

تتشرف كلية الدراسات العليا و كلية الطب و العلوم الصحية بدعوتكم لحضور  
مناقشة أطروحة الدكتوراه

العنوان

تحديد وتوصيف قدرة فيروس ورم الثدي في الفئران (MMTV) على تعطيل التعبير الجيني  
للخلايا الظهارية الثديية وتداعياتها

للطالبة

نيناج. بانينكر

المشرفة

د. فرح مصطفى، قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الجزيئية  
كلية الطب و العلوم الصحية

المكان والزمان

10:00 صباحا

الخميس، 2 مايو 2024

مسرح فاطمة، الطابق الثاني، مبنى كلية الطب و العلوم الصحية

عبر الإنترنت

[Join with ZOOM](#) or 845 2310 9878

الملخص

فيروس الورم الثديي عند الفئران (MMTV)، هو فيروس ارتجاعي معروف بأنه يسبب سرطان الثدي لدى الفئران. على عكس معظم الفيروسات الارتجاعية المسببة للأورام الأخرى التي تستهدف الخلايا المكونة للدم، يستهدف فيروس ال MMTV في المقام الأول الخلايا الظهارية الثديية لحدوث العدوى والتحول. وهذا يجعله نموذجًا قيمًا لدراسة سرطان الثدي البشري، والذي ينشأ أيضًا من الخلايا الظهارية. ينتقل فيروس ال MMTV من خلال الحليب، مع حدوث أعلى تعبير في الغدد الثديية بسبب العناصر المستجيبة للهرمونات (HREs). أجرينا هذه الدراسة لكشف العلاقة المعقدة بين فيروس ال MMTV والخلايا الظهارية الثديية. نظرًا لأن الحث الهرموني المرتفع أثناء الحمل / الرضاعة يعزز تعبير ال MMTV، فقد استخدمنا الخلايا الظهارية الثديية للفأر HC11، والتي يمكن تمييزها بواسطة البرولاكتين، لاستكشاف كيفية تأثير فيروس ال MMTV على تعبيرها الجيني في الحالات الطبيعية والمتباينة. تقترح الفرضية قيد الاختبار أن فيروس ال MMTV قد يعزز تمايز الخلايا، مما يزيد من التعبير الفيروسي / الكمي للانتقال إلى السلالات.

لاختبار هذه الفرضية، أنشأنا خط خلايا HC11 مستقرًا يعبر بشكل أساسي عن فيروس ال MMTV ونجحنا في التمييز بين هذه الخلايا من خلال بروتوكولات مختلفة. كشف تحليل ال mRNAseq للخلايا غير المتميزة والمتميزة عن قدرة ال MMTV المدهشة على تحفيز تثبيط التنظيم لـ ~ 74 و 70% من الجينات المضيفة، على التوالي. تم استخدام النسخ العكسي الكمي (RT-qPCR) للتأكد من صحة التعبير المعطل لعلامات التمايز الرئيسية،  $\beta$ -الكازين وبروتين مصّل اللبن الحمضي (WAP)، مع تثبيط شبه كامل لـ  $\beta$ -الكازين الذي كان محيرًا للغاية. كما قام فيروس ال MMTV أيضًا بتنظيم مسار إشارات البرولاكتين، ولا سيما تعبير مستقبلات البرولاكتين، بغض النظر عن حالة تمايز الخلايا. للتعمق أكثر في تأثير ال MMTV على التعبير عن مستقبلات البرولاكتين، تم استنساخ المحفزات الثلاثة المعروفة لمستقبلات البرولاكتين في المراحل الأولى من جين luciferase (Luc) واختبارها في خلايا HC11 و MMTV HC11. كشفت هذه التجارب عن تقليل تنظيم تعبير ال Luc من قبل المحفز في وجود فيروس ال MMTV. حدد اختبار الجينات الفردية لل MMTV، ان غلاف ال MMTV (env) باعتباره مسؤولاً عن قمع محفز مستقبل البرولاكتين، وهو تثبيط تم عكسه عند حذف ال env، مما يؤكد دوره في هذه العملية. نظرًا للتنظيم العالمي للتعبير الجيني الناجم عن فيروس ال MMTV، اكتشفنا تعديل ال MMTV المحتمل للـ epigenetics في خلايا ال HC11. أشارت بيانات ال mRNAseq الخاصة بنا إلى حدوث ارتفاع كبير في *de novo* DNMT3L DNA methyltransferase، وهو ما أكدته تحليل ال western blot. ان الهبوط الذي سببه ال siRNA لـ DNMT3L بعد إعادة نشاط محفزات مستقبلات البرولاكتين، ما يشير إلى تورطها في تثبيط التعبير الجيني العالمي الناجم عن MMTV.

بمقارنة بيانات ال mRNAseq الخاصة بنا مع نماذج سرطان الثدي المستحثة بواسطة الجينات المسرطنة PyMT و Wnt التي يعبر عنها MMTV LTR، وجدنا أوجه تشابه مذهلة مع نتائجنا. في نموذج PyMT، تم إحداث تنظيم عالمي مماثل للتعبير الجيني خلال أربع مراحل من تطور الورم (حوالي 63-69%)، والذي ارتبط بشكل لافت للنظر مع تنظيم ال DNMT1، methyltransferase. وبالمثل، كشفت المقارنة مع نموذج Wnt1 عن تنشيط مسار Wnt1 بواسطة ال MMTV بشكل مستقل عن الطفرات الإدراجية عن طريق تنظيم التعبير عن المنشطات وخفض تنظيم التعبير عن مثبطات المسار. تشير هذه البيانات مجتمعة إلى أن التثبيط العالمي للتعبير الجيني الناجم عن فيروس ال MMTV في الخلايا الظهارية الثديية لا يهيئ هذه الخلايا للتحول فحسب، بل يسمح أيضًا للفيروس بتغيير تركيبة البروتين في حليب الثدي الفئران بحيث يتم استخدام المزيد من البات الخلية لصنع جزيئات فيروسية بدلاً من الكازين؛ ومع ذلك، يظل محتوى مصّل اللبن ثابتًا لتوفير التغذية الكافية لصغار الفئران. وهذا من شأنه أن يسمح بانتقال الفيروس بكفاءة إلى النسل دون المساس بصحة الصغير. ومن المثير للاهتمام، أنه تم الإبلاغ عن ملاحظة مماثلة حيث يمنع فيروس سرطان الدم البقري، وهو فيروس آخر ينتقل عن طريق الحليب، تخليق الكازين في الخلايا الظهارية الثديية، بغض النظر عما إذا كانت الخلايا الظهارية من أصل بقري أو فأر. وهكذا، تكشف دراستنا كيف يعطل فيروس ال MMTV المسارات الجزيئية المسؤولة عن نمو الخلايا الظهارية وتمايزها للحث على تحول الخلايا وتغيير تكوين حليب الثدي لتعزيز انتقال الفيروس إلى النسل. وبالنظر إلى احتمال عبور فيروس ال MMTV حاجز الأنواع إلى البشر، إذا ثبتت صحتها، فإن دراستنا لها آثار مباشرة على سرطان الثدي البشري أيضًا.

**كلمات البحث الرئيسية:** الفيروسات الارتجاعية؛ فيروس الورم الثديي الفأري (MMTV)؛ التمايز؛ خلايا ال HC11؛ البرولاكتين؛ مستقبل البرولاكتين؛ بيثا الكازين؛ بروتين مصّل اللبن الحمضي؛ DNMT3L.