Original Article

Determination and cloning of the gene encoding EG95 protein in Iranian isolate of *Echinococcus granulosus*

Sarvi Sh[1], Dalimi-Asl A[1*], Ghaffarifar F[1], Sharifi Z[2]

1- Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran.
2- Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, I.R. Iran

Received June 6, 2011; Accepted July 31, 2011

Abstract:

Background: *Echinococcus granulosus* is a cestode parasite that causes cystic hydatid disease in humans worldwide. The gene encoding EG95 protein may be a good candidate to design a DNA vaccine to prevent the disease. Considering the importance of EG95 gene and the scarceness of research on it in Iran, this study was carried out to determine and clone the gene encoding EG95 from Iranian isolate of *E. granulosus*.

Materials and Methods: At the first stage, protoscoleces was isolated from hydatid cyst fluid and then RNA was extracted from protoscoleces and after performing RT-PCR, the amplified cDNA samples were detected by gel electrophoresis. In next stage, the obtained gene was cloned in pTZ57R/T vector. Two methods were used for conformation of cloning: colony PCR amplification and digestion with the EcoRI and XhoI restriction enzymes. Finally, the cloned EG95 gene in pTZ57R/T vector was sequenced.

Results: Homological comparison of sequences showed that cDNA of EG95 in Iranian isolate of E. granulosus had 492 bp and was different from the standard strain of EG95 reported from New Zealand and Australia (X90928.1). Moreover, cloning of EG95 gene in pTZ57R/T plasmid was confirmed by digestion of this plasmid with the restriction enzymes.

Conclusion: The EG95 gene was cloned in pTZ57R/T plasmid successfully and this plasmid can be used to design a DNA vaccine in further studies.

Keywords: *Echinococcus granulosus*, EG95 gene, Protoscoleces, pTZ57R/T plasmid

* **Corresponding Author.**
Email: dalimi_a@modares.ac.ir
Tel: 0098 912 304 7931
Fax: 0098 21 828 84555

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, Autumn, 2011; Vol. 15, No 3, Pages 194-199

Please cite this article as: Sarvi Sh, Dalimi-Asl A, Ghafarifar F, Sharifi Z. Determination and cloning of the gene encoding EG95 protein in Iranian isolate of *Echinococcus granulosus*. ***Feyz*** 2011; 15(3): 194-99.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-03]

شناسایی و کلون کردن ژن کد کننده پروتئین EG95 ایزوله ایرانی اکینوکوکوس گرانولوزوس

شهاب الدین سروی [۱]، عبدالحسین دلیمی اصل [۲*]، فاطمه غفاری فر [۳]، زهره شریفی [٤]

خلاصه

سابقه و هدف: اکینوکوکوس گرانولوزوس (*Echinococcus granulosus*) سستود انگلی بوده که باعث ایجاد بیماری کیست هیداتید در انسان می‌شود. ژن کد کننده پروتئین EG95 می‌تواند به‌عنوان یک هدف مناسب جهت ساخت واکسن DNA برای پیشگیری از این بیماری باشد. با توجه به اهمیت این ژن و عدم وجود گزارشی مبنی بر مطالعه بر روی این ژن در ایران، هدف از این مطالعه شناسایی و کلون کردن ژن کد کننده پروتئین EG95 ایزوله ایرانی اکینوکوکوس گرانولوزوس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در مرحله اول با جداسازی پروتواسکولکس از مایع کیست هیداتید، RNA را از پروتواسکولکس استخراج کرده و پس از انجام RT-PCR، نمونه‌های cDNA تکثیر شده بر روی ژل الکتروفورز بررسی شد. در مرحله بعد ژن حاصل در وکتور کلونینگ pTZ57R/T کلون گردیده و جهت تایید، از دو روش Clony-PCR و هضم آنزیمی به‌وسیله آنزیم‌های محدود کننده استفاده شد. در نهایت ژن EG95 کلون شده در وکتور pTZ57R/T مورد تعیین توالی قرار گرفت.

نتایج: بررسی نتایج واکنش RT-PCR بر روی ژل الکتروفورز و همچنین تعیین توالی ژن کد کننده پروتئین EG95 نشان دادکه این ژن دارای ٤۹۲ جفت باز بوده و با ژن EG95 سویه استاندارد گزارش شده از نیوزلند و استرالیا (X90928.1) متفاوت است. علاوه بر این با استفاده از هضم آنزیمی کلون شدن ژن EG95 در پلاسمید pTZ57R/T مورد تایید قرار گرفت.

نتیجه گیری: ژن EG95 به‌طور موفقیت آمیز در پلاسمید pTZ57R/T کلون شد و این پلاسمید می‌تواند برای مطالعات بعدی در جهت ساخت واکسن DNA مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: اکینوکوکوس گرانولوزوس، EG95، پروتواسکولکس، پلاسمید pTZ57R/T

فصلنامه علمی - پژوهشی فیض، دوره پانزدهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۰، صفحات ۱۹۹-۱۹٤

مقدمه

اکینوکوکوس گرانولوزوس (*Echinococcus granulosus*) سستود انگلی بوده که باعث ایجاد بیماری کیست هیداتید در انسان‌های سراسر دنیا می‌شود [۱]. سگ یا سگ‌سانان میزبان نهایی این سستود بوده و انگل در روده آنها حضور دارد. حیوانات اهلی و علف‌خواران وحشی به‌عنوان میزبان واسط، و انسان به‌عنوان میزبان اتفاقی این انگل بوده که مرحله لاروی انگل (متاسستود) به بافت‌های آنها هجوم برده و تشکیل کیست‌های تک حفره‌ای (Unilocular) می‌دهد [۲].

بر اساس آمار غیر رسمی سازمان بهداشت جهانی WHO در زمینه میزان شیوع و بروز اکینوکوکوزیس که در اوایل سال ۱۹۹۰ منتشر گردید، تخمین زده شده است که حدود ۳-۲ میلیون مورد کیست هیداتید در طی سال در جهان رخ می‌دهد [۳]. در ایران نیز بیماری به‌صورت اندمیک وجود داشته و مطالعات متعدد اپیدمیولوژیک که در مناطق مختلف کشور انجام شده، درصدهای متفاوتی بین ۱ تا ۹/۵ درصد از شیوع کیست هیداتید را در کشور نشان می‌دهد، که این مسئله بیانگر اهمیت و حضور بیماری در کشور ما می‌باشد [٤]. واکسیناسیون به‌عنوان یکی از راه‌های پیشگیری از ابتلا به بیماری، در دهه‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. از جمله روش‌های واکسیناسیون استفاده از پروتئین‌های نوترکیب می‌باشد [۲]. یکی از پروتئین‌های نوترکیب موثر برای تحریک سیستم ایمنی پروتئین EG95 است. در مطالعات انجام شده بر روی این پروتئین مشخص شده است که این پروتئین توانایی بسیار بالایی در تحریک سیستم ایمنی و حفاظت حیوان در برابر آلودگی با اکینوکوکوس گرانولوزوس (حدود ۹۸-۹٦ درصد حفاظت در برابر آلودگی) را دارا می‌باشد [۵] بر اساس مطالعه Chow و همکاران در استرالیا [٦]، همچنین Zhang و همکاران در چین [۷] ژن کد کننده پروتئین EG95 در مراحل مختلف زندگی انگل

[۱] دانشجوی دکترای تخصصی، گروه انگل شناسی و حشره شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

[۲] استاد، گروه انگل شناسی و حشره شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

[۳] دانشیار، گروه انگل شناسی و حشره شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

[۴] استادیار، مرکز تحقیقات انتقال خون، موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران

* **نشانی نویسنده مسوول:**
تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه انگل شناسی و حشره شناسی

تلفن: ۰۹۱۲ ۳۰۴۷۹۳۱ **دورنویس:** ۰۲۱ ۸۲۸۸۴۵۵۵

پست الکترونیک: dalimi_a@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۱۶ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۰/۵/۹

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-03]

دارای تفاوت در توالی می‌باشد. با توجه اهمیت بیماری هیداتیدوز و عوارض ناشی از آن، و نیز نقش موثر واکسیناسیون در پیشگیری از آن و اینکه تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای در خصوص ژن کد کننده پروتئین EG95 در کشور انجام نشده، این تحقیق برای اولین بار در زمینه شناسایی و کلون کردن ژن کد کننده پروتئین مذکور در ایزوله ایرانی اکینوکوکوس گرانولوزوس در سال ۱۳۸۹ صورت پذیرفت. نتیجه این تجربه می‌تواند در تهیه یک واکسن موثر و در نتیجه کاستن از عوارض بیماری مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: نمونه‌های کیست هیداتید مورد استفاده در این تحقیق از کبد و ریه گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه شهرستان ساری جمع‌آوری شده و پس از انتقال به آزمایشگاه، مایع کیست هیداتید که حاوی پروتواسکولکس‌ها بود در شرایط استریل جمع‌آوری شده و پروتواسکولکس‌ها به‌وسیله سانتریفوژ کردن از مایع جداسازی و با PBS استریل ۳ بار شستشو داده شدند.

تخلیص RNA از پروتواسکولکس: جهت استخراج RNA، پروتواسکولکس‌ها بلافاصله پس از استخراج و شستشو داده شدن با PBS به‌مدت ۲٤ ساعت در تانک ازت قرار گرفتند. پس از طی این مدت زمان Total RNA موجود در پروتواسکلولکس‌ها به‌وسیله کیت RNX Plus شرکت سیناژن استخراج شد. در این مرحله نیز غلظت و کیفیت RNA استخراج شده با دو روش اسپکتروفوتومتر و ژل آگارز بررسی شد.

انجام واکنش RT-PCR بر روی نمونه‌های RNA: جهت انجام RT-PCR ابتدا RNA استخراج شده به‌وسیله کیت RevertAid™ H Minus Reverse Transcriptase شرکت Fermentas تبدیل به cDNA شده و از این cDNA به‌عنوان الگو در واکنش RT-PCR استفاده شد. جهت انجام RT-PCR، با توجه به سکانس ژن استاندارد بین المللی که در بانک جهانی ژن به شماره (x90928) ثبت شده و دارای ٤٦٤ جفت باز بود، از پرایمر GGAATTCATGGCATTCCAGTTATGTCTC که این پرایمر دارای یک سایت محدودکننده برای آنزیم EcoR I می باشد به‌عنوان پرایمر Forward، و از پرایمر Reverse GCCTCGAGTCAAGTAAGGACAAC که دارای یک سایت محدود کننده برای آنزیم Xho I می‌باشد، استفاده شد. برنامه انجام واکنش بدین صورت بود: مرحله واسرشت ابتدایی ۹٤ درجه به‌مدت ۳ دقیقه، مرحله واسرشت ۹٤ درجه به‌مدت یک دقیقه، مرحله اتصال پرایمرها ۵۳ درجه به‌مدت ٤۰ ثانیه، مرحله طویل شدن زنجیره ۷۲ درجه به‌مدت ٤۵ ثانیه، که این ۳ مرحله به تعداد ۳۵ سیکل و در نهایت یک سیکل ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه انجام گرفت. محصول این مرحله از RT-PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

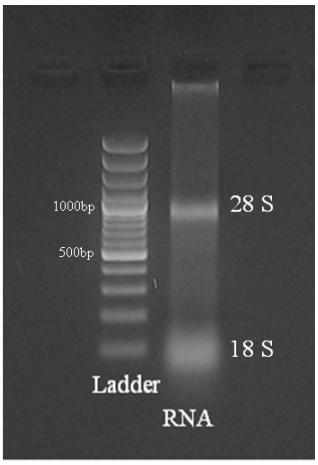
کلون کردن ژن EG95 در وکتور pTZ57R/T: ژن EG95 تکثیر شده در مرحله RT-PCR بر روی ژل آگارز برده شده و به‌وسیله کیت استخراج DNA از ژل شرکت AccuPrep Bioneer (DNA Gel Purification Kit) تکثیر شده از ژل استخراج شده و به‌وسیله کیت InsT/A cloneTM PCR product cloning Kit شرکت Fermentas به وکتور کلونینگ pTZ57R/T متصل شد. در این مرحله برای ترانسفورم پلاسمید حاوی ژن به باکتری، از باکتری *E.coli* سوش Top10 که با روش کلرید کلسیم مستعد شده بود، استفاده گردید. پس از ترانسفورم پلاسمید به داخل باکتری، باکتری‌ها ابتدا به‌مدت یک ساعت در ۳۷ درجه در محیط LB مایع فاقد آنتی‌بیوتیک، و سپس به‌مدت یک شب در محیط LB آگار حاوی آنتی‌بیوتیک آمپی سیلین (۱۰۰میلی گرم/ میلی-لیتر)، IPTG (۲۰۰ میلی‌گرم/میلی لیتر) و X-Gal (۲۰ میلی-گرم/میلی لیتر) کشت داده شد [۸]. پس از طی این مدت بر روی سطح محیط کشت کلونی‌های سفید (پلاسمید حاوی ژن) و کلونی‌های آبی (پلاسمید فاقد ژن) تشکیل شد. برای تایید کلونینگ ژن از روش Colony-PCR استفاده شد؛ بدین شکل که از هر یک از کلونی‌های آبی و سفید مقدار کمی به‌عنوان الگو در واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. علاوه بر این پلاسمید موجود در باکتری به‌وسیله کیت استخراج پلاسمید AccuPrep Plasmid MiniPrep DNA Extraction Kit شرکت Bioneer استخراج شده و به‌وسیله آنزیم‌های محدود کننده EcoRI و XhoI مورد هضم آنزیمی قرار گرفت.

تعیین توالی ژن EG95: بخشی از پلاسمید استخراج شده جهت تعیین توالی به شرکت ژن فن‌آوران ارسال شد. پس از تعیین توالی، ژن EG95 ایزوله ایرانی اکینوکوکوس گرانولوزوس در بانک ژن ثبت گردیده و این ژن با سویه استاندارد بین المللی گزارش شده از نیوزلند و استرالیا مقایسه شد.

نتایج

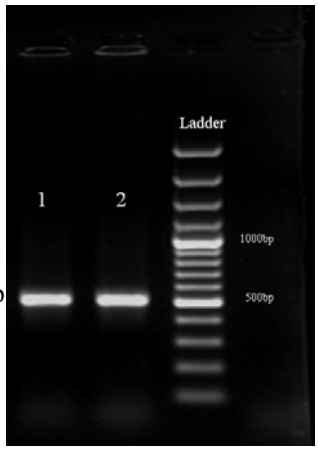
در ابتدا Total RNA موجود در پروتواسکولکس‌ها استخراج شده و کمیت و کیفیت آن به‌ترتیب به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر و ژل آگارز بررسی شد. در بررسی انجام شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر غلظت RNA استخراج شده ۱٤٤۲ میکرو گرم در میلی لیتر برآورد شد و کیفیت آن نیز بر روی ژل الکتروفورز بررسی شد (شکل شماره ۱).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-03]



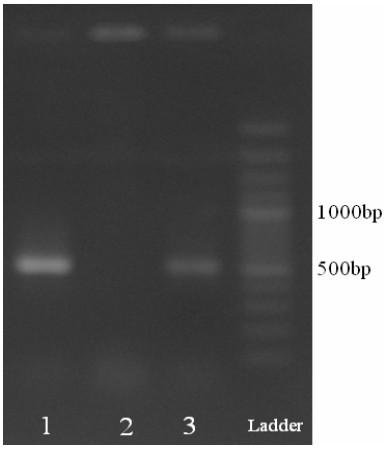
شکل شماره ۱- تصویر استخراج RNA Total حاصل از پروتواسکولکس اکینوکوکوس گرانولوزوس بر روی ژل الکتروفورز

پس از استخراج RNA از آن به‌عنوان الگو در واکنش RT-PCR استفاده شده و پس از انجام این واکنش، محصول واکنش زنجیره-ای پلیمراز (RT-PCR) بر روی ژل الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت که بر روی ژل باندهای ژن در حدود ٤٩٢ باز مشاهده شد (شکل شماره ۲).

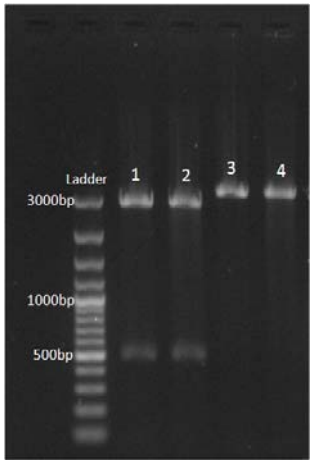


شکل شماره ۲- تصویر باندهای cDNA حاصل از واکنش RT-PCR در خط‌های ۱ و ۲ در کنار Ladder

پس از تکثیر ژن در طی RT-PCR، ژن کد کننده پروتئین EG95 به پلاسمید pTZ57R/T متصل شده و سپس پلاسمید حاوی ژن به داخل باکتری E.coli سوش TOP10 ترانسفورم گردید. در این مرحله جهت تایید کلونینگ ژن در پلاسمید pTZ57R/T از دو روش Colony-PCR و هضم آنزیمی با استفاده از دو آنزیم EcoRI و XhoI استفاده شد (شکل‌های شماره ۳ و ٤).



شکل شماره ۳- تصویر باندهای حاصل از Colony-PCR، ۱و ۳ مربوط به کلونی سفید (حاوی ژن EG95) و ۲ کلونی آبی (فاقد ژن)



شکل شماره ٤- هضم آنزیمی پلاسمید PTZ57R/T، ۱و۲: پلاسمید هضم شده به‌وسیله هر دو آنزیم و خروج قطعه EG95 از داخل پلاسمید، ۳و٤: پلاسمید هضم شده به‌وسیله یک آنزیم

در نهایت جهت تعیین توالی ژن EG95، پلاسمید حاوی ژن به شرکت ژن فن‌آوران ارسال و نتیجه حاصل از تعیین توالی در بانک جهانی ژن به شماره Accession no: JF357600.1 ثبت شد، توالی این ژن در شکل شماره ۵ نشان داده شده و این توالی با توالی استاندارد ثبت شده از نیوزلند و استرالیا که در بانک جهانی ژن با شماره Accession no:X90928 ثبت شده مورد مقایسه قرار گرفت. نتیجه مقایسه نشان‌گر ۸۵ درصد تشابه و ۱۵ درصد تفاوت با این سویه بود.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-03]

```
Query  8    TCCAGTTATGTCTCATTTTGTTTGCGACTTCAGTTTTGGCTCAGGAATACAAAGGAAGGG
67

Sbjct  1    TCCAGTTATGTCTCATTTTGTTTGCGACTTCAGTTTTGGCTCAGGAATACAAAGGAATGG
60

Query  68   GCATAGAGACAAAGACAACAGAGAGTCCGCTCCGTAAACACTTCAGTTTGACTCTTGTGG
127

Sbjct  61   GCGTAGAGACAAGGACAACAGAGACTCCGCTCCGTAAACACTTCAATTTGACTCCTGTGG
120

Query  128  GTTCTCAGGGCATTCGCTTAAGTTGGGAAGTCCAACACTTGCCTAGCCTCCAAGGAACAA
187

Sbjct  121  GTTCTCAGGGCATTCGCTTAAGTTGGGAAGTCCAACACTTGTCTGACCTCAAAGGAACAG
180

Query  188  ATATTTCCCTAAAAGCGGTGAATCCTTCTGACCCCCTAGCCTACAAGAGACAAACTGCAC
247

Sbjct  181  ATATTTCTCTAAAAGCGGTGAATCCTTCTGACCCGTTAGTCTACAAAAGACAAACTGCAA
240

Query  248  CATTCCTAGTCGGACAACTCACTCTTGGCGGGCTGAGGCCCTCCACGTTATACGAAATCA
307

Sbjct  241  AATTCTCAGATGGACAACTCACTATCGGCGAACTGAAGCCCTCCACATTATACAAAATGA
300

Query  308  CTGTAGAAGCGATGAGAGCGAAAGCGGCCATTTTGAAATTCACCGAAGACATAAAAACAC
367

Sbjct  301  CTGTGGAAGCAGTGAAAGCGAAAAAGACCATTTTGGGATTCACCGTAGACATTGAGACAC
360

Query  368  TCCGCATTGCTCCACGTCACGTTTACATGGGCGAGAAAGAAAGCACCGTAATGACTAGTG
427

Sbjct  361  CGCGC---GCT-----------------GGCAAGAAGGAAAGCACTGTAATGACTAGTG
399

Query  428  GATCCGCCTTAACATCCGCAATCGCCGGTTTCGTATTCAGCTGCATAGTAGTTGTCCTTA
487

Sbjct  400  GATCCGCCTTAACATCCGCAATCGCTGGTTTTGTATTCAGCTGCATAGTGGTTGTCCTTA
459

Query  488  CTTGA  492

Sbjct  460  CTTGA  464
```

شکل شماره ۵- توالی cDNA ژن کد کننده پروتئین EG95 در ایزوله ایرانی اکینوکوکوس گرانولوزوس و alignment (هم ردیفی) آن با سویه استاندارد (Query مربوط به سویه ایرانی و Sbject مربوط به سویه استاندارد)

بحث

این تحقیق نشان داد که که ژن کد کننده پروتئین EG95 ایزوله ایرانی اکینوکوکوس گرانولوزوس دارای ۴۹۲ باز می‌باشد. Chow و همکاران در سال ۲۰۰۱ به مطالعه ژن EG95 پرداختند و نتایج تعیین توالی آنها در بانک جهانی ژن به شماره‌های AF199350.1 و AF199347.1 ثبت شده که با نتیجه به‌دست آمده در مطالعه حاضر کاملا مشابهت داشته و نشان‌گر این است که ژن ما احتمالا از نوع EG95-5 یا EG95-6 می‌باشد [۶]. در بررسی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-03]

انجام گرفته بر روی توالی ژن EG95 در ایزوله ایرانی اکینوکوکوس گرانولوزوس که در بانک جهانی ژن به‌شماره JF357600.1 ثبت شد، مشخص گردید که ۱۵ درصد از این ژن (تعداد ٦ اسید آمینه) با ژن گزارش شده از نیوزلند (X90928.1) متفاوت است [۹،۵]، که البته علت آن‌را می‌توان در مرحله‌ای از انگل که جهت استخراج RNA مورد استفاده قرار گرفته یافت؛ زیرا در نیوزلند از مرحله انکوسفر انگل به منبع ژنی استفاده شد، در حالی‌که ما از مرحله پروتواسکولکس انگل به‌عنوان منبع ژنی استفاده کردیم. پروتئین EG95 از جمله پروتئین‌های حیاتی برای انگل می‌باشد که در مراحل مختلف زندگی انگل بیان شده و توالی ژن آن در مراحل مختلف زندگی انگل بسیار حفاظت شده می‌باشد و احتمالاً در نفوذ انگل به داخل پرزهای روده میزبان نقش دارد [۷]. این پروتئین به‌صورت یک خانواده ژنی بیان شده و شامل 7-1 EG95 می‌باشد و از این ۷ ژن 4-1 EG95 فقط در مرحله انکوسفر و 6-5 EG95 علاوه بر انکوسفر در مرحله پروتواسکولکس و کرم بالغ نیز بیان می‌شوند [۱۰]. در این پژوهش ما توانستیم پس از استخراج RNA و تبدیل آن به cDNA، با موفقیت این ژن را در وکتور کلونینگ pTZ57R/T کلون کنیم. از جمله دلایل کلون کردن ژن در این پلاسمید، می‌توان به دو دلیل ذیل اشاره کرد: ۱- دقت بیشتر در انجام شدن تعیین توالی، چون در این‌حالت به‌علت کلون شدن ژن در پلاسمید از پرایمر یونیورسال استفاده شده و در نتیجه تعیین توالی بسیار دقیق‌تر انجام گرفت؛ ۲- کلون کردن ژن EG95 در وکتور pTZ57R/T و برش آنزیمی این قطعه به‌عنوان گام اول در جهت کلونینگ این ژن در وکتور بیانی و بررسی بیان آن بود، که می‌تواند در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گیرد. وکتورهای بیانی می‌توانند به‌عنوان واکسن‌های DNA عمل کرده و با تحریک هر دو دسته ایمنی سلولی و هومورال باعث ایجاد ایمنی در برابر کیست هیداتید شوند [۱۱].

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت در این پژوهش ژن کد کننده پروتئین EG95 ایزوله ایرانی اکینوکوکوس گرانولوزوس برای اولین بار در ایران شناسایی شده و به‌طور موفقیت آمیز در پلاسمید pTZ57R/T کلون شد، که این پلاسمید می‌تواند برای مطالعات بعدی در جهت ساختن واکسن DNA مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این پروژه در قالب پایان نامه دانشجویی و با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است. نویسندگان مقاله بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود از جناب آقای دکتر صدرایی، آقای پیرستانی و همچنین کارکنان محترم گروه انگل‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس را اعلام می‌دارند.

References:

[1] Chow C, Gauci CG, Cowman AF, Lightowlers MW. Echinococcus granulosus: oncosphere-specific transcription of genes encoding a host-protective antigen. ***Exp Parasitol*** 2004; 106(3-4): 183–6.

[2] Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. ***Int J Infect Dis*** 2008; 13(2): 125-33.

[3] Hemphill A, Kern P. Special issue: Experimental studies in Echinococcosis. ***Exp Parasitol*** 2008; 119: 437–8.

[4] Akhlaghi L, Ourmazdi H, Sarvi SH, Razmjoo E, Shokrabi M, Siavoshi MR et al. Using Dot-ELISA Method to Study the Prevalence of Human Hydatidosis in People Referred to Blood Transfusion Center in Tehran, 2005-2006. ***Razi J Med Sci*** 2010; 16 (67): 52-58 [in Persian]

[5] Lightowlers MW, Lawrence SB, Gauci CG, Young J, Ralston MJ, Maas D, et al. Vaccination against hydatidosis using a defined recombinant antigen. ***Parasite Immunol*** 1996; 18(9): 457–62.

[6] Chow C, Gauci CG, Cowman AF, Lightowlers MW. A gene family expressing a host-protective antigen of Echinococcus granulosus. ***Mol Biochem Parasitol*** 2001; 118(1): 83–8.

[7] Zhang W, Li J, You H, Zhang Z, Turson G, Loukas A, et al. Short report: Echinococcus granulosus from Xinjiang, PR China: cDNAS encoding the EG95 vaccine antigen are expressed in different lifecycle stages and are conserved in the oncosphere. ***Am J Trop Med Hyg*** 2003; 68(1): 40–3.

[8] Sambrook J, Fritsch E.F and Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001. Plainview.

[9] Heath DD, Lawrence SB. Antigenic polypeptides of Echinococcus granulosus oncospheres and definition of protective molecules. ***Parasite Immunol*** 1996; 18(7): 347–57.

[10] Gauci C, Heath D, Chow C, Lightowlers MW. Hydatid disease: vaccinology and development of the EG95 recombinant vaccine. ***Expert Rev Vaccines*** 2005; 4(1) 103–12.

[11] Scheerlinck J, Casey G, McWaters P, Kelly J, Woollard D, Lightowlers MW, et al. The immune response to a DNA vaccine can be modulated by co-delivery of cytokine genes using a DNA prime protein boost strategy. ***Vaccine*** 2001; 19(28-29): 4053–60.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-03]