



## تکثیر، کلونینگ و بیان ژن نوترکیب bp26 (omp28) باکتری B. Melitensis جدا شده از استان مرکزی و تخلیص پروتئین BP26

مریم عزیزپور مغوان<sup>۱</sup>، سید داود حسینی<sup>۲\*</sup>، حسین بصیری<sup>۳</sup>، ندا اکبری<sup>۴</sup>، میترا نظام آبادی<sup>۵</sup>، صابر اسکندری<sup>۶</sup>، محسن ساریخانی<sup>۶</sup>  
 ۱\_دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی واحد علوم و تحقیقات استان مرکزی ۲\_استادیار، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی مرکزی (اراک)  
 ۳\_استادیار، گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک ۴\_کارشناس میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک ۵\_کارشناسی ارشد بیولوژی دریا،  
 موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی مرکزی (اراک) ۶\_دانشجوی دکتری ویروس شناسی، مرکز تحقیقات هندوستان

**مقدمه و هدف:** بروسلوز بیماری ناتوان کننده ای است که هزینه گزافی را بر اقتصاد و اجتماع تحمیل می کند. بنابراین استفاده از بهترین، دقیق ترین و به صرفه ترین روش برای تشخیص این بیماری ضروری می باشد. عامل شایع بروسلوز در ایران B. melitensis بوده و پروتئین BP26 این باکتری خاصیت آنتی ژنیسته خوبی دارد. بنابراین هدف از این تحقیق تولید پروتئین BP26 نوترکیب از باکتری B. Melitensis توسط وکتور بیانی pET-28a می باشد.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه از باکتری کشت شده تخلیص DNA ژنومیک به روش پروتئیناز K و فنل/کلرفرم، انجام شد. سپس با توجه به اطلاعات توالی ژن B. melitensis bp26 موجود در بانک اطلاعات ژن، برای ژن مذکور پرایمر طراحی شده و واکنش PCR راه اندازی، بهینه سازی و انجام شد. در ادامه محصول PCR ابتدا در وکتور PTZ57R/T الحاق گردید و پس از آن در وکتور pET-28a کلون گردید. وکتور نوترکیب به میزبان (E. coli BL21(DE3)) منتقل گردید و پروتئین نوترکیب و با ستون کروماتوگرافی Ni-NTA علیه His tag تخلیص گردید.

**نتایج و بحث:** اندازه ژن به دست آمده از واکنش زنجیره ای پلیمرز با اندازه بخشی از ژن B. melitensis bp26 موجود در بانک اطلاعات ژن مطابقت داشت. ژن bp26 بدون القاء با IPTG به میزان کم بیان شده و با افزودن آن به غلظت ۱ mM به محیط کشت در ساعت سوم، حداکثر بیان را مشاهده نمودیم. تولید پروتئین نوترکیب BP26 از باکتری B. melitensis بومی استان مرکزی با استفاده از ناقل پلاسمیدی pET-28a امکان پذیر گردید. با توجه به اهمیت این پروتئین و به منظور بررسی های بیشتر در آینده، امکان تولید آن در کشور فراهم شد.

**واژه های کلیدی:** B. melitensis، ژن bp26، OMP28، بروسلوز

## بررسی تغییرات شمارش استافیلوکوکوس اورئوس در طی فرایند خط تولید سوسیس کوکتل ساده در یکی از کارخانه های فرآورده های گوشتی حومه تهران

آراسب دباغ مقدم<sup>۱\*</sup>، نوردهر رکنی<sup>۲</sup>، نرجس چراغی<sup>۳</sup>، ماندانا ابراهیمی<sup>۴</sup>، مهزاد آقازاده مشگی<sup>۵</sup>، عارف امیرخانی<sup>۶</sup>، حمید عزت پناه<sup>۷</sup>

۱- عضو هیات علمی گروه پزشکی اجتماعی و بهداشت و معاون بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی ارتش ج.ا. ایران ۲- استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و عضو فرهنگستان علوم جمهوری اسلامی ایران ۳- دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۴- دامپزشک مسول فنی - بهداشتی در بخش خصوصی ۵- استادیار دانشکده تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران ۶- دانشیار بخش اپیدمیولوژی و آمار حیاتی انستیتو پاستور ایران ۷- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

پست الکترونیک نویسنده مسؤل: dr\_arasb@yahoo.com

**مقدمه و هدف:** رشد استافیلوکوکوس اورئوس در سوسیس به علت ترشح انترتوکسین موجب به خطر افتادن سلامت مصرف کنندگان می شود. انترتوکسین ها به حرارت مقاومند و سوسیس از بهترین حمایت کننده های رشد استافیلوکوکوس اورئوس می باشد. در این بررسی اثر مراحل مختلف فرایند تهیه سوسیس کوکتل بر کیفیت میکروبی آن با توجه به شاخص استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت مورد مطالعه قرار گرفت.

**مواد و روش کار:** جامعه آماری، نمونه های سوسیس کوکتل یکی از کارخانه های تهران بود. نمونه گیری به روش غیر پارامتریک در روزهای زوج هفته از مراحل مختلف خط تولید انجام شد. حجم کل نمونه ۱۰۸ عدد بود. محل های نمونه برداری عبارت بودند از: گوشت بعد از ورود، بعد از قصابی، بعد از گیوتین، بعد از چرخ گوشت، بعد از کاتر، سوسیس خام و بعد از پخت. شمارش استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۹۴ انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها بر مبنای آزمون های آماری پارامتریک مانند آنالیز واریانس Z Test T Test، و غیر پارامتریک انجام شد.

**نتایج و بحث:** مشخص گردید که با  $P < 0.05$  معنی داری، تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت خارج شده از چرخ گوشت نسبت به خمیر و همچنین در سوسیس خام نسبت به سوسیس پخته کاهش، در حالی که در مقایسه خمیر نسبت به سوسیس خام افزایش یافته است. احتمالاً افزودن نیتريت سدیم، رشد و تکثیر استافیلوکوکوس اورئوس را در مرحله خمیر به تأخیر می اندازد. در مورد کاهش این باکتری در مرحله پخت، حرارت زیاد سبب این امر می شود. در این بررسی افزایش تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در سوسیس خام نسبت به خمیر، معنی دار می باشد. خمیر از کاتر به درون ترولی های حمل ریخته و به دستگاه پرکن حمل می شود، سپس توسط پرکن، خمیر، داخل پوشش ها پر می شود و توسط سوسیس پیچ، دوسر سوسیس گره زده می شود و توسط سوسیس جمع کن روی میله ای قرار می گیرد. احتمالاً سوسیس خام در یکی از مراحل فوق دچار آلودگی با استافیلوکوکوس اورئوس شده است. به جز ترولی های حمل خمیر، سایر مسیر به صورت بسته طی می شود و احتمالاً ترولی ها بیشترین نقش را در آلودگی سوسیس خام بعد از مرحله خمیر داشته اند. گاهی خمیر قبل از ورود به دستگاه پرکن، مدت زمان مدیدی معطل می ماند که ممکن است در افزایش جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس موثر باشد. انجام پژوهش های مشابه روی سایر فرآورده های گوشتی همچون همبرگر، ناگت و غیره مورد توصیه است.

**واژه های کلیدی:** انترتوکسین - استافیلوکوکوس اورئوس - فرآورده های گوشتی - تغییرات میکروبی