Review Article

Toxoplasma Gondii: A Review of Excretory Secretory Antigens

Ahmad Daryani1,3, Hamed Kalani2*, Mahdi Sharif1,3, Hajar Ziaei1,3, Shahabeddin Sarvi1,3, Ehsan Ahmadpour2[1]
[1] Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2]Student Research Committee, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3]Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
(Received January 4, 2013; Accepted February 20, 2013)

Abstract

Toxoplasma gondii is an obligatory intracellular protozoan that infects all warm-blooded vertebrates. Almost one-third of people throughout the world are infected by this parasite. Although toxoplasmosis is often lethal in HIV/AIDS patients, neoplastic disease, bone marrow or heart transplant recipients, it results in life-long protective immunity in healthy people. Hence, different antigens of *T. gondii* such as membrane, cytoplasmic and excreted-secreted antigens (ESA) can be potential candidates for immunization. Among these antigens, ESAs play an important role in induction of immune system responses. Dense granules, micronemes and rhoptries are secretory organelles in Apicomplexa protozoa. The contents of *T. gondii* are factors of recognition and attachment to cells, making parasitophorous vacuole (PV), and intracellular proliferation and survival, and pathogenesis. This article reviews different kinds of ESA released from these structures. It seems necessary to identify molecular aspects of ESA before diagnosis, treatment and immunization studies.

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(suppn-2): 220-232 (Persian).

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم ویژه نامه۲ اسفند سال ۱۳۹۱ (۲۳۲-۲۲۰)

توکسوپلاسما گوندیی: مروری بر آنتی ژن های دفعی- ترشحی

احمد دریانی[۱،۳] حامد کلانی[۲*] مهدی شریف[۱،۳] هاجر ضیایی[۱،۳] شهاب الدین سروی[۱،۳] احسان احمدپور[۲]

چکیده

توکسوپلاسما گوندیی یک تک یاخته درون سلولی اجباری است که همه مهره داران خونگرم را آلوده می کند. تقریبا ۱/۳ جمعیت دنیا آلوده به این انگل هستند. اگر چه توکسوپلاسموز غالبا درافراد مبتلا به HIV/AIDS، بیماری نئوپلازی، دریافت کنندگان پیوند مغز استخوان یا قلب کشنده است، در افراد سالم منجر به ایمنی محافظت کننده پایدار می شود. بنابراین آنتی ژن های مختلف توکسوپلاسما گوندیی نظیر آنتی ژن های غشایی، سیتوپلاسمی و دفعی ترشحی میتوانند کاندیدای بالقوه ایمونیزاسیون باشند. در بین این آنتی ژن ها، آنتی ژن های دفعی- ترشحی نقش مهمی در تحریک پاسخهای سیستم ایمنی دارند. گرانول های متراکم، میکرونم ها و راپتری ها اندامک های ترشحی در تک یاخته های گروه اپی کمپلکسها هستند. در توکسوپلاسما گوندیی، محتویات این اندامک ها عامل شناسایی و اتصال به سلولها، ایجاد حفره پارازیتوفورز و تکثیر و بقای داخل سلولی و بیماری زایی انگل می شود. این مقاله انواع آنتی ژن های دفعی- ترشحی حاصل ازاین ساختارها را مرور می کند. شناسایی جنبه های مولکولی آنتی ژن های دفعی- ترشحی قبل از بررسی های مختلف در زمینه های تشخیصی، درمانی و ایمونیزاسیون ضروری بنظر می رسد.

واژه های کلیدی: توکسوپلاسما گوندیی، آنتی ژن های دفعی- ترشحی، گرانول های متراکم، میکرونم ها، راپتری ها

مقدمه

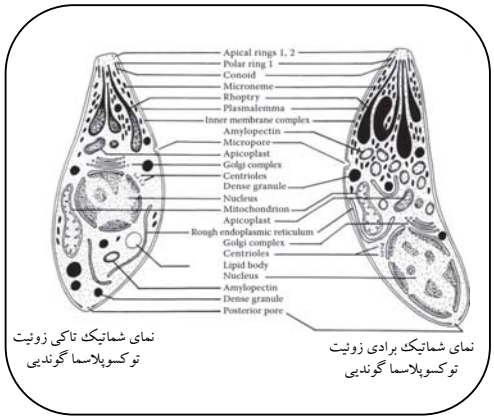
توکسوپلاسما گوندیی یک تک یاخته داخل سلولی اجباری است که طیف وسیعی از مهره داران را آلوده می کند. طبق مقالات منتشر شده اینگونه برآورد می شود که آلودگی به توکسوپلاسما در نقاط مختلف متغییر بوده و به طور تقریبی ۳۰ درصد از جمعیت دنیا به توکسوپلاسموزیس آلوده اند (۱، ۲). قدرت بیماری زایی این انگل به مقاومت میزبان، سوش های متفاوت انگل و البته تغییرات

مؤلف مسئول: حامد کلانی- دانشکده پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران Email: hamed.kalani@yahoo.com
۱. مرکز تحقیقات توکسوپلاسموزیس، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۱/۱۰/۱۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۱/۱۱/۲ تاریخ تصویب : ۱۳۹۱/۱۲/۲

آنتی ژنی[1] آن مربوط می شود (۳). از مهمترین آنتی ژن های توکسوپلاسما گوندیی، آنتی ژن های غشایی، سیتوپلاسمی و آنتی ژن های گردشی[2] می باشند که مورد اخیر ترکیبی از لیز انگل توسط سیستم ایمنی میزبان، ترشح فعال انگل، ریزش غشایی می باشد که ترشحات انگل یا آنتی ژن های دفعی-ترشحی ۹۰ درصد آنتی ژن های گردشی را تشکیل می دهند. ESA[3] و یا ESP[4] به آنتی ژن های دفعی– ترشحی گفته می شود که حاصل ترشحات سه ارگانل میکرونم، راپتری و گرانول های متراکم انگل می باشند (شکل ۱) (۱، ۲). این پروتئین ها در اتصال، نفوذ و حتی تکثیر انگل در سلول میزبان نقش دارند (۴). آنتی ژن های دفعی–ترشحی را می توان از مایع صفاق موش آلوده به توکسوپلاسما گوندیی (۵)، محیط کشت سلولی (۳)، محیط کشت غیر سلولی (۶، ۷) و ژن کلونینگ (۸). بدست آورد. از میان روش های نامبرده شده آنتی ژن های دفعی – ترشحی حاصل از محیط کشت غیر سلولی از خلوص بیشتری برخوردارند زیرا تنها شامل ترشحات انگل می باشند و باعث تحریک قوی سیستم ایمنی میزبان می شوند (۶).

همچنین دلایل قوی وجود دارد که آنتی ژن های دفعی – ترشحی در پاتوژنز، مصونیت و فرار انگل از سیستم ایمنی نقش دارند. از طرف دیگر این آنتی ژن ها شاخص فوق العاده مفیدی برای عفونت های حاد یا فعال می باشند (۲).

با توجه به اهمیت آنتی ژنهای دفعی– ترشحی به خصوص استفاده از آنها در ایمونیزاسیون بر علیه انگل توکسوپلاسما گوندی، در این مطالعه سعی شده است که اطلاعاتی در خصوص آنتی ژن های دفعی- ترشحی این تک یاخته و نحوه عملکرد آنها به تفکیک در سه گروه گرانول های متراکم، میکرونم ها و راپتری ها ارائه شود. لذا بدین منظور، مقالات مرتبط با این موضوع با استفاده از کلید واژه های Toxoplasma و Excretory Secretory Antigens در پایگاههای اطلاعاتی Pub med، Science direct و Scopus مورد بررسی قرار گرفت.



تصویر شماره ۱: نمای شماتیک تاکی زوئیت (چپ) و برادی زوئیت (راست) توکسوپلاسما گوندیی (رفرنس شماره ۱)

آنتی ژن های دفعی– ترشحی حاصل از ترشحات گرانول های متراکم، میکرونم ها و راپتری های انگل به شرح زیر می باشند:

۱- گرانول های متراکم[5]: ترشحات این ارگانل در طول تهاجم انگل به سلول میزبان و حتی بعد از استقرار انگل در حفره پارازیتوفروس (PV[6]) ترشح می شود. ترشحات گرانول های متراکم در حفره پارازیتوفروس و غشاء آن و نیز در تشکیل شبکه لوله ای وزیکولی (TVN[7]) نقش دارد. به نظر می رسد پروتئین های گرانول های متراکم، فضای درونی حفره پارازیتوفروس را برای بقاء و تکثیر انگل محیا می کنند. پروتئین های گرانول های متراکم شامل ۱۲ پروتئین می شود (GRA1-GRA14) که GRA11 و GRA13 در این بین نام گذاری نشده اند. این پروتئین ها در تاکی زوئیت توکسوپلاسما شناسایی شده اند (۹، ۱۰)(جدول ۱).

1- Antigen variability
2 . Circulating Antigens
3. Excretory-Secretory Antigens (ESA)
4. Excretory-Secretory Proteins (ESP)
5- Dense Granules
6 - Parasitophorous Vacuole (PV)
7 - Tubulo Vesicular Network (TVN)

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم ویژه نامه۲ اسفند سال ۱۳۹۱ (۲۳۲-۲۲۰)

- **GRA1**

GRA1 یک پلی پپتید ۲۴ کیلودالتونی موسوم به P24 است که از تاکی زوئیت و برادی زوئیت ترشح می شود. این پروتئین دارای ۱۷۵ اسید آمینه بوده که اپی توپ غالب آن که بیشترین پاسخ ایمنی را در میزبان ایجاد می کند مربوط به اسید های آمینه ۵۷-۱۴۹ می باشد. این پروتئین به درون حفره پارازیتوفروس ترشح شده و در تشکیل حفره پارازیتوفروس نقش دارد. GRA1 با خاصیت باند شدن با کلسیم در تهاجم انگل به سلول میزبان نقش دارد (۱۱).

- **GRA2**

این پروتئین ۲۸/۵ کیلو دالتون وزن داشته و یک آنتی ژن دفعی ترشحی است که در گرانول های متراکم به صورت ذخیره وجود دارد و بعد از تهاجم انگل به سلول میزبان، درون حفره پارازیتوفروس ترشح می شود. طول قطعه ژنومی این پروتئین حدود ۱/۰۳ کیلو باز (kb) است که دارای یک ناحیه انترون با ۲۴۱ جفت باز (bp) می باشد (۹). سرکوب ژن کد کننده GRA2باعث کاهش بیماریزایی توکسوپلاسما و نقص در تشکیل شبکه درون واکوئلی توسط انگل می شود (۱۳). لنفوسیت های T ($CD4^+$) که به این آنتی ژن پاسخ می دهند ایمنی دراز مدتی را بر علیه انگل ایجاد می کنند و سیر بیماری را به سمت مزمن شدن هدایت می کنند. ایمونیزاسیون غیر فعال با آنتی بادی منوکلونال ضد GRA2افزایش بقاء را در موش های چالنج شده با دوز کشنده تاکی زوئیت در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (۱۴).

- **GRA3**

یک پروتئین ۳۰ کیلودالتونی است که در گرانول های متراکم وجود دارد و به درون حفره حامل انگل ترشح می شود و در غشاء حفره پارازیتوفروس جایگزین و باعث گسترش و رشد حفره پارازیتوفروس درون سیتوپلاسم سلول میزبان می شود. این پروتئین توسط تاکی زوئیت ترشح می شود و برادی زوئیت قادر به سنتزآن نمی باشد. دو ناحیه بر روی ژنوم توکسوپلاسما وجود دارد که مسئول سنتز GRA3 بوده و از این لحاظ این پروتئین دارای پلی مورفیسم می باشد. انگل هایی که ژن کد کننده GRA3 آنها سرکوب شده است حتی با تزریق دوز کشنده، نمی توانند باعث مرگ موش ها شوند (۱۳). علاوه بر این، یک پروتئین سرتاسری موسوم به CAMLG[1] که در غشاء حفره پارازیتوفروس قرار دارد در پیام رسانی داخل سلولی با واسطه کلسیم نقش داشته و به همراه GRA3 (GRA3-CAMLG) غلظت کلسیم را در داخل سلول کنترل می کند و از ایجاد آپوپتوزیس در سلول جلوگیری می کند تا انگل ها در سلول میزبان برای مدت بیشتری بقاء داشته باشند (۴).

- **GRA4**

GRA4 توسط انگل در حفره پارازیتوفروس ترشح می شود. این مولکول یک پروتئین ۴۰ کیلودالتونی است که قویاً با IgA موجود در شیر و به طور ضعیف با IgA موجود در مخاط روده واکنش نشان می دهد. این پروتئین لنفوسیت های T مخاطی موش های نژاد BALB/c و CBA/J را تحریک می کند در حالیکه نمی تواند لنفوسیت های T مخاطی موش های نژاد C57BL/6 را تحریک کند و باعث تقسیم آنها شود. GRA4 باعث ایجاد پاسخ ایمنی مخاطی و عمومی به دنبال بلع کیست توکسوپلاسما گوندیی در موش ها می شود. اسید های آمینه ۲۹۷-۳۴۵ در ساختمان این پروتئین تحت عنوان پروتئین C نامیده می شوند که با IgA موجود در شیر و مخاط روده و IgG سرمی موش های آلوده به توکسوپلاسما گوندیی و نیز با IgG سرمی انسان و گوسفند واکنش نشان می دهد. اپی توپ اصلی موجود در ساختمان GRA4، اپی توپ B نام دارد که ۱۱ اسید آمینه از انتهای C پروتئین GRA4 را شامل

1. Calcium modulation ligand

مـی شـود. دومـین اپـی تـوپ کـه از اهمیـت کمتـری برخوردار است در دامنه بین اسید های آمینـه ۳۱۸- ۳۳۴ قرار دارد. GRA4 کاندیدی برای تولید واکسن بـر علیـه توکسوپلاسما گوندیی می باشد (۱۵).

- **GRA5**

GRA5 یک پروتئین ۲۱ کیلودالتونی است کـه بـه آن P21 نیز می گویندو در طول تهاجم انگـل بـه سـلول میزبان، درون حفره حامل انگل ترشح می شـود. ژن کـد کننده GRA5 با ۸۳۴ جفت باز فاقد نواحی انتـرون بـوده و ایـن پـروتئین دارای ۵ اپـی تـوپ مـی باشـد. ناحیـه N- انتهایی آن آبگریز و دارای ۲۵ اسید آمینه مـی باشـد که پیـام را بـه درون سـلول مخابره مـی کنـد (۱۶). ایـن پروتئین یا به صورت محلول و یا به صـورت یـک جسـم آبگریـز در غشـاء حفـره پـارازیتوفروس قـرار دارد، بـه طوریکـه قسـمت N انتهـایی آن در سیتوپلاسـم سـلول میزبـان و بخـش C انتهـایی آن در فضـای حفـره پـارازیتوفروس مـی باشـد. GRA5 همانـند GRA3 و GRA6 باعث تعدیل غلظت داخل سلولی کلسیم شده و از آپوپتوزیس سلول میزبان در جهت بقـای بیشـتر انگـل جلوگیری می کند (۱۷).

- **GRA6**

GRA6 یک مولکول ۳۲ کیلودالتونی است کـه بـه صورت محلول در گرانول هـای متـراکم تـاکی زوئیـت وجـود دارد و پـس از آزاد سـازی درون حفـره پارازیتوفروس، به سرعت در انتهای خلفی انگل قرار می گیرد و باعث تشکیل شبکه لوله ای وزیکولی در انتهـای خلفی انگل می شود و به وزیکول هایی با غشا چند لایـه متصل می شود کـه در شـکل گیـری اولیـه شـبکه درون واکوئلی نقش دارند. همچنین مطالعات نشـان مـی دهنـد که GRA6 همراه بـا GRA2 و GRA4 در ایجـاد شـبکه درون واکـوئلی دخالـت دارنـد (۱۸). ژن کـد کننـده GRA6 تعداد ۲۳۰ اسـید آمینـه را کـد مـی کنـد و فاقـد نواحی انترون می باشد (۱۹) و همچنـین دارای ۲۴ ناحیـه متغییر در بین ۶۹۰ جفت باز می باشـد کـه از ایـن جهـت دارای پلـی مورفیسـم بـوده و بـه ایـن دلیـل دارای تنـوع زیادی در توالی اسید های آمینه خود اسـت و از ایـن رو نقـش مهمـی در آنتـی ژنیسـیته و پاتوژنیسـیته انگـل توکسوپلاسما دارد (۲۰).

- **GRA7**

پس از تهاجم انگل به سلول میزبان، این پـروتئین بـه درون حفـره پـارازیتوفروس، غشـاء حفـره پارازیتوفروس و سیتوپلاسم سلول میزبان ترشح مـی شـود. GRA7 یـک پـروتئین ۲۹ کیلودالتـونی بـا خاصیت اسیدی است که به آن P29 نیز می گوینـد و تقریبـاً ۰/۵ درصـد از کـل پـروتئین هـای توکسوپلاسما گوندیی را شامل مـی شـود. ژن کـد کننده GRA7 از ۱/۳ کیلـو بـاز (kb) تشـکیل شـده و فاقد نواحی انترون می باشد. در سلول های آلوده بـه تاکی زوئیت، P29 در حفره پـارازیتوفروس و غشـاء آن ترشح می شود. در حالیکه در سلول های آلـوده به برادی زوئیت، این پروتئین در سیتوپلاسـم سـلول میزبان حضور دارد (۲۱).

- **GRA8**

GRA8 یک پلی پپتید ۳۸ کیلودالتونی اسـت کـه در طی تهاجم انگل و کمی پس از آن به درون حفره پـارازیتوفروس آزاد مـی شـود. تـوالی پلـی پپتیـدی GRA8 شامل ۲۶۷ اسـید آمینـه مـی باشـد. از ویژگـی های بارز این پروتئین این است که ۲۴ درصـد از وزن آن را اسید آمینه پرولین تشکیل می دهـد و اغلـب در ناحیه میانی پروتئین تجمع دارد (۲۲).

- **GRA9**

یـک پـروتئین ۴۱ کیلودالتـونی بـا تـوالی ۳۱۸ اسید آمینه مـی باشـد کـه همانـند GRA2، GRA4 و

GRA6 به شبکه لوله ای وزیکولی غشاء حفره پارازیتوفروس مربوط می شود. ژن کد کننده این پروتئین B10 نام دارد و ۱/۵ کیلو باز طول داشته و دارای یک ناحیه انترون می باشد. این پروتئین از انتهای قدامی انگل به درون واکوئل ترشح می شود و بخشی از آن که محلول است درون حفره پارازیتوفروس قرار گرفته و ناحیه نامحلول آن درون غشا حفره پارازیتوفروس قرار می گیرد (۲۳، ۲۴).

- **GRA10**

یک پروتئین مهم ۳۶ کیلودالتونی است که قبل از ورود انگل به سلول میزبان و همچنین در طی تهاجم انگل به سلول میزبان و کمی پس از آن به درون واکوئل پارازیتوفروس ترشح شده و در غشاء آن جایگزین می شود. این پروتئین ۳۶۴ اسید آمینه و ۲ ناحیه درون غشایی دارد که در بین آنها توالی ۳ اسید آمینه Arg-Gly-Asp وجود دارد (۲۵).

- **GRA12**

این پروتئین به محض شروع تهاجم انگل به سلول میزبان، از انتهای قدامی انگل به درون حفره پارازیتوفروس ترشح می شود و در انتهای خلفی انگل تجمع پیدا می کند و باعث شکل گیری شبکه لوله ای وزیکولی می شود. عملکرد این پروتئین شبیه GRA2 و GRA6 می باشد. در غیاب GRA2؛ GRA12 نمی تواند در انتهای خلفی انگل جایگزین شود. این پروتئین در فضای درون واکوئل پارازیتوفروس به صورت محلول و هم به شکل درون غشایی دیده می شود (۲۶).

- **GRA14**

پروتئینی ۴۷ کیلودالتونی به طول ۴۰۹ آمینواسید بوده که ژن کد کننده آن ۱۲۲۷ جفت باز داشته و در PVM[1] و نیز IVN[2] دیده می شود به طوریکه طی زندگی انگل درون PV این پروتئین بین PV های دیگر رفت و آمد می کند و این حالت در هیچ یک از ۱۱ پروتئین دیگر دیده نمی شود. این پروتئین توپولوژی خاصی دارد که در دیگر پروتئین ها دیده نمی شود به این صورت که C ترمینال آن در سیتوپلاسم سلول میزبان قرار گرفته و N ترمینال آن در PV قرار می گیرد. با توجه به الگوی خاص این پروتئین و طول زیاد آن و وفور آن در سیستم PVM-IVN دور از انتظار نیست که این پروتئین تحریک قوی ایمنی را القاء کند (۲۷).

۲- میکرونم‌ها: ترشحات این ارگانل جزء مولکول های چسبنده در سطح سلول می باشند که ترشحات آنها اولین قدم در اتصال و تهاجم انگل به سلول میزبان می باشد. به دنبال ترشحات میکرونم و اتصال انگل به سلول میزبان، ترشحات ارگانل دیگری به نام راپتری وارد عمل می شود که باعث کاهش ویسکوزیته غشاء سلول میزبان و تسهیل ورود انگل به درون سلول می شود (جدول ۱).

- **MIC1**

MIC1 پروتئینی با وزن مولکولی ۶۰ کیلودالتون و یک لکتین متصل شونده به بتا گالاکتوزید می باشد. این پروتئین دارای ۱ یا ۲ فراکشن بوده که می تواند به لاکتوز متصل شود. از این رو این پروتئین را " لکتین باند شونده به لاکتوز"[3] می نامند. این پروتئین در اتصال اولیه انگل به سلول میزبان نقش دارد (۲۸).

- **MIC2**

وزن مولکولی این پروتئین ۱۱۵ و یا ۱۲۰ کیلودالتون بوده و از لحاظ ساختاری، شبیه پروتئین TRAP در انگل پلاسمودیوم می باشد و در اتصال متحرک بین انگل و سلول میزبان نقش دارد و در حین

1. Parasitophorous Vacuole Membrane
2. Intravacoular network
3. Lactose-binding lectin

تهاجم و نفوذ انگل به سلول میزبان ترشح می شود و در ناحیه راسی انگل بر روی سطح غشاء به صورت یک کلاهکی تجمع پیدا می کند (۲۹).

- **MIC3**

MIC3 یک پروتئین ۹۰ کیلودالتونی و محلول بوده و در اتصال انگل به سلول میزبان نقش داشته و کمی پس از ترشح MIC1، از میکرونم ترشح می شود. این پروتئین دارای چندین دومین (ناحیه) شبیه فاکتور رشد اپیدرمی و یک ناحیه برای اتصال به کیتین (CBL[1]) در قسمت C انتهایی خود است. CBL در اتصال انگل به سلول میزبان نقش داشته و برای ویرولانس انگل ضرورت دارد (۳۰).

- **MIC4**

این پروتئین با وزن مولکولی ۶۱ کیلودالتون دارای ۶ دومین برای اتصال به سلول میزبان می باشد و در تمام اشکال عفونت زای توکسوپلاسما گوندیی مشاهده شده است. MIC4 درون میکرونم سنتز و ذخیره می شود و وزن مولکولی آن، زمانی که در میکرونم باشد، ۷۲ کیلودالتون است. بنابراین باند ۷۲ کیلودالتونی که در SDS-PAGE عصاره لیز شده توکسوپلاسما گوندیی (TLA[2]) دیده می شود MIC4 می باشد. به محض اینکه محتویات میکرونم به بیرون ترشح می شود، MIC4 از ناحیه N انتهایی توسط پروتئاز ها می شکند و به مولکولی با وزن ۷۰ کیلودالتون تبدیل می شود. سپس این پروتئین توسط پروتئازی به نام MPP2 به ۲ مولکول با وزن ۱۵ و ۵۰ کیلودالتون تبدیل می شود که جزء ۱۵ کیلودالتونی مسئول اتصال انگل به سلول میزبان می باشد. همچنین این پروتئین به صورت کمپلکس با MIC1 و MIC6 دیده می شود (۳۱).

- **MIC5**

MIC5 یک پروتئین با وزن مولکولی ۲۲ کیلودالتون می باشد. بررسی توالی DNA مربوط به MIC5 نشان داد که MIC5 همان آنتی ژن H4 می باشد که یک آنتی ژن غالب ایمنی است. همچنین MIC5 دارای یک توالی ویژه مربوط به خانواده پپتیدیل سیس ترانس ایزومراز (PPIases)[3] می باشد. به نظر می رسد که MIC5 باعث تاثیر بیشتر سایر پروتئین های میکرونم، بخصوص MIC2، در اتصال و تهاجم انگل توکسوپلاسما به سلول میزبان می شود (۳۲).

- **MIC6، MIC7، MIC8، MIC9**

این پروتئین ها جزء اعضاء خانواده پروتئین های انتقالی غشائی هستندکه در میکرونم انگل توکسوپلاسما گوندیی قرار دارند. این پروتئین ها دارای چندین دومین شبیه فاکتور رشد اپیدرمی و یک دم کوتاه داخل سیتوپلاسمی می باشند. این دم داخل سیتوپلاسمی پیام را به درون سلول مخابره می کند. MIC6 به عنوان یک محافظ برای عملکرد بهتر MIC1 و MIC4 عمل می کند. MIC8 نیز به عنوان محافظی برای عملکرد بهتر MIC3 عمل می کند. MIC6 (۳۴ کیلو دالتون) و MIC8 (۷۰ کیلو دالتون) به وفور از تاکی زوئیت های در حال تقسیم ترشح می شوند. در حالیکه MIC7 (۳۸ کیلو دالتون) و MIC9 (۳۳ کیلو دالتون) دائماً از برادی زوئیت ها ترشح می شوند (۳۳).

- **MIC10**

MIC10 یک پروتئین ۱۸ کیلودالتونی است که در حین تهاجم انگل ترشح می شود. توالی این پروتئین دارای ۵۸ اسید آمینه می باشد که از این میان تعداد اسید آمینه "دی-گلوتامیک اسید" بکار رفته در ساختمان آن بیش از سایر اسید های آمینه بوده و همچنین فاقد اسید آمینه سیستئین است. این پروتئین بیشتر از تاکی زوئیت ها و به مqزان کمتری از برادی زوئیت ها ترشح می شود (۳۴).

1. Chitin binding (CB)-like
2. Toxoplasma Lysate Antigen (TLA)
3 - Peptidyl–Prolyl cis–trans Isomerases (PPIases)

- **MIC11**

این پروتئین دارای وزن مولکولی ۱۶ کیلودالتون و ۲ زنجیره α (آلفا) و β (بتا) می باشد که با یک پیوند دی سولفیدی به هم متصلند. این پروتئین پس از سنتز، درون خود انگل، طی ۲ پروسه توسط آنزیم های پروتئولیتیک، از ناحیه "پرو" می شکند و سپس در حین تهاجم انگل به سلول میزبان، ترشح می شود (۳۵).

۳- راپتری ها: محتویات این ارگانل اغلب در حین تهاجم انگل به سلول میزبان به درون حفره پارازیتوفروس در حال رشد ترشح می شود و در فضای بین انگل و غشاء حفره پارازیتوفروس قرار می گیرد (جدول ۱).

- **ROP1**

این پروتئین دارای وزن مولکولی ۶۰/۵ و یا ۶۸ کیلودالتون می باشد. ROP1 به صورت یک پروتئین پیش ساز ترشح می شود و پس از ترشح ناحیه "پرو" و "پری" آن توسط آنزیم های پروتئولیتیک شکسته می شود و به صورت فعال تبدیل می شود. این پروتئین دست کم ۲ سیگنال به درون سلول مخابره می کند و از این طریق فعالیت خود را اعمال می کند (۳۶، ۳۷).

- **ROP2**

وزن مولکولی این پروتئین ۵۵ و یا ۶۶ کیلودالتون است. ROP2 عامل مهمی در بیماریزایی انگل توکسوپلاسما می باشد. به طوریکه کاهش در سنتز و ترشح این پروتئین باعث کم شدن ویرولانس انگل و حتی کاهش توان انگل در نفوذ به سلول میزبان می شود. ROP2 یک پروتئین کیناز می باشد که با ATP باند نمی شود. راپتری دارای دست کم ۱۲ پروتئین می باشد که جزء خانواده ROP2 محسوب می شوند که همگی پروتئین کیناز می باشند که ناحیه C انتهایی آنها با یکدیگر مشابه است. این پروتئین ها در انتقال پیام به داخل سلول نقش دارند (۳۷، ۳۸).

- **ROP3**

این پروتئین دارای وزن مولکولی ۵۹ و یا ۶۳ کیلو دالتون می باشد و در حین تهاجم انگل از راپتری ترشح می شود (۳۷).

- **ROP4**

این پروتئین دارای وزن مولکولی ۶۰ کیلودالتون و جزء خانواده ROP2 می باشد. این پروتئین در حین تهاجم انگل به سلول میزبان ترشح می شود. ROP4 پس از آزاد شدن در حفره پارازیتوفروس، وارد غشاء حفره پارازیتوفروس شده و از چندین نقطه فسفریله می شود. و به عنوان یک پروتئین کیناز عمل می کند. فسفریلاسیون ROP4 و اعضاء خانواده ROP2 نقش مهمی در تبادل مواد بین انگل و سلول میزبان، از طریق غشاء حفره پارازیتوفروس، ایفا می کند (۳۷، ۳۹).

- **ROP5**

این پروتئین نیز جزء دسته پروتئین های خانواده ROP2 و دارای وزن مولکولی ۶۰ کیلودالتون می باشد. این پروتئین در طول تهاجم انگل به سلول میزبان ترشح می شود و در غشاء حفره پارازیتوفروس جایگزین می شود. ناحیه C انتهایی این مولکول به سمت سیتوپلاسم سلول میزبان قرار می گیرد و آبگریز می باشد. ROP5 در تعامل مستقیم با ROP2 و ROP4 می باشد (۳۷، ۴۰).

- **ROP6**

یک پروتئین با وزن مولکولی ۴۲ کیلودالتون می باشد که فعالیت پروتئازی دارد و در حین تهاجم ترشح و با سلول میزبان باند می شود. این پروتئین دارای ۴۸۰ اسید آمینه می باشد و با قسمت N انتهایی و هم C انتهایی خود در غشاء راپتری جای می گیرد (۴۱).

- **ROP7**

این پروتئین دارای وزن مولکولی ۵۷ کیلودالتون و طی تهاجم انگل به سلول میزبان در حفره پارازیتوفروس ترشح می شود و جزء خانواده ROP2 می باشد (۳۷، ۴۲).

- **ROP8**

ترشح وارد میتوکندری سلول میزبان و نیز غشاء حفره پارازیتوفروس می شود (۳۷، ۴۳).

- **ROP9**

عملکرد این پروتئین هنوز به خوبی مشخص نشده است. این پروتئین به P36 معروف است و در تمام مراحل انگل، بجز برادی زوئیت، ترشح می شود (۴۳).

- **ROP16**

یک پروتئین کیناز بسیار متغییر (Hypervariable) می باشد و در سویه های خاص این انگل باعث تشدید ویرولانس می شود. این پروتئین از طریق القاء مسیر STAT6 برخی فاکتور های نسخه برداری در سلول میزبان را فعال می کند که نتیجه آن فعال سازی ژن کد کننده مجموعه ای از سیتوکین ها نظیر اینتر لوکین ۴ (IL-4) و اینترلوکین ۱۳(IL-13) می باشد که پاسخ پاسخ ایمنی را به سمت هومورال سوق داده و انگل

این پروتئین جزء خانواده ROP2 و دارای وزن مولکولی ۵۲ کیلودالتون می باشد. این پروتئین پس از درون سلول تا حدی از دسترس سیستم ایمنی محفوظ می ماند (۴۴).

- **ROP18**

این پروتئین جزء خانواده ROP2 و بنابراین یک پروتئین کیناز می باشد. این پروتئین در راپتری به صورت ذخیره ایمنی را به سمت هومورال سوق داده و انگل درون سلول تا حدی از دسترس سیستم ایمنی محفوظ می ماند (۴۴).

وجود دارد و هنگام تهاجم انگل به سلول میزبان، درون حفره پارازیتوفروس ترشح می شود. فعالیت پروتئین کینازی این پروتئین به اسید های آمینه شماره ۲۴۳ تا ۵۳۹ آن مربوط می شود. از جمله فعالیت های این پروتئین، افزایش قدرت تکثیر انگل در سلول می باشد که به فعالیت پروتئین کینازی آن مربوط می شود. همچنین این پروتئین در ویرولانس انگل نقش دارد (۴۵).

جدول شماره ۱: وزن مولکولی و ویژگی های مهم بعضی از آنتی ژن های دفعی- ترشحی

آنتی ژن‌های دفعی-ترشحی	وزن مولکولی (KDa)	ویژه‌گی (های) مهم
GRA1	24	با خاصیت باند شدن با کلسیم در تهاجم انگل به سلول میزبان نقش دارد.
GRA2	28.	سرکوب ژن کد کننده GRA2 باعث کاهش بیماریزایی توکسوپلاسما و نقص در تشکیل شبکه درون واکوئلی توسط انگل می شود.
GRA3	30	GRA3 (GRA3-CAMLG) غلظت کلسیم را در داخل سلول کنترل می کند و از ایجاد آپوپتوزیس در سلول جلوگیری می کند تا انگل ها در سلول میزبان برای مدت بیشتری بقاء داشته باشند.
GRA4	40	کاندیدی برای تولید واکسن بر علیه توکسوپلاسما گوندیی می باشد.
GRA5	20	نام دیگر آن P21 می باشد و باعث تعدیل غلظت داخل سلولی کلسیم شده و از آپوپتوزیس سلول میزبان در جهت بقای بیشتر انگل جلوگیری می کند.
GRA6	32	نقش مهمی در آنتی ژنیسیته و پاتوژنیسیته انگل توکسوپلاسما دارد.
GRA7	29	نام دیگر آن P29 می باشد و در سلول های آلوده به تاکی زوئیت، در حفره پارازیتوفروس و غشاء آن ترشح می شود.
GRA8	38	در طی تهاجم انگل و کمی پس از آن به درون حفره پارازیتوفروس آزاد می شود.
GRA9	41	ژن کد کننده این پروتئین B10 نام دارد و از انتهای قدامی انگل به درون واکوئل ترشح می شود.
GRA10	36	قبل از ورود انگل به سلول میزبان و همچنین در طی تهاجم انگل به سلول میزبان و کمی پس از آن به درون واکوئل پارازیتوفروس ترشح می شود.
GRA12	49	باعث شکل گیری شبکه لوله ای وزیکولی می شود.
GRA14	47	دارای توپولوژی خاصی است که در دیگر پروتئین ها دیده نمی شود به طوری که C ترمینال آن در سیتوپلاسم سلول میزبان قرار گرفته و N ترمینال آن در PV قرار می گیرد و لذا باعث القاء تحریک سیستم ایمنی می شود.
MIC1	60	به آن لکتین باند شونده به لاکتوز نیز می گویند و در اتصال اولیه انگل به سلول میزبان نقش دارد.
MIC2	115-120	در اتصال متحرک بین انگل و سلول میزبان نقش دارد.
MIC3	90	برای ویرولانس انگل ضرورت دارد.
MIC4	61	درون میکرونم سنتز و ذخیره می شود.
MIC5	22	همان آنتی ژن H4 می باشد که یک آنتی ژن غالب ایمنی است.
MIC10	18	در حین تهاجم انگل ترشح می شود (بیشتر از تاکی زوئیت ها ترشح می شود).
MIC11	16	در حین تهاجم انگل به سلول میزبان، ترشح می شود.
ROP1	60.5 – 68	به صورت یک پروتئین پیش ساز ترشح می شود.
ROP2	55-66	کاهش در سنتز و ترشح این پروتئین باعث کم شدن ویرولانس انگل و حتی کاهش توان انگل در نفوذ به سلول میزبان می شود ی شود.
ROP4	60	به عنوان یک پروتئین کیناز عمل می کند.
ROP5	60	در طول تهاجم انگل به سلول میزبان ترشح می شود و در غشاء حفره پارازیتوفروس جایگزین می شود.
ROP6	42	فعالیت پروتئازی دارد.
ROP8	52	پس از ترشح وارد میتوکندری سلول میزبان و نیز غشاء حفره پارازیتوفروس می شود.
ROP16	79	یک پروتئین کیناز بسیار متغیر می باشد و در برخی سویه ها این انگل باعث تشدید ویرولانس می شود.
ROP18	70	باعث افزایش قدرت تکثیر و ویرولانس انگل در سلول میزبان می شود.

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم ویژه نامه۲ اسفند سال ۱۳۹۱ (۲۳۲-۲۲۰)

نتیجه گیری نهایی

ژنوم انگل توکسوپلاسما گوندیی دارای بیش از ۸۰۰۰ ژن کد کننده پروتئین بوده (۴۶) که برخی از این پروتئین ها در سوش های مختلف و حتی مراحل گوناگون چرخه تکاملی انگل ممکن است متفاوت باشند. طی مطالعاتی که بر روی آنتی ژن های مختلف توکسوپلاسما صورت گرفته است، نقش آنتی ژن های دفعی-ترشحی در ایجاد پاسخ های ایمنی قوی در میزبان به اثبات رسیده است. با این وجود، بررسی بقای موش ها در چالنج[1] با سوش های مختلف توکسوپلاسما گوندیی، بخصوص سوش RH، نشان داد که موش های ایمن شده با آنتی ژن های دفعی-ترشحی نسبت به گروه شاهد، پس از گذشت زمان کوتاهی می میرند. این مطلب بیان کننده این است که احتمالاً انگل با ریزش آنتی ژن های خود[1] (آنتی ژن های دفعی-ترشحی) سیستم ایمنی را به بیراهه می کشاند و باعث هرز رفتن سیستم ایمنی می شود به طوریکه آنتی بادی هایی که بر علیه آنتی ژن های آزاد ترشح می شوند تاثیر کمی بر روی اجسام انگلی داخل سلولی دارند و از طرفی این آنتی ژن ها همانطور که قبلاً بیان گردید در اتصال (با نقش موثر پروتئین های میکرونم)، نفوذ (با نقش بیشتر پروتئین های راپتری) و تکثیر و بقای انگل (توسط ROP18 و پروتئین های گرانول های متراکم) در سلول میزبان نقش مهمی دارند که رفته رفته بر تعداد آنها افزوده شده و موارد جدیدی از آنها شناسایی می شوند (۴۷و ۴۸). در بررسی های مختلف بر حسب مدل موشی تحت آزمایش، ادجوانت مورد استفاده، نحوه تجویز آنتی ژن، دوز تزریقی آنتی ژن، شیوه تهیه آنتی ژن دفعی- ترشحی (از محیط کشت سلولی، غیر سلولی و یا صفاق موش)، استفاده و یا عدم استفاده از FBS (سرم جنینی گاو) درمحیط کشت انگل، نتایج مختلف و بعضا متضادی گزارش شده است. مشاهدات انجام شده بر روی پاسخ ایمنی در برابر آنتی ژن های دفعی-ترشحی و محافظت ناشی از آن در برابر عفونت مجدد، در عفونت های انسانی و مدل حیوانی ممکن است سبب توسعه استراتژی های جدید برای ایمونیزاسیون فعال در برابر توکسوپلاسما گوندیی شود. هر چند با وجود تنوع آنتی ژنی در توکسوپلاسما گوندیی (۳) تولید یک واکسن موثر و کار آمد، چندان آسان به نظر نمی رسد. اما به هر حال با در نظر گرفتن اینکه حدود ۳۰ درصد از افراد دنیا به این انگل آلوده اند (۱) و نیز شیوع روز افزون بیماری های خود ایمن و $HIV^+/AIDS$، تولید یک واکسن محافظت کننده خصوصاً در این بیماران ضروری به نظر می رسد.

References

1. Dubey J. P. Toxoplasmosis of Animals and Humans. Second ed. USA: CRC Press; 2009.
2. Daryanii A. TOXOPLASMA GONDII. 1rd ed. Ardabil: Yavarian; 2004.
3. Costa-silva TA, Meira CS, Ferreira IM, Hiramoto RM, Pereira-chioccola VL. Evaluation of immunization with tachyzoite excreted-secreted proteins in a novel susceptible mouse model (A/Sn) for Toxoplasma gondii. Exp parasitol 2008; 120(3): 223-227.
4. Nam HW.. GRA Proteins of Toxoplasma gondii: Maintenance of Host-Parasite Interactions across the Parasitophorous

Vacuolar Membrane. Korean J Parasitol 2009; 47 sup:s29-37.

5. Daryani A, Zavaran Hosseini A, Sharif M, Dalimi AA, Dehghan MH, Ziaei H. Protective role of antigens from peritoneal exudates of infected mice against toxoplasmosis. IJI 2006; 3(2): 78-85.
6. Daryani A, Hosseini AZ, Dalimi A. Immune responses against excreted/secreted antigens of Toxoplasma gondii tachyzoites in the murine model. Vet Parasitol 2003; 113(2):123-134.
7. Daryani A, Hosseini AZ, Dalimi A. Survey of cell immunity response and survival rate of BALB/c mice against Toxoplasma gondii after immunization with excretory secretory antigens from tachyzoite. Kowsar Med J 2000; 5(4): 281-8.
8. Babaie J, Zare M, Sadeghiani G, Lorgard-Dezfuli M, Aghighi Z, Golkar M. Bacterial production of dense granule antigen GRA8 of Toxoplasma gondii. Iran Biomed J 2009 13(3):145-151.
9. Mercier C, Adjogble KD, Däubener W, Delauw MF. Dense granules: are they key organelles to help understand the parasitophorous vacuole of all apicomplexa parasites? Int J Parasitol 2005; 35(8): 829-849.
10. Michelin A, Bittame A, Bordat Y, Travier L, Mercier C, Dubremetz JF, Lebrun M. GRA12, a Toxoplasma dense granule protein associated with the intravacuolar membranous nanotubular network. Int J Parasitol 2009; 39(3): 299-306.
11. Döşkaya M, Kalantari-Dehaghi M, Walsh CM, Hiszczyńska-Sawicka E, Davies DH, Felgner PL, et al. GRA1 protein vaccine confers better immune response compared to codon-optimized GRA1 DNA vaccine. Vaccine 2007; 25(10): 1824-1837.
12. Mercier C, Lecordier L, Darcy F, Deslee D, Murray A, Tourvieille B, et al. Molecular characterization of a dense granule antigen (GRA 2) associated with the network of the parasitophorous vacuole in Toxoplasma gondii. Mol Biochem Parasitol 1993; 58(1):71-82.
13. Craver MP, Knoll LJ. Increased efficiency of homologous recombination in Toxoplasma gondii dense granule protein 3 demonstrates that GRA3 is not necessary in cell culture but does contribute to virulence. Mol Biochem Parasitol 2007; 153(2):149-157.
14. Cha DY, Song IK, Lee GS, Hwang OS, Noh HJ, Yeo SD, Shin DW, Lee YH. Effects of specific monoclonal antibodies to dense granular proteins on the invasion of Toxoplasma gondii in vitro and in vivo. Korean J Parasitol 2001; 39(3): 233-240.
15. Mévélec MN, Mercereau-Puijalon O, Buzoni-Gatel D, Bourguin I, Chardès T, Dubremetz JF, et al. Mapping of B epitopes in GRA4, a dense granule antigen of Toxoplasma gondii and protection studies using recombinant proteins administered by the oral route. Parasite Immunol 1998; 20(4):183-95.
16. Lecordier L, Mercier C, Torpier G, Tourvieille B, Darcy F, Liu JL, et al. Molecular structure of a Toxoplasma gondii dense granule antigen (GRA 5) associated with the parasitophorous vacuole membrane. Mol Biochem Parasitol 1993; 59(1):143-53.
17. Feng P, Park J, Lee BS, Lee SH, Bram RJ, Jung JU. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus mitochondrial K7 protein

targets a cellular calcium-modulating cyclophilin ligand to modulate intracellular calcium concentration and inhibit apoptosis. J Virol 2002; 76(22):11491-504.

18. Labruyere E, Lingnau M, Mercier C, Sibley LD. Differential membrane targeting of the secretory proteins GRA4 and GRA6 within the parasitophorous vacuole formed by Toxoplasma gondii. Mol Biochem Parasitol 1999; 102(2):311-324.
19. Lecordier L, Moleon-Borodowsky I, Dubremetz JF, Tourvieille B, Mercier C, Deslée D, et al. Characterization of a dense granule antigen of Toxoplasma gondii (GRA6) associated to the network of the parasitophorous vacuole. Mol Biochem Parasitol 1995; 70(1-2): 85-94.
20. Mercier C, Dubremetz JF, Rauscher B, Lecordier L, Sibley LD, Cesbron-Delauw MF. Biogenesis of nanotubular network in Toxoplasma parasitophorous vacuole induced by parasite proteins. Mol Biol Cell 2002; 13(7): 2397-2409.
21. Fischer HG, Stachelhaus S, Sahm M, Meyer HE, Reichmann G. GRA7, an excretory 29 kDa Toxoplasma gondii dense granule antigen released by infected host cells. Mol Biochem Parasitol 1998; 91(2): 251-262.
22. Carey KL, Donahue CG, Ward GE. Identification and molecular characterization of GRA8, a novel, proline-rich, dense granule protein of Toxoplasma gondii. Mol Biochem Parasitol 2000; 105(1): 25-37.
23. Nockemann S, Dlugonska H, Henrich B, Kitzerow A, Däubener W. Expression, characterization and serological reactivity of a 41 kDa excreted-secreted antigen (ESA) from Toxoplasma gondii. Mol Biochem Parasitol 1998; 97(1-2): 109-121.
24. Adjogble KD, Mercier C, Dubremetz JF, Hucke C, Mackenzie CR, Cesbron-Delauw MF, et al. GRA9, a new Toxoplasma gondii dense granule protein associated with the intravacuolar network of tubular membranes. Int J Parasitol 2004; 34(11): 1255-1264.
25. Ahn HJ, Kim S, Nam HW. Host cell binding of GRA10, a novel, constitutively secreted dense granular protein from Toxoplasma gondii. Biochem Biophys Res Commun 2005; 331(2): 614-620.
26. Michelin A, Bittame A, Bordat Y, Travier L, Mercier C, Dubremetz JF, et al. GRA12, a Toxoplasma dense granule protein associated with the intravacuolar membranous nanotubular network. Int J Parasitol 2009; 39(3): 299-306.
27. Rome ME, Beck JR, Turetzky JM, Webster P, Bradley PJ. Intervacuolar transport and unique topology of GRA14, a novel dense granule protein in Toxoplasma gondii. Infect Immun 2008; 76(11): 4865-4875.
28. Lourenco EV, Pereira SR, Faca VM, Coelho-Castelo AA, Mineo JR, Roque-Barreira M-C, et al. Toxoplasma gondii micronemal protein MIC1 is a lactose-binding lectin. Glycobiology 2001; 11(7): 541-547.
29. Carruthers VB, Sherman GD, Sibley LD. The Toxoplasma Adhesive Protein MIC2 Is Proteolytically Processed at Multiple Sites by Two Parasite-derived Proteases. J Biol Chem 2000; 275(19): 14346–14353.
30. Cérède O, Dubremetz JF, Soête M, Deslée D, Vial H, Bout D, et al. Synergistic role of micronemal proteins in Toxoplasma gondii virulence. J Exp Med. 2005; 201(3): 453–

463.
31. Brecht S, Carruthers VB, Ferguson DJ, Giddings OK, Wang G, ja kle U¨, et al. The Toxoplasma Micronemal Protein MIC4 Is an Adhesin Composed of Six Conserved Apple Domains. J Biol Chem 2001; 276(6): 4119–4127.
32. Brydges SD, Sherman GD, N ockemann S, Loyens A, Däubener W, Dubremetz J-F, et al. Molecular characterization of TgMIC5, a proteolytically processed antigen secreted from the micronemes of Toxoplasma gondii. Mol Biochem Parasitol 2000; 111(1): 51-66.
33. Meissner M, Reiss M, Viebig N, Carruthers VB, Toursel C, Tomavo S, et al. A family of transmembrane microneme proteins of Toxoplasma gondii contain EGF-like domains and function as escorters. J Cell Sci 2002; 115: 563-574.
34. Hoff EF, Cook SH, Sherman GD, Harper JM, Ferguson DJ, Dubremetz JF, et al. Toxoplasma gondii: molecular cloning and characterization of a novel 18-kDa secretory antigen, TgMIC10. Exp Parasitol 2001; 97(2): 77-88.
35. Harper JM, Zhou XW, Pszenny V, Kafsack BF, Carruthers VB. The novel coccidian micronemal protein MIC11 undergoes proteolytic maturation by sequential cleavage to remove an internal propeptide. Int J Parasitol 2004; 34(9): 1047-1058.
36. Soldati D, Lassen A, Dubremetz JF, Boothroyd JC**.** Processing of Toxoplasma ROP1 protein in nascent rhoptries. Mol Biochem Parasitol 1998; 96(1-2): 37-48.
37. PARK YK, NAM HW. Early recognized antigen (p34) of Toxoplasma gondii after peroral ingestion of tissue cyst forming strain (Me49 strain) in mice. Korean J Parasitol 1999; 37(3): 157-162.
38. Labesse G, Gelin M, Bessin Y, Lebrun M, Papoin J, Cerdan R, et al. ROP2 from Toxoplasma gondii: A Virulence Factor with a Protein-Kinase Fold and No Enzymatic Activity. Structure 2009; 17(1): 139–146.
39. Carey KL, Jongco AM, Kim K, Ward GE. The Toxoplasma gondii Rhoptry Protein ROP4 is Secreted into the Parasitophorous Vacuole and Becomes Phosphorylated in Infected Cells. Eukaryot Cell 2004; 3(5): 1320–1330.
40. ELHajj H, Lebrun M, Fourmaux MN, Vial H, Dubremetz JF. Inverted topology of the Toxoplasma gondii ROP5 Rhoptry protein provides new insights into the association of the ROP2 protein family with the parasitophorous vacuole membrane. Cell Microbiol 2007; 9(1): 54–64.
41. Ahn HJ, Kim S, Nam HW. Molecular cloning of a rhoptry protein (ROP6) secreted from Toxoplasma gondii. Korean J Parasitol 2006; 44(3): 251-254.
42. El Hajj H, Demey E, Poncet J, Lebrun M, Wu B, GalÃotti N, et al. The ROP2 family of Toxoplasma gondii rhoptry proteins: proteomic and genomic characterization and molecular modeling. Proteomics 2006; 6(21): 5773-5784.
43. Bradley PJ, Ward C, Cheng SJ, Alexander DL, Coller S, Coombs GH, et al. Proteomic analysis of rhoptry organelles reveals many novel constituents for host-parasite interactions in Toxoplasma gondii. J Biol Chem 2005; 280(40): 34245-34258.
44. Dlugonska H. Toxoplasma rhoptries: unique secretory organelles and source of promising vaccine proteins for immunoprevention of toxoplasmosis. J

Biomed Biotechnol 2008;2008(1-7).

45. El Hajj H, Lebrun M, Arold ST, Vial H, Labesse G, Dubremetz JF. ROP18 is a rhoptry kinase controlling the intracellular proliferation of Toxoplasma gondii. PloS Pathog 2007; 3(2): e14.
46. Blanchard N, Gonzalez F, Schaeffer M, Joncker NT, Cheng T, Shastri AJ, et al. Immunodominant, protective response to the parasite Toxoplasma gondii requires antigen processing in the endoplasmic reticulum. Nat Immunol 2008; 9(8): 937-944.
47. Rosowski EE, Lu D, Julien L, Rodda L, Gaiser RA, Jensen kD, et al. Strain-specific activation of the NF- kappaB pathway by GRA15, a novel Toxoplasma gondii dense granule protein. J Exp Med 2011; 208(1): 195–212.
48. Lin RQ, Wu SM, Lin SQ, Zou FC, Yuan ZG. Sequence variation in Toxoplasma gondii MIC13 gene among isolates from different hosts and geographical locations. AJMR 2012; 6(13): 3265-3269.