مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
جلد پنجم، شماره دوم، تابستان 1385،85-88

خالصه سازی و شناسایی باند پروتئینی از سارکووسیسیس گوسفنده

دکتر بیرام کاظمی۱،دکتر هوشنگ خزان،دکتر امید عظیم‌زاده۲،دکتر میر خسرو صفری۲.دکتر فرید
توحید‌نیا یاری‌پوری۳.دکتر سید جواد طبایی۴،دکتر علی قربی۴

چکیده
زمینه و هدف: انکل‌های جنس سارکووسیسیس کوکسیده‌های دو میکروآمیسیست که از عوامل ایجاد کندنه بیماری‌های مشترک انسان و دام می‌باشند. این انکل‌ها در دامداری و دام‌پزشکی از نظر اقتصادی اهمیت دارند.

بهرمن راه تحقیق دانش‌آموخته روش سرولوژی‌ی می‌باشد. این تحقیق به منظور تهیه انکل‌زه مناسب برای تست سرولوژی انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها: آنتئن‌زه خان از کیست‌های سارکوسیسیس جدا شده از لاشه گوسفنده‌ی آلوده تهیه شده و با غلظت‌های مختلف سولفات‌های آمونیوم رسوب داده شده که در غلظت 80یک باند پروتئینی شکل گرفته و متقابلیت آن را کروماتوگرافی ستنوی انجام گرفته است.

یافته‌ها: آنتئن‌زه خان روی زلی‌ی کریلامید 12/ثک‌فوردوز شد و نواحی معدود پروتئینی آن بعد از رنگ‌آمیزی با کوماسیل مشخص گردید. از غلظت‌های ۲۰۰۰۰۰،۰۲،۰۲،۰۴،۰۲،۰۰/۰/۸۰/۰۰/۰/۸۰۰۰۰۰۰/۰۰ سولفات‌های آمونیوم برای رسوب داده شده که انکل‌زه خان استفاده شد و بعد از تحقیق‌های کروماتوگرافیک، میکروآمیسیست کیلولوژی‌ی مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: در این تحقیق یک باند پروتئینی از مخلوط پروتئین‌های سارکوسیسیس گوسفنده‌ی شناسایی شده که می‌تواند به عنوان آنتئنی در تشخیص سارکوسیسیس کمک‌آوری کند.

واژه‌های کلیدی: انکل‌زه سارکوسیسیس، کروماتوگرافی سтонوی، تغییرات سولفات‌های آمونیوم

مقدمه
حیوان علف‌خوار (یا همه چیزخوار) است اتاق‌می‌گیرد. انورژنی‌ی (Endozoite) نسیل آخر انورژنی‌ی نرم‌پوش‌های سارکوسیسیس (Endopolygeny) در عضلات مخاطی، بافت‌های عصبی و فیبرهای پورکینی قلب می‌باشد و در طول زندگی این انکل‌ها به ولگرد شکل می‌گیرد. تقسیم جنسی انکل در سلول‌های انورژنی‌ی روده کوچک می‌باشد و تشکیل نمی‌شود. این انکل به صورت مخلوط پروتئین‌های سارکوسیسیس عروق خونی می‌دهد.

۱- (نوبت‌نده مسئول) دانشگاه گروه آموزشی انجکشتان و قارچ‌شناسی، مرکز تحقیق‌های بیولوژی‌ی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بهبهان
bahram_14@yahoo.com
تلفن: 2322332233، فاکس: 2322332332

۲- استادیار گروه آموزشی انجکشتان و قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بهبهان

۳- استادیار گروه آموزشی انجکشتان و قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بهبهان
کروماتوگرافی ۲۰۰۰ سانتی‌متری استفاده گردید [۱۲]. پودر سفارش ونر گرید و در یک بستر حاوی بافر PBS ریخته شد و بعد از حل شدن پودر با جوشی‌های دیگر مورد حساب کردن، به آرامی زال روز میلی مولی شیشهای به داخل ستون ریخته شد و برای تست جسم و امکان شدن ستون، به برای حجم ستون بالاتر یک آب گرفتند [۱۳]. پروتئین از یک لاگر متعلق به واکنش فیترام (Wathman) تا دوگانه جهت بررسی گردید. پس وارد ستون گردید. به آرامی چربیان بافر ستون متصل شد و ستون طویل تنظیم شد که در هر ۶ ثانیه کیف کویری از آن خارج می‌شد و پس از ستون درجه حرارت و تنظیم یک مولار با pH 9 اضافه شده بود [۱۴][۱۵] در شرایط ۳ میلی امید برای هر جاک و گراف رنگی و در بافر تریس - گلیکنیون با دستگاه الکتروفورز عمومی الکتروفورز شدند [۱۶]. رنگ‌آمیزی زل با رنگ کوماسی برای تنظیم برای بلوار R ۲۵۰ (Coomassie Brilliant Blue R ۲۵۰) گوشت [۱۷].

نتایج

بیان

گردن در کمیتی زبانه شده در کنار کرومایتیمی تغییر جراحی از احتمال بهبود در تمرین حایان دوگانه و رشد میزان احتمال استفاده در تمرین فیزیولوژی ریخته و یا همگام استفاده در غربال یک ساله قرار گرفته، هنگام کار با دوب و ابزاری می‌کرد و سیستم سونیکاسیون (Sonication) (دوارده دفعه در منفی او ۲ درجه منجمد شده و در ۲۹ درجه دوگانه، کیسته و محورهای سونیکاسیون آن‌ها خرد شدند و انتظار زن خام تهیه گردید از غلظت‌های (Crude antigen) سونیکاسیون ۲۰۱۰، ۲۰۰۹، ۲۰۰۸، ۲۰۰۷، ۲۰۰۶، ۲۰۰۵ و ۲۰۰۴ سونیکاسیون بی‌اعتمادی می‌گردد از غلظت‌های سونیکاسیون (Sonication).
بحث

مهم‌ترین راه مقابله با سارکوپتروسوزس جلوگیری از تشکیل سارکوپتروسوزس در دام‌ها باید کار با واکسن‌سازی انجمام گیرد و کارهای نیز در این زمینه انجام گرفته‌است [18]. اما نتایج مضیفی و به موقع بیماری از هم نسیم برخورد نمود. هدف این پژوهش دست‌یابی به یک پروتئین خاص سارکوپتروسوزس به منظور استفاده در روش‌های سرولوژی بوده است. نتایج تنر (2010) و همکاران از سارکوپتروسوزس تنلا (Bradyzoite)، سارکوپتروسوزس آرایتکانیس (Sarcocystis Tenella) و (S. Gygantae)، سارکوپتروسوزس موریس (S. Muris) مخلوط پروتئین‌های تهیه کردن و با روش کروماتوگرافی هدر با روش CROMATOFOCUSING (Chromatofocusing) اجرای این مخلوط پروتئینی را جدای نمودند. این ها معتقدند با این روش، آنتی‌ژن اختصاصی هر یک از گونه‌های مذکور تهیه می‌شود و در نتیجه تشخیص اختصاصی بیماری کاربرد دارد [6]. در تحقیق حاضر تخلیص پروتئین سارکوپتروسوزس با روش سولفات آلومینیوم و متعاقب آن کروماتوگرافی ستونی انجام گرفته که پروتئین‌های مورد به بیماری آن‌ها استفاده در روش‌های سرولوژی مانند ادرا و وسترن بلات می‌باشد. هدف نهایی این کار کردن مانند تحقیقات دیگر محققین در این زمینه می‌باشد. بنزن (Bentz) و همکاران، سالمه (Blyth) و همکاران به (S. Western blot) وسیله وسترن بلات سارکوپتروسوزس نرونا (S. Sarcocystis Tenella) را در اسب تنش خاص دانست [21-19]. لازم به ذکر این اثبات، در انجام این روش مرهون وجود آنتی‌ژن اختصاصی می‌باشد که به‌طور مستقیم حاصل جاده است. بر خلاف پروتئین (Merton) همکاران یک پروتئین نوترکیب 46 کیلوdaltonی از سارکوپتروسوزس تهیه کرده و مشخص شد آنتی‌ژن یک پلیپپید 25 کیلوdaltonی سارکوپتروسوزس Enzyme Linked Immuno Suurbent تهیه کرده و به‌طور مستقیم حاصل جاده است. مورسی (Morstyk) و شناسایی می‌کند [8]. Assay (ELISA) همکاران سارکوپتروسوزس‌های سارکوپتروسوزس‌های آنتی‌ژن را از عضله گاو آبود جدا کرده و به عنوان آنتی‌ژن در تست ایزوف‌فج روش کردن [10]. سایتو و همکاران و سایتو و (Saito) و (S. Savini) و (S. Cruzi) همکاران از آنتی‌ژن‌های سارکوپتروسوزس‌های کروزی

شکل 1- الکتروفونوز آنتی‌ژن های خام سارکوپتروسوزس روی ال پی کریمید

شکل 2- روش پروتئین‌های سارکوپتروسوزس با سولفات آلومینیوم. سنتن های آنتی‌ژن روش داده شده است.

شکل 3- مارکزر و نیتروس سولفات آلومینیوم. سارکوپتروسوزس‌های روی ال پی کریمید

شکل 3- خاص‌سازی آنتی‌ژن 35 کیلوdaltonی سارکوپتروسوزس با روش کروماتوگرافی به دست روش‌دهی با سولفات آلومینیوم.
در این تحقیق یک نوار پروتئینی از مخلوط پروتئین‌های سارکوپرسیتیس گوسفند خالص‌سازی شده که می‌تواند به عنوان آنتی‌ژن در آزمایش‌های سرم‌شناسی برای تشخیص سارکوپرسیتیس استفاده شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق به پشتیبانی مالی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و محترم زمانی دامپزشک کل کشور انجام شده است. بی‌پروصوری نوبنیادگان از مسئولین مربوط به تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References