บทคัดย่อ

T 158364

ฮิวแมนพาร์เอคโคไวรัส 1 เป็นไวรัสที่ติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และระบบประสาทส่วนกลาง โครงสร้างประกอบด้วยกรดนิวคลีอิกเป็น RNA สายเดี่ยว ห่อหุ้มด้วยแคปซิดโปรตีน ในโปรตีนโครงสร้าง VP1 พบว่ามีกรดอะมิโน Arginine-Glycine-Aspartic acid (RGD) ซึ่งเป็นบริเวณที่ไวรัสใช้ในการจับกับโมเลกุล integrin เพื่อเข้าสู่เซลล์ ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาความสำคัญของกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง +1 (methionine), +2 (alanine) และ +4 (leucine) ถัดจากกรดอะมิโน RGD ต่อการเข้าสู่เซลล์ของไวรัส จากผลการทดลองพบว่าไม่สามารถเตรียม cDNA ของไวรัสที่มีการตัดกรดอะมิโนตำแหน่ง +1 และ +2 ส่วน cDNA ของไวรัสที่มีการแทรกกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง +4 สามารถเตรียมได้ หลังจากแทรกนิวคลีโอไทด์สายสั้นเข้าสู่ full-length cDNA cassette vector ของฮิวแมนพาร์เอคโคไวรัส 1 ที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Sac*II และ *BsaM*I เมื่อเตรียม RNA ของไวรัสจาก cDNA โดยใช้วิธี *in vitro* transcription และนำ RNA เข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงโดยใช้ lipofectin พบว่าสามารถตรวจพบอนุภาคไวรัสที่กลายพันธุ์ในตำแหน่ง +4 คือ HAN insertion, RAN insertion และ LAN insertion โดยความสามารถในการเกาะติดกับตัวรับบนผิวเซลล์ของ LAN insertion ใกล้เคียงกับ wild type ส่วน HAN insertion และ RAN insertion สามารถเกาะติดกับตัวรับบนผิวเซลล์น้อยกว่า wild type ถึงแม้ว่า HAN insertion กับ RAN insertion ทำให้ความสามารถในการเกาะติดกับตัวรับบนผิวเซลล์น้อยลงแต่อัตราการเพิ่มจำนวนของ insertion mutant ทั้ง 3 ชนิดไม่แตกต่างกับ wild type ดังนั้นการแทรกกรดอะมิโน HAN และ RAN จะมีผลกระทบต่อการเกาะติดของไวรัสกับตัวรับบนผิวเซลล์มากกว่าการแทรกกรดอะมิโน LAN

ABSTRACT

TE 158364

Human parechovirus 1 (HPEV1) is a common pathogen that causes gastrointestinal tract, respiratory tract and central nervous system infections. Human parechovirus 1 has single stranded RNA surrounded by capsid protein. VP1 structural protein contains an Arginine-Glycine-Aspartic acid motifs (RGD), which is an integrin binding region for host cell entry. In this study, the importance of amino acids at position +1 (methionine), +2 (alanine) and +4 (leucine) from the RGD motif were investigated on virus entry. The results showed that amino acids at +1 (methionine) and +2 (alanine) positions were not deleted from cDNA of HPEV1 mutants while cDNA of HPEV1 insertion mutants at +4 (leucine) position were prepared by ligation of mutated nucleotides into full-length cDNA cassette vector of HPEV1, which was cut by restriction enzymes *Sac*II and *BsaM*I. After *in vitro* transcription, mutated RNAs were tranfected into cell culture using lipofection and virus mutants, LAN insertion, HAN insertion and RAN insertion could produce. The binding capacity of LAN insertion mutant was similar to wild type virus whereas the binding capacity of HAN and RAN insertion mutants were less than wild type virus. Moreover replication rate of all insertion mutants were similar to wild type virus although binding capacities of HAN and RAN insertion mutants were less than wild type virus. Thus, HAN insertion and RAN insertion affected capacities of binding to cellular receptor more than LAN insertion.