บทที่ 1

บทนำ

ไวรัสหัวเหลือง (Yellow Head Virus) เป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลายในประเทศไทยในช่วงระยะเวลา 20 ปีที่ผ่านมา ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่า โรคดังกล่าวเป็นสาเหตุของการตายของกุ้งภายในระยะเวลา 2- 3 วัน หลังจากที่ได้รับเชื้อ ความรุนแรงของโรคชนิดนี้ ถือได้ว่าเป็นโรคที่สร้างความเสียหายให้อุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งชนิดต้นๆ เนื่องจากจะทำให้กุ้งทั้งบ่อตายภายในระยะเวลาไม่กี่วันหลังจากพบกุ้งที่ติดเชื้อ ซึ่งกุ้งที่ติดเชื้อนี้จะมีลักษณะอาการหัวเหลืองและลำตัวซีด เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งปกติ

เมื่อแยกไวรัสหัวเหลืองบริสุทธิ์ออกจากเลือดกุ้งที่ติดเชื้อ พบว่าอนุภาคของไวรัสมีลักษณะเป็นท่อนภายในประกอบด้วยจีโนมที่เป็น positive-single stranded RNA มีขนาดประมาณ 26 กิโลเบส โอบล้อมด้วยโปรตีนห่อหุ้ม (envelope) ประกอบด้วยโปรตีนโครงสร้าง 3 ชนิด คือ gp116, gp64 spike glycoprotein และ โปรตีน p20 nucleocapsid ลักษณะยีโนไทป์ของไวรัสชนิดนี้มีความคล้ายคลึงกันกับ Gill Associated Virus(GAV) ซึ่งมีความรุนแรงต่อการก่อโรคน้อยกว่า ดังนั้นไวรัสทั้งสองจึงจัดอยู่ในลำดับ *Nidovirales* สกุล *Okavirus* และ วงศ์ *Roniviridae*

เมื่อการศึกษาองค์ประกอบของจีโนมไวรัสจากไวรัสหัวเหลือง ประกอบด้วย 5 open reading frames (ORFs) ได้แก่ ORF1a ORF1ab ORF2 ORF3 และ ORF4 ตามลำดับ ซึ่งโปรตีนโครงสร้างที่เป็นองค์ประกอบของไวรัสชนิดนี้นั้น จะถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจาก ORF2-4 ส่วน ORF ที่เหลือนั้น มีหน้าที่ในการสร้างเอนไซม์จำเป็นที่ช่วยในการเพิ่มจำนวนยีโนไทป์ของไวรัส และช่วยในการสังเคราะห์ไวรัสใหม่ ดังนั้นที่บริเวณ ORF1ab จึงประกอบไปด้วยบริเวณที่สามารถเกิดการแปลรหัสเป็นโปรตีน chymotrypsin-like proteinase (3CLP), nidovirus accessory protease และ RNA- dependent RNA polymerase (RdRp) ซึ่งเอนไซม์ทั้งหมดนี้ เกี่ยวข้องกับกระบวนการจำลองตัวเองของไวรัส นอกจากนี้ยังมีตำแหน่งของ Metal-ion binding domain (MIB)

โปรตีน 3CLP เป็นเอนไซม์ชนิดแรกของไวรัสในกลุ่มนี้ที่มีการศึกษาแล้วในไวรัสชนิด GAV ซึ่งเอนไซม์นี้มีบริเวณตำแหน่งตัดที่ Cys-His catalytic และสามารถเกิด trans-cleavage activity และเมื่อนำลำดับของกรดอะมิโนมาเปรียบเทียบกับไวรัสหัวเหลือง พบว่า มีความคล้ายคลึงกันในตำแหน่ง I^{2866} และ G^{3006} ซึ่ง

แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ 3CLP จากไวรัสหัวเหลืองมีค่าความคล้ายคลึงกันสูงมากถึง 87.9% ยิ่งไปกว่านั้น โปรตีนทั้งสองชนิดมีตำแหน่งตัด 2 ตำแหน่งคือ 3CLP; ^{2838}LVTHE↓VNTGN^{2847} และ ^{6455}KVNHE↓LYHVA64^{6464} อย่างไรก็ดี หน้าที่และความจำเพาะของ 3CLP ใน YHV ยังไม่ได้มีการศึกษาที่ชัดเจน โดยมีเพียงรายงานก่อนหน้านี้ว่า 3CLP ใน YHV เกี่ยวข้องกับการควบคุมกิจกรรมการจำลองตัวเองของไวรัส ซึ่งมีความคล้ายคลึงกันกับหน้าที่ของ 3CLP ใน Coronavirus ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการ downstream replicase domain รวมทั้งเอนไซม์ RdRp และ helicase โดยโปรตีเอส 3CLP ที่พบในไวรัสหัวเหลืองเป็น nidovirus accessory เป็นเอนไซม์ชนิด papain like protease (PLP) เอนไซม์ชนิดนี้ประกอบด้วย canonical Cys-His catalytic dyad และลักษณะเด่นของการเกิด alpha+ beta fold เป็นลักษณะและบริเวณสำคัญในโปรตีนซึ่งมีหน้าที่เช่นเดียวกันกับ transcription factor ซึ่งอยู่รวมในการสังเคราะห์ sub genomic messenger RNA (sgmRNA) อย่างไรก็ตามจากการทำ sequence alignment แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างระหว่าง 3CLP จาก PLP ของไวรัสหัวเหลือและ GAV ซึ่งมีความคล้ายคลึงกันเพียง 73.7%

การป้องกันการแพร่กระจายของไวรัสชนิดนี้ได้เน้นศึกษาถึงกุญแจสำคัญของการเกิดปฏิกิยาของเอนไซม์เพื่อให้สามารถเข้าใจกลไกได้มากขึ้น เพื่อให้ค้นพบการยับยั้งการแพร่กระจายของไวรัสหัวเหลือง จากการศึกษาก่อนหน้านี้ได้ทำเพียงการทำ dsRNA ดังนั้นเพื่อให้เข้าใจอย่างชัดเจน การศึกษาโปรตีเอสจากไวรัสหัวเหลืองสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาทางยาเพื่อมีเป้าหมายในการศึกษาไวรัสหัวเหลืองในกุ้ง นอกจากนั้นยังสามารถนำมาใช้ในการพัฒนาการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสจากไวรัสชนิดอื่นๆด้วย เช่น HIV1 HCV และ SARs เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดทางด้านเภสัชกรรม โดยการออกแบบสารที่ใช้ยับยั้งโปรตีเอสดังกล่าว โดยยึดตามโครงสร้างสามมิติของโปรตีเอสจากไวรัสด้วยโปรแกรม computer assisted molecular modeling โดยโครงสร้างดังกล่าวได้มาจากการโครงผลึกจากฐานข้อมูลซึ่งมีการระบุถึง โปรตีนที่มีสามารถเกิดปฏิสัมพันธ์กันและการจับกันกับเปปไทด์อื่นๆ แต่โครงสร้างผลึกของ YHV protease ยังไม่มีรายงานโครงสร้างสามมิติ แต่มีการเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกับโปรตีเอสอื่นๆจากฐานข้อมูล เพื่อเปรียบเทียบตำแหน่งและบริเวณ protease cleavage site ดังนั้น เพื่อบรรลุผลที่จะเกิดขึ้นในการหาวิธีบำบัดไวรัส HIV1, HCV, SARs 3CLP และ เพื่อให้ได้ตัวยับยั้งที่ดีที่สุดต่อการแพร่กระจายของไวรัสหัวเหลือง ยิ่งกว่านั้นยังต้องมีการหาวิธีการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ดังกล่าวด้วย