

بررسی مولکولی فعالیت پروتئولیتیکی پروتئین 3C در پاراکو ویروس انسانی تیپ یک

چکیده

زمینه و هدف: پاراکو ویروس‌های انسانی، جزء خانواده پیکورنا ویروس‌ها می‌باشند که از نظر کلینیکی حائز اهمیت هستند. اخیراً بررسی توالی ژنوم پاراکو ویروس تیپ یک نشان داده است که این ویروس، از پیکورنا ویروس‌های دیگر متفاوت بوده و فاقد موتیفی است که در فعالیت پروتئازی 2A دخالت دارد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی فعالیت پروتئولیتیکی پروتئین 3C در پاراکو ویروس انسانی تیپ یک می‌باشد.

روش بررسی: این مطالعه از نوع بنیادی کاربردی می‌باشد. ناحیه کدکننده پروتئین 3C از cDNA (Complementary DNA) تهیه شده از ژنوم پاراکو ویروس انسانی تیپ یک، با آنزیم لیگاز در پلاسمید pUBS (Expression plasmid vector) وارد شد و پلاسمید نوترکیب pFG3 (Plasmid Farideh Ghazi) تهیه گردید. پس از انتقال پلاسمید و تکثیر آن در باکتری E.coli MC10.22، به طریق استخراج با فنل، DNA جدا شد و سپس در سیستم پروکاریوتی (E.coli BL21) و روش درون لوله‌ای (In vitro)، تحت پروموتور T7 بیان گردید. نتایج با SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate-Polyacrylamid gel electrophoresis) بررسی شد.

یافته‌ها: با بررسی محصول بیان پلاسمید نوترکیب فاقد ژن 3C در هر دو سیستم پروکاریوتی و In vitro، فقط یک باند بزرگ در حدود ۹۰ کیلو دالتون مشاهده گردید. در صورتی که وقتی محصول بیان پلاسمید نوترکیب حاوی 3C در هر دو سیستم توسط پلی‌آکریل آمید ژل بررسی شد، بجای یک باند بزرگ، چندین باند کوچک مشاهده شد که دلالت بر خاصیت پروتئازی پروتئین 3C می‌کند. در ضمن وقتی آنتی پروتئاز به محصول پلاسمید حاوی ژن 3C اضافه گردید، نتیجه، مشابه محصولات حاصل از بیان پلاسمید فاقد ژن 3C بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که پاراکو ویروس‌های انسانی تیپ یک، از نظر فعالیت پروتئولیتیکی، متفاوت از دیگر پیکورنا ویروس‌ها می‌باشند و در این ویروس‌ها، فقط پروتئین 3C دارای خاصیت پروتئازی بوده و کلیه کلیواژهای پلی پروتئین اولیه ویروس توسط این پروتئاز انجام می‌شود.

کلیدواژه‌ها: ۱- پیکورنا ویروس‌ها ۲- پاراکو ویروس‌های انسانی ۳- پروتئاز 3C ۴- بیان ژن

*دکتر فریده قاضی I

علی‌اکبر گرزین II

دکتر محمود شمس شهرآبادی III

بهاره دبیرمنش IV

تاریخ دریافت: ۸۴/۶/۲۸، تاریخ پذیرش: ۸۵/۹/۵

مقدمه

پاراکو ویروس‌های انسانی، یکی از جنسهای پیکورنا ویروس‌ها هستند که شامل دو پاتوژن پاراکو ویروس انسانی تیپ یک و دو می‌باشند.^(۱، ۲) این ویروس‌ها در سال ۱۹۵۶ در یک اپیدمی اسهال تابستانی، جدا شده و قبلاً به نام اکو ویروس ۲۲ و ۲۳ در گروه اینترو ویروس‌ها قرار

خانواده پیکورنا ویریده، شامل ویروس‌های بدون پوشش با ژنوم RNA تک رشته‌ای با قطبیت مثبت می‌باشند. طول ژنوم این ویروس‌ها ۷۰۰۰-۹۵۰۰ نوکلئوتید است که در داخل کپسیدی که از ۶۰ کپی از پروتئین‌های کپسیدی VPI-VP4 (Virus capsid proteins) تشکیل شده است، قرار دارد.^(۱-۳)

- (I) دانشیار و دکترای (phD) بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران (* مؤلف مسئول).
- (II) کارشناس ارشد ویروس‌شناسی.
- (III) استاد و دکترای ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.
- (IV) کارشناس ارشد بیوشیمی.