รหัสโครงการ: PDF/52/2543

ชื่อโครงการ: การแยกและศึกษาการแสดงออกของโปรตีนโครงสร้าง65 กิโลดาลตันของเชื้อไวรัสหัวเหลือง

Investigator: ดร.ศราวุฒิ จิตรภักดี
ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Email Address: scsji@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 1 กรกฎาคม 2543 - 30 มิถุนายน 2545

เชื้อไวรัสหัวเหลืองเป็นสาเหตุสำคัญของโรคหัวเหลืองซึ่งพบในฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เชื้อไวรัสหัวเหลืองที่ทำการแยกให้บริสุทธิ์ประกอบด้วยโปรตีนโครงสร้างหลัก 3 ชนิด คือ gp116, gp64 และ p20 ซึ่งมีขนาด 116, 64 และ 20 กิโลดาลตันตามลำดับ โดยพบว่า gp116 และ gp64 เท่านั้นที่มีการเติมหมู่คาร์โบไฮเดรต จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ORF3 ทำให้ทราบว่ายีนดังกล่าวสังเคราะห์โปรตีนสายยาวซึ่งมีกรดอะมิโน 1,664 ตัว และมีน้ำหนักโมเลกุล 185 กิโลดาลตันโดยประมาณ (มีค่า pI เท่ากับ 6.68) เมื่อทำการวิเคราะห์หาคุณสมบัติที่ของกรดอะมิโนพบว่าโปรตีนดังกล่าวประกอบไปด้วยส่วนที่เป็น transmembrane 6 บริเวณ ส่วนที่เป็น ectodomain 3 บริเวณ รวมทั้งหลายบริเวณที่สามารถถูกเติมหมู่น้ำตาลได้ จากการหาลำดับที่ปลายด้าน N ของโปรตีน gp116 และ gp64 ที่สกัดจากเชื้อไวรัสมาเทียบกับลำดับกรดอะมิโนที่แปลมาจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ORF3 ทำให้ทราบว่าโปรตีน gp116 และ gp64 ถูกสังเคราะห์มาจาก precursor โปรตีนตัวเดียวกันซึ่งผ่านขบวนการดัดแปลงโดยการย่อยด้วยเอ็นไซม์โปรตีเอสซึ่งตัดพันธะเป็ปไทด์ระหว่าง Ala^{228} กับ Thr^{229} และระหว่าง Ala^{1127} กับ Leu^{1128} โดยบริเวณดังกล่าวอยู่ที่ปลายด้าน C ของ transmembrane เกลียวที่ 3 และเกลียวที่ 5 ตามลำดับ เมื่อนำลำดับกรดอะมิโนของ gp116 และ gp64 ของเชื้อไวรัสหัวเหลืองไปเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของ gp116 และ gp64 ของเชื้อ GAV ปรากฏว่ามีความคล้ายคลึงกัน 83% และ 71% โดยประมาณ ความแตกต่างที่เด่นชัดคือใน GAV นั้นมีการเกิด deletion ของลำดับกรดอะมิโนที่ด้าน N อยู่ 2 บริเวณ นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับโปรตีน gp 116 และ gp64 ของเชื้อไวรัสหัวเหลืองไม่มีความคล้ายคลึงกับโปรตีนของเชื้อไวรัสตัวอื่น ๆ ในฐานข้อมูล

โปรตีน gp64 ที่ยังมี transmembrane และไม่มี transmembrane ถูกนำมาสังเคราะห์โดยวิธีทางพันธุวิศวกรรมในเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* โดยพบว่าโปรตีนที่สร้างขึ้นมาโดยวิธีดังกล่าวสามารถให้ปฏิกิริยาผลบวกกับ antibody ซึ่งเตรียมจากไวรัสที่ทำให้บริสุทธิ์