دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست شناسی- میکروبیولوژی

بررسی آلودگی به ویروس SENV در سرم افراد سالم و افراد آلوده به ویروس‌های هپاتیت B و C در استان یزد

استاد راهنما:

دکتر مجید بوذری

پژوهشگر:

سیده عظیمه حسینی

آبان ماه ۱۳۹۲

کلیه حقوق مادی و معنوی مرتبت بر دستاوردهای مطالعات

ابتکارات و نوآوری های ناشی از پژوهش موضوع این

پایان نامه متعلق به دانشگاه اصفهان است.

.

دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست شناسی - میکروبیولوژی

سیده عظیمه حسینی تحت عنوان

بررسی آلودگی به ویروس SENV در سرم افراد سالم وافراد آلوده به ویروس‌های هپاتیت B و C در استان یزد

در تاریخ ۲۷ / ۱۳۹۲/۰۸ توسط هیات داوران زیر بررسی و با درجه ..... به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای پایان نامه	دکتر مجید بوذری	با مرتبه علمی	دانشیار	امضاء
۲- استاد داور داخل گروه	دکتر فاتح رحیمی	با مرتبه علمی	استادیار	امضاء
۳- استاد داور داخل گروه	دکتر محمد ربانی	با مرتبه علمی	دانشیار	امضاء

امضای مدیر گروه

دکتر سعید افشارزاده

سپاس خدای را، که نومید نیستم از رحمت او، تهیدست نیستم از نعمت او، و نه

مأیوس از مغفرت او، و نه سرپیچیده از عبادت او، خدایی که رحمت او پیوسته است

و نعمت او ناگسسته.

سپاس از استاد دانشمند و پرمایه ام جناب آقای دکتر مجید بوذری

که از محضر پر فیض تدریسشان، بهره ها برده ام.

درود فراوان خدمت پدر و مادر عزیزم،

که پیوسته جرعه نوش جام تعلیم و تربیت، فضیلت و انسانیت آنها بوده ام و همواره چراغ

وجودشان

روشنگر راه من در سختی ها و مشکلات بوده است.

و با تشکر خالصانه خدمت همه کسانی که به نوعی مرا در به انجام رساندن این مهم

یاری نموده اند.

ماحصل آموخته هایم را تقدیم می کنم

به آنان که مهر آسمانی شان، آرام بخش آلام زمینی ام است

به استوارترین تکیه گاهم، دستان پرمهر پدرم

به سبزترین نگاه زندگیم، چشمان سبز مادرم

برادران و خواهرانم، همراهان همیشگی و پشتوانه های زندگیم

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بکوشم قطره ای از دریای بی کران مهربانیتان را

سپاس نتوانم بگویم.

امروز، هستی ام به امید شماست و فردا کلید باغ بهشتم رضای شما

گران سنگ تر از این ارزان نداشتم تا به خاک پایتان نثار کنم، باشد که حاصل تلاشم نسیم گونه غبار

خستگیتان را بزداید.

بوسه بر دستان پرمهرتان

چکیده :

بیش از ۸۰ درصد از موارد هپاتیت توسط پنج نوع از ویروس‌های هپاتیت (A-E) که معمولا به عنوان ویروس‌های هپاتوتروفیک (متمایل به کبد) شناخته شده اند، ایجاد می شود. علت ۲۰٪ از موارد باقی مانده و همچنین ۱۰٪ از موارد هپاتیت متعاقب انتقال خون ناشناخته بوده و ممکن است ویروس‌های دیگر در ایجاد آنها دخیل باشند. جدیدترین ویروسی که به عنوان عامل این نوع از هپاتیت‌ها پیشنهاد شده است، ویروس SENV می‌باشد. ویروس SENV بیش از ۹ ژنوتیپ از A تا I دارد که در میان آنها، ژنوتیپ های D و H در افراد مبتلا به هپاتیت با منشا ناشناخته شایع تر هستند. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی SENV-D و SENV-H در سرم افراد سالم و بیماران مبتلا به هپاتیت B و C در استان یزد بود. همچنین برای مشخص کردن نقش احتمالی ویروس SENV در ارتباط یا بیماری‌های کبدی، آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) کبدی اندازه گیری شد. دویست نمونه سرم از افرد سالم و ۱۰۰ نمونه سرم از افراد مبتلا به هپاتیت B و C جمع آوری شد. پادتن‌های ضد HCV و HIV، آنتی ژن سطحی (HBsAg) و آنتی ژن مرکزی ویروس هپاتیت B و همچنین آنزیم های کبدی ALT و AST اندازه گیری شدند. DNA استخراج و با روش PCR داخلی تکثیر شد. برای بررسی‌های آماری از آزمون‌های Fisher's و unpaired ANOVA test با استفاده از نرم افزار Graphpad استفاده شد.

دو محصول به طور تصادفی از هر یک از گروه‌های مورد مطالعه افراد سالم، افراد مبتلا به هپاتیت B و C انتخاب شدند و توسط شرکت تکاپوزیست ایران تعیین توالی شدند. ردیف کردن توالی‌ها با استفاده از روش ClustalW در نرم افزار MEGA5 و Bio edit انجام شد. با استفاده از روش Neighbor joining درخت فیلوژنتیکی بر اساس ORF1 از توالی های بدست آمده در این تحقیق با شماره‌های دسترسی AB856066، AB856068 وAB856070 برای توالی های SENV-H و شماره‌های دسترسیAB856069، AB856067 و AB856071 برای توالی‌های SENV-D و تعدادی از توالی‌های موجود در بانک ژن، رسم شد. بر اساس مقایسه توالی‌ها با روش WU-Blast2 و ترسیم درخت فیلوژنتیکی، شباهت بالایی بین توالی‌های بدست آمده در این تحقیق و بعضی از سویه های شناسایی شده در استان گیلان مشاهده شد. فراوانی ویروس SENV و دو ژنوتیپ آن در بیماران هپاتیت B و C به طور قابل توجهی پایین تر از افراد سالم بود ($P < 0.01$). فراوانی SENV-H در تمام گروههای مورد مطالعه بالاتر از SENV-D بود. تفاوت معنی‌داری در رابطه با جنس، سن و آنزیم های کبدی در افراد SENV مثبت و منفی در افراد سالم مشاهده نشد. در افراد SENV مثبت مبتلا به HBV سطح آنزیم های کبدی ALT و AST به طور معنی داری پایین‌تر از افراد SENV منفی بود($P < ۰/۰۵$). همین حالت در مورد موارد SENV-H مثبت و منفی مشاهده گردید. این مقایسه در بیماران مبتلا به HCV هیچ تفاوت معنی‌داری را از نظر هیچ یک از عوامل ذکر شده نشان نداد. فراوانی ویروس SENV (به طور کلی) و ژنوتیپ H این ویروس در بیماران مبتلا به هپاتیت C به طور معنی داری در مردها بالاتر بود($P < ۰/۰۵$). نکته قابل توجه در این مطالعه حاضر این بود که سطح آنزیم های کبدی (ALT و AST) در بیماران مبتلا به HBV آلوده به ویروس SENV نسبت به بیماران مبتلا به هپاتیت B، به طور قابل توجهی پایین تر بود ($P < 0.05$) . این ممکن است به دلیل تاثیر این ویروس در پاتولوژی کبد همراه با کاهش آسیب کبدی و در نتیجه کاهش سطح آنزیم‌های کبدی باشد.

کلمات کلیدی: ویروس هپاتیت B، ویروس هپاتیتC، PCR داخلی، ویروس SENV، SENV-D، SENV-H

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول : کلیات

۱-۱ مقدمه ۱

۱-۲ خصوصیات ساختاری، ژنومی و رده بندی ویروس SENV ۲

۱-۳ همانندسازی ویروس SENV ۷

۱-۴ روش های شناسای ویروس SENV ۷

۱-۴-۱ شناسایی محصول PCR توسط پروب های اختصاصی ۷

۱-۴-۲ شناسایی محصول PCR توسط ژل الکتروفورز ۹

۱-۵ شناسایی ویروس SENV در کبد انسان ۹

۱-۶ اپیدمیولوژی ۹

۱-۷ عفونت همزمان ویروس SENV و ویروس های هپاتیت B وC ۱۱

۱-۸ عفونت همزمان ویروس SENV و ویروس های دیگر و راه‌های انتقال آن ۱۲

۱-۹ ارتباط ویروس SENV با بیماری های کبدی ۱۲

۱-۱۰ عفونت ویروس SENV در بیماران همودیالیزی ۱۳

۱-۱۱ انتقال از مادر به فرزند ۱۳

۱-۱۲ ارتباط ویروس SENV با بیماران HIV مثبت ۱۵

۱-۱۳ ارتباط ویروس SENV با بیماران دریافت کننده پیوند کبدی ۱۵

۱-۱۴ ویروس SENV و ارتباط آن با سرطان سلول های کبدی ۱۶

۱-۱۵ دوره عفونت ویروس SENV ۱۷

۱-۱۶ پاسخ به درمان با اینترفرون در عفونت های همراه با ویروس‌های دیگر..... ۱۷

۱-۱۷ مسیرهای آینده ۱۸

۱-۱۸ اهداف تحقیق ۱۸

عنوان صفحه

فصل دوم : مواد و روش ها

۲-۱ مواد و وسایل به کار رفته ۱۹

۲-۱-۱ دستگاه های مورد استفاده ۱۹

۲-۱-۲ مواد به کار رفته ۲۰

۲-۱-۳ وسایل پلاستیکی ۲۱

۲-۲ استریل نمودن محلول ها، وسایل و محیط آزمایشگاهی ۲۱

۲-۳ تهیه نمونه های سرم ۲۱

۲-۴ سنجش و بررسی آنزیم های کبدی ۲۲

۲-۴-۱ آسپارتات آمینوترانسفراز (AST یا (SGOT ۲۲

۲-۴-۲ مراحل واکنش به تفکیک و همراه با ذکر سوبسترا، محصولات و کوآنزیم ۲۲

۲-۴-۳ مقادیر طبیعی AST در نمونه های بیولوژیک (نظیر سرم و ادرار) ۲۳

۲-۴-۴ آلانین آمینوترانسفراز (ALT یا (SGPT ۲۳

۲-۵ استخراج DNA ۲۶

۲-۵-۱ مواد مورد استفاده ۲۶

۲-۵-۱-۱ روش تهیه NaCl ۰/۲ مولار ۲۷

۲-۵-۱-۲ روش تهیه SDS ۲۵ /۰ درصد ۲۷

۲-۵-۱-۳ روش تهیه پروتئیناز K (۱۰mg/ml) ۲۷

۲-۵-۱-۴ روش تهیه استات سدیم ۳ مولار(۲/ ۵ =pH) ۲۸

۲-۵-۱-۵ . روش تهیه تریس بیس (Tris - Base) ۲۸

۲-۵-۱-۶ روش تهیه محلول TBE ۲۹

۲-۵-۱-۷ روش تهیه دی سدیم اتیلن دی آمین تترااستات (Na2EDTA) ۲۹

۲-۵-۲ روش استخراج DNA از سرم ۲۹

۲-۵-۲-۱ خالص سازی DNA..... ۳۱

۲-۵-۲-۲ مراحل و نکات مهم در رابطه با استخراج DNA با این روش..... ۳۲

۲-۵-۳ تعیین خلوص DNA استخراج شده ۳۳

عنوان صفحه

۲-۶ تکثیر DNA (PCR) ۳۵
۲-۶-۱ مواد مورد استفاده ۳۵
۲-۶-۲ روش آماده کردن پرایمر..... ۳۵
۲-۶-۲ روش انجام PCR ۳۶
۲-۷ الکتروفورز و مشاهده محصول PCR روی ژل ۳۸
۲-۷-۱ مواد موردنیاز برای الکتروفورز ۳۸
۲-۷-۱-۱ ژل آگارز ۳۹
۲-۷-۱-۲ اتیدیوم بروماید ۳۹
۲-۷-۱-۳ روش تهیه محلول TBE ۳۹
۲-۷-۱-۴ بافر Loading الکتروفورز ۴۰
۲-۷-۱-۵ مارکر DNA ۴۰
۲-۷-۲ وسایل موردنیاز در الکتروفورز ۴۱
۲-۸ تعیین توالی نوکلئوتیدی محصولاتPCR ۴۱
۲-۸-۱ اصلاح نتایج خام توسط نرم افزار های بیوانفورماتیک ۴۱
۲-۹ نحوه بلاست کردن توالی های ژنوتیپ H و D ۴۲
۲-۱۰ تجزیه و تحلیل آمار ۴۲

عنوان **صفحه**

فصل سوم : نتایج

۳-۱ مشخصات و اطلاعات مربوط به نمونه های سرم ۴۳

۳-۲ تایید صحت و استخراج DNA از نمونه های سرم ۴۳

۳-۲-۱ تایید صحت استخراج DNA با استفاده از ژل الکتروفورز محصول استخراج شده ۴۳

۳-۲-۲ تایید خلوص DNAی استخراج شده با اندازه گیری جذب نوری محصول ۴۴

۳-۳ نتایج PCR و ژل الکتروفورز ۴۴

۳-۴ فراوانی آلودگی به ویروس SENV و ژنوتیپ های مختلف آن درافراد سالم و بیماران هپاتیتی به تفکیک جنسیت ۴۶

۳-۵ مقایسه آماری فراوانی افراد آلوده به ویروس SENV در گروه های مختلف مورد مطالعه استان یزد ۴۷

۳-۶ نتایج حاصل از مقایسه فراوانی آلودگی به ویروس SENV درگروه‌های مختلف سنی ۴۸

۳-۷ نتایج حاصل از مقایسه کلی جنسیت، سن و آنزیم‌های کبدی دربیماران مبتلا به هپاتیت و گروه کنترل ۵۲

۳-۸ ارتباط بین ژنوتیپ های D و H ویروس SENV ،سن و جنسیت در افراد آلوده به HBV ۵۳

۳-۹ ارتباط بین ژنوتیپ های D و H ویروس SENV ،سن و جنسیت در افراد آلوده به HCV ۵۳

۳-۱۰ ارتباط بین ژنوتیپ های D و H ویروس SENV ،سن وجنسیت در افراد سالم (گروه کنترل) ۵۴

۳-۱۱ مقایسه سطح آنزیم های کبدی ALT و AST در افراد سالم و بیماران مبتلا به HBV& HCV ۵۴

۳-۱۲ بررسی شباهت توالی های بدست آمده با سایر توالی های موجود در بانک ژن جهانی و رسم درخت فیلوژنتیکی ۶۴

عنوان: **صفحه**

فصل چهارم : بحث

۴-۱ فراوانی ویروس SENV در افراد سالم استان یزد و مقایسه آن با سایر مناطق دنیا ۶۵

۴-۲ فراوانی ویروس SENV در افراد بیمار آلوده به هپاتیت استان یزد در مقابل افراد سالم و مقایسه آن با سایر مناطق دنیا ۶۶

۴-۳ فراوانی ویروس SENV-H و SENV-D در گروه های مختلف مورد مطالعه و مقایسه آن با سایر مناطق دنیا ۶۶

۴-۴ بررسی ارتباط میانگین سنی در گروه های مورد مطالعه با عفونت ویروس SENV ۶۷

۴-۵ بررسی ارتباط جنسیت افراد در گروه های مورد مطالعه با عفونت ویروس SENV ۶۷

۴-۶ بررسی ارتباط آنزیم های کبدی افراد در گروه های مورد مطالعه با عفونت ویروس SENV ۶۸

۴-۷ بررسی ارتباط فیلوژنتیکی ۶۸

۴-۸ ارتباط قابل ملاحظه ژنوتیپ D ویروس SENV با درمان توسط انترفرون ۶۸

۴-۹ پیشنهادات ۶۹

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱ نقشه فرضی ژنوتیپ های SEN-D و SEN-H ۲

شکل ۱-۲ مقایسه ردیف اسیدآمینه توالی های کامل چهارده ژنوتیپ از خانواده ویروس های مرتبط با TTV..... ۴

شکل ۱-۳ نمودار فیلوژنتیکی ۲۱ سویه براساس توالی های کامل A) ORF 1-3 و B) ORF1 ..... ۶

شکل ۲-۱ پهنای باند Ladder استفاده شده در مطالعه ۳۶

شکل ۳- ۱ الکتروفورز DNAی استخراج شده از نمونه‌های سرم برای تایید استخراج..... ۴۰

شکل ۳- ۲ ژل الکتروفورز محصولات PCR از راند اول (تشخیصSENV)..... ۴۱

شکل ۳- ۳ ژل الکتروفورز محصولات PCR مرحله دوم (تشخیص SENV-H)..... ۴۲

شکل ۳- ۴ ژل الکتروفورز محصولات PCR مرحله دوم (تشخیص SENV-D)..... ۴۲

شکل ۳-۵ نمودارمقایسه فراوانی عفونت ویروس SENV در گروه های سنی مختلف در افراد سالم (۱) و افراد آلوده به HCV (۲) و HBV (۳) ۴۷

شکل ۳-۶ تصویرکروماتوگرام قطعه ای از محصول PCR توالی های ژنوتیپ های H و D ویروس SENV با استفاده از نرم افزار Chromas ۶۱

شکل ۳-۷ ردیف شدن توالی های SENV-H AH1, AH3, AH6 در مقابل توالی اصلی ۶۲

شکل ۳-۸ ردیف شدن توالی های SENV-D AH2, AH5, AH4 در مقابل توالی اصلی..... ۶۲

شکل ۳- ۹ نمودار فیلوژنتیکی توالی های بدست آمده در این بررسی در مقابل توالی های موجود در بانک ژن..... ۶۳

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱ درصد شباهت توالی های نوکلئوتیدی و اسیدآمینه ORF1 بـرای ۸ ژنوتیـپ ویروس SEN و سویه های دیگر خانواده های مرتبط با TTV ۳

جدول ۱-۲ مقایسه خصوصیات پروتئین های کد شده توسط توالی هـای ORF1 هشـت ژنوتیپ ویروس SEN ۵

جدول ۱-۳ پرایمرهای PCR نیمه آشیانه ای ویروسSENV ۸

جدول ۱-۴ پروب های مورد استفاده برای شناسایی ویروسSENV ۸

جدول ۲-۱ مشخصات پرایمرهای مورد استفاده ۳۱

جدول ۲-۲ غلظت مواد مورد استفاده در واکنشPCR ۳۴

جدول ۳-۱ مشخصات و اطلاعات مربوط به نمونه ها ۴۰

جدول ۳-۲ فراوانی آلودگی به ویروسSENV در افراد سالم ۴۳

جدول ۳-۳ فراوانی آلودگی به ویروس SENV در افراد HBV ۴۳

جدول ۳-۴ فراوانی آلودگی به ویروس SENV در افراد HCV ۴۳

جدول ۳-۵ توزیع و مقایسه آماری فراوانی افراد آلوده به SENV در گـروه هـای مختلـف مورد آزمایش ۴۴

جدول ۳-۶ توزیع و مقایسه آمـاری فراوانـی افـراد آلـوده بـه SENV-H در گـروه هـای مختلف مورد آزمایش ۴۴

جدول۳- ۷ توزیع و مقایسه آماری فراوانـی افـراد آلـوده بـه SENV-D در گـروه هـای مختلف مورد آزمایش ۴۵

جدول ۳-۸ تعداد افراد با و بدون عفونت SENV در رده های سنی مختلف ۴۵

جدول ۳-۹ تعداد افراد با و بدون عفونت SENV در رده های سنی مختلف ۴۸

جدول ۳-۱۰ تعداد افراد با و بدون عفونت SENV-H در رده های سنی مختلف..... ۴۸

جدول ۳-۱۱ تعداد افراد با و بدون عفونت SENV-D در رده های سنی مختلف..... ۴۸

جدول ۳-۱۲ مقایسه مشخصات پاراکلینیکی بین گروه های مختلف آزمایش ۴۹

جدول ۳-۱۳ مقایسه عوامل سن و جنسیت درافراد آلوده به هردو ویروس HBV و SENV ۵۰

جدول ۳-۱۴ مقایسه عوامل سن و جنسیت درافراد آلوده به هردو ویروس HCV و SENV ۵۰

جدول ۳-۱۵ مقایسه عوامل سن و جنسیت درافراد سالم با و بدون عفونت ویروس SENV. ۵۱

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱۶ مقایسه سطح آنزیم های کبدی در افراد سالم ۵۱
جدول ۳-۱۷ مقایسه سطح آنزیم های کبدی در افراد HBV ۵۲
جدول ۳-۱۸ مقایسه سطح آنزیم های کبدی در افراد HCV ۵۲
جدول ۳-۱۹ مقایسه سطح آنزیم کبدی ALT در افراد سالم و بیماران HBV ۵۳
جدول ۳-۲۰ مقایسه سطح آنزیم کبدی AST در افراد سالم و بیماران HBV ۵۵
جدول ۳-۲۱ مقایسه سطح آنزیم های کبدی ALT در افراد سالم و بیماران HCV ۵۷
جدول ۳-۲۲ مقایسه سطح آنزیم های کبدی AST در افراد سالم و بیماران HCV ۶۰

فصل اول

کلیات

۱-۱. مقدمه

بیش از ۸۰ درصد از موارد هپاتیت توسط پنج نوع از ویروس‌های هپاتیت (A-E) که معمولا به عنوان ویروس‌های هپاتوتروفیک شناخته شده اند، ایجاد می شود(Boston, et al., 2010). اما عفونت با برخی از ویروس های دیگر به درجات مختلفی از آسیب کبدی منجر می شود. در سال های اخیر عوامل ویروسی مانند TTV[۱] وSENV به عنوان عوامل احتمالی بیماریزایی کبدی معرفی شده اند. ویروس SENV با میزان شیوع بالا در بیماران دیالیزی با خطر بالا وگروه های در معرض خطرکمتر مانند اهداکنندگان خون گزارش شده است (Hosseini- Moghadam, et al., 2009).

ویروس SENV ویروسی است که از راه خون انتقال یافته و توسط محققین موسسه دیاسورین[۲] در ایتالیا در سال ۱۹۹۹کشف شد. ویروس SENV در حین تحقیق برای پیدا کردن علل ویروسی برای هپاتیت هایی که توسط ویروس هایی به جز ویروس های هپاتیت B و C ایجاد می شوند شناسایی گردید. این نوع هپاتیت ها که به وسیله انواع شناخته شده ویروس های هپاتیت ایجاد نمی شوند را هپاتیت غیر A تا E[۳] می نامند. نام SENV از اول نام اولین بیمار شناسایی شده آلوده به این ویروس که همزمان آلوده به ویروس ایدز بود، گرفته شده است (Umemura, et al., 2000 ، Primi, et al., 2000).

---

[۱] **Torque Teno Virus**

[۲] **DiaSorin Biomolecular Research Institute, Saluggia, Italy**

[۳] **Non -A-to–E hepatitis**

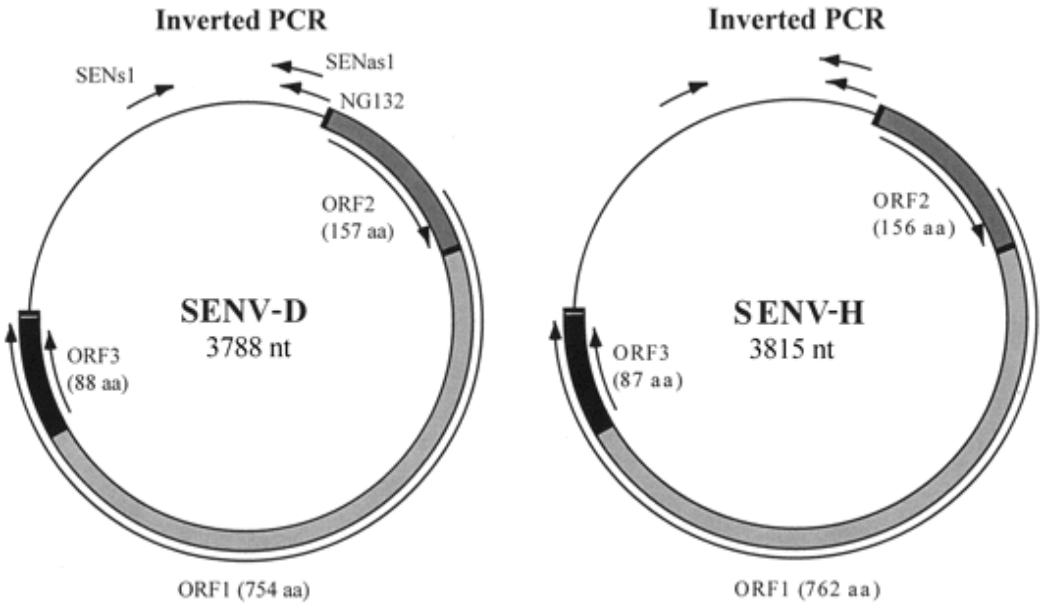
۱-۲. خصوصیات ساختاری، ژنومی و رده بندی ویروس SENV :

ویروس SENV دارای ژنوم DNAی تک رشته ای، حلقوی، با طول تقریبی ۳۹۰۰ نوکلئوتید می‌باشد. این ویروس بسیار کوچک و بدون پوشش می باشد و اندازه آن ۲۶ نانومتر است (Karimi and Bouzari, 2010).

در حال حاضر طبق طبقه بندی کمیته بین المللی رده بندی ویروس ها (ICTV)[۱] این ویروس درخانواده Anelloviridae طبقه بندی می شود. بررسی های فیلوژنتیکی نشان داده اند که ویروس SENV ۹ ژنوتیپ از A تا I دارد و ژنوتیپ ها دارای فراوانی های متفاوتی می باشند (Tanaka, et al., 2001).

تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ های شناخته شده ویروس SENV زیاد است و با توجه به این موضوع امکان این وجود دارد که ژنوتیپ های جدیدی در مطالعات بعدی کشف شوند(Kojima, et al., 2003).

ژنوتیپ های D وH این ویروس به ترتیب دارای ۳۷۸۸ و ۳۸۱۵ نوکلئوتید می باشند. نقشه فرضی ژنوتیپ های SENV -D و SENV -H توسط روش PCR[۲]معکوس رسم شده است (شکل۱-۱).



شکل۱-۱. نقشه فرضی ژنوتیپ های SENV-D و SENV-H (Tanaka, et al., 2001).

ویروس SENV حداقل دارای سه چهارچوب باز خواندن به نام های ORF1[۳]، ORF2 و ORF3 می باشد. ORF3 در انتهای '۳ ORF1 قرار گرفته است. ORF1 با نواحی غنی از آرژنین و لیزین بزرگترین ORF با خاصیت هیدروفیلیک می‌باشد.

---

[۱] **International Committee on Taxonomy of Viruses**
[۲] **Polymerase Chain Reaction**
[۳] **ORF (Open Reading Frame)**

ORF2 فاقد نقش مشخصی است ولی ترجمه ORF3 پروتئینی را تولید می‌کندکه بـا توپـوایزامراز I همولـوژی داشته و بنابراین نقش مهمی درهمانند سازی ویروس دارد(Tanaka, et al., 2001).

شباهت توالی های اسیدآمینه کد شده در میان ۸ ژنوتیپ ویروس SENV بین ۷۶/۸-۳۹/۱ درصد گزارش شده است (Tanaka et al., 2001). درصد شباهت بین ژنوتیپ های ویروس SENV و ویروس های مرتبط با TTV از نظر اسیدهای آمینه و ژنوم در جدول ۱-۱ آمده است(Tanaka, et al., 2001) .

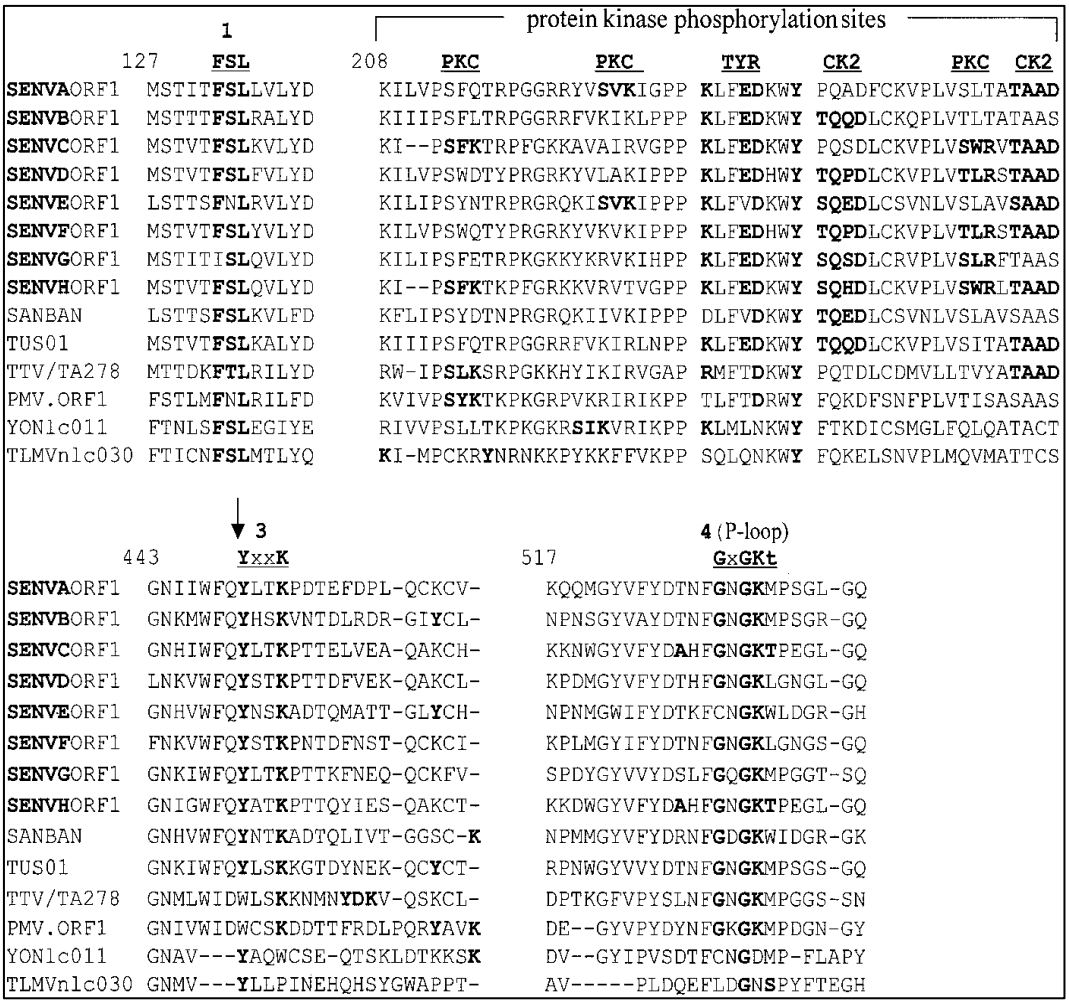
جدول ۱- ۱. درصد شباهت توالی های نوکلئوتیدی و اسیدآمینه ORF1 برای ۸ ژنوتیپ ویروس SENV و سویه های دیگر خانواده های مرتبط با TTV (Tanaka et al., 2001).

Virus isolate	Virus isolate												
	SENV-A	SENV-B	SENV-C	SENV-D	SENV-E	SENV-F	SENV-G	SENV-H	SANBAN	TUS01	TTV	PMV	YONBAN
SENV-B	56.0/55.5												
SENV-C	63.4/52.6	60.7/48.5											
SENV-D	66.4/57.3	61.2/51.0	63.5/52.0										
SENV-E	58.9/47.8	59.1/43.7	58.2/46.6	59.0/46.4									
SENV-F	**67.2/57.0**	60.9/50.7	61.1/49.2	**77.6/76.8**	59.4/47.6								
SENV-G	56.6/53.5	60.0/47.9	54.7/46.8	54.8/49.2	52.3/39.1	54.6/49.0							
SENV-H	55.7/51.3	59.9/48.1	**78.3/76.2**	62.1/52.3	57.4/45.9	61.6/49.5	61.1/47.4						
SANBAN	58.6/45.7	53.1/43.6	59.0/47.2	57.7/44.9	**67.8/60.5**	57.9/46.7	51.5/39.3	51.3/46.1					
TUS01	57.4/56.0	**78.4/78.6**	61.3/50.7	62.9/52.2	59.1/46.1	63.5/52.0	61.2/47.5	60.0/49.9	52.3/44.5				
TTV	51.0/33.1	54.0/34.8	52.7/36.5	53.2/36.1	53.3/34.6	52.7/33.7	51.4/35.4	53.4/35.7	52.4/34.3	54.8/37.0			
PMV	53.2/34.8	50.6/35.8	53.0/35.3	53.1/37.1	53.3/36.5	53.2/37.0	48.1/34.2	51.8/36.6	54.2/38.4	49.8/36.7	55.8/37.2		
YONBAN	48.1/29.1	49.4/30.7	48.8/32.0	49.3/32.0	48.0/32.6	49.3/32.9	49.3/36.6	48.8/30.4	51.5/31.9	49.8/28.6	49.2/33.3	48.3/32.1	
TLMV	45.3/20.8	46.0/21.0	45.9/22.9	45.2/24.0	45.1/24.2	46.6/24.5	47.4/30.3	45.6/29.6	44.9/24.0	45.7/32.5	47.3/24.2	42.7/25.3	48.1/26.5

تعداد اسیدآمینه هـای کـه توسـط ORF1 کـد مـی شـوند بـرای SENV-A، SENV-B، SENV-C، SENV-D ، SENV-E ، SENV-F ، SENV-G و SENV-H به ترتیـب شـامل ۶۴۲، ۶۷۹، ۷۵۳، ۷۵۴، ۷۴۳، ۷۵۸، ۷۶۳ و ۷۶۲ اسید آمینه می باشد(Tanaka et al., 2001).

ناحیه انتهای پایانه آمین ژن در بین ژنوتیپ های ویروس SENV (به جز SENV-A و SENV-B)، یـک ناحیـه غنی از اسیدآمینه های آرژنین / لیزین با خاصیت آبدوستی بـالا دارد. در ناحیـه انتهـای کربوکسـیل ژن ORF1 ویروس هـای SENV-A، SENV-B، SENV-C، SENV- D، SENV-E ، SENV-F، SENV-G و SENV-H بـه ترتیب در موقعیت هـای ۶۳۸-۶۱۷، ۷۵۰-۷۲۹ و ۷۵۹-۷۳۸ زیـپ لوسـین وجـود دارد کـه در خـانواده TTV گزارش نشده است(Tanaka et al., 2001).

ردیف توالی کامل اسید آمینه ORF1 چهارده سویه از خانواده ویروس های مرتبط با TTV در شکل ۱-۲ آمـده است. بررسی ORF1 هشت ژنوتیپ ویروس SENV، خصوصیات پروتئین های کـد شـده ایـن ناحیـه مشـخص گردیده است که اطلاعات آن در جدول ۱-۲ آمده است(Tanaka, et al., 2001).



شکل ۱-۲. مقایسه ردیف اسیدآمینه توالی های کامل چهارده ژنوتیپ از خانواده ویروس های مرتبط با TTV

(Tanaka et al., 2001).