

بسمه تعالی

با سلام، طبق گزارش فوق تست پایداری در حال انجام است و هنوز خاتمه نیافته.

در بند ۴-۲ ذکر گردیده که تولید آنتی ژن در سلول تخمک موش انجام گرفت! جمله این بند نامفهوم است. در بند ۴-۳ از همولوژی ۸۵٪ ناحیه پپتیدی ویروس انسانی با ویروس گاوی ذکر شده. این تفاوت ۱۵٪ می تواند منجر به تولید آنتی بادی با واکنش غیر اختصاصی گردد. لذا بهتر است که توالی پپتیدی اصلی سفارش سنتز شود (شرکت های چینی ارزانتر سنتز می کنند)، یا اینکه ترادف ژن مربوط به این پپتید در داخل وکتور بیانی مناسب سفارش شود، سپس در میزبان باکتریایی مناسب به روش نوترکیب تولید و آنگاه تخلیص شود.

در راستای سوال مطرح شده توسط ناظر محترم طرح، توضیحات تفصیلی به شرح زیر می باشد:

۴-۲- خرید منابع آنتی ژنیک، کشت، جداسازی و تخلیص (۷۵٪):

فرایند جداسازی و تغلیظ پس از چند بار تکرار، ستاپ شد و اووسیت های جداسازی شده انگل کریپتوسپوریديوم وارد تست های تشخیصی شد. جهت اطمینان از اینکه مراحل تغلیظ و جداسازی بر روی قدرت تکثیر اووسیت انگل در سلول های پوششی روده میزبان اثر منفی نگذاشته باشد دو گروه موش با اووسیت جداسازی شده کریپتوسپوریديوم به صورت خوراکی آلوده شدند و روزانه دفع اووسیت در مدفوع موش ها بررسی گردید. بررسی لام های تهیه شده از مدفوع موش های آلوده در مقایسه با گروه کنترل دفع اووسیت را نشان می دهد.

۴-۳ کشت و تولید آنتی ژن های نوترکیب ویروسی

۱- روتاویروس همانند سایر ویروس ها دارای تنوع ژنتیکی بالایی می باشد. پروتئین های غیر ساختاری که در تکثیر و بیماری زایی نقش دارند، جهت حفظ عملکردشان نسبت به پروتئین های ساختاری بیشتر حفاظت شده می باشند. توالی پروتئین NSP4 نیز نسبتاً حفظ شده است. با این وجود نتایج هم تراسازی توالی پروتئین (Align Sequences Protein BLAST) برای توالی های گاوی موجود در مقاله سینگ مالک و همکاران نشان داده است که حتی بین توالی NSP4¹¹²⁻¹⁷⁵ سویه گاوی نیز تا حدود ۸۰٪ اختلاف وجود دارد.

۲- پژوهشگران در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که تعدادی از آنتی بادی های مونوکلونال در ناحیه آنتی ژنی NSP4 AS II (اسید آمینه ۱۳۶-۱۵۰) سویه روتاویروس با NSP4 ها مختلف پستانداران از جمله گاو واکنش متقابل نشان می دهد. همچنین یوان و همکاران پاسخ هموتایپیک و هتروتایپیک توالی NSP4 های ژنوتیپ های A، B، C و D از سویه های گاوی، خوک، انسانی، میمونی و موشی در گاوها آلوده به ویروس NCDV گاوی بررسی کردند. مطالعات آن ها نشان داد که سطوح بالایی از آنتی بادی های IgG علیه NSP4 های هموتایپیک و هتروتایپیک در همه ی گروه های گوساله ها مشاهده شد که نشان دهنده ی واکنش متقاطع (cross-reactive) طبیعی پروتئین NSP4 می باشد. واکنش متقاطع بین آنتی ژن ها زمانی رخ می دهد که یک آنتی بادی ایجاد شده علیه یک آنتی ژن خاص، میل ترکیبی بالایی نسبت به یک آنتی ژن متفاوت داشته باشد، بنابراین آنتی بادی می تواند پروتئینی را تشخیص دهد که با پروتئینی که علیه آن تولید شده است متفاوت است. با این وجود تیتراژ

آنتی بادی IgG برای NSP4 هموتایپیک میزبان همولوگوس (NSP4[A] (NCDV)) بالاتر از سایر گروه ها بود.

۳- با توجه به ضرورت انتخاب بین دو توالی اسیدآمینه‌ای NSP4⁸⁵⁻¹⁷⁵ و NSP4¹¹²⁻¹⁷⁵ گزارش شده در مقالات در موضوع ایمنوژنویسته و آنتی‌ژنیسته آنتی‌ژن NSP4، بررسی این دو معیار توسط یک توالی موجود بسیار ضروری بود. لذا به طور موازی همزمان با فرایند کلون یا سنتز، اقدامات جهت بررسی ویژگی های ایمنوژنیسته و تست های اولیه بر روی توالی انسانی مورد نظر در حال پیگیری می باشد.