مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ دوره چهاردهم/ تابستان ۱۳۸۸/۲۰-۱۴

شناسایی آنتی ژن اختصاصی کیست هیداتیک توسط روش وسترن بلاتینگ به منظور کاربرد تشخیصی

دکتر شاهین فکور[۱] دکتر بهنام مشکی[۲]

۱- استادیارگروه علوم بالینی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی سنندج، سنندج، ایران (مؤلف مسؤول) تلفن تماس: ۳۲۸۹۴۳۰ Fakours@yahoo.com

۲- دانشیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اهمیت بیماری هیداتیدوز در جمعیت‌های انسانی و دامی، بررسی حاضر با هدف شناسایی آنتی‌ژن تشخیصی کیست هیداتیک با استفاده از روش ایمونوبلاتینگ انجام گرفت.

روش بررسی: بدین منظور بعد از تهیه کیست هیداتیک گوسفندی، چهار نوع آنتی‌ژن مایع خام، مایع جوشانده، آنتی‌ژن هموژنیزه پروتواسکولکس و آنتی‌ژن دیواره کیست هیداتیک تهیه گردید. نمونه‌های سرمی مثبت و عاری از آلودگی در بازرسی کشتارگاهی تهیه شد. الکتروفورز پادگن‌ها توسط روش (SDS-PAGE) با استفاده از سیستم ژل ناپیوسته با ژل جداکننده به غلظت ۱۲٪ و ژل متراکم‌کننده به غلظت ۵٪ در مجاورت نشاندار با وزن مولکولی مشخص صورت گرفت. در استفاده از روش وسترن بلاتینگ برای شناسایی پادگن اختصاصی، یک ورقه از غشا نیتروسلولز بر روی ژل انتقال یافت و تحت الکتروفورز قرار گرفت. بعد از انتقال پروتئین‌ها به غشا نیتروسلولز از شیر خشک بدون چربی بعنوان بافر مسدودکننده و سپس بترتیب از آنتی‌بادی اولیه و ثانویه و از سوبسترای دی آمینو بنزیدین جهت مشخص شدن باندهای اختصاصی استفاده شد.

یافته‌ها: بررسی نتایج الگوی الکتروفورتیک چهار آنتی‌ژن تهیه شده از کیست هیداتیک نشان داد در آنتی‌ژن خام مایع کیست ۹ باند پروتئینی از ۱۴ تا بیش از ۱۱۶ کیلو دالتون وجود دارد که در بین آنها چهار باند با وزن مولکولی ۱۸، ۲۳، ۴۰ و ۶۴ کیلو دالتون مشخص‌تر و مشترک با پادگن مایع جوشانده هستند. در الکتروفورز آنتی‌ژن دیواره ۹ باند از ۱۴ تا بیش از ۱۱۶ کیلو دالتون و در پروتواسکولکس ۱۰ باند پروتئینی با وزن مولکولی بیشتر از ۳۵ کیلو دالتون وجود داشت.

نتیجه‌گیری: در ایمونوبلاتینگ آنتی‌ژن مایع خام یک باند پروتئینی با وزن مولکولی ۳۵ و در آنتی‌ژن دیواره کیست ۳ باند ۳۰، ۳۳ و ۴۶ کیلو دالتون بعنوان آنتی‌ژنهای اختصاصی شناسایی شدند.

کلید واژه‌ها: کیست هیداتیک، آنتی‌ژن، وسترن بلاتینگ.

وصول مقاله: ۸۸/۵/۱ اصلاح نهایی: ۸۸/۶/۱۵ پذیرش مقاله: ۸۸/۶/۱۹

مقدمه

هیداتیدوز حیوانی و انسانی در کشورهایی که دامپروری نشخوارکنندگان رونق دارد از شیوع بیشتری برخوردار است، به طوری که بخش‌های مختلفی از دنیا نظیر خاورمیانه را شامل می‌شود (۱). در حال حاضر روش‌های متعدد سرمی نظیر: الایزا[۱]، هماگلوتیناسیون غیر مستقیم[۲]، ایمونوبلات[۳]، رادیو ایمونواسی[۴]، ایمونوالکتروفورز[۵]، ایمونوفلورسانت غیر مستقیم[۶] و لاتکس آگلوتیناسیون[۷] جهت تشخیص موارد هیداتیدوز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶-۲). این روشها بر اساس

1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

2. Indirect Haemaglutination Test (IHT)
3. Immuno Blotting (IB)
4. Radio Immuno Assay (RIA)
5. Immuno Elctrophorese (IE)
6. Indirect Fluorescent Antibody (IFA)
7. Latex Aglutination Test (LA)