بررسی اثر لوواستاتین بر بیان ژن کد کننده پروتئین *Ran* در قارچ بیماریزای ترایکوفایتون روبروم *(Trichophyton rubrum)*

• **فاطمه نوربخش***: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۲

چکیده

ترایکوفایتون روبروم مهم‌ترین عامل درماتوفیتوزیس بافت پوست و ناخن در سراسر دنیا می‌باشد. مطالعات زیادی روی این قارچ انجام گرفته است و خصوصیات متعددی از این قارچ در زمینه بیولوژی مولکولی بررسی شده است. لیکن هیچ اطلاعاتی در مورد عملکرد پروتئین Ran در این درماتوفیت در دسترس نمی‌باشد. در این بررسی اثر غلظت‌های متوالی لوواستاتین بر رشد قارچ ترایکوفایتون روبروم ارزیابی شد. هم‌چنین اسید نوکلئیک RNA قارچ رشد یافته در حضور لوواستاتین با روش استاندارد از توده میسلیومی استخراج شد. پرایمرها بر مبنای بررسی توالی‌های یکسان ژن کدکنندهٔ Ran سلول‌های سایر یوکاریوت‌ها طراحی گردیده و سنتز شدند. با استفاده از پرایمرهای سنتز شده و با ساخت cDNA از RNA استخراج شده از قارچ ترایکوفایتون روبروم و براساس پروتوکل PCR، ژن Ranتکثیر شد. اثر لوواستاتین بر روی رشد قارچ مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که رشد قارچ ترایکوفایتون روبروم تحت تأثیر این دارو کاهش می‌یابد و حداقل غلظت بازدارنده رشد ۱۵میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. مقایسه بیان ژن مذکور در قارچ‌های رشد یافته در غلظت‌های مختلف لوواستاتین نشان داد که بیان این ژن در حضور دارو کاهش یافته و با افزایش غلظت دارو میزان بازدارندگی افزایش می‌یابد.

کلمات کلیدی: ترایکوفایتون روبروم، استاتین، پروتئینRan

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: niloofar_noorbakhsh@yahoo.com

مقدمه

عفونت‌های قارچی جلدی در انسان شامل انواع زیادی از بیماری‌هایی است که پوست، مو و ناخن را درگیر می‌کند. اکثر این عفونت‌ها توسط یک گروه همگن از قارچ‌های کراتین‌دوست که درماتوفیت نامیده می‌شوند، ایجاد می‌گردند (۱). درماتوفیت‌ها انواع مختلف بیماری‌های عفونی قارچی براساس قسمتی از بدن که آلوده می‌کند تحت عنوان کچلی یا Ring worm را ایجاد می‌کند (2). ترایکوفایتون روبروم یک گونه انسان‌دوست با انتشار جهانی است. این ارگانیسم یکی از عوامل شایع کچلی در انسان و به‌خصوص کچلی کشاله ران، پا، دست و ناخن می‌باشد (۱). در بیمارانی که بدخیمی هماتولوژیک دارند، بیمارانی که پیوند کلیه داشته‌اند و بیمارانی که درمان کورتیکواستروئیدسیستمیک دریافت کرده‌اند عفونت *Trichophyton rubrum* می‌تواند مهاجم باشد. در این بیماران، *T. rubrum* می‌تواند به پوست حمله کند، فولیکول‌های مو ملتهب شده و آبسه‌های زیرجلدی عمیق ایجاد شده و باعث تشکیل گرانولوما می‌شود (۶ و ۱۲).

در سلول‌های یوکاریوت انتقال ماکرومولکول‌ها بین هسته و سیتوپلاسم سلول از طریق کمپلکس منفذ هسته‌ای (Nuclear Pore complex) انجام می‌گیرد. انتقال فعال نوکلئوسیتوپلاسمیک اکثر ماکرومولکول‌ها شامل واکنش‌های بین پروتئین‌های منفذ هسته‌ای (NPC) و فاکتورهای انتقالی محلول است که به‌وسیله Ran که یک GTPase کوچک است کنترل می‌شود. علاوه بر این، Ran در تنظیم بعضی مراحل سلولی نیز نقش دارد که شامل دینامیک میکروتوبول‌ها، تشکیل دوک تقسیم، تنظیم پیشرفت چرخه سلولی و جفت و جورشدن انولوپ هسته‌ای (NE) و تشکیل کمپلکس هسته‌ای (NPC) پس از میتوز می‌باشد (۱۹، ۵، ۹، ۱۰ و ۱۸). بازدارنده‌های پروتئین‌های GTPase موجب جلوگیری از عملکرد (اتصال، تکثیر، تمایز، تقسیم و بقاء) این پروتئین‌های سلولی می‌گردند. یکی از این عوامل بازدارنده، داروی لوواستاتین است.

داروهای خانواده استاتین به‌عنوان بازدارندهٔ هیدروکسی متیل گلوتاریل کوآنزیم A-ردکتاز (HMG-COA reductase) عمل می‌کنند و از تبدیل هیدروکسی- متیل گلوتاریل کوآنزیم A به موالونات جلوگیری می‌نمایند. موالونات نیز یک پیش‌ماده ایزوپرنوئید Farnesyl pyrophosphate وGenanyl genanyl pyrophosphate در سنتز کلسترول است. Prenylation یک مکانیسم مهم اصلاح پس از ترجمه پروتئین است و شامل اتصال کووالانت مولکول‌های هیدروفوبیک ایزوپرنوئید به پروتئین‌های هدف می‌باشد و در استقرار سلولی و اعمال بیولوژیکی پروتئین‌ها نقش بسیار مهمی دارد. پروتئین‌های پرنیله شده در انواع مسیرهای Signaling تنظیم‌کنندهٔ رشد و بقاء سلول نقش دارند. بسیاری از پروتئین‌های پرنیله شده GTPaseهای کوچک می‌باشند. بنابراین استاتین‌ها و مخصوصاً لوواستاتین دارای اثر بازدارنده بر روی Prenylation، پروتئین‌های مهم Signal transduction یعنی پروتئین‌های شوک حرارتی وGTPase می‌باشد (۳، ۸ و ۱۵).

تکنیک PCR ساده و سریع بوده و محدودیت روش‌های دیگری را ندارد. از آن‌جا که مولکول DNA واجد تمامی اطلاعاتی است که یک سلول بری حیات خود به آن‌ها احتیاج دارد، لذا این مولکول بهترین عامل برای بررسی مولکولی توسط تکنیک PCR است (۱۳). لذا از آن‌جا که پروتئین Ran نقش موثری در تقسیم سلولی دارد و با توجه به اثربازدارنده‌ای که داروهای استاتین بر GTPaseها دارند هدف از این تحقیق بررسی اثر لوواستاتین بر بیان ژن کدکننده Ran در ترایکوفایتون روبروم می‌باشد که این اثر منجر به کاهش رشد قارچ می‌گردد.

مواد و روش‌ها

کشت قارچ: برای کشت قارچ ترایکوفایتون روبروم از نمونه‌های جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بخش قارچ‌شناسی پزشکی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران استفاده شد. این قارچ در محیط SC,S به‌صورت نشاکاری کشت داده شد و در انکوباتور در درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از یک هفته پلیت‌ها از نظر ماکروسکوپی بررسی گردیدند. *ترایکوفایتون روبروم* دارای کلنی کرکی، پرزی سفید و پشت کلنی قرمز مایل به قهوه‌ای می‌باشد.

اثر لوواستاتین بر رشد قارچ: برای بررسی اثر لوواستاتین بر روی رشد قارچ باید رقت‌های مختلفی از لوواستاتین تهیه گردد. لوواستاتین به‌صورت پودر خالص از شرکت دارویی کیمیدارو تهیه شد. از پودر لوواستاتین دو غلظت اولیه به‌عنوان محلول کار تهیه شد. ۱) ۱۰ میلی‌گرم از پودر لوواستاتین در یک میلی‌لیتر Tween 80 گرم حل شد (استاتین‌ها در Tween 80 حل می‌شوند)، ۲) محلول دیگر از لوواستاتین با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. سپس از این محلول غلظت‌ها مختلف دارویی به‌صورت رقت‌های متوالی تهیه گردید و به محیط کشت سابورودکستروبراث افزوده شد سپس به‌میزان ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور

ترایکوفایتون روبروم با غلظت ۱/۵×۱۰۸cfu/ml به محیط اضافه گردید. پس از یک هفته انکوباسیون در ۳۰ درجه سانتی‌گراد نتیجه مورد بررسی قرار گرفت.

استخراج RNA: میسلیوم قارچ‌های رشد کرده در حضور لوواستاتین از محیط کشت جدا شد و توسط بافر 1 X PBS شستشو گردید، میسلیوم‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس میسیلیوم‌ها در داخل بوته چینی حاوی نیتروژن مایع آنقدر کوبیده شد تا به‌صورت پودر بسیار نرم و یکنواخت درآید، سپس RNA توسط روش رضایی و همکاران (۱۹۹۹) با استفاده از گوانیدین ایزوتیوسیانات و فنل-کلروفرم استخراج شد (۱۱).

طراحی پرایمرها: برای طراحی پرایمر ابتدا توالی‌ها نوکلئوتیدی ژن‌های سازنده Ran در ارگانیسم‌های مختلف مانند*Pichia angusta*، *Saccharomyces cervisiae*، *Neurospora crassa*، *Aspergillus oryza*، *Yarrowia lipolytica* و ارگانیسم‌های دیگر، از بانک جهانی ژنی (GenBank) استخراج گردید و سپس از کدون آغازین (ATG) تا کدون خاتمه (TAA) بررسی شد و توالی‌های یکسان نوکلئوتیدی به‌صورت های زیر برای طراحی پرایمر در نظر گرفته شد و سپس توسط شرکت ژن فن آوران سنتز شد:

5`GTCAGGAGAAGTTCGGTGGTC3`
5`TTAGAGGTCGGCGTCGTCCTC3`

تکثیر ژن کدکننده پروتئین Ran توسط RT-PCR: الگوی RNA می‌تواند به‌عنوان هدف در تکنیک RT-PCR به‌کار گرفته شود. به این منظور RNA استخراج شده توسط کیت شرکت Fermentase به cDNA تبدیل شد. ابتدا میزان جذب نوری RNA استخراج شده اندازه‌گیری شد و پس انجام محاسبات، غلظت‌های یکسان cDNA (۱میکروگرم بر ۲۰ میکرولیتر) ساخته شد. برای انجام واکنش میزان ۱میکرولیتر از cDNA با استفاده از dNTP mix ۰/۲ میلی‌مول، ۵۰ میلی‌مول MgCl2، ۱۰x buffer PCR [(NH4)2So4 ۲۰میلی‌مول و Tris-HCL ۷۵میلی‌مول] و ۲۰ پیکومول پرایمرهای اختصاصی در برنامه زمانی و حرارتی ۹۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت۶۰ ثانیه، ۵۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۹۰ ثانیه در ۳۵ سیکل قطعه ژن کدکننده پروتئین Ran توسط دستگاه ترمال سایکلر تکثیر شد. محصول حاصل از RT-PCR توسط ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز شد.

نتایج

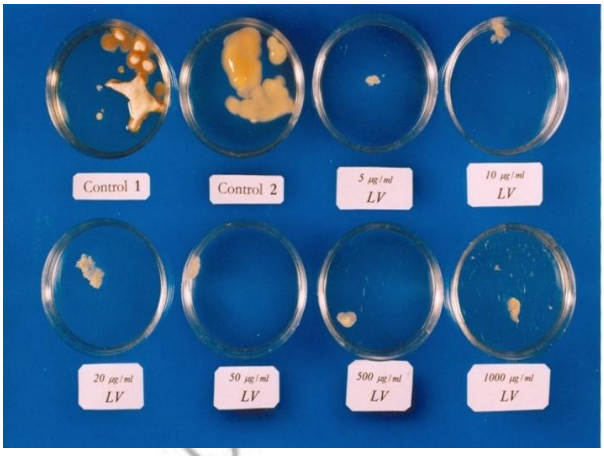
اثر لوواستاتین بر رشد قارچ *ترایکوفایتون روبروم*: لوواستاتین (۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در غلظت‌های مختلف از رشد قارچ ممانعت می‌کند. برای بررسی اثر Tween80 بر رشد قارچ از شاهد ۲ که حاوی Tween80 بدون لوواستاتین در کشت قارچی *ترایکوفایتون روبروم* است استفاده شد که نشان‌دهندهٔ عدم اثر Tween80 بر رشد قارچ می‌باشد و ممانعت از رشد قارچ مستقیماً مربوط به تأثیر لوواستاتین است (شکل ۱).

غلظت اولیه (۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اثر بازدارندگی بسیار قوی بر رشد قارچ نشان داد و تمام رقت‌های متوالی تهیه شده از این محلول از رشد *ترایکوفایتون روبروم* ممانعت کرد، در نتیجه برای بررسی مولکولی و هم‌چنین مشاهده حداقل غلظت بازدارنده رشده از محلول دیگری با غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر استفاده شد.

اثر لوواستاتین از محلول با غلظت اولیه (۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در رقت‌های مختلف نیز بر رشد قارچ بررسی شد. غلظت‌های ۵ و ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر اثر کاهش بر رشد قارچ را نشان دادند. در غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر کم‌ترین رشد مشاهده شد (شکل ۲).

اثر لوواستاتین در شکل میکروسکوپی *ترایکوفایتون روبروم*: در بررسی میکروسکوپی قارچ رشد کرده در غلظت‌های ۵ و ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر از لوواستاتین، تغییر شکل میسلیوم مشاهده شد که نشان‌دهندهٔ اثر لوواستاتین در تغییرات مورفولوژیک قارچ می باشد (شکل ۳).

اثر لوواستاتین بر بیان ژن کدکننده پروتئین Ran: با مقایسه نتایج به‌دست آمده از محصول RT-PCR (۱- شاهد، ۲- قارچ‌هایی که تحت تأثیر غلظت ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر لوواستاتین قرار گرفته‌اند. ۳- قارچ‌هایی که تحت تأثیر غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر قرار گرفته‌اند)، مشاهده شد بیان ژن تحت تأثیر غلظت ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر لوواستاتین افزایش می‌یابد در حالی‌که غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر کاهش نشان می‌دهد (شکل ۴).

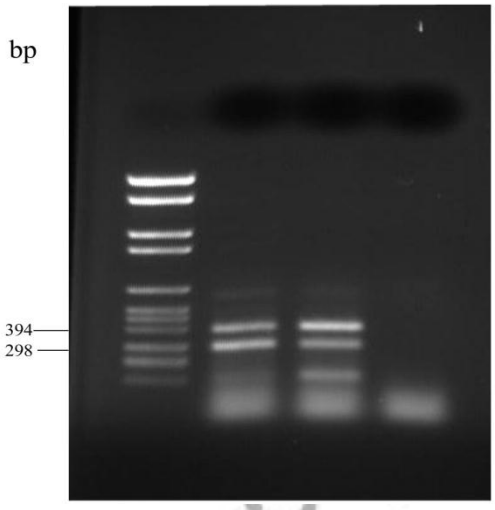


شکل ۱: اثر لوواستاتین در غلظت‌های مختلف بر رشد قارچ *ترایکوفایتون روبروم*

شکل ۲: اثر لوواستایتن بر قارچ *ترایکوفایتون روبروم*

(ازچپ ۱: شاهد، ۲: قارچ در حضور غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر لوواستایتن و ۳: قارچ در حضور غلظت ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر لوواستایتن)

شکل ۳: منظره ریزبینی میسلیوم *ترایکوفایتون* رشد کرده در حضور لوواستاتین



شکل ۴: محصول RT-PCR نمونه‌های ۱ و ۲ و ۳

بحث

عفونت‌های قارچی جلدی در انسان شامل انواع زیادی از بیماری‌هایی است که پوست، مو و ناخن را گرفتار می‌کند، درماتوفیت‌ها از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های قارچی جلدی می‌باشند و در بین درماتوفیت‌ها، *ترایکوفایتون روبروم* یکی از عوامل شایع کچلی در انسان به‌خصوص کچلی کشاله ران، دست و پا و ناخن در همه نواحی دنیا می‌باشد.(۱،۲و۶)

روش‌های متداول برای تشخیص گونه‌های درماتوفیت براساس خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک است و این خصوصیات تحت تأثیر فاکتورهای مختلف محیطی تغییر می‌کند و هم‌چنین این روش‌ها بسیار وقت‌گیر و زمان‌بر است. با توجه به اشکالات موجود، روش‌های مولکولی برای تشخیص درماتوفیت‌ها مناسب‌تر است. پروتئین‌ها ترجمه اطلاعات موجود در مولکول DNA می‌باشند. از جمله پروتئین‌هایی که در حیات سلولی نقش مهمی ایفا می‌کنند، پروتئین‌های متصل شونده به GTP می‌باشند که واکنش‌های فسفریلاسیون برای تنظیم اعمال داخل سلولی یوکاریوت‌ها را انجام می‌دهند. این پروتئین‌ها خاصیت GTPase دارند و در مراحل Signaling سلولی نقش

مهمی ایفا می‌کنند (۱۳و ۱۸).

در این مطالعه اثر لوواستاتین در غلظت‌های مختلف بر روی قارچ ترایکوفایتون روبروم مورد بررسی قرار گرفت. لوواستاتین در غلظت‌های مختلف از رشد قارچ ممانعت می‌کند که مشابه نتایج به‌دست آمده توسط محققان دیگر می‌باشد. Xianw و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که مرگ سلول‌های اندوتلیال عروق بند ناف انسان (HUVECs) تحت تأثیر (۳۰-۳میکرومول) لوواستاتین به‌مدت ۴۸ ساعت ایجاد می‌شود (۱۷).

لوواستاتین در غلظت‌های ۵ و ۱۵ میکروگرم در میلی لیتر باعث کاهش رشد قارچ *ترایکوفایتون روبروم* گردید و در غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر کاهش رشد بیش‌تری به‌همراه تغییر شکل ماکروسکپی و میکروسکوپی قارچ مشاهده شد. در شکل ماکروسکپی کلنی‌ها حالت پودری- پرزی نداشتند و در شکل میکروسکپی میسلیوم‌ها حالت مارپیچی نشان دادند که می‌تواند دلالت بر عدم prenylation پروتئین باشد که در نتیجه آن تغییر شکل سلول مشاهده می‌گردد. در مطالعات انجام شده توسط Xiananing (۲۰۰۴) مشخص شد استاتین‌ها شامل Mevastation و Simvastatin در غلظت‌های مختلف باعث تغییر شکل سلول‌های میکروگلیا مغز از یک شکل در حال استراحت تا آمیبی شکل (مرفولوژی شبیه ماکروفاژ) می‌گردد (۱۶).

هم‌چنین در بررسی انجام شده در نتایج RT-PCR و مقایسه بیان ژن در نمونه‌های شاهد و نمونه‌هایی که تحت تأثیر ۵ و ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر لوواستاتین قرار گرفته بودند، در غلظت ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر میزان بیان ژن نسبت به نمونه شاهد افزایش نشان داد در حالی‌که در غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر کاهش بیان ژن مشاهده گردید.

Konstantinos و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند Simvastatin (نوعی استاتین) با توقف مسیر بیوسنتز موالونات بیان Rho mRNA را تنظیم می‌نماید. در نتیجه در اثر عدم prenylation پروتئین Rho عملکردهای آن مختل می‌گردد و در نتیجه از بیان ژن نیتریک اکسید سنتتاز در سلول‌های اندوتلیال جلوگیری می‌کند (۸).

در این آزمایشات نیز احتمالاً لوواستاتین با توقف عملکرد پروتئینRho از بیان ژن‌های دیگر مانند RanGTP binding protein وHsp70 جلوگیری می‌نماید و با توجه به این‌که پروتئین Ran یکی از پروتئین‌هایی است که در تقسیم سلولی نقش دارد، با ممانعت از بیان این پروتئین عملکرد آن مختل شده و سلول‌های قارچ تقسیم نمی‌شود و رشد قارچ کاهش می‌یابد.

منابع

۱. **زینی، ف.؛ مهبد، س.ع. و امامی، م.، ۱۳۷۷.** قارچ شناسی پزشکی جامع. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۰۰۰ صفحه.

۲. **صارمی، ح.؛ پیغامی، ا. و پژوهنده، م.، ۱۳۷۷.** اصول قارچ شناسی (ویرایش چهارم). انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه مشهد. ۶۹۶ صفحه.

3. **Agarwal, B.; Halmos, B.; Feoktistov, A.S.; Protiva, P.; Ramey, W.G.; Chen, M.; Pothoulakis, C.; Lamont, J.T. and Holt, P.R., 2002.** Mechanism of Lovastatin induced apoptosis in intestinal epithelial cells. Carcinogenesis. Vol. 23, No. 3, pp. 521-528.
4. **Baï, S.W.; Rouquette, J.; Umeda, M.; Faigle, W.; Loew, D.; Sazer, S. and Doye, V., 2004.** The Fission yeast Nup 107 – 120 complex Functionally Intracts with the small GTpase Ran/ spi 1 and is required for mRNA Export, Nuclear pore distribution, and proper cell division. Molecular and cellular Biology. Vol. 24, No. 14, pp. 6372 - 6392.
5. **Bilbao-Cortés, D.; Hetzer, M.; Langst, G.; Becker, P.B. and Mattaj, I.W., 2002.** Ran Bind to chromatin by two distinct mechanisms current biology. Vol. 12, No. 13, pp. 1151-1156.
6. **Jacobs, J.A.; Kolbach, D.N.; Vermeulen, A.H.; Smeets, M.H. and Neuman, H.A., 2001.** Tinea incognito Due to *Trichophyton rubrum* after local steroid therapy. Clinical infection Diseases. Vol. 33, No. 12, pp. 142-144.
7. **Kalab, P.; Pu, R.T. and Dasso, M., 1999.** The Ran GTpase regulates mitotic spindle assembly. Current Biology. Vol. 9, No. 9, pp. 481 – 484.
8. **Konstantinos, S.; Eva Cernuda, M. and Hernandez, O., 2002.** Isoprenylation of RhoB is necessary for its degradation. JBC. Vol. 277, No. 51, pp. 49389-96.
9. **Li, H.Y. and Zheng, Y., 2004.** Phosphorylation of RCC1 in mitosis in essential for producing a high Ran GTP concenteration on chromosome and for spindle assembly in Mammalian cells. Genes. Vol. 18, pp. 512-527.

10. **Moore, M.S., 2013.** Ran GTPase. Encyclopedia of Biological Chemistry. pp: 7-11.
11. **Rezaie, S.; Pourmojib, M. and Tschachler, E., 1999.** Isolation of total RNA from dermatophytes. Mycoses. Vol. 42, No. 11-12, pp. 615-617.
12. **San-Blas, G. and Burger, E., 2011.** Experimental medical mycological research in Latin America - a 2000-2009 overview. Revista Iberoamericana de Micología. Vol. 28, No. 1, pp. 1-25.
13. **Silveira, H.C.; Gras, D.E.; Cazzaniga, R.A.; Sanches, P.R.; Rossi, A.and Martinez Rossi, N.M., 2010.** Transcriptional profiling reveals genes in the human pathogen *Trichophyton rubrum* that are expressed in response to pH signaling. Microbial Pathogenesis. Vol. 48, No. 2, pp. 91-96.
14. **Stamatakis, K.; Cernuda-Morollón, E.; Hernández-Perera, O. and Pérez-Sala, D., 2002.** Isoprenylation of Rho – B is necessery for its degradation. Journal biological chemistry. Vol. 277, No. 51, pp. 49389-49396.
15. **Van De Donk, N.W.; Kamphuis, M.M.; Van Kessel, B.; Lokhorst, H.M. and Bloem, A.C., 2003.** Inhibition of protein geranylgeranylation induecs apoptosis in myloma plasma cells by reducing Mcl – 1 protein levels. Blood. Vol. 102, No. 9, pp. 3354 – 3362.
16. **Xiananing, B.; Baudry, M.; Liu, J.; Yao, Y.; Fu, L.; Brucher, F. and Lynch, G., 2004.** Inhibition of Geranylation mediates the effects of 3-Hydroxy-3Methylglutaryl (HMG) CoA reductase Inhibitor on Microglia. Journal Biological Chemistry. Vol. 279, No. 46, pp. 48238-48245.
17. **Xianw, L.; Li, L.; Topper, J.C.; Bannerman, D.D.;Winn, R.K.; Sebti, S.M.; Hamilton, A.D. and Harlan, J.M., 2002.** Inhibition of protein Geranylgeranylation and Rho/RhoA kinase pathway induces Apoptosis in human endothelial cell. JBC. Vol. 277, No. 18, pp. 15309-15316.
18. **Xin, W.; Ye, H.; Chang-Bin, C. and Kang, H.C., 2004.** Wheat RAN1, anuclear small G-protein is involved in regulation of cell division in yeast. Plant Science. Vol. 167, No. 6, pp. 1183-1190.
19. **Zhang, C. and Clarke, P.R. 2001.** Roles of Ran-GTP and Ran-GDP in precursor vesicle recruitment and fusion during nuclear envelope assembly in a human cell – free system. Current biology. Vol. 11, No. 3, pp. 208-212.

Investigation the effect of Lovastatin on experession of Ran protein gene in dermatophyte pathogen *Trichophyton rubrum*

Fatemeh Noorbakhsh*: Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University Varamin-Pishva Branch, Pishva, Iran

Received: May 2013 Accepted: October 2013

Keywords: *Trichophyton rubrum*, Statin, Ran protein

Abstract

Trichophyton rubrum is the most common cause agents of dermatophytosis in human skin and nail tissue. Some properties of T. rubrum have been investigated in molecular level; however no information is available regarding the Ran protein in this dermatophyte. The effects of lovastatin were investigated by using various concentrations of this medicine in T. rubrum cultures. Nucleic acids (RNA) were isolated from obtained mycelial mass of this fungus by standard methods. Pairs of primers were designed and synthesis from highly conserved regions of the Ran protein genes in other eukaryotic cells. Then primer and cDNA which synthesis of RNA extracted of *T. rubrum* utilized in PCR. The growth of fungi was decreases in this medium. Lovastatin depend on concentration reduced growth of fungi and gene expression of Ran protein gene ,and with increase of drug concentration growth and gene expression were decreased.

* Corresponding Author's email: niloofar_noorbakhsh@yahoo.com