اتجاهات نحو تطوير لقاح من الحامض النووي لفيروس أنفلونزا أ

ثامر بن أحمد فرج بوبك

د. نزار بن عبدالمعطي رضوان

المستخلص العربي

الهدف من إجراء هذا البحث هو تحضير لقاح من الحامض النووي لفيروس H5N1. ولزيادة كفاءة هذا اللقاح فقد تم اختبار تحضير أزواج من الحامض النووي من (NP) مضافا إليه الحامض النووي لجينات الفيروس السبع الآخرين لكي نتعرف على بروتينات الفيروس الأخرى التي تستحث الجهاز المناعي للدواجن وتوفر الحماية ضد الفيروس . ولانجاز هذا العمل تم استخدام سلالة فيروس H5N1 المنتشرة في مصر وتم التعرف و التأكد منها باستخدام طرق التشخيص السريعة و أيضا باستخدام تفاعل البلمرة النووي المتسلسل العكسي لجين الهيماجلوتينين وجين النيورامينيديز . وقد أثبتت التجارب صحة وجود الفيروس ونوعه . تم إكثار الفيروس في خلايا كلية نوع من الكلاب حتى يتسنى لنا استكمال العمل ودراسة النشاط الفيروسي ولتحضير اللقاح من الحامض النووي الفيروسي ثم عمل مضاعفة لجينات الفيروس الثمانية باستخدام تقنية تفاعل البلمرة النووي المتسلسل العكسي RT-PCR . تم إدخال كل جين على حده في البلازميدات ثم إدخالها في بكتريا لإكثارها ثم استخلاصها من البكتريا ثم تم قياس الأجسام المضادة المنقولة إلى الأمهات لمعرفة الوقت المناسب لإعطاء الجرعات. تم تقسيم الدواجن إلى ثمانية مجموعات كل مجموعة تم تلقيحها بزوج من الحامض النووي NP مع احد الأحماض النووية الأخرى. ثم إعطاء جرعة ثانية بعد أسبوعين. تم جمع المصل بعد أسبوعين لإجراء اختبار التعادل للفيروس على مزرعة خلوية لمعرفة مدى كفاءة احد الأزواج في توفير الحماية من الإصابة بالفيروس وذلك بملاحظة وحساب التأثير الممرض على الخلايا.وقد أظهرت نتائج التعادل أن اللقاح المكون من NP مع NS حقق حماية كافية للدواجن.

Approaches toward the development of DNA vaccine for influenza A virus

Thamer Ahmed F. Bouback

Dr. Nezar A. Redhwan

Abstract

The main goals of the present investigation are to prepare a viral DNA vaccine to help stimulate the immune system of poultry**.** To increase the efficiency of this vaccine has been tested to prepare pairs of DNA from Necleoprotein (NP) coupled with the DNA of seven other genes of the virus in order to identify the other virus proteins that induce the immune system of poultry and provide protection against the virus. To accomplish this work, a strain of H5N1 circulating in Egypt was identified and confirmed using rapid diagnostic methods and also using reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) to hemagglutinin gene and neuraminidase gene**,** then the virus was propagated in MDCK cell line. The viral genes were extracted and amplified full length. The cDNA cloned in gene expression vector (PHW2000) and transformed to competent cell. The level of maternal antibodies were determined by ELISA to appoint the right time to give the vaccine. The chickens were divided into eight groups, each group was vaccinated by pair of DNA NP with one of the another genes, then; the efficiency to provide protection of coupled with the DNA vaccine was determined by neutralization assay. The results showed that the vaccine that consists of NP with NS has adequate protection for poultry.