مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۸۵، صفحات ۵۷ تا ۶۳

Original Article

شناسائی مولکولی ژن تولیدکننده پروتئین شوک حرارتی ۷۰ کیلودالتونی در قارچ درماتوفیت ترایکوفایتون‌وروکوزوم

دکترکامیار متواضع[۱]،دکتر مسعود امامی[۲]، دکترفتح‌اله فلاحیان[۳]،دکتر محمدرضا خرمی‌زاده[۴]، دکترساسان رضائی[۵]

[۱] استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی
[۲] استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی
[۳] استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی
[۴] دانشیار، بخش بیولوژی مولکولی، گروه قارچ شناسی و انگل شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۵] دانشیار، بخش بیولوژی مولکولی، گروه قارچ شناسی و انگل شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: *ترایکوفایتون وروکوزوم (T.verrucosum) یکی از قارچهای درماتوفیت است که پوست و ضمائم آن در انسان و حیوانات به ویژه دام را مورد تهاجم قرار می‌دهد. در مطالعه حاضر سعی شده است تا پروتئین‌های کاپرونی منسوب به پروتئین‌های شوک حرارتی ۷۰ کیلودالتونی در این قارچ تشخیص داده شده و بیان ژن مولد آن تحت شرایط استرس گرمایی بررسی شود.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، پرایمرهایی به اندازه ۲۰ یا ۲۱ نوکلئوتید با استفاده از نواحی بسیار ثابت ژن‌های مشابه دیگر طراحی گردیدند. این پرایمرها در PCR های متعددی با استفاده از DNA ژنومی و نیز cDNA قارچ درماتوفیت ترایکوفایتون وروکوزوم به کار گرفته شده و قطعات PCR حاصله، تعیین توالی گردیدند.*

یافته‌ها: *در این بررسی ۲۲۱۷ نوکلئوتید از این ژن جدید، توالی‌یابی شد که ORF آن به طول bp ۱۹۶۲بوده، حاوی دو اینترون می‌باشد و پروتئینی با ۶۵۴ آمینواسید را رمز می‌نماید. پروتئین حاصله غنی از گلیسین، آلانین و گلوتامیک اسید بود در حالی که میزان تریپتوفان و سیستئین آن ناچیز است. مقایسه توالی‌های به دست آمده در بانک اطلاعات ژنی چه درمورد ژن جدید و چه در مورد آمینواسید منتج از آن، همولوژی معنی‌داری را با دیگر پروتئین‌های شوک حرارتی ۷۰ کیلودالتونی نشان داده است. مطالعات بیشتر نشان داد بیان این ژن تحت تأثیر استرس‌های حرارتی افزایش می‌یابد.*

نتیجه‌گیری: *ژن سنتزکننده پروتئین شوک حرارتی۷۰ کیلودالتونی که از قارچ درماتوفیت ترایکوفایتون وروکوزوم به دست آمده است، از نظر توالی نوکلئوتیدی شباهت زیادی با سایر ژن‌های این خانواده در دیگر ارگانیسم‌ها دارد. این پروتئین به طور محسوسی میکروارگانیسم را در برابر استرس‌های گرمائی محافظت می‌کند.*

واژگان کلیدی: *درماتوفیت، ترایکوفایتون وروکوزوم، کاپرون، پروتئین شوک حرارتی.*

مقدمه

قرارگیری سلول‌ها در معرض تنش‌های محیطی همچون شوک حرارتی، فلزات سنگین (۱) و اشعه ماوراء بنفش (۲) باعث فعال شدن ژن‌های شوک حرارتی و سنتز پروتئین‌های شوک حرارتی (Heat shock protein:HSP) می‌شود (۳،۴). تاکنون HSPهای مختلفی از نظر اندازه و عملکرد شناخته شده‌اند (۵). پروتئین‌های شوک حرارتی ۷۰ کیلودالتونی، یکی از پروتئین‌های بسیار ثابت از نظر توالی آمینو اسیدی هستند (۶)، همچنین این پروتئین‌ها در نقش کاپرون‌های مولکولی، باعث متابولیسم پروتئین‌ها و جابه‌جائی آنها چه در شرایط تنش و چه در شرایط عادی می‌گردند (۱۱-۷). HSPها،

آدرس نویسنده مسئول: تهران، میدان قدس، ابتدای خیابان دربند، واحد تهران شمال دانشگاه آزاد اسلامی، دکتر کامیار متواضع (**email**: motavaze49@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۱/۳۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۵/۵/۵

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]

جابه‌جایی پروتئین‌های سیتوپلاسمی را به درون میتوکندری تسهیل می‌نمایند (۱۲،۱۳). این پروتئین‌ها، موجودات زنده را در برابر استرس‌های محیطی نیز محافظت می‌کنند (۳،۸،۱۴). عملکرد HSPها، چه در شرایط استرس و چه در شرایط معمول، وابسته به ATP می‌باشد (۱۵). خانواده پروتئین‌های شوک حرارتی ۷۰ کیلودالتونی در مخمرها به طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۱۶) با این وجود درمورد قارچهای رشته‌ای خصوصاً آنهائی که با عفونتهای انسانی در ارتباط هستند اطلاعات بسیار کمی در دسترس است.

درماتوفیت‌ها، گروهی از قارچهای رشته‌ای کراتین‌دوست هستند که پوست و ضمائم آن در انسان و حیوانات را مورد حمله قرار می‌دهند (۱۷). طیف وسیعی از عفونتهای درماتوفیتی در انسان توسط T. verrucosum ایجاد می‌شود (۱۹-۱۷). این قارچ یکی از عوامل ایجاد کننده انواع مختلف کچلی است (۲۰). هدف از این بررسی، شناسایی مولکولی ژن سنتزکننده پروتئین شوک حرارتی ۷۰ کیلو دالتونی و بررسی بیان ژن مذکور تحت تأثیر استرس‌های گرمائی در این درماتوفیت بوده است.

مواد و روشها

تهیه نمونه قارچی: برای انجام این مطالعه بنیادی، از بیماران مشکوک مبتلا به عفونت قارچی‌جلدی مراجعه‌کننده به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۸۲، نمونه‌برداری صورت گرفت که بعد از بررسیهای ماکروسکوپی و میکروسکوپی وجود قارچ T. verrucosum تأیید گردید.

جداسازی DNA: DNA با وزن مولکولی بالا با کمک روش تغییر یافته Choi، از قارچ T. verrucosum به دست آمد. به طور خلاصه، توده میسلیومی فریز شده، با کمک نیتروژن مایع در داخل یک هاون چینی به صورت پودر کاملاً یکنواخت درآمد. پودر حاصله در داخل بافر استخراج کننده DNA ریخته شد. این بافر شامل Tris- HCl ۵۰ میلی‌مولار، EDTA ۵۰ میلی‌مولار، SDS ۳٪، بتا مرکاپتواتانول ۱٪ و پروتئیناز K می‌باشد. سوسپانسیون حاصل در دمای ۶۵°C به مدت۱ ساعت قرار داده شد و توده سلولی با سانتریفوژ ۲۵۰۰ دور در مدت ۱۵ دقیقه جدا شد. پس از افزودن RNase-H، سوسپانسیون حاصله به مدت نیم ساعت در دمای ۳۷°C قرار داده شد. سپس عمل استخراج ابتدا با کمک فنل- کلروفرم- ایزوآمیل الکل (۲۵:۲۴:۱) و سپس با کمک کلروفرم- ایزو آمیل الکل (۲۴:۱) دنبال شد. با افزودن حجم مساوی از ایزوپروپانول، DNA رسوب داده شد و در اتانول نگهداری گردید.

جداسازی RNA: استخراج RNA، هم برای نمونه‌های شاهد و هم سه نمونه از سلول‌های قارچی که به ترتیب به مدت ۱، ۲ و ۴ ساعت در حرارت ۴۰° C قرار داده شده بودند، انجام گرفت. به این منظور برای هر یک از گروهها، ۴۰ پلیت حاوی محیط سابورو دکستروز آگار مایع به همراه سیکلوهگزامید و کلرامفنیکل جهت برداشت میسلیوم و استخراج RNA مورد استفاده قرار گرفت. پودر میسلیومی به دست آمده با کمک نیتروژن مایع، در داخل محلول گوانیدین ایزوتیوسیانات (GITC) سرد و به مدت ۱۵ دقیقه به صورت هموژنیزه درآمد و به دنبال آن نمونه در سانتریفوژ ۲۵۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. عمل استخراج با سدیم استات ۲مولار، فنل اسیدی و کلروفرم- ایزوآمیل الکل (۲۴:۱) همراه با سانتریفوژ ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۷ دقیقه دنبال شد. بعد از افزودن حجم مساوی از ایزوپروپانول و قرارگیری نمونه‌ها در حرارت ۲۰°C- به مدت ۱ ساعت، سانتریفوژ ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. سپس GITC و ایزوپروپانول به نمونه‌ها افزوده شده و مخلوط حاصل در ۲۰°C- به مدت ۱ساعت قرار گرفت. نمونه‌های نهائی در سانتریفوژ ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه قرار گرفته و رسوب RNA حاصله، با کمک اتانول ۷۰٪ به آرامی شستشو داده شد.

انجام PCR: PCR با استفاده از DNA ژنومی و با کمک پرایمرهای اولیگونوکلئوتیدی سنتتیک صورت گرفت. به طور خلاصه مجموعه‌ای از هر یک از پرایمرها به محلول حاوی بافر PCR به صورت ×۱۰ همراه با MgCl2 ، مخلوط dNTP ۱۰ میلی‌مولار، آنزیم Taq و DNA ژنومی اضافه گردید. برنامه PCR به کار رفته جهت تکثیر بخش اول ژن مورد نظر به این صورت بوده است: ۹۴°C به مدت یک دقیقه، ۵۰°C به مدت یک دقیقه و ۷۲°C به مدت یک دقیقه (مجموعاً۳۵ دور) همچنانکه درمورد بخش میانی و انتهایی ژن، برنامه به این شکل تنظیم شد:C ۹۴° به مدت ۱ دقیقه، ۵۳°C به مدت ۱ دقیقه و ۷۲°C به مدت ۷۵ ثانیه (مجموعاً ۳۵ دور). در پایان محصولات PCR به دست آمده با کمک الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱٪ بررسی گردیدند.

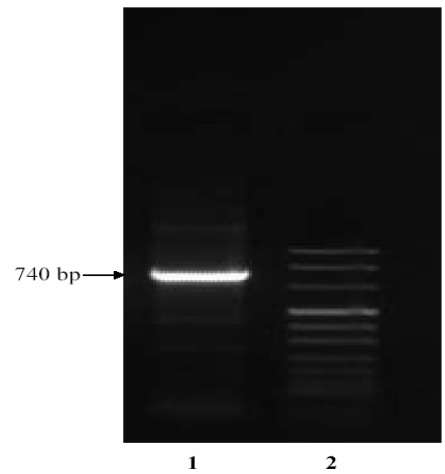
انجام RT-PCR: عمل RT-PCR با کمک cDNA انجام شد. برای این منظور ابتدا دو مخلوط جداگانه تهیه شد. یکی از این محلول‌ها حاوی Random Hexamer، هر یک از پرایمرها و RNA بود که ابتدا به مدت ۳ دقیقه در۷۰°C و سپس ۱ دقیقه در۴°C قرار داده شدند. در حالی که مخلوط دوم حاوی بافر

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]

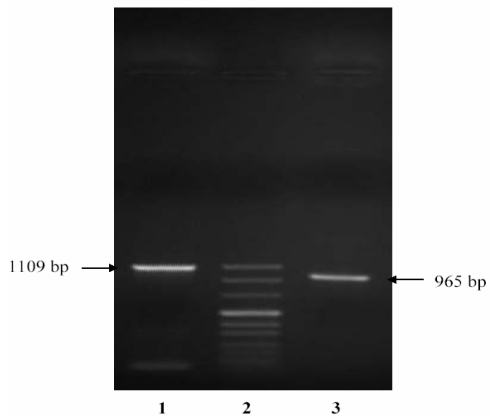
PCR به صورت ×۵ با MgCl2 همراه با دی‌تیوتریتول، بازدارنده RNase، آنزیم RT و مخلوط dNTP بوده است.
از محصول نهایی حاصل از ادغام این دو مخلوط برای تولید cDNA مطابق برنامه زیر استفاده گردید:
۳۸°C به مدت ۵۵ دقیقه، ۹۵°C به مدت ۳ دقیقه و ۲۰°C به مدت ۱ دقیقه.
cDNA حاصله با کمک برنامه‌های ذکر شده در بخش PCR، تکثیر شده و محصولات PCR با کمک الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱٪ بررسی گردیدند.
توالی یابی قطعات PCR: بعد از خالص‌سازی قطعات PCR به دست آمده با کمک کیت Qiagen، تعیین توالی قطعات مربوط به DNA ژنومی و cDNA توسط کمپانی MWG آلمان و با کمک پرایمرهای ۲۰ و ۲۱ نوکلئوتیدی طراحی شده انجام گردید.توالی یابی هر بخش از ژن حداقل سه بار برای هر دو رشته انجام شد. توالی نوکلئوتیدی به دست آمده با توالی ژن‌های مشابه در بانک جهانی ژن مقایسه گردیدند.
انجام Northern Blotting: مولکول‌های RNA جداشده در ژل الکتروفورز، ابتدا بر روی غشا نیتروسلولزی انتقال یافتند. بعد از عمل حرارت‌دهی در ۸۰°C به مدت ۲ ساعت، از غشا نیتروسلولزی لکه‌گذاری شده، برای عمل هیبریدیزاسیون استفاده گردید. با استفاده از فسفر رادیواکتیو، عمل هیبریدیزاسیون در حرارت ۶۵°C به مدت ۱۲ ساعت تکمیل گردید و بعد از شستشوهای متناوب با SDS و SSC (سالین سدیم سیترات) اتورادیوگرافی انجام شد.

یافته‌ها

بعد از تکثیر سه قطعه از ژن مورد نظر با کمک PCR، پروتئین شوک حرارتی ۷۰ کیلودالتونی دیگری در قارچ T.verrucosum شناسایی گردید. قطعه ابتدایی این ژن، ۷۴۰bp طول دارد (شکل۱) در حالی که بخشهای میانی و انتهایی آن به ترتیب ۱۱۰۹bp و ۹۶۵bp طول داشتند (شکل۲).
این ژن جدید، دارای ۲ اینترون می‌باشد که بر پایه مقایسه قطعات PCR بین DNA ژنومی و cDNA به دست آمده‌اند (شکل۳).
توالی کامل نوکلئوتیدی و آمینواسیدی این ژن نیز در شکل۴ آورده شده است. این ژن، حاوی یک ORF به طول ۱۹۶۲bp است که ۶۵۴ آمینواسید را رمز نموده است. مقایسه توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی به دست آمده در بانک جهانی ژن، شباهت معنی‌داری را با سایر HSPهای ۷۰ کیلودالتونی نشان می‌دهد. توالی آمینواسیدی پروتئین حاصله حدود ۹۸٪ با T.rubrum، ۸۶٪ با D.melanogaster و ۷۵٪ با انسان شباهت نشان می‌دهد. ترکیب شیمیایی پروتئین حاصله نشان می‌دهد که این پروتئین غنی از گلیسین (۸/۸۶٪)، آلانین (۹/۷۸٪) و گلوتامیک اسید (۸/۲۵٪) بوده در حالی که میزان تریپتوفان و سیستئین آن ناچیز است (به ترتیب ۰/۱۵٪ و ۰/۶۱٪).
تجزیه و تحلیلهای نشانه‌گذاری بعد از Northern blotting برروی هرچهار نمونه RNA مورد بررسی و مقایسه نمونه‌های شاهد و حرارت دیده نشان می‌دهد بیان ژن HSP ۷۰ کیلودالتونی با افزایش مدت زمان شوک حرارتی به طور محسوسی افزایش پیدا می‌کند (شکل۴).

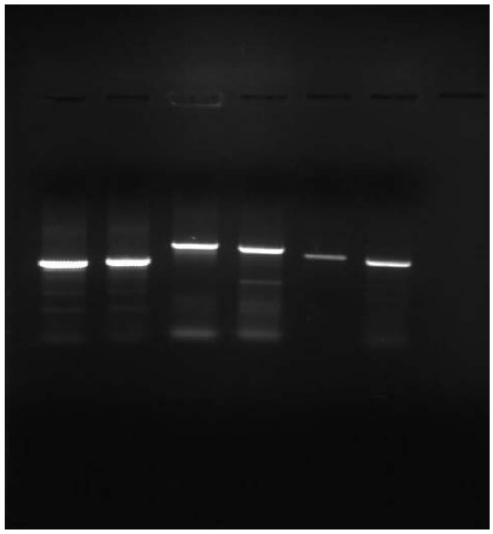


شکل ۱- محصول PCR به دست آمده از قطعه ابتدائی ژن TvHSP70 (ردیف۱). طول باندهای سایزمارکر (ردیف۲) عبارتند از: ۱۱۱۴، ۹۰۰، ۶۹۲، ۵۰۱، ۴۸۹ ، ۴۰۴، ۳۲۰، ۲۴۲ و ۱۹۰pb (از بالا به پائین).

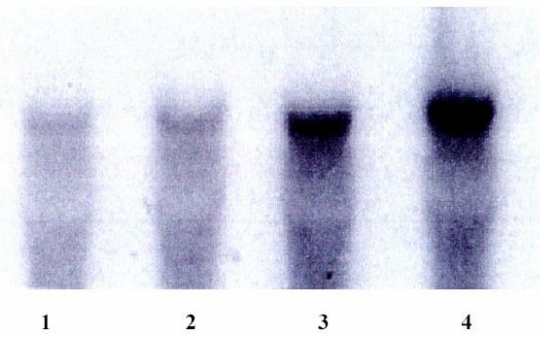


شکل۲- محصول PCR به دست آمده از قطعه میانی (ردیف۱) و انتهائی (ردیف۳) ژن TvHSP70. اندازه باندهای سایزمارکر (ردیف۲) عبارتند از: ۱۱۱۴، ۹۰۰، ۶۹۲، ۵۰۱، ۴۸۹، ۴۰۴، ۳۲۰، ۲۴۲ و ۱۹۰bp (از بالا به پائین).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]



شکل۳- شناسائی اینترون در ژن TvHSP70. محصول PCR مربوط به DNA ژنومی از قطعه ابتدائی ژن (ردیف۱)؛ محصول PCR مربوط به cDNA از قطعه ابتدائی ژن (ردیف۲)؛ محصول PCR مربوط به DNA ژنومی از قطعه میانی ژن (ردیف۳)؛ محصول PCR مربوط به cDNA از قطعه میانی ژن (ردیف۴)؛ محصول PCR مربوط به DNA ژنومی از قطعه انتهائی ژن (ردیف۵)؛ محصول PCR مربوط به cDNA از قطعه انتهائی ژن (ردیف۶). اختلاف اندازه قطعات PCR حاصله بین ردیف‌های ۳ و ۴ و نیز ردیف‌های ۵ و ۶ نشان دهنده وجود دو اینترون می‌باشد.



شکل ۴- افزایش بیان ژن TvHSP70 در نتیجه انجام Northern blotting. ردیف۱: RNA شاهد؛ ردیف۲: RNA مربوط به نمونه حرارت دیده در دمای^{o}C۴۰ به مدت ۱ ساعت؛ ردیف۳: RNA مربوط به نمونه حرارت دیده در دمای ^{o}C۴۰ به مدت ۲ ساعت؛ ردیف۴: RNA مربوط به نمونه حرارت دیده در دمای^{o}C۴۰ به مدت ۴ ساعت.

بحث

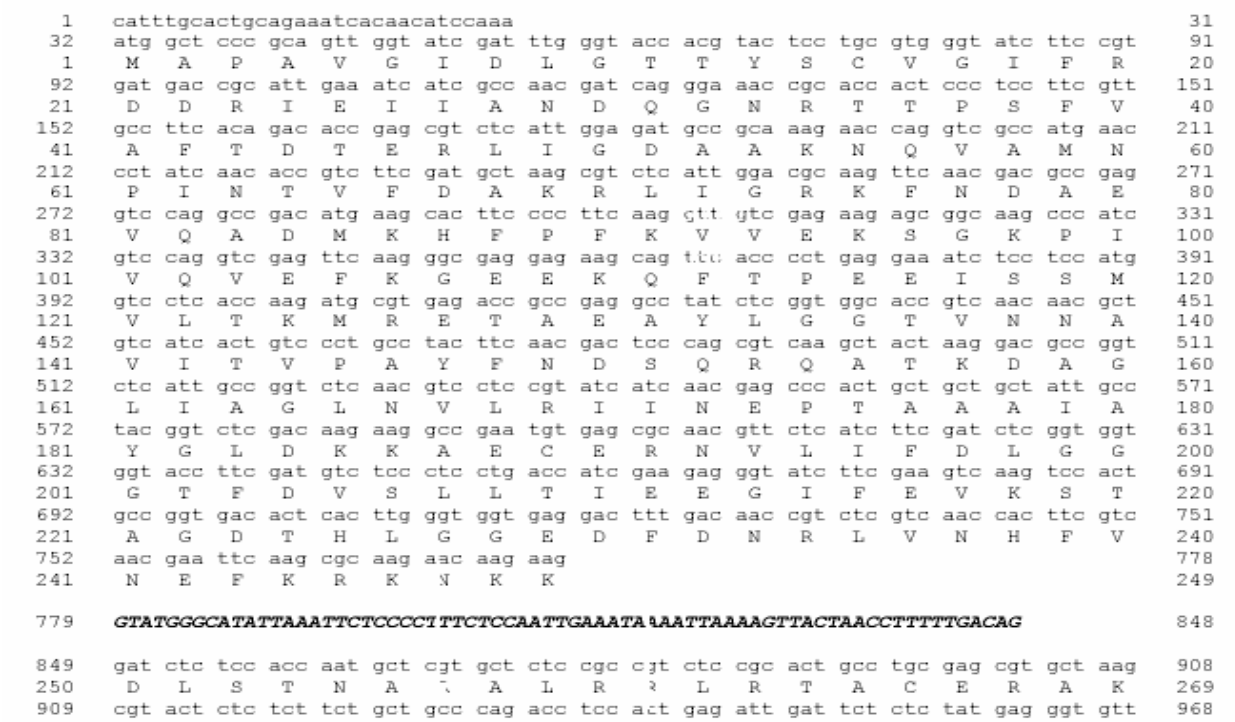
در مطالعه حاضر، شناسایی و تشخیص مولکولی ژن کدکننده یک پروتئین ۷۰ کیلودالتونی از قارچ T. verrucosum گزارش شده است که از این پس به عنوان TvHSP70 لقب گرفته است. به طور کلی، تحقیقات مولکولی بسیاری بر روی جنس‌های ترایکوفایتون و میکروسپوروم در بین درماتوفیت‌ها انجام شده است. T. verrucosum یکی از پاتوژن‌های حیوان دوست است که باعث کچلی ریش و سبیل، کچلی بدن و کچلی ناخن در انسان می‌شود و یکی از مهمترین عوامل درماتوفیتوزیس مشترک در انسان و حیوانات خصوصاً دام است (۲۰). به دلیل اهمیت دخالت این قارچ در عفونتهای انسان و حیوانات، سعی بر آن شد تا یکی از جنبه‌های مولکولی این قارچ که احتمالاً در بیماری‌زایی آن موثر می‌باشد، بررسی شود. هرچند اطلاعات مولکولی درباره این قارچ بسیار اندک است، اما گزارشهایی درباره تنوع DNA میتوکندریایی T.verrucosum در دسترس است (۲۱،۲۲) و پرایمرهای اختصاصی نیز در برخی تحقیقات ژنتیکی مشخص طراحی و استفاده شده است (۲۵-۲۳). در ضمن این قارچ از طریق توالی‌یابی ناحیه ITS2 مربوط به rDNA مورد شناسایی مولکولی قرار گرفته است (۲۶). گونه‌های ترایکوفایتون با کمک Lightcycler PCR (۲۷)، Repetitive-Sequence-PCR-based DNA fingerprinting (۲۸) و تجزیه و تحلیل‌های RAPD (۲۵) مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

پروتئین‌های شوک حرارتی موجودات زنده را در برابر تنش‌های محیطی نظیر شوک‌های حرارتی، املاح فلزات سنگین و اشعه ماوراء بنفش مقاوم می‌سازند، علیرغم نقشی که به عنوان کاپرون‌های مولکولی در تنظیم تاخوردگی پروتئین‌های تازه ساخته شده و نیز جابه‌جائی آن‌ها به درون اندامک‌های سلولی دارند (۳-۱،۸). HSPها در پاسخهای مختلف ایمنی نیز موثرند (۳۲-۲۹). این پروتئین‌ها در موجودات مختلفی همچون کرم‌ها، مگس سرکه و انسان مطالعه شده‌اند.

در بررسی حاضر، چهارگروه کشت قارچی مورد پژوهش قرار گرفتند. یک گروه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که در دمای ^{o}C۳۰ قرار گرفته بودند و سه گروه دیگر در دمای^{o}C۴۰ به مدت ۱، ۲ و ۴ ساعت؛ به عبارت دیگر این سه گروه با شوک حرارتی ۱۰ درجه‌ای مواجه گردیدند.

در این تحقیق سه جفت پرایمر مختلف برای تکثیر بخشهای ابتدایی، میانی و انتهایی این ژن طراحی و استفاده گردیدند.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]



شکل۵- توالی‌های کامل نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژن TvHSP70. نوکلئوتیدهای ۸۴۸-۷۷۹ و نیز ۱۹۶۷- ۱۹۰۱، توالی‌های اینترونی هستند. کدون آغازین (atg) و پایانی (taa) روی شکل مشخص می‌باشند

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]

ژن کامل HSP70 در قارچ ترایکوفایتون وروکوزوم، دارای ۲۲۱۷ نوکلئوتید است که یک ORF به اندازه ۱۹۶۲bp داشته و پروتئینی با ۶۵۴ آمینواسید را سنتز می‌نماید. مقایسه توالی نوکلئوتیدی DNA ژنومی و cDNA درمورد ژن TvHSP70 نشان دهنده وجود ۲ اینترون در این ژن بوده که شباهت بسیار زیادی با ژن HSP70 مشابه کشف شده در قارچ درماتوفیت ترایکوفایتون روبروم دارد (۳۳). اخیراً ژن HSP70 مشابهی در قارچ ریزوپوس نیگریکانس بررسی شده که حاوی ۴ اینترون است (۳۴). تجزیه و تحلیل توالی آمینواسیدی ژن TvHSP70، شباهت معنی‌داری با دیگر ژن‌های HSP70 جداشده دارد به طوری که ۹۸٪ با ترایکوفایتون روبروم، ۸۷٪ با نوروسپورا کراسا، ۸۶٪ با مگس سرکه، ۷۸٪ با سنورابدیتیس الگانس ، ۷۵٪ با انسان و ۷۳٪ با کاندیدا آلبیکنز همولوژی نشان می‌دهد. مطالعات بیشتر نشان داد بیان ژن HSP70 در نتیجه افزایش حرارت، بالا می‌رود و این افزایش برحسب زمان شوک حرارتی به طور تصاعدی انجام می‌شود.

به طور کلی، بیان ژن‌های HSP70 در نتیجه استرس‌های محیطی تغییر می‌کنند. در این مطالعه مشخص شد که بیان ژن HSP70 در نتیجه افزایش مدت زمان شوک حرارتی افزایش یافته است که این نتیجه نیز با مطالعات مشابه قبلی (۳۴،۳۳) مطابقت دارد.

می‌توان نتیجه گرفت که HSP70 در قارچ درماتوفیت T.verrucosum علاوه بر کاپرون بودن، نقش مهمی را در مقاوم‌کردن میکروارگانیسم نسبت به استرس‌های محیطی دارد.

با بررسیهای بیشتر بر روی ساختار این ژن و مطالعه عوامل موثر بر آن، می‌توان به راهکارهایی برای تولید داروهای جدید ضد قارچی دست یافت.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات بی‌شائبه همکاران محترم در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات و همچنین پرسنل آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

REFERENCES

1. Lindquist S, Craig EA. The heat shock proteins. Annu Rev Genet 1988;22:631-7.
2. Trautinger F, Kindas-Mugge I, Barlan B, Neuner P, Knobler RM. 72kDa heat shock protein is a mediator of resistance to ultraviolet B light. J Invest Dermatol 1995;105:160-2.
3. Leppa S, Sistonen L. Heat shock response; Pathophysiological implication. Ann Med 1997; 29:73-8.
4. Steen BR, Lian T, Zuyderduyn S, MacDonald WK, Marra M, Jones SJ, et al. Temperature-regulated transcription in the pathogenic fungus Cryptococcus neoformans. Genome Research 2002;12(9):1386-1400.
5. Moseley PL. Heat shock proteins and heat adaptation of the whole organism. J Appl Physiol 1997;83:1413-17
6. Boorstein WR, Ziegelhoffer T, Craig EA. Molecular evolution of the HSP70 multigene family. J Mol Evol 1994;38:1-17.
7. Bukau B, Horwich AL. The HSP70 and HSP60 Chaperone machines. Cell 1998;92:351-366.
8. Hartl FU. Molecular chaperones in cellular protein folding. Nature 1996;381:571-79.
9. Hendrick JP, Hartl FU. Molecullar chaperone functions of HSPs. Annu Rev Biochem 1993; 62:349-84.
10. Mayer MP, Bukau B. HSP70 chaperone system: diversity of cellular functions and mechanisms of action. Biol Chem 1998;379:261-68
11. Morimoto RI, Kline MP, Bimston DN, Cotto JJ. The heat-shock response: regulation and function of heat-shock proteins and molecular chaperones. Essay Biochem 1997;32:17-29.
12. Chirico WJ, Waters MG, Blobel G. 70 kDa heat shock related proteins stimulate protein translocation into microsome. Nature 1988;332:805-10.
13. Deshaies RJ, Koch BD, Werner-Washburne M, Craig EA, Schekman R. A subfamily of stress proteins facilitates translocation of secretory and mitochondrial precursor polypeptides. Nature 1988;332:800-5.
14. Ohtsuka K, Kawashima D, Gu Y, Saito K. Inducers and co-inducers of molecular chaperones. Int J Hyperthermia 2005;21(8):703-11.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]

15. Hemmingsen SM, Woolford C, van der Vies SM, Tilly K, Dennis DT, Georgopoulos CP, et al. Homologous plant and bacterial proteins chaperone oligomeric protein assembly. Nature 1988;333:330-4.

16. Craven RA, Tyson JR, Stirling CJ. A novel subfamily of HSP70s in the endoplasmic reticulum. Trends Cell Biology 1997;7:277-282.

17. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. Clin Microbiol Rev 1995;8:240-59

18. Dahl MV, Grando SG. Chronic dermatophytosis. Adv Dermatol 1994;9:97-111.

19. Odom R. Pathophysiology of dermatophyte infection. J Am Acad Dermatol 1993;28:S2-S7.

20. Rippon J, editor. Medical mycology. 3rd edition. WB Saunders, New York. 1988.

21. Kawasaki M, Inoue T, Ohsawa T, Ishioka S, Mochizuki T, Ishizaki H. Two Arthroderma benhamiae isolates showing mitochondrial DNA type of Trichophyton verrucosum. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi 2002;43(2):103-6.

22. Nishio K, Kawasaki M, Ishizaki H. Phylogeny of the genera Trichophyton using mitochondrial DNA analysis. Mycopathologia 1992;117(3):127-32.

23. Blanz P, Buzina W, Ginter G, Graser Y. Molecular biological methods and their consequences in taxonomy and diagnosis of dermatophytes. Mycoses 2000;Suppl 1:11-16.

24. Bock M, Maiwald M, Kappe R, Nickel P, Naher H. Polymerase chain reaction-based detection of dermatophytes DNA with a fungus-specific primer system. Mycoses 1994;37(3-4):79-84.

25. Hajduch M, Drabek J, Raclavsky V, Kotala V, Michalek T, Zelenkova I. Diversity among wild type and vaccination strains of Trichophyton verrucosum investigated using random amplified polymorphic DNA analysis. Folia Biol (praha) 1999;45(4): 151-6.

26. Woldeamanuel Y, Leekassa R, Chryssanthou E, Mengistu Y, Petrini B. Clinico-mycological profile of dermatophytosis in a reference center for leprosy and dermatological diseases in Addis Ababa. Mycopathologia 2006;161(3):167-72.

27. Gutzmer R, Mommert S, Kuttler U, Werfel T, Kapp A. Rapid identification and differentiation of fungal DNA in dermatological specimens by lightcycler PCR. J Med Microbiol 2004;53:1207-14.

28. Pounder JI, Williams S, Hansen D, Healy M, Reece K, Woods GL. Repetitive-sequence-PCR-based DNA fingerprinting using the DiversiLab system for identification of commonly encountered dermatophytes. J Clin Microbiol 2005;43(5):2141-7.

29. Bahr GM, Rook GA, al-Saffar M, Van Embden J, Stanford JL, Behbehani K. Antibody levels to Mycobacteria in relation to HLA type: evidence for non-HLA-linked high levels of antibody to the 65 kDa heat shock protein of M.bovis in rheumatoid arthritis. Clin Exp Immunol 1988; 74:211-15.

30. Gomes FJ. An 80 kDa antigen from Histoplasma capsulatum that has homology with HSP70 induces cell-mediated immune response in mice. Infect Immun 1992;60:2565-71.

31. Mizzen L. Immune response to stress proteins (application to infectious disease and cancer). Biotherapy 1998;10:173-89.

32. Tsoulfa G, Rook GA, Van-Embden JD, Young DB, Mehlert A, Isenberg DA, et al. Raised serum IgG and IgA antibodies to mycobacterial antigens in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1989;48:118-23.

33. Rezaie S, Ban J, Mildner M, Poitschek C, Brna C, Tschachler E. Characterization of a cDNA clone, encoding a 70 kDa heat shock protein from the dermatophyte pathogen Trichophyton rubrum. Gene 2000;241(1):27-33.

34. Cernila B, Cresnar B, Breskvar K. Molecular characterization of a ribosome-associated hsp70 homologous gene from Rhizopus nigricans. Biochim Biophys Acta 2003;1629(1-3):109-13.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]