بررسی ایمونوپروتئومیکس عصاره نوزاد کنه بوافیلوس آنولاتوس

صدیقه نبیان[1*]، محمد طاهری[2]، غلامرضا نیک بخت[3]، رامین مظاهری نژاد فرد[2]

۱ـگروه انگل شناسی، مرکز مطالعات کنه و بیماری های منتقله از آن، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۲ـآزمایشگاه رفرانس دکتر رستگار، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۳ـگروه ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

پست الکترونیکی نویسنده مسؤول: **nabian@ut.ac.ir**

مقدمه و هدف: کنه بوافیلوس آنولاتوس، یک کنه تک میزبانه مهم در شرایط آب و هوایی مدیترانه ای و همچنین ایران می باشد. امروزه استفاده از پروتئین های کنه ای، یک استراتژی مناسب جهت کنترل و پیش گیری در مقابل آلودگی های کنه ای می باشد. این مطالعه بمنظور شناسایی پروتئین های ایمونوژن لارو کنه بوافیلوس آنولاتوس با استفاده از روش الکتروفورز یک و دو بعدی انجام پذیرفته است.

مواد و روش کار: پس از جمع آوری، کشت و تهیه نوزاد کنه، آلوده سازی گوساله جهت تهیه سرم ایمن انجام پذیرفت. عصاره نوزاد کنه مورد آزمایش الکتروفورز یک و دو بعدی قرار گرفت. ایزوالکتریک فوکوسینگ عصاره نوزاد کنه، با IPG ۷ سانتی متری با pH= 3–10 صورت پذیرفت. سپس آزمایش ایمونوبلاتینگ یک و دو بعدی انجام گرفته و ۸ عدد از نقاط ایمونوژن با روش اسپکترومتری جرمی مورد آنالیز قرار گرفتند.

نتایج و بحث: در روش ایمونوبلاتینگ یک بعدی، باندهای با وزن مولکولی ۴۸، ۷۰، ۱۰۰، ۱۳۰ و بیش از ۲۵۰ کیلودالتون با سرم ایمن واکنش مثبت نشان داد. در روش ایمونوبلاتینگ دو بعدی تعداد زیادی نقطه پروتئینی با سرم ایمن واکنش مثبت نشان داد که نقاط با وزن مولکولی ۳۸، ۴۳، ۸۵ و ۹۷ کیلودالتون با ویتلوژنین و همولوگ آن GP80، نقطه با وزن مولکولی ۳۷ کیلودالتون با تروپومیوزین و یک نقطه با وزن مولکولی ۳۳ کیلودالتون با پروتئین فرضی کنهایکسودس اسکاپولاریس همخوانی داشته است. همچنین دو نقطه پروتئینی دیگر به صورت نامشخص اعلام گردید. از آن جایی که توسعه واکسن بر علیه کنه ها، به شناسایی و تعیین هویت پروتئین های کنه ای القاء کننده پاسخ های ایمنی مناسب در میزبان وابسته است، لذا پروتئین های ایمونوژن بدست آمده در این مطالعه می توانند جهت مطالعات بعدی پیرامون تهیه واکسن علیه کنه ها مفید واقع گردند.

واژه های کلیدی: کنه بوافیلوس آنولاتوس، ایمونوپروتئومیکس، واکسن، ایمونوبلاتینگ یک بعدی، ایمونوبلاتینگ دو بعدی

شناسایی ژنتیکی انگل نماتودیرلا کملی بر اساس ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز تحت واحد یک (CO1) و ژن ریبوزومی 18S rDNA

ایمانه دلاوری[1*]، حسن شریفی یزدی[2]، نسرین مقدر[3]

۱ـدانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز ۲ـ گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز ۳ـ گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز

پست الکترونیکی نویسنده مسؤول: **Delavari4653@gmail.com**

مقدمه و هدف: نماتودیرلا کملی یکی از انگلهای دستگاه گوارش نشخوارکنندگان است این انگل از نظر شباهتهای مورفولوژیکی بسیار شبیه به جنس نماتودیروس میباشد آنالیز فیلوژنیک نماتودیرلا کملی بر اساس ترادف ITS1 و ITS2 حاکی از ارتباط بسیار نزدیک این گونه با بعضی گونه‌های نماتودیروس است و می‌توان اظهار داشت که گونه نماتودیرلا کملی به جنس نماتودیروس شباهت زیاد دارد، و تعریف یک جنس جداگانه به نام نماتودیرلا کملی شاید تنها بر اساس یافته‌های مورفولوژیک مورد سوال قرار گیرد، جهت بررسی بیشتر این موضوع شناسایی و آنالیز ژن میتوکندریایی CO1 و ژن ریبوزومی 18S rDNA این انگل برای اولین بار مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار: تعداد ۱۱ نمونه انگلی جدا شده از دو شتر آلوده جمع آوری شد و پس از مطالعات مورفولوژیک و تایید گونه انگلی، نمونه‌ها توسط پنس استریل کاملا له گردیدند، DNA نمونه ها با استفاده از کیت تجاری استخراج DNA استخراج شد. و سپس با استفاده از پرایمرهای مناسب و محلول dNTP، بافر 10x PCR و محلول MgCl2 نمونه ها در دستگاه ترموسایکلر با سیکل های حرارتی–زمانی قرار داده شد. فرآورده PCR روی ژل آگارز، الکتروفورز گردید و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید، باندهای بدست آمده با ایلومیناتور UV مشاهده و نتایج ثبت شد. پس از تکثیر موفقیت آمیز ژنهای هدف ، محصولات هر واکنش بصورت جداگانه از دو طرف تعیین ترادف شد. در پایان نتایج نهایی و استخراج شده حاصل از سکانس انگل در میزبان شتر، با استفاده از برنامه BLAST n مورد بررسی و مقایسه ی با دیگر موارد مشابه موجود در بانک ژن آمریکا (NCBI) قرار گرفت تا هر گونه قرابت و اختلاف بین جدایه های این انگل در شتر با سایر موارد مشابه در دیگر میزبانها مشخص گردد. در ضمن موقعیت فیلوژنی این انگل در ارتباط با سایر گونه‌های ثبت شده از لحاظ ژن های مذکور پس از ترسیم درخت فیلوژنی به کمک نرم افزار MEGA.4 مورد مقایسه گرفت.

نتایج و بحث: اطلاعات به دست آمده براساس ژن 18S rDNA نشان داد که بین نماتودیرلا کملی(JX305977) و نماتودیروس باتوس(AJ920360,U01230) شباهت ۹۹ درصدی وجود دارد. تمامی سکانس‌های ناحیه ریبوزومی 18S rDNA برای انگل‌های مورد مطالعه از شباهت صددرصدی برخوردار بود. بررسی ملکولی بر اساس ژن میتوکندریایی CO1، (X305966 تا JX305976) حاکی از وجود اختلاف ژنتیکی درون گونه‌ای و حضور ۱۱ ژنوتیپ مختلف در میان ۱۱ نمونه انگلی مورد بررسی بود. بر اساس ژن میتوکندریایی میزان اختلاف ژنتیکی درون‌گونه ای ۱ تا ۳ درصد برآورد گردید. در مقایسه‌ای که بین ترادف CO1 ایزوله‌های انگلی نماتودیرلا کملی صورت گرفت، ۳۲ جایگاه نوکلئوتیدی دارای پلی‌مورفیسم درون‌گونه‌ای بود. بنابراین می‌توان گفت ژن میتوکندریایی CO1 برای بررسی ژنتیک جمعیت نماتودیرلا کملی نسبت به ناحیه ریبوزومی 18S rDNA مناسب‌تر است.

واژه های کلیدی: نماتودیرلا کملی، 18S rDNA، CO1، شتر