بسم الله الرحمن الرحیم

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از
پایان‌نامه کارشناسی ارشد

آقای محمدرضا جباری رشته **ویروس شناسی پزشکی** پایان‌نامه **کارشناسی ارشد** خود را با عنوان « **شناسایی عفونت HCMV در نمونه های مختلف بافتی تومورهای مغزی گلیوما** » در تاریخ **۱۳۹۲/۴/۲** ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنند.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر فرزانه صباحی	(استاد راهنما)
دکتر رضا شیرکوهی	(استاد مشاور)
دکتر فریدا بهزادیان	(استاد ناظر)
دکتر مهرداد روانشاد	(استاد ناظر و نماینده تحصیلات تکمیلی)

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری 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 هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می‌باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می‌باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه(اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته‌ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **محمدرضا جباری** دانشجوی رشته **ویروس‌شناسی پزشکی** ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۸** مقطع **کارشناسی ارشد** دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می‌شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته‌های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می‌دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

نام و نام خانوادگی: محمدرضا جباری

تاریخ و امضاء:

۹۲/۶/۱۳

آیین نامهٔ چاپ 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 می‌شوند:

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

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

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشدنگارنده در رشته **ویروس‌شناسی پزشکی** است که در سال **۱۳۹۲** در دانشکده **علوم پزشکی** دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **سرکار خانم دکتر فرزانه صباحی** و مشاورهٔ **جناب آقای دکتر رضا شیرکوهی** از آن دفاع شده است».

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیهٔ کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می‌کند 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 مادهٔ ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶: اینجانب **محمدرضا جباری** دانشجوی رشته **ویروس‌شناسی پزشکی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی: محمدرضا جباری

تاریخ و امضاء: ۹۲/۶/۱۳

دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه

دوره کارشناسی ارشد در رشته ویروس‌شناسی پزشکی

عنوان

شناسایی عفونت HCMVدرنمونه‌های مختلف بافتی تومورهای مغزی گلیوما

نگارش

محمدرضا جباری

استاد راهنما

دکتر فرزانه صباحی

استاد مشاور

دکتر رضا شیرکوهی

خرداد ۱۳۹۲

تقدیم به:

آنانی که سرخی خونشان سبزی مسیر را نشانمان داد؛

پدر و مادر بزرگوارم

همسر فداکارم

و

بهار نازنینم

تشکرو قدردانی

- برخود واجب می‌دانم که از زحمات بی‌دریغ استاد ارجمند و گرانقدرم سرکار خانم دکتر فرزانه صباحی که در طول این پژوهش راهنما و قوت قلب بنده بوده‌اند صمیمانه سپاسگزاری نمایم.

- ازجناب آقای دکتر رضا شیرکوهی که مشاوره این پژوهش را به عهده داشته و بدون مساعدت ایشان این پژوهش تحقق پیدا نمی‌کرد،کمال تشکر و قدردانی را دارم.

- از جناب آقای دکتر محمود پروین برای کمک‌های ارزشمندشان در گزارش نتایج IHC، همچنین دکتر هوشنگ صابری برای نمونه‌گیری از بیماران تومور مغزی صمیمانه ممنونم.

- از جناب آقای دکتر بهزاد خوانساری‌نژاد و دکتر محسن کریمی که در طول این تحقیق با نظرات و راهنمایی‌های خود یاری‌گر بنده بودند تشکر می‌کنم.

- از اساتید محترم هیأت علمی گروه ویروس‌شناسی خانم دکترحوریه سلیمان جاهی، خانم دکتر طراوت بامداد، به‌ویژه استاد ارجمندم جناب آقای دکتر مهرداد روان‌شاد که زحمات بی دریغشان را هرگز از یاد نخواهم برد، بی‌نهایت ممنونم.

- از تمامی پرسنل بخش IHC انستیتو کنسر بیمارستان امام خمینی به‌خصوص خانم مرسلی سپاسگزارم.

- از تمامی دانشجویان و دوستان عزیزم در گروه ویروس‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس که با به وجود آوردن محیطی علمی و دوستانه شرایط کار را برایم فراهم کردند و همکاری و همراهی با آنان باعث افتخار بنده است، صمیمانه قدردانی می‌کنم.

چکیده:

مقدمه: ویروس سایتومگال انسانی (HCMV) بتاهرپس ویروسی است که باعث عفونت پایدار در افراد شده و بیماری‌های شدیدی را در جنین و افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی ایجاد می‌کند. اگر چه HCMV به عنوان یک ویروس عامل در سرطان‌های انسانی شمرده نمی‌شود، مطالعات جدید نشان می‌دهد عفونت با HCMVممکن است به طور اختصاصی باعث بعضی از سرطان‌های انسانی از جمله گلیوما باشد.گلیوما یکی از شایع‌ترین سرطان‌های مغزی است که در کودکان و بزرگسالان دیده می‌شود و دارای grade ۴ است. در این پژوهش در راستای شناسایی و تشخیص عفونت با ویروس سایتومگال انسانی (HCMV) در نمونه‌های گلیومای مغزی، روش Real-time PCR و IHC راه‌اندازی شد و مورد استفاده قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های پارافینه تومور مغزی گلیوما از بیماران مراجعه کننده به بخش جراحی اعصاب بیمارستان امام خمینی انتخاب و به قطعات ۵ میکرومتری برش داده شدند. از این قطعات برای استخراجDNA و انجام IHC استفاده شد. از آنتی‌بادیPP65 و IE72-86 سایتومگالوویروس انسانی برایIHC استفاده شد. پس از طراحی آغازگرهای اختصاصی برای ناحیه US28HCMV اقدام به بهینه‌سازی و انجام واکنش RealtimePCR گردید.

نتایج: نتیجه Real- Time PCR کیفی روی ۴ بیمار از ۱۸ بیمار (۲۲/۲) مثبت شد.همچنین۱۳نفر از ۱۸ بیمار از نظر PP65 (۷۲ ٪) و ۷ نفر از ۱۸ بیمار (۳۹ ٪) از نظر IE72-86 سایتومگالو ویروس انسانی مثبت شدند.

نتیجه‌گیری: این اولین مطالعه جهت ردیابی وجود ژن‌ها و پروتئین‌های سایتومگالوویروس انسانی در نمونه‌های مغزی بیماران مبتلا به گلیوما در ایران است.این مطالعه نشان داد که پروتئین‌های سایتومگالوویروس انسانی در بیشتر تومورهای مغزی گلیومی بیان می‌شوند.با توجه به یافته‌های این گزارش و گزارشات دیگران مطالعات گسترده‌تری با استفاده از روش‌های دیگر تشخیصی پیشنهاد می‌گردد.

واژگان‌کلیدی: گلیوما، سایتومگالوویروس انسانی، IHC، Real-Time PCR

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده ۱

۱-۱. طبقه‌بندی ۲

۱-۲. ساختارهای ویروسی و سازه‌بندی ژنومی ۳

۱-۳.پروتئین‌های ویروسی ۴

۱-۴. گلیکوپروتئین‌های انولوپ ۵

۱-۵.پروتئین‌های میزبان ۷

۱-۶. سایر اجزای ویریون‌ها ۷

۱-۷.DNA ویروس ۷

۱-۸. رشد ویروسی ۸

۱-۹.بیماری‌زایی ۱۱

۱-۹-۱. پایداری و نهفتگی ۱۱

۱-۱۰. تمایلات بافتی ۱۲

۱-۱۱. پاسخ ایمنی ۱۳

۱-۱۲. پاسخ ایمنی هومورال ۱۳

۱-۱۳. پاسخ ایمنی سلولی ۱۴

۱-۱۴. فرار از سیستم ایمنی ۱۴

۱-۱۵. ویرولانس (حدت) ۱۵

۱-۱۶. عفونت خفته ۱۶

۱-۱۷.بیماری‌های مرتبط با HCMV ۱۶

۱-۱۷-۱. منونوکلئوز عفونی ۱۶

۱-۱۷-۲. عفونت مادرزادی ۱۷

۱-۱۷-۳. عفونت در گیرندگان پیوند ۱۸

۱-۱۷-۴. عفونت در گیرندگان مغز استخوان ۱۹
۱-۱۷-۵. عفونت در گیرندگان پیوند اعضا ۱۹
۱-۱۷-۶. عفونت در بیماران آلوده به HIV ۲۱
۱-۱۷-۷. نقش احتمالیHCMV در تومورها ۲۲
۱-۱۷-۷-۱. علائم بالینی گلیوما ۲۲
۱-۱۷-۷-۲. نقش HCMV در گلیوما ۲۳
۱-۱۸. تشخیص ۲۶
۱-۱۸-۱. سرولوژی ۲۶
۱-۱۸-۲. ایندکس تمایل اتصال IgG ۲۷
۱-۱۸-۳.روش‌هایی که اساس آنها کشت ویروس است ۲۸
۱-۱۸-۴.آنتی‌ژنمیا ۲۸
۱-۱۸-۵.روش‌های تکثیری غیر PCR ۲۹
۱-۱۸-۶. روش هیبرید کپچر ۳۰
۱-۱۸-۷. روش DNA شاخه‌ای ۳۰
۱-۱۸-۸. روش NASBA ۳۰
۱-۱۸-۹. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۳۱
۱-۱۸-۹-۱. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کیفی ۳۱
۱-۱۸-۹-۲. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نیمه کمی ۳۲
۱-۱۸-۹-۳. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی رقابتی ۳۲
۱-۱۸-۹-۴. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی غیررقابتی ۳۳
۱-۱۸-۱۰. روش ایمنوهیستوشیمی ۳۳
۱-۱۸-۱۱. روش هیبریداسیون درون‌بافت ۳۳
۱-۱۹. درمان ۳۴
۱-۱۹-۱. پروفیلاکسی ۳۴

۱-۱۹-۲. داروهای ضد HCMV ۳۵
۱-۱۹-۳. ایمنوگلوبولین درمانی ۳۶
۱-۲۰. اپیدمیولوژی ۳۶
۱-۲۱. پیشگیری و کنترل ۳۷
۱-۲۲. واکسن ۳۸

فصل دوم: مواد و روش‌ها ۳۹

۲-۱. بیماران و نمونه‌ها ۴۰
۲-۲. طراحی پرایمرها ۴۰
۲-۳. استخراج DNA ۴۱
۲-۳-۱. مواد و وسایل ۴۱
۲-۳-۲. دستورالعمل استخراج ۴۲
۲-۴.حساسیت آنالیتیک ۴۳
۲-۵.ویژگی آنالیتیک ۴۴
۲-۶. انجام واکنش‌هایReal-time PCR کیفی ۴۵
۲-۶-۱. مواد و وسایل مورد نیاز ۴۵
۲-۶-۲. انجام واکنش‌هایReal-time PCR کیفی ۴۵
۲-۷. ایمنوهیستو شیمی ۴۷
۲-۷-۱. مواد و وسایل مورد نیاز ۴۷
۲-۷-۱-۱. پارافین زدایی ۴۸
۲-۷-۱-۲. هیدراته کردن ۴۹
۲-۷-۱-۳. هضم آنزیمی پس از فیکساسیون و بازیابی آنتی‌ژن ۴۹
۲-۷-۱-۴. اضافه کردن آنتی‌بادی اولیه ۵۰
۲-۷-۱-۵. اضافه کردن آنتی ثانویه ۵۱

۲-۷-۱-۶. آشکارسازی ۵۱
۲-۷-۱-۷. آب‌گیری ۵۲
۲-۷-۱-۸. چسباندن لامل ۵۲

فصل سوم: نتایج و یافته‌ها ۵۳
۳-۱. نتایج ۵۴
۳-۱-۱. نتایج Real Time-PCR ۵۵
۳-۱-۲. نتایج ایمنوهیستوشیمی ۵۵
۳-۱-۲-۱. نتایج ایمنوهیستوشیمیآنتی‌ژنPP65 ..... ۵۵
۳-۱-۲-۲. نتایج ایمنوهیستوشیمیآنتی‌ژنIE72-86 ..... ۵۷

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها ۶۰
۴-۱. بحث و نتیجه‌گیری ۶۱
۴-۲. پیشنهادها ۶۴

فهرست منابع و مآخذ ۶۵
چکیده انگلیسی ۶۹

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول (۲-۱) توالی آغازگرهای مورد استفاده در تکثیر ژن‌هـای HCMV US28 و بتـادومیکروگلوبولین به عنوان کنترل داخلی ۴۱

جدول (۲-۲) روش تهیه مستر میکس و پروتکل حرارتی دستگاه برای واکنش‌های کیفی Real-time PCR..... ۴۶

جدول (۳-۱) اطلاعات جمعیت شناختی بیماران مورد مطالعه ونتایج Real-time PCR آنها..... ۵۴

جدول (۳-۲) نتایج ایمنوهیستوشیمی و Real-timePCR به همراه اطلاعات کلی مربوط به بیماران..... ۵۹

فهرست تصاویر

عنوان **صفحه**

تصویر (۲-۱) نتایج رگرسیون پروبیت به منظور تعیین حساسیت آنالیتیک روش qPCR خانگی در دستگاه ۴۴

تصویر (۲-۲) تعیین ویژگی آنالیتیک پرایمرهای اختصاصی ژن US28 با استفاده از پنل ویژگی ۴۵

تصویر (۳-۱)بیمار مثبت که با منحنی آبی در مقابل منحنی سبز که کنترل مثبت است مشخص شده است ۵۵

تصویر (۳-۲) نمونه مثبت بیمار از نظر HCMV PP65 که با فلش مشخص شده است. ۵۶

تصویر (۳-۳) نمونه ۳+ بیمار از نظر آنتی‌ژنPP65HCMV ۵۶

تصویر (۳-۴) نمونه ۱+ بیمار از نظر آنتی‌ژنPP65HCMV که با فلش مشخص شده است ۵۶

تصویر (۳-۵) نمونه مثبت بیمار از نظر HCMV IE 72-86 که با فلش مشخص شده است ۵۷

تصویر (۳-۶) نمونه ۱+ بیمار گلیومی از نظر IE72-86HCMV ۵۷

تصویر (۳-۷) کنترل منفی از بافت گلیوما از نظر PP65 و IE72-86 ..... ۵۷

تصویر (۳-۸) بافت ریه بیمار ایدزی که از نظر PP65 و IE72-86 منفی است ۵۸

تصویر (۳-۹) بافت ریه بیمار ایدزی که بر اثر پنومونی ناشی ازHCMV فوت کرده است و از نظر PP65 و IE72-86 مثبت است ۵۸

فصل اول:

مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱. طبقه‌بندی

خانواده هرپس ویروس‌ها شامل تعدادی از مهمترین ویروس‌هایبیماری‌زای انسانی است. طبقه‌بندی اعضای متعدد این خانواده پیچیده و مشکل است. در اواخر دهه‌ی ۱۹۷۰ میلادی اعضای این خانواده را بر اساس ویژگی‌های بیولوژیک به سه زیرخانواده تقسیم کردند: آلفا هرپس ویروس‌ها، بتا هرپس ویروس‌ها و گاما هرپس ویروس‌ها. ویروس سایتومگال انسانی (HCMV)[1] و یا در حقیقت هرپس ویروس تیپ ۵ انسانی (HHV-5)، عضوی از خانواده هرپس ویروس‌ها و از زیرخانواده‌ی بتا هرپس ویروس‌ها و از جنس سایتومگالو ویروس است. در این جنس به جز HHV-5 چند ویروس دیگر، از جمله CeHV-8[2]، CeHV-5 و موروماگالوویروس نیز عضویت دارند که به ترتیب در میمون سبز آفریقایی و میمون رزوس و جوندگان ایجاد عفونت می‌کنند[۱]. ویروس‌های این جنس تقریباً از نظر خصوصیات رشد و سیتوپاتولوژی که بر سلول‌های میزبان خود اعمال می‌کنند، مانند انکلوزیون بادی‌های داخل هسته‌ای و داخل سیتوپلاسمی، مشابه سایر اعضای خانواده موردنظر می‌باشند. از نظر دیگر خصوصیات و عملکردهای ویروسی نیز این گروه با سایر اعضای خانواده خود قابل مقایسه‌اند. از جمله می‌توان به ساختمان کلی ویروس و توانایی تولید عفونت پایدار و عفونت خفته اشاره کرد. در درون این جنس خصوصیات منحصر به فردی وجود دارد که تمام اعضای آن تقریباً از آن بهره برده‌اند که می‌توان به صورت خلاصه به آنها اشاره کرد: از جمله تروپیسم ویروس‌ها به غدد بزاقی، رشد آهسته در کشت سلولی و مهمتر از همه تک میزبانه بودن. طبقه‌بندیویروس‌های موجود درون خانواده و درون جنس، بر اساس توالیپروتئین‌های حدود ۸۰ قاب بازخوانی[3] نیز صورت گرفته است. بر همین اساس و با استفاده

1- Human Cytomegalovirus
2- Cercopithecine herpesvirus
3- Open reading frame (ORF)

از مقایسه‌ی بین آمینواسیدهای حاصل از بیش از ۴۸ قاب بازخوانی ویروس کـه تولیدکننـده‌یپـروتئین های دخیل در تکثیر و بسته‌بندی ژنوم و تشکیل‌دهنده‌ی ساختارهای پروتئینی ویریونها بوده است بـه ارتباطات بسیار نزدیک داخل خانواده این ویروس‌ها پی برده شده است [۲].

۱-۲. ساختارهای ویروسی[1] و سازه‌بندی ژنومی[2]

به طور کلی ویریون HCMV شامل کپسیدی[3] بیست وجهی است که درون آن ژنومی خطی بـا حـدود ۲۳۵ kbp طول و از جنس DNA دو رشته‌ای قرار گرفته است. روی کپسید را انولوپی[4] از غشاء دولایـه پوشانده است. درون انولوپ تعداد زیادی از گلیکـوپروتئین‌هـای ویروسـی قـرار دارنـد. بـین انولـوپ و کپسید ویروس یک ساختمان بی‌شکل و گاهی غیر قرینه دیده می‌شود که به آن تگومنت[5] می‌گویند.

مطالعات میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که کپسید HCMV بسیار به ویروس هـرپس سـمیلکپس شباهت دارد، اما انولوپ آن بسیار پلی‌مورف‌تر از سایر هـرپس ویـروس‌هاسـت [۲]. ژنـوم HCMV بزرگتـر از سایر اجزای این خانواده است و دارای الگوی توالی‌های تکراری انتهایی و معکوس خاصی است کـه تعـداد و اندازه آنها بسته به سویه ویروس و تعداد پاساژهای داده شده‌ی آن، متفاوت است.

در سلول آلوده به HCMV سه نوع کپسـید A، B و C دیـده مـی‌شـود کـه نشـان‌دهنـده‌ی مراحـل مختلف تکثیر ویروس و مراحل مختلف شکل‌گیری ویریون می‌باشد. کپسید نـوع A فاقـد DNA اسـت. این نوع کپسید می‌تواند در سلول تجمع یابد. کپسید نوع B غالباً در هسته دیـده مـی‌شـود و اگـر چـه فاقد DNA ویروسی است ولی آماده‌ی پذیرش آن است. نوع B همچنین حـاویپروتئین‌هـای دخیـل در تجمع ویروس و ایجاد تـاخوردگی‌هاسـت. کپسـید نـوع Cیـک نوکلئوکپسـید کامـل اسـت. مطالعـات میکروسکوپ الکترونی نشان داده است که مواد تشکیل‌دهنده‌ی تگومنت HCMV در نواحی نزدیک بـه کپسید ویروس دارای غلظت زیادتری نسبت به سایر فواصل تا انولوپ است. همچنین مشاهده شده کـه فاصله‌ی بین مارپیچ‌های DNA در سیتومگالو ویروس به هـم نزدیکتـر اسـت تـا در هـرپس سـمیلکس ویروس تیپ یک. در واقع این فاصله در HCMV حدود $۲۶ A^{\circ}$ است ولـی در HSV تیـپ یـک حـدود

1- Virion structure
2- Genome organization
3- Capsid
4- Envelope
5- Tegument

$۳۰ A^{\circ}$می‌باشد. این امر نشان می‌دهد که ژنوم‌های بزرگتر چگونه برایبسته‌بندی شدن تجمع پیدا می کنند[۲].

سلول‌های انسانی آلوده به HCMV سه نوع ذره‌ی ویروسی تولید می‌کنند.

اول: ویریون‌ها

دوم: ذره‌های انولوپ‌دار غیرعفونت‌زا

سوم: دنس‌بادی‌ها[1]

ویریون‌ها حاوی نوکلئوکپسیدی در حدود ۱۳۰ nm می‌باشند که ۵٪ بزرگتر از نوکلئوکپسید جنس هرپس سیمپلکس ویروس‌هامی‌باشد. ذرات انولوپ‌دار غیرعفونت‌زا در زیر میکروسکوپ الکترونی متفاوت از ویریون‌ها دیده می‌شوند، زیرا آنها فاقد نواحی تجمعیDNA ویروس هستند. آنچه مسلم است این است که بیشتر از ۱۰۰ برابر ذرات ویروس کامل یا ویریون‌های عفونت‌زا، سایر ذرات ویروس در مخزن‌های حاصل از کشت ویروس وجود دارند [۲].

۱-۳.پروتئین‌های ویروسی

ویروس خالص شده‌یHCMV حدوداً حاوی ۳۰ تا ۴۰ پلی‌پپتید با وزن مولکولی ۲۰ تا ۳۰۰ KDa می باشد. کپسید ویروس از هفت پروتئین تشکیل شده است که دقیقاً همولوگ ۷ پروتئین تشکیل‌دهنده ی کپسید HSVمی‌باشند. پروتئین اصلی کپسید[2]یا MCP که توسط ژن UL86 بیان می‌شود، هگزون‌ها و پنتون‌های کپسید را می‌سازد. MCP در HCMV ۱۳۷۰ اسیدآمینه دارد. گروه دیگری از پروتئین‌ها با اتصال به ساختمان اصلی، شکل کامل کپسید را پدید می‌آورند. این گروه از پروتئین‌ها عبارتند از:

الف) پروتئین فرعی کپسید[3]یا (mCP) که توسط ژن UL85 کدگذاریمی‌شود و در HCMV ۳۰۶ اسیدآمینه دارد.

ب) پروتئین فرعی متصل‌شونده به کپسید[4]یا mC-BP که توسط ژن UL46 تولید می‌شود و در HCMV ۲۹۰ اسید آمینه دارد.

1- Dense bodies
2- Major capsid protein
3- Minor capsid protein
4- Minor capsid binding protein

پ) کوچکترین پروتئین کپسید[1]یا SCP کـه توسـط ژن UL-48A تولیـد مـی‌شـود و در HCMV از ۷۵ اسیدآمینه تشکیل شده است.

ت) سه پروتئین مجزا که در حد تجمع ویروس دخالت دارند و اَسِمبِلین[2] نامیده می‌شـوند کـه توسـط ژن‌های UL80،UL80.5 وUL80.59تولید می‌شوند[۲].

انولوپ ویروس حاوی دو مجموعه از گلیکوپروتئین‌های سطحی محافظت شده می‌باشد. یکی از آنها گلیکوپروتئین B[3] است که حاصل بیان UL55 ویـروس مـی‌باشـد. ایـن گلیکـوپروتئین تحـت فرآینـد پروتئولیتیکی قرار گرفته و به دو قسمت تقسیم شده است که دو قسـمت آن بـه وسـیله‌ی پیونـدهای کوالانسی (دی سولفیدی) به هم متصل باقی مانده‌اند. گروه دوم گلیکوپرتوئین‌های سطحی مجموعه‌ای از gH، gL و gOمی‌باشند که به ترتیب حاصل بیان ژن‌هایUL75، UL115 و UL74 است. در این میـان gBیکی از پروتئین‌های محافظت شده در بین این ویروس‌هاست. بر روی انولـوپ سـیتومگالوویروس‌هـا برخلاف اعضای آلفا هرپس ویرینه و گاما هرپس ویرینه گلیکوپروتئین‌های اختصاصی گروه وجود ندارد [۲].

همانگونه که ذکر شد بین کپسید ویروس و انولوپ آن فضایی به نـام تگومنـت وجـود دارد. در ایـن فضا بیشتر از ۲۵ پروتئین ویروسی وجود دارد که بسیاری از آنها فسفوریله هسـتند بنـابراین بـا آوردن پیشوند PP جلوی نام آنها از آنها نام می‌برند. پروتئین‌هـای مهـم ایـن فضـا عبارتنـد از PP65، PP150، PP28 وPP61. البته تعدادی فعـال‌کننـده نسـخه‌بـرداری نیـز در ایـن فضـا وجـود دارنـد کـه عبارتنـد ازPPUL82،PPUL69، PTRS وPIRS1. فعالیت اکثر پرتئین‌های تگومنت به درستی شناخته نشده است اما اکثراً بین بتاهرپس ویروس‌ها مشابه می‌باشند[۲،۱].

۱-۴. گلیکوپروتئین‌های انولوپ

HCMV بیش از ۶۰ گلیکوپروتئین دارد که تعدادی از آنها بـر روی انولـوپ ویـروس ظـاهر مـی‌شـوند. انولوپ این ویروس شامل لیپید دو لایه‌ای است که آن را از غشاهای داخل سلول میزبـان خـود گرفتـه است. گلیکوپروتئین‌های سطحی ویروس از اجزای ویروسی هسـتند کـه بسـیاری از انـواع پاسـخ‌هـای

1- Small capsid protein
2- Assembelin
3- Glycoprotein B (gB)

ایمنی میزبان، به خصوص پاسخ‌های با واسطه‌یآنتی‌بادی علیه آنها برانگیخته می‌شوند[۲].

حداقل ۸ گلیکوپروتئین بر روی انولوپ ویروس بیان می‌شوند که gB اصلی‌ترین آنهاست [۱]. این گلیکوپروتئین بیشترین حفاظت و ثبات در توالی را در بین انواع گلیکوپروتئین‌های سطحی از خود نشان می‌دهد. gBیک اینتگرال پروتئین است که وظایف متعددی را برای آن در نظر گرفته‌اند که عبارتند از:

۱- اتصال به سلول هدف و کمک به ویروس در جهت ورود به سلول

۲- انتقال ویروس از سلولی به سلول دیگر

۳- اتصال غشاء سلول‌های آلوده به ویروس به یکدیگر

۴- کمک به آزاد شدن ویریون‌هایی که تازه تولید شده‌اند[۲].

gB به هپاران سولفات‌های ۳۰ تا ۳۶ KDa سطح سلول‌های میزبان متصل شده و راه ورود ویروس را هموار می‌سازد. gB از یک پیش‌ساز ۹۰۶ اسیدآمینه‌ای با وزن مولکولی۱۵۰ KDa تشکیل شده است. در سلول به کمک پروتئینازهای سلولی و در دستگاه گلژی بین اسیدآمینه‌ی ۴۶۰ و ۴۶۱ برشی ایجاد می‌شود و مولکول به دو قطعه‌ی مجزا از هم، ولی متصل به کمک پیوندهای دی‌سولفیدی، تقسیم می‌شود. دو قطعه‌یgB به ترتیب ۹۰ و ۵۵ KDa وزن دارند و به همین صورت هترودایمر نیز بر روی انولوپ ویروس ظاهر می‌شوند.

از آنجایی که این گلیکوپروتئین فوق‌العاده محافظت شده است و از طرفی بسیار ایمونوژنیک نیز می‌باشد به عنوان کاندیدایی برای واکسن‌های نوترکیب زیرواحدی[1] درنظر گرفته شده است. همانگونه که عنوان شد gB اصلی‌ترین گلیکوپروتئین ویروس است که هدف آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده‌ی میزبان قرار می‌گیرد. با این توضیح که علیه ناحیه‌یC ترمینال آن یعنی پروتئین ۵۵ KDa، بسیار بیشتر از N ترمینال آن یعنی پروتئین ۹۳ KDa، آنتی‌بادی تولید می‌شود. در نتیجه پاسخ آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه ناحیه‌یC ترمینال قادر خواهد بود عفونت‌زایی ویریون‌هایHCMV را خنثی نماید. اگر چه تفاوت توالیDNA در ژن تولیدکننده‌یgBیعنی UL۵۵ از سویه‌ای به سویه‌ی دیگر در میان سوش‌هایHCMV بسیار اندک است ولی در نواحی خاصی از آن در بین سویه‌های متفاوت HCMV تفاوت وجود دارد و بر اساس همین تفاوت موجب پدید آمدن چهار ژنوتیپ متفاوت gB در میان

1- Recombinant subunit vaccine