

## تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه پروتئین حرکتی ویروس پیچیدگی زرد برگ گوجه‌فرنگی و بررسی کارآیی آن در ردیابی ویروس

### Production of Polyclonal Antibody Against Movement Protein of Tomato Yellow Leaf Curl Virus and Assessment of Its Efficacy in Virus Detection

سجاد مرادی<sup>۱</sup>، مسعود شمس‌بخش<sup>۲\*</sup> و ناصر صفایی<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۸/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۳/۳۰

#### چکیده

بیماری ویروسی پیچیدگی زرد برگ گوجه‌فرنگی از مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری و گلخانه‌های مناطق معتدل جهان به‌شمار می‌رود. به‌منظور تولید آنتی‌بادی علیه ویروس عامل بیماری برای استفاده در ردیابی و معرفی کیت تشخیص بیماری، پروتئین حرکتی همسانه‌سازی شده ویروس در ناقل بیانی pET26(b)+، از سویه BL21(DE3) باکتری *Escherichia coli* بیان شد و پروتئین نوترکیب استخراج و به خرگوش تزریق شد. آنتی‌سرم تهیه شده، به‌منظور بررسی کارآیی در ردیابی پروتئین بیان شده در باکتری و تشخیص ویروس در گیاهان آلوده، در آزمون‌های وسترن‌بلات و الایزا مورد استفاده قرار گرفت. در آزمون وسترن‌بلات و رقت ۱ به ۱۵۰۰ آنتی‌سرم، باند ۱۳ کیلودالتونی مربوط به پروتئین حرکتی ویروس را در گیاهان آلوده ردیابی کرد. در آزمون الایزا و رقت ۱ به ۱۰۰۰ آنتی‌سرم، واسرشته کردن پروتئین سبب افزایش جذب نوری در نمونه‌های گیاهان آلوده شد هرچند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. این نتایج نشان داد که آنتی‌سرم تولید شده علیه پروتئین حرکتی ویروس پیچیدگی زرد برگ گوجه‌فرنگی برای آزمون وسترن‌بلات مناسب بوده و جهت استفاده در آزمون الایزا نیاز به تخلیص آنتی‌بادی دارد.

واژه‌های کلیدی: TYLCV، آنتی‌سرم، الایزا، پروتئین نوترکیب

۱. دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲ و ۳. دانشیاران گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

\* نویسنده مسوول Email: shamsbakhsh@modares.ac.ir

قسمتی از پایان‌نامه نویسنده اول ارائه شده به دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد

## مقدمه

گوجه‌فرنگی *Solanum lycopersicum* L. متعلق به تیره Solanaceae، یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی ایران می‌باشد. در بین عوامل بیماریزا، نقش ویروس‌ها در کاهش عملکرد گوجه‌فرنگی مهم بوده و از این میان ویروس‌های عامل بیماری پیچیدگی زرد برگ گوجه‌فرنگی که گروهی از ویروس‌های جنس بگوموویروس با نام ویروس پیچیدگی زرد برگ گوجه‌فرنگی (Tomato Yellow Leaf Curl Virus, TYLCV) هستند به‌خصوص در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان حائز اهمیت بسیار زیاد می‌باشند. این بیماری در برخی از مناطق به‌صورت عامل محدودکننده مطرح بوده و کشاورزان را مجبور به جایگزینی کشت گوجه‌فرنگی با محصول دیگری همچون بادمجان کرده است حاجی‌مراد و همکاران (Hajimorad et al., 1996).

شیوع غیرمنتظره و سریع این بیماری در نواحی مختلف دنیا و ایران، فوکوتا و همکاران؛ بهجت‌نیا و همکاران، ۱۳۸۳ (Fukuta et al., 2003)، ضرورت بهره‌گیری از روش‌های پیشرفته و با دقت بالا را برای تشخیص سریع و دقیق عوامل این بیماری برای کنترل به موقع آن ایجاب می‌کند. روش ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) متداول-ترین روش سرولوژیکی است که در سطح وسیع برای ردیابی و تشخیص ویروس‌ها استفاده می‌شود، هال (Hull, 2009) و این روش در ابتدا نیازمند تأمین منبع آنتی‌ژن ویروسی برای استفاده در فرآیند تولید آنتی‌بادی مورد استفاده می‌باشد. روش‌های سنتی تولید آنتی‌بادی‌ها، شامل استخراج پیکره ویروس از گیاه و استفاده از آن به‌عنوان آنتی‌ژن برای تزریق به حیوانات خونگرم (معمولاً پستانداران) می‌باشد و در این مسیر اولین و بزرگ‌ترین مشکل، خالص‌سازی موفق پیکره ویروس است که برای برخی از ویروس‌ها به دلایلی از قبیل غلظت کم آن در گیاه و وجود مشکلاتی در انتقال به گیاه تکثیری به آسانی امکان‌پذیر نمی‌باشد/بوجه و همکاران (Abou-Jawdah et al., 2004). از طرف دیگر گزارش شده است که آنتی‌بادی تهیه شده علیه پیکره کامل بگوموویروس‌ها به‌دلیل ارتباط سرولوژیک نزدیک، قادر به شناسایی و تفکیک آنها نمی‌باشد /بوزید و همکاران (Abouzid et al., 2002).

در اوایل دهه ۱۹۷۰ پژوهش‌های زیست‌شناسی مولکولی وارد مرحله نوینی از پیشرفت گردید و ابداع مجموعه‌ای از روش‌ها و فنون جدید به‌نام فناوری DNA نوترکیب سرآغاز پیشرفت‌های جدید در علوم و فناوری زیستی شد والکر و رپلی (Walker and Rapley, 2007). بیان ژن‌های ساختمانی و غیر-

ساختمانی ویروس‌ها در سیستم‌های بیان ژن با استفاده از *E. coli* برای تولید منبع آنتی‌ژن به‌منظور تولید آنتی‌بادی علیه اپی‌توپ‌های خطی که براساس تفاوت در توالی آمینواسیدی ساختمان اولیه پروتئین ویروس است تاکنون به‌طور موفقیت-آمیزی برای ویروس‌های متعددی استفاده شده است شمس بخش و سایمون؛ پلکوا و همکاران (Shams-bakhsh and Symons, 2004; Plichova et al., 2011). با توجه به گسترش ویروس مهم و خسارت‌زای پیچیدگی زرد برگ گوجه‌فرنگی در مناطق مهم تولید این محصول در کشور و فقدان کیت تشخیصی کارآ برای ردیابی سریع و به موقع آن، در پژوهش حاضر آنتی‌سرم علیه پروتئین حرکتی ویروس تهیه شد و کارآیی آن در ردیابی ویروس با روش‌های سرولوژیک وسترن-بلات و الایزا مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش

## سویه ویروسی و همسانه مورد استفاده

سویه ویروس مورد استفاده در این تحقیق TYLCV-IR2 می‌باشد که توسط عزیززی و همکاران (Azizi et al., 2008) از بندرعباس جمع‌آوری و پس از تعیین توالی، با شماره دسترسی EU085423 در پایگاه NCBI ثبت شد عزیززی و همکاران (Azizi et al., 2011). ژن کدکننده پروتئین حرکتی ویروس در حامل بیانی pET-26(b)+ همسانه سازی و به نام pTYLCV-MP نامگذاری، سپس بیان پروتئین آن در باکتری *E. coli* سویه BL21 بهینه‌سازی شد سلیمی و همکاران (Salimi et al., 2012). در پژوهش حاضر از سازه pTYLCV-MP برای بیان و استخراج پروتئین و تولید آنتی‌بادی استفاده شد.

## بیان و استخراج پروتئین

مقداری از منبع باکتری BL21 حاوی سازه pTYLCV-MP بیان‌کننده پروتئین هدف، بر روی محیط‌کشت LB جامد حاوی کانامایسین به غلظت نهایی ۵۰ μg/ml کشت داده شد. یک کلنی از باکتری در محیط‌کشت مایع LB حاوی آنتی‌بیوتیک کانامایسین با غلظت یاد شده کشت داده شد و از کشت یک شبه آن با نسبت پنج درصد به‌عنوان مایه تلقیح برای کشت یک لیتر محیط‌کشت جدید حاوی آنتی‌بیوتیک استفاده شد. القای بیان با استفاده از IPTG (IsoPropyl-β-D ThioGalactopyranoside) در غلظت نهایی ۰/۲ میلی‌مولار به‌مدت پنج ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انجام شد. استخراج پروتئین با استفاده از ژل آکریل‌آمید انجام شد. به این

منظور پس از الکتروفورز پروتئین تام (Total protein) باکتری در SDS-PAGE ۱۳ درصد ناپیوسته، باند موردنظر از ژل جداسازی و پس از قرار دادن در کیسه دیالیز حاوی بافر تانک الکتروفورز، به منظور خروج پروتئین از ژل به داخل کیسه دیالیز به مدت پنج ساعت در میدان الکتریکی با ولتاژ ۱۰۰ قرار گرفت. پس از خارج ساختن قطعات ژل، برای خارج کردن ناخالصی- های ناشی از بافر، به مدت ۲۴ ساعت علیه آب مقطر دیالیز انجام گرفت. در نهایت به منظور تغلیظ و سهولت در نگهداری، پروتئین خالص شده فریزدرای شد و نمونه‌ها تا زمان استفاده در دمای ۷۰- درجه سلسیوس قرار گرفتند.

ایمنی‌زایی و تهیه آنتی‌سرم یک هفته قبل از شروع تزریقات، دو عدد خرگوش سفید نیوزلندی دوماهه به وزن تقریبی دو کیلوگرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و در شرایط استریل نگهداری شد. چهار تزریق زیر جلدی، هر بار ۲۰۰ میکروگرم از پروتئین خالص شامل تزریق اول به همراه حجم مساوی از ماده همراه کامل فروند (Complete Freund's Adjuvant) و تزریق‌های بعدی به همراه حجم مساوی ماده همراه ناکامل فروند (Incomplete Freund's Adjuvant) و با فواصل ۱۲ روز انجام شد.

### ایمنی‌زایی و تهیه آنتی‌سرم

دو هفته پس از آخرین تزریق، خونگیری از حیوانات انجام و خون به آزمایشگاه منتقل گردید. خون به دست آمده به منظور جداسازی سرم، ابتدا به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و سپس ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سلسیوس قرار داده شد. سرم شفاف به آرامی جداسازی و برای حذف لاشه‌های سلولی و دیگر ذرات درشت، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید، و پس از اضافه کردن ۰/۰۲٪ سدیم آزاید تا زمان استفاده در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد.

دو هفته پس از آخرین تزریق، خونگیری از حیوانات انجام و خون به آزمایشگاه منتقل گردید. خون به دست آمده به منظور جداسازی سرم، ابتدا به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و سپس ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سلسیوس قرار داده شد. سرم شفاف به آرامی جداسازی و برای حذف لاشه‌های سلولی و دیگر ذرات درشت، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید، و پس از اضافه کردن ۰/۰۲٪ سدیم آزاید تا زمان استفاده در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد.

دو هفته پس از آخرین تزریق، خونگیری از حیوانات انجام و خون به آزمایشگاه منتقل گردید. خون به دست آمده به منظور جداسازی سرم، ابتدا به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و سپس ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سلسیوس قرار داده شد. سرم شفاف به آرامی جداسازی و برای حذف لاشه‌های سلولی و دیگر ذرات درشت، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید، و پس از اضافه کردن ۰/۰۲٪ سدیم آزاید تا زمان استفاده در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد.

دو هفته پس از آخرین تزریق، خونگیری از حیوانات انجام و خون به آزمایشگاه منتقل گردید. خون به دست آمده به منظور جداسازی سرم، ابتدا به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و سپس ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سلسیوس قرار داده شد. سرم شفاف به آرامی جداسازی و برای حذف لاشه‌های سلولی و دیگر ذرات درشت، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید، و پس از اضافه کردن ۰/۰۲٪ سدیم آزاید تا زمان استفاده در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد.

### نتایج و بحث

در پژوهش حاضر برای اولین بار در کشور آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه پروتئین حرکتی ویروس مهم و خسارت‌زای پیچیدگی زرد برگ گوجه‌فرنگی با تزریق پروتئین نوترکیب تولید شده در سلول باکتریایی به خرگوش تولید شد.

ابتدا به منظور بررسی کارایی آنتی‌سرم نوترکیب تولید شده در تشخیص پروتئین هدف در باکتری و گیاه از آزمون وسترن بلات استفاده شد. در رقت‌های بالاتر از یک به بیست هزار آنتی-سرم، تعدادی باند غیراختصاصی در غشاء مشاهده شد که می‌تواند به علت وجود قطعات شکسته شده پروتئین‌های دیگر در باند پروتئین هدف و یا وجود اپی‌توپ‌های مشترک در پروتئین‌های باکتریایی هم اندازه با پروتئین مورد نظر باشد که به همراه پروتئین نوترکیب استخراج شده‌اند. در رقت‌های

ایمنی‌زایی و تهیه آنتی‌سرم یک هفته قبل از شروع تزریقات، دو عدد خرگوش سفید نیوزلندی دوماهه به وزن تقریبی دو کیلوگرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و در شرایط استریل نگهداری شد. چهار تزریق زیر جلدی، هر بار ۲۰۰ میکروگرم از پروتئین خالص شامل تزریق اول به همراه حجم مساوی از ماده همراه کامل فروند (Complete Freund's Adjuvant) و تزریق‌های بعدی به همراه حجم مساوی ماده همراه ناکامل فروند (Incomplete Freund's Adjuvant) و با فواصل ۱۲ روز انجام شد.

### ایمنی‌زایی و تهیه آنتی‌سرم

دو هفته پس از آخرین تزریق، خونگیری از حیوانات انجام و خون به آزمایشگاه منتقل گردید. خون به دست آمده به منظور جداسازی سرم، ابتدا به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و سپس ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سلسیوس قرار داده شد. سرم شفاف به آرامی جداسازی و برای حذف لاشه‌های سلولی و دیگر ذرات درشت، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید، و پس از اضافه کردن ۰/۰۲٪ سدیم آزاید تا زمان استفاده در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد.

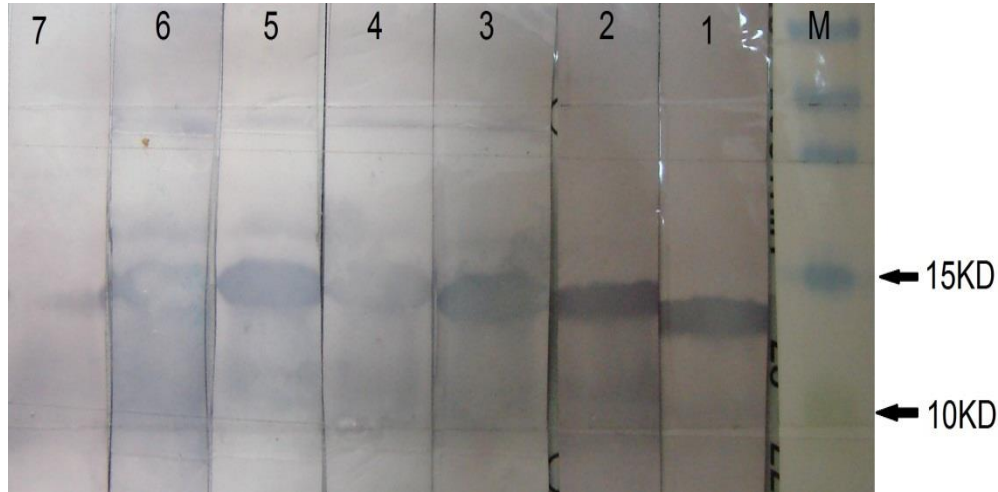
دو هفته پس از آخرین تزریق، خونگیری از حیوانات انجام و خون به آزمایشگاه منتقل گردید. خون به دست آمده به منظور جداسازی سرم، ابتدا به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و سپس ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سلسیوس قرار داده شد. سرم شفاف به آرامی جداسازی و برای حذف لاشه‌های سلولی و دیگر ذرات درشت، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید، و پس از اضافه کردن ۰/۰۲٪ سدیم آزاید تا زمان استفاده در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد.

### بررسی اختصاصیت آنتی‌سرم در ردیابی پروتئین هدف در باکتری و گیاه

عیارسنجی آنتی‌سرم برای ردیابی پروتئین هدف در باکتری با استفاده از آزمون وسترن بلات با رقت‌های مختلف آنتی‌سرم (۱ به ۵۰۰، ۱ به ۱۰۰۰، ۱ به ۵۰۰۰، ۱ به ۱۰۰۰۰، ۱ به ۲۰۰۰۰، ۱ به ۳۰۰۰۰ و ۱ به ۴۰۰۰۰) انجام شد. برای انجام آزمون وسترن بلات نمونه‌ها در سیستم SDS-PAGE ۱۲ درصد تفکیک و سپس پروتئین با استفاده از دستگاه انتقال Mini Trans-Blot® Electrophoretic transfer cell (Bio-Rad, USA) بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده با ولتاژ ۱۰۰ و به مدت یک ساعت به غشاء نیتروسولزی منتقل شد. از Goat

مشاهده شد (شکل ۲). عدم ظهور باند هدف در نمونه گیاهان سالم نشان‌دهنده قابلیت آنتی‌سرم تولید شده در ردیابی ویروس در گیاهان آلوده با استفاده از آزمون وسترن بلات می‌باشد.

پایین‌تر از یک به بیست هزار هیچ باند غیراختصاصی مشاهده نشد (شکل ۱). در بررسی کارآیی آنتی‌سرم تولید شده در ردیابی پروتئین ویروسی هدف در گیاهان آلوده، در رقت یک به ۱۵۰۰ آنتی‌سرم، باند ۱۳ کیلو دالتونی مربوط به پروتئین هدف

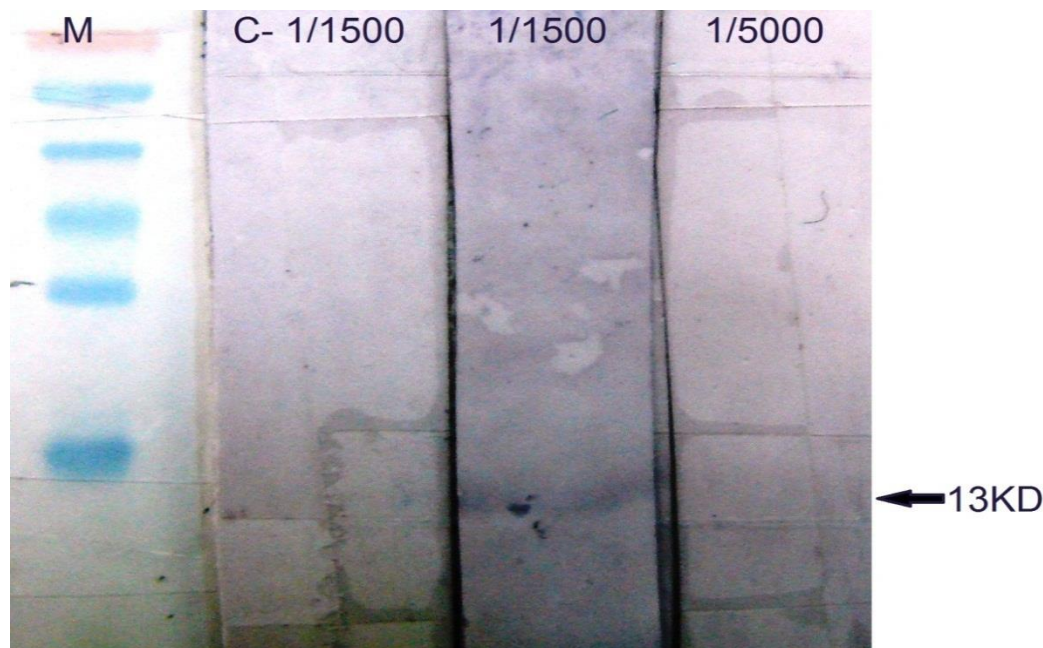


شکل ۱: بررسی کارآیی آنتی‌سرم تولید شده علیه پروتئین نوترکیب حرکتی ویروس پیچیدگی زرد برگ گوجه فرنگی در وسترن بلات و تیتراسیون آن در باکتری. راهک M نشانگر مولکولی. راهک ۱ تا ۷ به ترتیب: رقت‌های ۱:۵۰۰، ۱:۱۰۰۰، ۱:۵۰۰۰، ۱:۱۰۰۰۰، ۱:۲۰۰۰۰، ۱:۳۰۰۰۰، و باکتری بدون پلازمید به‌عنوان کنترل منفی

Fig. 1: Assessment efficacy of antiserum against Tomato yellow leaf curl virus- movement protein in western blot analysis. Line M; molecular weight. Lines 1-7 dilutions of 1: 500, 1: 1000, 1: 5000, 1: 10000, 1: 20000, 1: 30000, and negative control respectively

استفاده از ژل اکریل‌آمید برای استخراج پروتئین منجر به استخراج پروتئین به‌صورت ناخالص و واسرشته می‌شود. شباهت برخی اپی‌توپ‌های خطی و نیز تشکیل اپی‌توپ‌های بیگانه به علت تاخوردگی‌های اتفاقی، امری اجتناب‌ناپذیر بوده شولز و شیمیر (Schulz and Shirmer, 1979) و می‌تواند دلیلی بر واکنش آنتی‌بادی حاضر با پروتئین‌های گیاهان سالم باشد. این واقعیت به همراه غلظت پایین ویروس در گیاه می‌تواند موجب پس‌زمینه مثبت بالا شده و میزان اختلاف جذب را کم و غیرقابل قبول نشان دهد. از طرف دیگر در بسیاری از این دست گزارش‌ها نیکل و همکاران؛ فلوارکزن و همکاران (Nickel et al., 2004; Folwarczna et al., 2008)، کارآیی قابل قبول آنتی‌بادی در ردیابی ویروس، پس از خالص‌سازی آنتی‌بادی از سرم حاصل مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به این یافته‌ها و نتایج تحقیق حاضر لازم است نسبت به خالص‌سازی آنتی‌بادی از آنتی‌سرم، اقدام شود و توانایی آن در ردیابی ویروس مجدداً مورد بررسی قرار گیرد.

ضعیف بودن باند می‌تواند ناشی از غلظت پایین ویروس و در نتیجه پروتئین هدف در گیاه و یا غلظت پایین پروتئین کل استخراج شده از گیاه باشد به‌طوری‌که این باند در SDS-PAGE رنگ‌آمیزی شده با کوماسی‌بلو مشاهده نشد. نتایج الیزا در همه رقت‌های آنتی‌سرم مشابه بود هرچند در رقت یک به ۱۰۰۰ آنتی‌سرم، نتایج سریع‌تر به‌دست آمدند. استفاده از بافر پوششی به‌جای بافر استخراج که به نظر می‌رسد به‌علت پی‌اچ قلیایی (pH= ۹/۶) موجب بازشدن ساختار پروتئین و خطی شدن آن می‌شود سرواسکا و همکاران (Cerovska et al., 2006) و نیز استفاده از اوره برای خطی کردن ساختار پروتئین و در نتیجه در دسترس قرارگرفتن اپی‌توپ‌های خطی آن، اختلاف جذب نوری بین گیاهان آلوده و شاهد سالم در آزمون الیزا مشاهده شد، این نتایج تائیدکننده صحت آزمون وسترن بلات باشد، اما با توجه به کمتر بودن حساسیت الیزا نسبت به وسترن بلات و پایین بودن بیش از حد اختلافات جذب گیاهان سالم و آلوده، و از طرف دیگر معیار اختلاف جذب چند برابر در الیزا، نمی‌توان از این نتایج به‌عنوان نتایجی قابل قبول استفاده کرد.



شکل ۲: وسترن بلات برای ردیابی پروتئین حرکتی ویروس در گیاه. راهک M نشانگر مولکولی. راهکهای بعد به ترتیب؛ رقت ۱:۱۵۰۰ آنتی سرم در گیاه سالم (کنترل منفی) و آلوده، رقت ۱:۵۰۰۰ در گیاه آلوده

Fig. 2: Western blot analysis for detecting of movement protein in plant. Line M: molecular weight marker. Other lines 1: 1500 dilutions of antiserum in infected and healthy plants and 1: 5000 in infected plant respectively

در گیاه آلوده را در آزمون وسترن بلات تشخیص دهد. در آزمون الایزا نیز در غلظت ۱ به ۱۰۰۰ در حالت استفاده از مواد واسرشته کننده برای خطی کردن پروتئینها، مقادیر جذب نوری بیشتری در نمونه های کلیه گیاهان آلوده مشاهده شد که امید می رود با خالص سازی آنتی بادی حساسیت و اختصاصیت آزمون الایزا را تا حد قابل توجهی بالا برده و بتوان اختلاف جذب نوری بیشتر و معنی داری به دست آورد و از آن در ردیابی ویروس در مزارع کشور استفاده کرد.

#### سپاسگزاری

از صندوق حمایت از پژوهشگران کشور معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری به سبب حمایت مالی از این پژوهش در قالب طرح شماره ۸۹۰۰۱۶۹۳ قدردانی و تشکر می شود.

#### منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه های ۹-۱۰ متن انگلیسی مراجعه شود.

تاکنون برای چندین ویروس مختلف گیاهی آنتی بادی علیه پروتئین پوششی یا پروتئین های غیرساختاری مانند پلیمرزهای ویروسی یا پروتئین های حرکتی تولید شده و کارایی آنها در روش های مختلف سرولوژیکی مانند وسترن بلات یا الایزا مورد ارزیابی قرار گرفته است. مقایسه آنتی بادی های تولید شده علیه پروتئین ساختاری (پوششی) و غیرساختاری (حرکتی) ویروس برگ فاشقی سیب زمینی نشان داد که هر دو آنتی بادی قادر به شناسایی ویروس هم در آزمون الایزا و هم وسترن بلات می باشند. هر چند میزان جذب نوری هنگام استفاده از آنتی بادی تولید شده علیه پروتئین حرکتی نسبتاً ضعیف گزارش شده است (پلکو و همکاران، ۲۰۱۱). آنتی بادی ساخته شده علیه پروتئین پوششی ویروس ام سیب زمینی، در هردو آزمون وسترن بلات و الایزا قادر به تشخیص ویروس می باشد ولی آنتی بادی ساخته شده علیه پروتئین حرکتی فقط در آزمون وسترن بلات گیاهان آلوده را از گیاه سالم تشخیص داده است سرواسکا و همکاران (Cerovska et al., 2012). از طرفی در تحقیق دیگری آنتی بادی تولید شده علیه پروتئین پوششی ویروس ساقه شیاری سیب پس از خالص سازی آنتی بادی گیاهان آلوده و سالم را به خوبی در آزمون الایزا تفکیک کرد. در این تحقیق همچنین در برخی نمونه ها ویروس به خوبی ردیابی نشد که علت آن پایین بودن غلظت ویروس در گیاه عنوان شده است (نیکل و همکاران، ۲۰۰۴). در تحقیق حاضر، آنتی سرم تولید شده توانست در غلظت یک به ۱۵۰۰، پروتئین ویروس

تولید آنتی بادی پلی کلونال علیه پروتئین حرکتی ویروس...