دراسات مقارنة على الاختلافات الجينية المتعلقة بقابلية العائل للإصابة بفيروس الكورونا المسبب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية

إعداد

ربا محمد سعيد عبد الرحمن عطار

قدمت هذه الرسالة استكمالا لمتطلبات درجة الدكتوراه في فلسفة العلوم
(أحياء/ وراثة)

أ.د. صباح محمود حسن

أ.د. صباح عبد العزيز لنجاوي

كلية العلوم

جامعة الملك عبد العزيز

جدة ـ المملكة العربية السعودية

١٤٤٠هـ ـ ٢٠١٨م

دراسات مقارنة على الاختلافات الجينية المتعلقة بقابلية العائل للإصابة بفيروس الكورونا المسبب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية

ربا محمد سعيد عطار

المستخلص

يعتبر فيروس الكورونا المسبب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية (MERS-CoV) فيروس حيواني المنشأ. لا يزال المصدر الرئيسي للفيروس وطريقة انتقاله غير معلومين ومفهومين بشكل كامل حتى الآن. ويُعد ذلك الفيروس وباءً في المملكة العربية السعودية، حيث اعتُبرت الإبل وحيدة السنام مصدر للعدوى نتيجة لتقارير أفادت إصابة بعض الحالات بفيروس الكورونا نتيجة لقربها من الإبل. كما أفادت بعض الدراسات السابقة بأن الإبل وحيدة السنام تعتبر بمثابة حاضن لفيروس الكورونا المسبب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية. استهدفت الدراسة الحالية تحديد مدى انتشار فيروس الكورونا المسبب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية في الإبل المقيمة باستخدام طرق الكشف المناعية والجزيئية، والحصول على بعض عينات الحمض النووي الريبوزي (RNA) المستخلصة من المرضى المصابين بالفيروس ثم التأكيد من إصابتهم بالفيروس باستخدام الطرق الجزيئية، ومن بعد ذلك إجراء دراسات مقارنة على منطقة الإرتباط بالمستقبل (RBD) الخاص بالفيروس المعزول من عينات الإبل والبشر المصابة باستخدام طرق المعلوماتية الإحيائية والتجارب المعملية ثم عمل المقارنات المتعددة لبعض التتابعات المنشورة لبروتين النتوء السطحي (S) الخاص بالفيروس. تم تجيمع ٢٢٢ عينة دم و٢٢٤عينة أنفية من الإبل من تسع مناطق مختلفة في غرب المملكة العربية السعودية في الفترة من سبتمبر ٢٠١٦ إلى سبتمبر ٢٠١٧، بالإضافة إلى ٣٦ عينة حمض نووي ريبوزي (RNA) مستخلصة من بشر مصابين بالفيروس من مستشفى الملك خالد للحرس الوطني. أظهرت النتائج وجود الأجسام المضادة بنسبة ٨٣٪ في الأمصال ووجود الحمض النووي الريبوزي للفيروس بنسبة ١.٣٪ في العينات الأنفية. صنف تحليل العلاقات الوراثية التطورية للعزلات البشرية تحت الفرع الحيوي (B)، في حين صنفت عزلات الإبل تحت الفرع الحيوي (C) مع عزلات الإبل الأفريقية. أظهرت النتائج أيضاٍ آن هناك اختلاف في تتابعات النيوكليوتيدات والأحماض الأمينية بين عزلات المملكة العربية السعودية (الإبل والبشر) مقارنة بعزلة الإبل المصرية. أظهر تحليل توقع التركيب ثلاثي الأبعاد لبروتين ال RBD أن التغير الوحيد الحادث في تتابع الأحماض الأمينية بين عزلة الإبل والبشر ليس له أي تأثير على نشاط البروتين حيث أنه لا يقع في مراكز النشاط الخاصة به. أظهرت نتائج اختبارات تحليل البروتينات تماثل الوزن الجزيئي لبروتينات الRBD في عزلات الإبل والعزلات البشرية الخاصة بالمملكة العربية السعودية بالإضافة إلى عزلة الإبل المصرية. أوضحت نتائج تحليل تتابعات المناطق المختلفة الخاصة ببروتين النتوء السطحي (S) في عزلات الفيروس من الإبل والبشر والتي تم الحصول عليها من قاعدة بيانات بنك الجينات وجود اختلافات بينهم في تتابع الأحماض الأمينية.

Comparative Studies on Gene Variations Related to Host Susceptibility to Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)

By

Roba Mohammed Saeed Attar (1401181)

A thesis submitted for the requirements of the degree of Doctor of Philosophy of Science [Biology/Genetics]

Supervised By

Prof. Dr. Sabah Mahmoud Mohamed Hassan

Prof. Dr. Sabah Abdul-Aziz Linjawi

FACULTY OF SCIENCES
KING ABDULAZIZ UNIVERSITY
JEDDAH-SAUDI ARABIA
1440H-2018G

Comparative Studies on Gene Variations Related to Host Susceptibility to Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)

Roba Mohammed Saeed Attar

Abstract

MERS-CoV is a zoonotic disease. Till now, its main source and mode of transmission are incompletely known and understood. It is considered as an epidemic in Saudi Arabia (SA). Dromedary camels (DC) have been involved due to reports revealed that, some confirmed cases were exposed to camels. Some previous studies reported DCs as a reservoir for MERS-CoV. The current study was aimed to determine the prevalence of MERS-CoV in the Saudi resident camels using serological and molecular methods, obtaining some MERS-CoV RNA extracts from infected human and confirm their infection by molecular methods. Conducting comparative analysis studies for some of the detected camel and human MERS-CoV isolates by comparing their isolated receptor binding domains (RBD) using bioinformatics and wet lab analysis methods in addition, conducting multiple sequence alignment (MSA) on some published camel and human MERS-CoV Spike (S) protein sequences. Beginning from September 2016 to September 2017, a total number of 222 blood and 224 nasal swab samples were collected from DCs from nine different areas in the western region of SA and a total number of 36 RNA extracted samples from MERS-CoV positive human cases were collected from King Khalid National Guard Hospital. The results revealed high seroprevalence of MERS-CoV antibodies with percentage of 83% in camel sera and 3.1% of MERS-CoV RNA in camel nasal swaps. Phylogenetic analysis clustered human MERS-CoV isolates to clade B, while it clustered the camel MERS-CoV isolates to clade C with African camel isolates. The results also revealed nucleotide and amino acid (aa) differences between Saudi camels and human isolates compared to the Egyptian camel RBD. Prediction of the three-dimension (3D) structure of the RBD protein revealed a single aa difference between Saudi camel and human RBD, which has no effect on the protein activity, since it is not located in any of the RBD active sites. Protein analysis studies confirmed that, the RBD protein of Saudi camel, human and MERS-CoV/Camel/Egypt/NC163 isolates have the same RBD molecular weights. MSA results for camel and human MERS-CoV S protein domains, which retrieved from GenBank database revealed different aa changes among them.