

# مقایسه پروموتور ژنهای همانندسازی (۱۶ و ۵۲) دو سوش Oka و Dumas ویروس آبله مرغان و زونا (VZV)

مستانه ظهري<sup>۱</sup>، مجید صادقی زاده<sup>۲\*</sup>، خسرو خواجه<sup>۳</sup>، هادی شیرزاد<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه ژنتیک، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- دانشیار گروه ژنتیک، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۴- دانشجوی دکتری گروه ژنتیک، دانشگاه امام حسین، تهران، ایران

## چکیده

هدف: تحقیقات انجام شده عفونت‌زایی متفاوتی را در شرایط آزمایشگاه *in vitro* برای دو سوش VZV بنامهای Dumas و Oka نشان داده است. تاکنون عفونت‌زایی قابل توجهی برای سوش Dumas در آزمایشگاه مشاهده نشده، در حالی که سوش Oka در همین شرایط عفونت‌زایی مناسبی داشته است. یکی از دلایل تفاوت، می‌تواند بیان ضعیف ژنهای همانندسازی سوش Dumas نسبت به سوش Oka به علت تفاوت در توالی پروموتور این ژنها باشد.

مواد و روشها: در این تحقیق تفاوت توالی پروموتورها و تأثیر آن در رونویسی و بیان در برخی از ژنهای همانندسازی (ژن ۱۶ و ۵۲) به روش اندازه‌گیری بیان ژن گزارشگر بررسی شده است. باتوجه به توالی ژنوم VZV (Dumas) ۲ جفت آغازگر برای تکثیر پروموتور ژنهای ۱۶ و ۵۲ طراحی گردید. به‌وسیله این آغازگرها ناحیه تقریبی پروموتورهای ژنهای ۱۶ و ۵۲ در سوشهای Oka و Dumas با روش PCR تکثیر شد و پس از تعیین توالی در ناقل حاوی ژن گزارشگر LacZ وارد شد و مقایسه قدرت بیان پروموتورها در سلول Huh۷ بعد از ساخت این مولکولهای نوترکیب به روش اندازه‌گیری آنزیم بتا گالاکتوزیداز حاصل بررسی شد.

نتایج: مقایسه مولکولهای نوترکیب ژن ۵۲ نشان داد قدرت پروموتور سوش Oka حدود ۴ بار بیشتر از قدرت پروموتور همین ژن در سوش Dumas می‌باشد. همین طور با ورود همزمان ناقل حاوی ترانس اکتیواتور (IE۶۲) و مولکولهای نوترکیب به سلولهای Huh۷ پروموتور ژن ۵۲ سوش Oka نسبت به پروموتور سوش Dumas نسبت به حالت پایه ۴ بار بیشتر متأثر گردید. در بیان ژن گزارشگر به‌وسیله پروموتورهای ژن ۱۶، دو سوش تفاوت چندانی مشاهده نشد.

تعیین توالی نوکلئوتیدی ناحیه تکثیر شده ژن ۵۲ نشان داد که دو سوش Oka و Dumas در ۳ نقطه متفاوت می‌باشند. در حالی که در ناحیه تکثیر شده ژن ۱۶ تفاوتی بین دو سوش مشاهده نشد. بحث و نتیجه‌گیری: بنابراین معلوم گردید پروموتور ژن ۵۲ سوش Oka به دلیل جهش ۴ مرتبه فعالتر از این پروموتور در سوش Dumas می‌باشد که احتمالاً در عفونت‌زایی سوش Oka مؤثر است.

کلید واژگان: ویروس آبله مرغان و زونا (VZV)، پروموتور، ترانسفکشن، بتا گالاکتوزیداز

## ۱- مقدمه

VZV [Fields B.N,1996]. ردیف کامل نوکلئوتیدی ژنوم VZV

ویروس واریسلا - زوستر<sup>۱</sup> عامل مولد آبله مرغان - زونا یک

(سویه Dumas) به‌وسیله داویسون و اسکات<sup>۳</sup> در سال ۱۹۸۶

ویروس انسانی و عضو خانواده هرپس ویریده<sup>۲</sup> می‌باشد.

E-mail: sadeghma@modares.ac.ir

\* نشانی مکاتبه: تهران دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، گروه ژنتیک، صندوق پستی: ۱۷۵-۱۴۱۱۵

1. Varicella zoster virus

2. Herpesviridae

3. Davison and scott

با توجه به این نتایج این طور فرض شد که کاسمیدهای ساخته شده، که از سوش Dumas تهیه شده‌اند، نسبت به کاسمیدهای ساخته شده که از سوش Oka ساخته شده‌اند، متفاوت عمل می‌نمایند و ضعیف‌تر بیان می‌شوند. و این عدم تولید CPE و بیان و ویریون می‌تواند منوط به جهش‌های نقطه‌ای مؤثر در این سوش باشد. اولین تصور این است که این تفاوتها می‌تواند مربوط به توالی پروموتوری ژن یا ژنهایی باشد که در همانندسازی ضرورت دارند در نتیجه رونویسی و بیان آن ژن و یا ژنهای خاص کاهش یافته و تأثیر بر تولید ویریون نیز خواهند داشت. در این پژوهش با توجه به این فرضیه از میان ۷ ژن شناخته شده همانند سازی در مرحله اول دو ژن ۵۲ و ۱۶ که هلیکاز پریماز<sup>۸</sup> هستند، انتخاب گردید و تحت سیستم سنجش پروموتور بتا گالاکتوزیداز<sup>۹</sup> مقدار رونویسی و بیان آنها مقایسه شد.

## ۲- مواد و روشها

### ۲-۱- تکثیر قطعه پروموتور (PCR)

طراحی پرایمرهای ۱۶ZF، ۱۶ZR برای تکثیر پروموتور ژن ۱۶ با استفاده از توالی سوش Dumas [Davison A.J., Scott J.E., 1986] برای هر دو سوش (Oka, Dumas) انجام شد. همین طور پرایمرهای ۵۲ZF، ۵۲ZR برای تکثیر ناحیه احتمالی پروموتور ژن ۵۲ برای هر دو سوش ساخته شد.

۱۶ZF: 'AGTC CTGCAGCAGCTCTGGCGATTTCTG'

۱۶ZR: 'ACGT AAGCTTGGTTCCCCTTTCATCGTG'

۵۲ZF: 'TCAG AAGCTTGCCTGTGTSSCGTTACTGAC'

۵۲ZR: 'ACTG CTGCAGGGACTGTGTCCAGGATGTG'

به انتهای 'ه' هر یک از پرایمرها به طور مقتضی توالی شناسایی آنزیمهای HindIII، PstI، اضافه گردید، بنابراین پس از ورود قطعه پروموتور در ناقل بیان، برای رونویسی صحیح خواهد بود. به وسیله پرایمرها، توالی دو سمت ATG در ۵۵ = *Tannealing* تکثیر شد. در بهینه سازی شرایط PCR، *Tannealing* = ۵۹ و *Tannealing* = ۶۱ به ترتیب برای ژنهای ۱۶ و ۵۲ استفاده شد، پس از تکثیر نهایی قطعات با آنزیم Pfu، قطعه مربوط به پروموتور ۱۶ با اندازه ۷۶۶ جفت باز و مربوط به پروموتور ۵۲ با اندازه ۶۸۴ جفت باز پس از تعیین توالی خالص و در کلونینگ استفاده شد.

تعیین شد. ژنوم این ویروس یک مولکول DNA دو رشته‌ای (۸۰±۳ دالتون) خطی است که ۱۲۴۸۸۴ جفت باز طول دارد.

[Davison A.J., Scott J.E., 1986]

ژنهای همولگ VZV و HSV شناخته شده‌اند ORF۴, ORF۶۲ همولگ ICP۴، ICP۲۷، ویروس HSV می‌باشند و نقش ترانس اکتیواتوری (فعال کننده ترانس) آنها گزارش شده است. [Fields B.N., 1996]. ORF۶۲ یک فسفو پروتئین ۱۷۵ کیلودالتونی و یکی از اجزای ساختاری تگومنت ویروس است. [Granoff A. and Webster

R., 1996]. این پروتئین همولگ ICP۴ در HSV ۱ بوده و همچون همولگ خود قادر به فعال کردن ژنهای ویروسی است. این ژن یک فعال کننده رونویسی بوده و پروموتورهای هر سه گروه ژنی (عم از  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) را به تنهایی و یا همراه با IE۴ فعال می‌کند [Abendroth A. and A., 1999].

ORF۴ یک پروتئین ۵۵ کیلودالتونی با ۴۵۲ اسید آمینه است که به مقدار زیاد در تگومنت ویروس یافت می‌شود. جایابی این پروتئین غالباً در سیتوپلاسم است. اگرچه توالی آمینواسیدی آن در ناحیه انتهایی کربوکسی<sup>۱</sup> ICP۲۷ HSV ۱ مشابه است؛ ولی از لحاظ عملکرد، کاملاً متمایز از ICP۲۷ می‌باشد [Sadzot – Delvaux C., 1999]. IE۴ نقش تنظیمی مهمی در همانندسازی VZV برعهده دارد. این ژن یک فعال کننده رونویسی بوده و پروموتورهای هر سه گروه ژنی را به تنهایی و یا همراه با IE۶۲ فعال می‌کند. برخلاف ICP۲۷ فعالیت رپرسوری<sup>۲</sup> ندارد. IE۴ به عنوان یک فعال کننده ترانس عمل می‌کنند.

در سال ۱۹۹۳ دو دانشمند به نامهای کوهن و سیدل<sup>۳</sup> به علت عفونت‌زا نبودن DNA ویروس VZV و در تولید ویریون<sup>۴</sup> برای مطالعات ژنتیکی و بیوشیمیایی چهار کاسمید<sup>۵</sup> هم پوشان حاوی ژنوم کامل VZV از سوش دوماس<sup>۶</sup> را ایجاد کردند اما طی مطالعات کوهن، هرگز نتوانست بیان ژنهای همانندسازی را در این کاسمیدها نشان دهد و ورود همزمان این چهار کاسمید به درون یاخته میزبان آثار CPE و تولید ویریون را نشان نداد [Cohen J.I., Seidel K]. بنابراین کوهن چهار کاسمید هم پوشان دیگر ساخت که حاوی ژنوم کامل سویه Oka VZV بودند. در حضور این کاسمیدها بیان ژنهای همانندسازی و تولید ویریون دیده شد.

1. Transactivator
2. Carboxy- Terminal
3. Repressory
4. Cohen and sidel
5. Virion
6. Cosmide
7. Dumas

8. Helicase-Primase
9. Galactosidase

## ۲-۲- ساخت پلاسمیدهای نو ترکیب

پس از هضم آنزیمی همزمان با دو آنزیم *HindIII*, *PstI* قطعه حاصل از PCR و ناقل بیانی pSDK پلاسمیدهای نو ترکیب pMZ1, pMZ2 ساخته شد.

(pMZ1) پلاسمید حاوی پروموتور ژن ۵۲ سوش *Oka* از قرار گرفتن پروموتور ژن ۵۲ سوش *Oka* در جایگاه آنزیمی پروموتور ژن بتا گالاکتوزیداز ناقل بیانی pSDK و (pMZ2) پلاسمید حاوی پروموتور ژن ۵۲ سوش *Dumas*: از قرار گرفتن پروموتور ژن ۵۲ سوش *Dumas* در این جایگاه آنزیمی ایجاد شد. پلاسمیدهای pCMV4, pCMV62 حاوی ژنهای IE4 و IE62 و ویروس واریسلا زوستر به عنوان فعال کننده استفاده شد [Ling P., 1992].

## ۲-۳- کشت سلول یوکاریوتی

Huh7: سلولهای Huh7 در محیط DMEM حاوی ۵ درصد سرم (FBS) کشت داده شد. این سلولها پس از تکثیر به تعداد (۵۰۰ هزار سلول) و کاملاً مساوی به ظروف شش خانه مخصوص ترانسفکشن<sup>۱</sup> انتقال یافت. ترانسفکشن، زمانی صورت گرفت که سلولها در کف ظروف مستقر شده تقریباً تمام سطح ظرف را پوشانده و هنوز فضای کافی برای رشد داشتند. ۴ ساعت قبل از ترانسفکشن کردن محیط تازه در مجاورت سلولها قرار گرفته، سپس DNA مورد نظر آماده و وارد سلولها شد.

## ۲-۴- ترانسفکشن و تهیه عصاره سلولی

انتقال DNA مورد نظر (pMZ1, pMZ2, ...) با روش شیمیایی ایجاد رسوب فسفات کلسیم در روش وابسته به مقدار (Dose dependent) با مقادیر متفاوت (۵-۱۰-۱۵ میکروگرم) DNA پلاسمیدی انجام شد. در این آزمایش pMZ1, pMZ2 به تنهایی وارد سلولها شد و سپس در آزمایشات بعدی pMZ1, pMZ2 همراه ترانس اکتیواتورها (pCMV4, pCMV62) با مقادیر متفاوت، به سلولها وارد شد، همزمان از pON284 که حاوی پروموتور ژن اولیه فوری ویروس CMV در جلوی ژن بتاگالاکتوزیداز می باشد [Ling P., 1992]، به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. محیط کشت سلولها ۴ ساعت پس از ترانسفکشن تعویض گردید. پس از ۴۸ ساعت سلولهای ترانسفکشن شده برای استخراج آنزیم تولید شده لیز تجزیه شدند. سلولها با روش انجماد و ذوب بدون استفاده از مواد شیمیایی گسسته و آنزیم در بافر مناسب (۰/۲M) Tris-HCl سرد آزاد شد.

## ۲-۵- بررسی کمی آنزیم بتاگالاکتوزیداز بیان شده

پس از تهیه عصاره سلولی، مقدار ۳۰ میکرو لیتر از عصاره، در مجاورت ۶۶ میکرو لیتر از ONPG ۱x در حجم نهایی ۳۰۰ میکرو لیتر بافر مناسب فعالیت آنزیم در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت. آنزیم تولید شده (بتا گالاکتوزیداز) در مجاورت سوبسترای ONPG رنگ زرد ایجاد می نماید. پس از آن، واکنش با کرنات سدیم متوقف و جذب رنگ در ۴۲۰ نانومتر اندازه گیری شده و جذب در شرایط مشابه برای سوش دیگر با آن مقایسه و برای دقت و صحت بیشتر این جذبها به وسیله الیزا ریدر نیز خوانده شد.

## ۳- نتایج

## ۳-۱- تشابه توالی پروموتور ژن ۱۶ در دو

سوش *Oka* و *Dumas*

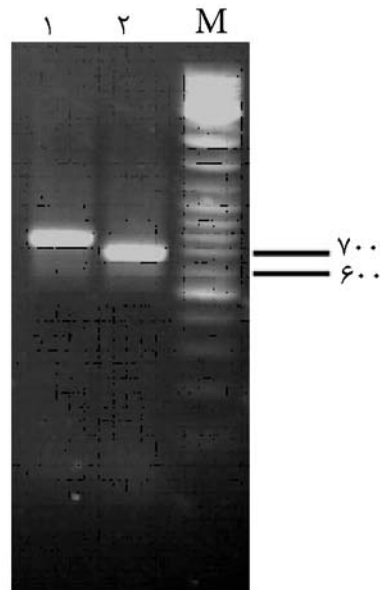
محصول تکثیر با استفاده از دو پرایمر ۱۶ZF, ۱۶ZR که از روی DNA سوش *Oka* (کاسمید PVFSp4) به دست آمد. برای تعیین توالی، خالص و به وسیله کمپانی MWG آلمان با استفاده از پرایمر ۱۶ZF به دقت تعیین توالی شد. نتیجه به دست آمده با توالی سوش *Dumas* (موجود در سایت NCBI) به وسیله نرم افزار BLAST مقایسه گردید. در ناحیه تکثیر شده (حدود ۷۵۰ جفت باز) هیچ تفاوتی در توالی دو سوش *Oka*, *Dumas* مشاهده نشد؛ به عبارتی توالی پروموتوری ژن ۱۶ در دو سوش مشابه است.

## ۳-۲- تفاوت توالی پروموتور ۵۲ در دو سوش

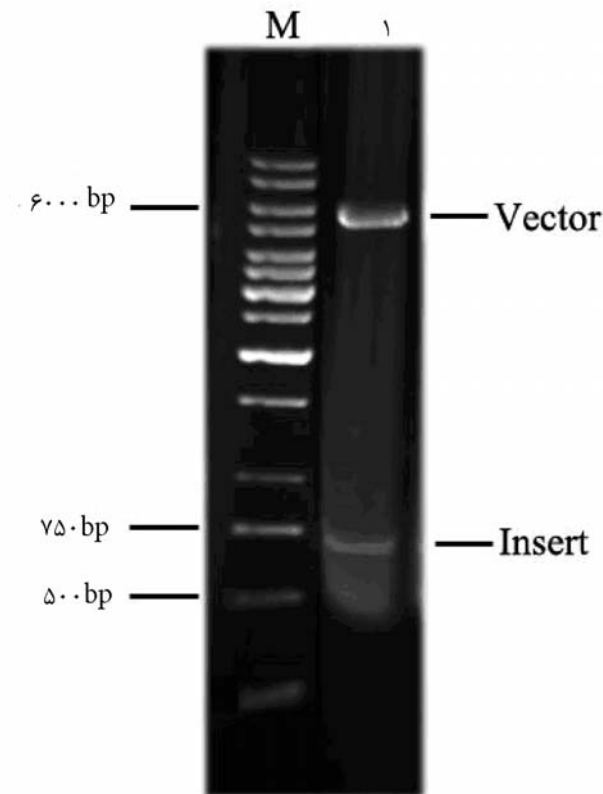
*Oka* و *Dumas*

محصول تکثیر با استفاده از دو پرایمر ۵۲ZF, ۵۲ZR، که از روی DNA سوش *Oka* کاسمید PVPme19 (Yaghoobi M.M., ۲۰۰۴) به دست آمد، برای تعیین توالی، خالص و به وسیله کمپانی MWG آلمان با استفاده از پرایمر ۵۲ZF، بدقت تعیین توالی شد. نتیجه به دست آمده با توالی سوش *Dumas* (موجود در سایت NCBI) مقایسه و BLAST گردید. در ناحیه تکثیر شده در سه نقطه تفاوت نوکلوتیدی مشاهده شد. محصول تکثیر فوق بار دیگر تهیه و با استفاده از پرایمر ۵۲ZR به وسیله کمپانی MWG آلمان تعیین توالی شد. توالی به دست آمده با توالی سوش *Dumas* مقایسه و در همان نواحی تفاوت نوکلوتیدی مشاهده گردید. این نواحی در فاصله ۱۰۰ و ۲۷۵ و ۲۹۰ نوکلوتیدی از ناحیه شروع ترجمه (ATG) قرار گرفته اند.

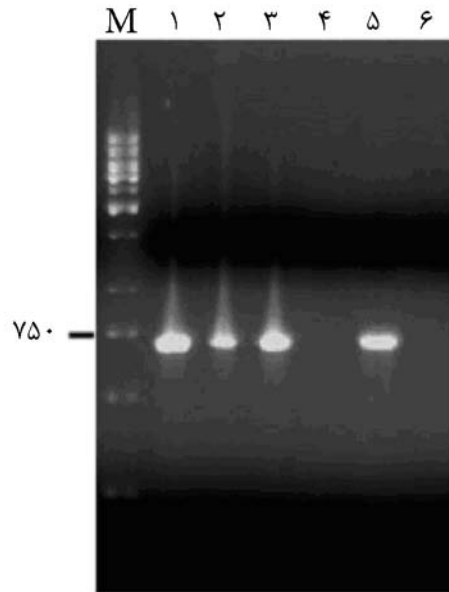
## 1. Transfection



شکل ۱ انجام PCR ناحیه پروموتری ۱۶ و ۵۲  
 ستون ۱ محصول PCR مربوط به پروموتر ۱۶ با اندازه ۷۶۶ جفت باز  
 ستون ۲ محصول PCR مربوط به پروموتر ۵۲ با اندازه ۶۸۴ جفت باز  
 ستون M سایز مارکر DNA ladder



شکل ۲ تأیید کلونی نو ترکیب pMZ۲  
 ۱- هضم آنزیمی پلاسمید با دو آنزیم *PstI*, *HindIII* و آزاد شدن قطعه ۶۸۸ جفت بازی و وکتور خطی *pSDK*  
 ۲- سایز مارکر SM۰۳۱۳ فرمانتاز

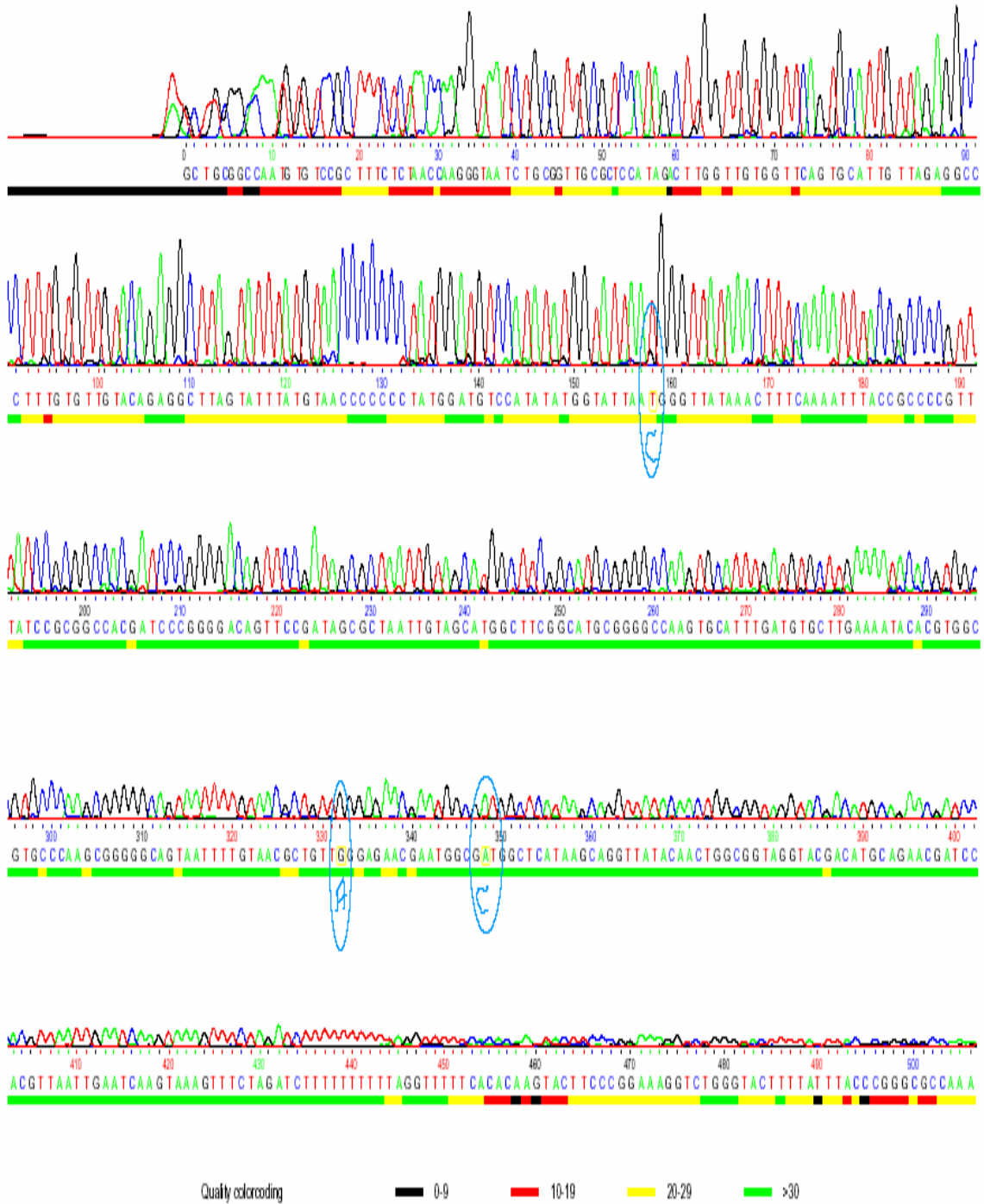


شکل ۳ غربالگری کلونیهای نوترکیب pMZ<sub>۲</sub> با روش PCR

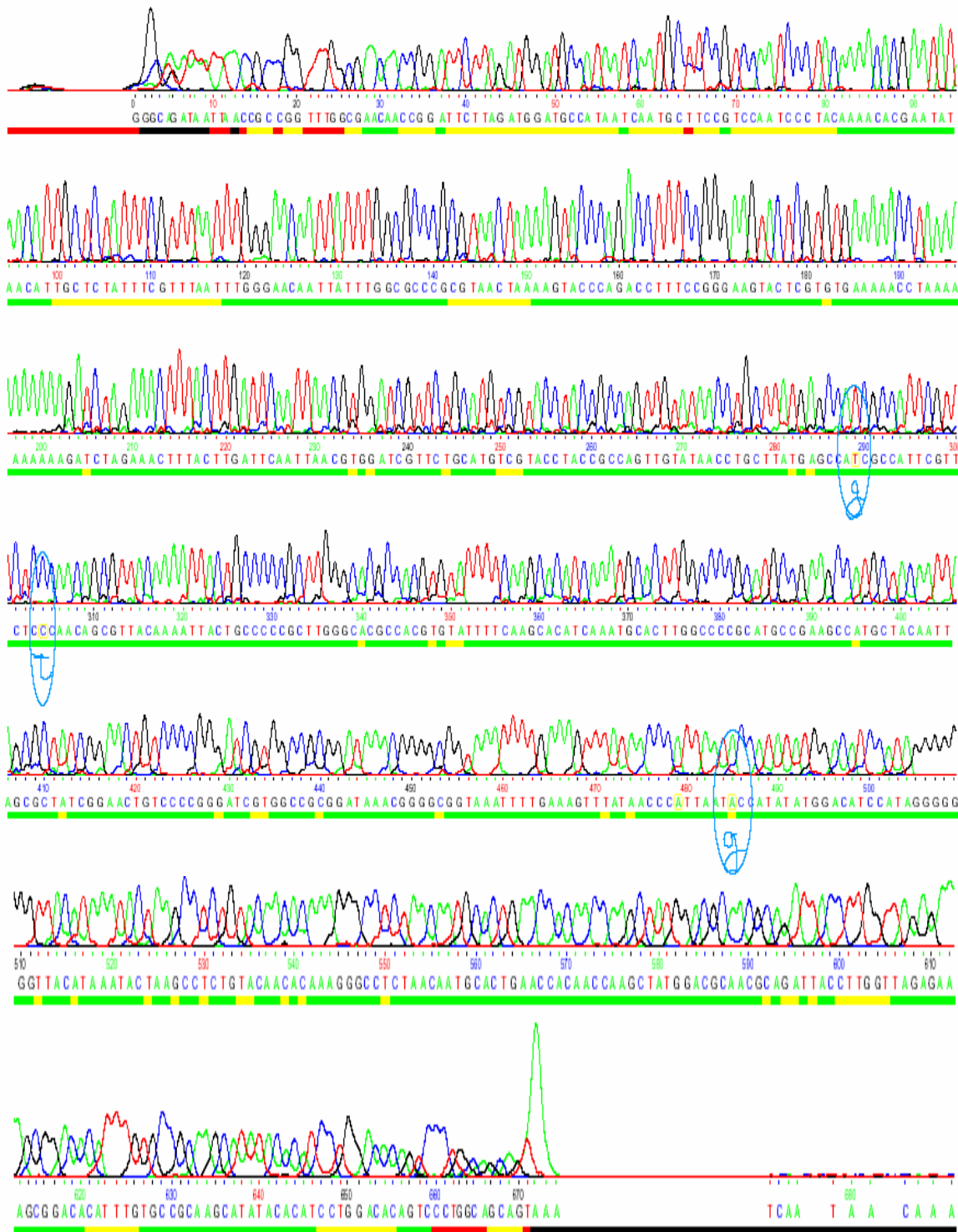
ستون ۱-۳ کلونیهای نوترکیب (کلونهای شماره ۱ و ۲ و ۳)؛ ستون ۴ کلونی شماره ۴. ستون ۵ کنترل مثبت (محصول PCR پروموتور ژن ۵۲)؛ ستون ۶ کنترل منفی (PCR پلاسمید فاقد پروموتور)

جدول ۱ جذب نوری مربوط به واکنش آنزیم سوبسترا در نمونه‌های ترانسفکت شده

| توضیحات                     | میانگین OD (nm) | جذبها       | مقدار | DNA                | شماره |
|-----------------------------|-----------------|-------------|-------|--------------------|-------|
| کنترل مثبت                  | ۲/۵۵            | ۲/۶۵ ، ۲/۵۶ | ۵μg   | pON <sub>۲۸۴</sub> | ۱     |
|                             |                 | ۲/۵۰ ، ۲/۵۵ | ۵μg   | pCMV <sub>۶۲</sub> |       |
|                             |                 |             | ۵μg   | pCMV <sub>۴</sub>  |       |
| فعال شده با ترانس اکتیواتور | ۰/۷۷            | ۰/۸۱ ، ۰/۷۸ | ۵μg   | pMZ <sub>۱</sub>   | ۲     |
|                             |                 | ۰/۶۹ ، ۰/۸  | ۵μg   | pCMV <sub>۶۲</sub> |       |
|                             |                 |             | ۵μg   | pCMV <sub>۴</sub>  |       |
| فعال شده با ترانس اکتیواتور | ۰/۲۷            | ۰/۲۳ ، ۰/۳۴ | ۵μg   | pMZ <sub>۲</sub>   | ۳     |
|                             |                 | ۰/۲۸ ، ۰/۲۵ | ۵μg   | pCMV <sub>۶۲</sub> |       |
|                             |                 |             | ۵μg   | pCMV <sub>۴</sub>  |       |
| فعالیت پایه پروموتور        | ۰/۱             | ۰/۱۴ ، ۰/۱۷ | ۵μg   | pMZ <sub>۱</sub>   | ۴     |
|                             |                 | ۰/۰۳ ، ۰/۱۱ |       |                    |       |
| فعالیت پایه پروموتور        | ۰/۰۴            | ۰/۰۲ ، ۰/۰۳ | ۵μg   | pMZ <sub>۲</sub>   | ۵     |
|                             |                 | ۰/۱۱ ، ۰/۰۳ |       |                    |       |
| بدون پروموتور               | ۰/۰۱            | ۰/۰۱        | ۵μg   | pSDK               | ۶     |
| DNA بیان وابسته به میزان    | ۰/۸۷            | ۰/۸۷ ، ۰/۸۸ | ۱۰μg  | pMZ <sub>۱</sub>   | ۷     |
|                             |                 | ۰/۹۳ ، ۰/۷۹ | ۵μg   | pCMV <sub>۶۲</sub> |       |
|                             |                 |             | ۵μg   | pCMV <sub>۴</sub>  |       |
| DNA بیان وابسته به میزان    | ۰/۳۴            | ۰/۳۴ ، ۰/۳۲ | ۱۰μg  | pMZ <sub>۲</sub>   | ۸     |
|                             |                 | ۰/۲۷ ، ۰/۴۱ | ۵μg   | pCMV <sub>۶۲</sub> |       |
|                             |                 |             | ۵μg   | pCMV <sub>۴</sub>  |       |



شکل ۴ نتیجه تعیین توالی ناحیه احتمالی پروموتور ژن ۵۲ سوش Oka با پرایمر ۵۲ZR و تفاوت نوکلوتیدها با سوش Dumas



شکل ۵ نتیجه تعیین توالی ناحیه احتمالی پروموتور ژن ۵۲ سوش Oka با پرایمر ۵۲ ZF و تفاوت نوکلوتیدها با سوش Dumas

## ۳-۳- تفاوت فعالیت پروموتر ژن ۵۲ در دو سوش

## Oka و Dumas

پس از تهیه ساختارهای جدید پلاسمیدی حاوی پروموتر سوشهای Oka و Dumas به ترتیب pMZ2, pMZ1 و با ورود مقادیر مساوی از این ساختارها به رده سلولی کاملاً مشابه از نظر تعداد و شرایط، تولید آنزیم بتاگالاکتوزیداز حاصل از این ساختارها در آزمایشات مختلف مقایسه شد و میانگین تولید آنزیم با پروموتر ۵۲ سوش Oka چهار برابر بیش از تولید آنزیم با پروموتر ۵۲ سوش Dumas بود (نمودار ۳).

## ۳-۴- تأثیر اکتیواتورها (۴ و ۶۲) بر پروموتر ژن ۵۲

## دو سوش Oka و Dumas

با ورود همزمان ترانس اکتیواتورها و پلاسمیدهای حاوی پروموتر ژن ۵۲، تولید آنزیم بسیار بیش از حالت پیشین مشاهده شد. افزایش تولید آنزیم در مورد هر دو پلاسمید pMZ1 و pMZ2 مشاهده شد، با ورود ۴ و ۶۲ بیشتر از ورود تنها ۶۲ به عنوان فعال کننده ترانس افزایش آنزیم مشاهده گردید.

## ۴- بحث

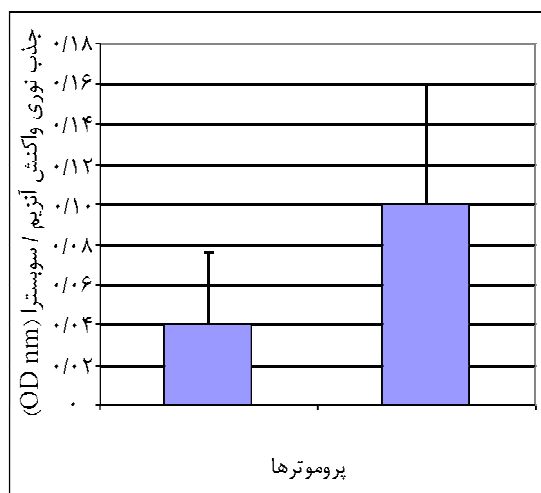
مطالعه ناحیه پروموتوری ژنهای همانند سازی VZV به استثنای ژنهای ۲۸ و ۲۹ که کدکننده پروتئینهای اتصال به DNA عمومی و پلیمراز ویروس را تولید می نمایند انجام گرفته و حتی ناحیه شروع نسخه برداری (+1) شناخته نشده است. از این رو در این آزمایش حدود ۷۰۰ نوکلئوتید قبل از کدون شروع ترجمه پروتئینهای هلیکاز و پریماز به وسیله PCR تکثیر و در محل پروموتر ناقل گزارشگر کلون گردید، آزمایش سنجش بتا گالاکتوزیداز این نواحی را به عنوان ناحیه

پروموتوری نشان داد همین طور تعیین توالی نواحی پروموتوری ژن ۵۲ سوش Oka و Dumas در سه نقطه تفاوت نشان داد که بنا به نتایج به دست آمده، می توان گفت که این تفاوتها در محلهای مؤثر در رونویسی پروموتر واقع گردیده و بر میزان رونویسی اثر داشته است؛ به عبارت دیگر احتمالاً جهشها سبب کاهش رونویسی با پروموتر سوش Dumas شده اند. یکی از این جهشها تبدیل باز A در سوش Oka به باز G در سوش Dumas در فاصله ۱۰۰ نوکلئوتیدی از محل شروع ترجمه است که با توجه به توالی اطراف، احتمالاً می تواند مربوط به توالی TATA باشد و با این تغییر در سوش Dumas باز شدن دو رشته DNA با تأخیر انجام می شود و در نتیجه کاهش میزان رونویسی بدیهی خواهد بود، که نشانگر اثر جهش بر رونویسی پایه پروموتر ژن ۵۲ سوش Dumas است (نمودار ۱).

دو جهش دیگر نیز که در فواصل ۲۷۵ و ۲۹۰ از شروع ترجمه واقع شده اند، می توانند محل اتصال عوامل ماشین رونویسی باشند که احتمالاً نشانگر اثر جهشها بر میانکنش فاکتورهای رونویسی با DNA می باشد (نمودار ۲) در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده می توان گفت ناحیه احتمالی پروموتر ژن ۵۲ سوش Oka نسبت به ناحیه احتمالی پروموتر ژن ۵۲ سوش Dumas قویتر بوده و فرضیه نقش محصول این ژن در همانندسازی و تولید ویریون از کاسمیدهای ویروس واریسلا زوستر را، تقویت می کند.

## ۵- قدرتانی و تشکر

از سرکار خانم دکتر طراوت بامداد به خاطر اهدای پلاسمید بیانی تشکر می شود.

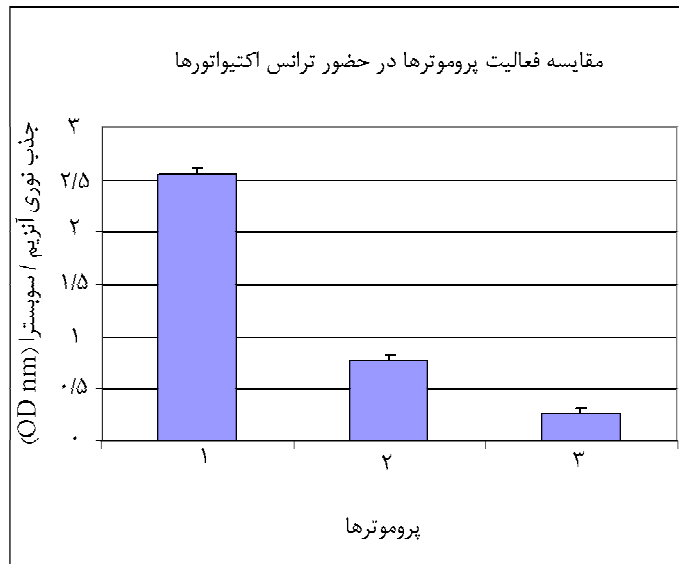


نمودار ۱ مقایسه فعالیت پروموتر ژن ۵۲ در دو سوش Oka, Dumas بدون حضور اکتیواتورها

ستون ۱ جذب مربوط به پروموتر Dumas

ستون ۲ جذب مربوط به پروموتر Oka



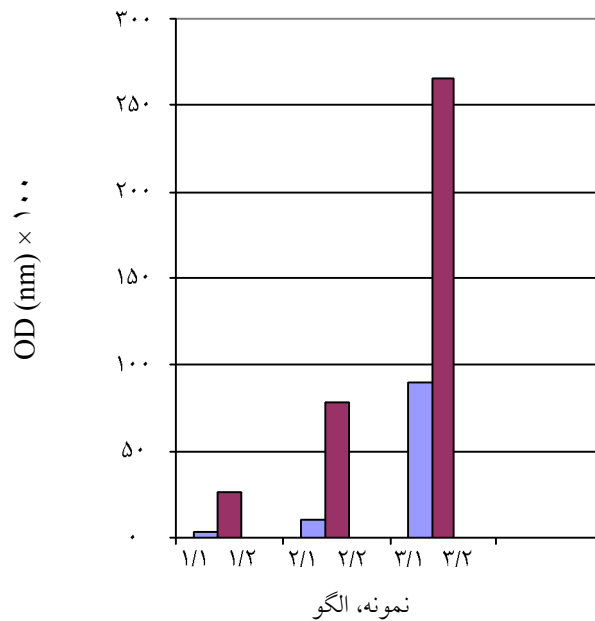


**نمودار ۲** مقایسه فعالیت پروموترها با حضور ترانس اکتیواتورها

ستون ۱ پروموتر Dumas و اکتیواتور ۶۲ و ۴

ستون ۲ پروموتر Oka و اکتیواتور ۶۲ و ۴

ستون ۳ جذب کنترل مثبت پروموتر CMV



**نمودار ۳** مقایسه افزایش القای ناشی از حضور فعال کننده ترانس

ستون ۱/۱ فعالیت پایه پروموتر Dumas

ستون ۱/۲ فعالیت پروموتر فعال شده Dumas

ستون ۲/۱ فعالیت پایه پروموتر Oka

ستون ۲/۲ فعالیت پروموتر فعال شده Oka

ستون ۳/۱ فعالیت پایه پروموتر CMV

ستون ۳/۲ فعالیت پروموتر فعال شده CMV

## ۵- منابع

- [1] Abendroth A. and A. Varicella – Zoster Virus immune evasion. *Immunological Rev.*, 143-156, 1999.
- [2] Cohen J. L., Heffel D. and Seidel K. The Transcriptional Activatio Domain of Varicella – zoster virus open Reading Frame 62 protein is not conserved with its Herpes simplex virus Homology. *J. Virol.* 4246-4251, 1993.
- [3] Davison A.J., Scott J.E. The complete DNA sequence of varicella – zoster virus. *J. Gen. Virol.*, 67: 1760-1816, 1986.
- [4] Cohen J.I., and Seidel K. Varicella –Zoster Virus (VZV) Open Reading Frame 10 protein.The Homolog of the Essential Herpes Simplex Virus Protein VP16, is Dispansable for VZV Replication invitro. *J. Virol.*, 7850-7858, 1994.
- [5] Fields B.N. Fileds virology. 3<sup>rd</sup> edition, U.S.A: Lippincott Raven publishers, pp. 2425-2541, 1996.
- [6] Granoff A. and Webster R. Encyclopedia of virology. 2<sup>nd</sup> edition, Academic press., 166 (1): 7-12, 1992.
- [7] Ling P., Kinchington P.R., Sadeghizadeh. M., Ruyechan W. T. and Hay J. Transcription from Varicella – Zoster Virus. Gene 67 (Glycoprotein IV). *J. Virol.*, 3690-3698, 1992.
- [8] Perera P., The TATA motif specifies the Differential Activation of minimal promoters by Varicella Zoster Virus Immediate – early Regulatory Protein IE62. *J. Biol Chen*, 275:487-496 , 2000.
- [9] Rahaus M., Desloges N., Yang M., Ruyechan W.T. wolff M. H. Transcription factor USF, expressed during the entire phase of varicella – zoster virus in fection, interacts physically with the major viral trans activator IE62 and plays a significant role in virus repletion. *Genvirol*, 2957-2967, 2003.
- [10] Sadzot – Delvaux C., Baudoux L.and Defechereux P. Overview of the Replication of Varicella – Zoster Virus. *Mol. Bio. Path. Clin. Asp.*, 3: 21-42, 1999.
- [11] Yaghoobi M.M., Sadeghizadeh M., Naderimanesh H., Noori-Dalooi M.R. Varicella Zoster Virus (VZV) Origin-dependent plasmid Replication the preseuce of the four overlapping cosmids comprising the complete Genome of VZV. *J.S.I.R.I.* 15 (1):21-26 (2004).