

شناسایی اپی توپ‌های سلول T مربوط به آنتی‌ژن MPB51 مایکوباکتریوم توبرکلوزیس

در موش‌های BALB/c

چکیده

زمینه و هدف: سلول‌های T کمکی نوع یک (Th1) و لنفوسیت‌های CD8+ T نقش به سزایی در برقراری حفاظت مقابل عفونت با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس دارند. MPB51 یکی از پروتئین‌های ترشحی مایکوباکتریوم می‌باشد که باعث تحریک پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی در طی عفونت با باسیل‌های سل می‌گردد. هدف از این مطالعه شناسایی اپی توپ‌های غالب لنفوسیت‌های T از مولکول MPB51 در موش‌های BALB/c می‌باشد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی از تیرماه ۱۳۸۱ لغایت اسفند ماه ۱۳۸۱ انجام گردید. DNA کدکننده مولکول MPB51 ابتدا در پلاسمیدهای pCI کلون گردید. پس از ایجاد گلوله‌های ژنی حاوی ذرات طلای پوشیده شده از ژن MPB51، با استفاده از تفنگ ژنی (Gene gun) موش‌های سفید نژاد BALB/c مورد واکسیناسیون قرار گرفتند. دو هفته بعد از آخرین ایمن‌سازی سلول‌های طحالی استخراج شد و در حضور یا عدم حضور مجموعه‌ای از پپتیدهای هم‌پوشان سنتتیک توالی کامل مولکول MPB51 در محیط کشت RPMI1640 حاوی ۱۰ درصد FCS کشت داده شد. تولید IFN- γ داخل سلول و سوپ کشت سلولی به ترتیب با روش فلوسیتومتری و ELISA بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که واکسیناسیون DNA باعث ایجاد پاسخ ایمنی قوی تنها در برابر پپتید حاوی اسید آمینه ۴۰-۲۱ می‌شود. آنالیزهای بیشتر با استفاده از الگوریتم‌های کامپیوتری امکان شناسایی اپی توپ نه‌اسید آمینه‌ای ۳۲-۲۴ را به عنوان اپی توپ غالب سلول CD8+ T فراهم نمود.

نتیجه‌گیری: این تحقیق مشخص ساخت کمپلکس MHC کلاس یک -پپتید (P24-32/H2-Dd) توسط سلول‌های T سیتوتوکسیک (CTL) تولید کننده IFN- γ شناسایی می‌گردد. با استفاده از روش حذف دستجات لنفوسیت‌های T مشاهده شد لنفوسیت‌های CD8+ T تنها سلول‌های پاسخگو در برابر پپتید ایمونوژن ۳۲-۲۴ در موش‌های BALB/c می‌باشند. نتایج به دست آمده از این تحقیق علاوه بر آنکه به شناخت مکانیسم‌های پاسخ‌های ایمنی سلولی در برابر توبرکلوزیس کمک می‌نماید، در طراحی واکسن موثرتری در مقابل عفونت M.tuberculosis نیز مفید خواهد بود.

کلید واژه‌ها: اپی توپ سلول T - توبرکلوزیس - MPB51 - واکسن ژنتیکی

دکتر علیرضا رفیعی

استادیار ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

دکتر یوکیدو کویاد

استاد ایمونولوژی و بیولوژی سلولی

دانشکده پزشکی دانشگاه هاما ماتسو، ژاپن

نویسنده مسئول: دکتر علیرضا رفیعی

پست الکترونیکی: rafiei1710@gmail.com

نشانی ساری، بلوار خزر، میدان خزر، دانشکده پزشکی

ساری، گروه ایمونولوژی و میکروپزشکی

تلفن: ۳۲۴۹۰۴۳ و نمابر: ۰۶-۳۲۴۷۱-۰۱۵۱

وصول مقاله: ۸۴/۲/۲۴

اصلاح نهایی: ۸۴/۴/۱۵

پذیرش مقاله: ۸۴/۴/۲۵

مقدمه

سل یک بیماری بازپدید می‌باشد که یکی از مشکلات اصلی بهداشت عمومی در تمامی کشورها به ویژه کشورهای در حال توسعه محسوب می‌شود. مایکوباکتریوم توبرکلوزیس عمدتاً از طریق تنفسی انتقال می‌یابد و باعث بروز بیماری در ۱۰-۵ درصد افراد آلوده می‌گردد، به طوری که سالانه ۳ میلیون نفر در اثر ابتلا به این بیماری جان می‌سپارند. ابزارهای موجود برای کنترل بیماری ناکافی بوده، به طوری که میزان حفاظت ناشی از تنها واکسن موجود، واکسن BCG، بین ۸۵-۰ درصد در مطالعات مختلف گزارش شده است (۱). این امر همراه با بروز پاندمی HIV و افزایش مقاومت چند دارویی در سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس نیاز به واکسن‌های موثرتر را بیشتر می‌نماید (۲). گرچه مکانیسم‌های حفاظتی در مقابل سل هنوز به خوبی شناخته نشده‌اند، ولی پاسخ‌های

ایمنی سلولی نقش موثری برای کنترل عفونت دارند. شواهد متقنی وجود دارد که سلول‌های CD4+ T کمکی نوع یک (Th1) عمدتاً از طریق تولید سیتوکاین‌های فعال کننده ماکروفاژها نظیر انترفرون گاما، در پیدایش مقاومت در برابر بیماری موثرند. علاوه بر آن لنفوسیت‌های CD8+ T سیتوتوکسیک (CTL) نیز در پیدایش مقاومت در برابر بیماری سهیمند (۳). موش‌های فاقد سلول‌های CD8+ T حساسیت بیشتری نسبت به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس دارند (۴). سلول‌های CTL CD8+ انسانی آنتی ژن‌های لیپیدی و گلیکولیپیدی دیواره سلولی مایکوباکتریوم را در داخل مولکول‌های CD1 (CD1a, b, c) و مولکول‌های MHC کلاس Ib عرضه شده بر روی سلول‌های دندریتیک شناسایی می‌نمایند (۵).

طراحی نسل جدید واکسن‌های TB نیازمند دانستن نحوه