บทคัดย่อ

229887

ไวรัสเดงกี ซีโรทัยป์ 2 ที่มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์แบบแทนที่บริเวณ 5' NCR 3 สายพันธุ์ ได้แก่ D2/IC69, D2/IC60 และ D2/IC5758 มีประสิทธิภาพในการติดเชื้อและเพิ่มจำนวนในเซลล์ Vero ได้ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ปกติ 16681 (wild type) แต่ขนาดของ plaque จากเซลล์ Vero ที่ติดเชื้อ D2/IC5758 มีขนาดใหญ่กว่าสายพันธุ์ 16681 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงอาจกล่าวได้ว่าการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์แบบแทนที่ ลำดับที่ 57 และ 58 บริเวณ 5' NCR อาจมีความสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนและความรุนแรงของไวรัส ไวรัสเดงกี่สายพันธุ์ปกติสามารถเพิ่มจำนวนในเซลล์ HepG2 ซึ่งไม่มีที่รับแอนติบดีได้โดยไม่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ Matrix metalloproteinase (MMP) –2 และ MMP-9 หลังการตรวจวิเคราะห์ในระดับ mRNA โดย RT-PCR และโปรตีนที่สร้างออกมาในน้ำเลี้ยงเซลล์ โดย gelatin zymography นอกจากนี้ไวรัสที่มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ส่วน 5' NCR ให้ผลคล้ายคลึงกับสายพันธุ์ปกติ ในทางตรงข้าม เซลล์ U937 ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีที่รับแอนติบอดี หลังการติดเชื้อไวรัสเดงกี่จะมีการแสดงออกของ MMP-2 และ MMP-9 ลดลง โดยการเฉพาะอย่างยิ่งระดับเอนไซม์ MMP-9 ในน้ำเลี้ยงเซลล์มีปริมาณลดลงหลายเท่า การทดลองนี้แสดงให้เห็นผลการตอบสนองของเซลล์ที่แตกต่างกันหลังการติดเชื้อไวรัสเดงกี่

ABSTRACT

229887

Reproduction rates of three mutants containing one or two nucleotide substitution (D2/IC69, D2/IC60 and D2/IC5758) were investigated in comparison to wild-type DENV 16681 in Vero cells. The amounts of the infectious virion released in supernatants of Vero cell culture were monitored throughout a 4-day period of infection. Similar patterns of viral reproduction were reported amongst three strains of the mutant and did not differ to that of a wild-type cohort. However, by plaque forming assay, we could detect larger plaques generated from a D2/IC5758 virus compared to those from a wild type strain. In addition, effect of DENV infection on the expression of Matrix metalloproteinase (MMP) -2 and MMP-9 was also examined in HepG2 and U937 cells. The expressions of MMP-2 and 9 in HepG2 cells infected wild type DENV 16681 were comparable with those of non-infected cells. Mutation in 5'NCR also caused no apparent difference in both MMP-2 and MMP-9 expression in this cell type. In contrast, following DENV infection, U937 cells down regulated their MMP-2 and MMP-9 expressions. Zymographic analysis demonstrating gelatinolytic activities of MMP-2 and -9 showed that, in comparison with uninfected control cells, infected U937 cells reduced their secretion of MMP-2 and -9. Results of significantly decreased MMP-9 production were confirmed by quantitative ELISA. Manipulation of MMP-9 expression has believed to involve with the function of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1). We were able to detect the expression of TIMP-1 mRNA in U937 cells; however, levels of expression were similar in both dengue virus-infected and control cells. These results suggested that DENV elicited different responses in MMP production in different cell types