جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

خالص‌سازی ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک به منظور تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال با تیتر بالا علیه این ویروس

دکتر زهرا مشکات *
دکتر حوریه سلیمان جاهی **
دکتر محمدحسن روستایی ***

* دکترای ویروس‌شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی، گروه میکروب و ویروس‌شناسی
** دکترای ویروس‌شناسی، دانشیار دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه ویروس‌شناسی
*** دکترای ویروس‌شناسی، استاد دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه ویروس‌شناسی

تاریخ وصول:۱۳۸۷/۱۰/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۲/۱۹

مؤلف مسئول: دکتر زهرا مشکات
پست الکترونیک:meshkatz1@mums.ac.ir

چکیده:

مقدمه و هدف: عفونت‌های ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک از شایع‌ترین عفونت‌های ویروسی در سراسر جهان است که روش‌های مختلف تشخیصی، پیشگیری و درمان آن در حال بررسی است. هدف از این مطالعه تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال با عیار بالا، علیه این ویروس به منظور استفاده از آن در بهینه‌سازی تست‌های تشخیصی و تحقیقاتی در داخل کشور بود.

مواد و روش‌ها : این پژوهش تجربی طی سال‌های ۱۳۸۱ ـ ۱۳۸۰ در گروه ویروس شناسی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. در این تحقیق، به منظور دستیابی به بذر ویروس خالص، ابتدا خالص‌سازی ویروس با روش رقت‌سازی متوالی و روش انتخاب پلاک‌های ویروسی انجام شد. سپس تک پلاک ویروسی انتخاب، تکثیر و تعیین عیار گردید و به عنوان بذر ویروس نهایی جهت تزریق به حیوان استفاده شد و عیار آنتی‌بادی پلی‌کلونال تولید شده با آزمایش خنثی‌سازی ویروس تعیین گردید.

یافته‌ها: عیار آنتی‌بادی تولیدی در حیوان ایمن شده که با آزمایش خنثی‌سازی ویروس سنجیده شد، نشان داد که آنتی‌بادی پلی‌کلونال تولید شده دارای عیار بالا و مطلوبی می‌باشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به بالا بودن عیار آنتی‌بادی تولیدی، می‌توان از آن به منظور راه‌اندازی و بهینه‌سازی روش‌های مختلف تشخیصی و تحقیقاتی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک، روش پلاک، آنتی‌بادی پلی‌کلونال

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک[۱] متعلق به خانواده هرپس ویریده، زیرخانواده آلفاهرپس ویرینه و جنس سیمپلکس ویروس می‌باشد(۲ و ۱). آلودگی ناشی از این ویروس در بسیاری از مبتلایان بدون علامت یا به صورت بیماری خفیف دیده می‌شود(۱). یکی از تظاهرات بالینی عفونت با آن انسفالیت تک گیراست(۵ ـ ۳). ویروس ممکن است در زمان عفونت اولیه یا راجعه به مغز انتشار یابد، بدون این که وزیکولی روی سطح بدن ظاهر شود. معمولاً ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک به جز در نوزادان، به درمان پاسخ می‌دهد و بیشتر لوب‌های گیجگاهی مغز درگیر می‌شوند. در موارد درمان نشده میزان مرگ بیش از ۷۰ درصد است(۷ و ٦). نوزادان بسیار مستعد ابتلاء به عفونت‌های این ویروس هستند و عفونت آنان با میزان مرگ بالایی همراه است(۸).

تعداد زیادی از افراد در سراسر دنیا به ویروس هرپس‌سیمپلکس آلوده شده‌اند و در دهه‌های اخیر عفونت‌های مختلف این ویروس افزایش قابل توجهی یافته است(۹). با توجه به میزان بالای عفونت ویروس هرپس‌سیمپلکس در بین افراد مختلف جامعه و تظاهرات بالینی این عفونت از جمله ایجاد انسفالیت تک‌گیر و بیماری منتشر کشنده در نوزادان، ابداع روش‌های تشخیصی سریع، آسان و حساس احساس می‌شود. اگر چه شرکت‌های تجاری مختلفی در دنیا از جمله؛ شرکت بیومدای[۲] کانادا، شرکت یوروژنتک[۳] بلژیک، شرکت‌های ویبیون[۴] و بیوکامر[۵] ایالات متحده آمریکا، آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و منوکلونال متعددی تهیه کرده‌اند، اما به علت گران بودن این آنتی‌بادی‌ها، استفاده از آنها در بهینه‌سازی آزمایش‌های مختلف تشخیصی و تحقیقاتی در داخل کشور محدود شده است. اگر چه تهیه آنتی‌بادی پلی‌کلونال کار نسبتاً ساده‌ای می‌باشد، اما به دست آوردن عیار بالای آنتی‌بادی بسیار دشوار است(۱۰).

در این پژوهش با استفاده از بذر ویروسی خالص و حذف ذرات ویروسی ناقص[۶] با استفاده از دو روش مختلف، عیار مناسبی از آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک به دست آمد. علاوه بر استفاده از روش‌های این تحقیق جهت تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک، می‌توان از آن به منظور تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه ویروس‌های دیگری که قادر به تکثیر در کشت سلولی می‌باشند نیز استفاده نمود. هدف از این پژوهش، تهیه آنتی‌بادی پلی‌کلونال با عیار بالا علیه ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک به منظور استفاده از آن در داخل کشور بوده است.

مواد و روش‌ها

پژوهش انجام شده یک مطالعه تجربی می‌باشد که طی سال‌های ۱۳۸۱ ـ ۱۳۸۰ در گروه ویروس‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده

1.Herpes simplex virus type 1(HSVI)
2.Biomeda
3.Eurogentec
4.Vibion
5.Biocomare
6.Defective Interfering particles

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

است. در این تحقیق ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک مورد استفاده، از مایع وزیکول‌های لب یکی از مراجعین به بخش ویروس‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس جداسازی و سپس با استفاده از آنتی‌بادی منوکلونال اختصاصی تعیین هویت شده بود. به منظور تکثیر ویروس، انجام تست پلاک و آزمایش رقت‌سازی متوالی، از سلول‌های کلیه گاو[۱] استفاده شد. این سلول‌ها در محیط کشت دی‌ام‌ای‌ام[۲] (شرکت گیبکو[۳]،آلمان) حاوی ۵ درصد سرم استریل (شرکت گیبکو ،آلمان) و حرارت دیده گوساله همراه با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین(شرکت گیبکو ،آلمان)، ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین(شرکت گیبکو ،آلمان)، ۳ گرم در لیتر بیکربنات سدیم(شرکت گیبکو ،آلمان)، ۲ میلی مولار گلوتامین (شرکت گیبکو ،آلمان) و در محیط حاوی ۵ درصد دی‌اکسید کربن کشت داده شد. ویروس حاد مورد نیاز با تعدد عفونت[۴] حدود ۰/۱ به تک لایه سلولی تلقیح گردید و پس از ظهور آثار سیتوپاتیک[۵] ویروس در ۷۵ درصد از سلول‌ها، مایع رویی جمع‌آوری گردید. به منظور تعیین عیار ویروس با روش تعیین دوز عفونی ۵۰ درصد در کشت سلول[۶]، رقت‌های ویروسی پیاپی با فاصله یک لگاریتم از 10^{-1} تا 10^{-6} تهیه و به لوله‌های حاوی کشت سلول تلقیح شد. لوله‌های تلقیح شده همراه با لوله‌های شاهد ویروس و سلول در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و به مدت ٤ روز از نظر ظهور آثار سیتوپاتیک کنترل شدند. سپس عیار ویروس با استفاده از روش کربر محاسبه گردید(۱۰).

به منظور خالص‌سازی ویروس با روش رقت‌سازی متوالی، ابتدا رقت‌های نیم لگاریتمی 10^{-1} تا 10^{-6} از ویروس تهیه و به کشت سلولی تلقیح گردید. آخرین رقت ویروس که آثار سیتوپاتیک نشان داد، پس از انجماد و ذوب، مجدداً رقیق‌سازی شد و مانند قبل به سلول تلقیح گردید. در این مرحله نیز آخرین رقت ویروس دارای آثار سیتوپاتیک جمع‌آوری و در خالص سازی ویروس با روش پلاک، استفاده گردید و از ویروس خالص شده نهایی به منظور تزریق به خرگوش‌ها و تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال استفاده شد.

به منظور خالص‌سازی ویروس با روش برداشتن پلاک، ابتدا رقت‌های یک لگاریتمی 10^{-1} تا 10^{-6} از ویروس تهیه و در کنار کنترل سلول و کنترل ویروس، هر رقت به ٤ چاهک از پلیت ٢٤ چاهکی واجد کشت سلول تک لایه، اضافه شد. سپس محیط کشت حاوی نوبل آگار تهیه و پس از پایان مرحله جذب ویروس به چاهک‌ها اضافه شد. میکروپلیت حاصل در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید تا آثار سیتوپاتیک ویروس ظاهر شود. پس از ظهور این آثار پلاک‌های حاصل با استفاده از رنگ

1-Bovine Kidney Cells
2-DMEM
3-Gibco
4-Multiplicity of Infection (moi)
5-Cytopathic Effects
6-50 Percent Tissue Culture Infectious Dose ($TCID_{50}$)

قرمز خنثی رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت پلاک‌هایی که به طور مجزا و تک قرار گرفته بودند برای ادامه آزمایش انتخاب شدند. هر یک از این پلاک‌ها به میکروپلیت حاوی سلول تک لایه (۹٦ چاهکی) انتقال یافت و پس از ظهور آثار سیتوپاتیک، ویروس جمع‌آوری گردید و از آن به منظور تزریق به حیوان استفاده شد.

برای تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال از ۳ رأس خرگوش نیوزیلندی نر با وزن بیش از ۲/۵ کیلوگرم استفاده شد(۱۱). ۲ رأس خرگوش جهت تزریق ویروس هرپس‌سیمپلکس و یک رأس به عنوان شاهد جهت تزریق سلول کلیه گاو استفاده شد. قبل و بعد از هر تزریق از قلب خرگوش‌های تحت آزمایش و شاهد خون‌گیری به عمل آمد و سرم آنها به طور استریل جمع‌آوری گردید. برای آماده‌سازی نمونه، سوسپانسیون ویروس با عیار ۱۰۰۰ (با روش تعیین دوز عفونی ۵۰ درصد در کشت سلول) به طور هم حجم با ادجوانت کامل فروند(شرکت گیبکو، آلمان) تهیه شد. مخلوط ایمونوژن امولیسفای شده به صورت داخل جلدی، درون لایه‌های پوست خرگوش تزریق گردید. حجم حدود ۱ میلی‌لیتر به ۱۰ تا ۱۲ محل داخل جلدی در دو پهلوی بالای خرگوش (۵ تا ٦ محل در هر پهلو) و ۰/۵ میلی‌لیتر از امولسیون به صورت زیر جلدی در زیر جلد ناحیه کتف تزریق شد. مراحل بعدی تزریق و خون‌گیری طبق روش کار انجام گردید(۱۲). روز پنجاهم از خرگوش‌ها خون‌گیری و آزمایش خنثی‌سازی ویروس[۱] به صورت شطرنجی[۲] انجام شد تا عیار آنتی‌بادی تولید شده مشخص شود. بدین منظور پس از غیر فعال کردن کمپلمان سرم‌ها، رقت‌های مختلف به ترتیب از ۱:۲ تا ۱:۶۴ تهیه شد. هر رقت سرمی در مجاورت ویروس رقیق شده به مدت یک ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه، سپس به سلول‌های کشت شده تلقیح گردید. به موازات این کار شاهدهای مثبت و منفی نیز در نظر گرفته شدند. به علاوه به منظور بررسی سیتوتوکسیک بودن خود به خودی سرم، از سرم‌های رقیق نشده نیز به ۲ چاهک حاوی سلول تلقیح گردید و نتایج به صورت ممانعت از تکثیر ویروس و ظهور آثار سیتوپاتیک تا ۴ روز بررسی گردید.

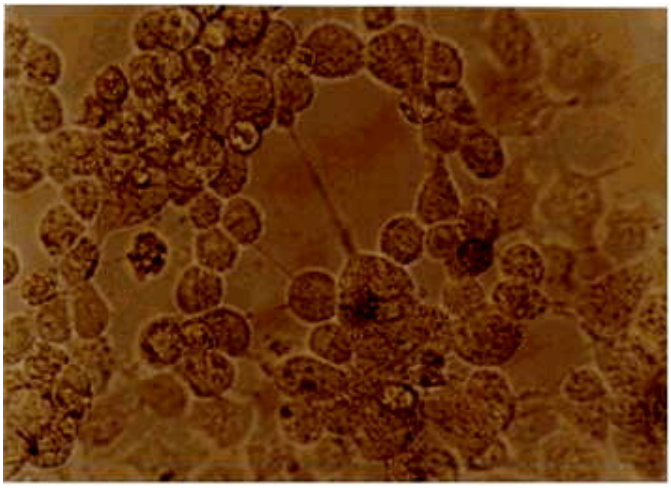
یافته‌ها

همان طور که در تصویر ۱ مشخص شده است، سلول‌های کلیه گاو به صورت تک لایه چسبنده با ظاهری اپی‌تلیالی می‌باشند. ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک قادر است در این سلول‌ها تکثیر شود و آثار سیتوپاتیک به صورت گرد و بالنی شدن سلول‌ها، جدا شدن آنها از بستر کشت و تولید سلول‌های غول پیکر چند هسته‌ای ایجاد کند که در تصویر ۲ این آثار نشان داده شده است. پس از تکثیر ویروس در این سلول‌ها، محاسبه عیار آن با روش کربر انجام شد و عیار ویروس در هر میلی‌لیتر $۱۰^{-۵/۵}$ (بر اساس دوز عفونی ۵۰ درصد در کشت سلول) به دست آمد. در مرحله

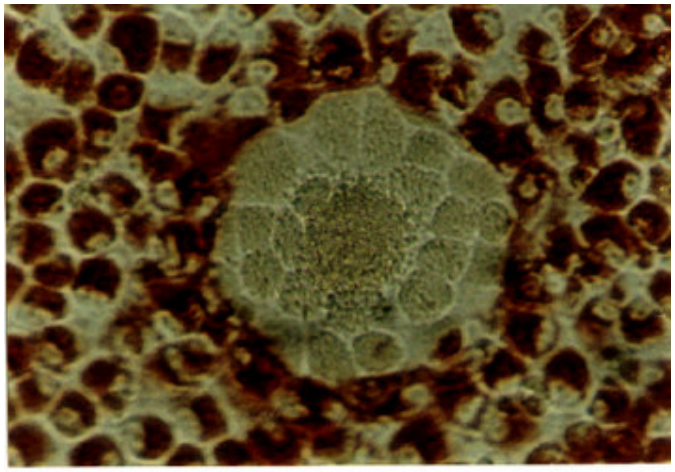
1-Virus Neutralization Test
2-Checkerboard

بعد، به منظور خالص‌سازی ویروس از دو مرحله آزمایش رقت‌سازی متوالی و سپس روش پلاک استفاده شد. در هر دو مرحله آزمایش رقت‌سازی متوالی ظهور آثار سیتوپاتیک بررسی گردید و آخرین رقتی که آثار در آن ظاهر شد، لوله رقت ویروسی $۱۰^{-۵/۵}$ بود. از این ویروس به عنوان بذر ویروس در خالص‌سازی با روش پلاک استفاده گردید. همان طور که در تصویر۳ مشاهده می‌شود، پلاک ویروسی به صورت ناحیه بی‌رنگ در زمینه سلول‌های رنگ گرفته غیر آلوده، مشخص است. پس از تزریق ویروس خالص شده، آزمایش خنثی‌سازی ویروس انجام شد که نتایج حاصل نشان داد در یکی از خرگوش‌های مورد، عیار آنتی‌بادی تولیدی بیش از ۳۲ و در دیگری بیش از ٦٤ می‌باشد. همچنین آزمایش خنثی‌سازی ویروس در مورد خرگوش شاهد نیز انجام شد که نشان داد هیچ آنتی‌بادی خنثی کننده علیه این ویروس در حیوان تولید نشده است.

تصویر۱: تک لایه سلول کلیه گاو. همان طور که مشخص است این سلول‌ها به صورت تک لایه چسبنده رشد می‌کنند و ظاهری اپی‌تلیالی دارند. (بزرگنمایی ۲۰۰ از فلاسک کشت سلول بدون رنگ آمیزی با استفاده از میکروسکوپ معکوس دوربین‌دار).



تصویر۲: آثار سیتوپاتیک ویروس هرپس‌سیمپلکس انسانی تیپ یک روی سلول کلیه گاو که به صورت گرد و بالنی شدن سلول‌ها، جدا شدن آنها از بستر کشت و تولید سلول‌های غول پیکر چند هسته‌ای است (بزرگنمایی ۳۲۰ از فلاسک کشت سلول بدون رنگ آمیزی با استفاده از میکروسکوپ معکوس دوربین دار).



تصویر۳: پلاک ویروسی تشکیل شده در اثر تکثیر ویروس هرپس سیمپکس تیپ یک. پلاک تشکیل شده به صورت ناحیه بی‌رنگ در میان سلول‌های رنگ‌آمیزی شده قابل تشخیص است (بزرگنمایی ۳۲۰ از سلول‌های رنگ‌آمیزی شده با روش رنگ‌آمیزی حیاتی قرمز خنثی با استفاده از میکروسکوپ معکوس دوربین‌دار).

بحث و نتیجه‌گیری

ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک، عامل ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌های انسانی از جمله انسفالیت تک‌گیر و عفونت‌های منتشر در نوزادان و افراد دارای ایمنی ناقص می‌باشد. عفونت‌های این ویروس در تمام جهان، در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه وجود دارد (۱). با توجه به شیوع بالای عفونت این ویروس در سراسر جهان و بیماری‌های خطرناکی که می‌تواند ایجاد کند، شناسایی روش‌های مختلف تشخیصی اهمیت زیادی دارد، لذا مطالعه حاضر با هدف تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال با عیار بالا علیه این ویروس به منظور استفاده از آن در بهینه‌سازی تست‌های تشخیصی و تحقیقاتی در داخل کشور انجام گرفت.

به منظور بهینه‌سازی روش‌های تشخیصی و تحقیقاتی نیاز به تولید آنتی‌بادی منوکلونال و پلی‌کلونال به خوبی احساس می‌شود. با توجه به گران بودن آنتی‌بادی‌های منوکلونال، استفاده از آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال تولید شده در حیوان جایگزین مناسبی در تنظیم روش‌های آزمایشگاهی و تحقیقاتی مختلف است، ولی استفاده از چنین آنتی‌بادی‌هایی منوط به بالا بودن عیار آنها در حد قابل قبول می‌باشد. اگر چه عیار بالایی از آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک در سرم افراد آلوده به این ویروس وجود دارد، ولی به دلیل آلودگی‌های احتمالی آنها با سایر ویروس‌ها و پاتوژن‌ها و وجود خطر آلودگی محققان با این عوامل عفونی، استفاده از سرم انسانی به منظور تنظیم

روش‌های تشخیصی محدود شده است و استفاده از سرم حیوانات ایمن شده با عیار بالایی از آنتی‌بادی مورد نظر، انواع تحقیقات به منظور بهینه‌سازی روش‌های مختلف تشخیصی و آزمایشگاهی از جمله الایزا را آسان و مقرون به صرفه نموده است. در حال حاضر تولید آنتی‌بادی‌های پلی کلونال علیه ویروس هرپس‌سیمپلکس تیپ یک به صورت تجاری انجام می‌شود که شرکت‌های تولید کننده، جزییات روش تهیه و تولید آن را ذکر نمی‌کنند. در تحقیقات مختلف نیز بیشتر به روش تهیه آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال علیه اجزای این ویروس و یا تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال اشاره شده است(۱۶-۱۳). همچنین در تحقیقاتی که آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه ویروس کامل مورد نیاز بوده است، از ویروس تولید شده در کشت سلول بدون ذکر مراحل خالص‌سازی بذر ویروسی استفاده شده است (۱۷)، بنابراین مقایسه روش‌های استفاده شده در این مطالعات با نتایج تحقیق حاضر امکان‌پذیر نمی‌باشد.

تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال به خودی خود زیاد دشوار نیست، اما به دست آوردن عیار بالایی از آنتی‌بادی پلی‌کلونال که در تست‌های آزمایشگاهی قابل استفاده باشد کار مشکلی است. یکی از نکات مهم در به دست آوردن عیار بالای آنتی‌بادی، استفاده از ویروس خالص شده‌ای است که دارای حداقل میزان ذرات ناقص ویروسی باشد. زیرا ذرات ناقص با اتصال به گیرنده‌های سلولی و بلوک کردن آنها، مانع ورود ذرات عفونی می‌شود و پاسخ دهی حیوان به ویروس مورد نظر و در نهایت میزان تولید آنتی‌بادی کاهش می‌یابد. بنابراین استفاده از روش‌هایی که باعث حذف این ذرات شود باعث افزایش میزان آنتی‌بادی تولیدی خواهد شد. در این پژوهش به منظور داشتن بذر ویروسی خالص تر از هر دو روش رقت‌سازی متوالی ویروس در لوله و خالص‌سازی آن با روش برداشتن تک ـ پلاک استفاده شد و با استفاده از این روش کار و حذف ذرات ناقص ویروسی تا حد امکان، آنتی‌بادی پلی‌کلونال خرگوشی با عیار بالا به دست آمد. آنتی‌بادی تهیه شده در این پژوهش در راه‌اندازی آزمایش الایزای ساندویچ و سایر آزمایش‌هایی که نیازمند آنتی‌بادی پلی‌کلونال هستند کاربرد دارد. به علاوه از روش تزریق و پروتکل آن می‌توان در تهیه سایر آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال استفاده نمود. از محدودیت‌های این تحقیق نیاز آن به سیستم کشت سلول و فرد با تجربه جهت انجام کشت سلول و نیز خون‌گیری از قلب حیوان بدون آسیب به حیوان و تلف شدن آن است که ممکن است استفاده از این روش را در برخی آزمایشگاه‌ها دشوار سازد.

در مجموع نتیجه‌گیری می شود که، اگر چه تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه ذرات ویروسی کار دشواری نیست، اما به دست آوردن عیار بالایی از آنتی‌بادی مورد نظر نیازمند استفاده از روش‌های بهینه در تهیه بذر ویروسی، مقدار دوز ویروس تزریقی، روش و راه تزریق و نوع حیوان می‌باشد. در این پژوهش با خالص‌سازی صحیح بذر ویروسی و نیز بهینه‌سازی

روش تزریق و مقدار ویروس تزریقی، آنتی‌بادی پلی‌کلونال با عیار مناسب به دست آمد.

با توجه به عیار مناسب آنتی‌بادی پلی‌کلونال تهیه شده در این پژوهش، پیشنهاد می‌شود به جای تهیه آنتی‌بادی‌های تجاری شرکت‌های خارجی که باعث خروج ارز از کشور می‌شود از روش مورد استفاده در این تحقیق به منظور تولید آنتی‌بادی مورد نیاز استفاده شود، هم‌چنین از روش بهینه شده تولید پلاک و رقت‌سازی متوالی می‌توان به منظور تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه ذرات ویروسی خانواده‌های دیگر که قدرت کشت و تکثیر در سیستم‌های کشت سلولی را دارا می‌باشند، نیز بهره برد.

تقدیر و تشکر

بر خود لازم می‌دانیم که از پرسنل محترم گروه ویروس‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تقدیر و تشکر به عمل آوریم.

Purification of Herpes Simplex Virus Type 1 for Production of High Titer Polyclonal Antibody against the Virus

Meshkat Z[*], Soleimanjahi H[**], Roostaee MH[***].

*Assistant Professor of Virology, Department of virology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[**] Associated professor of Virology, Department of Virology, Faculty of Medical Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[***] Professor of Virology, Department of Virology, Faculty of Medical Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

KEYWORDS:
Herpes Simplex Virus Type 1,
Plaque Assay,
Polyclonal Antibody.

Received: 10/01/2009
Accepted: 09/03/2009

Corresponding Author: Meshkat Z
Email: Meshkatz@mums.ac.ir

ABSTRACT:

Introduction & Objective: Herpes simplex virus type 1 infection is one of the most prevalent viral infections worldwide. Different methods are being investigated for the virus' detection, prevention and therapy. The aim of the present study was to purify the virus and to produce a high titer polyclonal antibody against the virus.

Materials & Methods: This experimental study was done in the Virology Department of Tarbiat Modares University from 2001 to 2002. Virus purification was done using serial dilution and plaque purification protocols. A single plaque was chosen and propagated, and the virus titer was determined. In inoculated animals, the titer of produced antibody against the virus was measured by virus neutralization test.

Results: Using virus neutralization test, it was found that the high level of antibody has been raised in animals against the virus.

Conclusion: Considering the preparation of high titer antibody against the virus, the produced antibody can be used for the development and optimization of different diagnostic methods.

REFERENCES:

1.Knipe DM, Howley PM. Fields virology. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001; 2381-509.
2.Waggoner-Fountain LA. Herpes simplex virus. Pediatric Rev 2004; 25:86-93.
3.Buursma AR, D Vries EFJ, Garssen J, Kegler D, van Waarde A, Schirm J, et al. Positron emission tomography for detection of herpes simplex virus (HSV) in experimental HSV encephalitis J Virol 2005; 79 (12): 7721–7.
4.Braun E, Zimmerman T, Hur TB, Reinhartz E, Fellig Y, Panet A, et al. Neurotropism of herpes simplex virus type 1 in brain organ cultures. J Gen Virol 2006; 87L: 2827–37.
5.Guha P, Ghoshal M, Das R. Secondary Mania: An uncommon late sequelae of herpes simplex encephalitis. German J Psychiatry 2005; 8: 94-7.
6.Hui AC, Cheung KF, Lui C, Mok KY, Li SH, Ng KC, et al. Herpes simplex encephalitis in Hong Kong: A retrospective review. Neurology Asia 2005; 10: 35 – 8.
7. Kurt-Jones EA, Chan M, Zhou S, Wang J, Reed G, Bronson R, et al. Herpes simplex virus 1 interaction with Toll-like receptor 2 contributes to lethal encephalitis. PNAS 2004; 101(5): 1315–20.
8.Hokkanen L, Launes J. Cognitive outcome in acute sporadic encephalitis. Neuropsychol Rev 2000; 10(3): 151-67.
9.Pina MA, Modrego PJ, Galve F. Hepatitis, meningitis and hydrocephalus caused by herpes simplex virus type I. American J Infect Dis 2006; 2(1): 36-8.
10.Donoval BA, Passaro DJ, Klausner JD. The public health imperative for a neonatal herpes simplex virus infection surveillance system. Sex Transm Dis March 2006; 33(3):170–4.
11.Lennette EH, Lennette DA, Lennett ET. Diagnostic procedures for viral rickettsial and chlamydial infections. 7th ed. Washington, DC USA: American Public Health Association; 1995; 15-16.
12.Deutscher MP. Guide to protein purification. 1st ed. San Diego Sydney: Academic press; 1990; 665-70.
13.Fuller AO, Spear PG. Specificities of monoclonal and polyclonal antibodies that inhibit adsorption of herpes simplex virus to cells and lack of inhibition by potent neutralizing antibodies. J Virol 1985; 55(2): 475-82.
14.Cohen GH, Ponce DE Leon M, Nichols C. Isolation of a herpes simplex virus-specific antigenic fraction which stimulates the production of neutralizing antibody. J Virol 1972; 10(5): 1021-30.
15.Spear PG. Membrane proteins specified by herpes simplex viruses I. Identification of four glycoprotein precursors and their products in type 1-infected cells. J Virol 1976; 17(3): 991-1008.
16.Cohen GH, Ponce DE Leon M, Diggelmann H, Lawrence WC, Vernon SK, Eisenberg R J. Structural analysis of the capsid polypeptides of herpes simplex virus types 1 and 2. J Virol 1980; 34(2): 521-31.
17.Cohen G, Katze M, Hydrean-Stern C, Eisenberg RJ. Type-common CP-1 antigen of herpes simplex virus is associated with a 59,000-molecular-weight envelope glycoprotein. J Virol 1978; 27(1): 172-81.