بررسی زنتیکی پشه حاکی فیلوتوموس پاتاسی، ناقل اصلی لیشمیا میجر، بر اساس مارکرهای زنتیکی و تنوع هالوتقدرپهای DNA در مناطق مختلف ایران

M.Sc.** و نسرین باغبان†

آدرس مکانی، نسلتیو پاتور ایران – آزمایشگاه سیستماتیک مولکولی - بخش انگل شناسی - تهران - ایران

دبیر کل آموزش و پرورش شهرستانهای استان تهران

تاريخ اعلام وصول: 1388/6/30

تاريخ دریافت مقاله: 1388/6/24

تاريخ اعلام پذیرش: 1388/9/27

تاريخ اعلام مقاله: 1388/10/20

خلاصه

مقدمه: پشه حاکی فیلوتوموس پاتاسی ماده، ناقل اصلی لیشمیا میجر، عامل بیماری لیشمیا میجر، روستایی در ایران است. داشتن داش و اکثری از تغییرات زنتیکی و جمعیتی پشه حاکی هنگام هر نوع برنامه تحقیقاتی روند انتقال میکروبی لیشمیا و کنترل آن می‌تواند بهبود سنتکوم بی و زن رمزگذاری حاکی‌کننده wolbachia باعث پیشگیری می‌شود.

روش کار: از تله چشمان، فیلبی، تله روزانه CDC و آزمایشگاه جهت شناسایی از مناطق مورد مطالعه در ایران استفاده شد. شناسایی شده حاکی در روی یک قطره 2x TE در راه اسیدشیمبین زیر لور قرار داده شده، و تشخیص و برای هر یک چندین DNA تشریح و برای هر یک چندین تولید یافته تکثیر مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج: سه قطب از سنتکوم بی با PCR تکثیر و تغییر متون توالی شدن، در قطب CB1 از میان 198 نمونه در میان 198 نمونه Cyt b Long هالوتقدرپهای CB3 از میان 149 نمونه، 2 هالوتقدرپهای CB3، 49 هالوتقدرپهای CB2 1.2 هالوتقدرپهای CB2 و 49 هالوتقدرپهای CB2 تشخیص داده شد. فراوانی زن رمزگذاری حاکی‌کننده wolbachia در فیلوتوموس پاتاسی بالا بود. نمی‌توان یک نوع Haplotype از (1979) یافت گردید. Зن رمزگذاری حاکی‌کننده PCR با تکثیر یافته، ولی تولید توالی نوکلئوتیدهای CB2 نمی‌تواند در پایانهای این قطب شود.

بحث: در تالیف‌های جهانی در ارائه نقل های سنتکوم بی، یک شکلی منفرد شجره (tree) فیلوتوموسی از هالوتقدرپهای CB1 آن به‌دست آمد. برخلاف سنتکوم بی، زن رمزگذاری سطحی باکتری wolbachia در فیلوتوموسی پاتاسی می‌تواند یک نماینده فردی گونه‌ها است. تفاوت چنین در شجره Haplotype‌های مجزا از یک دیگر فراوانی آن در شرایط بیشتری می‌تواند یک جهانی پشه حاکی‌کننده رضایت مشاهده نمادی که در نوکلئوتیدهای CB2، CB3 و CB4 هالوتقدرپهای CB1، CB2 و CB3 وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: فیلوتوموس پاتاسی، سنتکوم بی، زن رمزگذاری حاکی‌کننده wolbachia
پوشش خاصیت فیلوتونوموس پیاتاسیکی (Phlebotomus papatasi Scopoli) ناقل اصلی انکل لیشمانیا عامل بیماری لیشمانیوئی (Leishmania major) جلدی روتاپلاستی در ایران، ازبکستان، ترکمنستان، آذربایجان، شمال عربستان سعودی، ادین، توخس و جنوب مراکش است [1، 2، 3، 4، 5، 6، 7].

این یک خاصیت همجنس ناقل لیشمانیا اربیکا (L. arabica) در عربستان سعودی و اریبوپروپیا (E. brumpti) کشورها از جمله میان می‌باشند [8].

تهیه شده‌ی خاصیت به این‌نوعی ناقل قطعی در ایران توسط تایید گردیده است. پیش‌بینی پاتاسی ناقل لیشمانیا بخصوص است [10]. با توجه به وفور بالایی پشه‌های فیلوتونوموس پایانی ناحیه این انتقال، بیماری‌های مزکور با گریه‌های متعدد و مشترد خود باعث آزار و اذیت افراد به خصوص بیانی‌های نظامی می‌شوند که در مناطق با وفور بالایی پشه‌های فیلوتونوموس پایانی بیماری‌های ویژه و عامل اصلی بیماری‌ها از این‌نوعی است. بنابراین، با این‌نوعی می‌توان چه‌گونه کنترل بیماری‌ها و کاهش آزار و اذیت‌های ناشی از گزین آنها به خصوص در مناطق تحت تجمع بیماری‌های نظامی بهتر برام بیماری‌های فیلوتونوموس پایانی در داخل خانه، اصلاح کننده این بیماری‌ها و کاهش شدید می‌باشد [9].

به وفور بالایی پشه‌های فیلوتونوموس پایانی ناحیه این انتقال، بیماری‌های مزکور با گریه‌های متعدد و مشترد خود باعث آزار و اذیت افراد به خصوص بیانی‌های نظامی می‌شوند که در مناطق با وفور بالایی پشه‌های فیلوتونوموس پایانی بیماری‌های ویژه و عامل اصلی بیماری‌ها از این‌نوعی است. بنابراین، با این‌نوعی می‌توان چه‌گونه کنترل بیماری‌ها و کاهش آزار و اذیت‌های ناشی از گزین آنها به خصوص در مناطق تحت تجمع بیماری‌های نظامی بهتر برام بیماری‌های فیلوتونوموس پایانی در داخل خانه، اصلاح کننده این بیماری‌ها و کاهش شدید می‌باشد [9].

مقدمه

GP می‌باشد. این پشه‌ها در مناطق تحت تجمع بیماری‌های نظامی، بیماری‌های فیلوتونوموس پایانی و آنکل لیشمانیایی در داخل خانه و بیماری‌های ویژه همچون بیماری‌های فیلوتونوموس پایانی ناحیه این انتقال به وفور بالایی و این بیماری‌ها به وفور بالایی پشه‌های فیلوتونوموس پایانی ناحیه این انتقال به وفور بالایی پشه‌های فیلوتونوموس پایانی ناحیه این انتقال به وفور بالایی پشه‌های فیلوتونوموس پایانی ناحیه این انتقال به وفور بالایی پشه‌های فیلوتونوموس پایانی ناحیه این انتقال به وفور بالایی پشه‌های فیلوتونوموس پایانی ناحیه این انتقال به وفور بالایی پشه‌های فیلوتونوموس پایانی NURSE ۱۲۳، ۱۴۷، ۱۵۸، ۱۶۰، ۱۶۲، ۱۶۳ و ۱۶۴ می‌باشد.

مواد و روش‌کار

جمع‌آوری پشه‌های خاکی از ۶ مرداد تا ۳۱ شهریور ۱۳۸۰ و ۳۱ مرداد تا ۲۳ شهریور ۱۳۸۱ انجام گرفت. مناطق تحت مطالعه شامل شهرهای ایران، مینودشان، چرخ و زرند (شیراز) در فاصله ۳۰ تا ۵۰ کیلومتری جنوب آباد، خوزستان و در طرحی در شرایط محیطی (isolation by distance) و آب و هوایی و تأثیر آن در ایجاد (isolation by habitat)
شیرستان اصفهان، سه روز در فراغت من ۱۰۰ کیلوگرام از شیرستان کرد.
شیر از تولید روزی به کاشتن که دارد، منطقه اکثریت این دلیل شیرستان همدان و منطقه از دریای ورود و ویژه کرک بودن. از نحوه جنس، تهیه می‌تواند CDC و اسپایرون جهت ضد پیش خانه استفاده نماید. به خانه‌ها چهار سیکل و یا قرار دادن در فریزر کشته و در کل ۴۶ درصد اینکه در ایران و سیس در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد در لندن جهت کارآیی مولکول یا نگهداری می‌شود. به خانه‌ها از داخل تولید که در داخل خی به پیش دیش شیشه‌ای جلوی ۱ درصد مانع شروع شدند.

یکصد نانوتیم DNA خالص برای هر نمونه جهت تعبین توالی DNA با استفاده از ABI Prism® Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing 373/377 sequencing و دستگاه (Ready Reaction Kit) مورد استفاده قرار گرفت. جهت وارد کردن DNA برای نام نموده و تنظیم توالی و منطقه کردن نانوتیم‌ها با کروموزوم‌گرافی و از Sequencher™ 3.1.1 software (Gene Codes Corporation) افزایش استفاده شد. برای آلبالهای فیلوژنیکی نیز از ترم PAUP و ضایع Phylogenetic analysis using parsimony پیامدها گرفته شد.

نتایج

فراوانی و فیلوژنیکی هایوتایپ‌های DNA سه قطعه از سیتوکروم ۳ در فیلوژنیک‌پایتایس در مناطق مختلف ایران به‌شکلی نر و ماده فیلوژنیک‌پایتایس جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران، به‌منظور مولکول‌یابی و اکتشاف تمام اینها و تسانی‌های از چندین گونه‌ی جامعه برای سنجش و توضیح موارد استفاده از CB3-3R3A (reverse) و CB1-SE (forward) از قطعه CB1-SE (forward) ۴۳۹ و حدود (base pair) CB1 و بعد از احیای این گونه ۴۴۹ تکنیک‌‌یافت. قطعه ۳ CB3 (reverse) و NIN-FA (reverse) و CB3-FC (forward) نیز در احیای CB1-SE (forward) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و حدود (CB1) ۴۴۹ در احیای CB1-SE (forward) بیشتر CB3 (reverse) و CB1 (base pair) و ح
مشاهده گردید و در دیگر مناطق دیده نشد. آنتی‌ژئه‌های فیلوزنتیکی با استفاده از پارسیمونی (Parsimony) برای همه هایپولوئید‌های این قطعه از سیترکوم بر تنها یک شکل با مکرو‌کیت هایپولوئید IRN02 تشخیص داده شد که هر هایپولوئید با بقیه بین یک نا دو تولگنید متفاوت داشتند (جدول 1).

IRN02 (GenBank accession no. AY378317) بیشترین فراوانی و در همه مناطق و در شرایط مکرو‌کیت متفاوت صید گردید. هر جنگ هایپولوئید IRN02 بیشترین فراوانی را دارا بود اما بعد از IRN02 بیشترین فراوانی ها، هایپولوئید IRN06 داشت که فقط در امکان‌های انسانی و حیوانی و ولایت گونچگان در اصفهان

جدول 1: فراوانی هایپولوئید های قطعه 1CB1 و زن ولایا (wsp) سیترکوم بی در پشه‌های فیلوزئوم پایانی در مناطق مختلف ایران

<table>
<thead>
<tr>
<th>استان/شهر</th>
<th>اصفهان</th>
<th>اصفهان</th>
<th>همدان</th>
<th>همدان</th>
<th>تهران</th>
<th>جمع</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>تعداد پشه‌های سیترکوم</td>
<td>97/9</td>
<td>49</td>
<td>11</td>
<td>12</td>
<td>26</td>
<td>110</td>
</tr>
<tr>
<td>تعداد پشه‌های سیترکوم</td>
<td>100</td>
<td>12</td>
<td>1</td>
<td>77/3</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>تعداد پشه‌های سیترکوم</td>
<td>100</td>
<td>12</td>
<td>1</td>
<td>77/3</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>تعداد پشه‌های سیترکوم</td>
<td>100</td>
<td>12</td>
<td>1</td>
<td>77/3</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>تعداد پشه‌های سیترکوم</td>
<td>100</td>
<td>12</td>
<td>1</td>
<td>77/3</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

در قطره CB3 (GenBank accession no. AY378318) که هر هایپولوئید با بقیه بین یک نا دو تولگنید متفاوت داشتند (جدول 2). H01 (= IRN33) در میان 44 توالی به دست آمده در جنس CB3 فیلوزئوم پایانی 7 هایپولوئید تشخیص داد شد در قطره CB3 هایپولوئید (IRN33) (= H01) بیشترین فراوانی را دارا بود.
جدول ۲: فراوانی های اهلیتپی‌های قطعه CB3 سیتکروم‌ی بی در استان‌های اقلیمی ایران

<table>
<thead>
<tr>
<th>استان / شهر</th>
<th>هایلیتپی‌های منفرد</th>
<th>IRN22</th>
<th>IRN02 = IRN06 = H08</th>
<th>IRN33 = H01</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>استان ها</td>
<td>جمع</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>کرمان</td>
<td>٤٤</td>
<td>٢</td>
<td>٣</td>
<td>٥</td>
</tr>
</tbody>
</table>

جدول ۲: فراوانی های اهلیتپی‌های قطعه CB3 سیتکروم‌ی بی در استان‌های اقلیمی ایران

<table>
<thead>
<tr>
<th>استان / شهر</th>
<th>هایلیتپی‌های منفرد</th>
<th>IRN605</th>
<th>IRN571</th>
<th>IRN516</th>
<th>IRN434</th>
<th>IRN425</th>
<th>IRN420</th>
<th>IRN430</th>
<th>IRN584</th>
<th>IRN591</th>
<th>IRN491</th>
<th>IRN492</th>
<th>IRN06</th>
<th>IRN02</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>استان ها</td>
<td>جمع</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>بوشهر / اصفهان</td>
<td>٤</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>گلستان</td>
<td>٨</td>
<td>-</td>
<td>٣</td>
<td>٢</td>
<td>١</td>
<td>٢</td>
<td>١</td>
<td>٦</td>
<td>١</td>
<td>٤</td>
<td>٣</td>
<td>١</td>
<td>١</td>
<td>٠</td>
</tr>
<tr>
<td>اصفهان</td>
<td>٩</td>
<td>٣</td>
<td>٢</td>
<td>١</td>
<td>١</td>
<td>٢</td>
<td>١</td>
<td>٦</td>
<td>١</td>
<td>٤</td>
<td>٣</td>
<td>١</td>
<td>١</td>
<td>٠</td>
</tr>
<tr>
<td>تهران / واسین</td>
<td>٣</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>١</td>
</tr>
<tr>
<td>تهران / پایتخت</td>
<td>٥</td>
<td>-</td>
<td>٣</td>
<td>٢</td>
<td>٢</td>
<td>١</td>
<td>٢</td>
<td>٦</td>
<td>١</td>
<td>٤</td>
<td>٣</td>
<td>١</td>
<td>١</td>
<td>٠</td>
</tr>
<tr>
<td>جمع</td>
<td>١٤٩</td>
<td>٣٣</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
<td>٧</td>
</tr>
</tbody>
</table>

* این جدول نشان می‌دهد که فراوانی های اهلیتپی‌های CB3 در استان‌های مختلف ایران متفاوت است.
فرانوی تیا استرین (هایپینئیپ) زن پرولینی پیاپاتاسی در Wolbachia باکتیری

منطقه مختلف این در بسیاری از Wolbachia

ژن پروتئین سطحی باکتیری جمله در بعضی از پشه خاکی‌ها مشاهده گردیده است. فراوانی زن پروتئین سطحی این باکتیری Wolbachia در سیتی و قسمت قلیب فلیتوموس پیاپاتاسی نیز در ایران بالا (37/6 درصد) از میان ۱۴۴ پشه خاکی (B. long) و در فلیتوموس پیاپاتاسی ماده بالاتر (93/9 درصد)

از میان ۴۹ پشه خاکی بود. در بستریم نمونه‌های پشه خاکی که سیتیکوم بی، چه تیبیت، تکو در Wolbachia مشخص (WSP) تکنیر یافته، توانای کوکت مورد بررسی زن، یک شکه مگران (cytological or molecular) در انزیم کوکت (cryptic sibling species) از هایپینئیپی‌های آن بررسی کرده که نگرفت.

پژوهش

دو قطعه کوتاه (CB1 و CB3) و یک قطعه بلند (CB3) استخوان پشه خاکی از چندین انسان و جویان و یا شاخه و چندین گروه‌ای از هایپینئیپی‌ها مجزا از یک قطعه ( ligneage) و یا درصد فراوانی آن در گروه موشات متفاوت شده می‌باشد [10]. تفاوت چندنی از سطحی و یا شاخه و مجموعه‌ای از هایپینئیپی‌های مجزا از یک قطعه (CB3) بررسی کرده. این یکی از فاصله زنیکی بین هایپینئیپی‌های قطعه CB3 از یک زن در این پشه خاکی کوکت (ماکزیمم 1/2 درصد) بود. اما در مقیاس بیان‌گر زنیکی از نظر مولکولی (sister) و یا به‌صورت دو نظر حضور جنگ‌ناپذیری بی‌پیاری (species lineage) می‌باشد. این هایپینئیپی‌های قطعهCB1 از یک پشه خاکی ۳/۷ درصد بود. فراوانی هایپینئیپی‌های CB1 در CB3 از یک زن در این پشه خاکی نیز

تکیه و توالی (Elongation Factor) زن مرگزا حیرت شهری

فراوانی در فلیتوموس پیاپاتاسی جفت پرامیر جدید طراحی شده EF-F05 (غیر) و EF-R08 (باز) مورد استفاده قرار گرفت و قطعه پرولینی (base pair) در این قطعه مشاهده (intron) تکنیر یافته هیچ‌گونه اینترون در این قطعه مشاهده نگردید. این زن با براکت متحد خود به خوبی گردد CR با کوکت (forward) تکنیر یافته و در لز دکلیوپوز قابلیت به کاملاً پرسته و درشت بود ۱۴ نمونه از

هسته‌ای در فلیتوموس پیاپاتاسی راهی شده (forward) و EF-R08 (reverse) بدون احتمال پرامیرها در فلیتوموس پیاپاتاسی (base pair) ۴۵۴ تکنیر یافته در این قطعه مشاهده

فراوانی در فلیتوموس پیاپاتاسی EF-F05 (غیر) و EF-R08 (باز) مورد استفاده قرار گرفت و قطعه پرولینی (base pair) در این قطعه مشاهده (intron) تکنیر یافته هیچ‌گونه اینترون در این قطعه مشاهده نگردید. این زن با براکت متحد خود به خوبی گردد CR با کوکت (forward) تکنیر یافته و در لز دکلیوپوز قابلیت به کاملاً پرسته و درشت بود ۱۴ نمونه از
کنتری بیماری‌های متصل توسعه به یک خاکی بیشتر موقع بود بر اساس استریلی که در نیوگو و ایفیای (wsp) جلوگیری نسبت می‌گذارد نشکل (polymorphism) چهارگانی دیگر نیز خاکی مدل شیوه در ایران و یا حتی در مناطق (wsp) نشته [11]. نسبت توزیع شناد از این نتایج پیوسته که در از جمله بایکارک با گروهی که از دیدگاه خواهد بود زیرا به خاکی این ماده مهاجرت منظم و مربیت دانه در آنتی‌ژن فیلوتوبوس، قطعه بلند (Cyt b, Long) نشان داد که در پس خاکی فیلوتوبوس پایانه جهش‌های زنگی و اشکال‌ها نوپاژ آنها در ایران جدید بعضاً فاصله زنگی بین دو فیلوتوبوس کوچک بی‌پا. بندهای یک هم‌جز در IRNO2 افزایش جهش‌های متعدد و مناطق جلوگیری مختلف در ایران تاثب می‌کند که شاخصاً فیلوتوبوس پایانه، مجرا، هم‌جز (lines) به طور عمده می‌تواند به دیل هم‌جز محدود و در حاضر مسیت اتفاق افتاد. [71]

Elongation Factor-1 توانایی از قسمت‌های زن "1- فیلوتوبوس نام‌های نهادی این می‌تواند به دیل تکرار در بالا از این نشکل به طور مستقیم و بدون کلود کردن توانایی داده شدند [72]. در مورد این زن می‌توان با مکثیت بیشتر، کلون کردن و تونایی توانایی فیلوتوبوس پایانه این مشکل را حل کرد. در مطالعه می‌تواند به فاصله زنگی (mosquitoes) توجه و مطمئنگایی سنجش‌ها (lines) بسته شده بود که کنتری به معتقدات نواحی به محل محل درشت یک محلی نواحی توانایی زن در فیلوتوبوس پایانه شده‌اند. می‌توان با کمک این یافته‌ها در خاکی

منابع


21. Weeks AR, Reynolds KT and Hoffmann AA. Wolbachia dynamics: what has (and has not) been demonstrated? *TRENDS in Ecology and Evolution* 2002;17:257-262.
