مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۲، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۲
صفحه ۲۱۵-۲۰۳

10.61186/gebsj.12.2.203

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2024
Volume 12, Number 2, Pages: 203-215

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

شناسایی چندین توالی کدکننده پروتئین فسفولیپاز A2 در غده زهر عقرب همی‌اسکورپیوس‌لپتروس با استفاده از RNA-seq

Identification of several coding sequences of phospholipase A2 protein in the venom gland of the scorpion of *Hemiscorpius lepturus* using RNA-sequencing

محمد تقی بیگی نصیری[۱]، فاطمه ثعلبی[۲*]
Mohammad Taghi Beigi Nassiri [1], Fatemeh Salabi [2*]

۱- استاد گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
۲- استادیار گروه جانوران سمی و تولید پادزهر، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه جنوب غرب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.

1. Professor of Department of Animal Sciences, Khuzestan University of Agriculture and Natural Resources, Mulathani, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Venomous Animals and antivenom production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ahvaz, Khuzestan, Iran.

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: *Corresponding Author, Email
f.salabi@rvsri.ac.ir or fat_sa_2012@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۱۵)
Received: 2023/07/27 | Accepted: 2023/10/7 | Published: 2024/03/14

چکیده

عقرب *Hemiscorpius lepturus* کشنده‌ترین عقرب ایران است و به همین جهت از نظر پزشکی اهمیت زیادی دارد. علائم بالینی ناشی از مسمومیت با زهر عقرب *H. lepturus*، مانند اثرات سمی نروتوکسیسیتی، سوزش‌های پوستی و همچنین برخی از واکنش‌های التهابی به فعالیت فسفولیپاز A2 (PLA2) آن نسبت داده شده است. هدف این مطالعه شناسایی و دسته بندی ژن‌های کدکننده فسفولیپاز A2 در غده زهر عقرب *H. lepturus* است. به همین منظور در این مطالعه، یک کتابخانه cDNA از غدد زهر این عقرب با استفاده از تکنیک توالی‌یابی RNA ایلومینا تولید شد. توالی‌های کد کننده PLA2 با استفاده از ابزار اصلی جستجوی تراز محلی (BLAST) و جستجوهای تشابه بین داده‌های خام غده زهر با توالی‌های ثبت شده از بندپایان دیگر به ویژه عقرب *Centruroides sculpturatus* شناسایی و استخراج شدند. این جستجوها منجر به یافتن چندین توالی همولوگ از PLA2 در غدد زهر این عقرب با شباهت توالی به فاکتور فعال کننده پلاکت استیل هیدرولاز (PAFA)، PLA2های وابسته به کلسیم (cPLA2)، PLA2های ترشح شونده (sPLA2)، PLA2های مستقل از کلسیم (iPLA2) و گروه III هترودیمریک فسفولیپاز A2 (hgPLA2) شد. اغلب توالی‌های یافت شده بیشترین شباهت را با توالی‌های PLA2 از عقرب‌های *C. sculpturatus* و *Androctonus crassicauda* نشان دادند. این گزارش یکی از معدود تلاش‌های توالی‌یابی رونوشت برای شناسایی، دسته بندی و تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی توالی‌های PLA2 در غده زهر عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس* است که در آن روابط فیلوژنتیکی بین بندپایان مختلف با استفاده از توالی‌های شناسایی شده از جنس *Hemiscorpius* بررسی شده است.

واژه‌های کلیدی

عقرب،
Hemiscorpius lepturus،
غده زهر،
فسفولیپاز A2،
کتابخانه cDNA،
روابط فیلوژنتیکی

Beigi Nassiri M T, Salabi F. Identification of several coding sequences of phospholipase A2 protein in the venom gland of the scorpion of Hemiscorpius lepturus using RNA-sequencing. Genetic Engineering and Biosafety Journal 2023; 12 (2) :203-215.doi: 10.61186/gebsj.12.2.203
URL: http://gebsj.ir/article-1-469-fa.html

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 12, Number 2, 2024

Abstract

The scorpion of *Hemiscorpius lepturus* is the deadliest scorpion in Iran, so it is very important from a medical point of view. Clinical symptoms caused by *H. lepturus* scorpion envenoming such as neurotoxic effects, skin burns, and some inflammatory reactions have been attributed to its phospholipase A2 activity. The aim of this study is to identify and categorize the genes encoding phospholipase A2 in *H. lepturus* scorpion venom gland. For this purpose, in this study, a cDNA library was produced from the venom glands of this scorpion using the Illumina RNA sequencing technique. The coding sequences of PLA2 were identified and extracted using the basic local alignment search tool (BLAST) and similarity searches between raw venom gland data with sequences recorded from other arthropods, especially the scorpion *Centruroides sculpturatus*. These searches led to the discovery of several homologs of PLA2 in the venom glands of this scorpion with sequence similarity to platelet acetylhydrolase-activating factor (PAFA), calcium-dependent PLA2s (cPLA2), secreted PLA2s (sPLA2), calcium-independent PLA2s (iPLA2) and, group III heterodimeric phospholipase A2 (hgPLA2). Most of the found sequences showed the most similarity with the PLA2 sequences from scorpions of *C. sculpturatus* and *Androctonus crassicauda*. This report is one of the few transcriptome sequencing efforts to identify, classify and analyze the physicochemical properties of PLA2 sequences form venom gland of *H. lepturus*, in which the phylogenetic relationships between different arthropods were investigated using the identified sequences of the genus *Hemiscorpius*.

Keywords: Scorpion, *Hemiscorpius lepturus*, Venom gland, Phospholipase A2, cDNA library, Phylogenetic relationships

مقدمه

عقرب گزیدگی و مرگ و میر ناشی از آن به‌عنوان یکی از مشکلات بهداشتی قابل توجه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری از جمله ایران شناخته می‌شود (Dehghani *et al*., 2018; Ozkan and Kat 2005). در کشور ما سالانه موارد متعددی عقرب گزیدگی از نقاط مختلف با بیشترین شیوع در استان خوزستان (۵٤۱ مورد از هر ۱۰۰۰۰۰ نفر; ۲/۲ درصد از جمعیت) گزارش شده است که در برخی موارد مرگ بر اثر عقرب گزیدگی اتفاق افتاده است (Radmanesh 1990; Rafizadeh *et al*., 2013). از خطرناک ترین عقرب‌های یافت شده در نواحی غربی و جنوب غربی ایران می‌توان به *Hemiscorpius lepturus* (*H. lepturus*) از خانواده Hemiscorpionidae اشاره کرد (Jalali and Fakher 2014). اگرچه تنها ۱۵ درصد عقرب گزیدگی به *H. lepturus* نسبت داده شده است، اما این عقرب کشنده‌ترین عقرب است و ۸۹ درصد از مرگ و میرها را به خود اختصاص داده است (Pipelzadeh *et al*., 2007). بر خلاف سایر عقرب‌ها، سم عقرب *H. lepturus* بسیار سیتوتوکسیک است که می‌تواند موجب تظاهرات بالینی پیچیده از قبیل واکنش‌های پوستی، ضایعات درمونکروز در محل نیش، التهاب مداوم، نشت عروقی، تجمع پلاکت‌ها، بیماری‌های قلبی عروقی، همولیز شدید، هماچوری و نارسایی کلیوی در افراد مسموم باشد (Pipelzadeh *et al*., 2007; Jalali *et al*., 2010).

به طور معمول سم عقرب‌ها از غلظت‌های مختلف پپتیدها، پروتئین‌های سمی و غیرسمی، مولکول‌هایی با وزن مولکولی نسبتا پایین و آنزیم‌هایی نظیر فسفودی استرازها، فسفولیپازها، هیالورونیدازها، گلیکوزآمینوگلیکآن‌ها و غیره تشکیل شده است (Senthilkumaran *et al*., 2015; Tobassum *et al*., 2018). نشان داده شده است که زهر خام عقرب دارای فعالیت فسفولیپاز A2 (PLA2) نیز می‌باشد (Krayem and Gargouri 2020) . خانواده PLA2 یک خانواده بزرگی از آنزیم‌های ترشحی هستند که هیدرولیز پیوند استری گلیسروفسفولیپیدها را در موقعیت SN-۲

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

کاتالیز نموده و موجب رهاسازی اسید چرب مربوطه و لیز فسفولیپید می‌گردند (Dennis 1997).

یکی از دلایل سوزش‌های پوستی پس از تماس با زهر عروس دریایی، سطوح بالای این آنزیم در ناحیه گزش گزارش شده است (۱٤). فعالیت فسفولیپازی زهر این گونه دریایی مسئول اثرات سمی چون میوتوکسیسیتی یا نروتوکسیسیتی و همچنین، بی‌ثباتی غشای سلولی و تغییر در نفوذپذیری سلولی در ارگانیسم آسیب دیده و برخی از واکنش‌های التهابی نظیر درد و تورم می‌باشد که ناشی از تجمع اسیدهای چرب فعال می‌باشد (۱۵). تا کنون مطالعاتی در مورد فعالیت آنزیم فسفولیپاز (Díaz-García *et al.*, 2015; Valdez-Cruz *et al.*, 2004) در زهر عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس* انجام شده است.

با این وجود، در هیچ مطالعه‌ای ایزوفرم‌های آنزیم فسفولیپاز A2 در گونه عقرب *H. lepturus* شناسایی نشده و خواص فیزیکوشیمیایی آن‌ها نیز ارزیابی نشده است. در مطالعه حاضر، توالی‌های آنزیم فسفولیپاز A2 غده سمی عقرب *H. lepturus* با استفاده از فناوری توالی‌یابی نسل جدید illumina شناسایی شدند. این یکی از اولین گزارش‌ها از حضور ایزوفرم‌های آنزیم فسفولیپاز A2 در سم *H. lepturus* است. همراه با مونتاژ de novo و حاشیه نویسی رونوشت، ویژگی‌های آنزیم فسفولیپاز A2 مربوط به غده زهر عقرب *H. lepturus* نیز پیش‌بینی شدند.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه و توالی‌یابی داده‌های اولیه: عقرب‌های *H. lepturus* توسط متخصصین موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی با استفاده از چراغ UV از حومه شهرهای لالی و رامهرمز استان خوزستان جمع آوری و به صورت زنده تا زمان سم‌گیری در آزمایشگاه بندپایان موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی- شعبه جنوب غرب کشور (اهواز) نگهداری شدند. سم‌گیری با استفاده از شوک الکتریکی انجام شد (Salabi *et al.*, 2019).

استخراج RNA از غدد زهر ۱۰ نمونه عقرب از گونه *H. lepturus* انجام گردید. برای این‌منظور، غدد زهر عقرب‌ها حدود ۷۲ ساعت پس از سم‌گیری جداسازی شدند و با استفاده از هاون چینی و ازت مایع پودر شدند. استخراج RNA از غدد زهر عقرب‌ها با استفاده از کیت تجاری RNeasy Qiagen - Kit Mini، مطابق دستور العمل شرکت کیاژن انجام شد. کیفیت و کمیت نمونه‌های RNA استخراج شده با استفاده از نانودراپ و ژل الکتروفورز افقی و معیار عدم خردشدگی RNA با استفاده از دستگاه بیوآنالایزر مدل ۲۱۰۰ ساخت شرکت اجیلنت (Bioanalyzer) تعیین شدند (Salabi and Jafari 2023). در نهایت نمونه‌هایی با کمیت و کیفیت قابل قبول و معیار عدم خردشدگی بالای ٦ جهت توالی‌یابی end -paired به شرکت ماکروژن کره ارسال شدند. فرایند توالی‌یابی ترانسکریپتوم با استفاده از پلتفرم Hiseq Illumina ۲۰۰۰ و مطابق دستور العمل مربوط به شرکت ماکروژن انجام شد.

ساخت کتابخانه cDNA: در این مطالعه از نرم افزار FastQCنسخه 0.11.5 برای سنجش کیفیت داده‌ها و از نرم افزار Trimmomatic نسخه 0.36 برای ویرایش داده‌ها شامل حذف آداپتورها و حذف یا ویرایش خوانش‌های بی‌کیفیت استفاده شد. سپس، به منظور پیکربندی ترانسکریپتوم غده زهر، قرائت‌های تمیز با استفاده از نرم افزار Trinity نسخه 2.0.3 با روش de novo جمع آوری شدند (Salabi and Jafari 2022). توالی نوکلئوتیدی و پروتئینی ژن‌های سازنده زهر با استفاده از نرم افزار TransDecoder-Trinotate بازیابی شدند. این نرم افزار با گزینه "بهترین ORF" برای پیش‌بینی فریم‌های خواندن باز (ORFs) و بازیابی مناطق ۵'- ترجمه نشده (۵'-UTR)، دنباله کدگذاری (CDS) و ۳'-ترجمه نشده (۳'-UTR) استفاده شد.

جستجو برای ژن و پروتئین مورد نظر: توالی‌های آمینواسیدی و اسید نوکلئیکی نشان‌دهنده ژن فسفولیپاز A2 مربوط به عقرب *Centruroides sculpturatus* با شماره‌های دسترسی XP_023218948، XP_023227937، XP_023210341، XP_023231606، XP_0232111072، XP_0232111072، XP_0232111072، XP_0232111072، XP_0232111072، XP_0232111072، XP_023234380 .XP_0232118948، XP_023229534، XP_023211378، XP_023211376،

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

XP_023236868، XP_023239081، XP_023234369، عقرب *Mesobuthus gibbosus* با شماره‌های دسترسی AHZ63127, AHZ63127 و عقرب *Androctonus crassicauda* با شماره‌های دسترسی OQ982083, OQ982084, OQ982085, OQ982086, OQ982087, OQ982088, OQ982089, OQ982090, OQ982091, OQ982092, OQ982093, OQ982094 از پایگاه داده مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی ایالات متحده (NCBI) جمع آوری شدند.

سپس، با استفاده از این توالی‌ها، یک پایگاه داده PLA2 برای جستجوهای BLAST و BLASTX علیه داده‌های بدست آمده از غده زهر *H. lepturus* ایجاد کردیم. رونوشت‌های جدید نشان‌دهنده PLA2 با استفاده از جستجو علیه این پایگاه داده استخراج شده و فقط توالی های کامل در NCBI ثبت شدند.

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک: در این مطالعه، توالی‌های اسیدآمینه ای ایزوفرم‌های PLA2 یافت شده با توالی‌های موجود در پایگاه داده NCBI با استفاده از برنامه Clustal Omega (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) همتراز شدند و درخت فیلوژنتیکی آن‌ها رسم شد. برای پیش‌بینی پپتیدهای سیگنال از سرور SignalP-6.0 (موجود در https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP) استفاده کردیم و پس از آن ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پروتئین‌های بالغ با استفاده از سرور ProtParam Expasy (https://web.expasy.org/protparam/) آنالیز شدند.

نتایج و بحث

عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس* یکی از خطرناک‌ترین عقرب‌های استان خوزستان است که آمار گزش آن در کشور به ویژه در استان خوزستان بالا می‌باشد و در برخی موارد مرگ ناشی از گزیش این عقرب نیز گزارش شده است (Salabi and Jafari, 2023). زهر بسیار سمی دارد با این وجود برخی از اجزای پپتیدی و پروتئینی زهر آن مانند آنزیم‌های فسفولیپاز به طور کامل یا جزئی مشخص شده اند. با توجه به دانسته‌های ما، هیچ مطالعه‌ای برای شناسایی و دسته بندی توالی‌های PLA2 در عقرب *H. lepturus* انجام نشده است. بنابراین، در مطالعه حاضر برای شناسایی توالی‌های کد کننده PLA2، ساخت کتابخانه cDNA از غده زهر عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس* بر اساس تکنولوژی نسل جدید توالی‌یابی RNA-Seq انجام شد. در این مطالعه، طول توالی‌ها ۱۵۰ bp و بصورت دو جهت خوانش بودند. نتایج تعیین کیفیت داده‌ها در نرم‌افزار Fastqc بیانگر کیفیت خوب داده‌ها بود. تمام داده‌های این مطالعه با میانگین کیفیت داده‌های ۳۶، در وضعیت قبول قرار داشتند. پس از حذف توالی آداپتورها و حذف یا ویرایش خوانش‌های بی کیفیت با نرم افزار Trimmomatic، توالی‌های ویرایش شده با استفاده از نرم افزار Trinity پیکربندی شدند. نتایج پیکربندی ترانسکریپتوم نشان داد که در مجموع ۲۲۲۹۸۹ کانتیگ ساخته شد که از این تعداد ۱۲۲۶۱۸ یونی ژن به دست آمد که میانگین میزان GC آن‌ها ۳۸/۳۸ درصد بود (جدول ۱). مطابق با این مطالعه، با استفاده از توالی‌یابی غده زهر عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس*، برخی از توالی‌های کدکننده فسفولیپاز D شناسایی شدند (Torabi *et al*., 2017).

شناسایی ژن‌های PLA2 از ترانسکریپتوم عقرب *H. lepturus*: در این مطالعه برای یافتن توالی‌های ژن فسفولیپاز A2، ابتدا یک پایگاه داده PLA2 از توالی‌های بدست آمده از NCBI ساخته شد. سپس، ترانسکریپتوم عقرب *H. lepturus* با استفاده از نرم افزارهای BLAST و BLASP علیه این پایگاه داده PLA2 جستجو شد. این جستجو منجر به یافتن چندین همولوگ از PLA2 از غدد زهر عقرب *H. lepturus* با شباهت توالی به فاکتور فعال کننده پلاکت استیل هیدرولاز (PAFA)، PLA2های وابسته به کلسیم (cPLA2)، PLA2های ترشح شونده (sPLA2) و PLA2های مستقل از کلسیم (iPLA2) شد. همه توالی‌های شناسایی شده در پایگاه داده NCBI با شماره دسترسی OR295225، OR295226، OR295227، OR295235، OR295228، OR295229، OR295230، OR295231، OR295232، OR295233 و OR295234 ثبت شدند.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

جدول ۱- خلاصه یافته‌های توالی یابی نسل جدید غدد سمی عقرب *H. lepturus*

Table 1. Summary of the findings of the next generation sequencing of *H. lepturus* scorpion venom glands

آمار داده‌ها بعد از ویرایش	
Number of clean reads (paired end) تعداد خوانش تمیز (دو جهت خوانش)	47988392
GC content (%) GCدرصد محتوای	43
آمار پیکربندی ترانسکریپتوم	
Number of contigs تعداد کانتیگ‌ها	222989
Number of unigenes تعداد یونی ژن‌ها	122618
GC content (%) GCدرصد محتوای	38.38

فسفولیپازها (PLA) (انواع A1، A2، C و D) نوعی آنزیم با محتوای پل دی‌سولفیدی بالا و مجموعه کاتالیزوری حفظ شده هیستیدین/اسپارتیک هستند که روی فسفولیپیدها عمل می‌کنند و منجر به تولید محصولات مختلف از جمله لیزوفسفولیپیدها، دی اسیل گلیسرول‌ها، اسیدهای چرب آزاد، کولین فسفات و فسفاتیدات‌ها از فسفولیپیدها می‌گردند (Kazemi and Sabatier 2019). ابرخانواده فسفولیپاز A2 به چهار گروه اصلی (ترشح شونده (sPLA2)، سیتوزولی (cPLA2)، مستقل از کلسیم (iPLA2)و فاکتور فعال کننده پلاکت استیل هیدرولاز (PAF-AH) تقسیم شده است (Six and Dennis. 2000). در مطالعات پیشین، شواهدی از فعالیت آنزیم فسفولیپاز A2 در زهر عقرب *Anuroctonus phaiodactylus* (Valdez-Cruz *et al*., 2004)، عقرب *Mesobutus opius opius* (Krayem and Gargouri 2020) و عقرب *آندروکتونوس کراسی‌کودا* (Salabi and Jafari 2023) گزارش شده است. مطالعه حاضر اولین مطالعه شناسایی و دسته بندی توالی‌های کد کننده پروتئین فسفولیپاز A2 در غده زهر عقرب *همی‌اسکورپیوس لپتوروس* با استفاده از مطالعات ترانسکریپتومی است. پیش از این، وجود آنزیم فسفولیپاز A2 در زهر گونه‌های سمی مانند مار افعی لبتینای ایران (Shanaki bavarsad *et al*., 2009)، عنکبوت *Vitalius dubius* (Sutti *et al*., 2014) و زهر زنبور عسل Apis mellifera (Nazari *et al*., 2023a; Nazari *et al*., 2023b) نیز گزارش شده است. بر خلاف این مطالعات و مطالعه حاضر، هیچ اثری از فعالیت آنزیم فسفولیپاز A2 در زهر عقرب کوبایی *Rhopalurus junceus* حتی در بالاترین غلظت سم مورد استفاده در مطالعه (mg/ml۱۰) مشاهده نشد (Díaz-García *et al*., 2015).

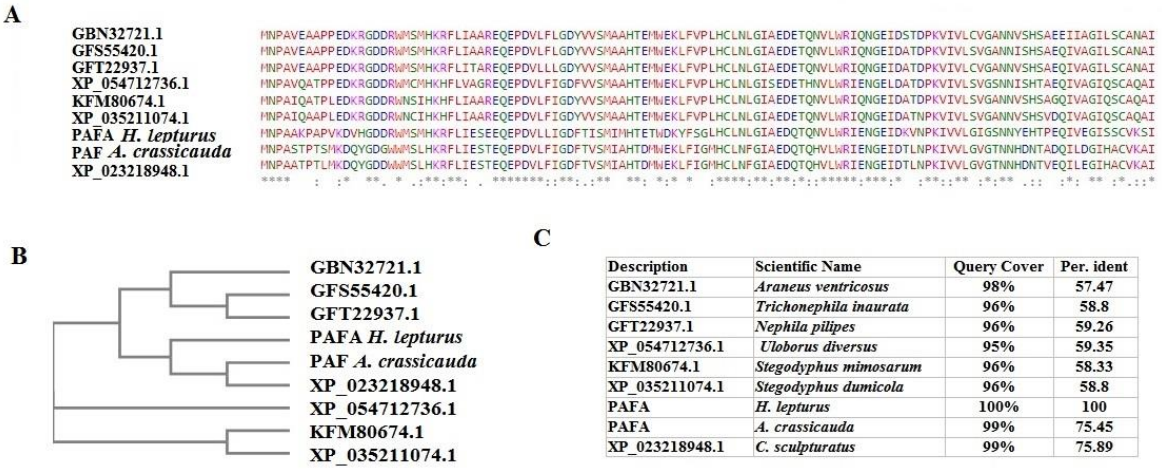
همترازی، فیلوژنی و آنالیزهای بیوانفورماتیکی ژن‌های PLA2 یافت شده: در این مطالعه، با استفاده از برنامه همترازی توالی چندگانه Clustal Omega، توالی‌های پروتئینی PLA2 غدد زهر عقرب *H. lepturus* با توالی‌های پروتئینی مرتبط از بندپایان همتراز شدند و درخت فیلوژنتیک آن‌ها رسم شد (شکل ۱ تا ۷). جزئیات توالی‌های مورد استفاده از NCBI در شکل مربوط به هر توالی آمده است. علاوه بر این، با استفاده از سرور SignalP-6.0 وجود سیگنال پپتیدها را در پروتئین‌ها جستجو کردیم (جدول ۲) و سپس با بکارگیری سرور ProtParam Expasy، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌های بالغ PLA2، از جمله وزن مولکولی، تعداد اسیدهای آمینه و pI (نقطه ایزوالکتریک) را محاسبه کردیم (جدول ۳).

از بین مجموع داده‌های غدد زهر عقرب *H. lepturus*، یک توالی از PLA2 با شباهت به فاکتور فعال کننده پلاکت استیل هیدرولاز (PAFA) جدا شد (شکل ۱). PAFA یک فسفولیپید پیش التهابی موجود در زهر پرده بالان است که توسط ماست‌سل‌ها، مونوسیت‌ها و ماکروفاژهای بافتی سنتز و ترشح می‌شود. این آنزیم یک واسطه فسفولیپیدی قوی است که نقش مهمی در مسیرهای انعقادی و التهابی دارد (Prescott *et al*., 2000). علاوه براین، نقش مستقیمی به‌عنوان یک واسطه در پاتوژنز اختلالات مختلف از جمله بسیاری از تظاهرات واکنش آلرژیک حاد و آنافیلاکسی دارد (Bilò *et al*., 2022).

نتایج حاصل نشان داد که، توالی cDNA یافت شده PAFA از غده زهر عقرب *H. lepturus* (با شماره دسترسی GenBank OR295227) حاوی یک ORF به طول ٦٧٥ جفت باز بود که قادر به رمزگذاری یک پلی پپتید ٢٢٤ اسیدآمینه ای با وزن مولکولی پیش‌بینی شده حدود ٢٥/٤١ کیلو دالتون و pI اسیدی ٥/١٣ می‌باشد. جستجوی تشابه توالی‌ها با ابزار Blast موجود در NCBI نشان داد که توالی‌های اسیدآمینه PAFA عقرب *H.*

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

lepturus دارای همپوشانی و شباهت بالایی با فاکتور فعال کننده پلاکت استیل هیدرولاز از عقرب *C. sculpturatus* هستند. درخت فیلوژنی رسم شده با این توالی‌ها نشان داد که عقرب *A. crassicauda* با عقرب *C. sculpturatus* قرابت ژنتیکی نزدیک تری دارد و عقرب‌های خانواده بوتیده از عقرب خانواده‌ی همی اسکورپیونیده جدا شدند. با این وجود بر خلاف عنکبوت‌ها، تمام عقرب‌ها در یک شاخه واحد بر روی درخت فیلوژنتیک قرار گرفتند و از یک جد مشترک مشتق شده اند در صورتیکه برخی از گونه‌های عنکبوت تفاوت‌های چشمگیری با سایر گونه‌ها دارند. آنالیز سیگنال پپتید نشان داد که این توالی فاقد توالی سیگنال پپتید می‌باشد. در مطالعه‌ای گزارش شده که PAFA یک فسفولیپاز مستقل از کلسیم است که به صورت خارج سلولی ترشح می‌شود (Dennis *et al.*, 2011). این ممکن است نشانگر این حقیقت باشد که این پروتئین برای ترشح به خارج از سلول نیازی به توالی سیگنال پپتید ندارد.

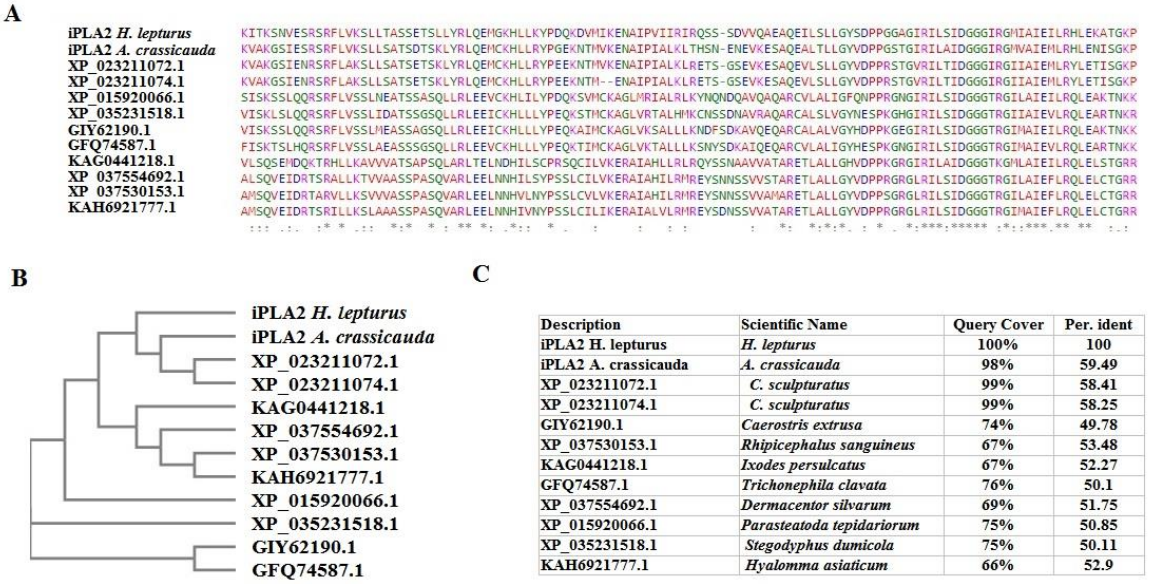


C

Description	Scientific Name	Query Cover	Per. ident
GBN32721.1	*Araneus ventricosus*	98%	57.47
GFS55420.1	*Trichonephila inaurata*	96%	58.8
GFT22937.1	*Nephila pilipes*	96%	59.26
XP_054712736.1	*Uloborus diversus*	95%	59.35
KFM80674.1	*Stegodyphus mimosarum*	96%	58.33
XP_035211074.1	*Stegodyphus dumicola*	96%	58.8
PAFA	*H. lepturus*	100%	100
PAFA	*A. crassicauda*	99%	75.45
XP_023218948.1	*C. sculpturatus*	99%	75.89

شکل ۱- توالی‌های پروتئینی ژن عامل فعال کننده پلاکت استیل هیدرولاز مشتق شده از غده زهر عقرب *H. lepturus*. همترازی توالی ۹ پروتئین PAFA مربوط به بندپایان مختلف (A)، درخت فیلوژنی (B) و مشخصات توالی‌های مربوط به آن‌ها (C) نشان داده شده است.

Figure 1. Protein sequences of platelet acetylhydrolase activating factor gene derived from *H. lepturus* scorpion venom gland. The sequence alignment of 9 PAFA proteins from different arthropods (A), phylogeny tree (B) and their corresponding sequence profiles (C) are shown.



C

Description	Scientific Name	Query Cover	Per. ident
iPLA2 H. lepturus	*H. lepturus*	100%	100
iPLA2 A. crassicauda	*A. crassicauda*	98%	59.49
XP_023211072.1	*C. sculpturatus*	99%	58.41
XP_023211074.1	*C. sculpturatus*	99%	58.25
GIY62190.1	*Caerostris extrusa*	74%	49.78
XP_037530153.1	*Rhipicephalus sanguineus*	67%	53.48
KAG0441218.1	*Ixodes persulcatus*	67%	52.27
GFQ74587.1	*Trichonephila clavata*	76%	50.1
XP_037554692.1	*Dermacentor silvarum*	69%	51.75
XP_015920066.1	*Parasteatoda tepidariorum*	75%	50.85
XP_035231518.1	*Stegodyphus dumicola*	75%	50.11
KAH6921777.1	*Hyalomma asiaticum*	66%	52.9

شکل ۲- توالی‌های پروتئینی ژن فسفولیپاز A2 مستقل از کلسیم مشتق شده از غده زهر عقرب *H. lepturus*. همترازی توالی ۱۲ پروتئین iPLA2 مربوط به بندپایان مختلف (A)، درخت فیلوژنی (B) و مشخصات توالی‌های مربوط به آن‌ها (C) نشان داده شده است.

Figure 2. Protein sequences of calcium-independent phospholipase A2 gene derived from *H. lepturus* scorpion venom gland. The sequence alignment of 12 iPLA2 proteins from different arthropods (A), the phylogeny tree (B) and their corresponding sequence profiles (C) are shown.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

از بین توالی‌های یافت شده از PLA2 غدد زهر عقرب *H. lepturus*، یک توالی با شباهت به PLA2های مستقل از کلسیم (iPLA2) یافت شد (شکل ۲). براساس تحقیقات پیشین انجام شده، iPLA2 یک فسفولیپاز A2 مستقل از کلسیم است و نقش کلیدی در بازسازی غشا ایفا می‌کند. ایزوفرم‌های فراوان iPLA2 خود را از بسیاری دیگر از آنزیم‌های فسفولیپاز A2 که وابسته به کلسیم هستند متمایز می‌کنند و تصور می‌شود از نظر اسید چرب در موقعیت sn-2 کمتر اختصاصی هستند (Balsinde *et al.*, 1997). iPLA2ها آنزیم‌های درون سلولی هستند که برای فعالیت به Ca^{2+} نیاز ندارند (Ramanadham *et al*, 2015).

مطابق با مطالعات پیشین، نتایج این مطالعه نشان داد که توالی cDNA تعیین شده ژن iPLA2 از غده زهر عقرب *H. lepturus* (شماره دسترسی GenBank OR295226) فاقد توالی سیگنال پپتید است. ژن iPLA2 از غده زهر عقرب *H. lepturus* حاوی یک ORF با طول ۱۸٤۸ جفت باز است که پروتئینی با ٦۱۵ اسیدآمینه را کد می‌کند. جرم مولکولی آن ٦۹/٦۸ کیلو دالتون و pI آن ۹/۵ پیش‌بینی شدند. ما شباهت بالایی را بین توالی‌های پروتئین iPLA2 عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس* با توالی پروتئین فسفولیپاز A2 مستقل از کلسیم از عقرب *آندروکتونوس‌کراسی‌کودا* شناسایی کردیم. در مقایسه با گونه‌های دیگر، iPLA2 عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس* ۵۹/٤۹ درصد شباهت و ۹۸ درصد همپوشانی با عقرب آندروکتونوس‌کراسی‌کودا نشان داد. درخت فیلوژنیک این توالی‌ها نشان‌دهنده جدایی عقرب‌های خانواده بوتیده از همی‌اسکوپیونیده است. ولی با این وجود نیز تمام عقرب‌ها در یک شاخه واحد قرار دارند. بررسی روابط فیلوژنتیکی بین بندپایان با این توالی‌ها نشانگر قرابت ژنتیکی بین عقرب‌ها و کنه‌ها می‌باشد. عنکبوت‌ها در این روابط پیش‌بینی شده نیز نه تنها در شاخه‌های جدا قرار گرفتند بلکه بررسی‌ها گویای وجود تفاوت ژنتیکی قابل توجهی بین گونه‌های مختلف عنکبوت است.

از مجموع داده‌های ترانسکریپتوم غده زهر عقرب *H. lepturus*، یک توالی با شباهت به PLA2های وابسته به کلسیم (cPLA2) استخراج شد (شکل ۳). چندین زیرگروه فسفولیپاز A2 سیتوزولی (cPLA2) در انواع مختلف سلولی کشف شده است. اولین cPLA2 خالص شده و توالی‌یابی شده، توسط سطوح کلسیم داخل سلولی تنظیم می‌شود. cPLA2 روی بسیاری از سوبستراهای لیپیدی از جمله فسفاتیدیل کولین‌ها، فسفاتیدیل اتانول آمین‌ها و فسفاتیدیلینوزیتول‌ها، اما نه محدود به آن‌ها، عمل می‌کند. علاوه بر این فعالیت، cPLA2 همچنین فعالیت لیزوفسفولیپاز و ترانس آسیلاز را نشان می‌دهد (Vasquez *et al.*, 2018).

نتایج حاصل از بررسی توالی cDNA یافت شده از ژن cPLA2 (شماره دسترسی GenBank OR295225) نشان داد که این توالی فاقد توالی سیگنال پپتید و حاوی یک ORF با طول ۳۵٤ جفت باز است که قادر به کدگذاری پروتئینی با ۱۱۷ اسیدآمینه و جرم مولکولی تقریبا ۱۳ کیلو دالتون است. پروتئین cPLA2 یا A2 Phospholipase membrane associated-like دارای نقطه ایزوالکتریک بازی (۸/۳۱) می‌باشد. بررسی شباهت بین توالی‌ها نشانگر قرابت ژنتیکی بین اعضای خانواده بوتیده و دوری آن‌ها از عقرب خانواده همی اسکورپیونیده است. بررسی روابط فیلوژنتیک با استفاده از توالی‌های ژن cPLA2 نشان داد که در مقایسه با عنکبوت‌ها تفاوت ژنتیکی بین عقرب‌ها کمتر از گونه‌های مختلف عنکبوت است. تمام عقرب‌ها در یک شاخه واحد قرار گرفتند که نشانگر جد مشترک آن‌ها است.

از بین توالی‌های یافت شده از PLA2 غدد زهر عقرب *H. lepturus*، هشت توالی با شباهت به چهار زیرگروه از PLA2های ترشح شونده (sPLA2) یافت شدند (شکل ٤). چهار زیرگروه sPLA2 یافت شده شامل PLA2G3، PLA2G10، PLA2GXIIA و گروه III هترودیمریک فسفولیپاز A2 (hgPLA2) می‌باشند.

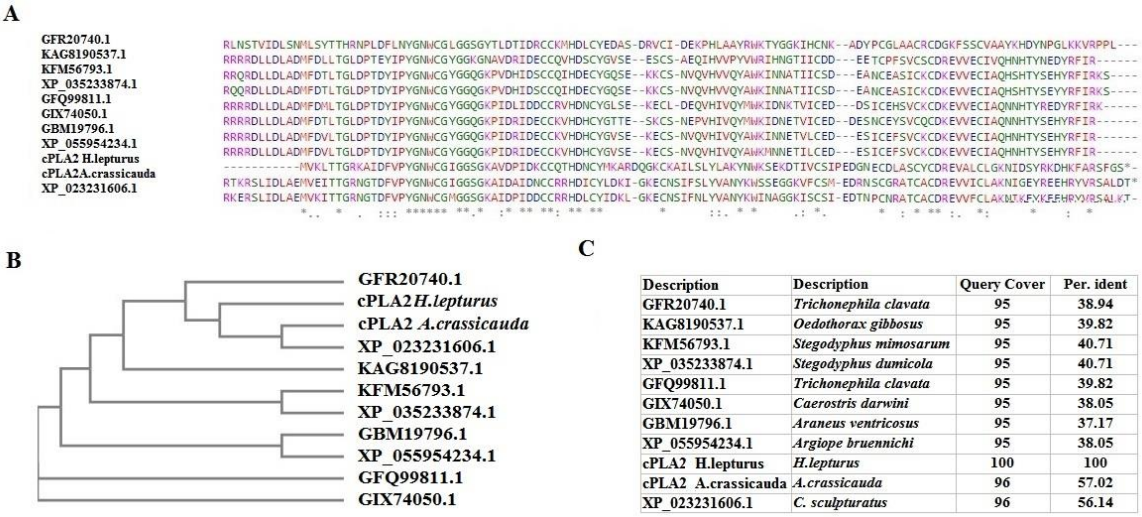
در مهره داران و بی مهرگان رایج ترین نوع فسفولیپاز، sPLA2 است که به ۱۵ نوع گروه بندی می‌شود (کاظمی و همکاران، ۲۰۱۹). sPLA2 گروهی از آنزیم‌های کوچک است که برای فعالیت کاتالیزوری به کلسیم نیاز دارند (Schaloske and Dennis 2006). فسفولیپاز A2 ترشح شده (sPLA2) اولین آنزیم فسفولیپاز A2 بود که از زهر مار، پانکراس پستانداران و سلول‌های پستانداران شناسایی و مورد مطالعه قرار گرفت

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

(Vasquez *et al*., 2018). مکانیسم‌های فعال سازی و مهار این آنزیم نیز مورد مطالعه قرار گرفته است و نشان داده شده است که آنزیم sPLA2 موقعیت sn-1 محصولات لیزوفسفولیپید را هیدرولیز نمی‌کند در حالی که برخی از آنزیم‌های داخل سلولی این کار را انجام می‌دهند. عملکردهای اصلی sPLA2 عبارتست از فعالیت ضد باکتریایی و ضد ویروسی، تنظیم سطح HDL و LDL و ایفای نقش در بیماری‌های التهابی مانند تصلب شرایین است (Mouchlis *et al*., 2011).

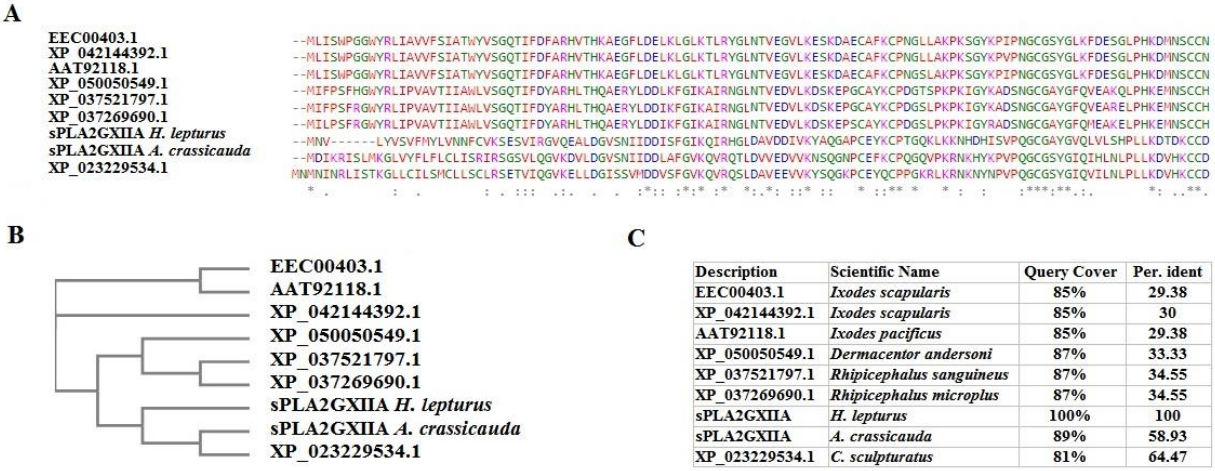
بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، توالی cDNA ژن sPLA2GXIIA عقرب *همی اسکورپیوس لپتوروس* (OR295235) با وزن مولکولی پیش‌بینی‌شده ۲۱,۱۱ کیلو دالتون، حاوی ٥٦٤ جفت باز ORF است که قادر به رمزگذاری ۱۸۷ اسیدآمینه است. این توالی حاوی توالی سیگنال پپتید می‌باشد که نشانگر ترشحی بودن این پروتئین است.



Description	Description	Query Cover	Per. ident
GFR20740.1	*Trichonephila clavata*	95	38.94
KAG8190537.1	*Oedothorax gibbosus*	95	39.82
KFM56793.1	*Stegodyphus mimosarum*	95	40.71
XP_035233874.1	*Stegodyphus dumicola*	95	40.71
GFQ99811.1	*Trichonephila clavata*	95	39.82
GIX74050.1	*Caerostris darwini*	95	38.05
GBM19796.1	*Araneus ventricosus*	95	37.17
XP_055954234.1	*Argiope bruennichi*	95	38.05
cPLA2 H.lepturus	*H.lepturus*	100	100
cPLA2 A.crassicauda	*A.crassicauda*	96	57.02
XP_023231606.1	*C. sculpturatus*	96	56.14

شکل ۳- توالی‌های پروتئینی ژن فسفولیپاز A2 مرتبط با غشاء مشتق شده از غده زهر عقرب *H. lepturus*. همترازی توالی ۱۱ پروتئین cPLA2 مربوط به بندپایان مختلف (A)، درخت فیلوژنی (B) و مشخصات توالی‌های مربوط به آن‌ها (C) نشان داده شده است.

Figure 3. Protein sequences of membrane-associated phospholipase A2 gene derived from *H. lepturus* scorpion venom gland. The sequence alignment of 11 cPLA2 proteins from different arthropods (A), the phylogeny tree (B) and their corresponding sequence profiles (C) are shown.



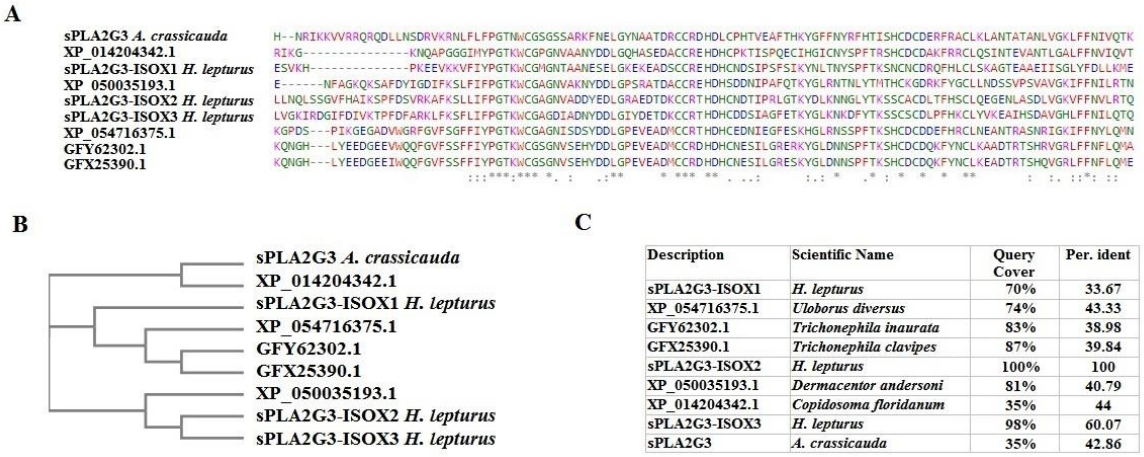
Description	Scientific Name	Query Cover	Per. ident
EEC00403.1	*Ixodes scapularis*	85%	29.38
XP_042144392.1	*Ixodes scapularis*	85%	30
AAT92118.1	*Ixodes pacificus*	85%	29.38
XP_050050549.1	*Dermacentor andersoni*	87%	33.33
XP_037521797.1	*Rhipicephalus sanguineus*	87%	34.55
XP_037269690.1	*Rhipicephalus microplus*	87%	34.55
sPLA2GXIIA	*H. lepturus*	100%	100
sPLA2GXIIA	*A. crassicauda*	89%	58.93
XP_023229534.1	*C. sculpturatus*	81%	64.47

شکل ٤- توالی‌های پروتئینی ژن فسفولیپاز A2 ترشح شونده گروه XIIA مشتق شده از غده زهر عقرب *H. lepturus*. همترازی توالی ۹ پروتئین sPLA2GXIIA مربوط به بندپایان مختلف (A)، درخت فیلوژنی (B) و مشخصات توالی‌های مربوط به آن‌ها (C) نشان داده شده است.

Figure 4. Protein sequences of the secreted phospholipase A2 gene of group XIIA derived from the venom gland of the scorpion *H. lepturus*. The sequence alignment of 9 sPLA2GXIIA proteins from different arthropods (A), the phylogeny tree (B) and their corresponding sequence profiles (C) are shown.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]



Description	Scientific Name	Query Cover	Per. ident
sPLA2G3-ISOX1	*H. lepturus*	70%	33.67
XP_054716375.1	*Uloborus diversus*	74%	43.33
GFY62302.1	*Trichonephila inaurata*	83%	38.98
GFX25390.1	*Trichonephila clavipes*	87%	39.84
sPLA2G3-ISOX2	*H. lepturus*	100%	100
XP_050035193.1	*Dermacentor andersoni*	81%	40.79
XP_014204342.1	*Copidosoma floridanum*	35%	44
sPLA2G3-ISOX3	*H. lepturus*	98%	60.07
sPLA2G3	*A. crassicauda*	35%	42.86

شکل ۵- توالی‌های پروتئینی ژن فسفولیپاز A2 ترشح شونده گروه G3 مشتق شده از غده زهر عقرب *H. lepturus*. همترازی توالی ۹ پروتئین sPLA2G3 مربوط به بندپایان مختلف (A)، درخت فیلوژنی (B) و مشخصات توالی‌های مربوط به آن‌ها (C) نشان داده شده است.

Figure 5. Protein sequences of G3 secreted phospholipase A2 gene derived from *H. lepturus* scorpion venom gland. The sequence alignment of 9 sPLA2G3 proteins from different arthropods (A), phylogeny tree (B) and their corresponding sequence profiles (C) are shown.

آنالیز فیزیکوشیمیایی خواص این ژن pI برابر ۷/۸۸ را نشان داد. درجه تشابه بالا (٦٤٪/٤٧ شباهت و ۸۱٪ همپوشانی) بین توالی اسیدآمینه sPLA2-GXIIA و گروه XIIA فسفولیپاز ترشحی A2 از *C. sculpturatus* مشاهده شد (شکل ٤). بررسی روابط فیلوژنتیک با استفاده از این توالی‌ها نیز با نتایج قبلی مشابهت دارد (شکل ٤).

در مجموع، از داده‌های غده زهر عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس* سه توالی با شباهت به ژن sPLA2G3 (شماره‌های دسترسی OR295229، OR295230، OR295231) یافت شدند (شکل ۵). جزئیات خواص فیزیکوشیمیایی این توالی‌ها در جدول ۳ آمده است. توالی‌های سیگنال پپتید برای هر سه ژن مشابه sPLA2G3 جستجو شدند (جدول ۲). میزان شباهت ایزوفرم ۲ با ایزوفرم ۳ حدود ٦۰ درصد است. از نظر میزان شباهت این توالی‌های فسفولیپاز A2 غیر معمول هستند و تنها ٤۳/۳۳٪ و ٤۲/۸٦٪ شباهت توالی اسیدآمینه را به نزدیک‌ترین فسفولیپازهای شناخته شده از group 3 secretory phospholipase A2 isoform X1 مربوط به یک گونه زنبور و sPLA2 مربوط به عقرب *آندروکتونوس‌کراسی‌کودا* به ترتیب دارند.

توالی cDNA و پروتئین sPLA2G10 عقرب *H. lepturus* (OR295228) مورد بررسی قرار گرفت. ما دریافتیم که این ژن حاوی یک ORF به طول ٤۰۸ جفت باز و وزن ۱۵،۱۵ کیلو دالتون است که پلی پپتیدی متشکل از ۱۳۵ اسیدآمینه را کد می‌کند. pI این پروتئین ۸/٦۲ پیش‌بینی شده است. بر اساس پیش‌بینی‌های انجام شده این پروتئین حاوی سیگنال پپتید می‌باشد و یک پروتئین ترشح شونده است. قابل توجه است که sPLA2G10 مشتق شده از غده زهر عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس*، بیشترین شباهت (٥٤٪/۱۱) را با توالی از عقرب *C. sculpturatus* نشان داده است (شکل ٦). درخت فیلوژنیک این توالی‌ها به‌دلیل یافت نشدن توالی‌های بیشتری با شباهت بالا رسم نشد. خواص فیزیکوشیمیایی توالی‌های cDNA ایزوفرم‌های hgPLA2 مشتق شده از غده زهر عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس* (OR295232،OR295233 و OR295234) در جدول ۳ فهرست شده است. ایزوفرم‌های hgPLA2 x1 تا x3 محدوده‌ای از ۲۲۷ تا ۲۲۸ آمینو اسید را کد می‌کنند، همگی دارای یک نقطه ایزوالکتریک اسیدی و حاوی توالی سیگنال پپتید می‌باشند. علاوه بر وجود شباهت بالایی بین توالی‌های یافت شده این ژن در این مطالعه با توالی‌های هومولوگ ثبت شده از این عقرب در NCBI، ما وجود شباهت بالایی را بین توالی‌های این ژن در عقرب *همی اسکورپیوس لپتوروس* با توالی Phospholipase A2 heteromtoxin متعلق به عقربی از خانواده اسکورپیونیده (Scorpionidae; *Heterometrus laoticus*) و یک توالی از ژن Group III heterodimeric

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

phospholipase A2 متعلق به عقربی از خانواده کاراباکتونیده (Caraboctonidae; *Hadrurus gertschi*) را گزارش کردیم. روابط فیلوژنتیک بررسی شده بین این توالی‌ها در درخت فیلوژنتیک قابل مشاهده است (شکل ۷).

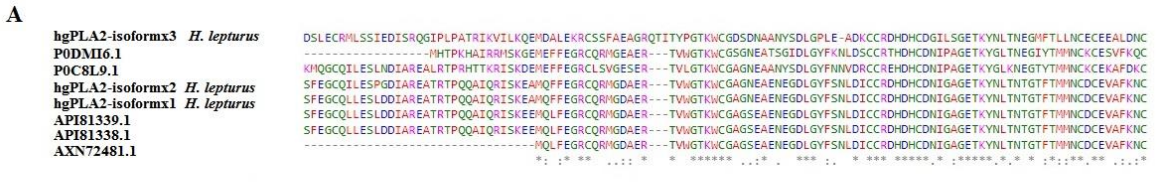


B

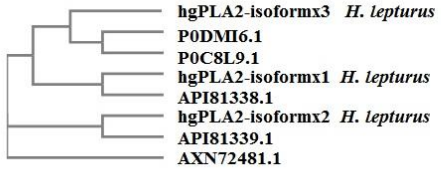
Description	Scientific Name	Query Cover	Per. ident
sPLA2G10	*A. crassicauda*	70%	36.44
XP_014780833.1	*Octopus bimaculoides*	91%	40.56
QDC23068.1	*Cupiennius salei*	89%	42.47
KFM56793.1	*Stegodyphus mimosarum*	81%	41.27
sPLA2G10	*H. lepturus*	100%	100
XP_023231606.1	*C. sculpturatus*	93%	54.11

شکل ٦- توالی‌های پروتئینی ژن فسفولیپاز A2 ترشح شونده گروه G10 مشتق شده از غده زهر عقرب *H. lepturus*. همترازی توالی ٦ پروتئین sPLA2G10 مربوط به بندپایان مختلف (A) و مشخصات توالی‌های مربوط به آن‌ها (B) نشان داده شده است.

Figure 6. Protein sequences of secreted phospholipase A2 gene of group G10 derived from *H. lepturus* scorpion venom gland. The sequence alignment of 6 sPLA2G10 proteins from different arthropods (A) and their corresponding sequence profiles (B) are shown.



B



C

Description	Scientific Name	Query Cover	Per. ident
hgPLA2-isoformx3 *H. lepturus*	*H. lepturus*	88%	38.94
P0DMI6.1	*Heterometrus laoticus*	66%	65.24
P0C8L9.1	*Hadrurus gertschi*	98%	61.57
hgPLA2-isoformx2 *H. lepturus*	*H. lepturus*	100%	94.26
hgPLA2-isoformx1 *H. lepturus*	*H. lepturus*	100%	100
API81339.1	*H. lepturus*	100%	93.03
API81338.1	*H. lepturus*	100%	97.95
AXN72481.1	*H. lepturus*	61%	98.68

شکل ۷- توالی‌های پروتئینی ژن فسفولیپاز A2 ترشح شونده گروه hg مشتق شده از غده زهر عقرب *H. lepturus*. همترازی توالی‌های ۸ پروتئین hgPLA2 مربوط به بندپایان مختلف (A)، درخت فیلوژنی (B) و مشخصات توالی‌های مربوط به آن‌ها (C) نشان داده شده است.

Figure 7. Protein sequences of secreted phospholipase A2 gene of hg group derived from *H. lepturus* scorpion venom gland. The sequence alignment of 8 hgPLA2 proteins from different arthropods (A), the phylogeny tree (B) and the characteristics of their respective sequences (C) are shown.

نتیجه گیری کلی

شناسایی و دسته‌بندی فسفولیپازها یک کار بسیار چالش برانگیز است. اما به دلیل نقش مهمی که در ایجاد بیماری‌های التهابی ایفا می‌کنند شناسایی توالی‌های کدکننده پروتئین آن‌ها و دسته بندی آن‌ها به‌ویژه در حیوانات سمی برای پیشرفت درمان‌های مداخله‌ای و شناسایی مهارکننده‌ها ضروری است. بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه، چهار گروه از ابر خانواده فسفولیپاز A2 (ترشح شونده (sPLA2)، سیتوزولی (cPLA2)، مستقل از

در راستای یافته‌های این مطالعه گزارش شده که اشتراک بین انواع مختلف PLA2 و جایگاه سلولی آن‌ها متفاوت است. علاوه‌براین، هر دو آنزیم sPLA2 و PAFA به صورت خارج سلولی بر روی لیپیدهای غشاء اثر می‌گذارند، در حالی که cPLA2 و iPLA2، لیپیدهای درون سلولی غشاهای دولایه (شامل اندامک‌های مختلف درون سلولی) را هیدرولیز می‌کنند (Vasquez *et al.*, 2018).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

کلسیم (iPLA2) و فاکتور فعال کننده پلاکت استیل هیدرولاز (PAF-AH)) در غده زهر عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتروس* شناسایی شدند. توالی‌های نوکلئوتیدی و پروتئینی تمام اعضای این چهار گروه در NCBI ثبت شدند.

جدول ۲- مشخصات توالی سیگنال پپتید پروتئین‌های بالغ PLA2

Table 2. Characterization of signal peptide sequence of mature PLA2 proteins

ID	Signal Peptide (Sec/SPI)	Cleavage site between pos
PAFA	0	-
iPLA2	0	-
cPLA2	0	-
sPLA2G3Isox1	0.9992	22-23
sPLA2G3Isox2	0.999	16-17
sPLA2G3Isox3	0.9985	19-20
sPLA2G10	0.9974	19-20
hgPLA2Isox1	0.9993	17-18
hgPLA2Isox2	0.9992	17-18
hgPLA2Isox3	0.9955	18-19

جدول ۳- خواص فیزیکوشیمیایی پروتئین‌های بالغ PLA2

Table 3. Physicochemical properties of mature PLA2 proteins

مخفف اسم علمی Name	وزن مولکولی MW	تعداد اسیدآمینه Number of a.a.	نقطه ایزوالکتریک PI
PAFA	25413.74	224	5.13
iPLA2	69685.59	615	9.50
cPLA2	13046.94	117	8.31
sPLA2GXIIA	21111.47	187	7.88
sPLA2G3Isox1	23681.78	206	6.10
sPLA2G3Isox2	29395.13	261	4.80
sPLA2G3Isox3	30830.77	267	8.17
sPLA2G10	15148.35	135	8.62
hgPLA2Isox1	25271.26	227	5.13
hgPLA2Isox2	25278.25	227	5.13
hgPLA2Isox3	26165.49	228	5.18

PAFA: platelet-activating factor acetylhydrolase
iPLA2: calcium-independent phospholipase A2
cPLA2: cytosolic phospholipase A2
sPLA2GXIIA: group XIIA secretory phospholipase A2-like
sPLA2G3: group 3 secretory phospholipase A2
sPLA2G10: group 10 secretory phospholipase A2
sPLA2-isox1: secretory phospholipase A2 isoform X1
sPLA2-isox2: secretory phospholipase A2 isoform X2
sPLA2-isox3: secretory phospholipase A2 isoform X3
Naa: Number of amino acids
MW: Molecular weight
PI: Isoelectric point

سپاسگزاری

در خاتمه از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان برای تامین هزینه‌های این تحقیق و همچنین از همکاران محترم موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی اهواز و دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان که در انجام این تحقیق همکاری داشته اند کمال تشکر و سپاسگزاری به عمل می‌آید.

منابع

Balsinde, J., Balboa, M. A., & Dennis, E. A. (1997). Antisense inhibition of group VI Ca^{2+}-independent phospholipase A2 blocks phospholipid fatty acid remodeling in murine P388D1 macrophages. Journal of biological chemistry, 272(46), 29317-29321. doi: 10.1074/jbc.272.46.29317

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

and Toxins including Tropical Diseases, 11, 479-491. doi: 10.1590/S1678-91992005000400008

Pessini, A. C., Takao, T. T., Cavalheiro, E. C., Vichnewski, W., Sampaio, S. V., Giglio, J. R., & Arantes, E. C. (2001). A hyaluronidase from Tityus serrulatus scorpion venom: isolation, characterization and inhibition by flavonoids. Toxicon, 39(10), 1495-1504. doi: 10.1016/S0041-0101(01)00122-2

Pipelzadeh, M. H., Jalali, A., Taraz, M., Pourabbas, R., & Zaremirakabadi, A. (2007). An epidemiological and a clinical study on scorpionism by the Iranian scorpion Hemiscorpius lepturus. Toxicon, 50(7), 984-992. doi: 10.1016/j.toxicon.2007.07.018

Prescott, S. M., Zimmerman, G. A., Stafforini, D. M., & McIntyre, T. M. (2000). Platelet-activating factor and related lipid mediators. Annual review of biochemistry, 69(1), 419-445. doi: 10.1146/annurev.biochem.69.1.419

Radmanesh, M. (1990). Androctonus crassicauda sting and its clinical study in Iran. The Journal of tropical medicine and hygiene, 93(5), 323-326. PMID: 2231840

Rafizadeh, S., Rafinejad, J., & Rassi, Y. (2013). Epidemiology of scorpionism in Iran during 2009. Journal of arthropod-borne diseases, 7(1), 66. PMID: 23785696

Ramanadham, S., Ali, T., Ashley, J. W., Bone, R. N., Hancock, W. D., & Lei, X. (2015). Calcium-independent phospholipases A2 and their roles in biological processes and diseases. Journal of lipid research, 56(9), 1643-1668. doi: 10.1194/jlr.R058701

Tobassum, S., Tahir, H. M., Arshad, M., Zahid, M. T., Ali, S., & Ahsan, M. M. (2020). Nature and applications of scorpion venom: an overview. Toxin Reviews, 39(3), 214-225. doi: 10.1080/15569543.2018.1530681

Salabi, F., & Jafari, H. (2023). New insights about scorpion venom hyaluronidase; isoforms, expression and phylogeny. Toxin reviews, 42(1), 69-84. doi: 10.1080/15569543.2021.2018613

Salabi, F., & Jafari, H. (2022). Differential venom gland gene expression analysis of juvenile and adult scorpions *Androctonus crassicauda*. BMC genomics, 23(1), 636. doi: 10.1186/s12864-022-08866-1

Salabi, F., Jafari, H., Nazari, M., & Moazen Reza Mahaleh, H. (2019). Comparison Of Three Administration Methods (Orally, Microinjection And Spraying Through Skin Contact) Of Scorpion Venom Against Stem Borer (Sesamia nonagrioides (Lepidoptera: Noctuidae)). Veterinary Research & Biological Products, 32(2), 66-74. doi: 10.22092/VJ.2018.121654.1456

Schaloske, R. H., & Dennis, E. A. (2006). The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1761(11), 1246-1259. doi: 10.1016/j.bbalip.2006.07.011

Six, D. A., & Dennis, E. A. (2000). The expanding superfamily of phospholipase A2 enzymes: classification and characterization. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1488(1-2), 1-19. doi: 10.1016/S1388-1981(00)00105-0

Bilò, M. B., Corsi, A., Martini, M., Danieli, M. G., Alia, S., Di Paolo, A., ... & Vignini, A. (2022). Platelet-activating factor acetylhydrolase: A biomarker in Hymenoptera venom allergy?. Allergy, 77(3), 1032. doi: 10.1111/all.15161

Dehghani, R., Charkhloo, E., Seyyedi-Bidgoli, N., Chimehi, E., & Ghavami-Ghameshlo, M. (2018). A review on scorpionism in Iran. Journal of arthropod-borne diseases, 12(4), 325. doi: 10.18502/jad.v12i4.350

Dennis, E. A., Cao, J., Hsu, Y. H., Magrioti, V., & Kokotos, G. (2011). Phospholipase A2 enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention. Chemical reviews, 111(10), 6130-6185. doi: 10.1021/cr200085w

Dennis, E. A. (1997). The growing phospholipase A2 superfamily of signal transduction enzymes. Trends in biochemical sciences, 22(1), 1-2. doi: 10.1016/s0968-0004(96)20031-3

Díaz-García, A., Ruiz-Fuentes, J. L., Yglesias-Rivera, A., Rodríguez-Sánchez, H., Garlobo, Y. R., Martinez, O. F., & Castro, J. A. F. (2015). Enzymatic analysis of venom from Cuban scorpion *Rhopalurus junceus*. Journal of venom research, 6, 11.

Jalali, A., & Rahim, F. (2014). Epidemiological review of scorpion envenomation in Iran. Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR, 13(3), 743.

Jalali, A., Pipelzadeh, M. H., Sayedian, R., & Rowan, E. G. (2010). A review of epidemiological, clinical and in vitro physiological studies of envenomation by the scorpion *Hemiscorpius lepturus* (Hemiscorpiidae) in Iran. Toxicon, 55(2-3), 173-179. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.09.012. Epub 2009 Sep 30.

Kazemi, S. M., & Sabatier, J. M. (2019). Venoms of Iranian scorpions (Arachnida, Scorpiones) and their potential for drug discovery. Molecules, 24(14), 2670. doi: 10.3390/molecules24142670

Krayem, N., & Gargouri, Y. (2020). Scorpion venom phospholipases A2: A minireview. Toxicon, 184, 48-54. doi: 10.1016/j.toxicon.2020.05.020

Mouchlis, V. D., Magrioti, V., Barbayianni, E., Cermak, N., Oslund, R. C., Mavromoustakos, T. M., ... & Kokotos, G. (2011). Inhibition of secreted phospholipases A2 by 2-oxoamides based on α-amino acids: Synthesis, in vitro evaluation and molecular docking calculations. Bioorganic & medicinal chemistry, 19(2), 735-743. doi: 10.1016/j.bmc.2010.12.030

Nazari, M., Rooshanfekr, H. A., & Salabi, F. (2023a). Isolation, characterization, and biological activity of Phospholipase A2 (PLA2) and Hyaluronidase from Iranian honey bee venom (*Apis Mellifera meda*). Agricultural Biotechnology Journal, 15(2), 141-156. doi: 10.22103/JAB.2023.13636.1437

Nazari, M., Rooshanfekr, H. A., Salabi, F., Faiazy, J., Mohammadian, A., Kavoush, F. (2023b). Production of the First Effective immune Equine Serum Antivenom against Iranian honey Bees (Apis mellifera meda). Research On Animal Production, 27-43.

Ozkan, O., & Kat, I. (2005). Mesobuthus eupeus scorpionism in Sanliurfa region of Turkey. Journal of Venomous Animals

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]

Senthilkumaran, S., Meenakshisundaram, R., & Thirumalaikolundusubramanian, P. (2015). Problems and Paradoxes of Animal Toxins and the Heart. In Heart and Toxins (pp. 133-149). Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-416595-3.00004-9

Sutti, R., Tamascia, M. L., Hyslop, S., & Rocha-e-Silva, T. A. A. (2014). Purification and characterization of a hyaluronidase from venom of the spider Vitalius dubius (Araneae, Theraphosidae). Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, 20, 1-7. doi: 10.1186/1678-9199-20-2

Torabi, E., Behdani, M., Hosseininejad Chafi, M., Moazzami, R., Sabatier, J. M., Khalaj, V., ... & Pooshang Bagheri, K. (2017). Characteristics and lethality of a novel recombinant dermonecrotic venom phospholipase D from *Hemiscorpius lepturus*. Toxins, 9(3), 102. doi: 10.3390/toxins9030102

Valdez-Cruz, N. A., Batista, C. V., & Possani, L. D. (2004). Phaiodactylipin, a glycosylated heterodimeric phospholipase A2 from the venom of the scorpion *Anuroctonus phaiodactylus*. European journal of biochemistry, 271(8), 1453-1464. doi: 10.1111/j.1432-1033.2004.04047.x

Vasquez, A. M., Mouchlis, V. D., & Dennis, E. A. (2018). Review of four major distinct types of human phospholipase A2. Advances in biological regulation, 67, 212-218. doi: 10.1016/j.jbior.2017.10.009

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.203]