شناسایی ساختار مولکولی پروتئین غشاء تیلریا آنولاتا

نسترن سادات صدر شیرازی[۱]، پرویز شایان[۱،۲]، الهه ابراهیم زاده[۱]، بریگیته اکرت[۲]
۱ـ مرکز مطالعات کنه و بیماریهای منتقله از آن، گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۲ـ موسسه گروه پژوهشی انتقال سامانه های زیست مولکولی
پست الکترونیکی نویسنده مسئول: **pshayan@ut.ac.ir**

مقدمه و هدف: تشخیص متداول دو بیماری تیلریوز و بابزیوز در ایران بر اساس رنگ آمیزی گسترش ها ی خونی دامهای مشکوک با رنگ گیمسا می باشد. این نوع رنگ آمیزی بعنوان یک روش ساده ، ارزان و قابل استفاده در تمام آزمایشگاهها مطرح می باشد. اما از آنجایی که این رنگ آمیزی غیر اختصاصی است لذا تشخیص و تفکیک جنس و گونه اجرام انگلی بسیار مشکل و نیاز مند تجربه تخصصی بالا می باشد. برای مثال در بعضی موارد بعلت تشابه زیاد اجرام مختلف مانند بابزیا اویس و تیلریا لستوکاردی تمایز این دو جنس حتی برای افراد مجرب نیز می تواند مشکل ساز باشد. اخیرا در انسان گونه جدیدی از انگل های پیروپلاسمایی تحت عنوان WA۱ مورد شناسایی قرار گرفته که از نظر ریخت شناسی با بابزیا میکروتی مشابه بوده اما از نظر بیولوژیکی و ژنتیکی از آن متفاوت و مشابه عوامل بیماریزای بابزیا ژیبسونی و حتی گونه های تیلریا نسبت به سایر اعضاء جنسهای بابزیا می باشد. جنس و گونه مذکور با استفاده از رنگ آمیزی با گیمسا ، قابل تفکیک نمی باشد در حالی که با استفاده از پادتن های اختصاصی قابل تفکیک و شناسایی می باشند. روش دیگری که برای تشخیص از مزایای بالایی برخوردار می باشد، روش تکثیر مکرر DNA (PCR) است. به منظور در اختیار داشتن آنتی ژن اختصاصی که توالی نوکلئوتیدی آن بتواند در امر تشخیص به روش PCR مورد استفاده قرار گیرد و همچنین توالی اسیدهای آمینه آن بتواند جهت ایمن سازی و تولید پادتن های اختصاصی مورد استفاده قرار گیرد، ژن پروتئین غشاء تیلریا آنولاتا (TaSp) در وکتور بیانی pQE-۳۲ کلون گردید.

مواد و روش کار: پس از استخراج mRNA از عقده لنفاوی و تولید cDNA، cDNA تولید شده با روش SMART-PCR مورد تکثیر قرار گرفت. سپس با آغازگرهای اختصاصی برای ژن غشاء تیلریا آنولاتا (TaSp)،(cDNA این ژن تکثیر داده شد و در وکتور بیانی pQE-۳۲ کلون و مورد تعیین توالی قرار گرفت. در پایان پروتیئن نوترکیب تولید و با روش Western blotting مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج وبحث: پس از استخراج RNA و تولید cDNA، توالی نوکلئوتیدی ژن TaSp با استفاده از روش RT-PCR تکثیر داده شد و در وکتور بیانی pQE-۳۲ کلون و تعیین توالی گردید. با توجه به وجود ایزوله های مختلف در مناطق جغرافیایی و نیز تشابه عفونت ایجادشده توسط تیلریا لستوکاردی در گوسفند به تیلریا آنولاتا در گاو، در این مطالعه پس از تهیه توالی کد کننده پروتئین سطحی انگل تیلریا آنولاتا در ایزوله جدا شده از منطقه محمدشهر در حومه کرج، با شش توالی ثبت شده در بانک ژنتیک و همچنین توالی کد کننده پروتئین سطحی در تیلریا لستوکاردی مربوط به ایزوله فارس مورد مقایسه قرار گرفت. بیشترین تفاوت در توالی نوکلئوتیدی ناحیه کد کننده انتهای آمینی پروتئین سطحی در ایزوله مورد مطالعه(JQ۰۰۳۲۴۰) و توالی های تیلریا آنولاتا ایزوله آنکارا(AJ۳۱۶۲۴۹.۱)، تیلریا چین ۱ (AY۲۷۴۳۲۹,۱)، تیلریا چین (DQ۱۲۰۰۵۸.۱) و سه توالی ثبت شده در بانک ژنتیک مربوط به ایزوله های کرج (EF۰۹۲۹۲۰.۱)، بوئین زهرا ۱ (EF۰۹۲۹۲۱,۱) و بوئین زهرا ۲ (EF۰۹۲۹۲۲,۱) دیده شد و مهمترین نکته مشاهده ۱۲ نوکلئوتید از موقعیت نوکلئوتید شماره ۶۶ تا ۷۸ (نوکلئوتید شماره ۳۷۸ از نوکلئوتید ابتدایی در توالی کامل نوکلئوتیدی کد کننده پروتئین سطحی تا نوکلئوتید شماره ۳۹۰)بود که این ۱۲ نوکلئوتید تنها در توالی ایزوله مورد بررسی (JQ۰۰۳۲۴۰) دیده شدند و در هیچ یک از شش توالی مورد مقایسه مشاهده نشد. همچنین توالی مورد مطالعه دارای ۹۰٪ مشابهت نوکلئوتیدی با توالی مربوط به تیلریا لستوکاردی ایزوله فارس (AY۲۷۴۳۳۵.۱) بود. پس از تهیه ردیف مقایسه ای نوکلئوتیدی ایزوله های مختلف، یک جفت پرایمر طراحی شد که تنها با استفاده از یک واکنش PCR بر روی نمونه DNA اخذ شده، با استفاده از تفاوت در توالی ژن پروتئین سطحی می توان در سطح گونه آلودگی به تیلریا به راحتی مورد تشخیص قرار گیرد.

واژه های کلیدی: پروتئین غشاء، تیلریا آنولاتا، SMART-PCR، mRNA

بررسی ویژگی های ریخت شناسی پارابرونما اسکریابینی جدایه بز از مشهد

سید سجاد هاشمی نسب[۱]، بهنام مشگی[۲*]، فاطمه جالوسیان[۳]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران۲، ۳ـ گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
پست الکترونیکی نویسنده مسؤول: **Bmeshgi@ut.ac.ir**

مقدمه و هدف: پارابرونما اسکریابینی از جمله نماتودهای مستقر در شیردان نشخوارکنندگان است که آلودگی به آن تاکنون از آسیا و آفریقا گزارش شده است. طی سالهای اخیر در ایران مطالعه ای در جنبه های مختلف آن مانند همه گیر شناسی، زیست شناسی و تاکسونومی انجام نگرفته است. این نماتود در ایران تاکنون از گوسفند، گاومیش، بز، گوسفند وحشی و شتر گزارش شده است. در مورد بیماریزایی این انگل اطلاعات منتشر شده ای وجود ندارد. در بررسی حاضر خصوصیات ریخت شناسی کرم بالغ جنس پارابرونما در هر دو جنس نر و ماده به عنوان یکی از نماتودهای آلوده کننده شیردان تعیین گردید.

مواد و روش کار: در تحقیق حاضر به منظور جداسازی کرم بالغ ضمن عزیمت به استان خراسان از کشتارگاه بومی شهرستان مشهد، شیردان های آلوده تهیه گردید، سپس در شرایط آزمایشگاهی با شست و شوی محتویات شیردان، نماتودهای مستقر در این اندام جدا شد. تعداد ۳۰ عدد کرم نر و ۳۰ عدد کرم ماده نماتود پارابرونما از نظر اندازه بدن، ویژگی های ریختی انتهای قدامی، طول اسپیکول ها در کرم نر و ابعاد تخم در کرم ماده تعیین گردید.

نتایج و بحث: در انتهای قدامی کرم بالغ زوائد پوستی سپر مانند و مشخصی دیده می شود. اندازه کرم نر از ۱۵ تا ۱۷ میلی متر و کرم ماده از ۳۵ تا ۳۶ میلی متر می باشد. طول تخم از ۲۷ تا ۳۵ و عرض آنها از ۷/۵۹ تا ۸/۸۳ میکرون متفاوت است. در کرم نر اسپیکول راست ۳۰۳ میکرون و اسپیکول چپ ۶۵۴ میکرون اندازه داشت. با توجه به مشخصات ریختی ارائه شده جهت تشخیص در نماتود مذکور، گونه پارابرونما اسکریابینی تشخیص داده می شود.

واژه های کلیدی: پارابرونما، ریخت شناسی، شناسایی، مشهد