مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشكي رفسنجان
دوره یازدهم، آذر و دي ۱۳۹۱، ۴۸۸-۴۸۱

تهیه زایموزان از دیواره سلولی کاندیدا آلبیکنس

سیدمهدی موسوی[۱]، شهلا رودبارمحمدی[۲]، زهیر حسن‌صراف[۳]، محمدحسین یادگاری[۴]، علیرضا خسروی[۵]

دریافت مقاله: ۹۰/۱/۲۸ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۰/۳/۳۰ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۰/۱۰/۲۸ پذیرش مقاله: ۹۱/۲/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: زایموزان به بخشی از دیواره سلولی مخمر اطلاق می‌شود که واجد برخی ویژگی‌های ایمونومدولاتوری مانند تحریک‌کنندگی فاگوسیتوزیس و سیستم رتیکوآندوتلیال است. اخیراً زایموزان موضوع بررسی‌های کلینیکی متنوعی بوده است، هدف از انجام این بررسی یافتن روشی سریع و جدید برای جداسازی زایموزان از دیواه سلولی کاندیدا آلبیکنس است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی ابتدا مخمر کاندیدا آلبیکنس پس از کشت، جمع‌آوری گردید. دیواره سلولی مخمر بعد از شکستن، سانتریفیوژ و شستشوی مکرر در Na2Po4 به صورت سوسپانسیون ۵٪ در آمد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۳ ساعت در آب جوش قرار گرفت و با آب و الکل مطلق شسته شد. در انتها محصول به دست آمده به صورت پودر لیوفیلیزه درآمد. برای تأیید تخلیص از تست‌های توقف کمپلمان و SDS-PAGE LAL استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که فراکشن زایموزان حدوداً معادل ۱/۸٪ وزن خشک مخمر اولیه بود. این فراکشن توانایی توقف کمپلمان را داشت. نتایج تست L.A.L مؤید وجود بخش پلی‌ساکاریدی گلوکان بود. همچنین در الکتروفورز باند زایموزان- پروتئین مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که روش به کار رفته روشی سریع و مفید برای دستیابی به زایموزان از دیواره سلولی کاندیدا آلبیکنس است. با توجه به نتایج تست کمپلمان، زایموزان جدا شده ویژگی‌های بیولوژیک خود را حفظ کرده است.

واژه‌های کلیدی: زایموزان، کاندیدا آلبیکنس، دیواره سلولی مخمر

۱- (نویسنده مسئول) دانشجوی دکترای قارچ شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی ، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران
۲- استادیار گروه آموزشی قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران
تلفن: ۸۸۰۲۶۸۹۸-۰۲۱، دورنگار: ۸۲۸۸۴۵۵۵-۰۲۱، پست الکترونیکی: smmosavi1078@yahoo.com
۳- استاد گروه آموزشی ایمنولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران
۴- دانشیار گروه آموزشی قارچ شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران
۵- استاد گروه آموزشی پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران

مقدمه

امروزه استفاده از مواد و عناصر با منشأ طبیعی در درمان، پیش‌گیری و یا کند کردن سیر بیماری و بهبود و تقویت توان دفاعی میزبان از اهمیت بسزایی برخوردار است، در دهه‌های اخیر با توجه به تغییر شیوه زندگی انسان (مانند استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف، بیماری‌ها و اختلالات نقص ایمنی مانند ایدز و بیماری‌های اتو ایمیون، دیابت کنترل نشده، استرس، استفاده از داروهای سیتو توکسیک، پرتودرمانی ...) ابتلا به عفونت‌ها افزایش یافته است [۱].

از طرفی، مقاومت عوامل بیماری‌زا، طولانی بودن دوره درمانی، هزینه سنگین برخی داروها و بروز عوارض جانبی و واکنش‌های ناخواسته آنها، محققین را ترغیب به مطالعه و یافتن داروها و یا عوامل مؤثر جایگزین به ویژه از گیاهان دارویی و یا عناصری با منشأ طبیعی کرده است. از آن جا که مواد طبیعی از عوارض جانبی کمتری برخوردارند و مقبولیت استفاده عمومی دارند[۲] نیاز روز افزون به یافتن، و استخراج و تخلیص مناسب آنها یک ضرورت تحقیقاتی است.

مخمر کاندیدا آلبیکنس با توجه به برخی اجزای دیواره سلولی‌اش می‌تواند یکی ازمیکروارگانیسم‌های مناسب جهت استخراج عوامل ایمنو مدولاتوری باشد. دیواره سلولی کاندیدا آلبیکنس مرز بین این قارچ و محیط اطراف بوده و دارای ساختاری است که بسیاری از اعمال بیولوژیک ضروری قارچ را انجام می‌دهد. همچنین منبع عمده آنتی‌ژن‌های کاندیدا می‌باشد، این آنتی‌ژن‌ها پروتئینی و یا گلیکو پروتئینی می‌باشند که برخی قادرند پاسخ ایمنی را تحریک نمایند [۳].

زایموزان یک ترکیب غیر محلول دیواره سلولی مخمر با ساختاری مرکب از گلوکان در اتصال به پروتئین است که اولین بار این نام به فراکشن مخمری (ساکارورومیسس سرویسه) داده شد که واجد خواص ایمنولوژیک ویژه‌ای بود که می‌توانست کمپلمان را غیرفعال نماید [۴]. در اواخر دهه ۱۹۸۰ محققین دانشگاه هاروارد نحوه فعالیت بتا گلوکان (ماده مؤثر زایموزان) در تحریک سیستم ایمنی را توصیف کردند. گیرنده خاصی برای بتا گلوکان در سطح برخی از سلول‌ها نظیر ماکروفاژها وجود دارد که فعال شدن آن آبشاری از وقایع ایمنولوژیک را به‌دنبال دارد و به افزایش ایمنی می‌انجامد [۵]. با توجه به مطالعات ذکر شده و سایر بررسی‌ها گروه‌هایی وجود دارند که می‌توانند مزایای بیشتری از این فرآورده بیولوژیک دیواره سلولی مخمری ببرند. برای مثال افراد دارای نقص ایمنی، مبتلایان به عفونت‌های مکرر، مبتلایان به انواع تومورها، در موارد کاهش فعالیت سیستم ایمنی ناشی از افزایش سن، در بیماری‌های ژنتیکی و در سرکوب ایمنی. همچنین افرادی که در معرض رادیکال‌های آزاد بیشتر یا دوزهای پایین اشعه قرار می‌گیرند و کسانی که تولید رادیکال‌های آزاد در آنها بیشتر ناشی از ابتلاء به بیماری‌های مزمنی نظیر دیابت یا التهاب‌های مزمن است و کسانی که تحت تأثیر استرس قرار دارند نیز از گروه‌های پیشنهادی جهت دریافت این فراکشن هستند. در نهایت افراد در معرض آرترواسکلروزیس نیز با توجه به ویژگی‌های آنتی‌کلسترولی زایموزان می‌توانند از آن بهرمند گردند [۶]. در مطالعه‌ای پیشنهاد شده است که می‌توان از زایموزان برای درمان دیابت استفاده کرد زیرا حتی تجویز دوز واحد آن در موش‌های مبتلا به دیابت، باعث سرکوب (با افزایش $Foxp3^{+}$T-reg) چشم‌گیر بیماری شده بود [۷]. فعالیت

ماکروفاژها به عنوان یک بازوی سیستم دفاعی همواره جهت حذف بیماری‌های قارچی مد نظر محققین قارچ‌شناسی پزشکی بوده است. لذا هدف مطالعه حاضر یافتن روشی سریع (در مقایسه با ساکرومیسس سرویسه) جهت دستیابی به زایموزان از دیواره سلولی مخمر کاندیدا آلبیکنس است که با طی مراحل کمتر بتوان به این ماده دارای خواص متعدد ایمونومدولاتوری دست یافت و از آن جهت تحریک سیستم ایمنی (به ویژه ایمنی غیراختصاصی) و یا به صورت ادجوانت استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

سوش قارچی: در این مطالعه آزمایشگاهی ابتدا مخمر کاندیدا آلبیکنس [سوش استاندارد (ATCC:1032)] با رعایت شرایط استریل بر روی محیط سابورودکستروز آگار و کلرامفنیکل کشت داده شد و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از ۴۸ ساعت مخمرها رشد کردند و از آن به تعداد ۱×۱۰^{۶} به محیط Glucose Yeast Extract Peptone (GYEP) منتقل شد تا به فاز رشد لگاریتمی برسد.

کشت انبوه کاندیدا آلبیکنس: به این منظور از محیط GYEP همراه با آنتی‌بیوتیک‌های مورد نیاز (پنی‌سیلین، استرپتومایسین و کلرامفینکل) استفاده شد. پپتون به صورت محلول در اتو کلاو استریل شد. عصاره مخمر و گلوکز بعد ازحل شدن در آب مقطر با استفاده از فیلتر (۰/۲ میکرومتر) استریل شدند. مقدار ۲۰۰۰ میلی‌لیتر از این محیط تهیه و در ۴ ارلن استریل تقسیم شد. سوسپانسیونی از نمونه کاندیدا آلبیکنس مورد مطالعه به میزان ۱×۱۰^{۶} سلول در هر میلی‌لیتر و به مقدار ۸ میلی‌لیتر تهیه شده و از این سوسپانسیون ۲ میلی‌لیتر به هر یک از ارلن‌ها اضافه گردید. سپس ارلن‌ها به انکوباتور شیکردار با دور ۱۰۰ در دقیقه منتقل و در درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ سا عت نگهداری شدند. پس از ۴۸ ساعت نمونه با بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار و با استفاده از سانتریفیوژ یخچالدار (۸۰۰ دور در دقیقه) سه مرتبه شسته و جمع‌آوری گردید.

جداسازی دیواره سلولی: به منظور جداسازی دیواره سلولی از روش Casavana استفاده شد. ابتدا زیر هود و تحت شرایط استریل، سلول‌های مخمری شسته شده کاندیدا آلبیکنس درون لوله در پیچ‌دار استریل با حجم مشخصی از بافر لایزیس (حاوی: ۲/۳گرم SDS- ۵ میلی‌لیتر ۲، مرکاپتواتانول و ۱۰۰ میلی‌لیتر PBS ۱۰ میلی‌مولار) مخلوط و به میزان نصف حجم بافر پرل شیشه‌ای استریل به آن افزوده شد. سپس آنتی‌پروتئاز Phenyl Methan Sulfonyl Fluoride (PMSF) (۰/۰۰۱ مولار) که درون اپندورف ۰/۵ با الکل ۷۰٪ حل شده بود به منظور جلوگیری از تخریب پروتئین‌های آزاد شده (ضمن شکستن دیواره سلولی) به مخلوط اضافه شد. در این مرحله، محتویات لوله ورتکس شده و شکسته شدن سلول‌های مخمری با میکروسکوپ نوری تأیید گردید. پس از هر بار ورتکس، حدود ۳۰ ثانیه لوله محتوی مخمر درون بشر حاوی یخ قرار می‌گرفت. پس از شکسته شدن دیواره سلولی، سلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد از جداسازی پرل شیشه‌ای عصاره مخمری به مدت ۵ دقیقه در آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد و سپس در ظرف حاوی یخ قرار گرفت. لوله‌های حاوی سوسپانسیون سلولی مجدداً به مدت ۵ دقیقه به کمک ورتکس مخلوط شده و سپس سوسپانسیون به مدت ۱۵دقیقه (۱۵۰۰۰ دور در دقیقه)

در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. در انتها مایع‌رویی دیالیز گردید [۸].

تعیین غلظت پروتئین به روش برادفورد: به این منظور از رنگ کوماسی بریلیانت بلو (G25o) استفاده شد و برای تهیه نمونه استاندارد از آلبومین سرم گاوی (BSA) با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده گردید. دانسیته‌های نوری مربوطه با دستگاه الایزا ریدر (طول موج ۵۹۰nm) قرائت شد [۹].

تخلیص زایموزان: ابتدا سوسپانسیون دیواره سلولی ۵-۳ بار با مقادیر کافی آب (با استفاده از همزن حاوی آهن‌ربا به مدت ۱۵ دقیقه) شسته شده تا این که سوپرناتانت (مایع شفاف فوقانی حاصل از سانتریفیوژ) شفافی حاصل شد. رسوب به دست آمده در Na2Hpo4 (دی سدیم هیدروژن فسفات) (یک مولار) به صورت سوسپانسیون ۵٪ حل شد و بعد از ۳ ساعت جوشاندن، در حالی که هنوز سوسپانسیون گرم بود سانتریفوژ (در دور ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه) شد. سپس رسوب در آب حل شده و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر قرار گرفت.

سوسپانسیون سانتریفوژ شده مجدداً در آب حل گردیده و به مدت یک ساعت در بن ماری قرار گرفت (حرارت جوش). این عملیات تا حصول به سوپرناتانت (مایع شفاف فوقانی حاصل از سانتریفیوژ) شفاف تکرار گردید و رسوب حاصل در حالت انجماد به صورت پودر خشک (Freeze Dried) درآمد. در این مرحله به رسوب پودر شده، اتانول مطلق سرد اضافه شد تا سوسپانسیونی ۵٪ ایجاد گردید و بعد از قرار دادن آن روی شیکر، رسوب حاصل (پس از سانتریفوژ) در اتانول مطلق سرد حل شد به طوری که سوسپانسیونی ۲۰٪ به دست آمد که آن را پس از ۳ ساعت سانتریفوژ کرده و رسوب حاصل مجدداً به صورت پودر خشک در آمد[۴].

تعیین وزن مولکولی محصول به‌دست آمده (الکتروفورز در ژل پلی‌آکریل آمید درحضور سدیم دو دوسیل سولفات (SDS-PAGE)): جهت تعیین وزن ملکولی زایموزان از ژل جداکننده ۱۰٪ و ژل متراکم‌کننده ۴٪ تحت شرایط احیایی استفاده شد. میزان ۴۰ میکرولیتر از نمونه با ۱۰ میکرولیتر از بافر نمونه (۵x) مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در آب جوش قرار داده شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از نمونه درون چاهک ژل قرار گرفت و در ولتاژ ثابت تفکیک انجام شد. پس از اتمام الکتروفورز، ژل با رنگ کوماسی بلو G-۲۵۰ رنگ‌آمیزی شد و برای تعیین وزن ملکولی از مارکر استاندارد استفاده گردید [۱۰].

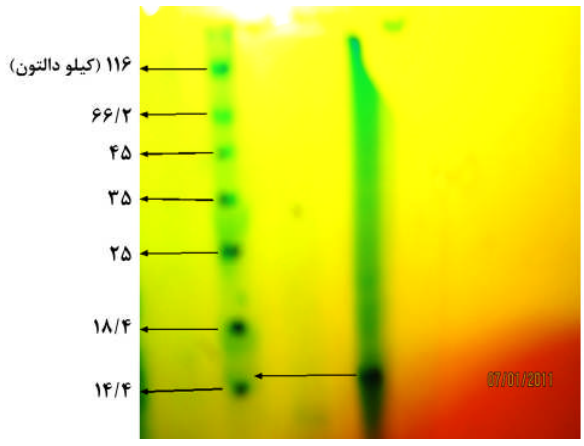
تست توقف کمپلمان: جهت بررسی فعالیت بیولوژیکی محصول (زایموزان)، تست قابلیت مهار کمپلمان انجام شد. ممانعت از لیز گلبول قرمز و مها ر کمپلمان در غلظت‌های مختلف (۴-۲-۱-۰/۵ میلی‌گرم) بررسی گردید. به این ترتیب که زایموزان در مقادیر فوق در ترکیب با ۱ میلی‌گرم کمپلمان و آنتی‌بادی جهت توانایی ممانعت از لیز اریتروسیت‌های گوسفندی مورد بررسی قرار گرفت. در شرایط طبیعی ترکیب آنتی‌بادی- کمپلمان- اریتروسیت منجر به لیز گلبول‌های قرمز می‌گردد [۱۱].

تست LAL (Limulus Amebocyte Lysate): اساس این تست بر مبنای انعقاد ژل است. بدین صورت که در صورت وجود زایموزان در محصول استخراج شده، ژل مورد نظر منعقد شده و رنگ آبی ایجاد می‌گردد و در صورت عدم وجود آن، ژل منعقد نشده و تغییر رنگی مشاهده نمی‌شود. حساسیت کیت مورد استفاده Eu/ml (میلی‌لیتر/ واحد سم داخلی) ۰/۱۲۵ بود (با استفاده از متد Gel/clot) نمونه در

یک میلی لیتر L.R.W ۱ (LAL Reagent WATER) حل گردید. سپس مقدار ۲۵۰ لاندا از نمونه روی ویال‌های کیت ریخته شد و پس از شیک (تکان دادن) به مدت یک ساعت در حالت بدون حرکت در انکوباتور با دمای متوسط ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و در این مرحله از نظر تشکیل ژل مورد بررسی قرار گرفت. دو نمونه مثبت و منفی نیز به عنوان کنترل گذاشته شد (نمونه منفی L.R.W و نمونه مثبت اندوتوکسین استاندارد Ecoli) که نتایج مثبت و منفی همزمان قرائت گردید [۱۲].

نتایج

پس از اتمام فرآیند جداسازی و تخلیص، محصول نهایی زایموزان در حدود ۱/۸٪ وزن خشک مخمر اولیه به دست آمد. این فراکشن توانایی توقف کمپلمان در همه غلظت‌های به کار رفته را داشت (که یکی از ویژگی‌های بیولوژیک زایموزان است). همچنین تغییر رنگ ژل در تست L.A.L مؤید وجود بخش پلی‌ساکاریدی گلوکان بود. باند زایموزان (گلوکان در اتصال به پروتئین) در الکتروفورز (SDS-PAGE) دیده شد (شکل ۱).



شکل ۱- باند زایموزان در مقایسه با مارکر در ژل پلی‌آکریل‌آمید در حضور سدیم دو دوسیل سولفات

بحث

نتایج این بررسی نشان داد که با استفاده از روش استفاده شده در این مطالعه می‌توان مراحل تخلیص را در مقایسه با ساکارومیسس سرویسه (تقریباً به نصف) کاهش داد و به حجم بیشتری از محصول رسید. در مطالعات گذشته با استفاده از سلول تام مخمرساکارومیسس، پروتکل دارای ۴۴ مرحله بود. بنابراین با استفاده از سلول‌های شکسته شده کاندیدا و تخلیص دیواره سلولی و سپس استخراج زایموزان از آن می‌توان بسیاری از مراحل را کاهش داد. طولانی بودن روند تخلیص همواره احتمال آلودگی میکروبی کشت‌های مورد استفاده را افزایش می‌دهد [۴].

بررسی‌های متعددی نشان داده، زایموزان یک فعال‌کننده سیستم ایمنی است که می‌تواند نقش تنظیم‌کننده بیولوژیکی سیستم دفاعی را نیز داشته باشد و حتی از آن می‌توان به عنوان ادجوانت (یاور) استفاده کرد [۱۳] زایموزان توان تحریک سلول‌های دندتیک را نیز دارد [۱۴].

زایموزان با تأثیر در آزاد شدن سیتوکان‌های تیپ Th1 نظیر IL-1 و IL-2 در فعال شدن لنفوسیت‌های T، clony-stimuliting factor و تولید مغز استخوان نقش دارد. اینترلوکین ۱ و ۲ از ایمنومدولاتورهای آندوژن می‌باشند که برای ایجاد پاسخ مؤثر ایمنی لازم هستند. در مطالعه‌ای، ترشح اینترلوکین ۱ و ۲ طحال و پلاسما پس از مصرف گلوکان در موش صحرایی، طی ۱۲ روز تا یک ساعت قبل از خون‌گیری و خارج کردن طحال اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که گلوکان باعث افزایش مؤثر این

سایتوکاین‌ها و در نتیجه فعال شدن لنفوسیت‌های T وcolony stimulating factor می‌شود [۱۵].

لازم به ذکراست که در تمامی مطالعات فوق از زایموزان تجاری ساکارومیسس سرویسه استفاده شده است.

لذا با تخلیص مناسب، بومی و بهینه زایموزان کاندیدا آلبیکنس می‌توان حداقل به مدت سه سال آن را در دمای ۸-۲ درجه نگهداری کرد و با توجه به اقبال روزافزون به فرآوده‌های بیولوژیک با منشاء طبیعی، مکمل‌های غذایی مطمئن و نتایج فوق‌العاده زایموزان در موارد مناسب از آن استفاده کرد. کاندیدا آلبیکنس قارچی سهل‌الوصول بوده که به راحتی می‌توان آن را در حجم انبوه تولید کرد و با شکستن دیواره سلولی (با استفاده از تکنیک به کار رفته در این مطالعه) مراحل تخلیص را کاهش داد که این موضوع هم در کاهش هزینه تولید زایموزان طبیعی مؤثر است و هم خطر آلودگی کاندیدا به میکروارگانیسم‌های دیگر را در حین عصاره‌گیری تقلیل می‌دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد که می‌توان مراحل تخلیص این فراکشن را (در مقایسه با ساکارومیسس سرویسه) به نصف تقلیل داد (تعداد مراحل ۲۰ مورد است)، بنابراین روش به کار رفته در این مطالعه برای تهیه زایموزان طبیعی از دیواره سلولی مخمر کاندیدا آلبیکنس مناسب است. زایموزان پس از استخراج خواص بیولوژیک خود را نیز حفظ می‌کند.

تشکر و قدردانی

از کلیه عزیزانی که در انجام این طرح همکاری نمودند، تشکر بعمل می‌آید.

References

[1] Anaissie EJ, Mc Ginnnis MR, Pfaller MA. Clinical Mycology. 1 th ed, churchill livingstone. 2003; 3-16

[2] Wasser SP. Medicinal mushroom science, history, current status, future trends and unsolved prolems. *Int J MedMuhr* 2010; 12: 1-16.

[3] Ripon JW. Medical Mycology. 3th ed .Saunders Company. 1998; pp: 520-1.

[4] Holan Z, Beran K, Miller I. Preparation of zymosan from yeast cell walls. *Folia Microbiol* 1980; 25(6): 501-4.

[5] Czop JK, Auston KF. A beta- glocan inhibitable reseptor on human monocytes:its identity with the phagocytic receptor for particulat activators of the complement pathway. *J Immunal* 1985; 134(4): 2588-93.

[6] Akramien D. Effects of beta- glucan on the immune system. *Medicina kaunas* 2007; 43(8): 597-606.

[7] Christiana N. Zymosan Zaps Diabetes. *J Immunol* 2010; 185(5): 2641-2.

[8] Cassone A. Cell wall of Candida albicans: its functions and its impact on the host. *Curr Top Med Mycol* 1989; 3: 248-314.

[9] Bredford MM. A rapid and sensitive for the quantitation micrograme of protien utilizing the principle of pritein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 1970; 72: 248-54.

[10] Shapiro AL. Molecular weight estimation of polypetide chain by electrophroesis in SDS-polysacrylamide gels. *Biochem Biophys Res Common* 1967; 28(5): 815-20

[11] Smith MC, Pensky J.Inhibition of lymozan induced alternativ complement pathway activation by concavalin A. *Infect Immun* 1982; 38(3): 1279-84.

[12] Seo SC, Reponen T, Levin L, Grinshpun SA. Size-fractionated (1-3)-beta-D-glucan concentrations aerosolized from different moldy building materials. *Sci Total Environ* 2009; 407(2):806-14.

[13] Akira A,Takeshi I,Shin T, Takeshi K. Zymosan Enhances The Mucosal Activity of Poly(I:C)In A Nasal Influenza Vaccne. *J Med Virology* 2010; 82: 476-84.

[14] Alvarez Y,Valera I, Municio C, Hugo E, Padron F, Blanco L, et al. Eicosanoids in the innate immune response: TLR and non-TLR routes.mediators Inflamm. 2010; 2: 45-7. (2010; pii: 201929. Eupub 2010)

[15] Sherwood E. Enhancement of interleukin-1 and interleukin-2 production by soluble glucan. *Int J Immumopharmacol* 1987; 9(3): 261-7.

Preparation of Zymosan from Candida Albicans Cell Wall

S.M. Moosavi[1], Sh. Roodbar Mohammadi[2], Z.H. Saraf[3], M.H. Yadegari[4], A.R. Khosravi[5]

Received: 17/04/2011 Sent for Revision: 20/06/2011 Received Revised Manuscript: 18/01/2012 Accepted: 14/05/2012

Background and Objectives: Zymosan is the name given to a yeast cell wall fraction having the specific immunomodulatoryl property ,e.g stimulation of phagocytosis and reticuloendothelial system. Interest in this fraction is derived from positive results of zymosan administration. Recently zymosan has been used more fragmentaly in various clinical investigation, for example in transplantation and autoimmunity disease.
Our aim was to find a rapid and new procedure for isolation of zymosan from candida abicans cell wall.

Materials and Methods: In this laboratory study, Candida albicans was cultured on *GYEP Yeast* and harvested,then Cell wall of the yeast candida albicans after disintegration, centrifugation and repeat washing were suspended in 0.5m Na2Hpo4, as a %5 of suspension. The suspension was boiled for 3h, purified by repeated washing with water and ethanol. Finaly the product was freeze deried. Zymosan purification was confirmed using complement fixation test, LAL test and SDS-PAGE.

Results: The yield of zymosan was about 1.8 percent of original yeast by dry weight .This yeast fraction had property of inactivating the complement. Result of L.A.L test have demonstrated that zymosan product had glucan. also zymosan bound was deteced.

Conclusion: This study suggested that this method is fast and usefull (in comparison to Saccharomyces Cervisiae) for preparation of zymosan from candida albians cell wall. Regarding to the results of complement fixtion test, the zymosan was preserved its biological properties.

Key words: Zymosan, Candida Albicans, Cell wall

Funding: This research was funded by Tarbiat Modarres University.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Tarbiat Modarres University approved this study.

How to cite this article: Moosavi SM, Roodbar Mohammadi Sh, Saraf ZH, Yadegari MH, Khosravi AR. Preparation of Zymosan from Candida Albicans Cell Wall. *J Rafsanjan Univ Med Scie* 2012; 11(5): 481-8. [Farsi]

1-Medical Mycology Faculty of Medicin, Tarbiat Modares Tehran, Iran
2- Assistant Prof, Dept.of Mycology, Tarbiat Modares Tehran, Iran
(Corresponding Author) (021) 88026898, Fax:(021) 82884555, E-mail: smmosavi1078@yahoo.com
3- Prof, Dept. of Imonology, Facult, of Medicin, Tarbiat Modares, Iran
4- Assistant Prof, Dept.of Mycology, Facult, of Medicin, Tarbiat Modares, Iran
5- Assistant Prof, Dept. of Patology, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran, Iran