مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۱، شماره ۳، پائیز ۱۳۹۷

پروتئین VP ۳۵ یک هدف درمانی موثر برای غلبه بر بیماری ابولا

وحیده السادات ناظمی*[۱]، محمد رضا دایر[۲]، سیده الهام رضا توفیقی[۳]

۱- کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز
۲- دانشیار بیوشیمی، گروه زیست شناسی ، دانشکده علوم ، دانشگاه شهید چمران اهواز
۳- دانشیار میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

vahidehnazemi@gmail.com

چکیده

خانواده فیلوویروس‌ها از راسته مونونگاویرال از دو جنس ابولا ویروس و ماربرگ‌ویروس تشکیل شده است. گونه زئیر از میان ابولا ویروس‌ها سبب مرگ‌ومیر حدود ۹۰ درصد و یکی از کشنده‌ترین ویروس‌های شناخته شده است و موجب تب خونریزی‌دهنده شدید در انسان‌ها و پریمات‌های غیر انسان می‌شود. از هفت پروتئینی که توسط ویروس ابولا کد می‌شوند، VP۲۴، گلیکوپروتئین و VP۳۵ فاکتورهای بیماریزا هستند. پروتئین ویروسی ۳۵ یا VP۳۵ یک پروتئین چند کاره است که در چندین مرحله از چرخه همانندسازی ویروس عمل می‌کند. VP۳۵ به‌عنوان آنتاگونیست اجزای مختلف مسیر القا و پیام‌رسانی اینترفرون شامل گیرنده‌های RLR به‌ویژه RIG-1، کینازهای IRF-3، IRF-7، پروتئین کیناز R، و فعال‌کننده پروتئین‌کیناز R یعنی PACT شناخته شده است. VP۳۵ همچنین به‌عنوان یک مهارکننده مسیر خاموش‌سازی آر.ان.ا، یک کوفاکتور برای پلیمراز و یک جزء ساختاری نوکلئوکپسید ویروس عمل می‌کند. بنابرین VP۳۵ برای همانندسازی و بیماریزایی ویروس لازم است. مطالعات نشان داده‌اند که دو ناحیه بسیار حفاظت‌شده با عناوین ناحیه بازی اول (FBS) و ناحیه بازی مرکزی (CBP) در دومین مهارکننده اینترفرون با انتهای کربوکسیلی پروتئین VP ۳۵ (IID) وجود دارد. با توجه به اهمیت این پروتئین در بیماریزایی ویروس ابولا، VP۳۵ یک هدف قوی برای درمان ضد ویروسی است. در این پژوهش، بخش‌های مهم این پروتئین از جنبه‌های ساختاری و عملکردی شرح داده خواهد شد.

واژه‌های کلیدی: VP۳۵، ابولا، پروتئین کیناز R، اپتامر، RNAi.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

مقدمه

خانواده فیلوویروس‌ها از راسته مونونگاویرال از دو جنس ابولاویروس و ماربرگ‌ویروس تشکیل شده است (۱). به دلیل عدم وجود واکسن‌های تایید شده و یا داروهای ضدویروسی، هر دو ویروس ابولا و ماربرگ جزء عوامل بیماری زای درجه چهار طبقه بندی می‌شوند (۲). گونه زئیر از میان ابولا ویروس‌ها مرگ و میر حدود ۹۰ درصد را سبب می شود و یکی از کشنده‌ترین ویروس‌های شناخته شده است. در میان پنج گونه ابولاویروس، رستون تنها گونه ای است که سبب بیماری در انسان نمی‌شود ولی در سایر پریمات‌ها بسیار بیماریزا است (۱). VP۳۵ ابولاویروس یک آنتاگونیست ایمنی چندکاره است که در چندین مرحله چرخه همانندسازی ویروس عمل می‌کند. این پروتئین به‌عنوان یک آنتاگونیست مسیر القا و سیگنال‌دهی اینترفرون شامل گیرنده‌های RLR به‌ویژه RIG-1 ، کینازهای IRF-3 و IRF-7 شامل IKKε و TBK-1، پروتئین‌کیناز وابسته به آر.ان.ا (پروتئین‌کیناز R) و فعال‌کننده پروتئین کیناز R یعنی PACT شناخته شده است. VP۳۵ همچنین به‌عنوان یک مهارکننده خاموش‌سازی آر.ان.ا، یک کوفاکتور برای پلیمراز ویروس و یک جزء ساختاری نوکلئوکپسید ویروس است. VP۳۵ مانع بلوغ سلول دندریتی نیز می‌شود (۴ و۳ و۱).

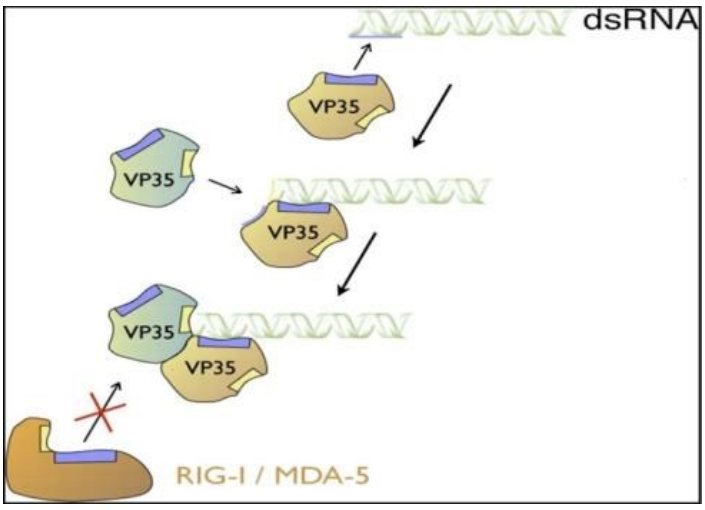
میانکنش VP۳۵ با آر.ان.ای دو رشته‌ای و مهار تولید اینترفرون

پروتئین VP۳۵ با ۳۴۰ اسید آمینه از یک دومین الیگومریزه‌شونده (انتهای آمینی) و یک دومین مهارکننده اینترفرون (IID) (انتهای کربوکسیلی) تشکیل شده است. IID یا همان دومین اتصالی به آر.ان.ای دو رشته‌ای از دو زیردومین مارپیچ آلفا با انتهای آمینی و صفحه بتا با انتهای کربوکسیلی تشکیل شده است. VP۳۵ ابولاویروس به خانواده پروتئین‌های اتصالی به آر.ان.ای دو رشته ای شامل NS1، E3L واکسینیاویروس، σ۳ رئوویروس و pTRS1 سیتومگالو ویروس تعلق دارد (۵). VP۳۵ در میان گونه‌های ابولاویروس دو ناحیه بسیار حفاظت شده دارد: ناحیه بازی اول (FBP) و ناحیه

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

بازی دوم یا مرکزی (CBP). باقیمانده‌های ناحیه بازی مرکزی در توالی IID که در میان ماربرگ‌ویروس و ابولاویروس بسیار حفظ شده‌اند، شامل آرژینین ۳۱۲، لیزین ۳۰۹، آرژینین ۳۰۵، لیزین ۳۳۹، آرژینین ۳۲۲ و لیزین ۳۱۹ هستند که در زیردومین صفحه بتا قرار دارند و باقیمانده‌های مهم برای مهار تولید اینترفرون محسوب می‌شوند. این باقیمانده‌ها با آر.ان.ای دو رشته‌ای میانکنش کرده و پاسخ‌های ایمنی میزبان را مهار می‌کنند (۵ و ۱). ناحیه بازی مرکزی VP۳۵ گونه زئیر به‌صورت غیراختصاصی به ۸ جفت باز آر.ان.ای دو رشته‌ای متصل می‌شود. در ساختارهای VP۳۵ گونه‌های زئیر و رستون، دو کپی از دومین اتصالی آر.ان.ای دو رشته‌ای یک دیمر نامتقارن تشکیل می‌دهند که به هر کدام از انتهاهای آر.ان.ای دو رشته‌ای متصل می‌شوند. یک دومین اتصالی آر.ان.ای پروتئین VP۳۵ که مولکول پوشاننده انتهایی گفته می‌شود، با بازهای انتهایی اتصال برقرار می‌کند. در حالیکه دومین اتصالی دیگر که مولکول اتصالی ستون فقرات گفته می‌شود با مولکول پوشاننده انتهایی تشکیل دیمر می‌دهد و با ستون فقرات قند فسفات تماس حاصل می‌کند (شکل ۱) (۶).



شکل ۱- مکانیسم سرهم شدن دیمری دومین اتصالی آر.ان.ای دو رشته‌ای VP۳۵ (۳۵).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

علت تفاوت در بیماریزایی دو گونه از ابولاویروس

مطالعات نشان می‌دهد که گونه رستون از ابولاویروس نسبت به گونه زئیر توانایی کمتری برای مهار پاسخ‌های ایمنی ذاتی میزبان دارد. مطالعه تطابق توالی نشان می‌دهد که این دو پروتئین در ناحیه IID تنها در ۱۴ اسیدآمینه اختلاف دارند (۳). باقیمانده‌های ۲۰۴ تا ۳۲۹ از VP۳۵ IID رستون با باقیمانده‌های ۲۱۵ تا ۳۴۰ گونه زئیر مطابقت دارد. هر دو VP۳۵ IID به هشت جفت باز آر.ان.ای دو رشته متصل می‌شوند. نسبت آر.ان.ای دو رشته به IID VP۳۵، 1 به ۴ است. هر چند مقایسه ثابت‌های اتصال آشکار کرد که IID VP۳۵ رستون در مقایسه با VP۳۵ IID زئیر با دو تا سه فولد کمتر به آر.ان.ای دو رشته‌ای مشابه متصل می‌شود. میانگین دمای ذوب (Tm) برای VP۳۵ IID رستون ۶۳/۴±۰/۳ °C است. در حالی که برای گونه زئیر ۵۷/۰±۰/۱ °C است. این نتایج نشان می‌دهد که VP۳۵ IID رستون نسبت به زئیر از نظر دمایی پایدارتر است. این دو پروتئین تنها در ۱۴ باقیمانده IID تفاوت دارند ولی علت تفاوت در پایداری دمایی کاملاً مشخص نشده است. گرمای نسبی که از اتصال حاصل می‌شود در مورد IID گونه رستون ۲۵ درصد کمتر از گونه زئیر است. در ساختار VP۳۵ IID گونه رستون بین زیر دومین مارپیچ آلفا و صفحه بتا یک مارپیچ آلفا با ۵ باقیمانده (α_4b) وجود دارد. این مارپیچ در ساختار VP۳۵ IID زئیر وجود ندارد و به جای آن یک لوپ قرار دارد. احتمالا حضور مارپیچ α_4b موجب پایداری بیشتر IID VP۳۵ رستون در برابر گرما شده است. به دلیل وجود این مارپیچ جهت‌گیری نسبی بین زیر دومین مارپیچ آلفا و صفحه بتا ۰/۴-۰/۱ درجه است. علی‌رغم توالی نخستین مشابه به ویژه نزدیک ناحیه بازی مرکزی، میانکنش IID با آر.ان.ای دو رشته‌ای در دو گونه رستون و زئیر یکسان نیست (۳).

مقدار RMSD ستون فقرات ۶۴/۰ آنگستروم است. به‌طور کلی ساختار IID VP۳۵ رستون مانند زئیر است و دو زیر واحد مارپیچ آلفا و صفحه بتا دارد. مقدار RMSD برای زیر واحد مارپیچ آلفا

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

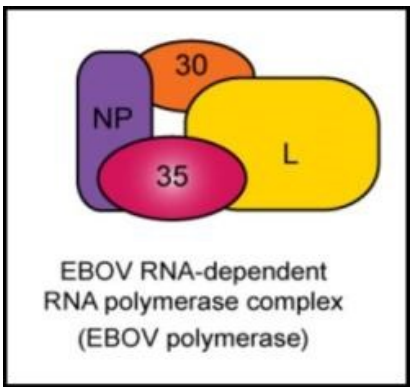
۳/۰آنگستروم و برای زیر واحد صفحه بتا ۵/۰ آنگستروم است (۵).

این نتایج نشان می‌دهد که VP۳۵ IID در سایر فیلوویروس‌ها احتمالا دارای یک فولد مشابه است و مهم‌تر اینکه IID VP۳۵ اساساً متفاوت از فولد معیار αββββα موجود در دومین‌های اتصالی آر.ان.ای دو رشته‌ای موجود در سایر پروتئین‌ها است (۵ و۳).

مقایسه الکتروستاتیک سطحی ساختارهای VP۳۵ IID رستون و زئیر نشان می‌دهد که باقیمانده‌هایی که برای اتصال آر.ان.ای دو رشته‌ای در IID در زئیر مهم هستند، سطح باردار مشابهی را در زئیر تشکیل می‌دهند. اضافه بر این مشاهده شده است که VP۳۵ IID گونه زئیر می‌تواند هم به ستون فقرات و هم به انتهاهای پهن آر.ان.ای دو رشته‌ای متصل شود و یک کلاهک انتهائی را تشکیل دهد. این میانکنش همچنین به توانایی لیزین یکی مانده به آخر (لیزین ۳۲۸ در رستون یا لیزین ۳۳۹ در زئیر) بستگی دارد که با گروه کربوکسیلات انتهایی هماهنگ شود (۳).

نقش VP۳۵ در همانندسازی و رونویسی ویروس

کمپلکس آر.ان.ای پلیمراز وابسته به آر.ان.ای ابولاویروس از چهار پروتئین NP، VP۳۵، VP۳۰ و پلیمراز L تشکیل شده است (۱). ناحیه بازی اول در میانکنش VP۳۵ و NP نقش دارد البته همه باقیمانده‌های بازی که برای همانندسازی مهم هستند، برای اتصال نوکلئوپروتئین لازم نیستند. چندین نمونه دارای جهش در باقیمانده‌های بازی که کاهش همانندسازی را نشان می‌دهند، می‌توانند به نوکلئوپروتئین متصل شوند. این نتایج نشان می‌دهد که VP۳۵ بین نوکلئوپروتئین و L پل می‌زند شکل (۲).



شکل ۲- کمپلکس آر.ان.ای پلیمراز ویروس (۱).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

این توضیحات اهمیت باقیمانده‌های بازی حفظ شده ناحیه انتهای کربوکسیلی VP۳۵ IID را نشان می‌دهد و همچنین بیانگر اهمیت VP۳۵ IID به‌عنوان یک هدف درمانی قوی است. VP۳۵ با NP و L میانکنش می‌کند. هر دوی میانکنش NP با VP۳۵ و VP۳۵ با L برای سنتز آر.ان.ای ویروسی ضروری هستند (۷ و ۱). جهش باقیمانده‌های ناحیه بازی اول (لیزین۲۲۲، آرژینین۲۲۵، لیزین۲۴۸ یا لیزین۲۵۱) به آلانین روی عمل آنتاگونیستی اینترفرون اثری ندارد (۸ و ۱). وقتی توانایی VP۳۵ IID برای اتصال به نوکلئوپروتئین در حضور و غیاب آر.ان.ای دو رشته‌ای بررسی شد، این نتیجه حاصل شد که عمل اتصالی VP۳۵ به آر.ان.ای دو رشته می‌تواند تحت تاثیر میانکنش VP۳۵ و NP قرار بگیرد. این دو میانکنش اتصالی به‌طور هماهنگ رخ نمی‌دهند. جهش باقیمانده‌های بازی مرکزی یا باقیمانده‌های سرپوش انتهائی روی عمل آنتاگونیستی اینترفرون اثر منفی دارند ولی اثر کمی روی عمل کوفاکتوری VP۳۵ دارند. ناحیه بازی اول بر خلاف ناحیه بازی مرکزی برای اتصال به آر.ان.ای دو رشته‌ای یا مهار تولید اینترفرون بتا لازم نیست (۸ و ۱). جهش‌های جانشینی آلانین یا گلوتامیک اسید باقیمانده‌های آرژینین۲۲۵، لیزین۲۴۸ و لیزین۲۵۱ منجر به از دست رفتن فعالیت مینی‌ژنوم می‌شود. در مقابل جهش‌های لیزین به آرژینین یا آرژینین به لیزین اثری روی فعالیت مینی‌ژنوم ندارد و این نشان می‌دهد که طبیعت بازی باقیمانده‌ها برای حمایت از عمل کوفاکتوری VP۳۵ ابولاویروس کافی است (۱). جهش‌های VP۳۵ که موجب از دست رفتن فعالیت مینی‌ژنوم می‌شوند، در واقع توانایی میانکنش با نوکلئوپروتئین را ندارند. تنها پروتئین ویروس که خاصیت آنزیمی دارد پلیمراز است. مشخص شده که جهش‌یافته‌های ناحیه بازی اول که نقص در همانندسازی دارند، توانایی میانکنش با نوکلئوپروتئین را ندارند اما توانایی میانکنش با پلیمراز را دارند. باقیمانده‌های لیزین۲۲۲، آرژینین ۲۲۵، لیزین۲۴۸ و لیزین ۲۵۱ از ناحیه بازی اول در زیر دومین مارپیچ آلفا قرار دارند و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

باقیمانده‌های ناحیه بازی مرکزی روی دومین صفحه بتا قرار دارند. نمونه‌های دارای جهش آرژینین ۲۲۵، لیزین ۲۴۸ و لیزین ۲۵۱ مانع عمل کوفاکتوری VP۳۵ برای پلیمراز ویروس می‌شوند. نمونه‌های دارای جهش آرژینین ۲۲۵ به آلانین و لیزین ۲۴۸ به آلانین مربوط به ناحیه بازی اول هیچ میانکنش قابل تشخیصی با نوکلئوپروتئین نشان نداده‌اند. این در حالی است که نمونه‌های دارای جهش لیزین۲۵۱ به آلانین توانایی کمی برای میانکنش با نوکلئوپروتئین نشان می‌دهند و مشابه با جهش‌یافته‌های آرژینین ۲۲۵ به آلانین و لیزین ۲۴۸ به آلانین و هیستیدین ۲۴۰ به آلانین یک الگوی حرکتی غیرمعمولی روی ژل SDS-PAGE نشان می‌دهند. جهش هیستیدین ۲۴۰ به آلانین VP۳۵ IID ابولاویروس را ناپایدار می‌کند و موجب عدم توانایی میانکنش با نوکلئو پروتئین می‌شود. فقدان فعالیت مینی ژنوم در نمونه‌های دارای جهش آرژینین ۲۲۵ به آلانین، لیزین ۲۴۸ به آلانین و لیزین ۲۵۱ به آلانین به دنبال از دست دادن تماس‌های حیاتی با نوکلئوپروتئین است.

VP۳۵ چندین میانکنش را در زمینه مبارزه با ایمنی میزبان و همانندسازی ویروسی انجام می‌دهد. اینکه VP۳۵ این دو میانکنش را به‌طور همزمان انجام می‌دهد یا بین این دو عمل حد و مرزی قرار می‌دهد، مشخص نشده است (۱). بررسی ها نشان داده است که باقیمانده‌های ۱ تا ۵۰۳ از انتهای آمینی پلیمراز ماربرگ ویروس برای میانکنش با VP۳۵ ماربرگ ویروس کافی است. همچنین باقیمانده‌های ۱ تا ۵۰۵ از پلیمراز ابولاویروس برای میانکنش با VP۳۵ ابولاویروس کافی هستند. همه جهش‌یافته‌هایی که توانایی میانکنش با پلیمراز را حفظ کردند نشان دادند که باقیمانده‌های ناحیه بازی اول، ناحیه بازی مرکزی، باقیمانده‌های بازی کناری و باقیمانده‌های پوشاننده انتها برای میانکنش VP۳۵ با پلیمراز مهم نیستند. اضافه بر این نشان داده شده است که همواليگومریزاسیون VP۳۵ ابولاویروس از طریق انتهای آمینی برای میانکنش VP۳۵ با پلیمراز ابولاویروس لازم است (۹ و۱). احتمالاً میانکنش VP۳۵ با پلیمراز از

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

طریق انتهای آمینی VP۳۵ و با شرکت کم یا عدم شرکت انتهای کربوکسیلی همراه است. در یک بررسی نشان داده شد که ترکیباتی که شامل pyrrolidinone scaffold هستند به VP۳۵ زئیر متصل می‌شوند. همه ترکیبات پیرولیدینون به نزدیک پاکتی که به وسیله باقیمانده‌هایی از زیر دومین‌های مارپیچ آلفا و صفحه بتا (شامل آلانین ۲۲۱، آرژینین۲۲۵ ، گلایسین ۲۴۱، لوسین ۲۴۲، لیزین۲۴۸ ، لیزین ۲۵۱، پرولین ۲۹۳، ایزولوسین ۲۹۵، ایزولوسین ۲۹۷، آسپارتات ۳۰۲، فنیل آلانین ۳۲۸) شکل گرفته است متصل می‌شوند. در کل حدود ۲۰ باقیمانده از IID پروتئین زئیر پاکت را می‌سازند. این ۲۰ باقیمانده بین زیردومین‌های مارپیچ آلفا و صفحه بتا توزیع شده‌اند (۱۰). بررسی ترکیبات متصل به VP۳۵ زئیر شامل GA017، VPL42، VPL60 نشان می‌دهد که باقیمانده‌های هیدروفوب حفاظت شده شامل والین ۲۴۵، ایزولوسین ۲۹۵، فنیل‌آلانین ۳۲۸ برای میانکنش با این ترکیبات ضروری هستند. لیزین ۲۵۱ در عمل کوفاکتوری VP۳۵ نقش دارد به‌طوری که جهش در آن موجب از دست رفتن فعالیت آن می‌شود (۱۱ و۱۰). IID دارای جهش لیزین ۲۴۸ به آلانین و ایزولوسین ۲۹۵ به آلانین توانایی اتصال به این ترکیبات را ندارد. در حالی که باقیمانده‌های بیرون پاکت اتصالی اثری روی اتصال لیگاند ندارند (۱۰).

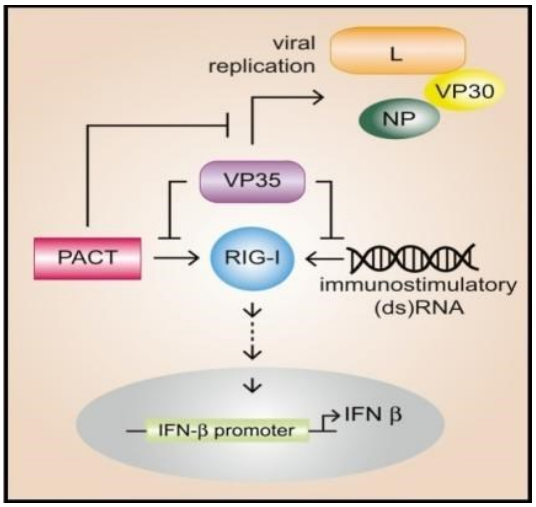
کاهش تولید اینترفرون توسط VP۳۵ از طریق میانکنش با PACT

PACT پاسخ‌های اینترفرون آلفا و بتا را به عفونت ویروسی و آر.ان.ای دو رشته‌ای افزایش می‌دهد. PACT این وظیفه را از طریق میانکنش با گیرنده RIG-1 انجام می‌دهد و باعث تحریک فعالیت ATPآزی آن و آغاز مسیر سیگنالی می‌شود. سلول‌هایی که فاقد PACT هستند، تولید اینترفرون در آنها کاهش می‌یابد (۱۲).فعال شدن RIG-1 توسط PACT به وسیله میانکنش VP۳۵ ابولاویروس با PACT مهار می‌شود (شکل۳). جهش‌های ناحیه بازی مرکزی IID که مانع اتصال VP۳۵ به PACT می‌شوند مانع این اثر مهاری می‌شوند. میانکنش PACT-VP۳۵ کمپلکس

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

همانندسازی آر.ان.ای ویروسی را احتمالاً از طریق اتصال به VP۳۵ دچار آسیب می‌کند. نشان داده شده است که PACT هر دوی پاسخ‌های ایمنی ذاتی میزبان و همانندسازی ویروس در سلول‌های آلوده را تنظیم می‌کند (۱۲).



شکل۳- تاثیر متقابل VP۳۵ و PACT روی تولید اینترفرون و کمپلکس همانند سازی ویروس (۱۲)

VP۳۵ مانع فسفریلاسیون یا فعال‌شدن فاکتور IRF-3 می‌شود (۱۳). نمونه‌های دو جهشی لیزین ۳۱۹ و آرژینین ۳۲۲ به آلانین و یا جهش آرژینین ۳۱۲ و فنیل آلانین ۲۳۹ به آلانین توانایی مهار میانکنش PACT-RIG-1 را ندارند. بنابرین توانایی VP۳۵ برای مهار فعال کردن مسیر سیگنالی RIG-1 توسط PACT به یک ناحیه بازی مرکزی و باقیمانده‌های کلاهک انتهائی بی‌نقص نیاز دارد که برای اتصال به آر.ان.ای دو رشته‌ای نیز مهم هستند (۱۲).

میانکنش VP۳۵ با DRBP76 از طریق IID

VP۳۵ از طریق IID به DRBP76 که با عناوین TCP80، MPP-4، NFAR-1 یا NF90 نیز شناخته می‌شود، همراه می‌شود. این پروتئین یکی از چندین ایزوفرم مشتق‌شده از ژن ILF3 است. پروتئین DRBP76 با میانکنش با پروتئین‌ها و آر.ان.ای‌های ویروسی و پروتئین‌کیناز R القاشده توسط اینترفرون همانندسازی چندین ویروس را مهار می‌کند (۱۴). DRBP76 عمل پلیمراز ابولاویروس را مهار می‌کند. جهش‌یافته‌های ناحیه بازی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

اول (آرژینین ۲۲۵ به آلانین، لیزین۲۴۸ به آلانین، لیزین ۲۵۱ به آلانین) که توانایی اتصال به آر.ان.ای دو رشته را دارند، توانایی میانکنش با DRBP76 را حفظ می‌کنند. نمونه‌های دارای جهش آرژینین ۳۱۲ به آلانین هنوز توانایی اتصال به DRBP76 را دارند. دو جهش‌یافته ناحیه بازی اول شامل آرژینین ۳۲۲ به آلانین و لیزین ۳۳۹ به آلانین یا با DRBP76 همراه نمی‌شوند یا همراهی کمی دارند. اتصال آر.ان.ای دو رشته‌ای احتمالا در این میانکنش نقش دارد. آمینواسیدهای ۵۶ تا ۳۴۰ پروتئین در غیاب آر.ان.ای دو رشته به DRBP76 متصل می‌شوند (۱۵). DRBP76 همان‌طور که به آر.ان.ای دو رشته‌ای متصل می‌شود، به آر.ان.ای تک رشته‌ای با ساختار دوم و ترجیحاً به آر.ان.ای با عناصر غنی از AU متصل می‌شود (۱۶و۱۴). ساختار VP۳۵ با IID قادر به دیمریزاسیون نیست زیرا که IID خالص در محلول به‌صورت مونومری است. اگرچه مطالعات در محیط غیرزنده نشان می‌دهد که IID تترامرهایی روی آر.ان.ای دو رشته‌ای تشکیل می‌دهد (۱۷).

بنابرین ممکن است آر.ان.ای دو رشته میانکنش‌های VP۳۵ IID و DRBP76 را از طریق الیگومریزه شدن ارتقا دهد. با توجه به این که به‌طور کلی ابولاویروس در سیتوپلاسم میانکنش می‌کند، اینکه VP۳۵ چگونه با یک پروتئین هسته‌ای میانکنش می‌کند یک موضوع قابل توجهی است. بر اساس مدل Harashima و همکاران، پروتئین‌کیناز R فعال‌شده، DRBP76 و NFAR-2 را فسفریله می‌کند و این باعث رها شدن از دست NF45 در هسته و انتقال آن به سیتوپلاسم می‌شود (۱۴).

VP۳۵ به‌عنوان یک مهارکننده مسیر RNAi

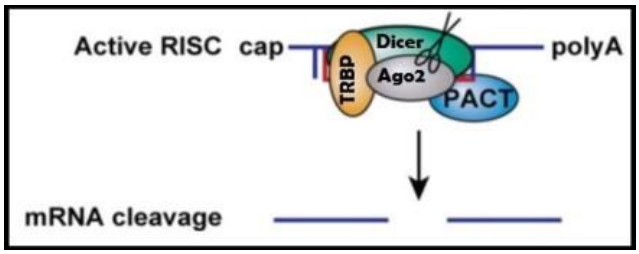
RNAi یک مسیر تنظیم ژن با توالی ویژه است که به‌طور گسترده‌ای در میان گیاهان و پستانداران حفظ شده است و یک پاسخ طبیعی سلول به عفونت ویروسی است. اولین مرحله مکانیسمی مسیر RNAi، یک RNAآز نوع سوم به نام Dicer است که آر.ان.ای دو رشته‌ای را به آر.ان.ای تداخل‌گر کوچک (siRNA) با ۱۹ تا ۲۱ نوکلئوتید در طول که ۲ باز از انتهای '۳ آن آویزان است

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

تبدیل می‌کند. کمپلکس خاموش‌سازی آر.ان.ای دو رشته siRNA را از هم باز می‌کند و به‌طور انتخابی یک رشته از دو رشته را ضمیمه می‌کند که رشته رهبر گفته می‌شود. در کمپلکس فعال رشته رهبر mRNA هدف را که به‌طور کامل مکمل خودش است، شناسایی می‌کند و سپس اندونوکلئاز Ago2 mRNA هدف را می‌شکند.

کمپلکس فعال شامل Dicer، Ago2، TRBP و PACT است. TRBP و PACT دو پروتئین اتصالی آر.ان.ای دو رشته‌ای هستند که به‌عنوان پارتنرهای Dicer یک کمپلکس با Dicer و Ago2 تشکیل می‌دهند تا شکست mRNA با واسطه siRNA را به انجام برسانند و سنتز miRNA را تسهیل کنند (شکل۴) (۱۹و۱۸).



شکل ۴- کمپلکس فعال خاموش‌سازی آر.ان.ای (۱۸).

TRBP و PACT همچنین به پروتئین کیناز R متصل می‌شوند. پروتئین‌کیناز R فاکتور رونویسی eIF-2a را فسفریله می‌کند و موجب مهار سنتز پروتئین و فعال کردن پاسخ اینترفرون به آر.ان.ای دو رشته‌ای می‌شود. TRBP مهارکننده پروتئین‌کیناز R و PACT فعال‌کننده آن است. ویروس‌های گیاهی و حیوانی مهارکننده‌های پروتئینی خاموش‌سازی آر.ان.ای را کد می‌کنند (۲۰ و۱۸). فاکتور Tat نوع یک ویروس نقص ایمنی انسان، پروتئین NS1 ویروس آنفولانزای A و E3L واکسینیاویروس نمونه‌هایی از مهارکننده‌های خاموش‌سازی آر.ان.ای پستانداران هستند (۲۱). VP۳۵ ابولاویروس نیز به‌عنوان یک مهارکننده این مسیر بر دو ویژگی اتصال به آر.ان.ای دو رشته‌ای و آنتاگونیستی اینترفرون

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

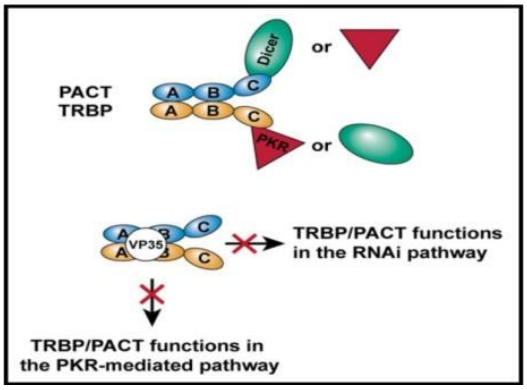
[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

استوار است (۱۸). اگر چه ناحیه با انتهای کربوکسیلی IID تنها یک سوم VP۳۵ را تشکیل می‌دهد، این دومین در چندین میانکنش مهم از جمله با آر.ان.ای دو رشته‌ای، NP، PACT و L شرکت می‌کند. PACT با TRBP و Dicer، ترکیباتی از کمپلکس خاموش‌سازی آر.ان.ا که توسط آر.ان.ا القا می‌شوند، میانکنش کرده و عمل Dicer را تحریک می‌کند (۱۲). VP۳۵ مستقیماً با پارتنرهای Dicer یعنی TRBP و PACT بطور مستقل از siRNA و بدون اثر روی اینترفرون میانکنش می‌کند. VP۳۵ از طریق میانکنش با اجزای مسیر RNAi تماس برقرار می‌کند. به نظر می‌رسد که عمل مهاری آن نیازی به اتصال siRNA ندارد (۱۸). VP۳۵ به‌طور فیزیکی در کمپلکس TRBP-PACT تداخل ایجاد می‌کند. در حقیقت VP۳۵ با پارتنرهای Dicer (TRBP و PACT) نه با Dicer میانکنش می‌کند. به عبارت دیگر VP۳۵ با پارتنرهای Dicer و پروتئین‌کیناز R میانکنش می‌کند. برای درک اینکه آیا فعالیت اتصالی آر.ان.ای دو رشته‌ای و عمل آنتاگونیستی نقش مهاری VP۳۵ را وساطت می‌کند یا نه هر دو جهش لیزین ۳۰۹ به آلانین و آرژینین ۳۱۲ به آلانین (R312A،K309A) مورد بررسی قرار گرفتند. همانند نوع وحشی، این جهش‌یافته‌ها نیز توانستند با ترکیبات RNAi (PACT و TRBP) میانکنش کنند و این نشان می‌دهد که این باقیمانده‌ها برای این میانکنش‌ها ضروری نیستند و عمل آنتاگونیستی اینترفرون ارتباطی با عمل مهارکردن خاموش‌سازی آر.ان.ا ندارد. PACT و TRBP از طریق دومین‌های A و B مستقل از آر.ان.ای به‌صورت هترودیمر در می‌آیند و با Dicer و پروتئین‌کیناز R از طریق دومین C میانکنش می‌کنند (۱۹).

VP۳۵ به‌طور همزمان با PACT و TRBP تماس برقرار می‌کند و این میانکنش از طریق دومین A و B رخ می‌دهد و به‌طور مستقیم در اتصال Dicer و پروتئین‌کیناز R نقش ندارند (شکل ۵).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]



شکل ۵- VP۳۵ از طریق میانکنش با TRBP و PACT مسیر RNAi را خاموش می‌کند (۱۸).

VP۳۵ پروتئین‌های TRBP و PACT، تنظیم‌کننده‌های مثبت و منفی پروتئین‌کیناز R و پارتنرهای Dicer که بین مسیر تشخیصی آر.ان.ای دو رشته‌ای- پروتئین‌کیناز R و RNAi تقسیم می‌شوند را به کار می‌گیرد. VP۳۵ نه تنها روی مراحلی از مسیر RNAi که PACT وTRBP شرکت دارند اثر می‌گذارد (۲۲ و۱۹) بلکه همچنین مسیر با واسطه پروتئین‌کیناز R را نیز تنظیم می‌کند. پروتئین‌کیناز R به وسیله PACT فعال می‌شود (۲۳). VP۳۵ فعالیت پروتئین‌کیناز R، افکتور دیگر مسیر اینترفرون که توسط آر.ان.ای دو رشته‌ای فعال می‌شود را مهار می‌کند. اثر VP۳۵ روی پروتئین‌کیناز R مستقل از آر.ان.ا است و از فسفریلاسیون و غیرفعال شدن فاکتور مهم رونویسی eIF-2a جلوگیری می‌کند (۲۴). با توجه به اینکه جهش‌های نقطه‌ای شامل آرژینین ۳۱۲ و لیزین ۳۰۹ به آلانین که VP۳۵ را برای اتصال به آر.ان.ای دو رشته‌ای و خاصیت آنتاگونیستی اینترفرون ناتوان می‌کنند، مانع عمل مهارکنندگی این پروتئین برای مسیر shRNA-RNAi شدند، می‌توان گفت فعالیت مهار خاموش کردن به توانایی VP۳۵ برای اتصال به آر.ان.ای دو رشته‌ای بستگی دارد (۲۵). VP۳۵ ابولا می‌تواند خاموش‌سازی آر.ان.ای در گیاهان را مهار کند و این نشان می‌دهد که مهار خاموش‌سازی آر.ان.ای به‌طور مستقل از پاسخ‌های مسیر اینترفرون رخ می‌دهد. علاوه بر VP۳۵، 30VP و VP۴۰ نیز به‌طور مستقل به‌عنوان مهارکننده‌های خاموش‌سازی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

آر.ان.ای عمل می‌کنند. حضور سه خاموش‌کننده اهمیت ایمنی ضد ویروسی وابسته به RNAi را در عفونت ابولاویروس و همچنین اهمیت RNAi را در تکامل تدریجی ویروس‌های آر.ان.ای دار نشان می‌دهد. ابولاویروس تنها ویروس پستانداران است که بیشتر از یک مهارکننده خاموش‌سازی آر.ان.ا دارد (۲۳). PACT می‌تواند در پاسخ به استرس سلولی فسفریله و فعال شود که آن را از میانکنش با TRBP باز می‌دارد و به آن اجازه می‌دهد تا به پروتئین‌کیناز R متصل و آن را فعال کند (۲۶) PACT پروتئین‌کیناز R را فعال می‌کند و VP۳۵ پروتئین‌کیناز R را غیرفعال می‌کند. تعیین اینکه که آیا میانکنش VP۳۵ با PACT همچنین در مهار VP۳۵-پروتئین‌کیناز R شرکت می‌کند یا نه موضوع جالبی است (۲۴). جهش‌های ناحیه بازی مرکزی میانکنش با PACT را مهار می‌کنند و مانع تحریک RIG-1 می‌شوند. میانکنش IID با PACT نیازی به آر.ان.ا ندارد. PACT سنتز آر.ان.ای ابولاویروس نوع وحشی را مهار می‌کند. به نظر می‌رسد که PACT اثرات مهاری خود را از طریق میانکنش با VP۳۵ IID انجام می‌دهد. اطلاعات به دست آمده نشان می‌دهد که PACT هیچ اثری روی میانکنش VP۳۵ با NP ندارد ولی در میانکنش VP۳۵ و L اختلال به وجود می‌آورد. دومین coiled-coil واقع در ناحیه انتهای آمینی VP۳۵ نقش حیاتی در میانکنش با L دارد، VP۳۵ از طریق دومین coiled-coil خود که در ناحیه انتهای آمینی قرار دارد (آمینواسیدهای ۸۲ تا ۱۱۸) الیگومریزه می‌شود (۲۷).

VP۳۵ مانعی برای بلوغ سلول دندریتی

VP۳۵ مانع بلوغ سلول دندریتی می‌شود. VP۳۵ یک مهارکننده معمول RLR است و شروع پیام‌رسانی از گیرنده‌های RIG-1 و MDA5 که باعث القای پاسخ‌های اینترفرون می‌شوند را مهار می‌کنند. دو ویژگی ابولاویروس که احتمالاً در بیماریزایی نقش دارد، تداخل با مسیرهای پیام‌رسانی ایمنی ذاتی و مهار بلوغ سلول دندریتی است. هنگامی‌که VP ۳۵ ویروس ابولا در سلول دندریتی نابالغ موش بیان شد، VP۳۵ مانع بلوغ سلول دندریتی شد (۴). VP۳۵ مانع بیان

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

تحریک شده CD40، CD80، CD86 و کمپلکس MHC کلاس II می‌شود. VP۳۵ همچنین مانع القای سیتوکین‌هایی مانند اینترلوکین ۶ و ۱۲، فاکتور نکروزدهنده توموری آلفا (TNF-α)، اینترفرون آلفا و بتا می‌شود. این سیتوکین‌ها در بلوغ سلول دندریتی شرکت می‌کنند. VP۳۵ ابولاویروس موجب کاهش توانایی سلول دندریتی برای تحریک فعال کردن $CD4^+$ سلول‌های T می‌شود. VP۳۵ فعالیت‌های سلول دندریتی موش که توسط یک لیپوپلی‌ساکارید (آگونیست گیرنده TRL4) القا می‌شوند، را مختل می‌کند. حذف انتهای آمینی VP۳۵ فعالیت آن را مختل می‌کند. در صورتی که اگر یک جهش در موتیف اتصالی آر.ان.ا رخ دهد، هیچ اثری ندارد (۴). احتمالاً VP۳۵ از طریق ایجاد اختلال در عملکرد سلول دندریتی و نقص در عملکرد سلول T در بیماریزایی نقش داشته باشد. ویروس ابولا ابتدا سلول‌های ماکروفاژ و دندریتی که مربوط به ایمنی ذاتی و اکتسابی هستند را آلوده می‌کند. سلول دندریتی نابالغ که در تقریبا همه بافت‌های محیطی باقی می‌ماند می‌تواند آنتی‌ژن‌های ویروسی را شناسایی و دنبال کند. در پاسخ به عفونت ویروسی، سلول دندریتی به سمت گره‌های لنفاوی می‌رود و بالغ می‌شود. ویروس ابولا در سلول دندریتی همانندسازی کرده و مانع بلوغ آن می‌شود (۲۸). ذرات شبیه ویروس ابولا که فقط از VP۴۰ و گلیکوپروتئین تشکیل شده‌اند بلوغ سلول دندریتی را تحریک می‌کنند و سلول‌های T را همانند سلول‌های B فعال می‌کنند (۲۹). VP۳۵ با بلوغ سلول دندریتی القا شده توسط ویروس و پیام رسانی گیرنده TLR تداخل ایجاد می‌کند و مانع فعال شدن سلول T می‌شود (۴). به نظر می‌رسد VP۳۵ با تاثیر بر خاموش‌سازی آر.ان.ا و فعالیت‌های پروتئین‌کیناز R عملکرد سلول دندریتی را مختل می‌کند. یک جهش با جایگاه ویژه در موتیف اتصالی آر.ان.ای پروتئین VP۳۵ روی توانایی آن برای مهار بلوغ سلول دندریتی اثری نداشت. فعال شدن مسیرهای TLR منجر به بلوغ سلول دندریتی می‌شود (۳۰). در سلول دندریتی نابالغ VP۳۵ مانع القای CD80، CD8، IL-6، IL-12 و اینترفرون بتا توسط

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

لیپوپلی‌ساکاریدی می‌شود که موجب تحریک گیرنده TLR4 می‌شود. پیام‌رسانی TLR4 تعدادی از فاکتورهای رونویسی مانند IRF3 و βNF-K و AP1 را فعال می‌کند. بنابرین اثرات مهاری روی مولکول‌های سطح سلولی و سیتوکین‌ها نمی‌تواند منحصراً مربوط به توانایی VP۳۵ برای مهار IRF3 باشد (۴).

ویژگی های VP۳۵ بیان شده در سیستم پروکاریوتی

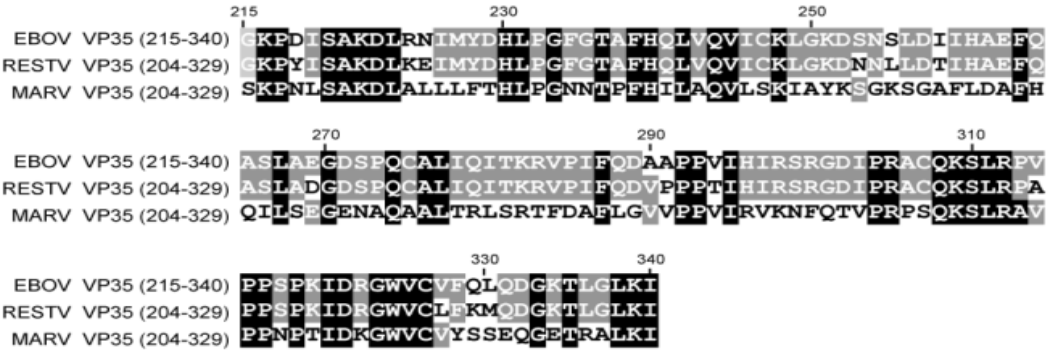
ژن VP۳۵، دومین ژن روی ژنوم ۱۹ کیلوبازی آر.ان.ای ویروس است و ۳۵ نانومتر طول دارد. برای اولین بار در سیستم پروکاریوتی VP۳۵ نوترکیب گونه زئیر با طول کامل بیان و تخلیص شد. نشان داده شد که VP۳۵ نوترکیب و بیان شده در سلول‌های یوکاریوتی خصوصیات مشابهی دارند. VP۳۵ نوترکیب تهیه شده در تعادل بین فرم‌های مونومری، دیمری و تریمری- تترامری است. VP۳۵ بیان شده در سلول‌های یوکاریوتی T293 کمپلکس‌های همو‌الیگومری تریمری- تترامری تشکیل می‌دهد و این توانایی الیگومریزه شدن برای عمل آنتاگونیستی اینترفرونی آن لازم است. نشان داده شده است که VP۳۵ نوترکیب بیان شده در باکتری ممکن است همو‌الیگومرهای همودیمر، هموتریمر و تترامر و حتی کمپلکس‌های پیچیده تشکیل دهد. همچنین نشان داده شده است که VP۳۵ نوترکیب مشابه VP۳۵ بیان شده در سلول‌های یوکاریوتی به آر.ان.ای دو رشته‌ای با تمایل بیشتری نسبت به آر.ان.ای تک رشته‌ای متصل می‌شود در حالی که به DNA متصل نمی‌شوند (۳۱).

مقایسه توالی VP۳۵ در بین گونه‌های مختلف فیلو ویروس‌ها

پروتئین‌های VP۳۵ فیلو ویروس‌ها شباهت توالی بالایی در ناحیه IID دارند. همردیف‌سازی توالی اسیدآمینه‌ای ناحیه IID ابولا و رستون ۹۷/۶ درصد تشابه عملکردی و ۸۸/۹ درصد همسانی نشان داد. همردیف‌سازی ابولا و ماربرگ نیز ۸۱/۷ درصد تشابه عملکردی و ۲۲/۹ درصد همسانی نشان داد (شکل ۶) (۱).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]



شکل ۶- هم‌ردیف‌سازی توالی VP۳۵ IID از ابولا، رستون و ماربرگ‌ویروس را نشان می‌دهد. رنگ سیاه به معنی حفظ شدن در سه گونه و رنگ خاکستری به معنی حفظ شدن در دو گونه است (۱).

همردیف‌سازی توالی آمینواسیدی VP۳۵ گونه‌های زئیر، رستون و ماربرگ نشان داد که ناحیه انتهای آمینی کاملا واگراست. نیمه با انتهای کربوکسیلی بیشتر حفاظت شده است. حتی بعضی نواحی بین جنس ابولا و ماربرگ حفاظت کامل را نشان می‌دهند. باقیمانده‌های آرژینین ۳۰۵، آرژینین ۳۱۲، لیزین ۳۰۹ در میان همه توالی‌های شناخته شده VP۳۵ بسیار حفظ شده‌اند (۳۲).

VP۳۵ به‌عنوان یک هدف درمانی

مطالعات نشان داده است که الیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس و آر.ان.ای‌های تداخلگر کوچک می‌توانند با هدف قرار دادن VP۳۵ در همانندسازی ابولاویروس تداخل ایجاد کنند (۲۵ و۲۴ و۱۱). اپتامرها مولکول‌های اسیدنوکلئیک انتخابی در محیط غیرزنده هستند که با میل ترکیبی بالا به گستره وسیعی از هدف‌ها متصل می‌شوند. اپتامرهایی از نوع آر.ان.ای ضد VP۳۵ در برابر VP۳۵ IID ابولاویروس نوع جهش‌یافته و وحشی انتخاب شدند. اپتامرها با میل ترکیبی بالا و به‌طور اختصاصی به VP۳۵ IID متصل و میانکنش VP۳۵ ابولا و NP را مختل می‌کنند و به این ترتیب عملکرد کمپلکس پلیمراز را مهار می‌کنند (۱). اپتامرها می‌توانند به‌طور بالقوه عفونت ویروسی را در هر مرحله از چرخه همانندسازی ویروس مهار و پروتئین‌های ویروسی که باعث کاهش ایمنی بدن می‌شوند را مورد هدف قرار دهند. آر.ان.ای پلیمراز وابسته

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

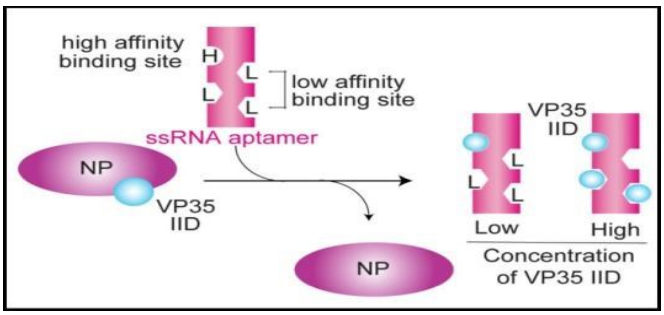
[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

به آر.ان.ای یک هدف معمول اپتامرها است زیرا پلیمراز ویروس از آر.ان.ای به‌عنوان الگو در طول همانندسازی ژنوم استفاده می‌کند. آن دسته از پروتئین‌های ویروسی که به اسیدهای نوکلئیک متصل می‌شوند می‌توانند اهدافی برای اپتامرها باشند. دو اپتامر که شیوه‌های اتصالی مشخصی نشان می‌دهند، انتخاب شدند. یکی از آن‌ها اپتامر 1G8-14 است که ترجیحاً به VP۳۵ IID ابولا و رستون ویروس متصل می‌شود در حالی‌که 2F11-14 به VP۳۵ IID ماربرگ و ابولاویروس متصل می‌شود. جهش باقیمانده‌های تکی آرژینین ۳۰۵، فنیل آلانین ۲۳۹، لیزین ۳۰۹، آرژینین۳۱۲، آرژینین ۳۲۲ و لیزین۳۳۹ به آلانین اثر کمی روی اتصال اپتامر 1G8-14 داشتند در صورتی که جهش‌های دوتایی و سه تایی (لیزین ۳۰۹ / آرژینین ۳۱۲ به آلانین، لیزین ۳۱۹ / آرژینین ۳۲۲ به آلانین و ناحیه بازی مرکزی با سه جهش) به‌طور قابل‌توجهی اتصال به 1G8-14 را کاهش دادند. جهش باقیمانده‌های ناحیه بازی اول VP۳۵ IID ابولاویروس با چهار جهش همچنین به اتصال 1G8-14 آسیب می‌زند (۱). در مجموع این نتایج نشان می‌دهند که چندین باقیمانده در سطح VP۳۵ IID در اتصال اپتامر شرکت دارند و باقیمانده‌های ناحیه بازی مرکزی بیشترین سهم را برای اتصال اپتامر 1G8-14 دارند. برای اپتامر 2F11-14 باقیمانده‌های متفاوتی از آنهایی که در اتصال 1G8-14 نقش دارند، مشاهده شد و این باقیمانده‌ها شامل آرژینین ۲۲۵، لیزین ۲۵۱ و فنیل آلانین ۲۳۹ است که جهش آنها به آلانین منجر به مقداری کاهش در اتصال اپتامر 2F11-14 می‌شود. پروتئین دارای جهش تکی آرژینین ۳۰۵ به آلانین می‌تواند به‌طور قابل توجهی اتصال به 2F11-14 را کاهش دهد. در مقایسه با 1G8-14، ناحیه بازی مرکزی با سه جهش VP۳۵ IID اثر تخریبی کمی روی اتصال 2F11-14 داشت. به‌طور ویژه باقیمانده‌ها در ناحیه بازی اول با چهار جهش برای میانکنش NP با VP۳۵ IID ابولاویروس و فعالیت مینی‌ژنوم مهم هستند (۱۱). جهش چهار باقیمانده‌ای در ناحیه بازی اول VP۳۵ IID موجب از بین رفتن اتصال

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

NP بـــا VP۳۵ IID می‌شـــود. در مقابـــل جهش باقیمانده‌های ناحیـه بـازی مرکـزی VP۳۵ IID آرژینین ۳۰۵ به آلانین، لیـزین ۳۰۹ به آلانین و ناحیه بازی مرکزی با سه جهـــش مـــانعی بـــرای اتصـــال VP۳۵ ابولاویروس با NP به وجـود نمـی‌آورنـد. زیرا به نظر می‌رسد کـه ناحیـه بـازی اول بـــرای اتصـــال 1G8-14 و 2F11-14 مهـــم باشـــد. 1G8-14 و 2F11-14 توانســـتند تشکیل کمپلکس VP ۳۵-NP را مهار کنند (شکل ۷).



شکل ۷- اپتامرهای G8-141 و 2F11-14 با اتصال به IID مانع میانکنش VP۳۵ با NP می‌شوند (۱).

در حـــالی‌کـــه اپتامرهـــای 2B3-10 و 2D1-10 و آر.ان.ای دو رشته‌ای نتوانستند میانکنش VP۳۵ IID– NP را مختل کننـد. اپتامرهـــای 2B3-10 و 2D1-10 در برابـــر ناحیـــه بـــازی مرکـــزی بـــا ســـه جهـــش VP۳۵ IID انتخاب شـدند. از نظـر طـول مشـــابه اپتامرهـــای 1G8-14 و2F11-14 هستند، ولـی آنهـا میـل ترکیبـی اتصـالی بـالایی بـرای VP۳۵ IID دارنـد. توانـایی 1G8-14 و 2F11-14 بـــرای مهـــار ســـنتز آر.ان.ای در رونویســـی و همانندســـازی مورد بررسـی قـرار گرفـت. اطلاعـات بـه دســـت آمـــده نشـــان داد کـــه 1G8-14 و 2F11-14 می‌توانند به‌صـورت وابسـته بـه غلظت نقش آنتاگونیستی برای رونویسی و همانندســـازی بـــازی کننـــد. اپتامرهـــای 1G8-14 و 2F11-14 بـــه‌طور بـــالقوه به‌عنوان مهارکننده‌هـای رقـابتی کمـپلکس همانندســـازی فیلـــوویروســـی، میـــانکنش VP۳۵ IID و NP را مختل می‌کننـد (۱). پروتئین‌های VP۳۵ فیلوویروسـی شـباهت زیادی در IID دارند. نتایج مطالعات نشان

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

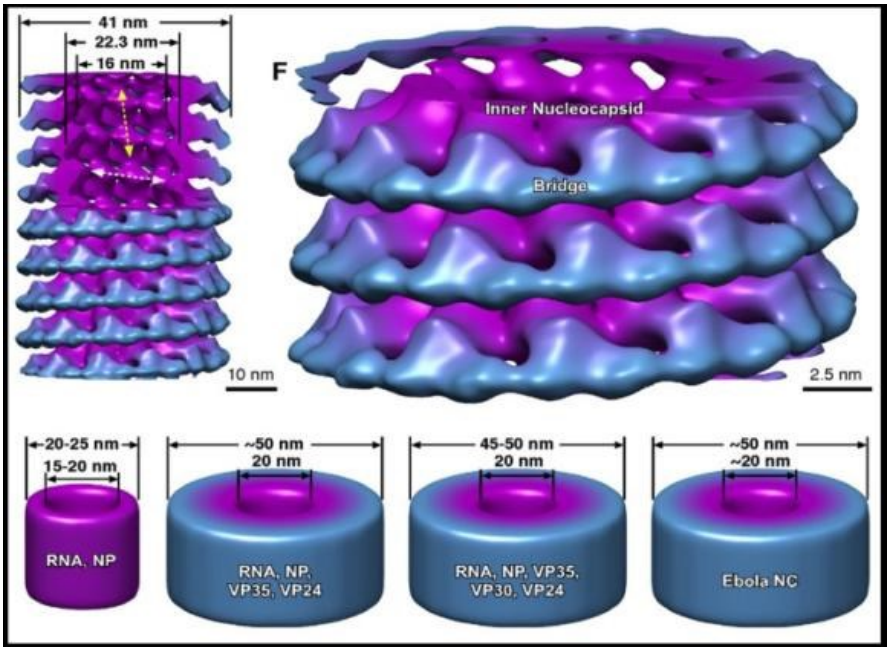
داد که اپتامر 1G8-14 ترجیحاً به VP۳۵ IID ابولا و رستون ویروس متصل می‌شود ولی اپتامر 2F11-14 به هر سه VP۳۵ IID با میل ترکیبی مشابه متصل می‌شود. علت اینکه 1G8-14 بین VP۳۵ IID ابولا و ماربرگ‌ویروس تفاوت قائل می‌شود، این است که توالی نزدیک ناحیه بازی مرکزی این دو پروتئین متفاوت است. در VP۳۵ IID ابولاویروس باقیمانده‌های لیزین ۳۱۹ و آرژینین ۳۲۲ به ترتیب مطابق با ترئونین ۳۰۹ و لیزین ۳۱۲ در VP۳۵ IID ماربرگ‌ویروس است. بنابرین به نظر می‌رسد که حساسیت نسبی به گونه‌های فیلوویروسی متفاوت کاملاً وابسته به شرکت متفاوت ناحیه بازی است. اپتامرهای 1G8-14 و 2F11-14 به‌عنوان نماینده دو کلاس اپتامر که با میل ترکیبی بالا به VP۳۵ ابولاویروس متصل می‌شوند و میانکنش NP و VP۳۵ IID ابولاویروس را مختل می‌کنند، شناخته شده‌اند. این دو اپتامر تفاوت‌های قابل توجهی در سطح نوکلئوتیدی دارند. نشان داده شد که G8-141 و 2F11-14 از طریق میانکنش با باقیمانده‌هایی از ناحیه بازی مرکزی و ناحیه بازی اول به IID VP۳۵ ابولاویروس متصل می‌شوند (۱).

نقش VP۳۵ در تشکیل نوکلئوکپسید

VP۲۴، VP۳۵ و NP برای تشکیل نوکلئوکپسید ضروری هستند. نوکلئوکپسید ابولا یک مارپیچ دو لایه‌ای راست‌گرد است که قطر بیرون آن ۴۱ نانومتر و کانال درونی آن ۱۶ نانومتر ضخامت دارد (۳۳). مطالعات نشان داده است که VP۲۴ و VP۳۵ به‌طور مستقل با NP همراه می‌شوند اما سه پروتئین با هم برای ایجاد ساختارهای شبه نوکلئوکپسید با ضخامت حدود ۵۰ نانومتر لازم هستند (شکل ۸). وقتی VP۲۴، VP۳۵، VP۳۰ و NP با همدیگر باشند، ساختار مارپیچی نوکلئوکپسید با قطر حدود ۵۰ نانومتر تشکیل می‌دهند در صورتی که NP به تنهایی کمپلکس‌های مارپیچی NP - RNA با قطر حدود ۲۰ تا ۲۵ نانومتر تشکیل می‌دهد که حساس به نوکلئاز است (۳۴).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]



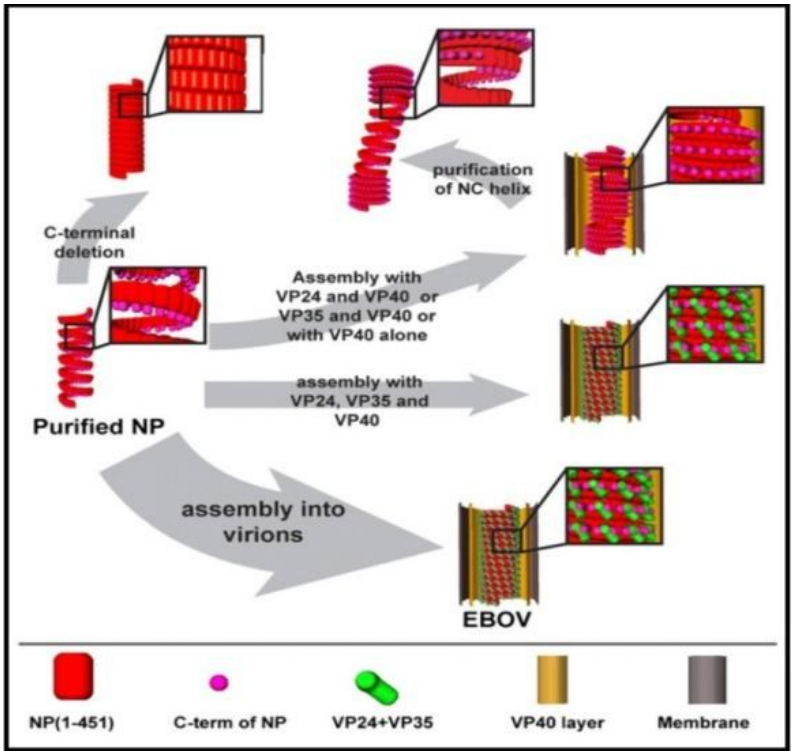
شکل ۸- نمایشی از اجزای تشکیل‌دهنده نوکلئوکپسید (۳۳).

VP۲۴ و VP۳۵ اجزای ساختاری پلی هستند که در محیط نوکلئوکپسید قرار دارد. هر پلیمر از یک VP۲۴ و یک ۳۵ VP تشکیل یافته است. در واقع هر پل از یک هترودیمر VP۲۴ و VP۳۵ تشکیل یافته است که مولکول‌های NP مجاور را با هم به‌صورت عمودی نگه می‌دارند. VP۲۴ و VP۳۵ می‌توانند با همدیگر میانکنش کنند. و هر کدام نیز به‌طور جداگانه با یک جایگاه متفاوت روی NP برای تشکیل یک ساختار الیگومری میانکنش می‌کند (۳۳).اطلاعات به دست آمده از نوکلئوکپسید نوترکیب نشان می‌دهد که هر دو ترکیب NP-VP۲۴-VP۳۰-VP۳۵ و VP۳۵-NP-VP۲۴ ساختارهای مارپیچی با قطر تقریبا ۵۰ نانومتر تولید می‌کنند و این نشان می‌دهد که VP۳۰ قطر نوکلئوکپسید را افزایش نمی‌دهد. اتصال NP به تنهایی به آر.ان.ا سبب سرهم‌شدن یک ساختار NP به سستی مارپیچ‌شده می‌شود. مارپیچ سست می‌تواند با اتصال VP۴۰ به انتهای کربوکسیلی NP متراکم شود و با اتصال VP۲۴ و VP۳۵ به کپی‌های متناوب NP

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

محکم شود. بیان هم زمان VP۲۴ و VP۳۵ و VP۴۰ و NP برای تشکیل ذرات شبه‌ویروس دارای نوکلئوکپسید محکم لازم است. اتصال VP۲۴ و VP۳۵ باعث استحکام مارپیچ می‌شود (۳۳) (شکل۹).



شکل ۹- مراحل سرهم‌شدن کپسید ویروس ابولا (۲).

فهرست منابع References

1. Binning J.M. (2014). Iowa State University Characterization of Ebola virus VP35 first basic patch as a therapeutic target.

2. Bharat T.A., Noda T., Riches J.D., Kraehling V., Kolesnikova L., Becker S. and et al. (2012). Structural dissection of Ebola virus and its assembly determinants using cryo-electron tomography. Proceedings of the National Academy of Sciences. 109(11): 4275-4280.

3. Leung D.W., Shabman R.S., Farahbakhsh M., Prins K.C., Borek D.M., Wang T. and et al. (2010). Structural and functional characterization of Reston Ebola virus VP35 interferon inhibitory domain. J Mol Biol. 399(3):347-57.

4. Jin H., Yan Z., Prabhakar B.S., Feng Z., Ma Y., Verpooten D. and et al. (2010). The

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

VP35 protein of Ebola virus impairs dendritic cell maturation induced by virus and lipopolysaccharide. 24. J Gen Virol. 91(Pt 2):352-61.

5. Leung D.W., Ginder N.D., Fulton D.B., Nix J., Basler C.F., Honzatko R.B. and et al. (2009). Structure of the Ebola VP35 interferon inhibitorydomain. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 106(2):411-6.

6. Bale S., Julien J.P., Zachary A. Bornholdt, Krois A.S., Wilson I.A. and et al. (2013). Ebolavirus VP35 coats the backbone of double-stranded RNA for interferon antagonism. J. Virol. 87(18): 10385-10388

7. Prins K.C., Binning J.M., Shabman R.S., Leung D.W., Amarasinghe G.K. and Basler C.F. (2010). Basic residues within the ebolavirus VP35 protein are required for its viral polymerase cofactor function. J Virol. 84(20):10581-91.

8. Leung D.W., Prins K.C., Borek D.M., Farahbakhsh M., Tufariello J.M., Ramanan P. and et al. (2010). Structural basis for dsRNA recognition and interferon antagonism by Ebola VP35. Nat. Struct. Mol. Biol. 17(2):165-72

9. Trunschke M., Conrad D., Enterlein S., Olejnik J., Brauburger K., Mühlberger E. and et al. (2013). The L-VP35 and L-L interaction domains reside in the amino terminus of the Ebola virus L protein and are potential targets for antivirals. Virology. 441(2):135-45.

10. Brown C.S., Lee M.S., Leung D.W., Wang T., Xu W., Luthra P., Anantpadma M. and et al. (2014). In silico derived small molecules bind the filovirus VP35 protein and inhibit its polymerase cofactor activity. J Mol Biol. 426(10):2045-58.

11. Prins K.C., Binning J.M., Shabman R.S., Leung D.W., Amarasinghe G.K. and Basler C.F. (2010). Basic residues within the ebolavirus VP35 protein are required for its viral polymerase cofactor function. J Virol. 84(20):10581-91.

12. Luthra P., Ramanan P., Mire C.E., Weisend C., Tsuda Y., Yen B. and et al. (2013). Mutual antagonism between the Ebola virus VP35 protein and the RIG-I activator PACT determines infection outcome. Cell Host Microbe. 14(1):74-84.

13. Basler C.F., Mikulasova A., Martinez-Sobrido L., Paragas J., Muhlberger E., Bray M. and et al. (2003). The Ebola virusVP35 protein inhibits activation of interferon regulatory factor 3. J. Virol. 77(14):7945-56.

14. Shabman R.S., Leung D.W., Johnson J., Glennon N., Gulcicek E.E., Stone K.L. and et al. (2011). DRBP76 associates with Ebola virus VP35 and suppresses viral polymerase. J Infect Dis. 204(Suppl 3): S911–S918.

15. Harashima A., Guettouche T. and Barber G.N. (2010). Phosphorylation of the NFAR proteins by the dsRNA-dependent protein kinase PKR constitutes a novel mechanism of translational regulation and cellular defense. Genes Dev. 24(23):2640-53.

16. Kuwano Y., Pullmann R.Jr., Marasa B.S., Abdelmohsen K., Lee E.K., Yang X. and et al. (2010). NF90 selectively represses the translation of target mRNAs bearing an AU-rich signature motif. Nucleic Acids Res. 38(1):225-38.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

17. Leung D.W., Prins K.C., Borek D.M., Farahbakhsh M., Tufariello J.M., Ramanan P. and et al. (2010). Structural basis for dsRNA recognition and interferon antagonism by Ebola VP35. Nat Struct Mol Biol. 17(2):165-72.

18. Fabozzi G., Nabel C.S., Dolan M.A., and Sullivan N.J. (2011). Ebolavirus proteinssuppress the effects of small interfering RNA by direct interaction with themammalian RNA interference pathway. J. Virol. 85(6):2512-23.

19. Chendrimada T.P., Gregory R.I., Kumaraswamy E., Norman J., Cooch N., Nishikura K. and et al. (2005). TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. Nature. 436(7051):740-4.

20. Zamore P.D. (2004). Plant RNAi: How a viral silencing suppressor inactivates siRNA. Curr Biol. 14(5):R198-200.

21. Li W.X., Li H., Lu R., Li F., Dus M., Atkinson P. Brydon. and et al. (2004). Interferon antagonist proteins of influenza and vaccinia viruses are suppressors of RNA silencing. Proc Natl Acad Sci U S A. 101(5):1350-5.

22. Haller O., Kochs G. and Weber F. (2006). The interferon response circuit: induction and suppression by pathogenic viruses. Virology. 344(1):119-30.

23. Li S., Peters G.A., Ding K., Zhang X., Qin J. and Sen G.C. (2006). Molecular basis for PKR activation by PACT or dsRNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 103(26):10005-10.

24. Feng Z., Cerveny M., Yan Z. and He B. (2007). The VP35 protein of Ebola virus inhibits the antiviral effect mediated by double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR. J Virol. 81(1):182-92.

25. Haasnoot J., de Vries W., Geutjes E.J., Prins M., de Haan P. and Berkhout B. (2007). The Ebola virus VP35 protein is a suppressor of RNA silencing. PLoS Pathog. 3(6):e86.

26. Singh M., Castillo D., Patel C.V. and Patel R.C. (2011). Stress-inducedphosphorylation of PACT reduces its interaction with TRBP and leads toPKR activation. Biochemistry. 50(21):4550-60.

27. Reid S.P., Cárdenas W.B. and Basler C.F. (2005). Homo-oligomerization facilitates the interferon-antagonist activity of the ebolavirus VP35 protein. Virology. 341(2):179-89.

28. Mahanty S., Hutchinson K., Agarwal S., McRae M., Rollin P.E. and Pulendran B. (2003). Cutting edge: impairment of dendritic cells andadaptive immunity by Ebola and Lassa viruses. J Immunol. 170(6):2797-801.

29. Warfield K.L., Olinger G., Deal E.M., Swenson D.L., Bailey M., Negley D.L. and et al. (2005). Induction of humoraland CD8+ T cell responses are required for protection against lethalEbola virus infection. J Immunol. 175(2):1184-91.

30. Honda K., Sakaguchi S., Nakajima C., Watanabe A., Yanai H., Matsumoto M.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

and et al. (2003). Selective contribution of IFN-alpha/beta signaling to the maturation of dendritic cells induced by double-stranded RNA or viral infection. Proc Natl Acad Sci USA. 100(19):10872-7.

31. Zinzula L., Esposito F., Mühlberger E., Trunschke M., Conrad D., Piano D. and Tramontano E. (2009). Purification and functional characterization of the full length recombinant Ebola virus VP35 protein expressed in E. coli. Protein Expr Purif. 66(1):113-9.

32. Hartman A.L., Towner J.S. and Nichol S.T. (2004). A C-terminal basic amino acid motif of Zaire ebolavirus VP35 is essential for type I interferon antagonism and displays high identity with the RNA-binding domain of another interferon antagonist, the NS1 protein of influenza a virus. Virology. 328(2):177-84.

33. Beniac D.R., Melito P.L., Devarennes S.L., Hiebert S.L., Rabb M.J., Lamboo L.L. and et al. (2012). The organisation of Ebola virus reveals a capacity for extensive, modular polyploidy. PLoS One. 7(1):e29608.

34. Noda T., Hagiwara K., Sagara H. and Kawaoka Y. (2010). Characterization of the Ebola virus nucleoprotein-RNA complex. J Gen Virol. 91(Pt 6):1478-83.

35. Kimberlin C.R., Bornholdt Z.A., Li S., Woods V.L.Jr., MacRae I.J., Saphire E.O. (2010). Ebolavirus. VP35 uses a bimodal strategy to bind dsRNA for innate immune suppression. Proc Natl Acad Sci USA. 107(1):314-9.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]

VP35 is an Effective Therapeutic Target to Defeat Ebola

Vahideh-Sadat Nazemi, Mohammad Reza Dayer and Seyedeh Elham Rezatofighi

1- Master of Science in Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2- Associate professor of Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3- Associate Professor of Microbiology, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

vahidehnazemi@gmail.com

Abstract:

The *Filoviridae* family within the order *Mononegavirales* consists of two genera, *Ebolaviruses* and *Marburgviruses*. Zaire strain of ebolavirus as one of the most lethal viruses ever isolated, with nearly a 90% fatality rate that causes severe hemorrhagic fever in humans and nonhuman primates. Of the seven proteins encoded by ebolavirus, VP24, Glycoprotein and VP35 are virulence factors. Viral protein 35 (VP35) is a multifunctional protein that functions at several stages in the viral replication cycle. VP35 is known to antagonize numerous components in the Interferon induction and signaling pathway including RLR receptors, especially RIG-1, IRF-3 and IRF-7 kinases, protein kinase R, and protein kinase R-activator (PACT) are known. VP35 also functions as an RNAi silencing suppressor, a co-factor for the viral polymerase and a structural component of the viral nucleocapsid. Therefore VP35 is required for efficient viral replication and pathogenesis. Studies revealed that there are two highly conserved basic patches termed the first basic patch (FBP) and the central basic patch (CBP) located within the C-terminal interferon inhibitory domain (IID) of VP35. Given the importance of this protein in the pathogenesis of the Ebola virus, VP35 is a potential target for antiviral development. In this regard, we describe the important parts of this protein from Structural and functional aspects.

Keywords: VP35, Ebola, Protein Kinase R, Aptamer, RNAi.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.2.2]