس اینترگری به صورت انسانی زمانی ژن‌ها و یا با کارا یکی در زن‌های مختلف شده نماید. در این تحقیق، پس از ادغام کردن سلول‌های با ویروس اینترگری به صورت انسانی زمانی ژن‌ها و یا با کارا یکی در زن‌های مختلف شده نماید. در این تحقیق، پس از ادغام کردن سلول‌های با ویروس اینترگری به صورت انسانی زمانی ژن‌ها و یا با کارا یکی در زن‌های مختلف شده نماید. در این تحقیق، پس از ادغام کردن سلول‌های با ویروس اینترگری به صورت انسانی زمانی ژن‌ها و یا با کارا یکی در زن‌های مختلف شده نماید.
زن درمانی، انتقال مواد زیبتیک به منظور دست پایی بر اثر درمان در سلول‌های بدف است. زن درمانی در درمان بیماری‌های تک زنی نظر همکاری نمی‌کند. تالاسمی، فیبروز سیستیک، سرطان‌ها، بیماری‌های عفونی و قلبی عروقی مورد استفاده قرار گرفته است.

(1) در حال حاضر در اغلب پژوهش‌ها زن درمانی از حامل‌های ویروسی استفاده می‌شود. کاراکتر این حامل‌ها برای آن‌ها به سلام بسیار بالا است. (2) در اغلب این حامل‌ها جایگزینی سرطان زن مورد نظر در زن مبتلا به اصلاح صورتی می‌گردد و این مستندات باعث می‌شود. زن‌ها می‌توانند از این حامل‌ها استفاده کنند تا نمونه‌های فعال در زن‌ها کمتر انکرون و سرکوب کند. توضیح‌ها مربوط به فعالیت در زن‌ها محدود می‌باشد. این مقاله استفاده از مرحله‌بندی نوعی می‌باشد. زن‌ها می‌توانند از این حامل‌ها استفاده کنند تا نمونه‌های فعال در زن‌ها کمتر انکرون و سرکوب کند. توضیح‌ها مربوط به فعالیت در زن‌ها محدود می‌باشد.

(3) در حال حاضر در اغلب پژوهش‌ها زن درمانی از حامل‌های ویروسی استفاده می‌شود. کاراکتر این حامل‌ها برای آن‌ها به سلام بسیار بالا است. (2) در اغلب این حامل‌ها جایگزینی سرطان زن مورد نظر در زن مبتلا به اصلاح صورتی می‌گردد و این مستندات باعث می‌شود. زن‌ها می‌توانند از این حامل‌ها استفاده کنند تا نمونه‌های فعال در زن‌ها کمتر انکرون و سرکوب کند. توضیح‌ها مربوط به فعالیت در زن‌ها محدود می‌باشد. این مقاله استفاده از مرحله‌بندی نوعی می‌باشد. زن‌ها می‌توانند از این حامل‌ها استفاده کنند تا نمونه‌های فعال در زن‌ها کمتر انکرون و سرکوب کند. توضیح‌ها مربوط به فعالیت در زن‌ها محدود می‌باشد.

یکی از مناسب‌ترین حامل‌ها برای ایجاد مسئولیت این حامل‌ها است. (4) حامل‌های لتن ویروسی مشتاق از توانایی آن‌ها در حالت تغییر و قابلیت توانایی در دانه و می‌توانند داخل میزبان نشون دهند. سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری انواع سلول‌های هدف حامل LTR است می‌تواند با غیر فعالیت انتخاب یافته نظیر سلول‌های کبدی، سلول‌های عصبی نظیر سلول‌های میکروگلیال و سلول‌های خونی هستند. (5) هدف زن‌ها اصلی برآورد و تهیه و همچنان جهش‌ها حاصل (حذف 200) توانایی آن‌ها در حالت فعالیت (U) و توانایی برقراری (Promoter) و راه انداز (Enhancer) که مشابه با فعالیت (3) LTR است منجر به غیر فعالیت سلول‌های بروپروتئین‌های و سین هدف حامل لتن و بیماری و سلول‌های هدف حامل لتن و بیماری و سلول‌های هدف حامل LTR است منجر به غیر فعالیت سلول‌های بروپروتئین‌های و سین هدف حامل LTR است منجر به غیر فعالیت سلول‌های بروپروتئین‌های و سین هدف حامل LTR است منجر به غیر فعالیت سلول‌های بروپروتئین‌های و سین هدف حامل LTR است منجر به غیر فعالیت سلول‌های بروپروتئین‌های و سین هدف حامل LTR است منجر به غیر فعالیت سلول‌های بروپروتئین‌های و سین هدف حامل LTR است منجر به غیر فعالیت سلول‌های بروپروتئین‌های و سین هدف حامل LTR است منجر به غیر فعالیت سلول‌های بروپروتئین‌های و سین H Inactive Vector) نامیده می‌شود. این حامل‌ها برای حامل‌های سالم نمی‌توانند و روشی بود. این حامل‌ها برای حامل‌های سالم نمی‌توانند و روشی بود. این حامل‌ها برای حامل‌های سالم نمی‌توانند و روشی بود. این حامل‌ها برای حامل‌های سالم نمی‌توانند و روشی بود. این حامل‌ها برای حامل‌های سالم نمی‌توانند و روشی بود. این حامل‌ها برای حامل‌های سالم نمی‌توانند و روشی بود. این حامل‌ها برای حامل‌های سالم نمی‌توانند و روشی بود. این حامل‌ها برای حامل‌های سالم نمی‌توانند و روشی بود. این حامل‌ها برای حامل‌های سالم نمی‌توانند و R

pH
دانلود نوین/دوره چهارم/شماره 4/عضویت موسی قردنان… طراحی و ساخت حامل لنو ویروس اینترگر متفاوت جهت استفاده در ژن درمانی

پیلی پروتئین‌های Gag-Pol ترجمه شده و به وسیله آزمایش پروتئز (که توسط ویروس کد می‌شود) برش پذیر و به شکل بالغ خود می‌رسد. مشخص شده که این پروتئین در ناحیه ساختمانی (۱۲ و ۱۳) شامل تاتی‌ها - انتهاکی که مشکلی از ۵۰ اسید آمینه با یک بخش اصلی اتم روزی، ناحیه مرکزی مشکلی از ۱۵۰ اسید آمینه باشی به سه مویقیت به شدت محافظت شده (در ویروس-۱ HIV-1 شامل اسید آمینه های، اسید آمیناتیک ۶۵ اسید آپتائیک ۱۵۲ که جانشینی هر یک از این اسید آپتائیک همیشه ممکن است از دست رفت ویروس پروتئین اینترگر می‌شود و ناحیه C-انتهاکی که شامل ۷۵ اسید آمینه می‌باشد که به طور جدی اختصاصی به DNA متعلق می‌گردد. برای ایجاد حامل‌های غیر انتگرال، شونده لنو ویروس از این نوع جهش استفاده می‌شود. جهش نوع یک ایجاد یک چند جهش نقطه‌ای در زن اینترگر است که ممکن است با این آمینه در زن اینترگر بودن ایجاد خلیل در فعالیت‌های از جمله: رودر زنوم ویروس به هزینه سلول سنتی و ویروز نتیجه ویروز و در نتیجه حلقه‌نشین زنوم به وسیله آزمایش میزان می‌شود. این زن‌های حلقه‌نشین عنوان اکلوگویی کارای برای اکتشافات ویروس سلول میزان شناخته می‌شوند. جهش نوع در حال حاضر قسمتی از آن اینترگر است که نوع جهش بر روی رودر زنوم ویروز به هزینه سلول میزان اثر می‌گذارد (۱۷). هدف از این دسته‌بندی باعث ساخت حامل لنو ویروس فاقد عملکرد پروتئین اینترگر می‌شود که بتواند کارایی باشد ولی با استفاده از زنوم سلول ناپذیر سازه زنی وارد شده در حامل لنو ویروز پس از ورود به هزینه سلول به استفاده از پدیده آنتی‌بیوتیک هم‌مان جایگزین زن مورد نظر می‌شود. به طوریکه هیچ جزئی از زنوم ویروز داخل زنوم سلول نگرد. موارد و روشهای تکنیک، کلونیک و ترکیب‌یابی مجموعه پلاسماهای ساژین، لنی و ویروس P, pLP2, pLP1 اینکه هر کلمه از آن جهت بررسی (Invitro) pLP/VS-V-G اینکه سه پلاسماه و استفاده آنها به صورت اتفاقي نياز به تمایز

زنتیکی نوین/دوره چهارم/شماره 4/عضویت موسی قردنان… طراحی و ساخت حامل لنو ویروس اینترگر متفاوت جهت استفاده در ژن درمانی

پیلی پروتئین‌های Gag-Pol ترجمه شده و به وسیله آزمایش پروتئز (که توسط ویروس کد می‌شود) برش پذیر و به شکل بالغ خود می‌رسد. مشخص شده که این پروتئین در ناحیه ساختمانی (۱۲ و ۱۳) شامل تاتی‌ها - انتهاکی که مشکلی از ۵۰ اسید آمینه با یک بخش اصلی اتم روزی، ناحیه مرکزی مشکلی از ۱۵۰ اسید آمینه باشی به سه مویقیت به شدت محافظت شده (در ویروس-۱ HIV-1 شامل اسید آمینه های، اسید آپتائیک ۶۵ اسید آپتائیک ۱۵۲ که جانشینی هر یک از این اسید آپتائیک همیشه ممکن است از دست رفت ویروس پروتئین اینترگر می‌شود و ناحیه C-انتهاکی که شامل ۷۵ اسید آمینه می‌باشد که به طور جدی اختصاصی به DNA متعلق می‌گردد. برای ایجاد حامل‌های غیر انتگرال، شونده لنو ویروس از این نوع جهش استفاده می‌شود. جهش نوع یک ایجاد یک چند جهش نقطه‌ای در زن اینترگر است که ممکن است با این آمینه در زن اینترگر بودن ایجاد خلیل در فعالیت‌های از جمله: رودر زنوم ویروس به هزینه سلول سنتی و ویروز نتیجه ویروز و در نتیجه حلقه‌نشین زنوم به وسیله آزمایش میزان می‌شود. این زن‌های حلقه‌نشین عنوان اکلوگویی کارای برای اکتشافات ویروس سلول میزان شناخته می‌شوند. جهش نوع در حال حاضر قسمتی از آن اینترگر است که نوع جهش بر روی رودر زنوم ویروز به هزینه سلول میزان اثر می‌گذارد (۱۷). هدف از این دسته‌بندی باعث ساخت حامل لنو ویروس فاقد عملکرد پروتئین اینترگر می‌شود که بتواند کارایی باشد ولی با استفاده از زنوم سلول ناپذیر سازه زنی وارد شده در حامل لنو ویروز پس از ورود به هزینه سلول به استفاده از پدیده آنتی‌بیوتیک هم‌مان جایگزین زن مورد نظر می‌شود. به طوریکه هیچ جزئی از زنوم ویروز داخل زنوم سلول نگرد. موارد و روشهای تکنیک، کلونیک و ترکیب‌یابی مجموعه پلاسماهای ساژین، لنی و ویروس P, pLP2, pLP1 اینکه هر کلمه از آن جهت بررسی (Invitro) pLP/VS-V-G اینکه سه پلاسماه و استفاده آنها به صورت اتفاقي نياز به تمایز
جلد (1) آغازگرها مورد استفاده برای ایجاد کردن D64 و جهش در زن انتگرگژ.

شکل (1)- از (B) مخلل ایجاد gag-pol جهش در زن انتگرگژ.

(A) pLP1 در پلاسمید

جلد (2)- برنامه

Overlap extension PCR

کلون کردن محصول PCR پلاسمید pLP1 و محصول PCR مرحله نهایی pLP1 توسط آنزیم اثر آنتی ایکسنسی A/III و AgeI هضم آنزیمی شدن. پس از بروز و مرحله بریده و DNA استخراج شد. واکنش انتقال (Ligation) می شود. واکنش آنتی ایکسنسی E.coli Top10 F’ مربوط به انتقال به زمان متفاوت شد. هضم آنزیمی HpaI و A/III کلونهای بدست آمده با آنزیمی pLP1 و محصول واکنش انتقال به ایجاد DNA D64 تعیین توانایی شدند و برای تایید جهش ایجاد شده در موقعیت آزمون توانایی شدند.

تولید لند و بروس طبیعی و ایجادگر منفی در رده سلولی 293 تولید سلولهای جنین انسان مشتق شده است و از این سلولهای توانایی ورود و راه اندازی ترانسفکتن در آنها بسیار بالایی در تولید و بروس در تیتر بالا دارد. در این سلولها بسیار سریع و راه اندازی ترانسفکتن در آنها بسیار بالاست (13).

در مجموعه پلاسمید بسته دیگر (packaging) شامل Lenti pLP1 و جهش بانه pLP1/HSV-G و pLP2 را به همراه پلاسمید pLenti-CWgf-p2 با استفاده از کیست BLOCK-IT Inducible H1 Lentiviral RNAi System جهت تولید ورود به داخل سلول 293T منتقل DNA - lipofectamin™ آماده شد. ابتدا کمپلکس 2000 و در (2) از R2 و F2 int- R1 int- F1 و همچنین PCR جدول (2) انجام شد. محصولات (2 1) از DNA الکتروفوره از زلن آگازر استخراج گردید. سپس قطعه ای با استفاده از overlap extension PCR حاصل کردی شد. واکنش (1) PCR محصول 1 و 2 به عنوان الگو انجام و محصول overlap از زلن آگازر استخراج گردید.

<table>
<thead>
<tr>
<th>سیکل زمان</th>
<th>درجه حرارت</th>
<th>مراحل</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>۱</td>
<td>۹۴°C</td>
<td>۲۲ دقیقه</td>
</tr>
<tr>
<td>۲</td>
<td>۸۸°C</td>
<td>۲۲ دقیقه</td>
</tr>
<tr>
<td>۳</td>
<td>۹۴°C</td>
<td>۲۲ دقیقه</td>
</tr>
<tr>
<td>۴</td>
<td>۸۸°C</td>
<td>۲۲ دقیقه</td>
</tr>
<tr>
<td>۵</td>
<td>۹۴°C</td>
<td>۲۲ دقیقه</td>
</tr>
<tr>
<td>۶</td>
<td>۸۸°C</td>
<td>۲۲ دقیقه</td>
</tr>
<tr>
<td>۷</td>
<td>۷۳°C</td>
<td>۲۲ دقیقه</td>
</tr>
<tr>
<td>۸</td>
<td>۷۳°C</td>
<td>۳۰ دقیقه</td>
</tr>
<tr>
<td>۹</td>
<td>۸۸°C</td>
<td>۱۰ دقیقه</td>
</tr>
<tr>
<td>۱۰</td>
<td>۸۸°C</td>
<td>۱۰ دقیقه</td>
</tr>
</tbody>
</table>

جدول توالی آغازگر

<table>
<thead>
<tr>
<th>آغازگر</th>
<th>انتی‌بیوتیک</th>
<th>توالی</th>
<th>توالی</th>
<th>توالی</th>
<th>توالی</th>
<th>توالی</th>
<th>توالی</th>
<th>توالی</th>
<th>توالی</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>F1</td>
<td>5’AAGAACCCTATGAGGATG3’</td>
<td>R1 int-</td>
<td>5’TCTCTATGCTGCAATCTGCTG3’</td>
<td>R2 int-</td>
<td>5’AGCTACCTTCATTTAGAAGG3’</td>
<td>R2 int-</td>
<td>5’TTTACTGGTCTGTTAAAGATGTTTC3’</td>
<td>R2 int-</td>
<td>5’TTTACTGGTCTGTTAAAGATGTTTC3’</td>
</tr>
</tbody>
</table>

شکل (1)- از (A) طرایحی برای ایجاد gag-pol جهش در زن انتگرگژ.

جدول (1) آغازگرها مورد استفاده برای ایجاد جهش در زن انتگرگژ. محل ساختاری آنزیمی احتمالات و محل ایجاد جهش مشخص شده است.

این ابزار با آغازگرها F1 و R1 int- F1 و R2, F2 int- R1 int- و همچنین PCR جدول (2) انجام شد. محصولات (2 1) از DNA الکتروفوره از زلن آگازر استخراج گردید. سپس قطعه ای با استفاده از overlap extension PCR حاصل کردی شد. واکنش (1) PCR محصول 1 و 2 به عنوان الگو انجام و محصول overlap از زلن آگازر استخراج گردید.
نتایج
جداول آزمایشات کمکی
نتایج هضم سه پلاسمید با دو آنزیم $MluI$ و $Agel$ در $DNA$ - lipofectamin در $10^6$ سلول‌های ۲۹۳T به بیش از پاک‌کننده کشت سلولی (Plate، $2000$ میلی‌لیتر محیط کشت آئورس، ۵ میلی‌لیتر میکرو‌سینس سلولی ($37$ درجه سانتی‌گراد، به مخلوط اضافه و مخلوط با سیل و بدون آنتی‌بیوتیک اضافه شد. بیش از $24$ ساعت میکرو‌سینس میکرو‌سینس کشت حاوی یورس پرداخته و $5$ دقیقه در $3000$ rpm تکه‌دار شد.

- تعیین تیتر ویروس در رده سلولی $293T$ که متفاوت مختصر از یورس ویروس انتگریز منفی و انتگریز طبیعی $10^{-6}$ (در یک میلی‌لیتر میکرو‌سینس کشت کامل جهش شده. به هر $10^6$ سلولی ۲۹۳T اضافه شد. برای پیش‌بینی میکرو‌سینس کشت کامل حاوی رفته‌های میکرو‌سینس ویروس اضافه و به آرام مخلوط شد. سپس تحت شرایط $CO2$ و $37^C$ به مدت $یک$ هفته اکونمه شد. $CO2$ این زمان از روی تعداد سلول‌های سبز در هر دو چاهک بیش از سلولی انتگریز منفی و انتگریز طبیعی و در رفت‌های مختلف با میکرو‌سینس فلوورسنت معمولی شمارش شد.

- ترانسفنکشن سلول‌های $293T$ با ویروس‌های انتگریز منفی و طبیعی نمی‌تواند در $10^6$ سلول در این چاهک کشت سلولی $6$ خانه‌ای از $MluI$ و $Agel$ آنزیم‌های $1-3$ مخلوط سه پلاسمید برابر شده.

- ایجاد جهش در $Zn$ انتگریز توسط ویروس

- PCR برای غیر فعال کردن $Zn$ انتگریز از ایجاد جهش و تغییر کدکن استفاده ایجاد یک رشته آزمایش $TagI$ با آنریم $PCR$ با تکثیر $Pfu$ نمونه روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس تکثیر $Pfu$ مخلوط سه پلاسمید روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس تکثیر $Pfu$ مخلوط سه پلاسمید روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس تکثیر $Pfu$ مخلوط سه پلاسمید روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس تکثیر $Pfu$ مخلوط سه پلاسمید روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس تکثیر $Pfu$ مخلوط سه پلاسمید روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس تکثیر $Pfu$ مخلوط سه پلاسمید روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس تکثیر $Pfu$ مخلوط سه پلاسمید روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس T

- پیچیده و سپس تکثیر

- انجام PCR با آنریم $Pfu$ انجام شد. مرحله اول قطعات با آنریم $Pfu$ انجام شد. مرحله اول قطعات

- زننده نوین/دوره چهارم/شماره ۲/ازمستان ۱۳۸۸

- نتایج و ساخت جهش و بیش از پاک‌کننده کشت سلولی (Plate، $2000$ میلی‌لیتر میکرو‌سینس سلولی ($37$ درجه سانتی‌گراد، به مخلوط اضافه و مخلوط با سیل و بدون آنتی‌بیوتیک اضافه شد. بیش از $24$ ساعت میکرو‌سینس میکرو‌سینس کشت حاوی یورس پرداخته و $5$ دقیقه در $3000$ rpm تکه‌دار شد.

- تعیین تیتر ویروس در رده سلولی $293T$ که متفاوت مختصر از یورس ویروس انتگریز منفی و انتگریز طبیعی $10^{-6}$ (در یک میلی‌لیتر میکرو‌سینس کشت کامل جهش شده. به هر $10^6$ سلولی ۲۹۳T اضافه شد. برای پیش‌بینی میکرو‌سینس کشت کامل حاوی رفته‌های میکرو‌سینس ویروس اضافه و به آرام مخلوط شد. سپس تحت شرایط $CO2$ و $37^C$ به مدت $یک$ هفته اکونمه شد. $CO2$ این زمان از روی تعداد سلول‌های سبز در هر دو چاهک بیش از سلولی انتگریز منفی و انتگریز طبیعی و در رفت‌های مختلف با میکرو‌سینس فلوورسنت معمولی شمارش شد.

- ترانسفنکشن سلول‌های $293T$ با ویروس‌های انتگریز منفی و طبیعی نمی‌تواند در $10^6$ سلول در این چاهک کشت سلولی $6$ خانه‌ای از $MluI$ و $Agel$ آنزیم‌های $1-3$ مخلوط سه پلاسمید برابر شده.

- ایجاد جهش در $Zn$ انتگریز توسط ویروس

- PCR برای غیر فعال کردن $Zn$ انتگریز از ایجاد جهش و تغییر کدکن استفاده ایجاد یک رشته آزمایش $TagI$ با آنریم $PCR$ با تکثیر $Pfu$ نمونه روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس تکثیر $Pfu$ مخلوط سه پلاسمید روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس تکثیر $Pfu$ مخلوط سه پلاسمید روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس تکثیر $Pfu$ مخلوط سه پلاسمید روش در رونق طولانی مدت که یک قطعه همبونسان در قسمت $Zn$ مورد نظر طولی تکثیر شده از نتیجه شد. در این روش با استفاده از $TagI$ با آنریم $PCR$ به بهبود و سپس T
پلاسمید pLP1 حاوی SE131 و SE132 که در ژن این‌گر و دوم این‌گر از زیرشاخه‌های درمانگری ورودی هستند، می‌تواند به عنوان گو استفاده می‌شود. 

فناوری پلی‌میرکرومیک (PCR) برای سنجش نتایج این آزمایش استفاده می‌شود. این فناوری به عنوان گو استفاده می‌شود و با استفاده از این سیستم، در اتمسفر دایره‌ای در طریق بخش دوم PCR از دسته‌بندی‌های Afl I و آزمایش گردید.

همچنین به عنوان گو استفاده می‌شود و با استفاده از این سیستم، در اتمسفر دایره‌ای در طریق بخش دوم PCR از دسته‌بندی‌های Afl I و آزمایش گردید.

۱. PCR

۲. مارکر ونکولوژی ۱kb DNA

۳. مارکر ونکولوژی ۲۴رپ (bp)

۴. اتصال دوم بخش دو این‌گر

۵. اتصال دوم بخش دو این‌گر

۶. اتصال دوم بخش دو این‌گر
پایین اینترگر در ویروس های با جهش در ذهن اینترگر و ورود DNA و ویروسی به داخل ذهن سلول است (شکل 6).

**بحث**

در حال حاضر استراتژی‌های مختلفی برای ظهور مطرح می‌باشد که شامل پیاده‌سازی آنها احتمال استفاده از حامل‌های ویروسی خارجی و ترمو‌پروریزها و ویروس‌های روش‌های هدف‌گذاری. RNAi نوتروکیپ هم‌مان با استفاده از قطعات کوتاه DNA و استفاده از ریبوویوم (1997) است. در اواخر دهه 90 و هم‌مان با ابتنام حامل‌های ویروسی. تحقیقات در زمینه ذهن دمانتی بیماری‌ها به سمت استفاده از این حامل‌ها معطوف شد. در ابتدا

**ساخت حامل لنتی و ویروس اینترگر منفی جهت استفاده در دنیای DNA**

برای تولید حامل لنتی و ویروس اینترگر منفی pLP2 و pLPl مدل pLP1 و حامل اجزای لنتی و ویروس به سلول 293T متقابل شدند. مونتاژ اجزاء و ویروس در داخل سلول intervened به تولید و آزاد شدن لنت و ویروس به اساس‌گذاری پلاسمید حاوی ذهن اینترگر طبیعی و جهش با پایه دو حامل لنتی و ویروس طبیعی و جهش با پایه تولید شد. و ویروس‌های حاصل جهت تعیین تیتر (با رفت های 10 تا 10⁻⁶) به سلول‌های 293T متقابل شدند. در مجموعه پلاسمید‌های سازنده لنتی و ویروس پلاسمید UV حاوی gfp است که در صورت پیان تحت ناشی نور UV با طول موج 298 نانومتر رنگ سبز ساطع که نشان دهنده حضور و ویروس (حامل) در سلول است. شمارش و درصد سلول‌های سبز شمارش شده طبق استاندارد (17) محاسبه و ترتیب برای ویروس‌های اینترگر منفی و طبیعی دست می‌آمد.

انتمال و بیان حامل لنتی و ویروس اینترگر منفی و طبیعی در رده سلول 293T

برای بررسی عملکرد حامل لنتی و ویروس اینترگر منفی حاصل از ذهن در 30 اینترگر، و ویروس‌های حاصل به رده سلول 293T متقابل و بیان ذهن در روندهای gfp به همراه ویروسی در ذهن سلول است. سلول‌های بررسی ترانسفنکت شده با هر ویروس اینترگر طبیعی و منفی به صورت روان‌پروریز شمارش گردیدند. در روزهای اوول با کارایی عبور 0.05% سلول‌های ترانسفنکت شده، سبز رنگ بودند (در هر دو نمونه) که نشان دهنده بیان ذهن در سلول است. یکی به موارد زمان در بیش از سلول‌های سبز کاهش یافت و در روز چهارده تعداد اندکی از سلول‌های سبز باقی ماندند. درصورتیکه در بیش از سلول‌های ترانسفنکت شده با ویروس‌های بدون جهش در ذهن اینترگر در روز 14 به‌الایی از سلول‌های سبز باقی ماندند که این نتایج نشان دهنده عملکرد بسیار

**گپ**

DNA

**مستقیم نوین/دورة چهارم/شماره 2/ازمستان 1388**
درمانی و اکتشافهای به ایستگاهی از زنون و جریان‌های ویروسی در عددی از سیستم‌های ایمنی بیمارها. جهت مطالعه این اکتشافات، روش‌های مختلفی از جمله اندازه‌گیری تعداد ویروس‌های ژن‌بندی و استفاده از ژن‌های ایمنی دیده و جهت ایجاد دسترسی به سیستم‌های ایمنی آنده، پاسخ‌های ایمنی به ویروس در حین تغییرات ویروسی و در راه اندازی ویروس‌های انتحاری و دیگر اینکه در این نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفته بوده‌اند.

به‌طور کلی، این مطالعات نشان می‌دهد که تغییرات در سیستم‌های ایمنی و استفاده از ویروس‌های انتحاری می‌تواند به بهبود درمانی و از همکاری رابطه ای‌ها و دیگر نیازمندی‌های جدید در زمینه‌های مختلف پیش‌بینی شود.

سپاسگزاری

می‌تواند به‌طور کلی برای بهبود درمانی و تروینه‌های جدید و درمانی و از همکاری رابطه ای‌ها و دیگر نیازمندی‌های جدید در زمینه‌های مختلف پیش‌بینی شود.

68

زنتیک نوین/دوره چهارم/شماره 2/ازمان 1388