کلونینگ ژن p4 لیشمانیا ماژور

چکیده

زمینه و هدف: ژن p4 لیشمانیا ماژور، در مرحله آماستیگوت انگل بیان می‌شود که احتمالاً ترکیب مناسب جهت تهیه واکسن بر علیه لیشمانیوز است. هدف از انجام این پژوهش، کلون این ژن در یک وکتور (ناقل) مناسب برای مطالعات بیشتر در زمینه واکسن‌سازی بود.

روش بررسی: این بررسی به صورت تجربی انجام گرفته است. در مرحله پروماستیگوت، لیشمانیا ماژور در محیط N.N.N و سپس در محیط RPMI1640 به صورت انبوه کشت داده شد. در ادامه DNA ژنومی انگل با روش جوشان استخراج شد. سپس PCR با پرایمرهای اختصاصی ژن p4 انجام شد. محصول PCR از روی ژل آگاروز خالص سازی شد و در پلاسمید نو ترکیب غربالگری شد و تحت تأثیر آنزیم‌های برش دهنده قرار گرفت.

یافته‌ها: واکنش PCR و سپس کلون قطعه p4 در T-Vector به درستی انجام شد. پلاسمید حاوی قطعه استخراج وژن کلون شده در آن با آنزیم‌های برش دهنده، جدا شد و پلاسمید بیان PQE-30 با موفقیت ساب کلون شد و سپس توسط آنزیم‌های برش دهنده و انجام PCR روی پلاسمید بیان، تأیید شد.

نتیجه‌گیری: این ترکیب ماده بیان، ژن p4 در آزمایشگاه است. تولید آنتی ژن نو ترکیب P4 می‌تواند، به خصوص در زمینهٔ تهیهٔ واکسن، به کار آید و علاوه بر آن در زمینه‌های هدف دارویی و تست‌های تشخیصی نیز قابل استفاده است.

کلیدواژه‌ها: ۱ـ ژن P4، ۲ـ کلونینگ، ۳ـ لیشمانیا ماژور، ٤ـ واکسن

***دکتر مینو شاددل**I

دکتر هرمزد اورمزدیII

دکتر لامع اخلاقیIII

دکتر بهرام کاظمیIV

مژگان بنده‌پورV

مقدمه

لیشمانیا، یک انگل داخل سلولی اجباری از خانواده تریپانوزومیده است. در سیکل زندگی آن دو مرحله وجود دارد: مرحله تاژکدار پروماستیگوت که درون بدن پشه خاکی به عنوان ناقل بیولوژیکی است و مرحله آماستیگوت که درون ماکروفاژهای میزبانان مهره‌دار است.[۱] گونه‌های مختلف لیشمانیا، طیف وسیعی از بیماری‌ها را از بیماری پوستی خود محدود شونده تا فرم منتشره شدید یا بیماری احشایی سبب می‌شوند.

به دلیل عدم درمان موفقیت‌آمیز، عوارض جانبی داروها و مقاومت دارویی، تهیه یک واکسن مناسب مورد توجه بیشتر قرار گرفته است.[۲] از آنجایی که فرم آماستیگوت انگل سبب بیماری در انسان می‌شود، بنابراین آنتی‌ژن‌های اختصاصی این مرحله جهت تهیه واکسن بیشتر مورد توجه هستند[۳-۵]. تجربیات قبلی، تولید ۸ منوکلونال آنتی بادی اختصاصی را برای مرحله آماستیگوت انگل لیشمانیا پیفانوی گزارش دادند (p1 تا p8). منوکلونال آنتی بادی‌های p2 ,p4 و p8 با مرحلهٔ آماستیگوت لیشمانیا آمازو ننسیس نیز واکنش نشان دادند[٤]. منوکلونال آنتی بادی‌های p4 و p7 دارای باند پروتئینی با وزن حدود ۳٤ کیلو دالتون هستند.[٤و٥] آنتی‌ژن‌های اختصاصی مرحلهٔ آماستیگوت نیز توسط همین منوکلونال آنتی‌بادی‌ها شناسایی می‌شوند. هر کدام از این آنتی‌ژن‌ها یک پتانسیل بالقوه به عنوان کاندید تهیه واکسن در جهت پیشگیری و کنترل انگل به شمار می‌آیند.[۵] آنتی‌ژن‌های p4 و p8 از کشت آگزنیک مرحلهٔ آماستیگوت

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه دکتر مینو شاددل جهت دریافت درجه دکترای انگل‌شناسی به راهنمایی دکتر هرمزد اورمزدی و دکتر لامع اخلاقی و مشاوره دکتر بهرام کاظمی.

I) استادیار انگل‌شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، خیابان شهید فاطمی، خیابان شهید اعتمادزاده، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران (*مؤلف مسؤول)

II) استاد انگل‌شناسی پزشکی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی- ایران، تهران، ایران

III) دانشیار انگل‌شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران، ایران

IV) استاد انگل‌شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

V) فوق لیسانس میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران