

تتشرف كلية الدراسات العليا وكلية الطب والعلوم الصحية بدعوتكم لحضور

مناقشة أطروحة الدكتوراه

العنوان

فهم آليات تجميع الحمض النووي الريبوزي لفيروس ال MMTV من خلال تحديد مواقع ربط بروتين ال Pr77^{Gag} والمتضمن أثناء عملية التجميع الانتقائي

للطالب

أكيل شاميتاشال

المشرف

ا.د. طاهر رزفي

المكان والزمان

2 مساءً

الثلاثاء 15 يونيو 2021

الملخص

يعد التجميع الانتقائي و / أو تغليف الحمض النووي الريبوزي الجيني للفيروسات الارتجاعية (gRNA) بواسطة بروتين Gag أثناء عملية تكوين الفيروس، خطوة حاسمة لتوليد جزيئات الفيروس المعدية. على الرغم من دراستها على نطاق واسع، إلا أن الآلية التي من خلالها يختار بروتين ال Gag ، الحمض النووي الريبوزي الخاص بالفيروس من بين الأحماض النووية الريبوزية الأخرى المتواجدة في الخلية، غير واضحة إلى حد كبير. لذلك، لفهم الآلية (الآليات) الجزيئية لتجميع الحمض النووي الريبوزي (gRNA) لفيروس ال (MMTV)، كخطوة أولى، تم التعبير عن بروتين الاندماج ال Pr77^{Gag}-His6-tag كامل الطول في البكتيريا. ثم بعد ذلك، تم تنقية البروتين من الأجزاء القابلة للذوبان باستخدام كروماتوغرافيا تقارب ايونات المعدن الثابت (IMAC) وكروماتوغرافيا الاستبعاد عن طريق اختلاف الحجم (SEC).

احتفظ البروتين المنقى ال Pr77^{Gag}-His6-tag بالقدرة على التجميع في المختبر في جزيئات تشبه الفيروسات (VLPs). وفي نفس السياق الموازي، يمكن لجزيئات ال VLPs المصنوعة بعد التعبير عن بروتين الاندماج ال Pr77^{Gag}-His6-tag في الخلايا حقيقية النواة أن تقوم بتجميع الحمض النووي الريبوزي الخاص بفيروس ال MMTV. بعد ذلك، حددت اختبارات ربط الحمض النووي الريبوزي (gRNA) وتجارب البصمة باستخدام البروتين المنقى وتجارب تجميع ال gRNA الخلوية موقعين مهمين وغير متكررين لربط ال Pr77^{Gag}. تشمل مواقع الربط هذه: (1) امتدادًا من البيورينات في شكل حلقة مجاورة مباشرة لحلقة موقع البدء (DIS)، وبالتالي تشكل بنية حلقة جذعية متشعبة و (2) موقع الربط التمهيدي (PBS). على الرغم من وجود إشارات التجميع على كل من RNAs المقسمة وغير المقسمة، فإن Pr77^{Gag} مرتبط على وجه التحديد بال RNA غير المقسم، وهو الوحيد الذي يمكنه التعرف والارتباط ببنية الحلقة الجذعية الأصلية المتشعبة.

توضح هذه الدراسة الحد الأدنى من عناصر التجميع الانتقائي على المستويين التسلسلي والهيكلية المطلوب لبدء تجميع ال gRNA الخاص بفيروس ال MMTV. على عكس المناطق الغنية بالبيورين، لم يتم توثيق المشاركة المباشرة لل PBS في تجميع الحمض النووي الريبوزي في الفيروسات الارتجاعية. تضيف هذه النتائج إلى معرفتنا بعمليات التجميع الانتقائي في الفيروسات الارتجاعية، مما يجعلها وسيلة محتملة للطرق العلاجية الجديدة بالإضافة إلى القدرة على تطوير نواقل للعلاج الجيني أكثر فعالية وأمان.

الكلمات الرئيسية: الفيروسات الارتجاعية، فيروس الاورام الثديية للفران (MMTV)، تفاعل البروتين مع ال RNA، تجميع الفيروس، التعبير عن البروتين، تجميع وتغليف ال RNA، تفاعلات ال RNA-Gag، Pr77^{Gag}، البصمة، التسلسل الغني بالبيورين.