تتشرف كلية الدراسات العليا وكلية الطب والعلوم الصحية بدعوتكم لحضور

مناقشة أطروحة الدكتوراه

العنوان

تحديد مواقع الارتباط للبروتين الفيروسي $Pr78^{GAG}$ على الحمض النووي الريبوزي (gRNA) لفيروس القرد مايسون-فايزر (MPMV) ودوره في التجميع الانتقائي

للطالب

فاطمة نزرا نجور بتشاي

المشرف

طاهر أ رزقي

المكان والزمان

عبر الأنترنت (افتراضية) 3 مساءً

الاثنين 12 أبريل 2021

الملخص

يعتبر التجميع الانتقائي هو أحد الخطوات الرئيسية في دورة حياة الفيروسات الارتجاعية لدمج المادة الوراثية للفيروس (الحمض النووي الريبوزي (gRNA) من بين خليط من الاحماض النووية الريبوزية الخلوية والفيروسية لتكوين فيروسات جديدة. ويتضمن التجميع الانتقائي ارتباط البروتين الفيروسي Gag بالتسلسل الجيني المتواجد في النهاية '5 من المادة الوراثية للفيروس، وهو ما يعرف بمحددات التجميع. ولقد كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد مواقع ارتباط البروتين الفيروسي Gag ($Pr78^{Gag}$) مع gRNA لفيروس القرد مايسون-فايزر (MPMV) ، وهوفيروس مرشح للاستخدام في تطوير نواقل آمنة للعلاج الجيني في البشر. لتحقيق هذه الغاية، تم استنساخ البروتين الفيروسي MPMV $Pr78^{Gag}$-His_6 والتعبير عنه في الخلايا البكتيرية، ثم تنقيته من الجزء القابل للذوبان باستخدام كروماتوغرافيا تقارب أيونات المعدن الثابت (IMAC) متبوعًا بكروماتوغرافيا الاستبعاد عن طريق اختلاف الحجوم (SEC). ولقد تم تحديد النشاط البيولوجي للبروتين المنقى من خلال إبراز قدرته على تجميع جزيئات شبيهة بالفيروسات (VLPs). في حين تم تأكيد قدرة هذا البروتين على جمع وتغليف جزيئات RNA الفرعية التابعة لفيروس MPMV في الخلايا حقيقية النواة. وأظهرت فحوصات تحول النطاق التنافسي ارتباط $Pr78^{Gag}$ بجزيئات RNA الفيروسي غير المقسم على الأخص على الرغم من وجود جزيئات RNA المقسمة. وتم إجراء فحوصات تحول نطاق تنافسية أخرى باستخدام طفرات في مناطق غنية بالبيورين والتي تتكون من امتدادات لحوالي 16 نيوكليوتيد من البيورينات الاحادية ($U^{191}UAAAAGUGAAAGUAA^{206}$; ssPurines) ومنطقة غنية بالبيورين المقترنة جزئيًا ($G^{246}AAAGUAA^{253}$; bpPurines) ، والتي تعرف بأهميتها في تجميع gRNA لفيروس ال MPMV. وللتعيين بدقة مواقع ارتباط بروتين ال $Pr78^{Gag}$ على gRNA لفيروس ال MPMV، تم إجراء تجارب بصمة للمركب Gag-RNA متبوعة بتقنية الأسيلة الانتقائية ذات الإنتاج العالية ل '2 هيدروكسيل و تحليلها بواسطة hSHAPE. كشفت نتائج هذه التقنية أن بروتين $Pr78^{Gag}$ يرتبط بـ ssPurines، وحلقة ال $A^{252}AGUGUU^{258}$، وهي عبارة عن اثنين من بقايا الأدينوسين غير المتزاوجة من bpPurines والمنطقة المجاورة المسماة "بالمنطقة الغنية بال GU ($G^{254}UGUU^{258}$) " ، وكلاهما يحيط بالمنطقة المانحة الرئيسة (major splice donor). وعلى ذلك، فإن ssPurines موجودة على كل من جزيئات gRNA (غير مقسّمة) وجزيئات RNA مقسّمة تابعة للفيروس. بينما تقع حلقة $A^{252}AGUGUU^{258}$ فقط على gRNA، و هذا يظهر كيفية فرزالفيروس MPMV بين gRNA وجزيئات RNA المقسّمة. بشكل عام، تكشف هذه الدراسة كيف يرتبط بروتين فيروسMPMV $Pr78^{Gag}$ إلى الحلقتين المفردتين (ssPurines وحلقة $A^{252}AGUGUU^{258}$) للتمييزخلال الجمع و التغليف بين gRNA وجزيئات RNA الأخرى المقسمة. وتكمن أهمية هذه الدراسة في فهم تجميع الفيروسات وتسهيل تطوير ناقلات للجينات العلاجية من الفيروسات الارتجاعية للاستخدام الآمن والفعال في البشر.

كلمات البحث الرئيسية: الفيروسات الارتجاعية، فيروس القرد مايسون-فايزر (MPMV)، بروتين $Pr78^{Gag}$، الحمض النووي الريبوزي gRNA، ارتباط Gag-RNA ، جمع وتغليف RNA، البيورينات، البصمة، تقنية hSHAPE.