

# دراسات جينومية وظيفية على نبات الوينكا الطبي

منى عبدالقادر

المستخلص

المشرفين على الرسالة

د. أحمد محمد محمد عمارة

د. ثناء خالد خان

تُعتبر النباتات الطبية مصدراً غنياً بالمواد الكيميائية والتي تُستخدم لأغراض علاجية. يحتوي نبات الوينكا الطبي *Catharanthus roseus* على مجموعة من مركبات دوائية تحمل في تركيبها الكيميائي المجموعة الوظيفية الإندول ألكلويد Terpenoid Indole Alkaloids (TIAs) مثل vincristine و vinblastine ذات القيمة الاقتصادية العالية في مجال تصنيع و إنتاج أدوية العلاج الكيميائي لمرض السرطان بأنواعه وأدوية عدة أمراض أخرى. تكمن مشكلة هذه المركبات في أنها تُنتج بكميات ضئيلة داخل أنسجة أعضاء الوينكا والمسارات البيوكيميائية التي يتم تصنيعها من خلالها مازالت غامضة والعوامل المتحكمة بها غير معروفة تماماً. تحليل تنابعات الـ RNA أو ما يُعرف بـ Transcriptome سيساهم في إعطاء صورة واضحة عن طريقة تصنيعها وبالتالي زيادة إنتاجها وتحديد أي جزء من أجزاء النبات هو الأكثر تجميعاً وتراكماً لهذه المركبات الدوائية. في هذه الرسالة تم استخدام البيانات المتاحة من تنابعات الـ RNA في أنسجة أعضاء نبات الوينكا الناتجة من استخدام تقنية (Next-Generation Sequencing (NGS) والتي تم تخزينها في قاعد البيانات National Center of Biotechnology Information (NCBI). ومن ثم تم تجميع هذه التنابعات عن طريق استخدام الـ *de-novo* assembling بواسطة البرامج الحاسوبية Trinity and Tuxedo software packages يليه تحليلها بالبرامج التحليلية مثل RSEM و EdgeR و Blast-2-GO. أخيراً، تم التحقق من النتائج باستخدام التجارب المعملية مثل تقنية الـ real-time PCR. وقد أظهرت نتائج الدراسة أن التعبير الجيني لتنابعات الـ RNA الوظيفية المسؤولة عن تصنيع وتجميع هذه المركبات قد تم تعبيرها بشكل كبير في أنسجة الأوراق الناضجة، الأزهار والجنود. وأوضحت النتائج أيضاً أن الإنزيمات المُعبّرة من هذه التنابعات تنتقل من أنسجة عضوٍ لآخر لبدأ أو استيفاء المسارات الحيوكيميائية وتجميع مركبات الـ TIAs في أنسجة الأوراق الناضجة. من المؤكد أن النتائج ستعطي نظرةً أوضح وأشمل للعوامل والميكانيكية المرتبطة بتصنيع وتجميع ونقل هذه الإنزيمات من عضو لآخر. يُتوقع أيضاً أن يتم استخدام مخرجات هذه الدراسة في تسهيل تحديد وعزل بعض الجينات والإنزيمات لإنتاج هذه المواد بكميات كبيرة عن طريق استخدام تقنيات الهندسة الأيضية.

# **Functional Genomics Studies in Medicinal Plant *Catharanthus roseus***

**Muna Abdulgader**

**Abstract**

**Supervised By**

**Dr. Ahmed M. Emara**

**Dr. Thana Khalid Khan**

Medicinal plants are considered as a rich resource of pharmaceutical compounds that can be used for therapeutic purposes. Terpenoid Indole alkaloids (TIAs) such as vinblastine and vincristine in the medicinal plant *Catharanthus roseus* are two of the most widely used compounds in cancer chemotherapy against various leukemia, Hodgkin's disease and solid tumors. The main concerns about these compounds that their concentrations inside *C. roseus* organs tissues are quite low and their biosynthesis pathways are not fully characterized. Analyzing the transcriptome is the key to understand their biosynthesis's mechanisms and improve their yields. Transcriptome data of *C. roseus* across different organs tissues was generated via Next-Generation Sequencing (NGS) technique. In this thesis, RNA-Seq data was collected from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database and *de-novo* assembled using Trinity and Tuxedo software packages. Then, the resulted differentially expressed (DE) transcripts were analyzed using different bioinformatics and experimental tools such as RSEM, EdgeR, and Blast-2-GO. Finally, results were validated using real time PCR technique. The outcomes indicated that DE transcripts related to vincristine and vinblastine accumulation are highly expressed in roots, flowers, and mature leaves tissues. Also, enzymes expressed from these DE transcripts are transferred from one organ tissues to another to open or complete the TIA pathway in the distal organs. The findings of this study will provide a new insight into genes and enzymes involved in regulating TIAs biosynthesis pathways. In addition, investigate the factors and mechanisms involved in assembling and facilitating the transport of these enzymes from one organ tissues to another. Moreover, the isolated genes from this study could facilitate *in vitro* overproduction of these compounds via metabolic engineering approaches.