

آنالیز فیلوژنتیک جدایه‌های کاپری پاکس ایران طی سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۵

• آرزو کریم پور صومعه دل

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران

• حمیدرضا ورشویی (نویسنده مسئول)

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران

• خسرو آقای پور

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران

• زینب هدایتی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران

• محمد آقاابراهیمیان

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۰۴-۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷-۰۶-۱۳

Email: hr_varshovi@yahoo.com



چکیده

جنس کاپری پاکس ویروس از خانواده پاکس ویریده شامل سه ویروس آبله گوسفند (SPV)، آبله بز (GPV) و لامپی اسکین (LSDV) می‌باشد که خسارات اقتصادی مهمی به دامداری در مناطق اندمیک وارد کرده‌اند. از آنجایی که کاپری پاکس ویروس‌ها از لحاظ مورفولوژی و آنتی ژنیکی مشابه هستند، تفریق این ویروس‌ها بر استفاده از روش‌های مولکولی متکی است. هدف از این مطالعه تشخیص مولکولی کاپری پاکس ویروس‌های ایران براساس آنالیز سکانس ژن همولوگ گیرنده کموکاین می‌باشد. به این منظور، ۱۶ ایزوله کاپری پاکس شامل ۱۰ ایزوله SPV، ۴ ایزوله GPV و ۲ ایزوله LSDV از نقاط مختلف ایران که در سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۵ جداسازی شده‌اند مورد استفاده قرار گرفت. ژن *CKR* جدایه‌ها با روش PCR تکثیر شد و در وکتور pTZ57R/T کلون گردید. آن‌ها در مقایسه با نمونه‌های CaPV موجود در بانک داده‌ها توالی‌یابی شده و آنالیز گردیدند. آنالیز توالی و فیلوژنتیک نشان می‌دهد که، SPV‌های ایران با بیش از ۹۹ درصد تشابه با دیگر SPV‌های موجود در بانک ژن در یک دسته قرار می‌گیرند به استثناء SPV عمان. ایزوله‌های GPV ایران با ۹۸-۹۹ درصد تشابه با دیگر ایزوله‌های موجود در بانک ژن در یک دسته قرار می‌گیرند و به علاوه، با ایزوله‌های GPV هند و بنگلادش پروفایل ژنی مشابهی را نشان می‌دهند. ایزوله‌های LSDV ایران ۹۹-۱۰۰ درصد تشابه دیگر ایزوله‌های LSDV بانک ژن و در یک دسته قرار گرفته‌اند. به طور قطع، براساس آنالیز سکانس ژن *CKR* ایزوله‌های GPV، SPV و LSD ایران کاملاً متفاوت هستند.

کلمات کلیدی: آبله گوسفند، آبله بز، لامپی اسکین، ژن همولوگ گیرنده کموکاین، آنالیز توالی

- Veterinary Researches & Biological Products No 122 pp: 2-16

Phylogenetic analysis of Iran capripoxvirus isolates during 2013-2016

By: Karimpour Samedel, A., Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Razi vaccine & Sera institute, Karaj, Iran. Varshoiee, H.R., Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Razi Vaccine & Serum Research Institute, Karaj, Iran. Aghaiypour, Kh., Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Razi Vaccine & Serum Research Institute, Karaj, Iran. Hedayati, Z., Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Razi Vaccine & Serum Research Institute, Karaj, Iran. and Aghaebrahimian, M., Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Razi Vaccine & Serum Research Institute, Karaj, Iran.

Email: hr_varshovi@yahoo.com

Received: 2018-07-17 Accepted: 2018-09-04

Capripoxvirus (CaPV) genus of Poxviridae family comprises three closely related viruses, namely sheeppox virus (SPV), goatpox virus (GPV) and lumpy skin disease virus (LSDV) causing sheeppox and goatpox and lumpy skin disease of cattle, respectively, with significant economic impact on livestock in endemic areas. Sheeppox and goatpox are endemic for many past years, and Lumpy skin disease emergently occurred in recent years in Iran. Since capripoxviruses are morphologically and antigenically identical discrimination of them relies exclusively on the use of molecular tools. The aim of this study is the molecular characterization of Iran capripoxviruses based on sequence analysis of the chemokine receptor (*CKR*) homologue gene. For this purpose, 16 capripoxvirus isolates consist of 10 SPV, 4 GPV and 2 LSDV isolates from different parts of Iran during 2013-2016 were used. *CKR* genes of isolates were amplified by PCR and cloned to pTZ57R/T vector. They were sequenced and analyzed by comparing to those of CaPVs available in the Genbank. Sequence and phylogenetic analysis showed that Iran SPV isolates with more than 99% identity were grouped on the same SPV clade retrieved from Genbank, except for Oman SPV. Iran GPV isolates with 98-99% identity were clustered with those of other countries and furthermore, with India and Bangladesh GPV isolates showed the same genetic profile. Iran LSDV isolates were 99-100% identical with other LSDs in the same clade. Conclusively, Iran SPV, GPV, and LSDV isolates are quite different based on sequence analysis of the *CKR* gene.

Key words: sheeppox virus, goatpox virus, lumpy skin disease virus, chemokine receptor homologue gene, sequence analysis

نظهور لمپی اسکین در جمعیت گاوهای ایران طغیان‌های متعددی ایجاد نموده است که به طبع خساراتی نیز به بار آورده است. CaPVها از لحاظ خصوصیات ویروئیدی و سرولوژی کاملاً مشابه هستند (۶، ۷). اگرچه اساساً لمپی اسکین، بیماری گاوها محسوب می‌شود، ولی به علت قرابت بالای سرولوژی و آنتی ژنی آن با ویروس‌های آبله بزی و آبله گوسفندی و احتمال آلوده ساختن نشخوارکنندگان کوچک می‌تواند در گله‌های دامی تشخیص این بیماری را با مشکل مواجه نماید (۸، ۹). پر واضح است موفقیت برنامه کنترل و ریشه‌کنی این بیماری‌ها در گرو شناخت دقیق و روشن از وضعیت آن‌ها در جمعیت‌های دامی کشور می‌باشد و این مهم تنها با انجام مطالعات جامع اپیدمیولوژی از جمله شناخت منشأ

مقدمه

جنس کاپری پاکس ویروس (CaPV) از سه ویروس آبله گوسفندی (SPV)، آبله بزی (GPV) و لمپی اسکین (LSDV) تشکیل شده است. این جنس در خانواده پاکس ویریده (poxviridae) قرار دارد (۱). آبله گوسفندی، بزی و لمپی اسکین در گاو از بیماری‌های ویروسی بسیار واگیردار در دام‌های اهلی می‌باشند (۲-۴). این بیماری‌ها ممکن است در نژادهای بومی در مناطق اندمیک ملایم باشند اما در حیوانات تازه وارد اغلب کشنده می‌باشند. آبله گوسفندی و آبله بزی از دیرباز در زمره مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی بومی ایران بوده و همواره خسارات اقتصادی قابل ملاحظه‌ای به صنعت دام کشور وارد آورده است (۵). اخیراً نیز بیماری

کیت Roche High Pure Viral Nucleic Acid به روش اتصال اختصاصی به الیاف شیشه‌ای در حضور guanidium HCl استخراج شد. مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه تعلیق ویروسی در یک تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری عاری از نوکلئاز ریخته شد. تهیه محلول کاری: به ۴ میکرولیتر (Poly A) مقدار ۲۰۰ میکرولیتر Binding Buffer اضافه شد. (این محلول باید به صورت تازه تهیه و مصرف شود). به تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی نمونه مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محلول کاری تازه اضافه شد. مقدار ۵۰ میکرولیتر پروتئیناز K اضافه و فوراً مخلوط شد و در ترمو میکسر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه گردید. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر Binding Buffer اضافه شد. Filter tube روی Collection tube قرار داده شد و تمام محلول داخل Filter tube ریخته شد. Collection tube به مدت ۱ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. Collection tube دور انداخته شد و Filter tube روی یک Collection tube جدید قرار داده شد. مقدار ۵۰۰ میکرولیتر Inhibitor Removal Buffer داخل Filter tube ریخته شد و به مدت ۱ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. Filter tube روی یک Collection tube جدید قرار داده شد. شستشوی اول و دوم: مقدار ۴۵۰ میکرولیتر Wash Buffer داخل Filter tube ریخته شد و به مدت ۱ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. Filter tube روی یک Collection tube جدید قرار داده شد و مجدداً شستشو صورت گرفت. مقدار ۵۰ میکرولیتر Elution Buffer داخل Filter tube ریخته شد. تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری به

میزبانی، تنوع ژنتیکی و چرخش ویروس‌های آبله گوسفندی، بزی و لمپی اسکین در بین دام‌ها امکان پذیر می‌باشد. به علت قرابت مورفولوژیکی و آنتی ژنتیکی زیاد این ویروس‌ها، امکان تفریق آنها از یکدیگر با روش‌های تشخیصی رایج ویروس‌شناسی و روش‌های تشخیصی سرمی وجود ندارد (۷، ۱۰، ۱۱)، بنابراین در مطالعات اپیدمیولوژی نمی‌توان از این روش‌ها استفاده نمود. در مقابل در سال‌های اخیر با تفریق کاپری پاکس ویروس‌ها بر اساس تفاوت‌های ژنتیکی موجود در برخی از ژن‌های دامنه میزبانی و حدت، این امکان فراهم شده است که در بررسی‌های اپیدمیولوژی از روش‌های مولکولی و توالی‌یابی‌های ژنتیکی استفاده گردد (۱۲، ۱۳). لذا شناسایی و بررسی اپیدمیولوژی این ویروس‌ها تنها با روش‌های ژنومی امکان‌پذیر است. در هر حال، علی‌رغم قرابت ژنومی خیلی زیاد بین CaPVها، آنالیز الگوی حاصل از برش آنزیم محدودگر، مطالعات امیخته‌گری متقابل و اخیراً تعیین توالی اسید نوکلئیک نشان داده است که تقریباً همه CaPVها می‌توانند بر حسب منشاء میزبانی‌شان گروه‌بندی شوند (۱۴). ژن همولوگ گیرنده کموکاین (CKR) کاپری پاکس‌ها ممکن است در ایجاد ضایعات پرولیفراتیو و سرکوب سیستم ایمنی القایی به وسیله عفونت ویروسی نقش داشته باشند. CaPVها دارای ژن‌هایی هستند که تصور می‌شود پروتئین‌هایی شبیه به ژن همولوگ گیرنده کموکاین را بیان کنند. CaPVها دارای کپی‌هایی از CKR می‌باشند. از آنجایی که ژن همولوگ گیرنده کموکاین یکی از متغیرترین ژن‌ها در کاپری پاکس ویروس‌ها بوده و می‌تواند ژن هدف مناسبی برای توصیف ژنتیکی بین پاکس ویروس‌های نشخوارکنندگان باشد (۱۵، ۱۶)، در این مطالعه سعی شده است بر اساس آنالیز تعیین توالی این ژن میزان قرابت و تنوع ژنتیکی کاپری پاکس ویروس‌های بومی ایران که در آزمایشگاه فرانس آبله دامی موسسه رازی موجود بودند، ارزیابی گردد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۶ نمونه پوستی از موارد آبله گوسفندی، بزی و لمپی اسکین گاو که توسط آزمایشگاه فرانس آبله دامی موسسه رازی در طی سال‌های ۹۵-۹۲ مثبت گزارش شده بود مورد بررسی قرار گرفت. از این تعداد ۱۰ نمونه متعلق به کانون‌های آبله گوسفندی استان‌های هرمزگان، یزد، کردستان، سیستان و بلوچستان، کهگیلویه و بویر احمد، کرمانشاه، کرمان، قم، آذربایجان، خراسان، بوشهر، لرستان، زنجان و ۴ نمونه از کانون‌های آبله بزی آذربایجان شرقی، یزد، هرمزگان، تهران، فارس، کرمان، خراسان، ایلام، اردبیل و دو نمونه ویروس لامپی اسکین (LSD) از استان‌های کرمانشاه و آذربایجان بود (جدول ۱).

پرایرها

مناسب‌ترین جفت پرایمر ژن همولوگ CKR با استفاده از نرم‌افزار Oligo طراحی شد. سنتز پرایرها توسط شرکت MWG آلمان انجام گرفت (جدول ۲).

استخراج DNA

مطابق دستورالعمل شرکت تولیدکننده کیت، DNA ویروس با استفاده از

جدول ۱. مشخصات جدایه‌های کاپری پاکس مورد استفاده در تحقیق

ردیف	کد نمونه	نوع دام	محل جداسازی
۱	۱۱۴	گوسفند	خراسان
۲	۱۱۵	گوسفند	آذربایجان
۳	۱۵۹	گوسفند	قم
۴	۱۶۰	گوسفند	کرمانشاه
۵	۵۵۵	گوسفند	هرمزگان
۶	۶۳۶	گوسفند	زنجان
۷	۶۸۳	گوسفند	فارس
۸	۷۰۸	گوسفند	بوشهر
۹	۷۲۱	گوسفند	کرمان
۱۰	۷۳۳	گوسفند	یزد
۱۱	۹۵	بزی	خراسان
۱۲	۶۸۸	بزی	هرمزگان
۱۳	۷۱۹	بزی	کرمان
۱۴	۷۸۸	بزی	فارس
۱۵	۲۳۴	گاو	کرمانشاه
۱۶	۲۳۸	گاو	آذربایجان

گذاشته شد. تعلیق حاصل در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی تحت عمل PCR با پرایمرهای ژن *CKR* در مخلوط PCR قرار گرفت.

جداسازی پلاسمید نوترکیب

با استفاده از کیت Roche High Pure Plasmid Isolation جداسازی پلاسمید نوترکیب انجام شد. به منظور تایید پلاسمید نوترکیب به دست آمده، به همراه پلاسمید دست نخورده (۲۸۸۶ bp) روی ژل آگارز الکتروفورز گردید. دو باند یکی به طول حدود ۳۰۰۰ bp برای کنترل پلاسمید و دیگری به طول حدود ۴۰۰۰ bp برای پلاسمید نوترکیب مشاهده گردید. به منظور تایید وجود قطعه مورد نظر در پلاسمید نوترکیب حاصل، پلاسمید تحت عمل هضم آنزیمی با دو آنزیم محدود گر *Bam HI* و *Eco RI* شرکت Fermentas قرار گرفت. قطعات پس از هضم آنزیمی الکتروفورز گردید. دو باند یکی به طول حدود ۳۰۰۰ bp برای پلاسمید و دیگری به طول حدود ۱۳۰۰ bp برای قطعه مورد نظر مشاهده گردید.

تعیین توالی

قطعات کلون شده توسط سیستم تعیین توالی DNA (کمپانی MWG، آلمان) از طریق خوانش دو طرفه زنجیره DNA تعیین توالی شد. توسط نرم‌افزار DNAMAN توالی‌های به دست آمده با توالی ژن *CKR* ویروس‌های رفرانس آبله گوسفندی، بزی و لمپی اسکین (SPV Tu-02127) *align* (GPV G20 _ LKV, LSD NI-2490) شده و در پایان توالی ژن *CKR* جدایه‌ها معین گردید.

مقایسه قرابت ژنوتیپی

در پایگاه اینترنتی NCBI، توسط سرویس BLAST توالی ژن *CKR* نمونه‌ها با توالی‌های ژن *CKR* ویروس‌های ثبت شده در بانک ژن مقایسه گردید. مقایسه قرابت ژنوتیپی به روش MSA برای توالی نوکلئوتید نمونه‌ها و تعدادی از CaPV‌های ثبت شده در بانک ژن توسط برنامه ClustalW مربوط به نرم‌افزار (BioEdit version 7.0.9.0) انجام گرفت. آنالیز فیلوژنتیک با استفاده از برنامه neighbor-joining بسته نرم‌افزاری MEGA روی توالی‌های نوکلئوتید انجام شد. سپس نمودار قرابت ژنومی و درخت فیلوژنتیک ترسیم گردید. قابل ذکر است که در این بررسی از ویروس Deerpoxvirus (۱۷) به عنوان Outgroup در مقایسه قرابت ژنومی و ترسیم درخت فیلوژنتیک استفاده شد.

مدت ۱ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. DNA استخراج شده به مقدار مورد نیاز در میکروتیوب‌های استریل تقسیم شد.

آزمایش PCR

آزمایش PCR روی DNA استخراج شده جدایه‌ها با استفاده از دو آنزیم *Pfu DNA Polymerase* و *Taq-DNA Polymerase* صورت گرفت. سیکل تکثیر به صورت:

Initial denaturation: 94 °c for 3'

Denaturation: 94 °c for 1'

Annealing: 45 °c for 1'

Extension: 72 °c for 2'

Final extension: 72 °c for 30'

بود که این سیکل ۳۵ مرتبه تکرار شد. با استفاده از کیت Roche High PCR Product Purification ژن تکثیر شده از محصول PCR تخلیص شد. طول قطعه تکثیر شده مورد انتظار بوسیله این جفت پرایمر براساس توالی سویه‌های رفرانس ذکر شده برای ویروس آبله بزی ۱۱۴۶ bp و برای ویروس آبله گوسفندی ۱۱۲۵ bp و برای ویروس لمپی اسکین ۱۱۳۴ bp می‌باشد.

کلونینگ

قطعات تخلیص شده از محصول PCR با استفاده از کیت Fermentas *Ins TAclone PCR Cloning* داخل وکتور (پلاسمید) pTZ57R/T کلون شد. پس از انجام ligation پلاسمید نوترکیب به داخل باکتری مستعد شده *E.coli* سویه XL1 blue به روش شیمیایی در شرایط سرما انتقال داده شد. پس از عمل ترانسفورماسیون، سوسپانسیون باکتری روی محیط کشت حاوی آمپی سلین که به X-Gal و IPTG آغشته گردیده بود، کشت داده شد و بعد از گذشت ۲۴-۱۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد پرگنه‌های باکتری بی‌رنگ که پلاسمیدهای نوترکیب را پذیرفته‌اند به همراه پرگنه‌های آبی رنگ که دارای پلاسمیدهای دست نخورده می‌باشند در سطح محیط کشت پدیدار شدند. به منظور تکثیر پرگنه‌های نوترکیب حاوی قطعه مورد نظر، تعداد ۱۰-۸ پرگنه نوترکیب (بی رنگ) ایجاد شده روی محیط کشت جامد انتخاب شد و هر یک جداگانه به داخل محیط رشد مایع L.B تلقیح و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت شبانه داده شد. جهت تایید وجود قطعه مورد نظر در وکتور باکتربایی مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر یک از لوله‌هایی که باکتری در آن رشد کرده بود در دمای ۹۹-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر

جدول ۲. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق

نام پرایمر	توالی نوکلئوتیدی
C1: Forward (sense)	5'-GTTATTATCACTCCCTTCCA-3'
C2: Reverse (antisense)	5'-GATAAAATAAAAGTGATGATTA-3'

نتایج

ژن *CKR* شانزده جدایه کاپری پاکس ایران در آزمایش PCR تکثیر شد و باند اختصاصی مورد انتظار در ژل الکتروفورز ایجاد گردید (شکل ۱). ژن جدایه‌ها با موفقیت داخل وکتور pTZ57R/T کلون گردید (شکل ۲). وجود ژن *CKR* در پلاسمیدهای نوترکیب استخراج شده جدایه‌ها توسط هضم آنزیمی و مشاهده باند ژن مورد انتظار در ژل الکتروفورز مورد تایید قرار گرفت (شکل ۳) و سپس تعیین توالی گردید.

بر اساس نتایج Alignment توالی‌های به دست آمده از قطعات تکثیر یافته و کلون شده ده جدایه گوسفندی با توالی ژن *CKR* سویه رفرانس آبله گوسفندی، توالی با طول ۱۱۲۵ bp برای تمامی جدایه‌های آبله گوسفندی معین شد (شکل ۴).

بر اساس نتایج Alignment توالی‌های به دست آمده از قطعات تکثیر یافته و کلون شده چهار جدایه بزی با توالی ژن *CKR* سویه رفرانس آبله بزی، توالی با طول ۱۱۲۵ bp برای تمام جدایه‌های آبله بزی معین شد. تفاوت ۲۱ bp ناشی از شکاف (gap) در موقعیت اسید نوکلئوتیدی ۳۰-۵۱ در توالی ژن جدایه‌ها نشان داده شده است (شکل ۵).

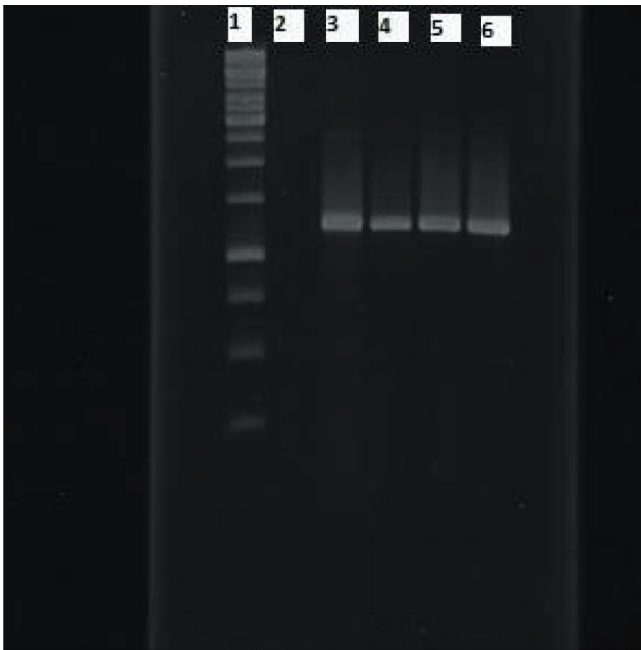
بر اساس نتایج Alignment توالی‌های به دست آمده از قطعات تکثیر یافته و کلون شده دو جدایه LSD با توالی ژن *CKR* سویه رفرانس LSD، توالی با طول ۱۱۳۴ bp تمامی جدایه‌های LSD معین شد. تفاوت ۱۲ bp ناشی از شکاف (gap) در موقعیت اسید نوکلئوتیدی ۱۰۵-۹۳ در توالی ژن جدایه‌ها نشان داده شده است (شکل ۶).

مقایسه ژنوتیپی توالی‌های به دست آمده ژن *CKR* جدایه‌های کاپری پاکس ایران و ویروس‌های SPV، GPV و LSD ثبت شده در بانک ژن صورت پذیرفت نتایج BLAST (جدول ۳ الی ۵) نشان می‌دهد که جدایه‌های GPV ایران با جدایه‌های GPV قزاقستان سویه‌های G۲۰، Pellor و LKV، ترکیه سویه Denizli، هند، عمان، سویه گرگان ایران، بورکینافاسو و چین ۹۹٪، با جدایه‌های GPV عراق، یمن و اتیوپی ۹۸٪ قرابت ژنتیکی دارند.

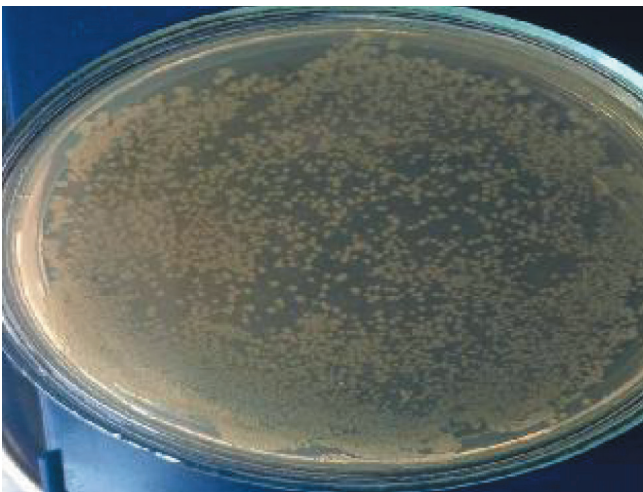
جدایه‌های SPV ایران با جدایه‌های SPV ترکیه سویه TU-02127 قزاقستان، هند، چین، سنگال و نیجریه ۹۹٪، با جدایه عمان ۹۵٪ قرابت ژنتیکی دارند.

جدایه‌های LSD ایران با جدایه‌های LSD کشور صربستان و سویه NW-LW آفریقا دارای ۱۰۰٪ تشابه نوکلئوتیدی است در حالی که با سویه KSGP 0240 کنیا، سویه NI-2490 آفریقا، جدایه مصر و جدایه ترکیه ۹۹٪ تشابه نوکلئوتیدی و با سویه‌ی Neethling واکسینال دارای ۹۷٪ تشابه نوکلئوتیدی می‌باشد.

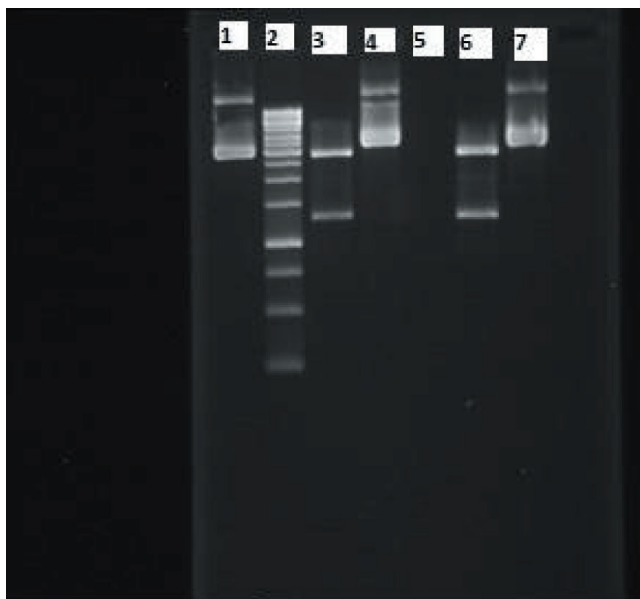
نتایج مقایسه‌ای روش MSA انجام گرفته روی توالی ژن *CKR* جدایه‌های کاپری پاکس ایران با جدایه‌های کاپری پاکس موجود در بانک ژن نشان می‌دهد، یک شکاف ۲۱ bp در موقعیت ۳۰-۵۱ اسید نوکلئوتیدی در همه جدایه‌های SPV ایران و سایر کشورها و در جدایه‌های GPV ایران، هند، بنگلادش، عربستان، سودان و عمان برخلاف جدایه‌های آبله بزی قزاقستان، یمن، عراق و بورکینافاسو و جدایه‌های LSD ایران و سایر کشورها وجود دارد. جدایه‌های LSD ایران، مصر، صربستان، ترکیه و سویه NW-LW آفریقا بر خلاف سویه‌های ۲۴۰ و ۲۴۹۰ آفریقا یک شکاف ۱۲ bp در



شکل ۱- ژل الکتروفورز محصول PCR ژن *CKR* نمونه‌های کاپری پاکس ایران از چپ به راست
ستون ۱: مارکر ۱Kbp ستون ۲: کنترل منفی ستون ۳: LSD ۳۳۴ ستون ۴: SPV ۱۱۴ ستون
۵: GPV ۹۵ ستون ۶: SPV RM/۶۵(کنترل مثبت)



شکل ۲- نتایج حاصل از کلونینگ قطعات در وکتور



شکل ۳- پلاسمید استخراج شده قبل و بعد از هضم آنزیمی از چپ به راست ستون ۱: پلاسمید بدون قطعه، ستون ۲: مارکر ۱Kbp ستون ۳: پلاسمید حاوی قطعه GPCRSPV114 بعد از هضم آنزیمی، ستون ۴: پلاسمید حاوی قطعه GPCRSPV114 قبل از هضم آنزیمی، ستون ۵: پلاسمید حاوی قطعه GPCRGPV95 بعد از هضم آنزیمی، ستون ۶: پلاسمید حاوی قطعه GPCRGPV95 قبل از هضم آنزیمی، ستون ۷: پلاسمید حاوی قطعه GPCRGPV95 قبل از هضم آنزیمی

TU-02127	ATTATT	80	TU-02127	ATAATATAACCTATTACAGC	200	TU-02127	GTGT	400
SPV114	-----	80	SPV114	-----	200	SPV114	--T-	400
SPV160	-----	80	SPV160	-----	200	SPV160	--T-	400
SPV683	-----	80	SPV683	-----	200	SPV683	--T-	400
SPV708	-----	80	SPV708	-----	200	SPV708	--T-	400
SPV721	-----	80	SPV721	-----	200	SPV721	--T-	400
SPV555	-----	80	SPV555	-----G--	200	SPV555	--T-	400
SPV733	-----	80	SPV733	--G-----	200	SPV733	--T-	400
SPV115	--C---	80	SPV115	-----	200	SPV115	----	400
SPV159	-----	80	SPV159	-----	200	SPV159	----	400
SPV636	-----	80	SPV636	-----	200	SPV636	----	400
TU-02127	TGATG	560	TU-02127	GTAGCTG	1000	TU-02127	GATAA	1125
SPV114	--G--	560	SPV114	---A---	1000	SPV114	-----	1125
SPV160	-----	560	SPV160	---A---	1000	SPV160	-----	1125
SPV683	-----	560	SPV683	---A---	1000	SPV683	-----	1125
SPV708	-----	560	SPV708	---A---	1000	SPV708	-----	1125
SPV721	-----	560	SPV721	---A---	1000	SPV721	-----	1125
SPV555	-----	560	SPV555	---A---	1000	SPV555	-----	1125
SPV733	-----	560	SPV733	---A---	1000	SPV733	-----	1125
SPV115	-----	560	SPV115	-----	1000	SPV115	-----	1125
SPV159	-----	560	SPV159	-----	1000	SPV159	-----	1125
SPV636	-----	560	SPV636	-----	1000	SPV636	-----	1125

شکل ۴- نتایج Alignment جدایه‌های آبله گوسفندی ایران با سویه فرانس آبله گوسفندی TU-02127 (تنها نواحی دارای تفاوت نشان داده شده است)

G20-LKV. AGCTACGCCATGTATAATAGTAGCAG 53	G20-LKV. AATGTTACT 160	G20-LKV. AATTTGA 400
GPV95. ---.....AG 32	GPV95. ----- 139	GPV95. --C---- 379
GPV788. ---.....AG 32	GPV788. ----- 139	GPV788. --C---- 379
GPV688. ---.....AG 32	GPV688. ----- 139	GPV688. --C---- 379
GPV719. ---.....AG 32	GPV719. -----G-- 139	GPV719. --C---- 379

G20-LKV. TGTATCA 680	G20-LKV. TCGTAG 1120	G20-LKV. ATAA 1146
GPV95. ---C--- 659	GPV95. --A--- 1099	GPV95. ---- 1125
GPV788. ---C--- 659	GPV788. --A--- 1099	GPV788. ---- 1125
GPV688. ---C--- 659	GPV688. --A--- 1099	GPV688. ---- 1125
GPV719. ---C--- 659	GPV719. --A--- 1099	GPV719. ---- 1125

شکل ۵- نتایج Alignment جدایه‌های آبله بزی ایران با سویه فرانس آبله بزی G20-LKV (تنها نواحی دارای تفاوت نشان داده شده است).

LSD_NI-2490_ TATTAGTACAATTCTCAGTACAATTTCAACAAATCAAAT 120	
LSD334. -----.....----- 108	
LSD338. -----.....----- 108	
LSD_NI-2490_ GTGCTGGTAGTATTAGCATTTGGATAA 1146	
LSD334. ----- 1134	
LSD338. ----- 1134	

شکل ۶- نتایج Alignment جدایه‌های LSD ایران با سویه فرانس LSD NI-2490 (تنها نواحی دارای تفاوت نشان داده شده است)

موقعیت ۹۳-۱۰۵ اسید نوکلئوتیدی نشان می‌دهد (جدول ۶).

مقایسه ژنوتیپی و تعیین درصد همانندی (Sequence identity matrix) توالی ژن CKR جدایه‌ها با یکدیگر و با بسیاری از ویروس‌های انتخابی GPV، SPV به همراه LSDV از بانک ژن با استفاده از روش MSA در جدول ماتریکس ۶ نشان داده شده است. همانگونه که در جدول مشاهده می‌شود، قرابت ژنتیکی بین جدایه‌ها GPV با SPV ایران و همچنین جدایه‌های SPV سایر کشورها و LSDV ۹۵٪ می‌باشد. جدایه‌های SPV ایران با جدایه‌های GPV سایر کشورها ۹۵٪ و با LSDV ۹۶٪ قرابت ژنتیکی دارند. جدایه‌های LSD ایران با جدایه‌های GPV و SPV ایران حدود ۹۶٪ تشابه نوکلئوتیدی دارند و با جدایه‌های GPV و SPV سایر کشورها ۹۵٪ قرابت ژنتیکی دارند.

درخت فیلوژنتیک به دست آمده سه گروه ژنتیکی نزدیک به هم که شامل گروه‌های GPV، SPV و LSDV می‌باشد را نشان می‌دهد (شکل ۷).

بر اساس آنالیز فیلوژنتیک انجام شده جدایه‌های آبله بزی ایران در گروه GPV قرار می‌گیرند. در این گروه دو زیر گروه نیز مشاهده می‌شود: زیر گروه اول که جدایه‌های آبله بزی عمان، هند، عراق و سویه‌های Pellor و G20-LKV در کنار جدایه‌های آبله بزی ایران قرار گرفته‌اند و زیر گروه دوم که شامل دو جدایه آبله بزی یمن و بورکینافاسو می‌باشد. جدایه‌های آبله گوسفندی ایران نیز در گروه SPV و در کنار جدایه‌های ترکیه، سنگال، نیجریه، هند و سویه TU-02127 قرار دارند. جدایه‌های لمپی اسکین ایران در کنار جدایه‌های کنیا، صربستان، ترکیه و سویه‌های NI-2490 و NW-LW و در گروه LSDV قرار دارند.

بحث

در این تحقیق، تعیین خصوصیات مولکولی چهارده جدایه آبله گوسفندی و آبله بزی و دو جدایه لامپی اسکین ایران براساس آنالیز توالی ژن همولوگ CKR از گروه ژن‌های کدکننده حدت و دامنه میزبانی CaPV ها صورت گرفت. جدایه‌ها از نمونه‌های مثبت سال‌های ۹۲-۹۵ موجود در آزمایشگاه فرانس موسسه رازی در اختیار قرار گرفت.

در این تحقیق نشان داده شد، در حالی که همانندی توالی ژن CKR جدایه‌های آبله بومی داخل گونه‌ای نزدیک به صد در صد می‌باشد، تفاوت ژنی خارج گونه‌ای قابل ملاحظه‌ای در حدود ۹۵٪ بین جدایه‌های آبله گوسفندی و بزی ایران وجود دارد. این همانندی در بین جدایه‌های لامپی اسکین ایران با جدایه‌های خارج از کشور ۹۹-۱۰۰٪ ولی با سویه واکسینال افریقا ۹۷٪ می‌باشد.

آنالیز توالی ژن CKR جدایه‌های آبله گوسفندی و بزی ایران با جدایه‌های سایر کشورها نشان داد که در بین جدایه‌های آبله گوسفندی ایران و سایر کشورها به استثناء جدایه‌های آبله گوسفندی عمان تفاوت قابل ملاحظه وجود ندارد. در بین جدایه‌های آبله بزی ایران و سایر کشورها به استثناء جدایه‌های آبله بزی عراق و بورکینافاسو این اختلاف در حد بسیار ناچیز است.

از مجموع بررسی‌های صورت گرفته روی ژن CKR در این تحقیق چنین استنتاج می‌شود که بین جدایه‌های آبله گوسفندی ایران با یکدیگر و همچنین با جدایه‌های آبله گوسفندی سایر کشورها اختلاف بسیار ناچیز است. اما در مورد جدایه‌های آبله بزی ایران می‌توان چنین نتیجه

G20-LKV.	GCTACGCCATGTATAATAGTAGCAG	53	G20-LKV.	AATTCTCAGTGTAAATTTCAA	120
GPV_Iraq.	-----	53	GPV_Iraq.	-----	120
GPV_India.	--.....	32	GPV_India.	-----	99
GPV_Pellor.	--.....	32	GPV_Pellor.	-----	99
GPV_Oman.	--.....	32	GPV_Oman.	-----	99
GPV_Yemen.	-----	53	GPV_Yemen.	-----T--	120
GPV_Burkina.	-----	53	GPV_Burkina.	-----T--	120
GPV95.	--.....	32	GPV95.	-----	99
GPV688.	--.....	32	GPV688.	-----	99
GPV719.	--.....	32	GPV719.	-----	99
GPV788.	--.....	32	GPV788.	-----	99
TU-02127.	--.....	32	TU-02127.	-----AG--	99
SPV_India.	--.....	32	SPV_India.	-----AG--	99
SPV_Senegal.	--.....	32	SPV_Senegal.	-----AG--	99
SPV_Nigeria.	--.....	32	SPV_Nigeria.	-----AG--	99
SPV_Turkey.	--.....	32	SPV_Turkey.	-----AG--	99
SPV114.	--.....	32	SPV114.	-----AG--	99
SPV115.	--.....	32	SPV115.	-----AG--	99
SPV159.	--.....	32	SPV159.	-----AG--	99
SPV160.	--.....	32	SPV160.	-----AG--	99
SPV555.	--.....	32	SPV555.	-----AG--	99
SPV636.	--.....	32	SPV636.	-----AG--	99
SPV683.	--.....	32	SPV683.	-----AG--	99
SPV708.	--.....	32	SPV708.	-----AG--	99
SPV721.	--.....	32	SPV721.	-----AG--	99
SPV733.	--.....	32	SPV733.	-----AG--	99
LSD_NI-2490_.	--GCAA-----	53	LSD_NI-2490_.	-----AC-----	99
LSD_KSGP_0240.	--GCAA-----	53	LSD_KSGP_0240.	-----AC-----	99
LSD_NW-LW_.	--GCAA-----	53	LSD_NW-LW_.	-----.....	108
LSD_Egy_.	--GCAA-----	53	LSD_Egy_.	-----.....	108
LSD_SERBIA.	--GCAA-----	53	LSD_SERBIA.	-----.....	108
LSD334.seq	--GCAA-----	53	LSD334.	-----.....	108
LSD338.seq	--GCAA-----	53	LSD338.	-----.....	108

شکل ۷- نتایج Multiple Sequence Alignment توالی ژن CKR در جدایه‌های آبله گوسفندی و بز ایران و ۱۹ ویروس Capripox (بانک ژن) (تتها نواحی شکاف (gap) نشان داده شده است).

از متلاشی شدن ژن‌های ویروالانس و دامنه میزبانی ژنوم لامپی اسکین بوجود آمده باشند. بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی در گروه GPV و به میزان کمتری در گروه LSDV بیشتر از گروه SPV می‌باشد (۱۹). هوسمانی و همکاران این فرضیه را براساس توالی ژن P۳۲ تعداد معدودی از جدایه‌های CaPV مطرح کردند (۲۰).

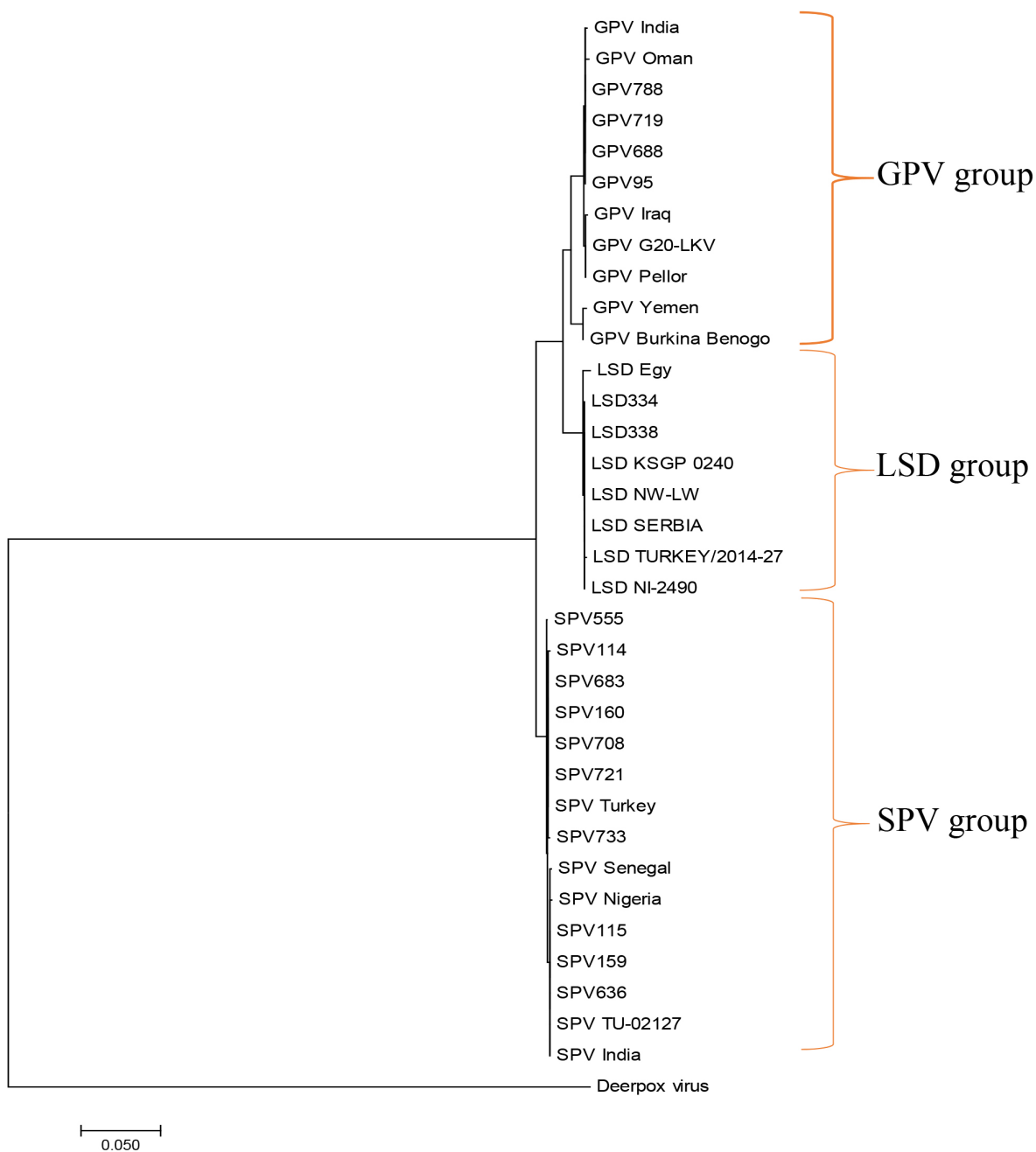
استرام و همکاران (۲۰۰۸) نیز تفریق ژنتیکی جدایه‌های لامپی اسکین را بر اساس توالی قسمتی از ناحیه بسیار متغیر ژنوم CaPV واقع در انتهای چپ ژنوم شرح داده‌اند (۲۱).

لکوف و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی تنوع ژنی این ویروس‌ها با استفاده از ژن CKR تفاوت ژنتیکی بیشتری را در گروه‌های GPV، SPV و LSDV نسبت به تحقیقات انجام شده توسط هوسمانی (۲۰۰۴) و استرام (۲۰۰۸) بیان نمودند و برای گروه‌های LSDV و GPV زیر گروه‌های کاملا اختصاصی تعریف کردند (۱۵).

تحقیقات لکوف و همکاران مشابه مطالعه حاضر روی ژن CKR ۵۸ جدایه CaPV آسیا و آفریقا به استثناء جدایه‌های ایران انجام داده‌اند. آن‌ها در مطالعات خود استفاده از ژن CKR برای تفریق سه ویروس آبله

گرفت که جدایه‌های آبله بز شمال شرقی و جنوب شرقی ایران با جدایه‌های آبله بز هند (آسیای جنوبی) و جدایه‌های آبله بز عمان (خاورمیانه) بسیار مشابه می‌باشد. شایان ذکر است در طی این مطالعه نمونه آبله بز مثبتی از سایر مناطق کشور در دست نبوده است.

تولمن و همکاران (۲۰۰۲) با مقایسه توالی‌های کامل ژنوم CaPV نشان دادند که این ویروس‌ها می‌توانند به سه دسته مجزا تقسیم شوند. اگرچه ویروس‌های آبله گوسفندی و آبله بز، ویروس‌های مجزایی هستند ولی در برخی از مناطق عمدتاً جدایه‌های هر دو در طبیعت می‌توانند گوسفندها و بزها را با درجات متفاوت بیماری‌زایی یا به طور یکسان مبتلا کنند (۷، ۹، ۱۸) برخی از مطالعات فیلوژنتیک انجام شده روی قطعات مختلف ژنوم این ویروس‌ها این فرضیه را مطرح می‌سازد که آبله بز و لامپی اسکین از یک جد مشترک بوجود آمده‌اند و لذا قرابت آن‌ها به هم بیشتر است تا قرابتی که بین آبله گوسفند و آبله بز وجود دارد. مع‌هذا فرضیه دیگری مغایر با فرضیه بالا مدعی است که ویروس‌های آبله نشخوارکنندگان کوچک ممکن است دارای یک جد مشترک چون لامپی اسکین باشند. براساس این فرضیه آبله گوسفند و بز ممکن است



شکل ۸- درخت فیلوژنتیک جدایه‌های آبله بزی، گوسفندی و LSDV ایران به همراه برخی از جدایه‌های کاپری پاکس موجود در بانک ژن براساس توالی اسید نوکلئیک ژن CKR

بورکینافاسو، علی رغم نداشتن این شکاف نوکلئوتیدی با زیرگروه اول دارای قرابت نوکلئوتیدی ۹۸-۹۷٪ می‌باشد. تاو ژو و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که جدایه‌های آبله بزی و گوسفندی چین در سال ۲۰۱۱ بسیار مشابه یکدیگر بوده و در گروه SPV قرار می‌گیرند ولی جدایه GTPV HuB در گروه GPV و در کنار دیگر جدایه‌های جنوب آسیا قرار گرفته است (۲۳). جدایه‌های LSD ایران با جدایه‌های آفریقا، صربستان (اروپای شرقی) و مصر مشابه بوده و برخلاف اولین سویه‌های جدایشده از آفریقای جنوبی دارای یک شکاف ۱۲ bp در ناحیه ابتدای ژن *CKR* می‌باشد. توپلاک و همکاران (۲۰۱۷) نیز با نشان دادن تشابه نوکلئوتیدی ۹۹٫۹۵٪ سویه LSD جدا شده از صربستان و بالکان با سویه Neethling LW آفریقای جنوبی، پیشروی LSD به کشورهای اروپای غربی در سال‌های آینده را محتمل دانستند (۲۴).

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق بر پایه آنالیز توالی ژن *CKR* کاپری پاکس ویروس، تفریق ژنی جدایه‌های بومی آبله گوسفندی، آبله بزی و لمپی اسکین ایران به خوبی توصیف گردید. یافته‌های این تحقیق نشان داد که بین جدایه‌های آبله بزی تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای وجود دارد از جمله این‌که

گوسفندی، آبله بزی و لامپی اسکین را بسیار کارآمد توصیف کردند (۱۵). آن‌ها CaPV ها را براساس پروفایل‌های منحصر به فرد ژن *CKR* در سه رده GPV، SPV و LSDV و هر یک از رده‌های LSDV و GPV را نیز در دو زیر گروه طبقه‌بندی نمودند (۱۵).

تحقیق مشابه دیگری توسط دکتر ورشوی (۱۳۸۸) و همکاران در آزمایشگاه رفرانس آبله موسسه رازی در مقیاس محدودتر و تنها بین آبله بزی و آبله گوسفندی ایران صورت گرفته است که نتایج آن مشابه تحقیقات Le Goff با نتایج این تحقیق در مورد آبله بزی و گوسفندی ایران همخوانی دارد (۲۲).

براساس آنالیز فیلوژنتیک و نتایج مقایسه‌ای MSA انجام گرفته در این تحقیق، زیر گروه اول آبله بزی به دو دسته تقسیم می‌شوند. دسته اول شامل جدایه‌های آبله بزی ایران و آسیای جنوبی و خاورمیانه نظیر هند و عمان می‌باشد. در ناحیه ابتدای توالی ژن *CKR* این دسته مانند جدایه‌های آبله گوسفندی ایران و سایر جدایه‌های آبله گوسفندی دنیا یک شکاف بیست و یک نوکلئوتیدی وجود دارد. دسته دوم جدایه‌های آبله بزی آسیای میانه و غرب آسیا، نظیر سویه‌های عراق، LKV-G20 و Pellor، فاقد این شکاف نوکلئوتیدی هستند. این دو دسته با وجود این تفاوت به علت قرابت نوکلئوتیدی بیش از ۹۹٪ در یک زیر گروه جای گرفته‌اند. در حالیکه زیر گروه دوم آبله بزی شامل جدایه‌های یمن و

جدول ۳. درصد همانندسازی جدایه‌های SPV ایران با ویروس های SPV موجود در بانک ژن

Accession	Description	Country	Query coverage	E Value	Max ident
FJ۸۶۹۳۸۹،۱	GPCR) gene), Van ^۲ ۹۸/Sheeppox virus Turkey	Turkey	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
AY۰۷۷۸۳۴،۱	Sheeppox virus NISKHL, complete genome	Kazakhstan	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
AY۰۷۷۸۳۳،۱	Sheeppox virus A, complete genome	Kazakhstan	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
KF۴۹۵۲۵۰،۱	Sheeppox virus isolate Maharashtra	India	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
FJ۸۶۹۳۴۷،۱	GPCR) gene), ۱ ^۸ ۲۰۱/Sheeppox virus Tunisia	Tunisia	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
AY۰۷۷۸۳۲،۱	complete genome, Sheeppox virus strain TU-V۰۲۱۲۷	Turkey	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
KF۶۶۱۹۷۹،۱	Sheeppox virus strain GanSuGT/China,(GPCR) gene	China	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
FJ۸۶۹۳۸۶،۱	Illizi isolate,(GPCR) gene ۰۵/Sheeppox virus Algeria	Algeria	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
FJ۸۶۹۳۸۰،۱	isolate,(GPCR) ۸۸/Sheeppox virus Senegal Sangalcam gene	Senegal	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
FJ۸۶۹۳۷۸،۱	Sheeppox virus Morocco vaccine strain,(GPCR) gene	Morocco	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
FJ۸۶۹۳۸۷،۱	GPCR) gene), ۷۷/Sheeppox virus Nigeria	Nigeria	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
FJ۸۶۹۳۸۳،۱	Darica isolate,(GPCR) gene ۹۸/Sheeppox virus Turkey	Turkey	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۹
KR۰۲۴۷۴۳،۱	Aksehir,(GPCR) gene-۲۰۱۵/Sheeppox virus isolate partial cds	Turkey	٪۹۱	۰،۰	٪۹۹
FJ۸۶۹۳۹۰،۱		Oman	٪۱۰۰	۰،۰	٪۹۵

جدول ۴. درصد همبندی جدایه‌های GPV ایران با ویروس های GPV موجود در بانک ژن

Accession	Description	Country	Query coverage	E Value	Max ident
KC۹۵۱۸۵۴,۱	Goatpox virus FZ, complete genome	China	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
KF۴۹۵۲۴۵,۱	Goatpox virus isolate Mukteswar, (GPCR) gene	India	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
KF۴۹۵۲۴۳,۱	Goatpox virus isolate Sambalpur, (GPCR) gene	India	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
FJ۸۶۹۳۵۸,۱	Goatpox virus India/83 isolate, (GPCR) gene	India	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
KF۴۹۵۲۴۹,۱	Goatpox virus isolate Jammu Kashmir, (GPCR) gene	India	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
JQ۳۱۰۶۷۲,۱	Goatpox virus strain/HuB/2009/China, (GPCR) gene	China	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
FJ۸۶۹۳۵۶,۱	Goatpox virus Turkey/98 Denizli, (GPCR) gene	Turkey	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
KX۵۷۶۶۵۷,۱	Goatpox virus strain Gorgan, complete genome	Iran	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
AY۰۷۷۸۳۶,۱	Goatpox virus G20-LKV, complete genome	Kazakhstan	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
AY۰۷۷۸۳۵,۱	Goatpox virus Pellor, complete genome	Kazakhstan	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
FJ۸۶۹۳۵۳,۱	Goatpox virus Burkina Benogo 3A isolate,(GPCR)gene	Burkina Faso	%۱۰۰	۰,۰	%۹۹
FJ۸۶۹۳۵۷,۱	Goatpox virus Iraq/61 Gorgan,(GPCR) gene	Iraq	%۱۰۰	۰,۰	%۹۸
FJ۸۶۹۳۶۲,۱	Goatpox virus Yemen/83 isolate,(GPCR) gene	Yemen	%۱۰۰	۰,۰	%۹۸
KP۶۶۳۷۰۵,۱	Goatpox virus isolate Metekel,(GPCR) gene	Ethiopia	%۱۰۰	۰,۰	%۹۸

tance of sheep and goat pox: a review on past and current aspects. *J Vet Sci Technol*, 2017. 8(2): p. 1-5.

5- Carn, V., Control of capripoxvirus infections. *Vaccine*, 1993. 11(13): p. 1275-1279.

6- Perrin, A., et al., Recombinant capripoxviruses expressing proteins of bluetongue virus: evaluation of immune responses and protection in small ruminants. *Vaccine*, 2007. 25(37-38): p. 6774-6783.

7- Kitching, R., P. Bhat, and D. Black, The characterization of African strains of capripoxvirus. *Epidemiology & Infection*, 1989. 102(2): p. 335-343-

8- Babiuk, S., et al., Quantification of lumpy skin disease virus following experimental infection in cattle. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2008. 55(7): p. 299-307.

9- Black, D., J. Hammond, and R. Kitching, Genomic relationship between capripoxviruses. *Virus Research*, 1986. 5(2-3): p. 277-292.

10- Tuppurainen, E., et al., Capripoxvirus diseases: current status and opportunities for control. *Transboundary and emerging diseases*, 2017. 64(3): p. 729-745.

11- Mahmoud, M. and M. Khafagi, Detection, identification, and differentiation of sheep pox virus and goat pox virus from clinical

جدایه‌های آبله بزی ایران بسیار مشابه جدایه‌های کشورهای هند، چین و خاورمیانه می‌باشد. در حالی که بین جدایه‌های آبله گوسفندی ایران و سایر کشورها و بین جدایه‌های لمپی اسکین ایران و سایر کشورها تنوع ژنتیکی وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از مدیریت و کارکنان بخش واکسن‌های ویروسی دام و آزمایشگاه رفرانس آبله دامی موسسه رازی بابت همکاری‌های بی دریغ جهت انجام این پژوهش صمیمانه تشکر نمایند.

منابع مورد استفاده

1- Diallo, A. and G.J. Viljoen, Genus capripoxvirus, in Poxviruses. 2007, Springer. p. 167-181.

2-Bhanuprakash, V., et al., An epidemiological study of sheep pox infection in Karnataka State, India. *Revue scientifique et technique-Office international des épizooties*, 2005. 24(3): p. 909.

3-3Davies, F.G., Lumpy skin disease, an African capripox virus disease of cattle. *British Veterinary Journal*, 1991. 147(6): p. 489-503.

4-Yune, N. and N. Abdela, Epidemiology and economic impor-

جدول ۵. درصد همانندی جدایه‌های LSD ایران با ویروس های LSD موجود در بانک ژن

Accession	Description	Country	Query Coverage	E Value	Max ident
KY702007.1	Lumpy skin disease virus isolate SERBIA, complete genome	Serbia	%۱۰۰	۰.	%۱۰۰
AF409137.1	Lumpy skin disease virus NW-LW, complete genome	Africa	%۱۰۰	۰.	%۱۰۰
KX683219.1	complete genome ,۰۲۴۰ Lumpy skin disease virus strain KSGP	Kenya	%۱۰۰	۰.	%۹۹
AF325528.1	complete genome ,۲۴۹۰-Lumpy skin disease virus NI	Africa	%۱۰۰	۰.	%۹۹
KP071936.1	Lumpy skin disease virus isolate Egy, (GPCR) gene	Egypt	%۱۰۰	۰.	%۹۹
AF409138.1	Lumpy skin disease virus Neethling LSD Vaccine, complete genome	Africa	%۱۰۰	۰.	%۹۷
KR024771.1	Lumpy skin disease virus LSDV TURKEY, (GPCR) gene partial cds	Turkey	%۹۱	۰.	%۹۹

the capripoxvirus thymidine kinase gene reveals a gene shared specifically with leporipoxvirus. *Journal of general virology*, 1989. 70(3): p. 525-533.

19- Tulman, E., et al., The genomes of sheeppox and goatpox viruses. *Journal of virology*, 2002. 76(12): p. 6054-6061.

20- Hosamani, M., et al., Differentiation of sheep pox and goat pox viruses by sequence analysis and PCR-RFLP of P32 gene. *Virus genes*, 2004. 29(1): p. 73-80.

21- Stram, Y., et al., The use of lumpy skin disease virus genome termini for detection and phylogenetic analysis. *Journal of virological methods*, 2008. 151(2): p. 225-229.

22- Varshovi, H.R., et al., Molecular characterizations of Iranian sheeppox and goatpox viruses by sequence analysis of chemokine receptor homologue gene. 2009.

23- Zhou, T., et al., Phylogenetic analysis of Chinese sheeppox and goatpox virus isolates. *Virology journal*, 2012. 9(1): p. 25.

24- Toplak, I., et al., Complete genome sequence of lumpy skin disease virus isolate Serbia/Bujanovac/2016, Detected during an Outbreak in the Balkan Area. *Genome announcements*, 2017. 5(35): p. e00882-17.

cases in Giza Governorate, Egypt. *Veterinary world*, 2016. 9(12): p. 1445.

12- Babiuk, S., et al., Yemen and Vietnam capripoxviruses demonstrate a distinct host preference for goats compared with sheep. *Journal of General Virology*, 2009. 90(1): p. 105-114.

13- Kitching, R. and W. Taylor, Clinical and antigenic relationship between isolates of sheep and goat pox viruses. *Tropical animal health and production*, 1985. 17 : (2) p. 64-74.

14- Shakya, S., V. Rao, and R. Chandra, Characterization of capripox virus isolated from field outbreak in goats. *Indian veterinary journal*, 2004. 81(3): p. 241-244.

15- Le Goff, C., et al., Capripoxvirus G-protein-coupled chemokine receptor: a host-range gene suitable for virus animal origin discrimination. *Journal of general virology*, 2009. 90(8): p. 1967-1977.

16- Cabrera-Vera, T.M., et al., Insights into G protein structure, function, and regulation. *Endocrine reviews*, 2003. 24(6): p. 76.781-5

17- Afonso, C., et al., Genome of deerpox virus. *Journal of virology*, 2005. 79(2): p. 966-977.

18- Gershon, P.D. and D.N. Black, The nucleotide sequence around



جدول ۶. درصد قرابت ژن CKR بین جدایه‌های ابله گوسفند، بز و لامپی اسکین ایران و ویروس‌های انتخابی از بانک ژن

	GPV G20- LKV	GPV Pellor,	GPV Iraq	GPV Yemen	GPV India	GPV Oman	GPV Burkina Benogo	SPV TU- 02127	SPV Nigeria	SPV Turkey	SPV India	LSD NW- LW
GPV G20-LKV	ID	100	99.9	97.9	99	99.4	98	95.7	95.4	95.5	95.4	96.5
GPV Pellor,	100	ID	99.9	97.9	99.5	99.4	98	95.7	95.4	95.5	95.4	96.5
GPV Iraq	99.9	99.9	ID	97.8	99.4	99.3	97.9	95.5	95.3	95.4	95.4	96.9
GPV Yemen	97.9	97.9	97.8	ID	97.6	97.6	99.6	95.7	95.7	95.6	95.6	96.8
GPV India	99	99	99.4	97.6	ID	99.7	95.3	95.5	95.2	95.3	95.3	96.5
GPV Oman	99.4	99.4	99.3	97.6	99.7	ID	96.7	95.4	95.2	95.2	95.2	96.4
GPV Burkina Benogo	98	98	97.9	99.6	95.3	96.7	ID	95.5	95.5	95.5	99.5	96.9
SPV TU-02127	95.7	95.7	95.5	95.7	95.5	95.4	95.5	ID	99.7	99.8	99.8	96.7
SPV Nigeria	95.4	95.4	95.5	95.1	95.2	95.2	95.5	99.7	ID	99.5	99.5	96.8
SPV Turkey	95.5	95.5	95.4	95.6	95.3	95.2	95.5	99.8	99.5	ID	99.6	96.6
SPV India	95.4	95.4	95.4	95.6	95.3	95.2	95.5	99.8	99.5	99.6	ID	96.5
LSD NW-LW	96.5	96.5	96.8	96.8	96.5	96.4	96.9	96.7	96.8	96.6	96.5	ID
LSD SERBIA	96.5	96.5	96.8	96.8	96.5	96.4	96.9	96.7	96.8	96.6	96.5	100
LSD KSGP 0240	96.2	96.2	96.1	95.9	95.8	95.9	96.2	95.4	95.4	95.3	95.3	96
LSD NI-2490	96.2	96.2	96.1	95.9	95.8	95.9	96.2	95.4	95.4	95.3	95.3	96
LSD TURKEY/2014-27	96.3	96.3	95.9	96	96.1	96.9	95.9	95.4	95.4	96.6	95.4	95.3
Deerpox virus	48.3	48.3	48.3	48.2	48.6	48.7	48.4	48.6	48.4	48.5	48.6	48.5
GPV95	99.2	99.7	99.1	99.5	99.8	99.7	99.1	96.6	96.3	95.4	95.4	95.3
GPV688	99.1	99.1	99.3	99.2	99.9	99.8	99	95.6	95.3	95.4	95.4	95.4
GPV719	99.4	99.5	99.1	99.3	99.8	99.7	99	95.5	95.2	95.3	95.3	95.3
GPV788	99.5	99.6	99.3	99.2	99.9	99.8	99	95.6	95.3	95.4	95.4	95.4
SPV114	95.6	95.4	95.3	95.5	95.2	95.2	95.4	99.7	99.4	99.9	99.5	95.5
SPV115	95.3	95.6	95.4	95.6	95.4	95.3	95.5	99.9	99.6	99.7	99.7	95.6
SPV159	95.4	95.7	95.5	95.7	95.5	95.4	95.5	100	99.7	99.8	99.8	95.7
SPV160	95.3	95.5	95.4	95.6	95.3	95.2	95.4	99.8	99.5	100	99.6	95.6
SPV555	95.3	95.4	95.4	95.7	95.2	95.2	95.3	99.7	99.4	99.9	99.5	95.5
SPV636	95.4	95.7	95.5	95.7	95.5	95.4	95.4	100	99.7	99.8	99.8	95.7
SPV683	95.3	95.5	95.4	95.6	95.3	95.2	95.5	99.8	99.5	100	99.6	95.6
SPV708	95.3	95.5	95.4	95.6	95.3	95.2	95.4	99.8	99.5	100	99.6	95.6
SPV721	95.3	95.5	95.4	95.6	95.3	95.2	95.3	99.8	99.5	100	99.6	95.6
SPV733	95.3	95.4	95.4	95.6	95.2	95.2	95.3	99.7	99.4	99.9	99.5	95.5
LSD334	96.4	96.4	96.6	96.4	96.5	96.4	96.9	96.7	96.8	96.6	96.5	100
LSD338	96.4	96.4	96.6	96.4	96.5	96.4	96.9	96.7	96.8	96.6	96.5	100

LSD SERBIA	LSD KSGP 0240	LSD NI- 2490	LSD TURKEY/2014- 27	Deerpox virus	GPV 95	GPV 688	GPV 719	GPV 788	SPV 114	SPV 115	SPV 159	SPV 160	SPV 555	SPV 636
96.5	96.2	96.2	96.3	48.3	99.2	99.1	99.4	99.5	95.2	95.3	95.4	95.3	95.3	95.4
96.5	96.2	96.2	96.3	48.8	99.7	99.1	99.4	99.5	95.2	95.3	95.4	95.3	95.3	95.4
96.9	96.1	96.1	95.9	48.3	99.1	99.3	99.3	99.3	95.3	95.4	95.5	95.4	95.4	95.5
96.8	95.9	95.9	96	48.2	99.5	99.2	99.2	99.2	95.5	95.6	95.7	95.6	95.7	95.7
96.5	95.8	95.8	96.1	48.6	99.8	99.9	99.8	99.9	95.2	95.4	95.5	95.3	95.2	95.5
96.4	95.9	95.9	96.9	48.7	99.7	99.8	99.7	99.8	95.2	95.3	95.4	95.2	95.2	95.4
96.9	96.2	96.2	95.9	48.4	99.1	99	99	99	96.4	96.5	96.5	96.5	96.5	96.5
96.7	95.4	95.4	95.4	48.6	95.6	95.6	95.5	95.6	99.7	99.9	100	99.8	99.7	100
96.8	95.4	95.4	95.4	48.4	95.3	95.3	95.2	95.3	99.4	99.6	99.7	99.5	99.4	99.7
96.6	95.3	95.3	96.6	48.5	95.4	95.4	95.3	95.4	99.9	99.7	99.8	100	99.9	99.8
96.5	95.3	95.3	95.4	48.6	95.4	95.4	95.3	95.4	99.5	99.7	99.8	99.6	99.5	99.8
100	96	96	95.3	48.5	95.3	95.4	95.3	95.4	95.5	95.6	95.7	95.6	95.5	95.7
ID	95.9	95.9	95.3	48.5	95.3	95.4	95.3	95.4	95.5	95.6	95.7	95.6	95.5	95.7
95.9	ID	100	95.3	48.8	95.8	95.8	95.8	95.8	95.2	95.3	95.4	95.3	95.4	95.4
95.9	100	ID	95.3	48.8	96.6	96.5	96.3	96.4	96.5	96.6	96.7	96.6	96.5	96.7
95.3	95.3	95.3	ID	48.3	95.3	96	95.3	96	95.6	95.4	95.4	95.6	95.5	95.4
48.5	48.8	48.8	48	ID	48.7	48.7	48.7	48.7	48.6	48.5	48.6	48.5	48.4	48.6
95.3	95.8	95.8	95.9	48.7	ID	99.9	99.8	99.9	95.3	95.5	95.6	95.4	95.3	95.6
95.4	95.8	95.8	96	48.7	99.9	ID	99.9	100	95.3	95.5	95.6	95.4	95.3	95.6
95.3	95.8	95.8	95.9	48.7	99.8	99.9	ID	99.9	95.2	95.4	95.5	95.3	95.2	95.5
95.4	95.8	95.8	96	48.7	99.9	100	99.9	ID	95.3	95.5	95.6	95.4	95.3	95.6
95.5	95.2	95.2	95.6	48.6	95.3	95.3	95.2	95.3	ID	99.6	99.7	99.9	99.8	99.7
95.6	95.3	95.3	95.4	48.5	95.5	95.5	95.4	95.5	99.6	ID	99.9	99.7	99.6	99.9
95.7	95.4	95.4	95.4	48.6	95.6	95.6	95.5	95.6	99.7	99.9	ID	99.8	99.7	100
95.6	95.3	95.3	95.6	48.5	95.4	95.4	95.3	95.4	99.9	99.7	99.8	ID	99.9	99.8
95.5	95.4	95.4	95.5	48.4	95.3	95.3	95.2	95.3	99.8	99.6	99.7	99.9	ID	99.7
95.7	95.4	95.4	95.4	48.6	95.6	95.6	95.5	95.6	99.7	99.9	100	99.8	99.7	ID
95.6	95.3	95.3	95.6	48.5	95.4	95.4	95.3	95.4	99.9	99.7	99.8	100	99.9	99.8
95.6	95.3	95.3	95.6	48.5	95.4	95.4	95.3	95.4	99.9	99.7	99.8	100	99.9	99.8
95.6	95.3	95.3	95.6	48.5	95.4	95.4	95.3	95.4	99.9	99.7	99.8	100	99.9	99.8
95.5	95.3	95.3	95.7	48.4	95.3	95.3	95.2	95.3	99.8	99.6	99.7	99.9	99.8	99.7
100	96	96	96.3	48.5	96.6	96.5	96.3	96.4	96.5	96.6	96.7	96.6	96.5	96.7
100	96	96	96.3	48.5	96.6	96.5	96.3	96.4	96.5	96.6	96.7	96.6	96.5	96.7

SPV 683	SPV 708	SPV 721	SPV 733	LSD 334	LSD 338
95.3	95.3	95.3	95.3	96.4	96.4
95.3	95.3	95.3	95.3	96.4	96.4
95.4	95.4	95.4	95.4	96.6	96.6
95.6	95.6	95.6	95.6	96.4	96.4
95.3	95.3	95.3	95.2	96.5	96.5
95.2	95.2	95.2	95.2	96.4	96.4
96.5	96.5	96.5	96.5	95.9	95.9
99.8	99.8	99.8	99.7	96.5	96.5
99.5	99.5	99.5	99.4	96.6	96.6
100	100	100	99.9	96.3	96.3
99.6	99.6	99.6	99.5	96.5	96.5
95.6	95.6	95.6	95.5	100	100
95.6	95.6	95.6	95.5	100	100
95.3	95.3	95.3	95.3	96	96
96.6	96.6	96.6	96.5	100	100
95.6	95.6	95.6	95.7	95.3	95.3
48.5	48.5	48.5	48.4	48.5	48.5
95.4	95.4	95.4	95.3	96.6	96.6
95.4	95.4	95.4	95.3	96.5	96.5
95.3	95.3	95.3	95.2	96.3	96.3
95.4	95.4	95.4	95.3	96.4	96.4
99.9	99.9	99.9	99.8	96.5	96.5
99.7	99.7	99.7	99.6	96.6	96.6
99.8	99.8	99.8	99.7	96.7	96.7
100	100	100	99.9	96.6	96.6
99.9	99.9	99.9	99.8	96.5	96.5
99.8	99.8	99.8	99.7	96.7	96.7
ID	100	100	99.9	96.6	96.6
100	ID	100	99.9	96.6	96.6
100	100	ID	99.9	96.6	96.6
99.9	99.9	99.9	ID	96.5	96.5
96.6	96.6	96.6	96.5	ID	100
96.6	96.6	96.6	96.5	100	ID