مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره هفتم، شماره اول، بهار ۱۳۸۷، ص ۳۱-۳۰

بررسی پلی مورفیسم در ایزوپلری‌های گونه لیشمپانزه مازور تهیه شده در مناطق اندمیک لیشمپانزه بوستی ایران با استفاده از مار‌کرها ماکروستالیت

دکتر محسن تاتکی، دکتر عارف جواهر، دکتر محمدحسین علی‌محمدی‌ان، دکتر ایرج شریفی، دکتر محسن رضاییان، دکتر فاطمه محسنی‌مقدم

چکیده
زمینه و هدف: اکت لیشمپانزه مازور به وسیله اینترپوزیت لیشمپانزه جدیدی در مناطق مختلف ایران انجام شد. امروزه تکنیک‌های مختلف مکملی با استفاده از توالی‌های پلیمرفریک DNA به‌طور گسترده در بررسی هتروزمپلتیج عوامل اینترپوزیت است (MLMT Multilocus Microsatellite Typing) لیشمپانزه به کار می‌رود. یکی از تکنیک‌های جدید در این زمینه روش که در حال حاضر از آن برای مطالعه در این روش به‌طور خاص یا با استفاده از این روش به‌طور عمومی بررسی پلی مورفیسم در گونه لیشمپانزه مازور (عکل لیشمپانزه بوستی نوع روسی) در ایران استفاده شده است.

مواد و روش: در این مطالعه آزمایشگاه تعداد ۳۴ ایزوپلری اکت لیشمپانزه مازور جمع آوری شده از بیماران مبتلا به لیشمپانزه بوستی در مناطق مختلف اندمیک لیشمپانزه بوستی نوع روسی با استفاده از این روش (MLMT Multilocus Microsatellite Typing) مورد بررسی قرار گرفت. ایزوپلری‌ها با استفاده از هفته جفت پراپار در ایزوپلری مازور ماکروستالیت بوستی‌های مورفیسم محصولات واکنش بر روی زل پلی اکریلاید مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: با استفاده از شش جفت پراپار با استفاده از PCR، پلی مورفیسم دیده شد که در مواردی نوعی تغییرات نیز در محصولات بسته داده شده توسط پلاگ می‌شود. در کل هفت زننوتیپ مختلف در پلی‌توپی‌های مورد مطالعه مشاهده شد. بر اساس نتایج، محققان یافته‌ها یک تحقیق مرحله‌ای مختلفی در بین این‌ها، گونه لیشمپانزه مازور در ناحیه اندمیک اصفهان، تهران و ممنوعیت شناسایی شد در حالی که در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق اندمیک ایلام و خوزستان همزمانی دیده شد و نه تکنیپ مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: در مجموع این مطالعه با استفاده از TATC، هفت زننوتیپ مختلف در پلی‌توپی‌های گونه لیشمپانزه ماکروستالیت بوستی نوع روسی در ایران استفاده شد که نشان‌دهنده توانایی این تکنیک در ارزیابی هتروزمپلتیج در گونه لیشمپانزه مازور است.

واژه‌های کلیدی: ماکروستالیت تایپنج، لیشمپانزه مازور، پلی مورفیسم

1- استادیار گروه آموزشی علوم آماری و استادیار، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
2- استادیار گروه آموزشی پزشکی اصل، دانشگاه علوم پزشکی فرهنگیان
3- استادیار گروه آموزشی پزشکی اصل، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
4- استادیار گروه آموزشی پزشکی اصل، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
5- مهندس و عضو هیات علمی گروه آموزشی علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

m_tashakori44@yahoo.com

1387-01-320-0200-830، فاکس: 0311-0282-0200، پست الکترونیکی: m_tashakori44@yahoo.com
لیشمانیوز پوستی با طرف وسیعی جغرافیایی در تمامی نقاط جهان می‌باشد که بیش از هر هرکدام از حیوانات و یا انسان‌ها در آن‌ها واقع شده‌است. لیشمانیوم و پوستی گروهی از میکروب‌هایی هستند که درون‌پر سازمان‌های روده‌داری، تغییرات ژنتیکی درون‌پر سازمان‌های روده‌داری در هر دو نوع این بیماری در نواحی مختلف ایران و جهان مشاهده شده است. این بیماری از جمله نواحی زیبای می‌باشد که به طور گسترده‌ای در دنیای بشری و وحشی بخصوص پستانداران سرده Leishmania و پوستی گروهی است که به طور کم‌تر در سایر موارد گزارش شده است. این بیماری در نواحی مختلف جنگلی لیشمانیوم پوستی گروهی است که می‌تواند به صورت توده‌ای یا اچک‌هایی به صورت زیبای می‌باشد که به طور کم‌تر در سایر موارد گزارش شده است. این بیماری در نواحی مختلف جنگلی لیشمانیوم پوستی گروهی است که می‌تواند به صورت توده‌ای یا اچک‌هایی به صورت زیبای می‌باشد که به طور کم‌تر در سایر موارد گزارش شده است. این بیماری در نواحی مختلف جنگلی لیشمانیوم پوستی گروهی است که می‌تواند به صورت توده‌ای یا اچک‌هایی به صورت زیبای می‌باشد که به طور کم‌تر در سایر موارد گزارش شده است. این بیماری در نواحی مختلف جنگلی لیشمانیوم پوستی گروهی است که می‌تواند به صورت توده‌ای یا اچک‌هایی به صورت زیبای می‌باشد که به طور کم‌تر در سایر موارد گزارش شده است. این بیماری در نواحی مختلف جنگلی لیشمانیوم پوستی گروهی است که می‌تواند به صورت توده‌ای یا اچک‌هایی به صورت زیبای می‌باشد که به طور کم‌تر در سایر موارد گزارش شده است. این بیماری در نواحی مختلف جنگلی لیشمانیوم پوستی گروهی است که می‌تواند به صورت توده‌ای یا اچک‌هایی به صورت زیبای می‌باشد که به طور کم‌تر در سایر موارد گزارش شده است. این بیماری در نواحی مختلف جنگلی L.
لیشمانتوز پوستی از مناطق مختلف اندمیک لیشمانتوز پوستی مربوط به ایوزوله‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارده شده است. کلیه ایوزوله‌ها از سایه‌پوش پیمیاران مبتلا به جدول ۱- سوهحهای ایشین پوستی از این مطالعه. انتخاب مشاهده عده در هر لوكوس برتیب اندازه از بزرگ بی‌کوری مشخص شده است. بزرگترین اغلب افراد A نمایش داده شده است.

<table>
<thead>
<tr>
<th>محل جمع‌آوری</th>
<th>زناتیب ییزوله</th>
<th>کد بین المللی</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 1</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 2</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 3</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 4</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 5</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 6</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 7</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 8</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 9</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 10</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 11</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 12</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>خوزستان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 13</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>خوزستان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 14</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>خوزستان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 15</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>ایلام</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 16</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>خوزستان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 17</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>خوزستان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 18</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>خوزستان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 19</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>ایلام</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 20</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>سمغان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 21</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>سمغان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 22</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>سمغان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 23</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>سمغان</td>
<td>MHOM/IR/00/PII 24</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>MHRO/IR/76/ER</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

نتایج به هر زوناتیب B/C و A/B مشخص شده است.

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۷، شماره ۱، سال ۱۳۸۷
برای تهیه زنده از فرم پروتئینیگوت انگل کشته
شده در میکروپلاستیک انجام
بر اساس برنامه
PCR

با استفاده از DNA
مورد استفاده
شده از
گرفته شده از
استاندارد لیشمنی
ماژور (MRHO/IR/76/ER)
در طول
مطالعه استفاده
شد.

برای اختصاصی برای توأی های ماکروستیلاپتی که جزییات
PCR
آن در جدول ۲ مشاهده می شود بسته داده شد. مخلوط

جدول ۲ - ماهورهای ماکروستیلاپتی مورد استفاده در مطالعه

<table>
<thead>
<tr>
<th>مارکر</th>
<th>نمره</th>
<th>درجه سانتی گراد</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>T</td>
<td>کروموزوم</td>
<td>F CCGTTTGCGCTGAAAGCGGC</td>
</tr>
<tr>
<td>r</td>
<td>CGTGAGGACGCCACCGAGGC</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>۵۸</td>
<td>۳۵</td>
<td>F GGGATTGCGTCGTTGGTGTG</td>
</tr>
<tr>
<td>r</td>
<td>GCCGCTGACGCTGACGGC</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>۵۸</td>
<td>۳</td>
<td>F GGTCTTGCCGCGAGTGGACG</td>
</tr>
<tr>
<td>r</td>
<td>CACGCCACGACACACCATC</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>۵۸</td>
<td>۱</td>
<td>F CTGGCACGCACACCACACA</td>
</tr>
<tr>
<td>r</td>
<td>ATCTGGCTCATCTGGCAGG</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>۶۰</td>
<td>۳</td>
<td>F TCTTGCGAAGGTTGTCGGTTT</td>
</tr>
<tr>
<td>r</td>
<td>AGCCCCAGGGTACATGGT</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>۵۰</td>
<td>۲۱</td>
<td>F GAAAGGGCGAGGAGCGGTG</td>
</tr>
<tr>
<td>r</td>
<td>CACACACACACACACATA</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>۵۴</td>
<td>۱</td>
<td>F TTAGTTCCATCATCACC</td>
</tr>
<tr>
<td>r</td>
<td>CGTTGACATGGGAGAATAAG</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>۴۸</td>
<td>۵</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

روی آیکون TBE با بایقر مقدار ۵۰ و لنز ۸۰ الکتروفورز
در مرحله آخر بارا گسترش نهایی (Final extension)
در دامنه ۲۲ درجه به مدت ۶ دقیقه قرار گرفت.

جهت اطمینان از وجود محصول واکنش، ابتدا حاصل بر
PCR
مخلوط
در دامنه ۲۲ درجه به مدت ۶ دقیقه قرار گرفت.

دوره ۷، شماره ۱، سال ۱۳۸۷
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
پژوهشگران خود را به منظور تعیین پلی‌مورفیسم در ایران‌های مورد مطالعه، مصوبات واکنش بر روی زل پلی‌کریلایمید ۱۲٪ در ابتدای ۸/۲۰۰۴۵۱۰۰ میلی‌متر به مدت ۱۸ ساعت با توپ ۱۰ واکنش آزمایش عمودی شد و توسط نیترات نقره رشته‌آمیزی گردید. برای رنگ‌آمیزی زل ابتدا به مدت ۲۰ دقیقه در اسید نیتریک ۱٪ ثابت شده و سپس در محلول نیترات نقره ۲٪ به مدت ۲۵ دقیقه قرار گرفت. جهت ظهور بالدها زل در محلول حاوی کربنات‌سیدیم ۱۲۵٪ کربنات و فرمالین ۷۳٪ قرار گرفت. در نهایت زل در اسید استیک ۱۰٪ ثابت و روان کاغذ فیلم بلات شد ۲۲٪ پلی‌مورفیسم در بین ابروله‌ها به طور ماکروسکوپی مورد ارزیابی قرار گرفت و یک‌لاغه مشاهده شد. به ترتیب اندازه از بزرگ به کوچک نامگذاری شدند.

نتایج

محصولات بسته داده شده توسط کلیه هفت جفت پراپمر مورد استفاده در این مطالعه در محض داده‌های اصلی کمال اندازه قابل انتظار بود. پلی‌مورفیسم در مصوبات واکنش بسته داده شده توسط محققین از هفت جفت پراپمر مورد استفاده در این مطالعه دیده شد. به طوری که تاکید این محصولات واکنش با پراپمر PCR ۷۱/۴٪
در کل تعداد 7 زنوتیپ در بین 42 نمونه مورد مطالعه دیده شد. زنوتیپهای LmV Na تا LmV مکزی ایران و زنوتیپ های LmV نیز به طور انحرافی در منطقه اندمیک استان سمنان مشاهده گردید. در حالی که Зنوتیپ LmVI به طور مشترک در مناطق مراکز ایران با مناطق غربی و جنوب غربی ایران دیده شد.

بحث
در سال های اخیر روش های مکلکی منسوی برای تعبیر سومهای مختلف انگل لیشمانیا توسط محققین مورد استفاده قرار گرفته است. در این مطالعه از مکلکی ماکروستلاپتای Leishmania tropica براساس مکلکی ماکروستلاپتای Leishmania و همکاران در زمینه بررسی گونه لیشمانیا ماکروستلاپتای، نوع Sequencing and ITS–SSCP با روش های major نویایه ماکروستلاپتای را در نمونه های مورد بررسی در این گونه نشان داد [15].

ب- بر اساس نتایج این تحقیق 7 زنوتیپ مختلف در بین نمونه های مورد بررسی دیده شده که این نتایج در راستای گزارشات محققین قبلی می باشد. مطالعات همکاران، نشان دهنده این نمونه ماکروستلاپتای را با به گزارش گری بررسی از روش های مختلف مکلکی لیپومروفیسک در نمونه های لیشمانیا ماکروستلاپتای جمع آوری شده از مناطق آسیای مرکزی، خاورمیانه و افروپا با گزارش نمودند [28].
در ارتباط با نوع در ابزارهای لیشمنیا مازور در ایران بر اساس اطلاعات نوبندگان سه گزارش وجود دارد که هر سه مطالعه دالات و وجود نوع در ابزارهای این گونه دارد. حامی و همکاران و تشریح و همکاران با به کارگیری بررسی ابزارهای تکنیک ITS-SSCP گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

در مجموع با این روش هفته زنودیپ مختلف در بین ابزارهای مورد مطالعه مشابهی شد. هنگامی که نشان دهنده توانایی ابزارهای هوشمند و همکاری در آن، می‌تواند باعث نزدیک‌کننده‌ی محاسباتی در آن راستا برای بهبود سایر اسکالر اطلاعات دقت‌تر در مطالعات بعدی نتایج زیر توجه قرار گیرد:

1- در ابزارهای لیشمنیا مازور از کلیه نواحی لیشمنیوز پوستی نوع روستایی در ایران شامل بعضی از مناطق استان کرمان و خراسان.
2- بررسی تعداد نمونه پیشتر از مناطق مورد مطالعه از جمله استان‌های سمنان و ایلام.
3- تعبیر تعداد توانایی تکراری مارکرهای مورد مطالعه به منظور رسم Phenetic Tree

References


[4] Tashakori M, Ajadi S, Kariminia A, Mahboudi F, Alimohammadian MH. Characterization of Leishmania species and L Major strains in different endemic areas of

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 15:52 +0430 on Tuesday August 20th 2019


Detection of Polymorphism within *L. major* isolates Collected from Iranian Patients Suffering from Cutaneous Leishmaniasis by Microsatellite Markers

M. Tashakori PhD¹, A. Al-Jawabreh PhD², M.H. Alimohammadian PhD³, I. Sharifi PhD⁴, M. Rezaeian PhD⁵, F. Mohseni Moqhadam MD⁶

Received: 22/04/07 Sent for Revision: 26/09/07 Received Revised Manuscript: 10/10/07 Accepted: 11/11/07

**Background and Objective:** Protozoan parasites of *Leishmania major* is one of the causative agents of cutaneous leishmaniasis in different parts of Iran. Currently different molecular biology tools based on different polymorphic DNA sequences have been used in order to investigate heterogeneity among different *Leishmania* species. Multilocus microsatellite typing method (MLMT) is one of these interesting techniques that we applied to analyze *leishmania major* parasites collected from different endemic parts of zoonotic cutaneous Leishmaniasis (ZCL) in Iran.

**Materials and Methods:** In this laboratory study, twenty-four *leishmania major* parasites collected from patients suffered from cutaneous leishmaniasis in different parts of Iran were investigated using MLMT method for the first time in Iran. The isolates were amplified by seven different designed primers for microsatellite markers and then analysed after running on polyacrylamide gel electrophoresis for detection of polymorphism among these isolates.

**Results:** PCR products of 24 isolates using six microsatellite markers revealed polymorphic pattern, whereas monomorphic profile was observed with only one primer. Totally, seven different genotypes were demonstrated among studied isolates. Based on our results different genotypes were detected within *leishmania major* isolates collected from endemic areas of ZCL in Esfahan, Semnan and Tehran provinces, although only one genotype was observed in the studied isolated obtained from Khuzestan and Ilam foci.

**Conclusion:** Overall, seven different genotypes were identified based on MLMT in studied *Leishmania major* isolates in different endemic areas of ZCL in Iran. Based on our finding We suggest that MLMT can utilised as a reliable method for detection of polymorphism within *Leishmania major* species.

**Key words:** Multilocus Microsatellite Typing, *Leishmania major*, polymorphism

**Funding:** This research was funded by Institute of Microbiology and Hygiene Charity University Berlin, Germany.

**Conflict of interest:** None declared.

**Ethical approval:** The Ethics Committee of Institute of Microbiology and Hygiene Charity University Berlin approved the study.

---

1- Assistant Prof., Dept. of Laboratory Sciences, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran  
   (Corresponding Author) Tel:(0391) 8220001, Fax: (0391) 8220022, E-mail: m_tashakori44@yahoo.com
2- Assistant Prof., Islah Medical Laboratory, Islah Charitable Social Society, Jericho, Palestine
3- Prof., Dept. of Immunology, Pasteur Institute of Iran
4- Prof., Dept. of Parasitology, Leishmania Research Center, University of Medical Sciences, Kerman, Iran
5- Associate Prof., Dept. of Social Medicine, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
6- Academic Member, Dept. of Basic Science, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran