بسم الله الرحمن الرحيم

٩٩٢٨٦

سازمان انتقال خون ایران

سازمان انتقال خون

مرکز تحقیقات

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد خون شناسی و انتقال خون

عنوان :

بررسی مولکولی HCV RNA در اهداء کنندگان خون anti- HCV منفی

Molecular screening of HCV RNA among anti HCV negative blood donors

استاد راهنما:

دکتر محمود محمودیان شوشتری

استاد مشاور:

دکتر زهره شریفی

نگارنده :

حسین بهرامی

بهار۸۷

۱۳۸۷ /۸/

۹۹۲۸۶

تقدیم به روح عزیزی که در زمان نگارش این پایان نامه مرا تنها گذاشت

وتقدیم به پدر و مادر عزیزم به خاطر حمایت های بی دریغشان

۱۳۸۷ /۸/ ۷

برای همسر ودختر عزیزم به خاطر زمانی که از آنها دریغ کردم

ستایش وحمد خدای راست بر جمیع اوصاف کمالیه اش و نعمت های بی شمارش . سپاس او را که امرش در بیکران هستی نافذ و اوصافش آشکار و مجد و بزرگواریش به لطف وکرمش پدیدار است.

خدای را بسی شاکرم که به این بنده توفیق عطا فرمود تا این پایان نامه به عنایت حضرتش به رشته تحریر در آید

برخود لازم می دانم که از اساتید عزیز جناب آقای دکتر محمودیان شوشتری و سرکار خانم دکتر زهره شریفی تشکر کنم

از همکاری صمیمانه پرسنل محترم بخش ویروس شناسی مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران آقایان حسن نژاد و معروفی تشکر و قدر دانی می شود

از زحمات پرسنل محترم سازمان انتقال خون اهواز بخصوص بخش های خون گیری و کنترل کیفی سپاسگزاری می شود

از دوست عزیز جناب آقای محمد علی جلالی فر به خاطر زحماتش تشکر می کنم .

فهرست عناوین

عنوان **صفحه**

فصل اول

۱-۱ تاریخچه..... ۲

۱-۲ ساختمان ویروس وطبه بندی ٤

۱-۲-۱ خصوصیات ظاهری و فیزیکی..... ٤

۱-۲-۲ طبقه بندی..... ٥

۱-۳ ساختمان ملکولی..... ٥

۱-۳-۱ ژنوم ویروس..... ٥

۱-٤ پروتین های ویروس..... ۷

۱-٤-۱ پروتین های ساختمانی..... ۹

۱-٤-۲ پروتین های غیر ساختمانی..... ۱۲

۱-٤-۲-۱ NS2..... ۱۲

۱-٤-۲-۲ NS3..... ۱۳

۱-٤-۲-۳ NS4..... ۱٤

۱-٤-۲-٤ NS5..... ۱٥

۱-٥ ژنوتایپ های ویروس هپاتیت C ۱٦

۱-٦ اپیدمیولوژی..... ۱۸

۱-٦-۱ راه های انتقال عفونت..... ۲۲

۱-۱-٦-۱ انتقال ناشی از تزریق مواد..... ۲۲
۱-۱-٦-۲ انتقال از طریق آلودگی های بیمارستانی ۲۳
۱-۱-٦-۳ انتقال مادر به نوزاد ۲٤
۱-۱-٦-٤ تماس جنسی ۲٥
۱-۱-٦-٥ استفاده از مواد مخدر غیر تزریقی..... ۲٥
۱-۷ پاسخ های ایمنی ۲٦
۱-۷-۱ نقش ایمنی هومورال..... ۲۷
۱-۷-۲ ایمنی سلولی..... ۲۸
۱-۷-۳ مکانیسم ایمونولوژیک ایجاد بیماری مزمن..... ۳۲
۱-۸ روش های تشخیصی ۳٥
۱-۸-۱ آزمایش تاییدی Anti- HCV..... ۳۷
۱-۸-۲ آزمایش تشخیص آنتی ژن مرکزی ویروس..... ۳۹
۱-۸-۳ روش های ملکولی تشخیص عفونت(روش های مبتنی بر NAT)..... ٤۰
۱-۸-۳-۱ روش های تکثیر ژنوم ٤۲
۱-۹ جنبه های کلینیکی..... ٤٥
۱-۹-۱ هپاتیت حاد..... ٤٥
۱-۹-۲ هپاتیت مزمن..... ٤٦
۱-۹-۳ بدخیمی سلولهای کبدی..... ٤۷
۱-۹-٤ علایم خارج کبدی..... ٤۸

۱۰-۱ درمان ٤٩

فصل دوم

مروری بر مطالعات گذشته..... ٥١

فصل سوم

تهیه و نگهداری نمونه های سرم ٦١

آماده کردن مجموعه های سرمی ٦٢

استخراج و تکثیر اسید نوکلییک ویروس..... ٦٣

کنترل کیفی و اعتبار سنجی کیت..... ٦٦

فصل چهارم

یافته ها ٦٨

فصل پنجم

بحث..... ٧٥

فصل ششم

منابع..... ٨٠

بررسي ملكولي HCV RNA در اهداكنندگان خون anti HCV منفی

چكيده:

سابقه و هدف:

با وجود انجام آزمايش های سرولوژی روتين وروشهای تاييدی مثل وسترن بلات برايغربالگری كيسه های خون در مراكز انتقال خون ، انتقال برخی از عفونت های ويروسی (اگر چه بطوراندک) از طريق انتقال خون از اهداكنندگان بظاهر سالم به دريافت كنندگان خون وجود دارد. يكی از دلايل اين امر دوره پنجره (window period)اين ويروس ها می باشد ، زيرا در اين دوره انتی بادی عليه اين ويروسها به حد قابل اندازه گيری نرسيده است و قابل تشخيص نيست. در سالهای اخير برخی از كشور ها با استفاده از فن آوري NAT (nucleic acid amplification technology) روي خون هاي اهدا شده به طور قابل ملاحظه اي خطر انتقال بيماري هاي ويروسي را كم كرده اند، زيرا بوسيله اين آزمايش دوره پنجره(window period) عفونت ويروسي به طور قابل ملا حظه اي كوتاه مي شود. هدف از اين مطالعه بررسي ملكولي HCV RNA در اهداكنندگان خون anti HCV منفي در مركز انتقال خون اهواز مي باشد.

مواد وروشها:

در اين مطاله مقطعي تعداد ۸۰۰۰ نمونه سرم از اهداه كنندگان كه از نظر ازمايش اليزاي نسل سوم anti HCV منفي بودند، جمع اوري شد. از اين نمونه ها پولدهاي ۲۵تايي تهيه شد . ۳۲۰ پولد سرم آماده شد. روي كليه پولد ها ازمايش HCV-RNA به روش RT-PCR انجام شد. حساسيت كيت برابر باIU/ML ۲۰۰ بود.

يافته ها:

در مجموع همه نمونه ها (پولد ها) از نظر HCV RNA به روش RT-PCR منفي بودند . در طي اين بررسي دو مورد از پولدها داراي باند بود كه با بررسي جزء به جزء اجزاي پولد مورد مثبتي مشاهده نشد بنابراين اين موارد به عنوان نتيجه مثبت كاذب تلقي شدند.

نتيجه گيري:

در اين مطالعه كليه نمونه هاي مورد بررسي با روش مولكولي جهت HCV RNA منفي بودند. اين امر مي تواند بدليل انتخاب مناسب و صحيح اهداكننده خون در مركز انتقال خون باشد. غربالگري عفونت HCV RNA با استفاده از پولد هاي ۲۵ تايي به روش RT-PCR هم مفيد وهم از نظر اقتصادي مقرون به صرفه مي باشد. جهت سهولت در مطالعه تعداد زيادي از اهداكنندگان خون، روش هاي تمام اتوماتيك پيشنهاد مي شود. با روش هاي تمام اتوماتيك ميزان موارد غير قابل قبول و نمونه هاي مثبت كاذب به شدت كاهش مي يابد.

كلمات كليدي: HCV، RT-PCR ، اهداكنندگان خون ،اليزا- پلاسماي پولد

فصل اول

مقدمه

۱-۱ تاریخچه:

در طول جنگ جهانی دوم برای هپاتیت‌های ویروسی اصطلاحاتی مثل هپاتیت سرمی و هپاتیت عفونی به کار برده می‌شد.

بعدا اصطلاحات هپاتیت A (HA) و هپاتیت B (HB) بکار برده شدند و عامل به وجود آورنده این بیماری‌ها را ویروس هپاتیت A (HAV) و ویروس هپاتیت B (HBV) نام نهادند. با کشف آنتی ژن استرالیایی که بعداً HBsAg[1] نام نهاده شد در سال ۱۹٦۵ و همراهی آن با هپاتیت B در سال ۱۹٦۸ یک تصویر واضح از هپاتیت ویروسی در حال شکل‌گیری بود. در سال ۱۹۷۱ یک تست رادیوایمنواسی برای تشخیص آنتی بادی علیه HBsAg گسترش یافت و به زودی بعد از آن یک تست بسیار دقیق رادیوایمنواسی برای تشخیص آنتی‌ژن سطحی هپاتیت B ابداع شد و بالاخره بعد از ابداع روش تشخیص آنتی بادی علیه آنتی ژن مرکزی هپاتیت B (HBcAg[2]) تقریبا تمام مبتلایان به بیماری هپاتیت B قابل تشخیص شدند. پس از شناخت HBsAg و برقراری ازمایشات غربالگری این ویروس برروی خون به طور تعجب برانگیزی مشخص شد که بسیاری از موارد هپاتیت بعد از انتقال خون ناشی از هپاتیت B نمی‌باشد. از آنجایی که تنها یک نوع دیگر از هپاتیت ویروسی یعنی HAV[3] شناخته شده بود که از نظر

---

[1] - Hepatitis B surface Antigen
[2] - Hepatitis B core Antigen
3- Hepatitis A virus

کلینیکی و با وضعیت اپیدمیولوژیک این بیماران تطابق نداشت به تدریج این عقیده شکل گرفت که ممکن است عامل ویروسی دیگری نیز دخیل باشد. و در سال ۱۹۷۳ ویروس هپاتیت A بوسیله میکروسکوپ الکترونی مشاهده شد و تست‌های تشخیصی مربوط به آن عرضه شد. بعد از این مرحله بود که مشخص شد عامل بسیاری از موارد هپاتیت بعد از انتقال خون نه هپاتیت A و نه هپاتیت B است. بنابراین مفهوم هپاتیت NANBH[1] شکل گرفت و جستجو برای عامل ایجاد کننده آن آغاز شد(۲) تا اینکه در اواخر ۱۹۸۰ دانشمندان موفق شدند ویروس مذکور را کلون نموده حجم بسیار بالایی از سرم شامپانزه مبتلا با تیتر بالای عفونت را تهیه کرده و سانتریفوژ کردند و اسیدهای نوکلئیک آن را جدا نموده و آن را کاملا دناتوره کردند و از روی RNA[2] بدست آمده[3] DNA را تهیه کردند. سپس قطعات cDNA[4] را کلون نمودند و فایل آن را تشکیل دادند. بر مبنای cDNA تهیه شده پلی پپتیدهای آن را ساخته و با پروتئین‌های موجود در سرم بیماران مبتلا به هپاتیت non-A و non-B مقایسه کردند که حاصل آن شناخت ژنوم ویروس هپاتیت C بود (۲٤).

امروزه حدود دویست و ده میلیون (۲۱۰) نفر در جهان یعنی تقریبا سه در صد جمعیت جهان به ویروس هپاتیت C آلوده هستند (۱). اگر چه بعد از ابداع تست‌های غربالگری خون از تعداد موارد جدید به شدت کاسته شده ولی تعداد زیاد مبتلایان و برخی از راه‌های ناشناخته انتقال این بیماری آن را به یکی از نگرانی‌های بهداشتی جامعه تبدیل کرده است.

آزمایشات غربالگری معمول که آنتی بادی علیه ویروس را تجسس می‌کنند اگر چه موارد انتقال را کاهش داده‌اند ولی به دلیل دوره کمون طولانی ویروس انتقال آن از طریق انتقال خون همچنان ادامه

1-Non A Non B hepatitis
[2] -Ribose Nucleic Acid
[3] -Deoxyribo Nucleic Acid
[4] -Complementary DNA

دارد. لذا استفاده از روش‌های که بتواند دوره پنجره ویروس را کوتاه‌تر کند قطعا در کاهش شیوع و جلوگیری از بروز موارد جدید موثر هستند.

یکی از این روش‌ها RT-PCR[1] است که می‌تواندد‌وره پنجره ویروس را با تشخیص زود هنگام RNA آن و قبل از بوجود آمدن آنتی بادی به میزان قابل توجهی کوتاه کند.

امروزه این آزمایش در بسیاری از کشورهای پیشرفته دنیا اجباری شده است. هرچند که در کشور ما آمار دقیقی از مبتلایان به هپاتیت C در دست نمی‌باشد ولی با توجه به هزینه‌های بالای درمان این گونه بیماران و پیامدهای منفی آن برای جامعه و نیز افزایش هرچه بیشتر امنیت خونهای اهدای انجام چنین تستی ضروری به نظر می‌رسد.

این مطالعه در یک دوره زمانی خاص تعدادی از اهدا کنندگان را که از نظر آنتی بادی علیه HCV[2] منفی بوند از نظر وجود RNA ویروس به روش RT-PCR مورد مطالعه قرار داد.

۲-۱ ساختمان ویروس و طبقه بندی:

۱-۲-۱ خصوصیات ظاهری و فیزیکی:

آنالیز ساختاری ویروس به دلیل تیترپائین ویروس در سرم‌های عفونی و دشواری‌های مربوط به تکثیر ویروس در سیستم‌های کشت ویروسی با مشکلات زیادی رو به رو است به همین دلیل جزئیات دقیق آنالیز ساختاری ویروس با نقایص زیادی همراه است.

از آنجایی که این ویروس بوسیله حلال‌های مثل کلروفورم خنثی می‌شود می‌توان نتیجه گرفت این ویروس دارای پوشش خارجی است که از غشاءسلول میزبان تشکیل شده ودرون آن گلیکوپروتئین

[1] -Reverse transcriptase – Polymerase chain reaction
[2] - Hepatitis C Virus

های E1[1] وE۲ قرار گرفته اند. و نیز با استفاده از فیلتراسیون معلـوم شـده کـه انـدازه آن بـین ۳۰ تـا ٦۰ نانومتر است. ذراتی با این اندازه و به شکل کروی در پلاسـمای افـراد آلـوده و نیـز سـلول‌هـای کبـدی شامپانزه مشاهده شده‌اند. این ذرات به طور اختصاصی با آنتی بادی علیه HCV واکنش نشـان مـی‌دهنـد (٤).

۲-۲-۱ طبقه‌بندی

این ویروس عضوی از خانواده فلاوی ویریده (Flaviviridae) اسـت. خـانواده فـلاوی ویریـده شامل سه جنس می‌باشد:

۱–جنس Flavivirus: اعضای این جنس شامل ویروس عامل تب زرد[۲]، دانگی ویروس[۳] ۱ و ۲، ویروس نیل غربی (WNV)[٤] و ویروس عامل آنسفالیت ژاپنی[٥] هستند.

۲– جنس Pestivirus: اعضای این ژنوس شامل CSFV[٦] وBVDV[7] است.

۳– جنس Hepacivirus: اعضای این جنس HCV است که خود دارای چندین ژنوتایپ اسـت. و نیز GBV[8]-A و GBV-C و GBV-B که از نظر ژنتیکی و سـاختمانی شـباهت بسـیار زیـادی بـا HCV دارند. و به تازگی به خانواده فلاوی ویریده اضافه شده‌اند (٤).

۳-۱ ساختمان ملکولی:

۱-۳-۱ ژنوم ویروس:

---

[1] -Envelop

[2]-Yellow Fever
[3]- Dengue Fever
[4]- West Nile virus
[5]- Japanese Encephalitis
[6]- Classical Swine Fever virus
[7]- Bovine Viral Diarrhea Virus
[8]- Hepatitis G virus

ویروس هپاتیت C حاوی یک RNA تک رشته‌ای مثبت به طول ۹/٦kb است. قسمت عمده این ژنوم را یک ناحیه قابل ترجمه (ORF[1]) تشکیل می‌دهد که بسته به منبعی که ویروس از آن استخراج می‌شود ۳۰۱۰ تا ۳۰۳۳ اسید آمینه را کد می‌کند که طی تغییراتی که در حین و بعد از ترجمه روی آنها صورت می‌گیرد پروتئین‌های ساختمانی و غیر ساختمانی ویروس را بوجود می‌آورند. در دو طرف ژنوم دو ناحیه ترجمه نشد به نام‌های 5′,3′ (UTRs[2]) وجود دارد که به ترتیب حاوی ۳٤۱ و ۲۳۰ نوکلئوتید هستند (۵).

ناحیه 5′-UTR یکی از حفاظت شده‌ترین نواحی ژنوم HCV است و در بین ژنوتایپ‌های مختلف HCV تا ۹۲٪ همسانی در این ناحیه دیده می‌شود. از اختلافات اندکی که در توالی نوکلئوتید در این ناحیه دیده می‌شود برای تعیین ژنوتایپ‌های مختلف ویروس استفاده می‌شود. ناحیه 5′-UTR حاوی چهار دومین (I- IV) است که به صورت لوپ‌های جداگانه قرار دارند دومین IV حاوی کدون شروع کننده ساختمان پلی پروتئین ویروس است و به همراه دومین‌های II و III ناحیه IRBS[3] را تشکیل می‌دهند که در کنترل ترجمه ژنوم ویروس دخالت دارد (٦).

حفظ حالت حلقوی دومین II برای عملکرد IRES ضروری است. چندین پروتئین سلول میزبان به ناحیه 5′-UTR متصل می‌شوند و نقش عملکردی در آغاز همانند سازی ویروس دارند از جمله این پروتئینها Polyprimidine tract–binding protein و فاکتور اولیه ترجمه در یوکاریوتها (eif-3[4]) هستند (۲). بعد از کدون پایانی ناحیه ORF ناحیه 3′-UTR قرار می‌گیرد. این ناحیه از سه دومین متفاوت تشکیل شده است. این دومین‌ها از ناحیه 5′ به 3′ عبارتند از:

---

[1]- Open Regain Frame

[2] - Un-Translated Region
[3] - Internal ribosome Entry Site
[4] - Eucarutic Initiation Factor

۱- یک دومین متغیر (VR[1]) که حدود 40 نوکلئوتید دارد و در بین ژنوتایپ‌های مختلف ویروس تفاوت‌های زیادی دارد. ۲- یک رشته طولانی Poly (v)- poly (v/vc) ۳- یک توالی ۹۸ نوکلئوتیدی که سه لوپ را به وجود می‌آورد (SL1,SL2,SL3) این ناحیه در بین تمام ژنوتایپ‌های HCV تقریبا ثابت است.

عملکرد ناحیه 3′-UTR هنوز به خوبی مشخص نشده است. ولی احتمال می‌رود که این ناحیه در ساخت RNA مثبت و منفی نقش مهمی داشته باشد. ناحیه بسیار حفاظت شده ۹۸ نوکلئوتیدی ممکن است که با پروتئین‌های ویروسی و سلولی و اجزاء RNA واکنش دهد و نقش آغاز کننده در تکثیر ژنوم را به عهده داشته باشد.

مطالعات نشان می‌دهد برای اینکه ویروس بتواند در شامپانزه ایجاد عفونت کند وجود نواحی ۹۸ نوکلئوتیدی و ناحیه Poly (v/vc) ضروری هستند.

٤-١ پروتئین‌های ویروس:

پلی پروتئین پیش ساز که ژنوم ویروسی را کد می‌کند با تغییراتی که در حین یا بعد از ترجمه روی آن صورت می‌گیرد پروتئین‌های عملکردی ویروس را به وجود می‌آورد این پروتئین‌ها شامل پروتئین‌های ساختمانی و غیر ساختمانی ویروس هستند پروتئین‌های غیر ساختمانی از ناحیه C ترمینال پلی پروتئین پیش ساز ساخته می‌شوند. و برخی از آنها خاصیت پروتئازی دارند. پروتئین‌های ساختمانی از ناحیه N ترمینال پلی پروتئین مورد نظر ساخته می‌شوند. این پروتئین‌ها دارای دومین هیدروفوب هستند که از آن برای اتصال به غشاء و ورد به ناحیه رتیکلوم اندوپلاسمیک استفاده می‌کنند (٤).

[1] - Variable Region

قطعه قطعه شدن پلی پروتئین پیش ساز حداقل یک مرحله با استفاده از پروتئازهـای سـلول میزبـان صورت می‌گیرد.

جدول ۱-۱:محل‌های برش در نواحی مختلف پلی پروتئین HCV

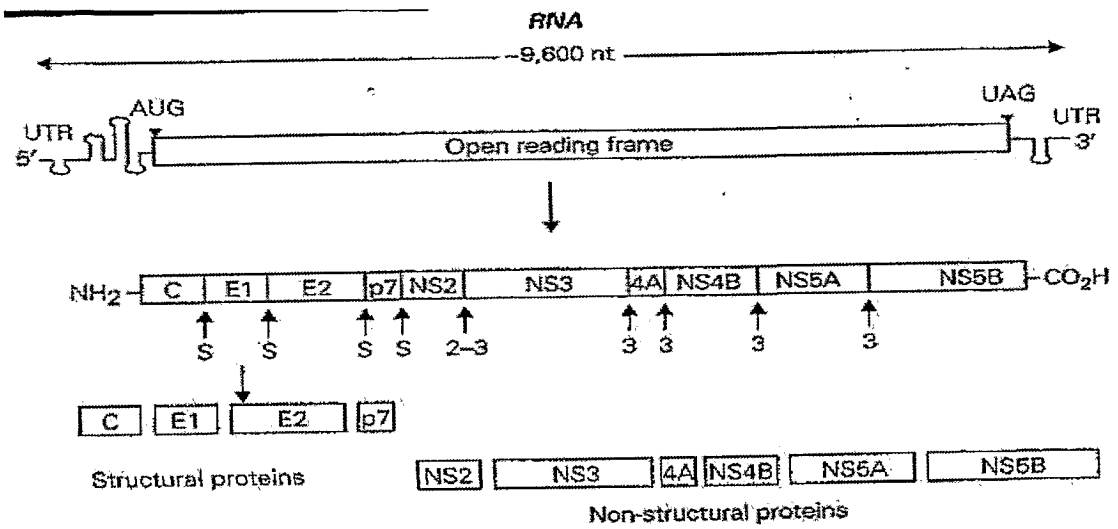
TABLE 2. *Clevage in the HCV polyprotein*

Cleavage site	Amino acid sequence[a]	Protease	*cis/trans*	Cotranslational (Co) or posttranslational (Post)	Cofactor requirement
C/E1	LTVPASA—YQVRN	Signal peptidase	NA	Co	No[b]
E1/E2	LFAGVDA—ETHVT	Signal peptidase	NA	Co	No[b]
E2/p7	LISQAEA—ALENL	Signal peptidase	NA	Post	No[b]
p7/NS2	LPQRAYA—LDTEV	Signal peptidase	NA	Post	No[b]
NS2/NS3	SKGWRLL—APITA	NS2-NS3 protease	*cis*	Co	No[b]
NS3/NS4A	ADLEVVT—STWVL	NS3 protease	*cis*	Co	NS4A
NS4A/NS4B	FEDMEEC—SQHLP	NS3 protease	*cis/trans*	Post	NS4A[c]
NS4B/NS5A	SECTTPC—SGSWL	NS3 protease	*cis/trans*	Post	NS4A
NS5A/NS5B	TEDVVCC—SMSYS	NS3 protease	*cis/trans*	Post	NS4A

[a]Based on the HCV-H published sequence (145).
[b]No cofactor requirement has been demonstrated.
[c]Cleavage at these sites still occurs in the absence of NS4A but at a lower efficiency.

منبع شماره ۲ صفحه ۱۹۰

شکل۱-۱:شکل شماتیمک سازماندهی ژنوم ویروس و به وجود آمدن پروتئین‌های ساختمانی و غیر ساختمانی



منبع شماره ۵ صفحه۳۸۲

۱-٤-۱ پروتئین های ساختمانی:

از سمت N ترمینال این پروتئین‌ها عبارتند از یک پلی پتید باند شونده بـه RNA بنـام پـروتئین مرکزیC، دو گلیکوپروتئین پوششی بنامهای E_1, E_2 و یک پروتئین هفت کیلو دالتونی بنام P_7 کـه مـرز بین پروتئین های ساختمانی و غیر ساختمانی است (٤).

پروتئین مرکزی C دارای ۱۹۱ اسید آمینه است و وزن ملکولی آن بین ۲۱ تا ۲۳ کیلو دالتـون اسـت. ایـن تفاوت در وزن ملکولی ناشی از کوتاه شدن قسمت C ترمینال در موارد مختلف است. تصور می‌شود فرم فعال و کارآمد این پروتئین فرم ۱۹ تا ۲۱ کیلو دالتونی آن باشد که در اسید آمینه‌های ۱۷۳ یا ۱۷٤ خاتمـه پیدا می‌کند. ناحیه N ترمینال پروتئین مرکزی دارای چندین سیگنال شناخته شده جـایگزینی در هسـته و یک موتیف باند شونده به DNA است. ناحیه فعال باند شونده به RNA در ناحیه N ترمینال و بین اسـید آمینه‌های ۱ تا ۷۵ قرار دارد. و دارای نقش بیولوژیکی بسیار مهمـی اسـت. در In vitro نشـان داده شـده است که این ناحیه با پروتئینها و ویروسهای دیگر واکنش می‌دهد و گفته مـی‌شـود ایـن ناحیـه یکـی از عوامل مختل کننده پاسخ‌های لنفوسیت T است.

جایگزین شدن پروتئین مرکزی در هسته به خصوص فرم کوتاه شده و فاقد ناحیه C ترمینال را چندین گزار ش مورد تاکید قرار دادهاند چندین عملکرد برای پروتئین مرکزی موجود در هسته تصور می‌شود که شاید مهم‌ترین آنها اختلال در رونویس از ژنوم سلول است. برای فرم سیتوپلاسمی پروتئین مرکزی نیز عملکردهای زیادی در نظر گرفته شده از جمله اینکه پروتئین مرکزی با اتصال به قطعه 60S ریبوزم باعث آزاد شدن ژنوم ویروس می شود.

یکی دیگر از کارهای پروتئین مرکزی تداخل با رسپتور I تومورنکروزیس فاکتور (TNFR- I[1]) است که یک خانواده از رسپتورهای سایتوکاینی است. این تداخل می‌تواند باعث کاهش و ضعف پاسخ‌های ضد ویروسی میزبان شود. پوشش خارجی ویروس از دو گلیکوپروتئین بنامهای E_1, E_2 تشکیل شده که وزن مولکولی آنها به ترتیب ۳۵-۳۳ و ۷۲-۷۰ کیلو دالتون است. E_1, E_2 با اتصال مستقیم به رسپتورهای سطح سلول و یا احتمالاً بوسیله اتصال به غشاء باعث ورود ویروس به سلول میزبان می‌شوند (۲).

بعد از ورود پیش‌ساز پلی پروتئین اصلی به درون ER (اندو پلاسمیک رتیکولیوم) و بعد از اینکه برشهای لازم روی آن انجام شد E_1, E_2 به وسیله زنجیره‌های سنگین مانوز بشدت گلیکوزیله می‌شوند به طوری که تقریبا نصف وزن این دو گلیکوپروتئین را مانوز تشکیل می‌دهد.

ناحیه C ترمینال E_1 یک ناحیه بسیار آبگریز است که به E_2 متصل است. این اتصال در اندوپلاسمیک رتیکلوم دچار برش می‌شود و این دو گلیکوپروتئین از هم جدا می‌شوند. دو قطعه پیش‌ساز احتمالی برای E_2 تولید می‌شود یکی $E_2 - NS_2$[2] و دیگری $E_2 - P_7$ که احتمال به وجود آمدن

[1] -Tumor Necrosis Factor Receptor
[2] - Non Structural

دومی بسیار بیشتر است. و در نهایت به دلیل ناکافی بودن سیگنالهای جدا کننده در قسمت P_7 دو فرم از E_2 به وجود می‌آید E_2-P_7, E_2 که تفاوت آنها فقط در ناحیه C ترمینال آنهاست.

گیرنده E_2 در سطح سلول CD81 است که در سطح لنفوسیت های B و سلولهای کبدی وجود دارد. تصور می‌شود محل اتصال E_2 یک لوپ خارجی در CD81 باشد. CD81 نو ترکیب که این لوپ را دارد می‌تواند به HCV متصل شود و آنتی بادی علیه HCV می‌تواند از این اتصال جلوگیری کند. در مورد اتصال CD81 به E_2 گفته می‌شود که تنها ۳۰ درصد موارد مولکول CD81 آن هم بعد از ۱۲ ساعت به درون سلول کشیده می‌شود و این بیانگر ظرفیت ناچیز CD81 برای وارد کردن ویروس به درون سلول است.

از طرف دیگر انتقال ژن CD81 و بیان آن توسط موش‌ها آنها را به عفونت با ویروس HCV حساس نکرد. همه این یافته‌ها بیانگر این مطلب است که CD81 رسپتور اصلی و منفرد HCV نیست

یکی دیگر از عملکردهای E_2 این است که با اتصال به محل فسفوریلاسیون پیروات کنیاز R که القا کننده تولید IFN است (PKR)[1] و نیز محل فسفوریلاسیون EIF_2a که یکی از محل‌های اثر PKR است از تولیدات $IFN-a$ [2] جلوگیری می‌کند و این باعث مزمن شدن عفونت می‌شود.

ناحیه N ترمینال E_2 به طور غیر معمولی بسیار متغیر است. این ناحیه بسیار متغیر HVR_1 [3] گفته می‌شود و در بین اسیدآمینه‌های ۳۸٤ تا ٤۱۰ پلی پروتئین اصلی واقع شده است (بین اسید آمینه‌های ۱ تا ۲۷ E_2)

[1] - Private kinas - R
[2] - Interferon - α
[3] - Hyper Variable Region

ناحیه HVR_1 در بین ژنوتایپ‌های مختلف کاملاً متفاوت است و لازم است ذکر شود هیچ گونه الگوی خاصی از HVR_1 همراهی با ژنوتایپ خاصی از ویروس ندارد. یکی از روش‌های که ویروس از آنتی بادی‌های خنثی کننده فرار می‌کند وجود این ناحیه است.

پروتین P7 بعد از انتهای کربوکسی E_2 قرار دارد و دارای ٦٣ اسید آمینه و یک پلی پپتید انتگرال است.دارای دو دومین عبور کننده از غشاء است که به وسیله یک لوپ سیتوپلاسمی به هم متصل می‌شوند. هر دو انتهای کربوکسی و آمینو- ترمینال آن درون سیتوپلاسم قرار دارند.

نقش P_7 به درستی مشخص نشده است. ولی مطالعات جدید نشان می‌دهد که این پلی پپتید احتمالا به عنوان کانال کلسیم عمل می‌کند و نشان داده شده است که این کانال بوسیله «آماتیدین» قابل مهار است.

P_7 برای عفونت زا بودن ویروسی ضروری است و عدم وجود آن باعث می‌شود که ویروس نتواند سلول را آلوده کند (٥).

٢-٤-١ پروتئین‌های غیر ساختمانی

این پروتئین‌ها در سمت C ترمینال پلی پروتئین اصلی واقع شده‌اند و اکثراً خواص آنزیمی مثل هلیکازی، پروتئازی، دارند و در تکثیر ویروس نقش دارند.

NS_2 ١-٤-٢-١

NS_2 یک پروتئین ٢٣-٢١ کیلو دالتونی است که بعد از ناحیه P_7 قرار می‌گیرد. جدایی N ترمینال پروتئین NS_2 از ناحیه C ترمینال P_7 بوسیله یک آنزیم کد شده توسط میزبان صورت می‌گیرد. ولی جدایی ناحیه C ترمینال NS_2 از NS_3را یک پروتئاز ویروسی بر عهده دارد. این پروتئاز که ناحیه