Archive of SID

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۸، دوره ۶۴، شماره ۲، ۱۰۰-۹۷

تعیین توالی نوکلئوتیدی ژن *aroA* جدا شده از طیور مبتلا به کلی باسیلوز در ایران و مقایسه آن با سویه‌های موجود در بانک ژنی

بهار نیری فسایی [۱] تقی زهرایی صالحی [*۱] حسن تاج بخش [۱]

گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۳ شهریور ماه ۱۳۸۶، پذیرش نهایی: ۲۲ دی ماه ۱۳۸۶)

چکیده

ژن *aroA* یکی از ژن‌های مهم برای تولید اسیدآمینه‌های آروماتیک می‌باشد و برای حیات باکتری بسیار ضروری است. نشان داده‌شده است، که توالی ژنی *aroA* در باکتری‌ها متفاوت است، بنابر این هدف این مطالعه تعیین توالی نوکلئوتیدی ژن *aroA* درسویه اشریشیا کلی بومی O78: K80 برای مشخص کردن تفاوت‌ها بین این سویه وسویه‌های موجود در بانک ژنی اشریشیا کلی O78: K80 بود. برای ازدیاد ژن *aroA* درسویه بومی از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز استفاده‌شد. محصول ۱۲۰۶ بازی واکنش زنجیره‌ای پلی مراز از ژل الکتروفورز استخراج و در پلاسمید pTZ57R همسان‌سازی‌شد و سپس توالی نوکلئوتیدی آن تعیین‌گردید. این توالی هم از نظر توالی نوکلئوتیدی وهم از نظر توالی اسیدآمینه‌ای باسویه‌های موجود در بانک ژنی مقایسه‌شد. نتایج نشان داد که توالی در ژن *aroA* اشریشیا کلی بومی باسویه‌های اشریشیا کلی موجود در بانک ژنی از لحاظ ۲ اسیدآمینه تفاوت دارد، که به ترتیب عبارتند از اسید آمینه‌سی ونهم‌سویه‌های موجود در بانک ژنی که ترئونین (Threonine) است و به جای آن درسویه بومی ایزولوسین (Isoleucine) قرارگرفته ودیگری اسید آمینه دویست وچهلم که به جای اسیدگلوتامیک (Glutamic acid) درسویه‌های موجود در بانک ژنی، گلیسین (Glycine) درسویه بومی نشسته است. دانستن این تفاوت‌ها برای انجام روش‌های مولکولی، طراحی آغازگرهای مختلف و تحقیقات بعدی مهم است.

واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی، ژن *aroA*، رمزگشایی، ایران.

مقدمه

اشریشیا کلی باکتری گرم منفی متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه است، که به عنوان گیای دستگاه گوارشی حیوانات مطرح می‌شود ولی بعضی از سویه‌های آن بیماریزا هستند (۳). اشریشیا کلی یکی از عوامل عمده بیماری در پستانداران و پرندگان می‌باشد(۱). تعدادی از ژن‌های باکتری‌ها در مسیرهای متابولیکی دخالت دارند که برای رشد باکتری‌ها بسیار ضروری هستند. این مسیرها عبارتند از: بیوسنتز پورین، کپسول، اپی‌مراز گالاکتوز، آدنیلات سیکلاز واسید آمینه‌های آروماتیک(۱۱،۱۲). باکتری‌ها دارای راه بیوشیمیایی خاصی برای سنتز اسید آمینه‌های آروماتیک هستند. ژن *aroA* ساخت آنزیم ۵ انول پیرویل شیکیمیت ۳ فسفات سنتتاز (synthase 5-enolpyrovyl shikimate3-phosphate) را به عهده دارد، که در تبدیل اسید شیکیمیک (Shikimic acid) به اسید کروسمیک (Chorismic acid) نقش دارد. اسید کروسمیک یک واسطه معمول در ساخت تعداد زیادی از ترکیبات مهم مثل اسید آمینه‌های آروماتیک، اسید پارا آمینوبنزوییک، اسید ۲و۳ دی هیدروکسی بنزوییک و اسید پارا هیدروکسی بنزوییک است(۱۰). از دیدگاه متخصصین ژنتیک، ژن مجموعه خطی از واحدها یا جایگاه‌های بالقوه جهش پذیر است و در نواحی خاصی از کروموزوم جهش‌های خاصی می‌تواند صورت گیرد. این جهش‌ها به خصوص امروزه در اثر استفاده از عوامل خارجی مانند استفاده از عوامل شیمیایی و آنتی بیوتیک‌ها می‌تواند در سویه‌های بومی اتفاق افتد و همین امر ممکن است در توالی ژن‌ها تغییر ایجاد کند(۱۳). با توجه به این که توالی نوکلئوتیدی باکتری‌ها در مناطق مختلف و براساس شرایط مختلف متفاوت است، نیاز به تعیین توالی نوکلئوتیدی ژن‌های کلیدی باکتری‌ها به منظور شناسایی تفاوت‌های ایجاد شده و امکان تحقیقات مولکولی در مورد آنها وجود دارد. به عنوان مثال برای طراحی آغازگرهای مختلف جهت انجام تحقیقات مولکولی دانستن دقیق توالی بسیار اهمیت دارد. هم چنین این تغییرات می‌تواند سبب اختلاف در ساختار و خواص ایمونوژنیک پروتئین گردد.

مواد و روش کار

تهیه فرآورده ژن *aroA* با روش *PCR*: ابتدا به کمک آغازگرهای اختصاصی ژن *aroA*، که در قسمت ابتدایی و انتهایی آن طراحی شده بودند، وجود ژن *aroA* در باکتری بومی اشریشیا کلی موجود در آرشیو دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران اثبات گردید(۷). قسمت‌های طراحی شده جهت تاثیر آنزیم در آغازگرها پررنگ شده است.

F: 5'-CCATGGTACCTCGTGTCGATGGCACTATTA-3'

R: 5'-GGCCGAGCTCTCAAGAATCGTCACTGGTGT-3'

مواد PCR شامل بافر به میزان ۲/۵ میکرو لیتر با غلظت نهایی ۱x؛ $MgCl_2$ (۵۰ میلی مولار) ۰/۷۵ میکرولیتربا غلظت نهایی ۱/۵ میلی مولار؛ dNTP (۱۰ میلی مولار) ۰/۵ میکرو لیتر با غلظت نهایی ۰/۲ میلی مولار؛ آغازگرهای F و R (۱۰ میکرو مولار) هر کدام ۱ میکرولیتربا غلظت نهایی ۰/۴ میکرو مولار(۷)؛ Taq polymerase (۵ واحد در میکرولیتر) ۰/۳ میکرولیتر در نهایت ۱/۵ واحد؛ DNA استخراج شده باکتری ۱ میکرولیتر و آب دیونیزه ۱۸/۹۵ میکرولیتر و حجم نهایی به میزان ۲۵ میکرو لیتر به دست آمد.

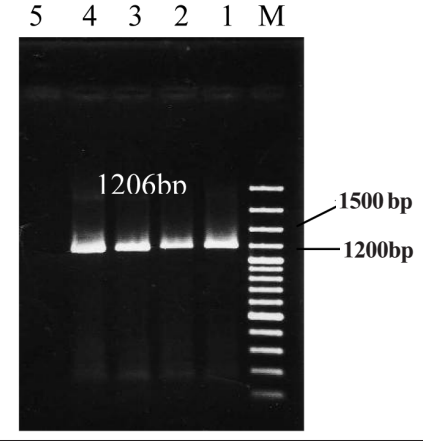
*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۶۴۲۷۵۱۷-۰۲۱، نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱، Email:tsalehi@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID


```
Consensus #1 T A G C A C A C G G C A A A A A C A G T A T T A A C C A A T C T G C T G G A T A G C G A T G A C G T G

cft073.SEQ   . . . . . 150
edl933.SEQ   . . . . . 150
Iran.SEQ     . . . . . T . . . . . 122
mg1655.SEQ   . . . . . 150
w3110.SEQ    . . . . . 150

Consensus #1 C G G G T A C T T A T T T G G T C G A A G G C G A T G C A T C T T C G G C T T C T T A C T T T C T G

cft073.SEQ   . . . . C . . . . . T . . . . . T . . C . . . 750
edl933.SEQ   . . . . . 750
Iran.SEQ     . . . . . G . . . . . 722
mg1655.SEQ   . . . . . 750
w3110.SEQ    . . . . . 750

Consensus #1 C T G A A C G C T A T T G A T A T G G A T A T G A A C C A T A T T C C T G A T G C G G C G A T G A C

cft073.SEQ   . . . . . C . . . . . C . . . . . 950
edl933.SEQ   . . . . . 950
Iran.SEQ     . . . . . C . . . . . 922
mg1655.SEQ   . . . . . 950
w3110.SEQ    . . . . . 950

Consensus #1 T C T A T A A C T G G C G T G T T A A A G A G A C C G A T C G C C T G T T T G C G A T G G C A A C A

cft073.SEQ   . . . . . T . . . . . 1050
edl933.SEQ   . . . . . A . . . . . 1050
Iran.SEQ     . . . . . A . . . . . 1022
mg1655.SEQ   . . . . . 1050
w3110.SEQ    . . . . . 1050

Consensus #1 G A A C T G C G T A A A G T C G G T G C G G A A G T G G A A G A G G G G C A C G A T T A C A T T C G

cft073.SEQ   . . . . . C . . . . . T . . . . T . . . . . 1100
edl933.SEQ   . . . . . A . . . . . 1100
Iran.SEQ     . . . . . A . . . . . 1072
mg1655.SEQ   . . . . . C . . . . . 1100
w3110.SEQ    . . . . . C . . . . . 1100
```

تصویر۲- مقایسه بین توالی نوکلئوتیدی ژن *aroA* سویه بومی ایران (.Iran.SEQ) با توالی نوکلئوتیدی این ژن در سویه‌های موجود در بانک ژنی.



تصویر۱- ژن *aroA* خالص شده ۱۲۰۶ کیلو بازی سویه بومی در مقایسه با کنترل منفی (آب). M: مارکر ۱۰۰ بازی، ۱: کنترل مثبت (سویه استاندارد آزمایشگاهی اشریشیاکلی *O78:K80*)، ۲ و ۳ و ۴: نمونه‌های اشریشیاکلی *O78: K80* جداشده از مرغداری‌های اطراف تهران)، ۵: کنترل منفی (آب).

برنامه ماشین PCR بر اساس ۹۴ درجه/ ۳ دقیقه، ۹۴ درجه/ ۴۵ ثانیه، ۶۰ درجه/ یک دقیقه، ۷۲ درجه/ ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه/ ۷ دقیقه و برای ۳۰ سیکل تنظیم گردید. لازم به ذکر است که مواد مورد نیاز برای انجام آزمایش PCR از شرکت سیناژن در کشور ایران تهیه شد. در مرحله بعد باند ۱۲۰۶ بازی به دست آمده از واکنش PCR با استفاده از کیت (System Transfer, MBST Rapid PCR Product Purification(Molecular Biological تهیه شده در کشور ایران خالص سازی شد.

همسان سازی ژن *aroA* در پلاسمید ناقل T: همسان سازی فرآورده PCR در پلاسمید ناقل pTZ57R/t ۲/۸۸۶ کیلو بازی به کمک کیت PCR product cloning (Fermentas) انجام گرفت و پرگنه مقاوم به آمپی‌سیلین انتخاب گردید. برای انجام این کار ابتدا عمل اتصال ژن *aroA* به ناقل و سپس ترانسفورماسیون همراه با استفاده از سلول‌های پذیرا (DH5a -*E.coli*) انجام گرفت و در نتیجه آن پرگنه‌های سفید تشکیل شدند. بعد از استخراج پلاسمید از پرگنه‌های سفید، مجددا عمل PCR برای مطمئن شدن از وجود قطعه ژنی *aroA* با آغازگرهای اختصاصی انجام گرفت و نتیجه آن با الکتروفورز مشخص گردید. پلاسمیدهای مورد نظر با استفاده از کیت High Pure Plasmid Isolation(Roche) تخلیص و برای تعیین توالی نوکلئوتیدی به شرکت ژن فن آوران فرستاده شد. تعیین توالی نوکلئوتیدی با استفاده از آغازگرهای بین المللی رفت و برگشتی به روش SANGER و به وسیله دستگاه ABI3730 انجام گرفت. توالی مورد نظر شامل تعدادی از نوکلئوتیدهای پلاسمید در ابتدا و انتهای ژن بود.

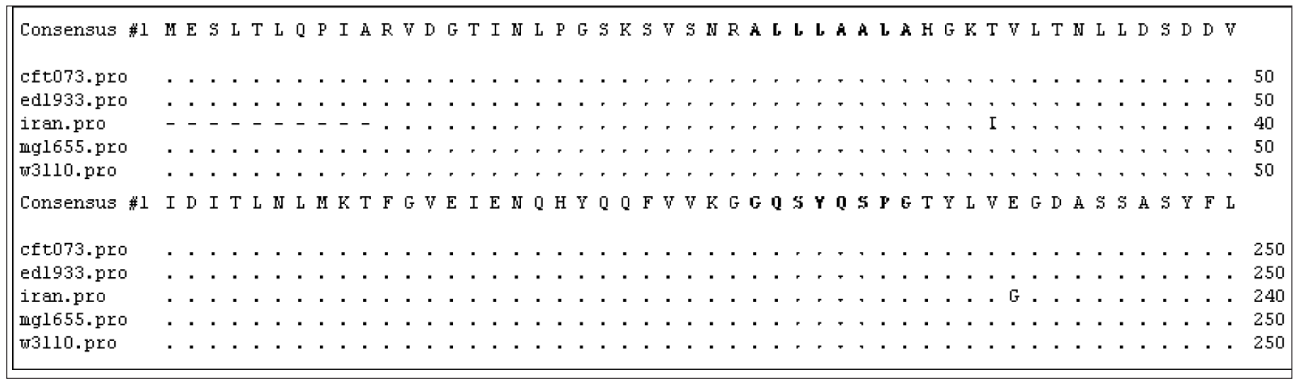
نتایج

تصویر۱- ژن *aroA* خالص شده ۱۲۰۶ بازی سویه بومی اشریشیا کلی *O78: K80* را نشان می‌دهد.

توالی نوکلئوتیدی ژن *aroA* در اشریشیا کلی بومی (Iran) با توالی نوکلئوتیدی این ژن در اشریشیاکلی‌های موجود در بانک ژنی شامل

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۳- مقایسه بین اسید آمینه‌های سویه بومی و سویه‌های موجود در بانک ژنی که در دو محل ۳۹ و ۲۴۰ اختلاف وجود دارد.

cft073، edl933، mg1655 و w3110 با استفاده از نرم افزار DNA STAR مقایسه شد و نتایج همانطور که در تصویر ۲ مشاهده می‌شود به شرح زیر است. در تمامی سویه‌های موجود در بانک ژنی صدوشانزدهمین نوکلئوتید، سیتوزین (C) ولی در سویه بومی تیمین(T) می‌باشد. نوکلئوتید شماره هفتصدو نوزدده در سویه‌های موجود آدنین(A) در حالی‌که در سویه بومی گوانین (G) می‌باشد. اسید نوکلئوتید شماره نهصدوسی وشش در سویه بومی و سویه cft073 سیتوزین و در سایر سویه‌ها تیمین می‌باشد. اسید نوکلئوتید شماره هزاروبیست و سه در سویه‌های بومی و edl933 آدنین و در سویه‌های دیگر گوانین می‌باشد. و در آخر اسید نوکلئوتید شماره هزاروهفتاد وهفت در سویه‌های بومی و edl933، آدنین، در cft073، سیتوزین و mg1655 و w3110 گوانین می‌باشد.

نتایج حاصل از مقایسه بین توالی اسید آمینه‌های رمز شده توسط ژن *aroA* در سویه بومی و سویه‌های موجود در بانک ژنی در تصویر ۳ آمده است. مقایسه آمینواسیدهای سویه بومی و سویه‌های موجود در بانک ژنی از اولین نوکلئوتید خوانا در سویه بومی آغاز شده است. دو اسید آمینه متفاوت در این فاصله وجود دارد که به ترتیب عبارتند از اسیدآمینه سی و نهم سویه‌های موجود در بانک ژنی که ترئونین (Threonine) است و به جای آن در سویه بومی ایزولوسین (Isoleucine) قرار گرفته و دیگری اسیدآمینه دویست و چهلم که به جای اسید گلوتامیک (Glutamic acid) در سویه‌های موجود در بانک ژنی، گلیسین (Glycine) در سویه بومی نشسته است

بحث

برای پیشگیری از بیماری‌های باکتریایی در دام و طیور، امروزه علاوه بر روش‌های استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و بهینه سازی محل پرورش دام، روش‌های مولکولی جدید ابداع شده است. تمامی روش‌های مولکولی و دست‌کاری‌های ژنتیکی در ژنوم باکتری‌ها نیاز به آگاهی از توالی نوکلئوتیدی دارد که معمولا این توالی در ژن‌های سویه‌های بومی با استاندارد متفاوت است. برای انجام تکنیک‌های مولکولی جدید و دست کاری در ژن‌های سویه‌های بومی، شناخت دقیق ژنوتیپ سویه محلی لازم است. در این تحقیق مقایسه بین توالی نوکلئوتیدی ژن *aroA* که یکی از ژن‌های مهم وکلیدی در راه متابولیکی باکتری‌ها، جهت تولید اسید آمینه‌های آروماتیکی می‌باشد، با ژن *aroA* موجود در بانک ژنی انجام گرفت که مشخص شد تفاوت اندکی در نوکلئوتیدهای آن وجود دارد. این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از اختلافات ژنتیکی به وجود آمده در اثر جهش‌ها و یا سایر عوامل محیطی در جنس‌ها و گونه‌های مختلف باکتری‌ها باشد که باید برای انجام کارهای مولکولی در هر منطقه مورد توجه قرار گیرد و می‌تواند در تصمیم گیری برای طراحی آغازگرهای مختلف در جهت تولید جهش و یا ازدیاد این ژن تاثیر گذار باشد. به عنوان مثال برای انجام جهش‌های حذفی و طراحی آغازگرهای اختصاصی که با توالی ژن در یک منطقه خاص تشابه دارند، نیاز به دانستن توالی دقیق نوکلئوتیدی ژن می‌باشد. هم چنین فعالیت آنزیمی پروتئین‌ها ارتباط مستقیمی با شکل فضایی پروتئین دارد، لذا تغییر در اسیدآمینه‌های پروتئین ممکن است با تغییر شکل فضایی پروتئین بر عملکرد آن تأثیر گذارد (۱۳).

نتایج این تحقیق نشان داد تفاوت در نوکلئوتیدهای ژن *aroA* سویه بومی در مقایسه با سویه‌های موجود در بانک ژنی، منجر به جایگزینی اسیدآمینه ایزولوسین به جای ترئونین و گلیسین به جای اسیدگلوتامیک شده است. به دلیل تفاوت بیوشیمیایی بارز بین دو اسیدآمینه گلیسین و اسیدگلوتامیک(۱۳)، این جایگزینی ممکن است باعث تغییر در ساختار پروتئین و خواص آنتی ژنیک آن گردد. لذا می‌تواند زمینه ساز تحقیق‌های بعدی به منظور بررسی تأثیر این تفاوت بر فعالیت آنزیمی و ساختار پروتئین رمزشونده توسط ژن *aroA* باشد.

ژن *aroA* در تعداد زیادی از گونه‌های باکتری‌ها تعیین توالی شده است. O'Gaora و همکاران در سال ۱۹۸۹، ۷۵/۹ درصد تشابه بین توالی نوکلئوتیدی ژن *aroA* در *Y. pestis* و *Y. enterocolitica* را نشان دادند(۹). Oyston و همکاران در سال ۱۹۹۶ درصد بالایی از تشابه را بین توالی آمینو اسیدی ژن *aroA* در *Y. pestis* با *E. coli*، *S. typhimurium*، *B. pertussis* و *Y. enterocolitica* نشان دادند که این درصدها به ترتیب ۵۲/۲، ۷۹/۱، ۷۹/۵ و ۹۰/۱ درصد بود (۱۰). نشان داده شده است که ژن *aroA* در سایر گونه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

خانواده انتروباکتریاسه قسمتی از اپرون را به همراه ژن serC می‌سازد که در قسمت بالایی ژن *aroA* قرار دارد (۵). ژن *aroA* تاکنون برای تاکسونومی باکتری‌ها نیز مورد استفاده قرار گرفته است(۸). جنس Aeromonas به وسیله PCR-RFLP ژن *aroA* مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و نتایج قابل توجهی داده است(۲). همچنین Yugueros و همکاران در سال۱۹۹۹ از ژن *aroA* برای تایپینگ Staphylococcus aureus استفاده کرده‌اند (۱۴). تفاوت‌ها در هر مورد مربوط به تنوع ژنتیکی سویه‌ها و گونه‌ها می‌باشد. روش تشخیصی سریع بوسیله PCR ژن *aroA* در *A. pleuropneumoniae* انجام شده است که منجر به تشخیص همه ۱۲ سروتیپ این گونه می‌شود که هیچ جنس و گونه دیگری به این واکنش PCR جواب مثبت نداده است(۶). Del Rio و همکاران در سال ۲۰۰۵ تفاوت ژنتیکی فاحشی را بین ۱۵ سروار Haemophilus parasuis و سروتیپ‌های Actinobacillus با PCR-RFLP ژن *aroA* به دست آوردند (۴).

تشکر و قدردانی

به این وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و دانشکده دامپزشکی بخاطر تامین اعتبار طرح تحقیقاتی شماره ۷۵۰۴۰۰۱/۶/۲ و همچنین از زحمات آقایان محمد مهدی غفاری و ایرج اشرافی تمای تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Arp, L. H., Piliation, E. (1979) Motility and generation time of *Escherichia coli* that are virulent or avirulent for turkeys. Avian Dis. 24: 153-161.
2. Cascon, A., Anguita, J., Hernanz, C., Sanchez, M., Fernandez, M., Naharro, G. (1996) Identification of *Aeromonas hydrophila* hybridization group 1 by PCR assays. Appl. Environ. Microbiol. 62: 1167-1170.
3. Da Silveira, W. D., Lancellotti, M., Ferreira, A., Solferini, V.N., De Castro, A.F., stehling, E.G., Brocchi, M. (2003) Determination of the clonal structure of avian *Escherichia coli* strains by isoenzyme and ribotyping analysis. J. Vet. Med. Infect. Dis. Vet. Public. Health. 50: 63-9.
4. Del Rio, M. L., Gutierrez Martin, C. B., Navas, J., Gutierrez-Muniz, B., Rodriguez Barbosa, J. I., Rodriguez ferri, E. F. (2006)aroa gene PCR-RFLP diversity patterns in *Haemophilus parasuis* and Actinobacillus species. Res. Vet. Sci. 80: 55-61.
5. Duncan, K., Ccoggins, J. R. (1986) The serC-aroa operon of *Escherichia coli*. Biochem. J. 234: 49-57.
6. Gram, T., Ahrens, P. (1998) Improved diagnostic PCR assay for *Actinobacillus pleuropneumoniae* based on the nucleotide sequence of an outer membrane lipoprotein. J. Clin. Microbiol. 36: 443-448.
7. Kariyawasam, S., Wilkie, B. N., Gyles, C. L. (2004) Construction, characterization and Evaluation of the vaccine potential of three genetically defined mutants of avian pathogenic *Escherichia coli*. Avian Dis. 48: 287-299.
8. Moral, C. H., Soriano, A. C., Salazar, M. S., Marcos, J. Y., Ramos, S. S., Carrasco, G. N. (1999) Molecular cloning and sequencing of the aroa gene from *Actinobacillus pleuropneumoniae* and its use in a PCR assay for rapid identification. J. Clin. Microbiol. 37: 1575-1578.
9. O,Gaora, P., Maskell, D., Coleman, D., Cafferkey, M., Dougan, G. (1989) Cloning and characterization of the serC and aroa genes of Yersinia enterocolitica and construction of an *aroa* mutant. Gene.84: 23-30.
10. Oyston, P. C., Russel, P., Williamson, E. D., Titball, R. W. (1996) An aroa mutant of Yersinia pestis is attenuated in guinea- pigs, but virulent in mice. Microbiol. 142: 1847-1853.
11. Sanders, J. D., Tagawa, Y., Briggs, R. E., Corbeil, L. B. (1997) Transformation of a virulence associated gene of *Haemophilus somnus* into a strain lacking the gene. FEMS Microbiol. Lett. 154: 251-58.
12. Tatum, F. M., Briggs, R. E. (2005) Construction of in-frame aroa deletion mutants of Mannheimia haemolytica, *Pasteurella multocida*, and Haemophilus somnus by using a new temperature-sensitive plasmid. Appl. Environ. Microbiol. 71: 7196-7209.
13. Watson, J. (1998) Molecular Biology of the Gene. 4th ed.Benjamin-Cummings Publishing Company, USA. pp. 311-314.
14. Yugueros Marcos, J., Cascon Soriano, A., Sanchez Salazar, M., Hernanz Moral, C., Suarez Ramos, S., Smeltzer, M. S., Naharro Carrasco, G. (1999) Rapid identification and typing of *Staphylococcus aureus* by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the *aroA* gene. J. Clin. Microbiol. 37: 570-574.

www.SID.ir

Archive of SID

J.Vet.Res. 64,2:97-100,2009

AROA GENE SEQUENCING OF NATIVE *ESCHERICHIA COLI O78: K80* ISOLATED FROM AVIAN COLIBACILLOSIS IN IRAN

Nayeri Fasaei, B., Zahraei Salehi, T.*, Tadjbakhsh, H.

Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

(Received 4 September 2007 , Accepted 12 January 2008)

Abstract:

aroA is an important gene which produces aromatic amino acids essential for bacterial life. The sequence of this gene was shown to be different in bacteria, so the purpose of this study was sequencing of *aroA* gene in native *E. coli* O78: K80 to determine the putative differences between this strain and other *E. coli* O78: K80 strains in gene bank. PCR was used to amplify *aroA* gene in native *E. coli* O78: K80. The amplified 1.206 kb PCR product was extracted from Agaros gel, ligated in pTZ57R and sequenced. Blast analysis showed that *aroA* sequence in native *E. coli* is different from already submitted homolog gene in Gene Bank. Two amino acids were shown to be different from those already found in other *E. coli* strains. This different amino acids are Isoleucine and Glycine instead of 39^{th} Threonine and 240^{th} Glutamic acid, respectively. Knowing these differences are important for doing molecular techniques, designing primers and future studies.

Key words: *E. coli*, *aroA* gene, sequencing, Iran.

***Corresponding author's email: tsalehi@ut.ac.ir, Tel: 021-66427517, Fax: 021-66933222**

www.SID.ir