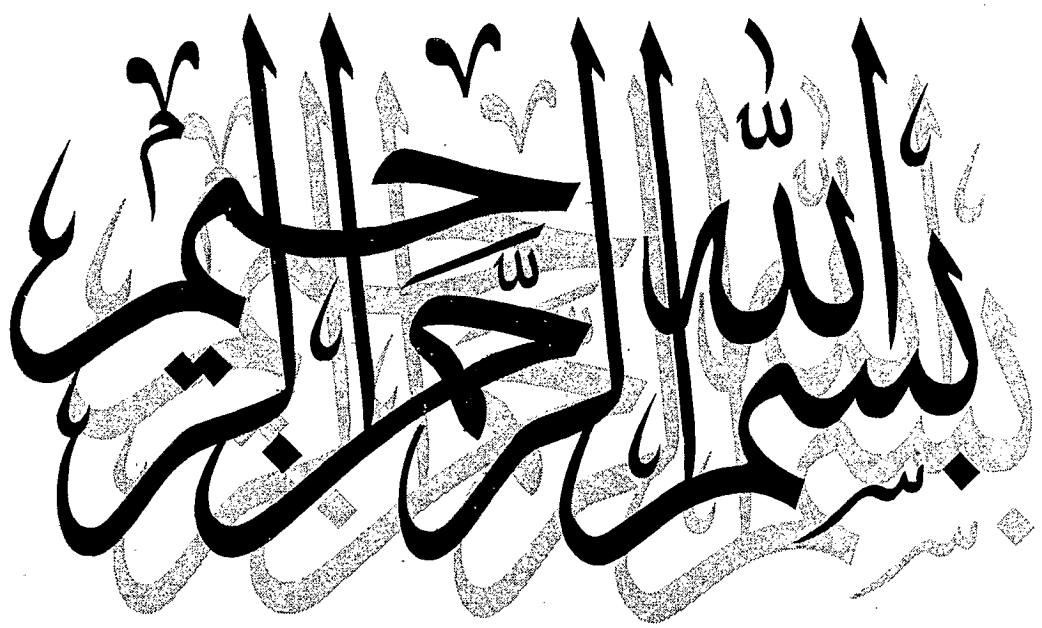
١١١٩



١٠٣٥٩٥

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته ویروس شناسی علوم پزشکی

عنوان پایان نامه:

بررسی اثر ایمنی‌زایی واکسن DNA بیان کننده VP22 و اپی‌توپ ایمونودامیننت گلیکوپروتئین B ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک در موش‌های C57BL/6

نگارش:
محمدحسن پوریای‌ولی

استاد راهنما:
دکتر طراوت بامداد

استاد مشاور:
دکتر مسعود پارسانیا

۱۳۸۷ /۷/ ۱۷

تابستان ۸۷

۱۰۲۰۹۵

فرم تأییدیه اعضای هیأت داوران مندرج در پایان‌نامه کارشناسی ارشد»

بدینوسیله پایان‌نامه کارشناسی ارشد آقای محمد حسن پوریای ولی 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:

دکتر طراوت بامداد (استاد راهنما)

دکتر مسعود پارسانیا (استاد مشاور)

دکتر مریم خیر اندیش (استاد ناظر)

دکتر مهرداد روانشاد (استاد ناظر)

دکتر مهرداد روانشاد (نماینده تحصیلات تکمیلی)

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، 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 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 روان شناسی است که در سال ۱۳۸۷ در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی آقای دکتر ... مشاوره ... آقای دکتر ... 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 ۵: 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 محمدحسن پوریای ولی دانشجوی رشته روان شناسی مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

۱۳۸۷ /۷/ ۱۰

نام ونام خانوادگی محمدحسن پوریای ولی

تاریخ و امضا

۴

۱۳۸۷ /۴/۱۵

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 . محمدحسن پوریای ولی
تاریخ و امضاء ۱۳۸۵/۴/۲۵

تقدیم به:

دو عشق پاک زندگی

پدر و مادر عزیزم

سپاسگزاری

خدایا سپاس تو را از برای هر آنچه که مهربانانه به من عطا کردی، و شکر تو را که مرا در مسیر بالندگی و افتخار، عاشقانه هدایت کردی.

لازم است در ابتدا از زحمات **سرکار خانم دکتر طراوت بامداد** که هدایت و راهنمایی این پایان نامه را پذیرفته و همواره با شکیبایی مرا در تمامی مراحل انجام کار یاری رساندند، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.

همچنین شایسته است از **جناب آقای دکتر پارسانیا**، که در مسیر انجام این پایان نامه همواره از مشاوره‌ها و راهنمایی‌های ارزنده‌شان بهره‌ها گرفتم، کمال تقدیر و تشکر را به عمل آورم.

با سپاس از **سرکار خانم دکتر صباحی**، مدیریت محترم گروه ویروس شناسی، که مشتاقانه در تمام مراحل این دوره تحصیلی مرا مورد حمایت و لطف خویش قرار داده‌اند.

با تشکر از اساتید خوبم **سرکار خانم دکتر سلیمان‌جاهی** و **جناب آقای دکتر روانشاد** که در طول مراحل تحصیلی‌ام در این دانشگاه از ارائه هیچ کمکی به من دریغ ننمودند.

در پایان جا دارد از **جناب آقای دکتر زهیر محمد صراف**، مدیر محترم گروه ایمنی شناسی و **جناب آقای میرسعید**، کارشناس محترم گروه ویروس‌شناسی و از دوستان خوبم بویژه آقایان درستکار، جمالی، خوانساری‌نژاد، تیموری، شناگری، قنبری، مهدوی، فرشچیان، سپهر، اکبری، فرخ‌نیا، مرتضوی، رضوانی، گلابی، قادری و سایر دوستان و عزیزانی که به نوعی مرا در انجام این پژوهش یاری رساندند، سپاسگزاری نمایم.

چکیده

ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک (HSV-1) Herpes simplex virus type 1 از جمله ویروسهای شایع در جمعیت های انسانی می باشد که انسان تنها مخزن آن بشمار می رود. این ویروس می‌تواند طیف وسیعی از بیماریها، شامل عفونتهای ناحیه صورت و دهان و عفونت ژنیتال را ایجاد نماید.

مطالعات نشان داده که هرچند هردو بازوی سیستم ایمنی، هومورال و سلولی، در جلوگیری ومحدود کردن عفونت‌های ناشی از HSV1 موثرند ولی ایمنی سلولی وخصوصاً سلول‌های CTL دارای نقش کلیدی می باشند.

استفاده از واکسن‌های DNA ازجدیدترین شیوه‌هایی است که برای واکسیناسیون ارائه شده است. ایمنی زایی بابهره‌گیری از این نوع واکسن می تواند منجر به راه‌اندازی پاسخ ایمنی سلولی وهومورال به طور قوی گردد.

مطالعات اخیر نشان می دهد که اپی توپ ایمنودامیننت گلیکوپروتئین B ویروس هرپس سیمپلکس از جمله اهداف اصلی سیستم ایمنی سلولی بوده و به همین جهت انتخاب مناسبی در طراحی واکسن‌هایDNA و بدنبال آن ارتقاء سیستم ایمنی می‌باشد.

استراتژیهای مختلفی در جهت افزایش قدرت ایمنی‌زایی واکسن‌ها، از جمله واکسن‌های DNA ارائه شده است. یکی از روش‌هایی که اخیراً در جهت تقویت واکسن‌های DNA بر پایه اپی‌توپ مطرح می باشد بهره-گیری از کمک لنفوسیت‌های T کمک کننده در مراحل (ابتدایی یا انتهایی) فعال‌سازی سیستم ایمنی می-باشد و دیگری استفاده از پروتئین VP22 ویروس هرپس سیمپلکس در گسترش بین سلولی اپی‌توپ کد کننده واکسن DNA می‌باشد.

دراین تحقیق اثر ایمنی زایی واکسن DNA کد کننده اپی توپ ایمنودامیننت gB بهمراه VP22 و همینطور پروتکل های مختلف تزریق (شامل تقدم و تاخر تزریق DNA واکسن gB و اپی توپ ایمنودامیننت gB) در ارتقاء ایمنی سلولی موش C57BL/6 با کمک تست های پرولیفراسیون لنفوسیتی، ارزیابی سیتوتوکسیسیتی با کمک فلوسایتومتری، سنجش میزان سایتوکاین توسط الایزا مورد ارزیابی قرارگرفته است.

نتایج نشان داد تزریق ابتدایی DNA واکسن کد کننده ژن کامل gB و تزریق بعدی واکسن کد کننده اپی-توپ gB بخوبی می تواند در فعال سازی و گسترش ایمنی سلولی موثر واقع شود. اما نتایج حاصل از مقایسه گروههایی که واکسن DNA کد کننده اپی توپ ایمنودامیننت gB بهمراه VP22 دریافت کرده‌اند در مقابل

گروههایی که واکسن DNA کد کننده اپی‌توپ را بتنهایی دریافت کرده‌اند نشان داد که VP22 در کنار اپی-توپ ایمنودامیننت نمی‌تواند در افزایش سطح ایمنی سلولی موثر باشد

واژگان کلیدی: هرپس سیمپلکس تیپ ۱، واکسن DNA، اپی‌توپ ایمنودامیننت gB ،VP22

فهرست مطالب

عنوان | صفحه

فصل اول: مقدمه ۱

فصل دوم: کلیات و مروری بر مطالعات گذشته ۵

۲-۱. ویروس هرپس سیمپلکس ۶

۲-۲. ساختار و مورفولوژی ویروس ۶

۲-۳. مراحل تولید ویریون (ویروس عفونتزا) ۷

۲-۳-۱. ورود ویروس ۷

۲-۳-۲. بیان ژنهای ویروسی ۸

۲-۳-۳. تکثیر ژنوم ویروس،سرهم بندی و خروج ویروس ۸

۲-۴. بیماری زایی ۹

۲-۴-۱. بیماری گلو ودهان ۱۰

۲-۴-۲. بیماری تناسلی ۱۰

۲-۴-۳. عفونتهای نوزادی ۱۰

۲-۴-۴. عفونتهای چشمی ۱۱

۲-۴-۵. عفونتهای پوستی ۱۱

۲-۴-۶. عفونت سیستم اعصاب مرکزی ۱۲

۲-۵. درمان ۱۲

۲-۶. پاسخ ایمنی میزبان بر علیه ویروس ۱۲

۲-۷. واکسیناسیون ۱۳

۱-۷-۲. واکسنهای ویریونی غیر فعال..... ۱٤
۲-۷-۲. واکسنهای زیر واحدی..... ۱۵
۳-۷-۲. ویروسهای زنده تضعیف شده ژنتیکی ۱٦
۴-۷-۲. واکسنهای دارای ویروسهای جهش یافته دارای تکثیر محدود ۱۷
۵-۷-۲. واکسنهای واجد وکتورهای زنده بیان کننده آنتی ژنهای ویروس هرپس سیمپلکس... ۱۷
۶-۷-۲. واکسن‌های DNA..... ۱۸
۱-۶-۷-۲. Minigene DNA vaccine..... ۲۰
۸-۲. گلیکوپروتئین B ۲۱
۹-۲. پروتئینVP22 ..... ۲۲
۱۰-۲. فلوسایتومتری ۲۴
۱-۱۰-۲. کلیات دستگاه فلوسایتومتری:..... ۲۵
۱-۱-۱۰-۲. محفظه جریان:..... ۲۵
۲-۱-۱۰-۲. آشکارسازها..... ۲۶
۳-۱-۱۰-۲. سیستم کامپیوتری: ۲۷
۴-۱-۱۰-۲. استفاده از روش فلوسایتومتری بر پایه دو رنگ ۲۷
فصل سوم: مواد و روش‌ها..... ۲۹
۱-۳. وسایل و دستگاههای عمومی مورد نیاز..... ۳۰
۲-۳. محیطهای کشت باکتری..... ۳۱
۳-۳. محلولها و بافرهای مورد نیاز..... ۳۱
۴-۳. محلولهای مورد نیاز برای استخراج DNA به روش لیزقلیائی..... ۳۲
۱-۴-۳. تهیه فنل، کلروفروم، ایزوآمیل الکل ۳۳

۲-۴-۳. محلول RNase A ۳۳
۳-۵. طرز تهیه آنتی بیوتیک آمپی سیلین ۳۴
۳-۶. پلاسمیدهای مورد استفاده در این پژوهش ۳۴
۳-۶-۱. وکتور $pcDNA_3$ ۳٤
۳-۶-۲. وکتور pVP22/myc-his2 ..... ۳۵
۳-۷. کشت، مستعد کردن وترانسفورم کردن باکتری ۳۶
۳-۷-۱. کشت مایع باکتری ۳۷
۳-۷-۲. کشت باکتری بر سطح جامد ۳۷
۳-۷-۳. نگهداری باکتری در حالت انجماد ۳۷
۳-۷-۴. تهیه سلولهای مستعد باکتری ۳۷
۳-۷-۵. ترانسفورم کردن باکتری ۳۹
۳-۷-۶. گزینش باکتری ترانسفورم شده ٤۰
۳-۸. استخراج پلاسمید در مقیاس کم ۴۰
۳-۹. الکتروفورز در ژل آگاروز ۴۲
۳-۱۰. استخراج پلاسمید در مقیاس انبوه با روش لیز قلیایی ۴۳
۳-۱۱. تعیین غلظت DNA ۴۴
۳-۱۲. کشت سلول ۴۴
۳-۱۲-۱. وسایل آزمایشگاهی مورد نیاز برای کشت سلول ٤٤
۳-۱۲-۲. مواد مورد نیاز برای کشت سلول ٤٦
۳-۱۲-۳. آماده کردن محیطهای کشت سلول ٤٦
۳-۱۲-۴. تهیه محیط کشت ٤۷

۳-۱۲-۵. افزودن آنتی بیوتیکها ٤٧
۳-۱۲-۶. استریل کردن محیط کشت سلول ٤٧
۳-۱۲-۷. آماده سازی و افزودن سرم ٤٨
۳-۱۲-۸. روش تهیه PBS بدون کلیسم و منیزیم ٤٨
۳-۱۲-۹. محلول تریپسین ـ ورسن ٤٨
۳-۱۲-۱۰. نگهداری سلول‌ها ٤٩
۳-۱۲-۱۱. پاساژ سلول ٤٩
۳-۱۲-۱۲. منشاء سلول‌های مورد استفاده ٥٠
۳-۱۲-۱۳. تهیه کشت سلولی Vero ٥٠
۳-۱۲-۱۴. کشت سلولهای EL4 ..... ٥١
۳-۱۳. تکثیر ویروس ٥٢
۳-۱۳-۱. تکثیر ویروس HSV-1 سویه KOS در سلول Vero ٥٢
۳-۱۴. تعیین عیار ویروس به روش $TCID_{50}$ ٥٣
۳-۱۵. کار با مدل آزمایشگاهی ٥٥
۳-۱۵-۱. موش‌های C57BL/6 ..... ٥٥
۳-۱۶. سنجش ایمنی سلولی در حیوانات مورد مطالعه ٥٧
۳-۱۶-۱. برداشت طحال موش به منظور جداسازی لنفوسیتها و کشت ٥٧
۳-۱۶-۲. استخراج سلول های طحالی ٥٨
۳-۱۷. اندازه گیری قدرت ایمنی سلولی با استفاده از فلوسایتومتری ٥٩
۳-۱۷-۱. آلوده سازی کردن سلولهای هدف (EL4) با ویروس ٦٠
۳-۱۷-۲. مجاور نمودن سلولهای عامل و هدف ٦٠

۳-۱۷-۳. مراحل آزمایش : ٦١
۳-۱۷-۴. روش رنگ آمیزی با 7AAD و Annexin-FITC ٦١
۳-۱۷-۴-۱. روش کار ۶۲
۳-۱۷-۵. خواندن نتایج توسط دستگاه فلوسایتومتری ٦٢
۳-۱۸. بررسی اینتر فرون گاما (IFN-γ) و اینترلوکین ۴ (IL-4) بروش ELISA ۶۳
۳-۱۸-۱. تحریک مجدد لنفوسیتها در شرایط آزمایشگاه ٦٣
۳-۱۹. تست MTT ۶۴
۳-۱۹-۱. روش انجام تست MTT ٦٥
۳-۲۰. آنالیز آماری ۶۶
فصل چهارم: نتایج ۶۸
۴-۱. نتایج حاصل انتقال پلاسمید pcgB، pc(epitope)، pc(epitope-VP22)، pcVP22 به درون باکتری pcDNA3 ..... ۶۸
۴-۲. استخراج و هضم آنزیمی پلاسمیدها ۶۸
۴-۳. استخراج پلاسمید در مقیاس انبوه ۶۹
۴-۴. نتایج حاصل از تعیین درجه خلوص پلاسمید تولید شده در مقیاس انبوه ۶۹
۴-۵. نتیجه حاصل از کشت سلول Vero ۷۰
۴-۵-۱. نتیجه حاصل از تکثیر HSV-1 در کشت سلولی Vero ۷۰
۴-۶. تعیین عیار عفونت زایی ویروس (TCID50) ۷۰
۴-۷. نتایج ارزیابی اثر سیتوتوکسیسیته سلولهای طحالی به روش فلوسایتومتری ۷۱
۴-۷-۱. نتیجه واکنش سیتوتوکسی‌سیته سلولهای طحالی موشهای کنترل مثبت و منفی بر سلولهای هدف ۷٤

۲-۷-۴. نتایج اثر سیتوتوکسی‌سیته سلولهای طحالی گروههای مورد مطالعه بر سلول هدف ..۷۵
۸-۴. نتایج حاصل از ارزیابی IL-4 و IFN-γ در مایع روی کشت سلولهای طحالی ۷۹
۹-۴. نتایج حاصل از ارزیابی پرولیفراسیون لنفوسیتی به روش MTT ۸۴
فصل پنجم: بحث و جمع‌بندی ۸۸
۱-۵. بررسی اثر ایمن زایی واکسن DNA کد کننده ژن گلیکوپروتئین B..... ۸۹
۲-۵. بررسی اثر ایمن زایی واکسن DNA کد کننده ژن اپیتوپ ایمنودامیننت گلیکوپروتئین B ۹۰
۳-۵. بررسی اثر تقدم وتاخرتزریق واکسن DNA حاوی اپی‌توپ gB و واکسن DNA حاوی طول کامل gB (pc-gB) بر روی ایمنی سلولی موش C57BL/6..... ۹۱
۴-۵. بررسی اثر VP22 در بهینه سازی واکسن DNA..... ۹۳
۵-۵. بررسی اثر ایمنی زایی واکسن DNA کدکننده VP22..... ۹۶
منابع: ۹۹

فصل اول

مقدمه

۱. مقدمه

ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱ از اعضاء خانواده هرپس ویریده می‌باشد. تحقیقات سرواپیدمیولوژیک، گسترش جهانی عفونتهای ناشی از این ویروس را ثابت کرده است. این ویروس عامل ایجاد بیماریهای متعددی از قبیل هرپس لبی، التهاب حاد لثه و دهان، فارنژیت وکراتوکونژکتیویت و... می‌باشد و به دلیل ماهیت نوروتروپیک آن قادر به ایجاد اشکال شدیدی از آنسفالیت می باشد عفونتهای شدید ومنتشر و آنسفالیت ناشی از این ویروس در کودکان وهمچنین افراد دارای نقص سیستم ایمنی معمولاً بامرگ همراه است [۱،۲،۳].

ویروس هرپس نه تنها توانایی ایجاد عفونت اولیه را دارد بلکه قادر است در گانگلیونهای عصبی نهفته شده و تحت شرایط خاصی دوباره فِعال شود و ایجاد عفونت کند. مطالعات انجام شده نشان داده که حتی یکبار آلودگی هم، گاهی سبب نهفتگی ویروس می‌شود [۴].

نهفتگی و عود مجدد ویروس به همراه توانایی ویروس در ایجاد بیماری‌های مخاطی و سیستمیک نه تنها HSV را به یکی از شایعترین ویروسهای بیماریزای انسانی تبدیل کرده است بلکه پیشگیری و درمان آن را با مشکلات عدیده‌ای روبرو کرده بطوریکه تا به امروز دستیابی به یک راه حل مناسب برای آن نا ممکن بوده است [۵،۶،۷].

مطالعات نشان داده است که برای مقابله با عفونت HSV، فعال شدن سیستم ایمنی هومورال و سلولی نیاز می‌باشد. چون در طی عفونت آنتی بادیهای خنثی کننده فقط قادر به غیر فعال کردن پارتیکلهای ویروسی آزاد هستند و قدرت مهار عوامل عفونتزای داخل سلولی را ندارند، لذا تحریک ایمنی سلولی هدف اصلی کنترل عفونتهای HSV می‌باشد [۸].

با توجه به خصوصیت نهفتگی، عود مجدد ویروس و موثر نبودن درمان های دارویی خصوصاً برای ممانعت از عود ویروس، به نظر می‌رسد راه مناسب برای مهار این ویروس بهره‌گیری از واکسن‌ها می‌باشد.

مقاصدی که برای واکسن ویروس هرپس سیمپلکس وجود دارد با واکسن‌هایی که برای بسیاری از بیماری‌های عفونی وجود دارد، متفاوت است زیرا در مورد ویروس هرپس سیمپلکس، عملکرد واکسن نباید فقط محدود به جلوگیری از عفونت اولیه باشد، بلکه می‌بایست عفونت‌های عود کننده را نیز کنترل کند [۹].

واکسن‌هایی که تا بحال در مورد ویروس هرپس سیمپلکس تهیه شده است شامل واکسن‌های متشکل از ویریون‌های غیر فعال شده، واکسن‌های ساب یونیت، واکسن‌های متشکل از ویروس‌های تخفیف حدت یافته ژنتیکی، واکسن‌های متشکل از وکتورهای زنده بیان کننده ژنهای ویروس و واکسنهای DNA، می باشند.

امروزه مزایای DNA واکسن‌ها، چه در مواردی که از طول کامل یک ژن استفاده شده و چه در مواردی که از اپی‌توپ‌های یک ژن استفاده شده، بسیار مورد توجه بوده است.

تاکنون تحقیقات متعددی در مورد بهره گیری از پلاسمیدها به عنوان ناقل ژنهای کد کننده گلیکوپروتئینهای ایمن زا، از ویروس هرپس سیمپلکس انجام گرفته است.

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که دو گلیکوپروتئین B و D ویروس هرپس سیمپلکس تایپ یک از جمله اهداف اصلی سیستم ایمنی هومورال و سلولی می‌باشند و به همین جهت انتخاب مناسبی برای واکسنهای DNA و یا واکسنهای ساب یونیت می‌باشند [۱۰،۱۱].

گلیکوپروتئین B (gB) ویروس هرپس سیمپلکس تایپ یک، یکی از حفاظت‌شده‌ترین پروتئینهای این ویروس می‌باشد و نقش مهمی در عفونت‌زایی ویروس دارد، این گلیکوپروتئین یک پروتئین ایمونوژن مهم است که پاسخهای سلولی وهومورال را تحریک می‌کند، بطوریکه منجر به تولید آنتی بادیهای خنثی‌کننده و القاء سلولهای T کمکی و خصوصاً آنتی ژن عمده مورد هدف سلولهای T سیتوتوکسیک در بیشتر موارد می‌باشد [۱۲،۱۳].

پاسخ‌های ایمنی طبیعی، تمام پروتئینها و یا اپی‌توپهای یک پروتئین بعنوان ایمنوژن مورد شناسایی قرار نمی‌دهند و اغلب بر روی تعداد نسبتاً کم و یا گاهی یکی از اپی‌توپهای در یک پروتئین بسیج می‌شوند.که به این پدیده، غالبیت ایمنی گفته می‌شود [۱۴]. یکی از این موارد اسید آمینه‌های ۴۹۸ تا ۵۰۵ گلیکوپروتئین B ویروس می‌باشد که یک اپی‌توپ با غالبیت ایمنی به شمار می‌رود، بطوریکه دیده شده است که بخشی از سلولهای +CD8 اختصاصی HSV-1 که از موشهای C57BL/6 بدست آمده است، برای این شاخص آنتی‌ژنیک دارای اختصاصیت می‌باشند [۱۵،۱۶].

یکی از روش‌هایی که اخیراً در جهت ارتقاء واکسن‌های DNA مطرح می‌باشد استفاده از پروتئین VP22 ویروس هرپس سیمپلکس می‌باشد، این پروتئین عمده‌ترین پروتئین تگومنت بوده و نقش مهمی در انتشار ویروس در بین سلول‌ها و انتقال به نرون‌ها دارد [۱۷، ۱۸]. این پروتئین به تنهایی و بدون همکاری سایر پروتئینهای ویروس قادر به انتقال بین سلول‌ها می‌باشد. بنظر می‌رسد استفاده از چنین پروتئینی بهمراه یک اپی‌توپ ایمننودامیننت، می‌تواند باعث ارائه بهتر آن اپی‌توپ به سیستم ایمنی گردد.

در این پژوهش سطح ایمنی‌زایی، در پروتکل های زمانی مختلف تزریق اپی‌توپ gB (pc-epitope) و وکتور کد کننده ژن کامل gB (pc-gB) بررسی شد و همچنین اثر VP22 در سطح ایمنی‌زایی واکسن DNA کد کننده فیوژن پروتئین (اپی توپ ایمنودامیننت گلیکوپروتئین gB ویروس HSV-1، به همراه پروتئین VP22 آن ویروس) مورد بررسی قرار گرفته است.

فصل دوم

کلیات و مروری بر مطالعات گذشته