Genomic evaluation of 5'-UTR sequence of fusion gene in vaccine strain of measles virus (AIK-C) following passage in MRC-5 cell line

A Emami* K Aghaeipour** S S Safavieh*** R Yaghobi**

* MSc of microbiology, Faculty of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
** Assistant professor of molecular biology, Razi Serum and Vaccine Research Institute, Karaj, Iran
*** MSc of microbiology, Razi Serum and Vaccine Research Institute, Karaj, Iran
****Assistant professor of virology, Shiraz Transplant Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

✸Abstract

Background: Multiple point mutations and deletions have been detected in the 5'-UTR non-coding region of F gene of measles virus vaccine strains that may affect the function of fusion protein and viral penetration.

Objective: To study the possible alterations in 5'-UTR non-coding sequence of F gene following a change in measles virus cell culture from chicken fibroblast to MRC-5 cell line.

Methods: Concerning the importance of F gene in immunogenicity and the cellular tropism of this protein, the present study was performed at the Biotechnology Department of Razi Vaccine & Serum Research Institute, Karaj, Iran. After cloning of 5'-UTR non-coding sequence of F gene and amplification using a two-step RT-PCR method, the recombinant plasmid was sequenced. Comparing this F gene 5'-UTR sequence with standard vaccine strains by DNAMAN program, the possible changes which might have been occurred in F gene non-coding sequence, was determined.

Findings: Comparing the F gene 5'-UTR sequence of AIK-C vaccine strain with two sequences of Parks and Mori vaccine strains was indicative of two nucleotide variations in bases 156 and 288 after shifting the measles virus vaccine strain cell lines from chicken fibroblast to MRC-5.

Conclusion: Regarding the changes in two nucleotides of F gene 5'-UTR non-coding sequence after cell culture shift from fibroblast to MRC-5 cell line for multiplication of measles virus vaccine strain, these alterations may affect the selection of AUG initiation codon, promote the translational level of fusion protein, and therefore leading to possible reduction in immunogenicity of this newly propagated virus vaccine strain.

Keywords: Measles, Vaccination

Corresponding Address: Shiraz Transplant Research Center, Namazee Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
Email: rayaviro@yahoo.com
Tel: +98 711 6476331
Received: 2008/03/15
Accepted: 2009/03/10

بررسی ژنومیکس تغییرات توالی 5/-UTR ژن F ویروس سرخک سوش واکسن AIK-C تکثیر شده در سلول‌های MRC-5

امیر امامی* دکتر خسرو آقائی پور** صدیقه السادات صفویه*** دکتر رامین یعقوبی****

*کارشناس ارشد میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
**استادیار بیولوژی مولکولی مؤسسه سرم و واکسن سازی رازی کرج
***کارشناس ارشد میکروب شناسی مؤسسه سرم و واکسن سازی رازی کرج
****استادیار ویروس شناسی مرکز تحقیقات پیوند اعضاء دانشگاه علوم پزشکی شیراز

آدرس مکاتبه: شیراز، بیمارستان نمازی، مرکز تحقیقات پیوند اعضاء، تلفن ۶۴۷۴۳۳۱-۰۷۱۱ Email: rayaviro@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۲/۲۰

✱چکیده

زمینه: در انتهای 5/ UTR- ژن F سویه واکسن سرخک یک توالی غیر معمول طولانی غیرکد کننده قرار دارد که با توجه به موتاسیون‌ها و حذف‌های منطقه‌ای، تغییرات در این ناحیه می‌تواند بر عملکرد پروتئین F تولید شده مؤثر باشد.

هدف: مطالعه به منظور تعیین ژنومیکس تغییرات توالی 5/-UTR ژن F ویروس سرخک سوش واکسن AIK-C تکثیر شده در سلول‌های MRC-5 انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش بنیادی در سال ۱۳۸۵ در بخش بیوتکنولوژی مؤسسه سرم و واکسن‌سازی رازی انجام شد. پس از کلون‌سازی و تکثیر با روش RT-PCR و سپس ترادف‌یابی توالی ناحیهٔ 5/ UTR- ژن کد کنندهٔ پروتئین F، تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در توالی سویه واکسن مورد مطالعه با توالی سویه‌های واکسن استاندارد موری و پارکز موجود در بانک اطلاعات ژن با استفاده از برنامهٔ DNAMAN مقایسه شد.

یافته‌ها: از مقایسه نتایج حاصل از تعیین توالی ناحیهٔ 5/ UTR- ژن کد کنندهٔ پروتئین F سویه واکسن مورد مطالعه با دو توالی مرجع مشخص شد که ناحیهٔ غیر کد کنندهٔ پروتئین فیوژن سویهٔ واکسنی سرخک AIK-C با تغییر کشت سلولی از فیبروبلاست جوجه به MRC-5، در نوکلئوتید شمارهٔ ۱۵۶ و در نوکلئوتید ۲۸۸ دچار تغییرشده است.

نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت مشاهده تغییر در ناحیه در انتخاب کدون AUG ابتدایی ژن کد کننده پروتئین فیوژن و نقش آن درمیزان بیان این پروتئین، این احتمال وجود دارد که تغییر در نوع کشت سلول ویروس سرخک بتواند در شرایط ایمنی‌زایی واکسن فوق مؤثر باشد.

کلیدواژه‌ها: سرخک، واکسیناسیون

✱مقدمه:

بیماری سرخک، قبل از دسترسی به واکسن آن، بیماری خطرناکی محسوب می‌شد که سبب مرگ و میر کودکان بسیاری در سراسر دنیا بود. انسان تنها میزبان طبیعی این ویروس است. علایم بیماری شامل تب، سرفه، التهاب ملتحمه، راش‌های ماکولوپاپولار منتشر، آب‌ریزش بینی و به طور کلی مشکلات تنفسی و عصبی هستند.[۱] علی رغم این که واکسن سرخک از حدود ۴۰ سال پیش در دسترس عموم قرار گرفته است، اما هنوز گزارش‌های متعددی از ابتلا و مرگ و میر ناشی از این بیماری در کشورهای در حال توسعه وجود دارد. عوارض این بیماری عبارتند از: پنومونی، التهاب گوش میانی، گاستروانتریت، اسکلروز پان آنسفالیت تحت حاد (SSPE) و در نهایت مرگ.[۲و۳] این ویروس ژنوم RNA تک رشته‌ای با قطبیت منفی دارد. RNA خطی۱۶ کیلو بازی این ویروس حاوی ۶ سیسترون غیر همپوشان 3/-N-P-M-F-H-L-5/ است که کدکنندهٔ ۸ پلی پپتید شناخته شده هستند.[۳و۴] بررسی‌ها نشان داده‌اند که ۱۱ درصد از توالی ژنومی این ویروس به صورت نواحی غیر کد کننده در فواصل ژن‌های این