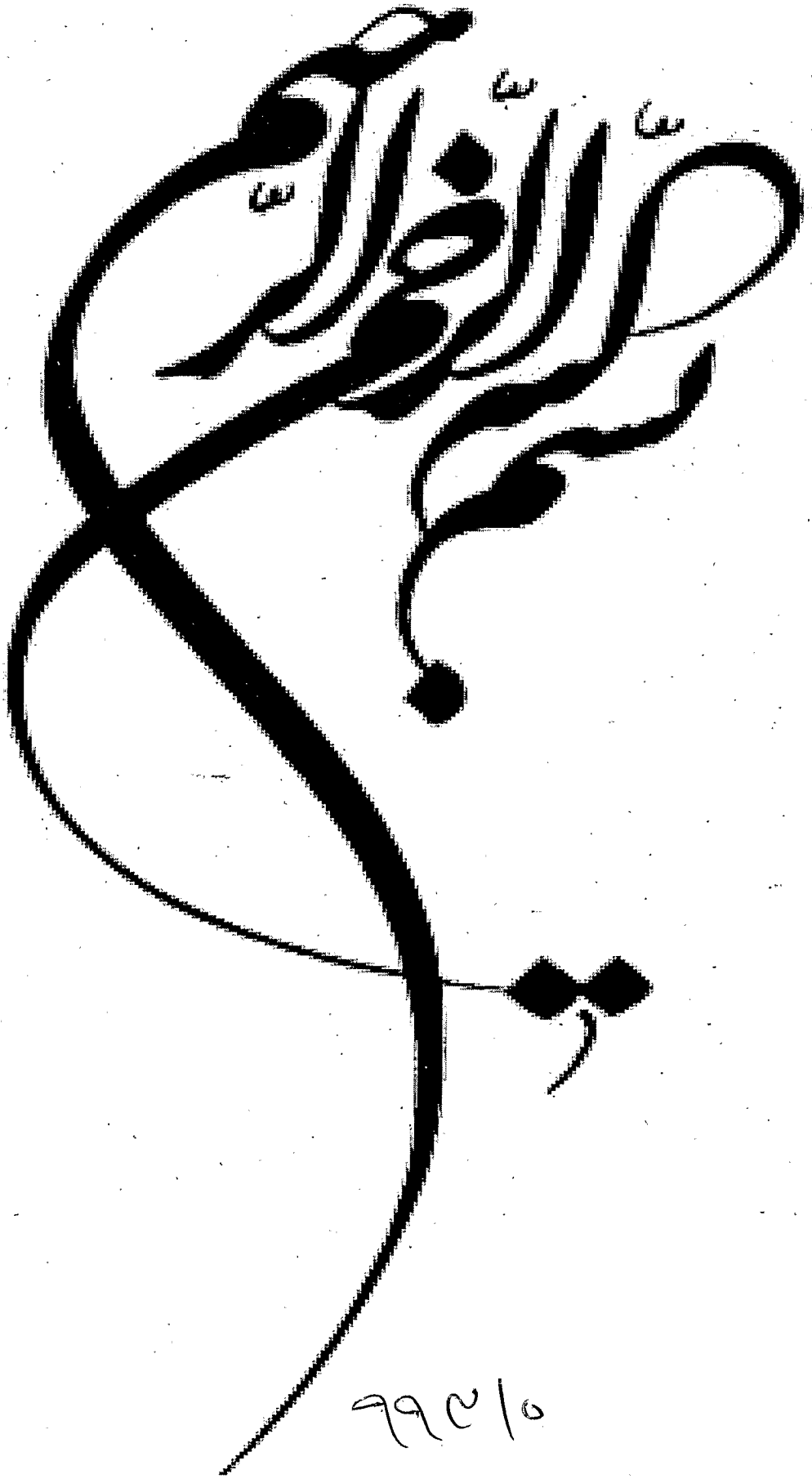
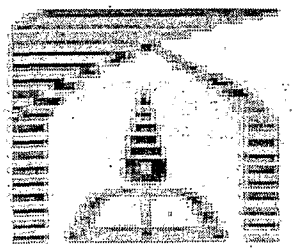


٩٩٤١٥



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم پزشکی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد در رشته ویرس شناسی پزشکی

عنوان:

تعیین توالی نوکلئوتیدی ناحیه 5'-NCR ویروس هپاتیت G (GBV-C/HGV) در بین بیماران آلوده به هپاتیت C

مرکز اطلاعات مدارک علمی

نگارش: رضا قنبری

استاد راهنما: دکتر مهرداد روانشاد

استاد مشاور: دکتر علی اکبر پورفتح اله

۱۳۸۷ /۵/ ۲۲

زمستان ۱۳۸۶

۹۹۲۱۰

آئین نامه پایان نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه .چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی- پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلا به طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

"کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته ..... است که در سال ۱۳۸۶ در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی ..... مشاوره ..... از آن دفاع شده است."

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ٤: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ٥: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه ، معادل وجه مذکور در ماده ٤ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ٦ : اینجانب ..... دانشجوی رشته ..... مقطع ..... تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام ونام خانوادگی
تاریخ و امضا

۸۷/۱۲/۳۱

دستورالعمل حق مالکیت مادي و معنوي در مورد نتایج پژوهشهاي علمي
دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان ، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها/ رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند.
تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه/ رساله نیز منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آئین نامه های مصوب انجام می شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی حاصل از نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸٤/٤/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

نام و نام خانوادگی . رضا صفری
تاریخ و امضاء
۸۷/۲/۳۱

فرم تأییدیه اعضای هیأت داوران مندرج در پایان‌نامه کارشناسی ارشد»

بدینوسیله پایان‌نامه کارشناسی ارشد **رضا قنبری** رشته: **ویروس شناسی** گرایش:
تقدیم می‌شود. اینجانبان نسخهٔ نهائی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوی بررسی و تأیید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجهٔ کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنیم.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

جناب آقای دکتر مهرداد روانشاد (استاد راهنما)

جناب آقای دکتر علی اکبر پورفتح اله (استاد مشاور)

سرکار خانم دکتر فرزانه صباحی (نماینده تحصیلات‌تکمیلی)

سرکار خانم دکتر حوریه سلیمانجاهی (استادناظر)

سرکار خانم دکتر محبوبه حاجی عبدالباقی (استادناظر)

تقدیم به:

همسر عزیزم به خاطر تمام همراهی ها و
حمایتهای بی دریغش

و تقدیم به:

پدر و مادر مهربانم که دریای
محبتشان را ساحلی نیست

با تشکر و سپاس فراوان از:

استاد محترم جناب آقای دکتر روانشاد که با حسن تدبیر و بردباری فراوان هدایت و راهنمایی این پایان نامه را به عهده داشتند. بی شک پیشرفت کار در تمامی قسمتها مدیون حمایتهای همه جانبه این استاد بزرگوار بود.

برادر ارجمند جناب آقای سید یونس حسینی که با دانش و معلومات خود قدم به قدم تکنیکهای عملی را به من آموختند و همواره از مشاورتهای ایشان در رفع مشکلات علمی و عملی در طول کار استفاده نمودم.

اساتید محترم گروه سرکار خانمها دکتر صباحی، دکتر سلیمانجاهی و دکتر بامداد که اگر چه اساتید مشاور من نبودند ولی با اشراف علمی خود رهنمود های با ارزشی ارائه می دادند و در طول انجام کار همواره از نظریات و پیشنهادات این عزیزان بهره مند بودم.

همکلاسی های محترم آقایان شناگری، تیموری، درستکار، خوانساری و پوریاولی که همواره شرمنده زحمات و مدیون همفکریهای ایشان هستم.

دوست و برادر عزیزم جناب آقای حسین عسگریان که با تبحر فراوان زحمت مشاوره آنالیز داده های خام را کشیدند و همچنین دوست خوبم جناب آقای وحید سلیمی که در زمینه آنالیز فیلوژنی از تجربیات ارزنده ایشان استفاده نمودم.

و همچنین از همکاریهای جناب آقای میر سعید و کلیه دانشجویانی که همزمان کار عملی را در آزمایشگاه می گذراندیم نهایت سپاس و قدردانی را دارم.

چکیده

ویروس GBV-C و ویروس هپاتیت C، از خانواده فلاوی ویریده و جزو ویروسهای منتقله از راه خون می باشند. این دو ویروس از لحاظ ساختار ژنومی و توالی نوکلئوتیدی، بسیار به هم شبیه می باشند. عفونت با ویروس GBV-C نسبتاً شایع بوده و دارای انتشار جهانی است و آلودگی همزمان این دو ویروس معمول می باشد. بر اساس تنوع در توالی نوکلئوتیدی منطقه ژنومی 5'-UTR، GBV-C را می توان به ۵ ژنوتیپ اصلی طبقه بندی نمود. هدف از این مطالعه تعیین میزان شیوع ویروس GBV-C در بین بیماران ایرانی مبتلا به هپاتیت C و نیز تعیین ژنوتیپ غالب این ویروس در این بیماران می باشد. برای این منظور ۷۱ بیمار مبتلا به HCV انتخاب شده و پس از استخراج ژنوم و سنتز cDNA، RT-Nested PCR برای تشخیص و تکثیر ۱۸۸ جفت باز از ناحیه 5'-UTR این ویروس مورد استفاده قرار گرفت. از این ۷۱ نمونه HCV مثبت، ۳۱نمونه (۴۳/۶درصد)، از نظر GBV-C هم مثبت بودند. به صورت تصادفی، ۱۲ نمونه مثبت GBV-C برای تعیین توالی، انتخاب شده و پس از تعیین توالی توسط شرکت SEQLAB آلمان، توالی ها توسط نرم افزار BioEdit و CLUSTAL X، مرتب و Alignment شدند و سپس با روش Neighbor-joining به وسیله نرم افزار Mega 3، درخت فیلوژنی آنالیز و رسم گردید. نشان داده شد که تمامی ۱۲ نمونه سکانس شده، متعلق به ژنوتیپ ۲ این ویروس، یعنی ژنوتیپ غالب در اروپا و آمریکای شمالی، می باشند.

فصل اول: مقدمه

مقدمه..... ۱

فصل دوم: کلیات و مروری بر مطالعات گذشته

۲-۱ تاریخچه GB Agent..... ۶

۲-۲ خانواده فلاوی ویریده..... ۷

۲-۳ مورفولوژی GBV-C و ساختار ژنوم..... ۹

۲-۴ چرخه تکثیر..... ۱۲

۲-۵ ژنوتیپ های HGV..... ۱۴

۲-۶ پاتوژنز..... ۱۶

۲-۷ راه های انتقال..... ۱۸

۲-۸ اپیدمیولوژی..... ۱۹

۲-۹ Co-infection..... ۲۰

۲-۱۰ تشخیص..... ۲۱

۲-۱۰-۱ روشهای مولکولی..... ۲۱

۲-۱۰-۲ روشهای سرولوژی..... ۲۲

۲-۱۰-۳ کشت..... ۲۲

۲-۱۱ درمان..... ۲۳

فصل سوم: مواد و روشها

۳-۱ اهداف..... ۲۵

۳-۲ نمونه‌گیری..... ۲۵

۳-۳ روش نمونه گیری از بیماران و شرایط نگهداری نمونه..... ۲۵

۳-۴ نکاتی چند درباره کار با RNA..... ۲۶

۳-۵ روش انجام استخراج RNA از سرم بیمار..... ۲۸
۳-۶ ارزیابی کیفیت DNA و RNA استخراج شده و تعیین مقدار آن..... ۳۲
۳-۷ نسخه برداری معکوس..... ۳۳
۳-۸ روش تولید cDNA..... ۳۵
۳-۹ مقدمه ای بر PCR..... ۳۸
۳-۹-۱ روشهای تکثیر توالی هدف..... ۳۸
۳-۹-۲ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز..... ۳۸
۳-۱۰ Nested-PCR و مزایای آن..... ۴۰
۳-۱۱ مواد لازم در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)..... ۴۱
۳-۱۱-۱ محلول بافری PCR با غلظت ۱۰X..... ۴۲
۳-۱۱-۲ کلرید منیزیوم ($MgCl_2$)..... ۴۲
۳-۱۱-۳ اسیدهای نوکلئوتیدی یا dNTPs..... ۴۳
۳-۱۱-۴ آنزیم DNA پلیمراز..... ۴۴
۳-۱۱-۵ پرایمر..... ۴۵
۳-۱۲ دستگاه ترموسایکلر..... ۴۹
۳-۱۳ مارکرهای وزنی..... ۴۹
۳-۱۴ مهار کننده‌های PCR..... ۵۰
۳-۱۵ تقویت کننده ها..... ۵۰
۳-۱۶ بهینه سازی PCR..... ۵۱
۳-۱۶-۱ درجه حرارت دو رگه شدن پرایمرها با DNA الگو..... ۵۱
۳-۱۶-۲ یون منیزیم..... ۵۲
۳-۱۶-۳ الگو..... ۵۲
۳-۱۶-۴ تعداد سیکل ها..... ۵۳

۳-۱۷ روش‌های تأیید محصول تکثیری..... ۵۴
۳-۱۷-۱ تکنیکهای هیبریدیزاسیون (دورگه سازی)..... ۵۴
۳-۱۷-۲ Nested-PCR..... ۵۵
۳-۱۷-۳ آنالیز با آنزیم‌های محدود کننده..... ۵۶
۳-۱۷-۴ تعیین ترادف مستقیم..... ۵۶
۳-۱۸ انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)..... ۵۷
۳-۱۹ نمایان سازی محصولات PCR بوسیله الکتروفورز در ژل آگارز و
رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید..... ۵۹
۳-۲۰ استخراج از روی ژل..... ۶۱

فصل چهارم: نتایج

۴-۱ طراحی پرایمر..... ۶۴
۴-۲ انجام PCR بر روی نمونه های کنترل مثبت از نظر ژنوم ویروس GBV-C..... ۶۴
۴-۳ مقایسه استخراج RNA با کیت و روش دستی..... ۶۷
۴-۴ بهینه سازی PCR ۶۸
۴-۵ گرادیان $MgCl_2$ در راند دوم..... ۶۸
۴-۶ تعداد سیکل..... ۶۹
۴-۷ بهینه سازی با تغییر فاکتور دمای اتصال پرایمر ها..... ۷۰
۴-۸ استفاده از آلبومین سرم گاوی..... ۷۴
۴-۹ Touch Down PCR..... ۷۵
۴-۱۰ نتایج حاصل از انجام Nested-PCR بر روی۷۱ بیمار مبتلا به هپاتیت C از لحاظ
وجود ژنوم GBV-C ۷۷
۴-۱۱ انجام Touch Down PCR روی نمونه های مثبت قوی در حجم ۱۵۰ میکرولیتر..... ۸۱
۴-۱۲ استخراج از روی ژل..... ۸۱

۴-۱۳ تعیین توالی ۸۳

۴-۱۴ آنالیز فیلوژنتیک ۸۳

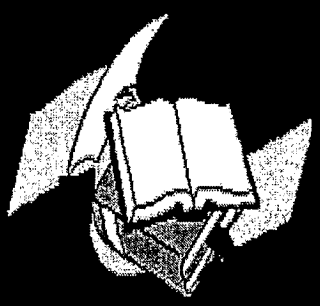
۴-۱۵: بررسی اثر GBV-C روی کبد مبتلایان به HCV، در حالت آلودگی همزمان ۸۵

فصل پنجم: بحث و پیشنهاد ۹۱

مراجع ۹۸

فصل اول

مقدمه



تا کنون حداقل ٦ نوع ویروس بعنوان عوامل ایجاد کننده هپاتیت ویروسی شناخته شده‌اند که بترتیب حروف الفبای انگلیسی شامل: HAV, HBV, HCV, HDV, HEV و HGV هستند که هر کدام به گروههای جداگانه‌ای از ویروسها تعلق دارند [۱]. ویروس هپاتیت G[2] (GBV-C)[1]، اول بار توسط گروه کشف ویروس در لابراتوار Abbott، وقتی که سرم یک جراح که دچار هپاتیت حاد شده بود را مورد بررسی قرار دادند، کشف شد. این ویروس یک ویروس کروی و دارای پوشینه[3] می باشد که به همراه ویروس هپاتیت C، عضوی ازخانواده فلاوی ویریده[4] است [۲]. ژنوم این ویروس RNA تک رشته ای با پلاریته مثبت بوده که طول ژنوم آن 9.4kb می باشد [۳]. بابررسی ومقایسه ژنومی و توالی نوکلئوئیدی دو ویروس GBV-C و HCV، مشخص گردید که این دو ویروس از لحاظ ژنومی ارتباط بسیار نزدیکی با هم دارند [٤]، ولی GBV-C بر خلاف HCV که یک ویروس هپاتوتروپیک می باشد، لنفوتروپیک بوده، چون در سلولهای کبدی تکثیر نمی یابد و سبب هپاتیت حاد یا مزمن نمی شود [٥]. انتقال این ویروس عمدتاً از راه خون یا فرآورده های خونی و یا از راه تماس جنسی می باشد، یعنی همان راههای اصلی انتقال برای HIV، HBV وHCV [٦]. عفونت با این ویروس نسبتاً شایع بوده و دارای انتشار

---

[1] - GB virus C

[2] - Hepatitis G virus

[3] - Enveloped

[4] - Flaviviridae

جهانی می باشد، به طوری که ژنوم این ویروس در ۱ تا ٤ درصد اهداکنندگان سالم خون شناسایی شده است [۷]. نقش این ویروس در ایجاد بیماری کبدی هنوز به درستی روشن نشده، و باوجود بررسی های فراوانی که انجام شد، همراهی آن با هیچ بیماری خاصی تا کنون ثابت نشده است [۸]. از نظر کلینیکی بر خلاف ویروس هپاتیت C که به طور واضح موجب هپاتیت حاد و مزمن می گردد و فرد را مستعد ابتلا به کارسینوم هپاتوسلولار[5] می‌کند، این ویروس در حالت حاد خیلی خفیف بوده و بدون زردی می باشد و ثانیاً در ٥ تا ۱۰ درصد موارد ویروس بطور پایدار بمدت ۹-۱ سال در بدن باقی مانده و ایجاد حالت مزمن بدون علامت می‌کند [۹، ۱۰و ۱۱]، و در بقیه موارد ویروس به خودی خود پاکسازی شده و آنتی بادی علیه گلیکوپروتئین سطحی E2 ایجاد می گردد، ظهور این پاسخ مقارن با از بین رفتن ویرمی[6] خواهد بود [۱۲و۱۳]. آلودگی های مشترک این ویروس با دیگرویروسها مثل HIV، HBV و HCV شایع بوده، که بدلیل مشترک بودن راههای انتقال آنهاست [۱۰]. تحقیقات اخیر نشان داده که همراهی آن با HIV سود مند بوده وسبب پیش آگهی بهتر و پیشرفت آهسته تر بیماری به سمت سندرم نقص ایمنی اکتسابی (ایدز) و جواب بهتر به درمان ضد رتروویروسی می گردد [۱۱]. بررسی های هیستولوژیک عفونت GBV-C در HCV مزمن نشان داده که GBV-C هیچ اثری در شدت و حدت بیماری کبدی مرتبط با HCV ندارد [١٤]. بر اساس تنوع در توالی نوکلئوتیدی منطقه ژنومی 5'-UTR،

---

[5]- Hepatocellular carcinoma

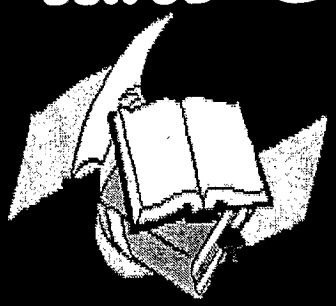
[6] - Viremia

GBV-C را می توان به ۵ ژنوتیپ اصلی طبقه بندی کرد [۱۰، ۱۵و ۱۶]. میزان شیوع این ژنوتیپ ها درنقاط جغرافیایی مختلف، متفاوت می باشد [۱۵]. هدف از این مطالعه (که برای اولین بار در ایران صورت گرفته) ارزیابی میزان شیوع این ویروس با تکنیک RT Nested-PCR در بین بیماران ایرانی مبتلا به هپاتیت C و تعیین ژنوتیپهای شایع آن بروش آنالیز فیلوژنتیک می باشد. همچنین با بررسی میزان آنزیمهای کبدی (SGOT و SGPT) و فعالیت التهابی کبد (Grading) و شدت فیبروز کبد (Staging) مبتلایان، ارتباط و برهمکنش[۷] این دو ویروس در حالت همراهی[۸] روی کارکرد و ساختار کبد مبتلایان نیز بررسی شده است.

[7] - Interaction
[8] - Co infection

فصل دوم

کلیات و مروری بر مطالعات گذشته



۲-۱ تاریخچه GB Agent :

عامل GB[9]، برگرفته از نام جراحی ۳٤ ساله است که مبتلا به هپاتیت حاد شده بـود [۱۷]. درسـال ۱۹٦۷ پروفسور Deinhard و همکارانش، مقداری از سرم فرد مذکور را به تمارین هـا[10] (میمـون‌هـای کوچـک آمریکای جنوبی) تزریق کردند. بعد از مدتی مشاهده نمودند که نمونه های مورد آزمایش دچـار هپاتیـت حاد شدند. البته هم دکتر GB و هم میمون‌ها بعد از مدتی بهبودی پیدا کردند و این نشان‌دهنده ایـن امـر بود که این بیماری خود محدود شونده اسـت. در دهـه ۱۹۷۰ و اوایـل دهـه ۱۹۸۰ پاسـاژهای متعـددی بوسیله نمونه سرم اولین میمونی که عامل GB به آن تزریق شده بود در میمون‌های دیگر انجـام گردیـد [۱۸]. Almedia و همکارانش یازدهمین و آخرین پاساژ عامل GB را انجام دادند (۱۹۷٦) و سـپس ایـن سرم‌های حاوی عامل GB در ATCC آمریکا با نام (H205 GB Pass 11) ذخیره و نگهداری شد.

بعدها در سال ۱۹۹۵ محققین آزمایشگاه‌های Abbott در شمال شیکاگو به سرپرسـتی Isa Mushahwar یازدهمین پاساژ عامل GB را دوباره به میمون‌ها تزریق کردند و سپس سرم آنهایی که دچار هپاتیت شده بودند را برای تشخیص مولکولی مورد استفاده قرار دادند. در روش تـشخیص مولکـولی دو ویـروس از عامل GB جدا گردید که بطور موقت بنامهای GBV-A و GBV-B نامگذاری شدند [۱۹].

بعدها بیمارانی تشخیص داده شدند که آزمایشات سرولوژیک آنها از نظر آنتی‌بـادی علیـه پـروتئین‌هـای غیرساختمانی GBV-A و GBV-B مثبت بودند ولی آزمایش RT-PCR آنها از نظر این دو ویروس منفی بود. با مقایسه توالی‌های نوکلئوتیدی ژن هلیکـاز در GBV-A و GBV-B، پرایمرهـای الیگونوکلئوتیـدی Universal از مناطق بسیار حفاظت شده[11] این منطقـه طراحـی شـد. در سـال ۱۹۹۵ بـا اسـتفاده از ایـن پرایمرها و سرم افراد مذکور آزمایش RT-PCR انجام شد که نهایتاً سـرم یکـی از ایـن افـراد کـه اهـل

---

[9] - GB agent
[10] - Tamarin
[11] - Conserve

آفریقای جنوبی بود مثبت شد. بررسی توالی نوکلئوتیدی محصول PCR فرد مذکور نشان می‌داد که این توالی تا حدی شبیه GBV-A و GBV-B است ولی کاملاً با آنها یکسان نیست لذا باید بخشی از ژنوم یک ویروس سوم وابسته به این خانواده باشد که طبق روال قبل بنام GBV-C نامگذاری گردید. در سال ۱۹۹٦ توالی کامل ژنوم GBV-C در آزمایشگاهای Abbott مشخص شد [۱٦].

در سال ۱۹۹٦ همگام با مطالعات انجام شده در آزمایشگاهای Abbott، محققان دیگری (Linnenn و همکاران) در Genelabs Technologies Inc واقع در شهر Red wood، ویروس جدیدی را در دو فرد، یکی مبتلا به هپاتیت مزمن بعد از تزریق خون و دیگری با سطح بالای ALT و بدون سابقه هپاتیت جدا کردند که بعد از کلون کردن و تعیین توالی محصول PCR تحت عنوان HGV نامگذاری شد [٤]. مقایسه توالی این دو ویروس نشان داد که این دو، ایزوله های یک ویروس مشابه هستند که همولوژی نوکلئوتیدها و آمینو اسیدهای آنها به ترتیب ۸٦ و ۹۵ درصد می باشد [۲۰و ۲۱]. بنابراین از آن زمان در طبقه بندی ویروسها، این ویروس را (GBV-C/HGV) نامیدند [۱۷].

۲-۲ خانواده فلاوی ویریده:

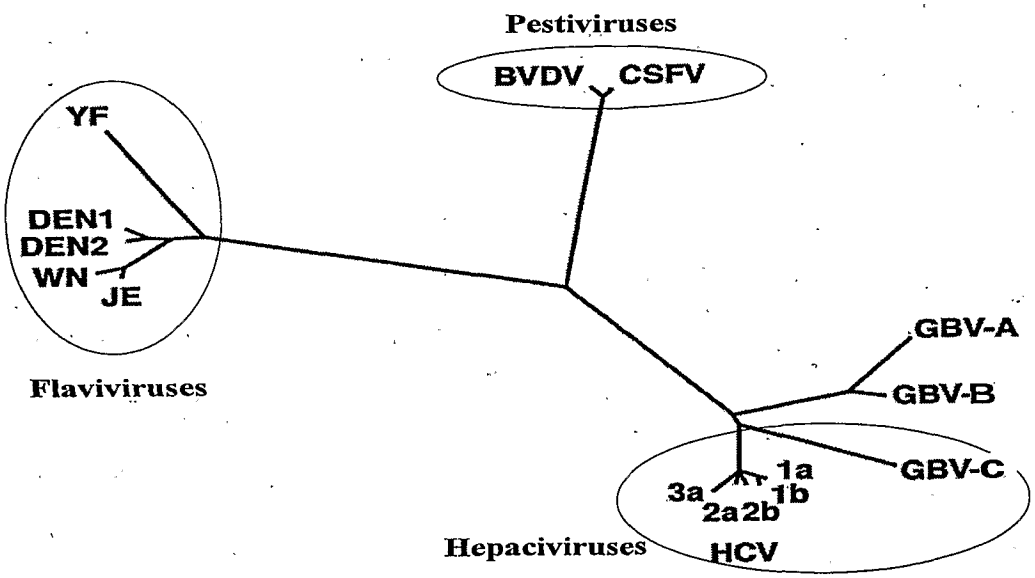
در شروع تحقیق در مورد ویروس‌های انسانی (حدود یک قرن پیش) والترید نشان داد که بیماری تب زرد را می‌توان به فرد دیگری منتقل کرد [۲۲]. ویروس تب زرد نماینده خانواده بزرگی از ویروس‌های RNA دار با پولاریته مثبت تحت عنوان فلاوی ویریده است [۲۳]. ویروسهای این خانواده پوشش دار بوده و اندازه اعضای آن ٦۰-۳۰ نانومتر می باشد. اندازه ژنوم این ویروسها از ۹/۵ kb (Hepacivirus) و ۱۰/۷ kb (Flavivirus) تا ۱۲/۵ kb (Pestivirus) متغیر است [۲٤].

این خانواده از سه جنس تشکیل شده است که شامل سه ویروس زیر است :

۱. Flavivirus
۲. Pestivirus
۳. Hepacivirus

HGV و HCV در جنس Hepacivirus قرار دارند [۲۵]. اعضای این خانواده علیرغم داشتن شباهت‌هایی در مورفولوژی، ساختار ژنوم و روش همانندسازی، دارای خواص بیولوژیکی متفاوتی بوده و از نظر سرولوژیکی فاقد واکنش متقاطع هستند [۲۳و ۲۵].

گوناگونی ویروس‌ها در این خانواده در شکل ۲-۱ و جدول ۲-۱ نشان داده شده است.



شکل ۲-۱: خانواده فلاوی ویریده. درخت فیلوژنی بر اساس آنالیز ناحیه NS3.