

تعیین ایمونوژن های هلیکوباکتریلوری با الکتروفورز دو بُعدی و وسترن بلات

الهام ادهم فومنی^۱، دکتر علی مصطفایی^۲، دکتر مصطفی رضایی طاویرانی^۳، دکتر سید جعفر نوابی^۴، شهرام پروانه^۵

نویسنده مسئول: کرمانشاه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی amostafaie@kums.ac.ir

دریافت: ۸۶/۱۰/۳۰ پذیرش: ۸۷/۳/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: هلیکوباکتریلوری از شایع ترین باکتری های بیماری زا در انسان است که معمولا در معده مستقر می شود. این باکتری به عنوان عامل التهاب و زخم معده و دوازده و در مواردی سرطان معده شناخته شده است. بعضی از آنتی ژن های هلیکوباکتریلوری که توسط سیستم دفاعی میزبان شناخته می شوند، از نامزدهای مورد استفاده در تعیین سویه های باکتری، تشخیص بیماری یا تهیه واکسن علیه آن محسوب می شوند. این مطالعه به هدف شناسایی ایمونوژن های هلیکوباکتریلوری در سه گروه از بیماران مبتلا به التهاب، زخم و سرطان معده انجام گرفت.

روش بررسی: هلیکوباکتریلوری از نمونه های بیوسی بیماران مبتلا به التهاب معده (۱۳ نفر)، زخم معده (۴ نفر) و سرطان معده (۳ نفر) جدا و کشت داده شد. پروتئین های پیکره ای باکتری با کمک لیزوزیم، اوره و دترجنت چپس، استخراج و به روش الکتروفورز دو بُعدی تفکیک شدند. بعد اول الکتروفورز دو بُعدی شامل ایزوالکتریک فوکوسینگ به روش آبگیری مجدد و بعد دوم شامل SDS-PAGE بود. بعد از الکتروفورز دو بُعدی، پروتئین ها به غشای PVDF منتقل و واکنش آن ها با ایمونوگلوبولین تخلیص شده از سرم هر گروه از بیماران مبتلا به التهاب، زخم و سرطان معده با روش ایمونوبلاتینگ بررسی شد.

یافته ها: الگوی الکتروفورز دو بُعدی هلیکوباکتریلوری در این مطالعه نشان داد که اغلب پروتئین های این باکتری در دامنه های وزنی ۱۰ تا ۱۰۰ کیلودالتونی و محدوده pH=۳/۵-۹/۵ قرار دارند. در این الگو ۶ تا ۷ پروتئین پرمقدار که بعضی به صورت گروه چندتایی بودند، قابل تشخیص بود. در ایمونوبلاتینگ، مجموعه ای از پروتئین ها با اوزان حدود ۱۰۰، ۹۶، ۸۵ تا ۹۰، ۷۰ تا ۸۰، ۶۰، ۳۰، ۱۸، ۱۴ و ۱۰ کیلودالتون با نقاط ایزوالکتریک متفاوت با انواعی از سرم ها واکنش نشان دادند. گروه ۶ تا ۵ پروتئینی با وزن حدود ۱۰۰ کیلودالتون و pH های متفاوت از ۴/۵ تا ۵/۵، گروه پروتئین ۶ تایی با وزن حدود ۹۶ کیلودالتون و pH=۳/۵-۴، پروتئین های ۱۰ و ۱۸ کیلودالتون با هر سه سرم واکنش دادند. پروتئین های ۱۰۲ و ۹۰ کیلودالتونی با سرم بیماران زخم معده واکنشی ندادند. پروتئین ۳۰ کیلودالتونی فقط با سرم بیماران سرطان معده و پروتئین ۱۸ کیلودالتونی فقط با سرم بیماران مبتلا به التهاب معده واکنش دادند.

نتیجه گیری: پروتئین های با اوزان ۱۰۰، ۹۶، ۱۰ و ۱۸ کیلودالتون که با سرم هر سه گروه از بیماران واکنش دادند، می توانند به عنوان نامزد تشخیص طبی مطرح و مورد مطالعه بیشتر قرار گیرند. پروتئین ۳۰ کیلودالتونی که فقط با سرم بیماران سرطان معده و پروتئین ۱۸ کیلودالتونی که فقط با سرم بیماران مبتلا به التهاب واکنش دادند، می توانند به عنوان نامزد تشخیص و تمایز این دو دسته از بیماران مدنظر قرار گیرند. به علاوه نتایج نشان داد که آنتی سرم بیماران زخم و سرطان معده الگوی آنتی ژنی نسبتا مشابهی را در مقایسه با بیماران التهاب معده شناسایی می کند که به نظر می رسد در شناخت آنتی ژن های مسئول بیماری زایی و یا تعیین سویه های باکتری مفید است.

واژگان کلیدی: هلیکوباکتریلوری، الکتروفورز دو بُعدی، ایمونوبات، ایمونوژن

۱- کارشناس ارشد سلولی مولکولی، گروه بیولوژی، دانشگاه خاتم

۲- دکترای ایمونولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی

۳- دکترای بیوفیزیک، استادیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۴- متخصص داخلی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۵- کارشناس آزمایشگاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی