NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.11/41 , 2021

Scan online to view this article

The effect of silver nanoparticles on *mecA* gene expression in methicillin-resistant samples of *Staphylococcus aureus*

Ahmad Rashid, Farahnaz Molavi*, Homa Mahmoudzadeh

Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Abstract

Aim and Background: *Staphylococcus aureus* is a common cause of nosocomial infections and increased resistance to antimicrobial agents in this bacterium is one of the major problems in health care. We also see resistant strains of this bacterium that are important pathogens in the development of the disease. The control of these bacteria is very important from a health and economic point of view, so the aim of this study was to investigate the prevalence of methicillin *mecA* resistance gene and determine the pattern of antibiotic resistance in existing samples of *Staphylococcus aureus* and to evaluate the antibacterial activity of silver nanoparticles against Gram-positive *Staphylococcus aureus*.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, 59 *staphylococcus aureus* specimens were collected from 11 nature detection laboratories. These samples were identified using standard laboratory methods and specific culture. PCR was used to evaluate the frequency of *mecA* gene. In order to use the antibiotic susceptibility pattern of the strains, the disk diffusion method is performed based on the CLSI protocol. Silver nanoparticles were made from ginger extract and Real Time PCR was used to evaluate the effect of silver nanoparticles on *mecA* gene expression.

Results: Out of 59 samples of *Staphylococcus aureus*, 51 samples were resistant to methicillin. Phenotypic evaluation of antibiotic resistance pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains showed that the results showed that 90% of isolates to penicillin, 85% to erythromycin, 84% to ceftriaxone, 53% to amikacin, 49% to gentamicin, 47% to piracyl 45% were resistant to spirofloxacin 37% to imipetmo 35% to linezolid, ie the highest antibiotic resistance was to penicillin 90%, erythromycin 85% and the lowest to imipetmo 37% and linzolid 35, respectively. Molecular analysis showed the presence of *mecA* gene in all samples. The results of real-time study showed that the effect of nanoparticles on mecA gene expression is significant.

Conclusion: The presence of 51 resistant samples out of 59 samples in the present study indicates an increase in resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to other antibiotics, which is a serious warning for the treatment of Staphylococcus aureus infections. And the effectiveness of silver nanoparticles on *mecA* gene expression shows that we can use this substance instead of existing antibiotics.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Methicillin, silver nanoparticles, antibiotic resistance, *mecA* gene

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

Corresponding author:
Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
Email: farahmolavi@gmail.com

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۱ - شماره۴۱ - زمستان ۱۳۹۹
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

بررسی اثر نانوذرات نقره بر روی بیان ژن mecA در نمونه‌های مقاوم‌به متی‌سیلین باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

احمد رشید، فرحناز مولوی*، هما محمودزاده

گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد،ایران

چکیده

سابقه و هدف: باکتری استافیلوکوکوس اورئوس یک عامل شایع در عفونت‌های بیمارستانی است و افزایش مقاومت‌به عوامل ضدمیکروبی در این باکتری یکی از مشکل‌هی عمده بخش مراقبت‌های بهداشتی است هم‌چنین ما شاهد سویه‌های مقاوم شده این باکتری هستیم که پاتوژن‌های مهم در بروز بیماری و مرگ و میر هستند لذا کنترل این باکتری‌ها ازنظر بهداشتی و اقتصادی اهمیت زیادی دارند. هدف از این تحقیق، بررسی میزان شیوع ژن مقاومت به متی‌سیلین mecA و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نمونه‌های موجود استافیلوکوکوس اورئوس و بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی - توصیفی ۵۹ استافیلوکوکوس اورئوس از ۱۱ آزمایشگاه تشخیص طبی جمع آوری گردید. این نمونه‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد آزمایشگاهی و کشت اختصاصی تعیین هویت شدند. برای بررسی فراوانی ژن mecA از روش PCR استفاده شد. به‌منظور ارزیابی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها، از روش انتشار دیسک بر اساس پروتکل CLSI انجام گردید. نانوذره نقره توسط عصاره زنجبیل ساخته شد و برای بررسی اثر نانوذره نقره بر بیان ژن mecA از روش Real time PCR استفاده شد.

یافته‌ها: از ۵۹ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم ۵۱ نمونه به متی‌سیلین بودند. ارزیابی فنوتیپی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم‌به متی‌سیلین نشان داد که ۹۰ درصد جدایه‌ها به پنی‌سیلین، ۸۵ درصد به اریترومایسین ۸۴ درصد به سفتریاکسون۵۳ درصد به آمیکاسین، ۴۹ درصد به جنتامایسین، ۴۷ درصد به پیراسیلین، ۴۵ درصد به سپیروفلوکساسین ۳۷ درصد به ایمی‌پتمو ۳۵ درصد به لینزولید مقاومت داشتند یعنی بیش-ترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌ترتیب متعلق‌به پنی‌سیلین ۹۰درصد، اریترومایسین۸۵ درصد و کم‌ترین نسبت‌به ایمی پتمو ۳۷ درصد و لینزولید ۳۵ بود. بررسی مولکولی نشان دهنده حضور ژن mecA در تمام نمونه‌ها بود. و نتیجه بررسی ریل‌تایم نشان داد که تأثیر نانوذره بر روی بیان ژن mecA معنادار است ($P<0/01$).

نتیجه‌گیری: وجود۵۱ نمونه مقاوم از ۵۹ نمونه درمطالعه حاضر نشان دهنده افزایش مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم‌به متی‌سیلین نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بوده که این مسئله یک هشدار جدی جهت درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس است. و مؤثر بودن نانوذره نقره بر بیان ژن mecA نشان می‌دهد که به این ماده می‌توان به‌عنوان یک جایگزین برای آنتی‌بیوتیک‌های موجود فکر کرد.

واژه‌های کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، متی‌سیلین، نانوذره نقره، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ژن *mecA*

مقدمه

نویسنده مسئول:
گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد،ایران
پست الکترونیکی: farahmolavi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۲

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

استافیلوکوکوس اورئوس [1] که به استافیلوکوکوس طلایی نیز شهرت دارد یک کوکسی گرم مثبت و بی-هوازی اختیاری است و از نظر پزشکی مهم‌ترین گونه این جنس محسوب می‌شود (۱) *استافیلوکوکوس اورئوس* ممکن است در حالت عادی روی پوست انسان یا سایر پستانداران یک هم‌زیست باشد که در این حالت عفونت ایجاد نمی‌کند (۲). ولی اگر پوست آسیب ببیند این باکتری می‌تواند به بافت‌ها نفوذ کرده و عفونت‌های شدیدی ایجاد کند. این باکتری یکی از عوامل مهم عفونت‌ها در بیمارستان و یکی ازعوامل اصلی بیماری‌زا در انسان محسوب شود به‌طوری‌که در حال حاضر یک نگرانی عمده برای سلامت عمومی جامعه محسوب می‌شود که می‌تواند با درگیر کردن قسمت‌های مختلف بدن از جمله دستگاه تنفس باعث صرف هزینه‌های فراوان و طولانی شدن دوره درمان بیمار شود (۳). هم‌چنین این باکتری سبب بیماری-های خطرناک ازجمله زرد زخم تاولی، سندرم فلسی شدن پوست [2]، سندرم رایتر و سندرم شوک توکسیک [3] به‌ویژه در کودکان و افرادی که ضعف سیستم ایمنی دارند، می‌شود (۴). از مهم‌ترین مشکلات در درمان عفونت‌های استافیلوکوکی بروز مقاومت آنتی-بیوتیکی و پتانسیل کسب ژن‌های خارجی در جهت بروز این مقاومت‌ها در آن‌ها است بنابراین سویه‌های مقاوم‌به متی‌سیلین *استافیلوکوکوس اورئوس* یا MRSA [4] تهدید جدی در کنترل عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان و جامعه به‌شمار می‌آیند و روند درمان عفونت‌های این باکتری را با مشکل مواجه می‌سازند (۵). مقاومت‌به متی‌سیلین و سایر پنی-سیلین‌های مقاوم‌به پنی‌سیلیناز به‌دلیل اپرون *mec* است. این اپرون، بخشی از کاست کروموزومی استافیلوکوکی [5] است. ژن *mecA*، پروتئین متصل شونده به پنی سیلین با نام PBP2a را کد می‌کند که میل پیوندی پایینی برای آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام دارد. لازم است بدانید که پروتئین‌های PBP در ساخت و ساز دیواره سلولی باکتریایی نقش دارند. از این‌رو، وجود چنین پروتئین جدیدی تحت تأثیر آنتی بیوتیک نخواهد بود و باکتری به‌راحتی به زندگی خود ادامه می‌دهد. این سویه‌ها در اصطلاح *استافیلوکوکوس* های مقاوم‌به متی‌سیلین نامیده می‌شوند. نانوذرات گروهی از اتم‌ها، یون‌ها یا مولکول‌هایی هستند که اندازه آن‌ها بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر باشد و به‌دلیل کوچکی سایز قادر هستند که در شکاف‌های مولکول-های کوچک نفوذ کنند و ایجاد گسستگی در آن‌ها نمایند (۶) لذا نانوذرات را می‌توان نسل جدیدی از آنتی‌بیوتیک‌های آینده به‌حساب آورد (۷). هدف از تحقیق پیش‌رو شناسایی ژن *mecA* و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و بررسی اثر نانوذره بر روی بیان ژن *mecA* است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه که به‌صورت توصیفی-مقطعی [6] و در یک بازه زمانی ۷ ماهه (۱۳۹۸-۱۳۹۹) انجام شد، تعداد ۵۹ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* از ۱۱ آزمایشگاه سطح شهر مشهد جمع آوری شد. پس از انتقال سویه-ها که بر روی محیط آگار،کشت داده شده بود به آزمایشگاه تحقیقات گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، جهت شناسایی نمونه‌ها از تست-های استاندارد شامل رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، کواگولاز لوله‌ای و لامی، رشد در مانیتول سالت آگار و DNase استفاده شد (۸). باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* استاندارد (ATCC=25923) از آزمایشگاه استاندارد ایران تهیه شد.

به‌منظور بررسی مقاومت‌به متی‌سیلین و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی از محیط مولر هینتون آگار و روش انتشار دیسک در آگار استفاده شد (۹). دیسک-های آنتی‌بیوتیک استفاده شده در این مطالعه شامل: پنی‌سیلین ۳۰µg، سیپروفلوکساسین ۱۰µg، جنتامایسین ۱۰ µg، لینزولید ۲۰µg، اریترومایسین

[1] *Staphylococcus aureus*
[2] syndrome skin Scalded
[3] TST
[4] Methicillin Resistant Staphylococcus aureus
[5] SCCmec
[6] sectional-Cross

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

۲μg، ایمی‌یتمو ۵μg و سفوکسیتین ۳۰μg بود که از شرکت پادتن طب تهیه شد. این مرحله براساس دستورالعمل استاندارد آزمایشگاه (۱۰) انجام شد.

ساخت نانوذره نقره

۵ گرم زنجبیل آسیاب شده را در ۵۰ سی‌سی آب مقطر حل کرده (در این روش برای هر گرم پودر گیاه ۱۰ سی‌سی آب مقطر استریل اضافه می‌شود) و ۱۵ دقیقه جوشیده شد. بعد محلول در ویال ۵۰ میلی-لیتری ریخته شد و ۱۲ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. بعد از سانتریفیوژ، محلول فوقانی به یک پلیت منتقل گردید و پس از فیلتر شدن این محلول در ۲۰ سانتی‌متری آتش، ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره فیلتر شده زنجبیل را در ویال ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و ۱۰ میکرولیتر از محلول نیترات نقره ۱ میلی‌مولار به آن اضافه شد. بعد از تغییر رنگ، محلول در میکروتیوپ-های ۲ میلی‌لیتری ریخته شده و با دور ۱۴۰۰۰ به-مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس محلول رویی دور ریخته شد و ۲ میلی‌لیتر آب دیونیزه یا آب مقطر به آن اضافه گردید و مجدد سانتریفیوژ شد بعد ۳ بار تکرار این مرحله، رسوب انتهایی را در پلیت‌های جداگانه ریخته و در محل تاریک گذاشته تا خشک شود و پودر نانوذره آماده گردد. برای بررسی خصوصیت فیزیکی نانوذره به‌دست آمده از روش‌های عکس‌برداری میکروسکوپ الکترونی عبوری (دانشگاه فردوسی مشهد)، FTIR (دانشگاه آزاد واحد مشهد) و دستگاه طیف سنج پراش پرتو ایکس XRD (دانشگاه فردوسی مشهد) استفاده شد.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی

برای این منظور نمونه‌ها با استفاده از دیسک دیفیوژن در محیط جامد یا روش کربی بائر و طبق دستورالعمل استاندارد CLSI بررسی شدند (۱۱) برای این منظور، از باکتری‌های رشد کرده سوسپانسیونی معادل ۰/۵ مک‌فارلند تهیه گردید و بر روی محیط مولر هینتون آگار به‌صورت کشت سفره‌ای کشت داده شد .پلیت‌ها به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند تا باکتری‌ها با شرایط جدید سازگاری یابند. پس از آن دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با پنس استریل در سطح محیط قرار گرفت به‌طوری‌که فاصله دیسک‌ها از لبه پلیت ۱/۵ سانتی‌متر و نسبت‌به هم ۲/۵ سانتی‌متر بود .سپس پلیت ۱۸ الی ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از این مدت اطراف دیسک‌ها از لحاظ هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفتند (قطر ناحیه اطراف دیسک توسط خط کش مخصوص[1] اندازه‌گیری و با مراجعه به جداول کمیته ملی معیارهای آزمایشگاهی بالینی[2] حساسیت یا مقاومت باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های رایج تعیین گردید. در نهایت پس از ۲۴ ساعت انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، حداقل غلظت بازدارندگی رشد[3] باکتری تعیین شد. برای این منظور همانند روش دیسک دیفیوژن سوسپانسیونی تهیه شده و کدورت آن را برابر با نیم‌مک فارلند قرار داده و بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت سفره‌ای داده شد.

استخراج RNA

استخراج RNA بعد از تیماردهی سوسپانسیون باکتری دارای ژن *mecA* با نانوذره نقره (با رقت بعد از حداقل غلظت بازدارندگی رشد) انجام شد. استخراج RNA با استفاده از کیت مخصوص (۵۲۹۲) شرکت پارس طوس زیست فناور، انجام و پس از آن غلظت و جذب نوری تمامی RNA های استخراج شده با کمک نانودراپ (Nanodrop Bio Tek Epoch, USA) اندازه‌گیری شد.

ساخت: پس از تعیین مقدار و غلظت RNA ساخته شده، برای ساخت cDNA از RNA استخراج شده از کیت مخصوص (A101161) شرکت پارس طوس زیست فناور استفاده شد.

PCR ژن *mecA*

[1] Antiobiotic Zone Scale ruler
[2] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)
[3] Minimum Inhibitory of Concentration: MIC

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

پس از BLAST پرایمرهای سنتز شده توسط نرم-افزار اولیگو (oligo 7.60) در سایت NCBI ، واکنش PCRبه حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. در این واکنش، ۱ میکرولیتر از cDNA الگو، ۰/۵ میکرولیتر از آنزیم Taq DNA Polymerase(۵ واحد در میکرولیتر)، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر(۲۰ پیکومول در میکرولیتر)، ۲ میکرولیتر از مخلوط دزوکسی نوکلئوتیدهای تری‌فسفات (۲/۵ میلی‌مولار)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (x۱۰) و ۱/۵ میکرولیتر از نمک MgCl2 (۵۰ میلی‌مولار) با یکدیگر مخلوط شده، حجم نهایی با آب دوبار تقطیر شده به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. واکنش در ۳۳ سیکل با برنامه دمایی، دناتوراسیون اولیه ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۶ دقیقه برای ۳۴ سیکل در شرایط زیر عبارتند از؛ واسرشته شدن[1] ۹۵درجه سلسیوس ۵ دقیقه، اتصال پرایمر[2] ۵۷ درجه برای ۵۰ ثانیه، طویل شدن[3]۷۲ درجه سلسیوس برای ۱ دقیقه و یک بسط نهایی ۷۲ درجه سلسیوس برای ۶ دقیقه انجام شد.

جهت بررسی کیفیت محصول PCR، محصول بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز در بافر TBE به‌مدت ۶۰ دقیقه در ولتاژ ۱۰۰ الکتروفورز شد (۱۲). برای رنگ آمیزی ژل، آن‌را به‌مدت ۱۵ دقیقه در تانک حاوی اتیدیوم بروماید قرار داده و نتایج را توسط دستگاه Geldocument با نور فرابنفش مورد مطالعه قرار گرفت. از نشانگر Cat. No. PR911653.100bp شرکت سیناکلون برای تخمین اندازه قطعه‌ها استفاده شد. میزان تغییر بیان ژن با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 و آزمون One way ANOVA تجزیه و تحلیل شد در تمام موارد سطح معنی‌داری ۰/۰۱ >p در نظر گرفته شد.

سنجش بیان ژن توسط تکنیک Real-TimePCR

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از کیت مخصوص دنا زیست (مسترمیکس سایبرگرین ریل‌تایم RealQ Plus 2x Master Mix Green) به‌صورت زیر انجام شد: ۱۲/۵ میکرولیتر از مسترمیکس، پرایمر رفت ۱۰ میکرومولار به‌مقدار ۰/۵ میکرولیتر، پرایمر برگشت ۱۰ میکرومولار به‌مقدار ۰/۵ میکرولیتر، نمونه ۵ نانوگرم cDNA و آب فاقد نوکلئاز تا رساندن حجم تا ۲۵ میکرولیتر استفاده شد. تکثیر قطعه‌ای موردنظر در دستگاه Applied Biosystems StepOnePlus با برنامه واسرشت اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای یک دقیقه، تکثیر شامل واسرشت در ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، اتصال در ۵۹ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۰ ثانیه و گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه در ۳۵ چرخه انجام شد. از ژن sRNA ۱۶ به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. برای محاسبه میزان بیان نسبی ژن، آنالیز داده‌ها و رسم نمودارهای مربوطه از LightCycler Relative Quantification Software استفاده شد. داده‌های مربوط به تعییر بیان ژن *mecA* با روش 2ΔΔCT با فرض کارایی ۱۰۰ درصد و با استفاده از آزمون آماری T مستقل در دو گروه آنالیز شد.

جدول ۱: توالی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای استفاده شده در تکثیر ژن *mecA* در استافیلوکوکوس اورئوس و ژن 16S Rrna (۱۲)

ژن	توالی نوکلئوتیدی
mecA	F: AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC R: AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC
16S rRNA	F:CCCAACCCTTTTCCTTACTTGC R:CATCAACTTCACCTTCACGC

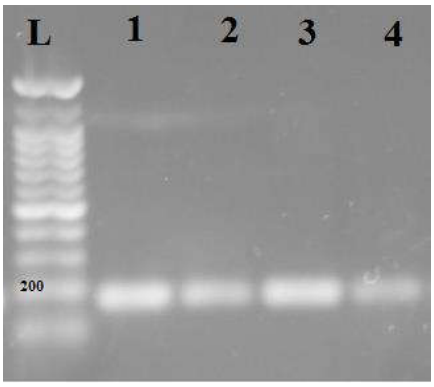
نتایج

در این مطالعه مقطعی توصیفی ۵۹ نمونه مورد بررسی قرار گرفت و شناسایی آن‌ها توسط تست‌های تشخیصی میکروبیولوژی و بیوشیمیایی تأیید شدند و از بین آن‌ها ۵۱ نمونه‌ها دارای ژن *mecA* بودند و از لحاظ فنوتیپی به متی‌سیلین مقاومت نشان دادند. شکل شماره ۱ نتیجه محصول PCR ژن *mecA* بعد از انجام الکتروفورز است. وجود باند ۱۹۸ جفت بازی نشان‌دهنده مثبت بودن از نظر وجود ژن *mecA* است.

[1] Denaturation
[2] Annealing
[3] Extension

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]



شکل ۱: نتایج الکتروفورز حاصل تکثیر ژن *mecA* (از چپ به راست: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، کنترل مثبت، نمونه‌های مثبت حاوی ژن *mecA*، طول قطعه موردنظر ۱۹۸ جفت باز است)

تعیین حساسیت میکروبی

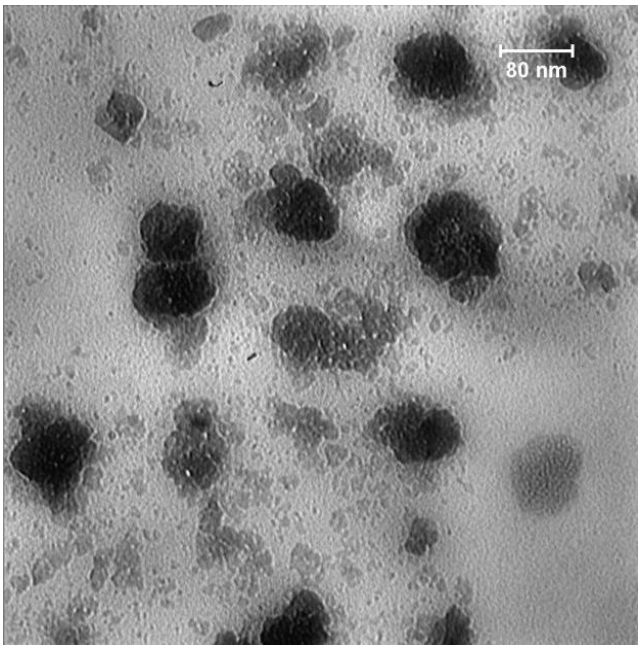
نتایج نشان داد ۹۰ درصد جدایه‌ها به پنی‌سیلین، ۸۵ درصد به اریترومایسین ۸۴ درصد به سفتریاکسون ۵۳ درصد به آمیکاسین، ۴۹ درصد به جنتامایسین، ۴۷ درصد به پیراسیلین، ۴۵ درصد به سپیروفلوکساسین ۳۷ درصد به ایمی‌پتمو ۳۵ درصد به سلفامتوکسازول مقاومت داشتند یعنی بیش‌ترین میزان مقاومت آنتی-بیوتیکی به‌ترتیب متعلق‌به پنی‌سیلین (۹۰درصد)، اریترومایسین ۸۵ ٪ و کم‌ترین لینزولید بود.

بررسی خواص ضدباکتریایی نانوذرات نقره

فعالیت ضدمیکروبی نانوذره نقره تولید شده از عصاره زنجبیل با مشاهده و اندازه‌گیری هاله محدودیت رشد باکتری در اطراف دیسک‌های حاوی محلول نانوذرات نقره برای تمامی نمونه‌های تحت آزمایش مشاهده شد و محلول حاوی نانوذرات نقره دارای فعالیت ضدمیکروبی علیه باکتری‌های آزمایش بود و هاله قابل تشخیص که حاصل جلوگیری از رشد میکروب توسط نانوذرات نقره است درتمام تیمارهای اصلی در مقایسه با نمونه‌های شاهد که عصاره ،آب مقطر و نیترات نقره بودند مشاهده شد.

بررسی ریخت-شناسی نانوذره نقره سنتز شده

بررسی نانوذره نقره با میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان داد که نانوذرات تولیدی اکثرا شکل مکعبی با اندازه ۲۲/۳۹ تا ۹۳/۳۵ نانومتر و تعداد بسیار کمی به-صورت مثلثی و میله‌ای هستند(شکل ۲).



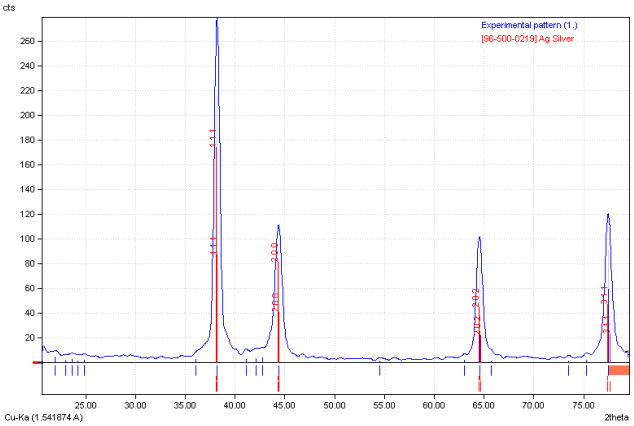
شکل ۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره از نانوذره نقره ساخته شده

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

مطالعه XRD

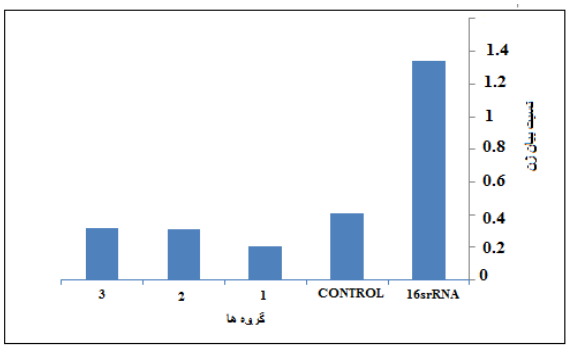
بر اساس شکل ۳ الگوی پراش اشعه ایکس(xrd)، اندیس‌های میلر در سطوح ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۰۲ و ۳۱۱ بوده و به‌ترتیب مربوط به زاویه‌های ^{0} ۳۷/۵، ^{0} ۴۴/۳، ^{0} ۹۹/۶۴، ^{0} ۷۸/۸ بوده که وجود نانوکریستال‌های نقره را ثابت می‌کند. هم‌چنین نتایج نشان داد که اکثر نانوذرات شکل مکعبی داشتند و ۴ پیک جذبی در آن-ها تشخیص داده شد (شکل ۳).



شکل ۳: الگوی پراش اشعه ایکس بر نانوذره نقره ساخته شده در پژوهش

بیان ژن *mecA* بعد از تیمار با مهارکننده نانوذره نقره

برای مقایسه اثر نانوذره نقره بر بیان ژن *mecA* بعد از استخراج RNA و سنتزcDNA بیان ژن به‌صورت کمی با استفاده از روش Real Time PCR بررسی شد، نتایج این روش نشان داد که سویه‌های مختلف تحت تأثیر نانوذرات نقره تغییر بیان متفاوتی را داشتند و از نظر آماری تفاوت معناداری در مقایسه با بیان ژن *16SrRNA* از خود نشان دادند ($P<0.05$) (شکل ۴). منحنی ذوب تعیین کننده عدم جفت شدن آغازگرها، تکثیر اختصاصی قطعه‌های ژنی موردنظر و عدم تکثیر قطعه‌های غیراختصاصی برای هر ژن را در شکل ۵ نشان می‌دهد.

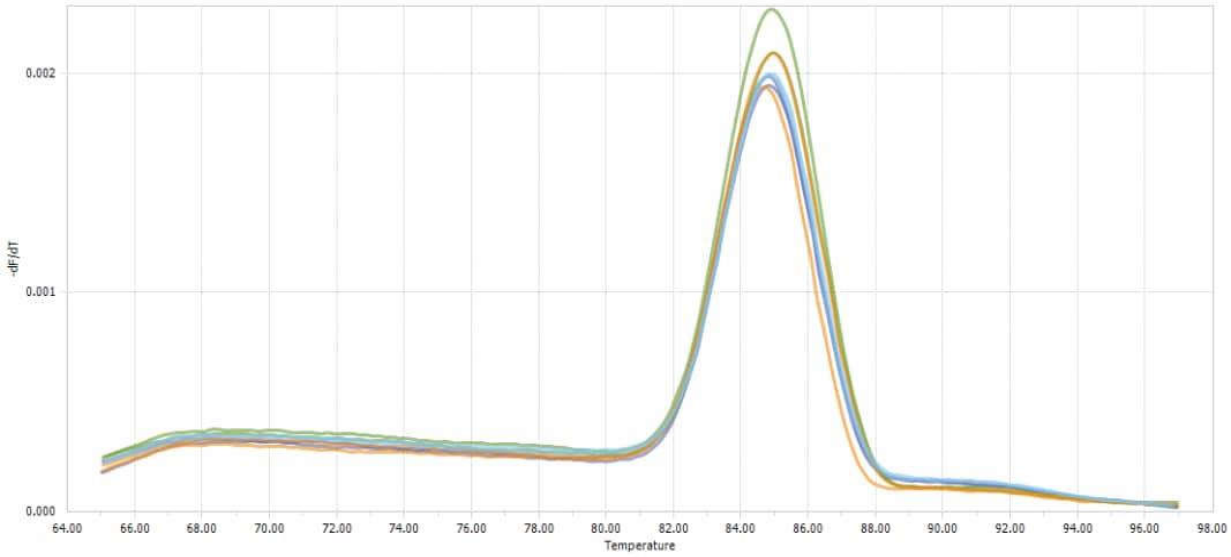


شکل ۴: میزان بیان ژن mecA در سویه‌های تیمار شده با نانوذرات نقره.

بحث و نتیجه گیری

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از پاتوژن مطرح در سطح جهانی است و به‌عنوان دومین باکتری در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی مطرح است. پس از کشف پنی‌سیلین، در ابتدا از این دارو برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکی استفاده می‌شد اما روز به‌روز به مقاومت آنتی‌بیوتیکی علیه پنی‌سیلین افزوده شد به‌طوری‌که در سال ۱۹۵۰، ۴۰ درصد سویه‌های بیمارستانی به پنی‌سیلین مقاوم شدند و این میزان در سال ۱۹۶۰ به ۸۰ درصد رسید. علت این پدیده تولید پنی سیلیناز توسط باکتری بود که پنی‌سیلین را تجزیه می‌کند؛

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]



شکل ۵: آنالیز منحنی ذوب (Melting curve) برای اطمینان از اختصاصی بودن قطعه‌های تکثیر شده ژن *mecA* که منحنی ژن مورد سنجش در تمام نمونه‌ها با هم منطبق و به‌صورت یک قله است.

بنابراین از آنتی‌بیوتیک‌های جدیدتر یعنی پنی-سیلین‌های مقاوم‌به پنی‌سیلیناز (مانند اکساسیلین و متی‌سیلین) استفاده شد (۱۳). بعد از آن نمونه‌های مقاوم‌به متی‌سیلین که MRSA نامیده می‌شوند گسترش یافتند که به‌طور معمول به بیش‌تر آنتی-بیوتیک‌ها مقاوم هستند و در حال حاضر، سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم‌به متی‌سیلین بسیار فراوان هستند و هم‌چنان در حال گسترش هستند (۱۴) مطالعه‌های قبلی در شهر مشهد نیز نشان می-دادند که مقاومت در این باکتری روند افزایشی داشته است (۱۵) ولی در سال‌های اخیر این روند سرعت بیش‌تری گرفته است (۱۶). در یک پژوهش گسترده و پنج ساله نشان داده شد که که فراوانی MRSA در سال ۱۹۹۶ تنها ۱/۷ ،%در سال ۱۹۹۷ حدود ۵/۵٪، در سال ۱۹۹۸ نیز ۶/۵ ٪ بوده و این میزان در سال ۱۹۹۹ به بالاترین مقدار خود یعنی حدود ۶/۵ ٪ رسید (۱۷). افزایش گسترش مقاومت‌به متی‌سیلین از قبل پیش‌بینی شده بود و مطالعه‌هایی که در سال ۲۰۰۴ در ترکیه انجام شده بود نشان داده بود که این نوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *استافیلوکوکوس اورئوس* به شدت در حال گسترش است (۵). مطالعه ما نشان داده است که اکثریت نمونه‌ای مورد بررسی این مقاومت را کسب کرده اند. فراوان بودن سویه‌های مقاوم‌به متی-سیلین در ایران، در قبل توسط Jafaree-Sales در سال ۲۰۱۸ (۱۸)، زمانی در سال ۲۰۰۷ (۱۹) و Moradi در سال ۲۰۱۱ (۲۰) نیز گزارش شده بود. هم‌چنین Shokri و همکارانشان در سال ۱۳۹۳ با بررسی ۱۷۶ نمونه بالینی جمع‌آوری شده از بخش‌های مختلف بیمارستان آیت ا... موسوی زنجان، نشان دادند که کمابیش تمام نمونه‌های مورد مطالعه این بیمارستان دارای مقاومت‌به متی‌سیلین بودند (۲۱) این نتایج نشان می‌دهند که افزایش مقاومت‌به آنتی-بیوتیک همواره یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشت جهانی بوده است اینک به تهدیدی روزافزون مبدل گردیده و توسعه راهکاری جدید برای غلبه‌بر این مشکل نیازی حیاتی است.

یکی از راه‌های امیدوارکننده برای از بین بردن مقاومت‌های باکتریایی، استفاده از نانوذرات فلزی است(۲۲).

نانوذرات به‌دلیل اندازه کوچک و سطح تماس بالایی که با محیط و میکروارگانیسم‌ها دارند می‌توانند باعث افزایش فعالیت بیولوژیک و شیمیایی آن‌ها شوند. همین امر موجب می‌گردد که اثرهای ضدمیکروبی نانوذرات فلزی در مقایسه با خود فلزات بسیار بالاتر باشد. آن‌ها می‌توانند پس از ورود به سلول باکتریایی با تداخل در عملکرد پروتئین‌های حاوی سولفور و مولکول‌های دارای فسفر، نظیر DNA کارایی آن‌ها را از

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

بین ببرند (۲۳). در سال‌های اخیر، استفاده از نانوذرات فلزی به‌عنوان ترکیب‌های ضد اکتری روند رو به رشدی داشته است. از این میان نانوذرات نقره (۲۴)، اکسیدهای تیتانیوم (۲۵)، روی (۲۷،۲۶)، مس (۲۸) و آهن (۳۰،۲۹) به‌دلیل خواص ضدباکتری مناسب، بیش از سایر نانوذرات مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در خصوص اثر ضدمیکروبی نانوذرات بر روی *استافیلوکوکس اورئوس* مطالعه‌های متعددی انجام شده است. Pishvaee و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان دادند که نانوذره اکسید کروم نقش ضدمیکروبی روی این باکتری دارد (۳۱). اثر ضدمیکروبی نانوذره طلا و مس نیز بر روی *استافیلوکوکس اورئوس* در سال ۱۳۹۶ توسط Nadi و همکارنش نشان داده شد (۳۲). اثر ضدمیکروبی نانوذره نیکل بر روی *استافیلوکوکس اورئوس* نیز توسط Gahremani و همکاران در سال ۱۳۹۴ ارائه شده است (۳۳). در مطالعه حاضر زمان تماس نانوذره ۲۴ ساعت و غلظت نانوذره با روش استاندارد محاسبه گردید چرا که مطالعه Aasadi و همکاران نشان داد متغیرهای نوع باکتری، زمان تماس و غلظت نانوذرات نقره عوامل مؤثر بر بروز خاصیت ضدمیکروبی نانوذرات نقره است (۳۴).

نتیجه پژوهش حاضر نشان داد که این نانوذره می‌تواند اثر ضدمیکروبی روی این باکتری ایفا کند و این اثر را با کم کردن بیان ژن *mecA* ایفا می‌کند. اهمیت بیان ژن *mecA* در مقاومت این باکتری نسبت‌به متی سیلین و این‌که این ژن مسئول مقاومت‌به متی‌سیلین در این باکتری است در مطالعه‌های متعددی گزارش شده است. Ramezanzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۵ در کردستان اعلام کردند که می‌توان با روش تکثیر ژن *mecA*، مقاومت باکتری‌ها را شناسایی کرد (۳۶). این تحقیق توسط Santosaningsih نیز تأیید شد (۳۷). لذا همان‌طور که کلیبی بیان کرده بود می‌توانیم مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها را بر اساس ژن *mecA* مقاومت آن‌ها شناسایی کنیم (۳۸). این تحقیق نیز با توجه‌به این‌که تمام نمونه‌های مقاوم‌به متی‌سیلین حامل ژن *mecA* بوده‌اند بیان می‌کند که از این ژن می‌توانیم به‌منظور شناسایی مقاومت متی‌سیلین در نمونه‌های *استافیلوکوکس اورئوس* استفاده کنیم. هم‌راستا با نتیجه موجود Asgaree، با تأکید بر اپیدمیولوژی MRSA در ایران از بین ۷۴۶۴ مقاله استخراج شده از پایگاه‌های اطلاعاتی، نشان داد که ۲۶۹۰ سویه *استافیلوکوکس اورئوس* نشان داد که ۹۵ درصد از سویه ها دارای ژن *mecA* بودند البته فراوانی نسبی MRSA در مطالعه‌های مختلف بین ۲۰/۴۸ ٪ در اصفهان تا ۹۰ ٪در تهران متغیر بود(۳۹) .

در این پژوهش نانوذره نقره برای بررسی اثر ضدمیکروبی *استافیلوکوکس اورئوس* استفاده شد این انتخاب همسو با مطالعه Salmani و همکارانش در سال ۲۰۱۷ بود که بر روی بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در محیط آزمایشگاهی مطالعه کردند و براساس نتایج حاصل از این مطالعه باکتری‌های *اشرشیاکلای* کم‌ترین حساسیت و باکتری‌های *استافیلوکوکس اورئوس* بیش‌ترین حساسیت را نسبت‌به نانوذرات نقره نشان دادند (۳۵).

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نانوذره نقره می‌تواند گزینه‌ای باشد برای جلوگیری افزایش شیوع مقاومت در بین سویه‌های *استافیلوکوکس اورئوس* لذا می‌تواند یک گزینه مناسب برای درمان عفونت‌های ناشی از *استافیلوکوکس اورئوس* در بیمارستان و تغییر رویکرد درمانی باشد. این پیشنهاد در مطالعه Azadi و همکارانش در سال ۱۳۹۵ نیز ارائه شده است و آن‌ها ارتباط معنی‌داری بین MIC نانوذره نقره در ایزوله‌های *استافیلوکوکس اورئوس* با منشاء جداسازی نمونه و مقاومت‌به متی‌سیلین و جنتامایسین را نشان دادند و ایراز کردند که با توجه‌به پایین بودن MIC نانو ذره نقره بر ایزوله‌های مقاوم‌به متی‌سیلین، امکان استفاده از آن در کنترل MRSA در عفونت بیمارستانی می‌تواند مورد توجه بیش‌تری قرار گیرد (۴۰).

سپاسگزاری

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه شمار
۱۶۲۲۶۳۸۹۶ احمد رشید برای اخذ درجه کارشناسی
ارشد در رشته زیست‌شناسی سلولی و مولکولی از
دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد
بود. بدین‌وسیله ازسرکار خانم بهاره سرگزی که د
تمام مراحل اجرای پایان‌نامه مشاور طرح بوده‌اند ،
سرکار خانم فائزه غلامی بهار و آقای علی قرایی و تماه
کارشناسان محترم آزمایشگاه گروه زیست‌شناسی به
خاطر همکاری در تمام مراحل سپاسگزاری می‌گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

منابع

1. V. M. Corman, J. Lienau, M. Witzenrath, [Coronaviruses as the cause of respiratory infections]. Internist (Berl) 60, 1136-1145 (2019).

2. Saeed Soleiman-Meigooni.Hospital Outbreak of Middle East Respiratory Syndrome CoronavirusThe new England journal of medicine, august 2013 ,1 vol. 369 no. 5

3. A. R. Fehr, R. Channappanavar, S. Perlman, Middle East Respiratory Syndrome: of a Pathogenic Human Coronavirus. Annu Rev Med 68, 387-399 (2017).

4. Zhou, P. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7 (2020).

5. World Health Organization. WHO Statement Regarding Cluster of Pneumonia Cases in Wuhan, China Geneva 2020 [updated 9 January 2020 and 14 January 2020]. Available from: https: //www.who.int/china/news/detail/09-01-2020 -who -statement regarding -cluster -of pneumonia -cases-in-wuhan-china.

6. Chinese Center for Disease Control and Prevention. Epidemic update and risk assessment of 2019 Novel Coronavirus 28 January 2020 [cited 29 January 2020]. Available from: http://www.chinacdc.cn/yyrdgz/202001/P020200128523354919292.pdf

7. Iranian Center for Disease Control and Prevention. Epidemic update and risk assessment of 2019 Novel Coronavirus 28 January 2020.www. Health.sbmu.ac.ir https://www.who.int/csr/sars/biosafety2003_04_25/en

8. Chen, Y., Liu, Q. & Guo, D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. J. Med. Virol. https://doi.org/10.1002/jmv.25681 (2020).

9. Montani JP, Vliet VB. General physiology and pathophysiology of the renin-angiotensin system. Angiotensin Vol. I: Springer; 2004: 3-29.

10. Hosseini khalili AR, Thompson J, Kehoe A, Hopkinson NS, et al. Angiotensin-converting enzyme genotype and late respiratory complications of mustard gas exposure. BMC Pulm Med. 2008;8(1):15.

11. Crisan D, Carr J. Angiotensin I-converting enzyme: genotype and disease associations. J of Mol Diagn. 2000; 2(3): 105.

12. Lu, R. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8 (2020).

13. Zhou, P. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7 (2020).

14. Zhu, N. et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N. Engl. J. Med. https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2001017 (2020).

15. Xu, X. et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. Sci. China Life Sci. https://doi.org/10.1007/s11427-020-1637-5 (2020).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

16. Hao Xu. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. International Journal of Oral Science (2020) 12:8 ; https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x.

17. Hao Zhang et al. The digestive system is a potential route of 2019-nCov infection: a bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes. bioRxiv preprint doi: https://doi.org/10.1101/2020.01.30.927806.

18. Jiahua He Huanyu Tao, Yumeng Yan, Sheng-You Huang*, Yi Xiao. Molecular mechanism of evolution and human infection with the novel coronavirus (2019-nCoV). bioRxiv preprint doi: https://doi.org/10.1101/2020.02.17.952903.

19. Huang, C., et al., SARS coronavirus nsp1 protein induces template-dependent endonucleolytic cleavage of mRNAs: viral mRNAs are resistant to nsp1-induced RNA cleavage. PLoS Pathog, 2011. 7(12): p. e1002433.

20. Tanaka, T., et al., Severe acute respiratory syndrome coronavirus nsp1 facilitates efficient propagation in cells through a specific translational shutoff of host mRNA. J Virol, 2012. 86(20): p. 11128-37.

21. Graham, R.L., et al., The nsp2 replicase proteins of murine hepatitis virus and severe acute respiratory syndrome coronavirus are dispensable for viral replication. J Virol, 2005. 79(21): p. 13399-411.

22. Gadlage, M.J., R.L. Graham, and M.R. Denison, Murine coronaviruses encoding nsp2 at different genomic loci have altered replication, protein expression, and localization. J Virol, 2008. 82(23): p. 11964-9.

23. Lei, J., Y. Kusov, and R. Hilgenfeld, Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. Antiviral Res, 2018. 149: p. 58-74.

24. Serrano, P., et al., Nuclear magnetic resonance structure of the nucleic acid-binding domain of severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein 3. J Virol, 2009. 83(24): p. 12998-3008.

25. Beachboard, D.C., J.M. Anderson-Daniels, and M.R. Denison, Mutations across murine hepatitis virus nsp4 alter virus fitness and membrane modifications. J Virol, 2015. 89(4): p. 2080-9.

26. Gadlage, M.J., et al., Murine hepatitis virus nonstructural protein 4 regulates virus-induced membrane modifications and replication complex function. J Virol, 2010. 84(1): p. 280-90.

27. Stobart, C.C., et al., Chimeric exchange of coronavirus nsp5 proteases (3CLpro) identifies common and divergent regulatory determinants of protease activity. J Virol, 2013. 87(23): p. 12611-28.

28. Zhu, X., et al., Porcine Deltacoronavirus nsp5 Antagonizes Type I Interferon Signaling by Cleaving STAT2. J Virol, 2017. 91(10).

29. Angelini, M.M., et al., Severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural proteins 3, 4, and 6 induce double-membrane vesicles. mBio, 2013. 4(4).

30. Cottam, E.M., M.C. Whelband, and T. Wileman, Coronavirus NSP6 restricts autophagosome expansion. Autophagy, 2014. 10(8): p. 1426-41.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

31. Kirchdoerfer, R.N. and A.B. Ward, Structure of the SARS-CoV nsp12 polymerase bound to nsp7 and nsp8 co-factors. Nat Commun, 2019. 10(1): p. 2342.

32. Zhai, Y., et al., Insights into SARS-CoV transcription and replication from the structure of the nsp7-nsp8 hexadecamer. Nat Struct Mol Biol, 2005. 12(11): p. 980-6.

33. Te Velthuis, A.J., S.H. van den Worm, and E.J. Snijder, The SARS-coronavirus nsp7+nsp8 complex is a unique multimeric RNA polymerase capable of both de novo initiation and primer extension. Nucleic Acids Res, 2012. 40(4): p. 1737-47.

34. Egloff, M.P., et al., The severe acute respiratory syndrome-coronavirus replicative protein nsp9 is a single-stranded RNA-binding subunit unique in the RNA virus world. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. 101(11): p. 3792-6.

35. Zeng, Z., et al., Dimerization of Coronavirus nsp9 with Diverse Modes Enhances Its Nucleic Acid Binding Affinity. J Virol, 2018. 92(17).

36. Bouvet, M., et al., Coronavirus Nsp10, a critical co-factor for activation of multiple replicative enzymes. J Biol Chem, 2014. 289(37): p. 25783-96.

37. Ma, Y., et al., Structural basis and functional analysis of the SARS coronavirus nsp14-nsp10 complex. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015. 112(30): p. 9436-41.

38. Fang, S.G., et al., Proteolytic processing of polyproteins 1a and 1ab between non-structural proteins 10 and 11/12 of Coronavirus infectious bronchitis virus is dispensable for viral replication in cultured cells. Virology, 2008. 379(2): p. 175-80.

39. Ahn, D.G., et al., Biochemical characterization of a recombinant SARS coronavirus nsp12 RNA-dependent RNA polymerase capable of copying viral RNA templates. Arch Virol, 2012. 157(11): p. 2095-104.

40. Te Velthuis, A.J., et al., The RNA polymerase activity of SARS-coronavirus nsp12 is primer dependent. Nucleic Acids Res, 2010. 38(1): p. 203-14.

41. Adedeji, A.O. and H. Lazarus, Biochemical Characterization of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Helicase. mSphere, 2016. 1(5).

42. Eckerle, L.D., et al., Infidelity of SARS-CoV Nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing. PLoS Pathog, 2010. 6(5): p. e1000896.

43. Jia, Z., et al., Delicate structural coordination of the Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus Nsp13 upon ATP hydrolysis. Nucleic Acids Res, 2019. 47(12): p. 6538-6550.

44. Bouvet, M., et al., Viral Disease Research & Therapeutic Development RNA 3'-end mismatch excision by the severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein nsp10/nsp14 exoribonuclease complex. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. 109(24): p. 9372-7.

45. Minskaia, E., et al., Discovery of an RNA virus 3'->5' exoribonuclease that is critically involved in coronavirus RNA synthesis. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. 103(13): p. 5108-13.

46. Bhardwaj, K., et al., RNA recognition and cleavage by the SARS coronavirus endoribonuclease. J Mol Biol, 2006. 361(2): p. 243-56.

47. Zhang, L., et al., Structural and Biochemical Characterization of Endoribonuclease Nsp15 Encoded by Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. J Virol, 2018. 92(22).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

48. Chen, Y., et al., Biochemical and structural insights into the mechanisms of SARS coronavirus RNA ribose 2'-O-methylation by nsp16/nsp10 protein complex. PLoS Pathog, 2011. 7(10): p. e1002294.

49. Decroly, E., et al., Crystal structure and functional analysis of the SARS-coronavirus RNA cap 2'-O-methyltransferase nsp10/nsp16 complex. PLoS Pathog, 2011. 7(5): p. e1002059.
50. Shi, P., et al., PEDV nsp16 negatively regulates innate immunity to promote viral proliferation. Virus Res.

51. Wong, D. W., Oudit, G. Y., Reich, H., Kassiri, Z., Zhou, J., Liu, Q. C., Scholey, J. W. (2007). Loss of angiotensin-converting enzyme-2 (Ace2 accelerates diabetic kidney injury. The American Journal of Pathology, 171(2), 438-451.

52. Zhang, H., Penninger, J. M., Li, Y., Zhong, N., & Slutsky, A. S. (2020). Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. Intensive Care Medicine, DOI: https://doi.org/10.1007/s00134-020-05985-9

53. Fehr A.R., Perlman S. (2015) Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. In: Maier H., Bickerton E., Britton P. (eds) Coronaviruses. Methods in Molecular Biology, vol 1282. Humana Press, New York, NY.

54. Cai, G., Cui, X., Zhu, X., & Zhou, J. (2020). A Hint on the COVID-19 Risk: Population Disparities in Gene Expression of Three Receptors of SARS-CoV, Preprints, DOI: doi: 10.20944/preprints202002. 0408.v1.

55. Zheng, Y. Y., Ma, Y. T., Zhang, J. Y., & Xie, X., (2020), COVID-19 and the cardiovascular system. Nature Reviews Cardiology, DOI: https://doi.org/10.1038/s41569-020-0360-5.

56. Wang, J., Luo, Q., Chen, R., Chen, T., Li, J., (2020), Susceptibility Analysis of COVID-19 in Smokers Based on ACE2. Preprints, DOI:10.20944/preprints202003. 0078.v1

57. Grayson Wick. Coronavirus 2020, What is really happening and how to prevent it. updated February 12 th , 2020.

58. Wenzhong Liu. COVID-19 Disease: ORF8 and surfsce glycoprotein inhibit Heme Metabolism by binding to Porphyrin. Scholl of Life Science, Yibin University 644000. liuwz@suse.edu.cn.

59. Diao, K., Han, P., Pang, T., Li, Y. & Yang, Z. HRCT Imaging Features in Representative Imported Cases of 2019 Novel Coronavirus Pneumonia. Precision Clinical Medicine (2020).

60. Chang, D. et al. Epidemiologic and clinical characteristics of novel coronavirus infections involving 13 patients outside Wuhan, China. JAMA (2020).

61. To Sing Fung and Ding Xiang Liu. Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. Annual Review of Microbiology. Annu. Rev. Microbiol. 2019. 73:529–57.

62. Masters PS. 2006. The molecular biology of coronaviruses. Adv. Virus Res. 66:193–292.

63. LuoH,ChenQ,Chen J,Chen K, Shen X, JiangH. 2005. The nucleocapsid protein of SARS coronavirus has a high binding affinity to the human cellular heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1.FEBS Lett.579(12):2623–28.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

64. Kristian G. Andersen1,2,.The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat ure Medicine. www.nature.com/naturemedicine. 17 MARCH 2020. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9

65. Zhou, P. et al. Nature https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7 (2020)

66. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020; 395(10223):497- 506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

67. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. Lancet. 2020; 395(10223):507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

68. Fang F, Luo X. Facing a major outbreak of new coronavirus infections in 2019: thoughts of pediatricians [J]. Chinese Journal of Pediatrics. 2020; 58(2):81-85. doi: 10.3760/ cma.j.issn.0578-1310. 2020.02.001.

69. Rodriguez-Morales AJ, MacGregor K, Kanagarajah S, Patel D, Schlagenhauf P. Going global - Travel and the 2019 novel coronavirus. Travel Med Infect Dis. 2020; 33:101578.

70. Khan S, Ali A, Siddique R, Nabi G. Novel coronavirus is putting the whole world on alert. J Hosp Infect. 2020. doi: 10.1016/j.jhin.2020.01.019

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.11.41.6.0]