

اسم الطالب: - محمد صلاح محمود محمد
الدرجة: دكتوراه
عنوان الرسالة " تقليل الإدراج الجيني المتبقي لناقلات اللينتيفايروس منقوصة القدرة على التكامل "

المشرفون: 1- أ.د/ نجلاء السيد رفعت اسماعيل

2- د/ رافيل يانيز

3 - د/ أيمن مصطفى عبد العزيز

4 - د/ إيمان محمد عبد اللا

قسم: علم الحيوان

تاريخ منح الدرجة من مجلس الكلية:

ملخص الرسالة

ناقلات اللينتيفايروس ذات كفاءة عالية في توصيل الجينات للخلايا المستهدفة للعلاج ويتم اختبارها حالياً في العلاج الجيني للعديد من الأمراض. هذه الناقلات لها العديد من الخصائص التي تميزها عن غيرها من الناقلات الفيروسية، مثل القدرة على حمل جينات كبيرة نسبياً، قلة الاستثارة المناعية لجسم المريض والقدرة على النقل الجيني للخلايا التي لا تنقسم إلا أن هذه الناقلات كغيرها من الناقلات الرجعية تغرز الحمض النووي الخاص بها داخل جينوم الخلية المستهدفة. هذا الغرز الغير متحكم به قد يتسبب في إحداث تطفر غرزي محدثاً تأثير ملازم في موقع الغرز لذا فإن التحديثات قد تزيد من أمان ناقلات اللينتيفايروس ومن هذه التحديثات تحويلها إلى ناقلات منقوصة القدرة على التكامل (الغرز الجيني). يتم إنتاج الناقلات منقوصة القدرة على التكامل بشكل كبير من خلال إحداث طفرات في إنزيم الإنتيجريز وهو الإنزيم المسؤول عن عملية الغرز الجيني.

يهدف هذا العمل لتقليل الغرز الجيني المتبقي المصاحب لاستخدام ناقلات اللينتيفايروس وذلك من خلال التأثير على تركيبه أو وظيفته. تمت مقارنة طافرات الإنتيجريز التي تحتوي على تبديلات مختلفة في الأحماض الأمينية في الموقع المسؤول عن نشاط الإنزيم بينما تم التأثير على وظيفة الإنتيجريز باستخدام مثبطات الإنتيجريز التي تستهدف خطوة النقل (strand transfer). بالإضافة لذلك فإنه قد تم إختبار طفرات أخرى خارج الموقع المسؤول بشكل أساسي عن نشاط الإنزيم مثل طفرة Q168A في إنزيم الإنتيجريز في الجزء الذي يرتبط بعامل النمو LEDGF/p75 والطفرات في مواقع الإتصال (attachment sites) (خارج الإنتيجريز). لم يوجد أي فرق معنوي بين الغرز المتبقي للناقلات منقوصة القدرة على التكامل التي تحتوي على طفرة D64V وتلك التي تحتوي على الطفرة الثلاثية (DDE-AAA) بغض النظر عن بلازميد التعبئة المستخدم.

لم يوجد أي فرق معنوي بين الغرز المتبقي لأي من ناقلات اللينتيفايروس منقوصة القدرة على التكامل المستخدمة في الدراسة وذلك الخاص بناقل اللينتيفايروس منقوص القدرة على التكامل المحتوي على طفرة D64V.

استخدام مثبطات الإنتيجريز INSTIs مع ناقلات اللينتيفايروس ذات القدرة على التكامل في مجال العلاج الجيني أدى لتقليل معدل الغرز ليصبح مماثل أو أقل من ذلك المصاحب لناقلات اللينتيفايروس منقوصة القدرة على التكامل. مثبطات الإنتيجريز INSTIs أثرت على التعبير الجيني المصاحب لناقلات اللينتيفايروس ذات القدرة على التكامل في الخلايا المنقسمة عند وقت مبكر بينما لم يظهر هذا التأثير عند استخدام خلايا CHO التي سبق كبح قدرتها على الانقسام مما يدل على أن ذلك التأثير يرجع فقط لتثبيط إنزيم الإنتيجريز والذي يظهر من خلال الانقسام.