

کلونینگ و توالی‌یابی بخشی از ژن فسفولیپاز B₂ در آسپرژیلوس فومیگاتوس

عبدالحسن کاظمی* (Ph.D)، جفری رابسون^۱ (Ph.D)، دیوید دنینگ^۲ (M.D, Ph.D)

۱- دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده پزشکی، گروه انگل‌شناسی و ایمنی‌شناسی

۲- دانشگاه منچستر، دانشکده علوم حیاتی، گروه PME

چکیده

سابقه و هدف: کپک *Mold* پاتوژن آسپرژیلوس فومیگاتوس (*Aspergillus fumigatus*) به‌عنوان یک میکروارگانیسم عامل انواع عفونت‌های ریوی به‌ویژه در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی و هم‌چنین آلرژن، آلوده کننده مواد غذایی، مولد میکوتوکسین (*Mycotoxin*) و در نتیجه عامل میکوتوکسیکوز (*Mycotoxicosis*) مورد توجه می‌باشد. قدرت تولید انواع فسفولیپازها و به‌ویژه فسفولیپاز (Phospholipase B, PLB) از عوامل کلیدی در ویرولانسی این قارچ بوده و کلونینگ و تعیین توالی ژن فسفولیپاز B₂ (Phospholipase B₂, PLB₂) جهت بررسی ویژگی‌های ژن سنتزکننده PLB₂ در این میکروارگانیسم و مقایسه خصوصیات ژن و فرآورده آن با ژن مشابه سایر میکروارگانیسم‌ها انجام گردید.

مواد و روش‌ها: DNA ژنومی آ. فومیگاتوس جدا شده از خلط یک بیمار مبتلا به آسپرژیلوزیس ریوی (*Pulmonary aspergillosis*)، استخراج و تلخیص شد و با استفاده از دژنراتیو PCR (Degenerate PCR)، یک قطعه اولیه از ژن *plb₂* به طول ۵۴۲ bp به دست آمد. سپس با استفاده از PCR برگشتی (Inverse PCR, IPCR)، قطعه طویل‌تری به طول ۱۱۷۵ bp به دست آمد. توالی نوکلئوتیدی قطعه ژن ثانوی، متعاقب استخراج از ژل، خالص‌سازی، پیوند به وکتور مناسب، ترانسفورماسیون و نهایتاً استخراج از سلول میزبان و تلخیص، تعیین و با تلفیق این توالی با توالی قطعه اولیه، سکوانسی به طول ۱۵۲۹ bp حاصل گردید.

یافته‌ها: آنالیز فرآورده PCR دژنراتیو اولیه و PCR برگشتی (IPCR) با بلاست (BLASTX) X، در سطح اسیدنوکلیک، حداکثر ۶۲٪ هم‌سانی با توالی نوکلئوتیدی ژن لیزوفسفولیپاز ۱ (LPL₁) آسپرژیلوس اوریزه آ (*A. oryza*) و حداقل ۳۹٪ هم‌سانی با توالی نوکلئوتیدی ژن فسفولیپاز B (PLB) کریپتوکوکوس نئوفرمانس (*Cryptococcus neoformans*) را نشان داد.

نتیجه‌گیری: وجود ژن فسفولیپاز B₂ (PLB₂) در ژنوم آ. فومیگاتوس و مشابهت بسیار زیاد قطعه توالی‌یابی شده با ژن فسفولیپاز سایر میکروارگانیسم‌های دارای قرابت فیلوژنیک و یا فاقد قرابت فیلوژنیک با این قارچ نشان‌دهنده انتقال محافظه‌کارانه آن در مسیر تکاملی از ژنوم دودمانی و هم‌چنین نقش اساسی آن برای بیماری‌زایی میکروارگانیسم می‌باشد. توالی نوکلئوتیدی حاصله می‌تواند برای کلون نمودن و تعیین توالی ژن کامل *plb₂* و تعیین خصوصیات پروتئین (آنزیم) حاصل از ژن و در نهایت طراحی و سنتز واکسن و یا داروی مؤثر بر علیه میکروارگانیسم، مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آسپرژیلوس فومیگاتوس، ژن فسفولیپاز B₂، کلونینگ، توالی‌یابی

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۳۳۶۴۶۶۵-۰۴۱۱، فایبر: ۰۳۳۶۴۶۶۵-۰۴۱۱، E-mail: hassan5628@yahoo.com