DOI: 10.22122/jims.v36i495.10749 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و ششم/شماره‌ی ۴۹۵/هفته‌ی سوم آبان ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۲۷ تاریخ چاپ: ۱۳۹۷/۸/۱۵

بررسی تأثیر miRNA Mimic hsa-miR-7704 بر تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس نوع ۱ در کشت سلولی

مهدی شعبانی[۱]، بهرام نصر اصفهانی[۲]، بهار صادق اهدایی[۳]، شراره مقیم[۴]، آرزو میرزایی[۵]، محمدرضا شریفی[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ویروس هرپس سیمپلکس نوع ۱ (Herpes simplex virus 1 یا HSV-1)، از شایع‌ترین ویروس‌های بیماری‌زا در جمعیت‌های انسانی است. این ویروس، طیف وسیعی از عفونت‌های بدون علایم تا کشنده را به خصوص در افراد دچار نقص سیستم ایمنی ایجاد می‌کند. تعداد محدودی دارو برای درمان عفونت‌های ناشی از HSV-1 وجود دارد.آسیکلوویر، یکی از مهم‌ترین این داروها می‌باشد. استفاده‌ی بیش از حد از این دارو، منجر به پیدایش سویه‌های مقاوم شده است. از این رو، روش‌های جایگزین با مکانیسم اثر متفاوت ضروری به نظر می‌رسد. هدف از انجام این مطالعه، استفاده از MicroRNAها به عنوان روشی نوین در مهار تکثیر HSV-1 بود.

روش‌ها: در این مطالعه، miRNA Mimic hsa-miR-7704 (miR-SX1) سنتز شده به درون سلول‌های Hela ترانسفکت شد و سپس، توسط ویروس HSV-1 آلوده گردید. تغییرات سلولی، ۲۴ ساعت پس از آلودگی با میکروسکوپ اینورت مشاهده و عکس‌برداری شد. تیتر ویروسی با روش میزان دوز کشنده‌ی ۵۰ درصد (50% Tissue Culture Infective Dose یا TCID50) سنجیده شد.

یافته‌ها: سلول‌های ترانسفکت شده با miR-SX1 تیتر کمتری از ویروس HSV-1 داشتند؛ بدون این که تأثیری بر میزان زنده ماندن سلول‌ها داشته باشد.

نتیجه‌گیری: miR-SX1، از رشد ویروس HSV-1 جلوگیری می‌کند و می‌تواند به عنوان مکانیسم جایگزین برای درمان عفونت‌های ناشی از این ویروس به‌کار برود.

واژگان کلیدی: ویروس هرپس سیمپلکس، MicroRNA، درمان ضدویروس

ارجاع: شعبانی مهدی، نصر اصفهانی بهرام، صادق اهدایی بهار، مقیم شراره ، میرزایی آرزو، شریفی محمدرضا. **بررسی تأثیر miRNA Mimic hsa-miR-7704 بر تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس نوع ۱ در کشت سلولی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۹۵): ۱۰۷۶-۱۰۷۱

مقدمه

ویروس هرپس سیمپلکس نوع ۱ (Herpes simplex virus 1 یا HSV-1) دارای DNA دو رشته‌ای خطی می‌باشد که بیشتر سلول‌های موکواپی‌تلیال و نورون‌ها را آلوده می‌کند. این ویروس، متعلق به خانواده‌ی Herpesviridae می‌باشد. این ویروس، عفونت نهفته‌ی طولانی را در نورون‌های حسی ایجاد می‌کند (۲-۱). اهمیت HSV به‌طور فزاینده‌ای در طی دهه‌های گذشته افزایش یافته است که به خاطر تشدید بیماری در تعدادی از بیماران پس از پیوند مغزاستخوان، بیماران دچار نقص سیستم ایمنی و مبتلایان به Human immunodeficiency virus (HIV) است (۳). HSV-1، در جمعیت انسانی بسیار شایع‌است. در آمریکا و آلمان، میزان شیوع این ویروس به ترتیب ۵۰ و ۷۵ درصد می‌باشد (۴). این ویروس، طیف وسیعی از بیماری‌ها را ایجاد می‌کند که شامل استومایتیس، انسفالیت و کراتیت هرپسی است (۵). توانایی ویروس HSV-1 در ورود به سیستم اعصاب مرکزی، منجر به انسفالیت می‌شود که یکی از جدی‌ترین عوارض ایجاد شونده توسط این ویروس است (۶).

آسیکلوویر و سایر مشتقات آن، برای درمان عفونت‌های ناشی از ویروس HSV-1 به کار برده می‌شوند. این دارو، مشابه باز گوانوزین

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استاد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۴- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۵- دانشجوی دکتری، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- دانشیار، گروه ژنتیک و بیولوژی ملکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: شراره مقیم
Email: moghim@med.mui.ac.ir

(بدون‌حلقه‌ی ریبوز) است و به طور اختصاصی توسط آنزیم تیمیدین کیناز ویروسی به صورت منوفسفات تبدیل می‌شود. اضافه شدن دی و تری‌فسفات، می‌تواند توسط تیمیدین کیناز میزبان انجام شود. امروزه، به خاطر استفاده‌ی وسیع از آسیکلوویر در درمان بیماری‌های ناشی از هرپس ویروس‌ها، گزارش‌های مقاومت نسبت به‌آن، رو به‌افزایش‌است. افزایش مقاومت به درمان در بیماران مبتلا به HIV و بیماران دچار نقص‌ایمنی دیده شده است (۷).

مصرف این دارو با عوارض جانبی همراه است. بروز بیماری‌های حاد کلیوی به دنبال استفاده از آسیکلوویر شایع است (۸). آسیکلوویر در ادرار به نسبت نامحلول است که این موضوع، باعث کریستاله شدن دارو در توبول‌های کلیوی و آسیب‌های‌شدید کلیوی می‌شود (۹). علاوه بر این، آسیکلوویر می‌تواند عوارض عصبی شدیدی ایجاد کند. در واقع، عوارض عصبی (Neurotoxicity) یکی از عوارض جانبی استفاده از آسیکلوویر وریدی است (۱۰). از این رو، به کارگیری داروهای جایگزین با مکانیسم اثر متفاوت ضروری به نظر می‌رسد. MicroRNAها، RNAهای غیر کد کننده‌ای هستند که ۲۴-۱۹ نوکلئوتید دارند که با اتصال به Messenger RNA (mRNA) هدف، نقش تنظیمی را در بیان ژن‌ها دارند (۱۱). به تازگی، نشان داده شده است که Interleukin-27 (IL-27)، نقش مهمی را در سیستم ایمنی ایفا می‌کند. در واقع، IL-27 بیان یک سری MicroRNA (miRNA) خاص را در درون ماکروفاژها القا می‌کند. مطالعات Insilico نشان داده‌اند که miR-has-7704 که به عنوان miR-SX1 نیز شناخته می‌شود، در ماکروفاژها بیان می‌شود و DNAپلیمراز ویروس HSV-1 را مورد هدف قرار می‌دهد (۱۲). این مطالعه با هدف بررسی اثر miR-SX-1 mimic بر سلول Hela آلوده شده با ویروس HSV-1 انجام شد.

روش‌ها

تهیه‌ی محیط کشت سلولی و ویروس: رده‌ی سلولی Hela (ATCC CCL-2) از انستیتو پاستور ایران تهیه شد. رده‌ی سلولی Hela را در محیط Dulbecco's modification of Eagle medium (DMEM) و در غلظت بالای گلوکز در حضور Fetal bovine serum (FBS) ۱۰ درصد و ۱۰۰ واحد/میلی‌لیتر و ۱۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر استرپتومایسین در ۳۷ درجه‌ی سانتی گراد در حضور دی‌اکسید کربن (Carbon dioxide یا CO_2) ۵ درصد قرار گرفت. سویه‌ی HSV-1 از بخش ویروس‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه‌شد. سلول‌ها توسط ویروس به مدت ۱ ساعت آلوده شدند. در این مدت، هر ۱۵ دقیقه یک بار به مدت ۱۵ ثانیه فلاسک تکان داده شد و جذب ویروسی صورت گرفت. پس از ۱ ساعت، تعویض محیط انجام گرفت. این بار نیز از محیط DMEM با FBS ۲ درصد استفاده گردید. پس از تهیه‌ی استوک ویروسی، ویروس‌ها با روش میزان دوز کشنده‌ی ۵۰ درصد (TCID50 یا 50% Tissue Culture Infective Dose) تعیین تیتر شدند و تا زمان‌استفاده در فریزر ۷۰- در جه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۳).

ترانسفکشن سلول‌ها با miR-SX1 mimic miR-SX1 mimic استفاده شده در این مطالعه، یک microRNA ۲رشته‌ای بود که به صورت شیمیایی توسط شرکت کیاژن آمریکا ساخته شده بود. این miRNA دارای توالی CGGGGUCGGCGGCGACGUG است که miRNA انسانی است و روی کروموزوم شماره‌ی ۲ قرار گرفته است. مطالعات داده‌پردازی زیستی (Bioinformatics) نشان می‌دهند که این miRNA توالی از ژنوم ویروس را در ناحیه‌ی DNA پلیمراز مورد هدف قرار می‌دهد (۱۲). Mock، به عنوان شاهد منفی مورد استفاده قرار گرفت. Mock، یک RNA کوچک است که هیچ گونه ژنی را مورد هدف قرار نمی‌دهد. سلول‌های Hela به صورت تریپلیکت در پلیت ۲۴خانه‌ای Seed شدند و پس از این که به غلظت ۸۰ درصد رسیدند، توسط miR-SX1 و Mock در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانومول توسط پلی‌فکت و طبق شیوه‌نامه‌ی شرکت سازنده (Qiagen, USA) ترانسفکت شدند. پس از ۲۴ ساعت، سلول‌ها توسط ویروس در Multiplicity of infection (MOI) ۵، ۱ و ۰/۱ به مدت ۱ ساعت آلوده شدند. پس از ۱ ساعت، تعویض محیط انجام شد. این بار نیز از محیط DMEM با FBS ۲ درصد استفاده گردید و در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و در حضور CO_2 ۵ درصد قرار داده شد. اثر مهاری miRNA بر تکثیر ویروس HSV-1 با مقایسه‌ی Cytopathic effect (CPE) در سلول‌های ترانسفکت شده و در مقایسه با Mock پس از ۲ روز سنجیده شد (۱۴).

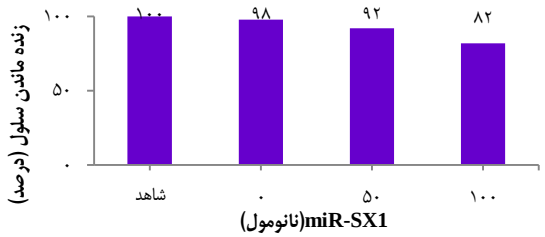
بررسی اثرسمیت بر روی سلول: با استفاده از روش 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) اثر سمیت miR-SX1 بر روی سلول Hela سنجیده شد. سلول‌های Hela، به صورت تریپلیکت در پلیت ۹۶خانه‌ای Seed شدند. $۱۰^۳ \times ۱۵$ در هر چاهک ریخته شد. سلول‌ها با غلظت‌های مختلف (۵۰ و ۱۰۰ نانومول) microRNA و توسط پلی‌فکت و طبق شیوه‌نامه، ترانسفکت شدند و به مدت ۷۲، ۴۸ و ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. سپس، ۱۰ میکرولیتر از محلول MTT به هر چاهک اضافه‌گردید و به مدت ۴ ساعت در تاریکی قرار داده شد. سپس، محلول MTT خارج گردید و Dimethyl sulfoxide به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک اضافه‌گردید و پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. میزان زنده ماندن سلول‌ها با استفاده از دستگاه Enzyme-linked immunosorbent assay reader (ELISA reader) در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. میزان زنده

ماندن سلول‌ها توسط فرمول زیر محاسبه‌گردید (۱۵).

میزان زنده ماندن سلول‌ها = Absorbance of transfected cell/absorbance of control cell × 100

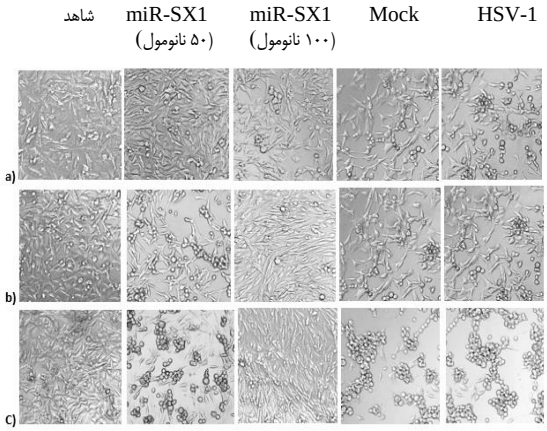
یافته‌ها

برای سنجیدن اثر miR-SX1 بر میزان زنده ماندن سلول‌ها، از روش MTT assay استفاده گردید. میزان زنده ماندن سلول‌های Hela در غلظت‌های مختلف (۵۰ و ۱۰۰ نانومول) بدون‌تغییر باقی ماند (شکل ۱).



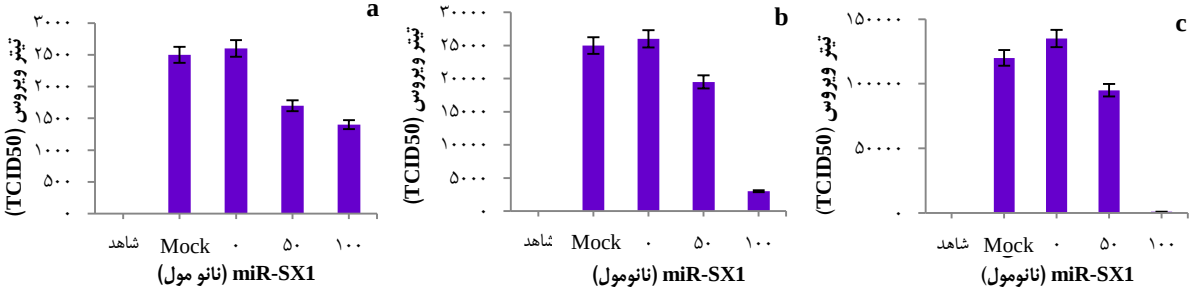
شکل ۱. میزان زنده ماندن سلول‌های ترانسفکت شده با MicroRNA-SX1 (miR-SX1) و Mock در غلظت‌های مختلف با روش 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT assay) تعیین شد. تمامی نمونه‌ها ۳ بار آزمایش‌شدند ($P < ۰/۰۵۰$).

miR-SX1 از ایجاد اثرات CPE بر روی سلول‌های Hela آلوده شده با ویروس HSV-1 جلوگیری می‌کند. سلول‌های Hela توسط miR-SX1 و Mock در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانومول به مدت ۲۴ ساعت ترانسفکت گردید و سپس، توسط ویروس HSV-1 در مقادیر مختلف MOI (۵، ۱ و ۰/۱) آلوده و تغییرات ایجاد شده بر روی سلول Hela، ۶ و ۲۴ ساعت بعد از آلودگی با میکروسکوپ اینورت مشاهده شد. پس از ۶ ساعت، هیچ گونه تغییر خاصی در ریخت‌شناسی سلول‌های ترانسفکت شده با miR-SX1 و شاهد دیده نشد. پس از ۲۴ ساعت، miR-SX1 اثرات سیتوپاتولوژیک ناشی از ویروس را وابسته به دز کاهش داد؛ به طوری که غلظت ۱۰۰ نانومول، تأثیر بیشتری نسبت به سایر غلظت‌ها داشت (شکل ۲).



شکل ۲. اثر MicroRNA-SX1 (miR-SX1) بر روی ویروس Herpes simplex virus 1 (HSV-1) در سلول Hela. سلول Hela توسط miR-SX1 و Mock و در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ ترانسفکت شدند. ۲۴ ساعت بعد، توسط ویروس در مقادیر Multiplicity of infection (MOI) ۰/۱ (a)، ۱ (b) و ۵ (c) آلوده شدند. تغییرات سیتوپاتولوژیک ۲۴ ساعت پس از آلودگی عکس‌برداری شد. Cytopathic effect (CPE) در سلول‌های ترانسفکت نشده و Mock به شدت افزایش یافت. CPE در سلول‌های ترانسفکت شده با miR-SX1 به شدت کاهش یافت.

سلول‌های Hela توسط miR-SX-1 در غلظت ۱۰۰ نانومول ترانسفکت شدند و پس از ۲۴ ساعت، توسط ویروس (با مقادیر ۵، ۱ و ۰/۱ MOI) آلوده شدند. ۲۴ ساعت پس از آلودگی، تیتر ویروس در سلول‌های Hela ترانسفکت شده در مقایسه با شاهد و Mock بسیار کاهش یافت (شکل ۳).



شکل ۳. تیتر ویروس Herpes simplex virus 1 (HSV-1) در سلول‌های Hela ترانسفکت شده با MicroRNA-SX1 (miR-SX1). سلول Hela توسط miR-SX1 و در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ نانومول و Mock ترانسفکت شد. پس از ۲۴ ساعت، سلول‌ها توسط ویروس HSV-1 در مقادیر Multiplicity of infection (MOI) ۰/۱ (a)، ۱ (b) و ۵ (c) آلوده شدند. پس از ۲۴ ساعت، نمونه‌ها برای تعیین میزان دوز کشنده‌ی ۵۰ درصد (50% Tissue Culture Infective Dose یا TCID50) جمع‌آوری گردید.

سلول‌های شاهد، سلول‌هایی هستند که ترانسفکت نشده و با ویروس آلوده نشده‌اند. نتایج نشان می‌دهد که ترانسفکشن سلول‌ها با miR-SX1 و در غلظت ۱۰۰ نانومول، تیتر ویروس را در MOIهای مختلف بسیار کاهش داد.

miR-SX1، تیتر ویروس را به مقدار ۹۴ درصد در ۵ MOI کاهش داد. این در حالی‌است که تیتر ویروس در سلول‌های ترانسفکت شده با miR-SX1 در غلظت ۵۰ نانومول تغییر چندانی نداشت.

بحث

ویروس HSV-1 یک پاتوژن بسیار شایع‌است که می‌تواند بیماری‌های جدی را در انسان ایجاد کند. تعداد بسیار محدودی دارو برای درمان عفونت‌های ناشی از ویروس HSV-1 وجود دارد. بنابراین، توسعه‌ی روش‌های جدید برای درمان HSV ضروری به نظر می‌آید. امروزه با توجه به مطالعات گسترده‌ای که صورت گرفته است و اثبات نقش microRNAها در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک بدن نظیر عملکرد ضد توموری و همچنین، میان‌کنش‌های ویروس‌ها و میزبان، می‌توان بر امکان استفاده از miRNAها به عنوان رویکرد نوین درمانی برای HSV-1 تمرکز کرد. miRNAها، RNAهای کوچک غیر کد کننده‌ای هستند که ۲۴-۱۹ نوکلئوتید دارند که با اتصال به mRNA هدف، نقش تنظیمی در بیان ژن‌ها دارند. MicroRNA، نقش‌مهمی را در دفاع ضد ویروسی ایفا می‌کنند (۱۱).

ماکروفاژهایی که تحت تأثیر IL-27 قرار گرفتند، نسبت به عفونت‌های ویروسی مقاوم هستند. دلیل این مقاومت، تولید microRNA توسط ماکروفاژها است. یکی از این miRNAها، miR-SX1 است که Orf تعدادی از ویروس‌ها نظیر Human herpes virus-8 (HHV-8)، HSV-1 و HSV-2 را مورد هدف قرار می‌دهد (۱۲). بنابراین، بررسی اثر miR-SX1 بر روی رشد و همانندسازی ویروس HSV-1 آغاز گردید. نتایج مطالعه‌ی حاضر، نشان می‌دهد که اثرات CPE ویروس را در سلول Hela مورد هدف قرار می‌دهد. مشابه نتایج مطالعه‌ی حاضر، Duan و همکاران (۱۶) نیز در مطالعاتی مشخص‌کردند که miR-H6 رشد ویروس HSV-1 را با مهار ICP4 در سلول ۲۹۳ و سلول HCE مهار می‌کنند.

تا کنون، اثر miR-SX1 بر روی ویروس HSV-1 مشاهده نشده است. طی این مطالعه، مشاهده گردید که تیتر ویروس و CPE در سلول Hela ترانسفکت شده در مقایسه با Mock، کاهش چشم‌گیری پیدا کرده است. همچنین، نتایج نشان داد که miR-SX1، تیتر ویروس را وابسته به غلظت کاهش می‌دهد و این در صورتی است که غلظت ۱۰۰ نانومول، بهترین اثر مهاری را بر روی رشد ویروس HSV-1 دارد. Jin و همکاران، نشان دادند که غلظت و تجمع miRNA در سلول‌های Hela وابسته به زمان و مقدار miRNA می‌باشد؛ به طوری که بیشترین اثر miRNA ۷۲ ساعت پس از ترانسفکشن است (۱۷). اثر سمیت miR-SX1 بر روی سلول Hela بسیار ناچیز بود. بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر، از بالاترین غلظت استفاده شد.

نتیجه‌گیری نهایی این که در MOIهای مختلف، CPE به مقدار زیادی کاهش پیدا کرد. این در صورتی است که سلول‌های غول‌پیکر چند هسته‌ای، همچنان در سلول‌های شاهد دیده می‌شد. مرحله‌ی آلودگی در مقادیر MOI مختلف ویروس، متفاوت بود؛ به طوری که در MOI بالا، می‌توان اثر دارو بر روی سلول‌های آلوده را ملاحظه نمود، اما نمی‌توان تأثیر ویروس‌های تکثیر یافته در سلول را بر روی سلول‌های دیگر بررسی‌کرد. نتایج تحقیقات نشان می‌دهند که در MOI کم miRNA، می‌توان از آلوده نمودن سلول‌های دیگر جلوگیری نمود.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد با کد ۳۹۵۶۱۵ می‌باشد. نویسندگان این مقاله، از آقای دکتر حمیدرضا منوری مدیر محترم گروه ویروس‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران بابت فراهم نمودن سویه‌ی ویروس HSV-1 سپاسگزاری می‌نمایند.

References

1. Arduino PG, Porter SR. Herpes Simplex Virus Type 1 infection: overview on relevant clinico-pathological features. J Oral Pathol Med 2008; 37(2): 107-21.
2. Taylor TJ, Brockman MA, McNamee EE, Knipe DM. Herpes simplex virus. Front Biosci 2002; 7: d752-d764.
3. Mossman KL, Ashkar AA. Herpesviruses and the innate immune response. Viral Immunol 2005; 18(2): 267-81.
4. Rabenau HF, Buxbaum S, Preiser W, Weber B, Doerr HW. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and type 2 in the Frankfurt am Main area, Germany. Med Microbiol Immunol 2002; 190(4): 153-60.
5. Griffiths PD. Herpesviruses. Medicine 2014; 42(1): 34-8.
6. Gilden DH, Mahalingam R, Cohrs RJ, Tyler KL. Herpesvirus infections of the nervous system. Nat Clin Pract Neurol 2007; 3(2): 82-94.
7. Farooq AV, Shukla D. Herpes simplex epithelial and stromal keratitis: an epidemiologic update. Surv Ophthalmol 2012; 57(5): 448-62.
8. Rao S, Abzug MJ, Carosone-Link P, Peterson T, Child J, Siparksy G, et al. Intravenous acyclovir and renal dysfunction in children: a matched case control study. J Pediatr 2015; 166(6): 1462-8.
9. Lam NN, Weir MA, Yao Z, Blake PG, Beyea MM, Gomes T, et al. Risk of acute kidney injury from oral acyclovir: A population-based study. Am J Kidney Dis 2013; 61(5): 723-9.
10. Chowdhury MA, Derar N, Hasan S, Hinch B, Ratnam

S, Assaly R. Acyclovir-induced neurotoxicity: A case report and review of literature. Am J Ther 2016; 23(3): e941-e943.
11. Skalsky RL, Cullen BR. Viruses, microRNAs, and host interactions. Annu Rev Microbiol 2010; 64: 123-41.
12. Swaminathan S, Hu X, Zheng X, Kriga Y, Shetty J, Zhao Y, et al. Interleukin-27 treated human macrophages induce the expression of novel microRNAs which may mediate anti-viral properties. Biochem Biophys Res Commun 2013; 434(2): 228-34.
13. Martin C, Leyton L, Hott M, Arancibia Y, Spichiger C, McNiven MA, et al. herpes simplex virus type 1 neuronal infection perturbs golgi apparatus integrity through activation of Src tyrosine kinase and Dyn-2 GTPase. Front Cell Infect Microbiol 2017; 7: 371.
14. Duan F, Ni S, Nie Y, Huang Q, Wu K. Small interfering RNA targeting for infected-cell polypeptide 4 inhibits herpes simplex virus type 1 replication in retinal pigment epithelial cells. Clin Exp Ophthalmol 2012; 40(2): 195-204.
15. van MJ, Kaspers GJ, Cloos J. Cell sensitivity assays: the MTT assay. Methods Mol Biol 2011; 731: 237-45.
16. Duan F, Liao J, Huang Q, Nie Y, Wu K. HSV-1 miR-H6 inhibits HSV-1 replication and IL-6 expression in human corneal epithelial cells in vitro. Clin Dev Immunol 2012; 2012: 192791.
17. Jin HY, Gonzalez-Martin A, Miletic AV, Lai M, Knight S, Sabouri-Ghomi M, et al. Transfection of microRNA mimics should be used with caution. Front Genet 2015; 6: 340.

DOI: 10.22122/jims.v36i495.10749 Published by Vesnu Publications

Journal of Isfahan Medical School Vol. 36, No. 495, 3rd Week, November 2018

Received: 04.09.2018 Accepted: 18.09.2018 Published: 06.11.2018

The Effect of miRNA Mimic hsa-miR-7704 on in-Vitro Replication of Herpes Simplex Virus Type 1

Mehdi Shabani[1], Bahram Nasr-Esfahani[2], Bahar Sadegh-Ehdaei[3], Sharareh Moghim[4], Arezoo Mirzaei[5], Mohammad Reza Sharifi[6]

Original Article

Abstract

Background: Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) infections are of the most common diseases in human population. HSV-1 can cause subclinical to severe diseases, especially in immunocompromised patients. There are few anti-herpes drugs for treatment of HSV-1 infection. Acyclovir is one of the most important drugs. The extensive use of this drug has led to the development of resistant strains. Therefore, development of new anti-herpes drugs with different mechanisms is noticeable. This study aimed to use microRNAs as a novel method for inhibiting HSV-1 infection.

Methods: Synthesized miRNA mimics hsa-miR-7704 (miR-SX1) were transfected into Hela cells, and then infected with HSV-1. Cellular morphological changes were observed 24 hours post-infection by inverted microscope, and photographed. Viral titers were measured using 50% tissue culture infective dose ($TCID_{50}$) method.

Findings: miR-SX-1-transfected cells produced low-titer HSV-1, without affecting cell viability.

Conclusion: The data suggest that miR-SX1 inhibits HSV-1 replication, and may provide an alternative mechanism to prevent HSV-1 infection.

Keywords: Herpes simplex virus 1, microRNA, Antiviral, Therapy

Citation: Shabani M, Nasr-Esfahani B, Sadegh-Ehdaei B, Moghim S, Mirzaei A, Sharifi MR. **The Effect of miRNA Mimic hsa-miR-7704 on in-Vitro Replication of Herpes Simplex Virus Type 1.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(495): 1071-6.

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
4- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- PhD Candidate, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6- Associate Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Sharareh Moghim, Email: moghim@med.mui.ac.ir