

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ของโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีน nonstructural 1 (NS1) ของไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ที่แยกได้ในประเทศไทย โดยเปรียบเทียบข้อมูลของยีน NS1 ที่มีรายงานในประเทศไทยจากฐานข้อมูลของ NCBI จำนวน 80 ตัวอย่าง (GenBank accession number: EU153264 to EU153343) และทำการสร้างไวรัสลูกผสมด้วยวิธี reverse genetics ให้มีจีโนมประกอบด้วย RNA ที่มียีน NS1 ของไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 จากประเทศไทยและ RNA ในจีโนมที่เหลือเป็นของไวรัส A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1) จากนั้นจึงศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของไวรัส ผลการศึกษาพบว่ายีน NS1 ในตัวอย่างที่แยกได้ในประเทศไทยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกันของนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนเป็น 99.49 % และ 99.57 % ตามลำดับ แบ่งกลุ่มของโปรตีน NS1 ได้ 20 แบบ ตามการเกิด substitution mutation ส่วนไวรัสลูกผสมที่สร้างได้ประกอบไปด้วย 4 สายพันธุ์ คือ 1) NS1 wild type, 2) NS1 mutant D53G, 3) NS1 mutant E71K และ 4) NS1 mutant N171I พบว่า reverse genetic viruses ที่มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 53 (D53G) และเมื่อภายหลังการเพิ่มจำนวนในไข่ไก่ฟักแล้วเกิด mutation เพิ่มขึ้นในตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 15 (L15F) แสดงลักษณะของคุณสมบัติที่ศึกษาต่างจากไวรัสสายพันธุ์อื่นๆ คือมีลักษณะของ plaque ที่มีขอบเขตที่ชัดเจนและการศึกษาด้วยวิธี mean death time (MDT) พบว่าทำให้ไข่ไก่ฟักตายได้เร็วกว่าไวรัสสายพันธุ์อื่นรวมทั้ง A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1)

The purpose of this study is to characterize the relationship of structure and function of non-structural (NS) 1 protein of H5N1 avian influenza viruses isolated from Thailand. The 80 nucleotide sequences of NS gene segment of the viruses (GenBank accession number: EU153264 to EU153343) were analyzed. The reassortant viruses were then constructed using NS genomic RNA segment from Thailand and the rest of the genome from A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1) by reverse genetic methods. The viruses were then compared their properties. The results showed the percentage identity of nucleotide and amino acid sequence were 99.49 and 99.57, respectively. The NS1 proteins were divided into 20 subgroups according to their amino acid substitution with the majority (47) of them classified as the wild type. The constructed four reverse genetic viruses were 1) NS1-wild type, 2) NS1-mutant D53G, 3) NS1-mutant E71K, and 4) NS1-mutant N171I. The NS1-mutant D53G virus which further mutated under embryonic egg inoculation (L15F) has more remarkable properties than the others: it showed the clear area of plaque. In the MDT study, this mutant killed the embryonic eggs more rapidly than A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1) virus.