

پتانسیل واکسنی پروتئین کپسید خارجی (VP4) روتاویروس کلون شده در پلاسمید

مظاهر خدابنده لو^۱، بیژن بمبئی^۲، زهره-آزبتا صدیق^۳

۱- استادیار گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (مؤلف مسؤول) تلفن: ۰۸۷۱-۶۱۳۱۴۱۱

uk.ac.irmazaher-khodabandehloo@gmail.com

۲- استادیار گروه بیوشیمی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

۳- دکترای تخصصی ویروس شناسی، مرکز تحقیقات واکسن و سرم رازی، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: روتاویروسها عامل گاستروانتریت کودکان زیر ۵ سال هستند و سالانه موجب حدود ۸۰۰۰۰۰ مرگ می‌شوند. افزودن واکسن روتاویروس در برنامه ایمن سازی کودکان می‌تواند باعث کاهش قابل ملاحظه مرگ و میر کودکان به خصوص در کشورهای در حال توسعه شود. پروتئین VP4 خار کپسید خارجی روتاویروس بوده که روتاویروس توسط آن به گیرنده خود متصل می‌شود. پروتئین VP4 موجب تولید آنتی بادی خنثی کننده می‌شود. با در نظر گرفتن موارد فوق ما، ژن VP4 روتاویروس را در پلاسمید به منظور بیان VP4 در آینده کلون کردیم.

روش بررسی: سلول BSC-1 به صورت تک لایه کشت داده شد. وقتی کشت سلولی CPE کامل روتاویروس را نشان داد سه مرتبه ذوب و فریز شد. روتاویروس توسط اولتراسانتریفیوژ نسبتاً خالص گردید. پرایمرهای اولیگونوکلئوتیدی مخصوص قطعه ۴ ژنوم روتاویروس که VP4 را کد می‌کند ساخته شد. ژنوم RNA ویروس استخراج و به عنوان الگو برای ساخت cDNA توسط ترانس کریپتاز معکوس استفاده گردید. سپس به وسیله PCR تکثیر داده و محصول PCR در ناقل پلاسمید کلون شد. پلاسمید حاصل با آنزیمهای محدودالانتر و تعیین توالی مورد تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: نتیجه تعیین توالی به وسیله نرم افزار BLAST تحلیل شد که ۱۰۰٪ با توالی قطعه شماره ۴ روتاویروس موجود در بانک ژنی NCBI مشابه بود.

نتیجه گیری: نتیجه تحلیل توالی تایید می‌کند که نوکلئوتیدهای ژن VP4 بعد از پاساژهای طولانی روتاویروس SA11 در آزمایشگاه ما ثابت مانده است.

کلید واژه‌ها: روتاویروس، VP4، کلونینگ، واکسن

وصول مقاله: ۸۹/۳/۱۷ اصلاحیه نهایی: ۸۹/۴/۳۰ پذیرش مقاله: ۸۹/۴/۳۰

مقدمه

روتاویروس شایعترین عامل گاستروانتریت کودکان در سراسر جهان است. بیش از نیم تا یک میلیون مرگ سالانه در سراسر جهان در اثر از دست رفتن آب بدن به علت عفونت با روتاویروس رخ می‌دهد (۱، ۲). روتاویروس همچنین یک پاتوژن مهم دامپزشکی است که باعث بیماری در گاو، گوسفند، خوک و ماکیان می‌شود (۲).

به نظر می‌رسد بهترین راه کاهش گاستروانتریت روتاویروسی در جهان به خصوص در کشورهای در حال توسعه واکسیناسیون باشد (۳-۵). واکسن خوراکی، زنده و تخفیف حدت یافته شامل ویروسهای نوترتیب (reassortant) روتاویروس انسانی- حیوانی (میمونی یا گاوی) در کودکان آزمایش شد. در