

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات
بهداشتی درمانی استان زنجان

عنوان طرح پژوهشی

پیام ترجمان دانش

بیماری کرونا ویروس (COVID19) یک بیماری بسیار واگیر ناشی از سندرم ریوی حاد کرونا ویروس ۲ (SARS-CoV2) است و تاثیر فاجعه باری بر جمعیت جهان داشته است. بعد از اولین مورد بیمار این ویروس در اواخر دسامبر ۲۰۱۹، در محدوده‌ی زمانی کوتاهی در سرتاسر جهان شیوع پیدا کرد و تا به اکنون منجر به مرگ بیش از ۶/۹ میلیون نفر و ابتلای بیش از ۷۷۱ میلیون نفر در سراسر جهان شده است. این ویروس از لحاظ ژنتیکی بسیار جهش‌پذیر است طوری‌که جهش‌های متعدد سبب ایجاد موج‌های جدید ابتلا گشت. بنابراین ارزیابی سطح ایمنی افراد جامعه و سنجش مصونیت حاصل از واکسناسیون مهم ترین امر برای کنترل و جلوگیری از اپیدمی‌های آتی است. از جمله مهم‌ترین ابزارها برای این هدف طراحی آزمایش‌های تشخیص سرولوژیکی می‌باشد.

کلون سازی، بیان و خالص سازی پروتئین اسپایک ویروس

SARS-CoV-2 و بررسی واکنش پذیری پروتئین نوترکیب اسپایک

با سرم بیماران مبتلا به COVID-19

مدیریت اطلاع رسانی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

دپارتمان بیوتکنولوژی پزشکی دانشکده پزشکی

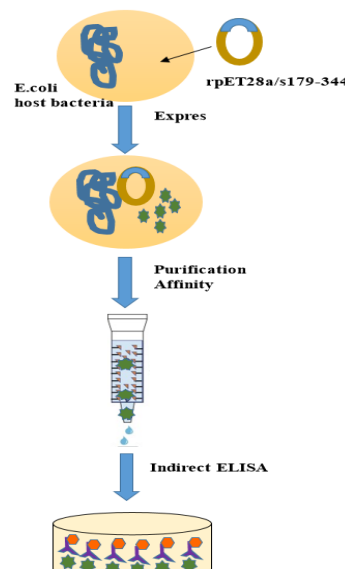
پیام پژوهشی

توالی اسیدآمینه‌ی ۱۷۹-۳۴۴ پروتئین اسپایک SARS-CoV2 می‌تواند با حساسیت و اختصاصیت بالا برای تشخیص سرولوژیک افراد مبتلا به COVID19 مورد استفاده قرار بگیرد.

مخاطبان پیام

سیاست‌گذاران درمانی

سیاست‌گذاران پژوهشی



مجری طرح پژوهشی



دکتر امیر حسین تارمچی

دانشیار دپارتمان بیوتکنولوژی
پزشکی

taromchi@zums.ac.ir

در این پژوهش با استفاده از ابزارهای محاسباتی و پایگاه های بیوانفورماتیکی مهم ترین اپی توپ های ویروس SARS-COV2 در پروتئین اسپایک استخراج شدند. پروتئین اسپایک به دلیل قرار گرفتن در بیرونی ترین بخش ویروس و ساختار برجسته ی خود بعنوان یکی از آنتی ژنیک ترین بخش ها محسوب می شود. دو ناحیه حاوی مهم ترین اپی توپ ها در نواحی ۳۴۴-۱۷۹ و ۶۷۰-۵۵۰ از توالی اسید آمینه ای اسپایک با امتیاز بالای آنتی زنی شناسایی شدند. همچنین یکی از دلایل انتخاب این نواحی حفاظت شدگی وعدم وقوع جهش است در غیر اینصورت اپی توپ مستعد جهش در طراحی تست سرولوژیک سبب ناپایداری و ایجاد پاسخ های کاذب در تست می شود. با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی خواص فیزیکوشیمیایی پپتید مورد نظر مانند میزان حلالیت و همچنین ساختار سه بعدی به دلیل اهمیت در تخلیص و جداسازی و دسترس پذیری فضایی مناسب مورد پیش بینی قرار گرفت که امتیازات مطلوب برای اهداف این پژوهش حاصل شد. ژنهای کدکننده ی این ناحیه ها وارد وکتور و سپس به باکتری میزبان E.coli BL21 ترانسفورم شد. با بیان بالای ناحیه ی اپی توپی در باکتری میزبان، پروتئین مورد نظر از طریق کروماتوگرافی تمایلی، با غلظت بالا تخلیص شد. برای ارزیابی واکنش سرولوژیک آنتی ژنهای نو ترکیب با سرم افراد مبتلا به COVID19 ابتدا بصورت کیفی مورد سنجش قرار گرفتند و نتایج حاکی از واکنش اختصاصی آنتی ژن با آنتی بادی های موجود در سرم افراد مبتلا بود. با اطمینان از اختصاصیت میانکش این آنتی ژنها در حلقه بعد این سنجش بصورت کمی و توسط الایزای غیرمستقیم صورت پذیرفت. همچنین با توجه به نتایج مربوط به بیان و تخلیص پروتئین نو ترکیب که با مشاهده ی باند های متمایز و شاخص همراه بود، بیانگر کارایی بالا و مقرون به صرف بودن این سیستم بیانی جهت تولید پروتئین آنتی ژن در مقیاس صنعتی و همچنین پتانسیل بالای این آنتی ژن نو ترکیب جهت تولید کیت های تشخیصی سرولوژیک تجاری می باشد.

از لحاظ ساختاری و فیلوژنتیکی SARS-COV2 بسیار شبیه به SARS-COV و MERS-COV است و متشکل از چهار پروتئین ساختاری: اسپایک، گلیکوپروتئین پوشش، نوکلئوکپسید، پروتئین غشا است. تعداد پروتئین های غیرساختاری ۱۶ پروتئین و پروتئین های کمکی می باشد. گلیکوپروتئین اسپایک سطح بیرون که شبیه به تاج است در سطح خارجی ویروس واقع شده است دارای دو زیر واحد، S1 در انتهای آمینو که تسهیل کننده اتصال ویروس به سلول میزبان است و زیر واحد S2 در انتهای کربوکسی حاوی پپتید دومین گذرنده از غشا و دومین سیتوپلاسمیک است که مسئول ادغام غشای سلول میزبان ویروس است. زیر واحد S1 نیز به دومین اتصال به گیرنده RBD و دومین انتهای N سبب تسهیل ورود ویروس بر سلول میزبان است و به عنوان یک هدف بالقوه برای خنثی سازی در پاسخ به واکسن ها و آنتی سرم ها می باشد. RBD دومین پپتید اساسی در بیماری زایی و ابتلا است چرا که یک ناحیه اتصالی برای گیرنده آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین انسان است. ویروس به محض اتصال به سلول میزبان با ادغام غشا ویروس و سلول میزبان ماده ی ژنتیکی خود را وارد سلول کرده و سلول را وادار به رونوشت برداری از ماده ی ژنتیکی و ساخت پروتئین های ساختاری خود می کند تا زمانی که تمام سلول آلوده و عفونی شود. سیستم ایمنی بدن در این وضعیت با فعال سازی سیستم ایمنی سلولی و همورال به پاکسازی بدن از ویروس کمک می کند. سلول های عرضه کننده ی آنتی ژن (APCs) با فعال کردن سلول های T کشنده سبب فعال سازی ایمنی سلولی و از بین بردن سلول آلوده می شود و با فعال سازی سلول های B سبب تولید آنتی بادی علیه اپی توپ های شناسایی شده از ویروس می گردد. بر این اساس ارزیابی میزان این آنتی بادی ها سبب اطلاع از پاسخ ایمنی و یا مصونیت بعد از ابتلا است.