توجه حديث لإنتاج لقاحات ضد فيروس انفلونزا الطيور ومتلازمة الشرق الأوسط التنفسية باستخدام حويصلات الغشاء الخارجي للبكتريا

ثامر أحمد فرج بوبك

إشراف
ا.د. محمد اشتياق قادري
ا.د. فهد عبدالرحمن الفاسي

المستخلص

فيروس كورونا فيروس الشرق الأوسط التنفسي MERS-CoV هو فيروس كورونا جديد برز في عام ٢٠١٢ في المملكة العربية السعودية وتسبب في ارتفاع معدلات العدوى والوفيات بين البشر وانتشر إلى ٢٧ دولة أخرى .أيضا، تم اكتشاف أنفلونزا الطيور H5N8 لأول مرة في يناير ٢٠١٤ في كوريا الجنوبية وانتشرت في معظم أنحاء العالم بما في ذلك المملكة العربية السعودية في عام ٢٠١٦. تم تقديم نهج جديد لإعداد اللقاح باستخدام حويصلات غشاء السطح الخارجي للبكتريا OMVs التي تلوح بنتائج واعدة. ولتحقيق هذه الاهداف قمنا بالتالي: فيروس الكرونا MERS-CoV : تم مضاعفة جين S بروتين باستخدام تقنية تفاعل البلمرة النووي المتسلسل العكسي RT-PCR و ثم تم عمل استنساخ (Cloning) باستخدام البلازميد للتعبير عن ألجين الحامل له من ثم ادخال البلازميد الى داخل خلايا بكتيرية ،بعد تنمية البكتريا، تم ترسيب هذه البكتريا و اخذ المعلق الذي يحتوي على الحويصلات التي يحتوي غشائها على البروتين S ثم تنقيتها ومن ثم استخلاصها وتركيزها باستخدام جهاز يحتوي على فلاتر خاصة لهذه الحويصلات ومن ثم تم قياس تركيز البروتين (OMV-MERS-Cov-S) ثم تحضير التركيز المناسب لكل جرعة. فيروس H5N8 فقد تم العمل على جين الهيماجلوتينين HA5 بنفس المنهجية السابقة التي أجريت على جين S الخاص بفيروس الكرونا مع بعض الاختلافات البسيطة حيث ان تم مضاعفة هيماجلوتنين HA5 المستهدف في هذه الدراسة كما ان تم استخدام البلازميد PHW2000 و الذي تم الحصول عليه من قسم الفيروسات بمستشفى سان جود بمدينة ممفيس بالولايات المتحدة الامريكية و الذي يستخدم في تحضير لقاح الانفلونزا الموسمية و انفلونزا الطيور و الخنازير، ثم تم انتاج الحويصلات البكتيرية (OMV-H5) الذي يحتوي غشائها على بروتين الهيماجلوتينين٥ H5 بنفس الطريقة السابقة. قمنا بعد ذلك بإجراء التجارب على حيوانات خالية من أي إصابة سابقة حيث تم استخدام دواجن للتلقيح بالحويصلات التي تحتوي اغشيتها على بروتين الهيماجلوتينين بالنسبة للانفلونزا اما بالنسبة للكرونا فقد تم اجراء التجارب على الفاران. تم اجراء التجارب المصلية على العيانات المأخوذة من الدواجن والفاران أوضحت وجود اجسام مضادة لبروتين اليهماجلوتينين H5 و بروتين S و مدى قدرتها على معادلة الفيروس مما يوفر حماية كاملة لحيوانات التجارب من الإصابة بهذين الفيروسين.

A novel approach to generate vaccines for avian influenza H5N8 and Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) using secreted bacterial outer membrane vesicles

Thamer Ahmad Bouback

Supervised By
Prof. Mohammed Ishtiaq Qadri
Prof. Fahad Abdulrhaman Al-Fassi

Abstract

Middle East respiratory coronavirus MERS-CoV is a novel coronavirus emerged in 2012 in Saudi Arabia and caused high infected and mortality rates in humans and spread to 27 other countries. Also, Avian influenza H5N8 was first detected in January,2014 in South Korea and spread to most of the world including Saudi Arabia in 2016. A novel approach for vaccine preparation was introduced her using outer surface membrane vesicles OMVs which gave promising results. To accomplish this work, the hemagglutinin 5 H5 from strain of H5N8 and Spike protein S from MERS-CoV were amplified by Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction RT-PCR and cloned in gene expression vectors, then, these two constructed were transformed in competent cells separately and propagated in liquid medium. The competent cells were sedimented and the outer membrane vesicles were isolated and concentrated from supernatant by specific membranes. After that, animal immunization carried out by inject with OMVs as a vaccine. Then, efficiency of OMVs vaccine were determined by serological assays and compared with inactivated vaccine as well as negative control group. The results showed that the vaccine with OMVs that consists of S and H5 have adequate protection for animals. These results indicate to The OMVs based vaccine technology is a promising approach for combating to emerging epidemic cases.