Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 18:30 IRDT on Tuesday June 19th 2018

مقایسه مقادیر پروتئین‌های سطحی کاندیدا با استفاده از رنگ آمیزی نقره، کوماسی بلو و مخلوط هر دو رنگ و مشاهده باندهای مربوطه با استفاده از روش SDS-PAGE

دکتر سید امیر یزدان پرست[۱]، سیده شهرزاد مهدوی نظارتی[۲]، فریبا حشمتی[۳]، سمیرا جهانگیری[٤]، زهره زارعی[٤]

چکیده

زمینه و هدف: گونه‌های کاندیدا بعنوان شایعترین عوامل بیماریهای عفونی و قارچی فرصت طلب مطرح هستند. کاندیدا آلبیکنس بعنوان نوعی قارچ پلی مورف مطرح است. کاندیدا دابلینینسیس بعلت تشابه بسیار با قارچ کاندیدا آلبیکنس حائز اهمیت است. پروتئین‌های دیواره نیز می‌توانند در ساختار دیواره وجود داشته باشند. این پروتئینها بعلت نقش در چسبندگی و اتصال به سلولهای میزبان و بیماری زایی مورد تاکید مطالعات بوده است. لذا شناخت این پروتئینها در قارچ‌های پاتوژن و استخراج و جدا سازی و تعیین اجزای آنها ضروری به نظر می‌رسد.

روش بررسی: هدف از این طرح بررسی مقادیر پروتئین‌های سطحی کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا دابلینینسیس با استفاده از سه رنگ آمیزی و مشاهده باند احتمالی آنها با روش سدیم دودسیل سولفات- پلی آکریل آمید(SDS-PAGE) به منظور شناخت بیشتر این قارچهای بیماریزا می‌باشد. همچنین با استفاده از بافرکربنات آمونیوم که شامل بتامرکاپتواتانول است پروتئینهای سطحی کاندیدا استخراج می‌شوند و پس از استخراج انجام دیالیز نیز ضروری است.

یافته‌ها: با رنگ آمیزی کوماسی بلو پروتئینهایی با وزن مولکولی٤۲ و ٦٦/۲ و۲۰۰ kDa و در رنگ آمیزی با نقره پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ۲۱/۵ و ۲۸/۵ و۳۷ kDa و با استفاده از رنگ آمیزی توام کوماسی بلو و نقره پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ۲۷ و ۳۵ و٤۰ و ٤۵ و۵۲ و ۸۰ و ۹۷ kDa تشخیص داده شد.

نتیجه‌گیری: با رنگ آمیزی کوماسی بلو پروتئینهایی با وزن مولکولی بالا و در رنگ آمیزی با نقره پروتئینهایی با وزن مولکولی پایین و با مخلوط هر دو رنگ بیشتر باندهای پروتئین مشاهده شدند.

واژه‌های کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، استخراج پروتئین، SDS-PAGE

* نویسنده مسئول :
دکتر سید امیر یزدان پرست ؛
دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
Email :
Syazdanparast@tums.ac.ir

- دریافت مقاله : مهر ۱۳۹۰ - پذیرش مقاله : دی ۱۳۹۰

مقدمه

کاندیدا آلبیکنس یک قارچ فرصت طلب است که به صورت چند شکلی می‌باشد و شایعترین عامل کاندیدیازیس است.

کاندیدا دابلینینسیس اولین بار در سال ۱۹۹۵ توسط سولیوان(Sullivan) شرح داده شد. بـه طور عمده از حفره دهانی افراد مبتلا به ویروسHIV جدا می‌شود و از نظر خصوصیات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی شبیه کاندیدا آلبیکنس می‌باشد(۲-۱).

[۱] دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] کارشناس ارشد میکروبیولوژی گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
[۳] کارشناس ارشد میکروبیولوژی گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[٤] کارشناس علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 18:30 IRDT on Tuesday June 19th 2018

پروتئینهای دیواره سلولی به دلیل نقش چسبندگی‌شان حائز اهمیت هستند. این پروتئینها نقش در نگهداری ساختار و چسبندگی غیرمستقیم دارند. از پروتئینهای سطحی در دیواره قارچها می‌توان Vitronectin binding proteins و fibronectin binding proteins و همچنین Laminin binding proteins و Entactin binding proteins و نیز Protein-presumed protein را اشاره کرد. پروتئین شوک حرارتی از پروتیئنهای مهم در قارچها است که قادرند با اتصال و نگهداری از دیگر پروتئینهای مهم حیات سلولها را نجات دهند(٤-٣). هدف از این کار تحقیقاتی، شناخت این پروتئین‌ها در قارچ‌های پاتوژن و استخراج، جداسازی و تعیین اجزای آنهاست.

روش بررسی

جامعه و نمونه پژوهش، گونه‌های کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا دابلینینسیس بودند که باتوجه به اینکه از گونه‌های استاندارد استفاده شد، نیازی به انجام نمونه گیری نبوده است و حجم نمونه در این تحقیق، گونه کاندیدا آلبیکنس سویه CBS 562 و کاندیدا آلبیکنس سویهPTCC 6027 و کاندیدا دابلینسیس سویه CBS 7987 بوده است.

کشت ارگانیسم: ابتدا سلولهای مخمری سویه CBS 562 و سویه PTCC 6027 در محیط پایه نیتروژن(YNB) به همراه سه اسید امینه تریپتوفان و متیونین و هیستیدین کشت داده شد. سپس این دو سویه یکبار در(YNB) به همراه گالاکتوز ۰/۳ مولار برده شد و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور شیکردار بادور 150rpm قرار داده شد و بار دیگر آنها در محیط YNB به همراه ۰/۱ مولار گلوکز و ۰/۳ مولار گالاکتوز به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۲۳- ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. بعد از یک شبانه روز در لوله‌های فالکن حاوی گالاکتوز + گلوکز و لوله‌های حاوی گالاکتوز سانتریفوژ انجام گرفت. مشابه همین عمل در مورد کاندیدا دابلینسیس صورت گرفت(۵).

استخراج پروتئین: استخراج پروتئین به روش بتامرکاپتواتانول بدین صورت که محیط کشت در دور ۲۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و مایع رویی دور ریخته شد سپس رسوب دو نوبت با آب مقطر استریل شستشو داده شد و سلولهای شسته شده را در محلول کربنات آمونیوم ۱/۸۹ گرم بر لیتر و بتامرکاپتو اتانول ۱٪ معلق گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. بعد از سانتریفوژ مایع رویی(سوپرناتانت) به دقت جمع آوری شد و عصاره استخراج شده(با فیلتر۰/۲) در برابر بافر تریس-HCL به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتیگراد دیالیز شد(٦). سنجش میزان غلظت پروتئین در هر نمونه با بکارگیری آزمون بردفورد انجام شد(۷).

SDS-PAGE: بررسی باندهای پروتئینی با استفاده از روش الکتروفورز SDS-PAGE انجام شد و با تعیین وزن مولکولی تغییرات مربوط به هریک از کاندیداها مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت(۸). این روش در ابتدا توسط لاملی در سال۱۹۷۰ و سپس توسط کازانوا در سال ۱۹۸۹ انجام شد(۸و٦). SDS-PAGE در ژلوز separating به میزان ۱۲/۵ درصد W/V و در ژلوز stacking به میزان ٤ درصد W/V با ولتاژ ثابت ٦٥v انجام گرفت. برای الکتروفورز هر کاندیدا، سه ژل آماده سازی شد و در هر ستون ژل ۲۰mg از پروتئینهای سطحی استخراج شد.

رنگ آمیزی: بعد از الکتروفورز، هرکدام از سه سری ژل قارچ به طور جداگانه تحت رنگ آمیزی با نقره با استفاده از روش Chaffin و همکاران(Bio-Rad Labratories,Hercules ,CA) و با کوماسی بلو ۰/۱ درصد R-250(CBB;Sigma) برطبق روش Lee و همکاران با مخلوطی از رنگ نقره

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 18:30 IRDT on Tuesday June 19th 2018

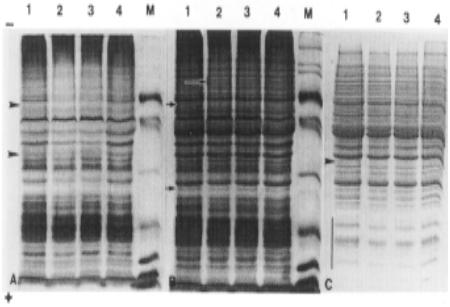
به همراه کوماسی بلو با استفاده از مشاهدات Joseba Chaffin, رنگ آمیزی شدند و سپس در محلول رنگ بر حاوی۴۰ ٪ متانول و ۷٪ اسید استیک به مدت یک شبانه روز قرار گرفتند(۹و۵-۴).

پس از آن مراحل انتقال الکتروفورزی پروتئینها به کاغذ نیتروسلولزی انجام شد. سپس کاغذ با ۳٪ شیرخشک در TBS به مدت ۲ ساعت مسدود شد و در TBS+0.05 %Tween-20 شستشو داده شد. کاغذ با آنتی بادی مونوکلونال موش کلاس IgG-2a انکوبه شد. از پروتئین شوک حرارتی ۷۰(Stressgen Biotechnologies, Victoria, BC, Canada) در رقت ۱:۵۰۰ به عنوان شاهد استفاده شد. همچنین از کونژوگه پراکسیداز با Anti-IgG Boehringer (Mannheim, Biochemicals, Indianapolis,IN) به عنوان دومین آنتی بادی در رقت۱:۱۰۰۰ استفاده شد(۸). از مارکر Bio-Rad استفاده شد(جهت تعیین موقعیت مارکر های بیوتینه شده در غشا).

این مارکر از بالا به پایین برحسب kDa به ترتیب شامل: میوزین با وزن مولکولی(۲۰۰) و بتاگالاکتوزیداز(۱۱۶) و فسفوریلازb(۹۷/۴) و آلبومین سرم گاوی(۶۶/۲) اوالبومین(۴۵) و کربونیک انهیدراز(۳۱) و مهار کننده تریپسین(۲۱/۵) است.

یافته‌ها

در رنگ آمیزی با کوماسی برلیانت بلو در کاندیدا آلبیکنس سویه PTCC 6027 پروتئینی با وزن مولکولی بالا حدودkDa ۶۶/۲(شکلC-۱)، در کاندیدا آلبیکنس سویه CBS 562 پروتئینی با وزن مولکولی بالا حدودkDa ۴۲(شکلC-۲) در کاندیدا دابلینسیس سویه CBS 7987 پروتئینی با وزن مولکولی بالا kDa ۲۰۰(شکلB-۳)، در رنگ آمیزی نقره در کاندیدا آلبیکنس سویه 6027 پروتئین با وزن مولکولی پایین kDa ۲۸/۵(شکلA-۱)، در کاندیدا آلبیکنس سویه 562 پروتئین با وزن مولکولی پایین kDa ۳۷(شکلA-۲) و همچنین در کاندیدا دابیلینینسیس سویه 7987پروتئین با وزن مولکولی kDa ۲۱/۵(شکلA-۳ ستون ۴و۵و۶و۷و۸) مشاهده شدند. در رنگ آمیزی با مخلوطی از نقره و کوماسی برلیانت بلودرکاندیدا آلبیکنس سویه 6027 پروتئینهایی با وزن مولکولی۸۰ و۴۵ و kDa۲۷(شکلB-۱)، در کاندیدا آلبیکنس سویه 562 پروتئینهایی با وزن مولکولی ۳۵ و۴۰ و۵۲ kDa(شکلB-۲) و در کاندیدا دابیلینسیس سویه 7987 پروتئینهایی با وزن مولکولی ۳۵ و۴۵ وkDa ۹۷(شکل A-۳ ستون ۱و۲و۳) مشاهده شدند. به نظر می‌رسد رنگ آمیزی مضاعف سبب بهبود در ردیابی باندهای پروتئینی شد. پروتئین‌های اسیدی نسبت به سایر پروتئینها سریعتر رنگ شدند که تنها به فراوانی این پروتئین‌ها مربوط نمی‌باشد بلکه ممکن است به ساختمان پروتئین مرتبط باشد. پروتئینهای با وزن مولکولی بین ۳۰-۲۰۶ kDa بویژه پروتئین‌های اسیدی با رنگ آمیزی نقره شناسایی نمی‌شوند. همچنین پروتئینهای بسیاری با رنگ آمیزی کوماسی به تنهایی ردیابی نمی‌شوند. اما ترکیب دو رنگ آمیزی سبب افزایش باندهای پروتئین در ژل‌ها گشت. سه ژل با کوماسی بلو و نقره و با مخلوطی از هر دو رنگ(نقره و کوماسی بلو) رنگ آمیزی شدند. مقایسه پروتوکل رنگ آمیزی نشان داد که تشخیص باندهای موجود در هر نمونه بر اساس وزن مولکولی آنها می‌باشد.

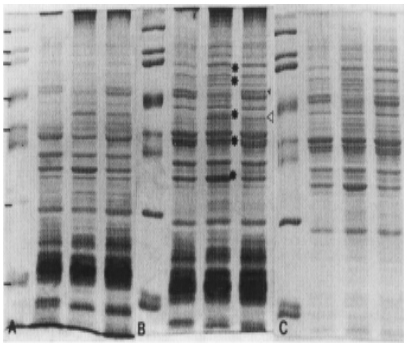


شکل ۱: کاندیدا آلبیکنس سویهPTCC 6027

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 18:30 IRDT on Tuesday June 19th 2018

بخش A: ژل رنگ آمیزی شده با نقره بخش B : ژل رنگ آمیزی شده با مخلوطی از هر دو رنگ
بخش C : ژل رنگ آمیزی شده با کوماسی برلیانت بلو

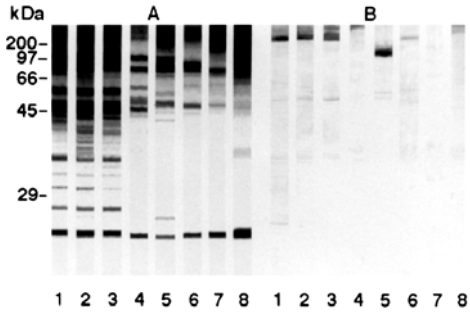
پیکانهای بالایی موجود در بخش A و C نشان دهنده رنگ آمیزی ضعیف باندها با استفاده از رنگ آمیزی تکی است. پیکان بالایی در بخش B بیانگر رنگ آمیزی قوی باندها با مخلوط دورنگ(نقره و کوماسی برلیانت بلو) است.



شکل ۲: کاندیدا آلبیکنس سویه CBS 562

بخش A : رنگ آمیزی با نقره بخش B : مخلوطی از دو رنگ(نقره و کوماسی بلو) بخشC : رنگ آمیزی با کوماسی بلو

ستاره‌های موجود در شکل ۲ بیانگر ردیابی باندهای پروتئین است. ستون دوم در بخش B باندهای قوی تر با وزن مولکولی(KDa ۳۵ و ٤٠ و٥٢) مشخص‌اند.



شکل ۳: کاندیدا دابیلینسیس سویه CBS 7987

بخش A: ستون ۱و۲و۳ رنگ آمیزی شده با مخلوطی از هر دو رنگ. ستون٤و٥و٦و٧و٨ رنگ آمیزی با نقره
بخش B: همه ستون‌ها رنگ آمیزی شده با کوماسی برلیانت بلو

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش در طی استفاده از رنگ آمیزی کوماسی بلو برای نشان دادن مقادیر و نوع پروتئین‌های موجود در قارچ کاندیدا، وجود پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ٦٦،٢٠٠/٤٢،٢ kDa را نشان داد. نتایج تحقیقات Lee و همکاران(۱۹۷۵) با استفاده از این رنگ آمیزی، پروتئین با وزن مولکولی ٤٢ و ٤٣ kDa را در کاندیدا آلبیکنس سویه A3153 شناسایی کردند(۹). وجود پروتئین ٤٢ kDa در

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 18:30 IRDT on Tuesday June 19th 2018

سویه‌های مورد استفاده این تحقیق و تحقیق Lee هم خوانی دارد، اما دو پروتئین ٦٦/٢ و٢٠٠ در سویه PTCC 6027 و CBS 562 مشاهده شد که در تحقیق Lee گزارش نشده و این تفاوت به نظر می‌رسد که مربوط به تفاوت استرین‌ها باشد و بررسی با تهیه نمونه بیشتر ضروری به نظر می‌رسد. Casanova و همکاران(١٩٩١) با استفاده از کوماسی بلو پروتئینهایی با وزن مولکولی ٨٠ تا١٤٠ kDa را در کاندیدا آلبیکنس سویه ATCC 26555 مشاهده نمودند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد(١٠).

همچنین نتایج به دست آمده از این تحقیق طی استفاده از رنگ آمیزی نقره وجود پروتئینهایی با وزن مولکولی ٢١/٥ و ٢٨/٥ و٣٧ kDa را نشان داد. نتایج Chaffin و همکاران(١٩٩٨) با این رنگ آمیزی پروتئینهایی با وزن ٢١/٥ تا ٢٥ kDa را کاندیدا آلبیکنس سویه ATTC 44807 و کاندیدا آلبیکنس سویه NCPF 3153 نشان دادند(٥).

وجود پروتئین kDa٢١/٥ در سویه‌های مورد استفاده این تحقیق و تحقیق Chaffin هم سویی دارد، اما دو پروتئین ٢٨/٥ و٣٧ kDa در سویه PTCC 6027 و CBS 562 شناسایی شدند که در تحقیق Chaffin مشاهده نشد.

این تفاوت نیز ممکن است مرتبط به اختلاف سویه‌های قارچی باشد. از سوی دیگر با استفاده از رنگ آمیزی مضاعف (مخلوطی از رنگ آمیزی نقره و کوماسی بلو) پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ٢٧ و٣٥ و٤٠ و٤٥ و٥٢ و٨٠ و٩٧ kDa در کاندیدا آلبیکنس و دابلینسیس مشاهده شد و این نتایج با نتایج تحقیقاتChaffin و همکاران(١٩٩٨) که از این رنگ آمیزی استفاده نمودند همخوانی دارد، زیرا آنها نیز پروتئینهایی با وزن مولکولی ٣٥ و٤٠ و٤٥ و٥٢ و٨٠ kDa را در کاندیدا آلبیکنس نشان دادند(٥). اما دو پروتئین ٢٧و٩٧ kDa در تحقیق Joseba, chaffin شناسایی نشدند که به نظر می‌رسد مربوط به اختلاف استرین باشد. همچنین روش رنگ آمیزی نقره و کوماسی برلیانت بلو تعداد پروتئینهای ردیابی شده را افزایش می‌دهد. این افزایش به نظر می‌رسد از دو منبع گرفته شده است. پاک سازی رنگ از پروتئین‌های بازی و اسیدی در ژل مشابه ردیابی شد . ثانیا در رنگ آمیزی تکی نقاط رنگ کمتری گرفتند. ترکیب رنگ آمیزی نقره و کوماسی برلیانت بلو از پروتئین‌های دیواره سلولی دو مزیت دارد: ردیابی پروتئین‌هایی که با رنگ آمیزی تکی مشاهده نشدند و افزایش ردیابی پروتئین‌هایی که با رنگ آمیزی تکی دیده نشدند و افزایش ردیابی پروتئین‌هایی که به طور ضعیف رنگ آمیزی شدند، می‌توان نتیجه گرفت که رنگ آمیزی اصلاح شده در شناسایی بهتر پروتئین‌های قارچی کمک می‌کند(١٢-١١).

با بررسی‌های بیشتر بر روی پروتئینهای موجود و استفاده از سرم افراد مبتلا به کاندیدیازیس یا در کلنی‌های کاندیدا می‌توان به مکانیسم دقیق بیماریزایی و شاید راهکارهایی برای تولید واکسن ضد قارچی دست یافت(١٤-١٣).

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله از مساعدت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت انجام این پروژه تحقیقاتی کمال تشکر را دارند. همچنین از همکاران محترم در مرکز تحقیقات سلولی– مولکولی دانشگاه و نیز از آقای دکتر حمید بدلی به خاطر اهدای سوش قارچی کاندیدا دابلینینسیس از دانشگاه آمستردام سپاسگزاری می‌نمایند.

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 18:30 IRDT on Tuesday June 19th 2018

منابع

1.Yazdanparast SA. Medical Mycology. Tehran: Jahad Daneshgahi; 2007: 206-7[Book in Persian].

2. Denning DW, Follansbee SE, Scolaro M, Norris S, Edelstein H, Stevens DA. Pulmonary aspergillosis in the acquired immunodeficiency syndrome. N Engl J Med 1991; 324(10): 654-62.

3. Moseley PL. Heat shock proteins and heat adaptation of the whole organism. J Applied Physiology 1997; 83(5): 1413-7.

4. Boorstein WR, Ziegelhoffer T, Craig EA. Molecular evolution of the HSP70 multigene family. J Mol Evol 1994; 38(1): 1-17.

5.Chaffin WL, Lopez Ribot JL, Casanova M, Gozalbo D, Martinez JP. Cell wall and secreted proteins of Candida albicans: identification, function, and expression . Mol Biol Rev 1998; 62(3): 130-80.

6. Casanova M, Chaffin WL. Cell wall Glycoproteins of Candida albicans as released by different methods. J Gen Microbiol 1991; 137(5): 1045-51.

7.Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72(2): 248-54.

8. Laemmli UK. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. Nature 1970; 227(3): 680-5.

9.Lee KL, Buckley HR, Camobell CC. An amino acid liquid synthetic medium for development of mycelia and yeast forms of Candida albicans. Sabouraudia 1975; 13(2): 148-53.

10. Casanova M, Chaffin WL. Phosphate-containing proteins and glycoproteins of the cell wall of candida albicans. Infect Immun 1991; 59(3): 808-13.

11. De Moreno MR, Smith JF, Smith RV. Silver staining of proteins in polyacrylamide gels: increased sensitivity through a combined Coomassie blue-silver stain procedure. Anal Biochem 1985; 151(2): 466-70.

12. Dzandu JK, Deh ME, Barraatt DL, Wise GE. Detection of erythrocyte membrane proteins, sialoglycoproteins, and lipids in the same polyacrylamide gel using a double-staining technique. Proc Natl Acad Sci USA 1984; 81(6): 1733-7.

13. Cybulsk Zefiryn, krzeminska elzbieta, Majewski Przemyslaw. Enzyme Production and Biotypes of vaginal Candida albicans. Pelish Journal of Microbiology 2005; 54(3): 227-31.

14. Davis leigh E, Shields christen E, Merz William G. Use of a commercial reagent leads to reduced germ tube production Candida dubliniensis. J Clin Microbial 2005; 43(5): 2465-6.

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 18:30 IRDT on Tuesday June 19th 2018

Examining Cell Wall Proteins In Candida Albicans And Candida Dubliniensis By Using Sodium DodecyleSulphate Gel Electrophoresis & Modified Staining Method

Yazdanparast Seyed Amir[1](PHD) - Mahdavi Nezarati Seyedeh Shahrzad[2](MSc.) Heshmati Fariba[3](MSc.) - Jahangiri Samira[4](BSc.) - Zarei Zohreh[4](BSc.)

1Associate Professor in Medical Laboratory Sciences Department, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2 Master of Science in Microbiology, Medical Microbiology Department, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran
3 Master of Science in Microbiology, Medical Laboratory Sciences Department, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4 Bachelor of Science in Medical Laboratory, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Received : Oct 2011
Accepted : Jan 2012

Background and Aim: Candida species are among the most common causes of opportunistic fungal diseases. Among Candida species, Candida albicans is responsible for most infections. Having many strains, C.albicans is highly polymorph. C. dubliniensis is very similar to albicans species both morphologically and physiologically. For an infection to occur, cell wall proteins play an important role as they enable yeasts to adhere to host cells and begin pathogenesis. Therefore, we decided to extract these proteins and examine them through molecular methods of protein analysis. Finally we came up with the idea of a modified staining in our analysis.

Materials and Methods: Initially cell wall proteins of two C. albicansstrains (CBS 562 & PTCC6027) and one C. dubliniensis strain (CBS 7987) were extracted by using a solution of beta-mercaptoethanol and ammonium carbonate. After dialysis, SDS gel electrophoresis was performed on the protein extract. Bands were then visualized by using three different staining methods among which one method was modified by us.

Results: By using Coomassie Brilliant Blue staining method, proteins with molecular weight of 42, 66.2 and 200 kDa were detected. By using Silver staining method, proteins with molecular weight of 21.5, 28.5 and 37 kDa were detected. However, using combined staining methods visualized more bands resulting improved detection.

Conclusion: To answer many questions about fungal diseases, fungi cell wall proteins are necessary to be examined. A simple method to enhance such molecular studies is the use of a modified staining method that combines both Coomassie Brilliant Blue and Silver staining.

Key words: Candida Albicans, C.Dubliniensis, Protein Extraction, SDS- PAGE

*** Corresponding author:**
Yazdanparast SA;
E -mail:
Syazdanparast@tums.ac.ir