

รหัสโครงการ: RSA 43-8-0007

ชื่อโครงการ: ความผันแปรของการควบคุมการแสดงออกของยีนของ HIV-1 ที่ระดับ post-transcription

ชื่อนักวิจัย: รศ.นพ. ประเสริฐ เอื้อวรากุล

คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล, มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address: [sipaw@mahidol.ac.th](mailto:sipaw@mahidol.ac.th)

ระยะเวลาโครงการ: 2543-2545

วัตถุประสงค์ของโครงการนี้เป็นการศึกษา cis-regulatory element ชนิดใหม่ในส่วนยีน env ของ HIV-1 และเพื่อศึกษาความผันแปรของประสิทธิภาพของ cis- และ trans-regulatory elements ชนิดต่างๆในยีน env ของ HIV-1 ที่มีผลต่ออัตราการสร้างโปรตีนโครงสร้างของไวรัส นอกจากนี้ยังศึกษาความสำคัญของความผันแปรเหล่านี้ต่อการดำเนินโรคของผู้ติดเชื้อในการศึกษาติดตามผู้ป่วยระยะยาว เราได้ทำการศึกษา putative cis-regulatory element หนึ่งใน env ของ HIV-1 ซึ่งในเบื้องต้นเรียกชื่อว่า CES (cis-enhancer sequence) ได้ถูก mapped อยู่ในชิ้นส่วนขนาด 263 bp ในส่วน gp41 พบว่า CES สามารถเพิ่ม expression ของโปรตีนโครงสร้างของ HIV-1 ได้โดยการส่งเสริม Rev-dependent RNA export ออกจากนิวเคลียส และ/หรือเพิ่มความเสถียรของ RNA การทำงานของ CES จำเพาะต่อ Rev เนื่องจากพบว่ามันไม่ส่งเสริมการทำงานของ Sam 68 ซึ่งเป็น Rev functional homolog

เราได้ศึกษาความผันแปรในประสิทธิภาพการทำงานของ rev, RRE (Rev-response element), และ CES ในกลุ่ม HIV-1 ที่ได้จากผู้ติดเชื้อที่ยังไม่แสดงอาการและจากผู้ป่วยเอดส์ พบว่า RREs ในกลุ่มที่ศึกษาแสดงความผันแปรที่น่าจะมีความสัมพันธ์กับระยะของโรค จึงได้ทำการศึกษาความผันแปรของ RRE ต่อไปใน longitudinal cohort ของผู้ติดเชื้อ HIV-1 ที่ติดตามไปเป็นเวลา 3-5 ปี ถึงแม้ว่าจะไม่พบความสัมพันธ์ที่ชัดเจนระหว่างประสิทธิภาพของ RRE กับอัตราการดำเนินโรค แต่ก็พบข้อสังเกตที่น่าสนใจได้แก่: 1) ประสิทธิภาพของ RRE ค่อนข้างจะคงที่เมื่อเวลาเปลี่ยนไปในผู้ติดเชื้อแต่ละราย, และ 2) ผู้ติดเชื้อที่มีประสิทธิภาพของ RRE ต่ำมีอัตราการลดลงของ CD4 count ในระดับต่ำถึงปานกลางเท่านั้น

เรากำลังทำการศึกษาต่อไปถึงธรรมชาติและกลไกการทำงานของ CES โดยการทำ site-directed mutagenesis และการฉีด RNA เข้าไปใน *Xenopus laevis* oocytes.

---

Project Code: RSA 43-8-0007

Project Title: Variability of post-transcriptional regulation of HIV-1 gene expression

Investigator: Assoc. Prof. Prasert Auewarakul

Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

E-mail Address: [sipaw@mahidol.ac.th](mailto:sipaw@mahidol.ac.th)

Project Period: 2543-2545

The objectives of this projects were to characterize a newly described cis-regulatory element in HIV-1 env region, and to study the functional variability of cis- and trans-acting elements within the HIV-1 env region that could affect the rate of viral proteins production. The significance of the variation to the disease progression was addressed in a cohort of HIV infected subjects. We have characterized a putative cis-regulatory element in env sequence of HIV-1. The element, tentatively called CES (cis-enhancer sequence), was mapped to a 263 bp fragment in the gp41 region. It enhanced expression of HIV-1 structural proteins by enhancing Rev-dependent RNA export from the nucleus and/or increasing RNA stability. The activity of CES was Rev-specific since it did not show synergism with the Rev-functional homolog Sam 68.

We have studied the functional variability of rev, RRE (Rev-response element), and CES in a group of HIV-1 isolates from asymptomatic infected individuals and from AIDS patients. Only RREs showed functional variation that was likely to be correlated with the disease status. The variability of RREs was therefore further investigated in longitudinal cohort of HIV-1 infected subjects that were followed for 3-5 years. Although, the RRE activities were not significantly correlated with the rate of disease progression, but there were some interesting observations: 1) RRE activities were rather constant during the observation period in most subjects, and 2) subjects with low RRE activities had low to moderate rate of CD4 count decline.

The nature and mechanism of CES is under further investigation by site-directed mutagenesis and RNA microinjection into *Xenopus laevis* oocytes.