

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG6280009

ชื่อโครงการ: การศึกษาความสามารถของโปรตีน E3 Ligase/ADP-Ribosyltransferase DTX3L-PARP9 ในการต้านเชื้อไวรัสที่สามารถติดต่อดโดยแมลงในเซลล์ผิวหนังของมนุษย์

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน: ผศ. ดร.สินีวัลยา วิจิต คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address: sineewanlaya.wic@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ: โปรตีน DTX3L และ PARP9 เคยมีรายงานว่าโปรตีนนี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับ STAT1 ที่สามารถกระตุ้นสัญญาณการสร้างสารอินเตอร์เฟอรอน (Interferon) ที่ปกติแล้วอินเตอร์เฟอรอนจะถูกหลั่งออกมาเพื่อกระตุ้นให้ร่างกายกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายโดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อไวรัส ดังนั้น โปรตีนที่แสดงออกมากกว่าสภาวะปกตินี้ น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องในการต้านหรือยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสซิกุนกุนยาและเชื้อไวรัสซิกา

เพื่อการศึกษาความสามารถของโปรตีน DTX3L และ PARP9 ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนหรือกำจัดเชื้อไวรัสซิกุนกุนยาและเชื้อไวรัสซิกา คณะผู้วิจัยได้ทำการ overexpression ของ DTX3L และ PARP9 ในเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ และทำให้เซลล์ติดเชื้อไวรัสเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวัดสารพันธุกรรมและปริมาณของเชื้อไวรัส ด้วยวิธี Real-time PCR และ Plaque assay ตามลำดับ ผลของการทดลองพบว่าเชื้อไวรัสซิกา 99 % และ 99 % ของสารพันธุกรรมและ 90 และ 95% ปริมาณของเชื้อไวรัสมีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในเซลล์ที่มีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นของโปรตีน DTX3L และ PARP9 เมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทางเดียวกันในเชื้อไวรัสซิกุนกุนยา โดย 99 % และ 99 % ของสารพันธุกรรมและ 96% และ 99 % ปริมาณของเชื้อไวรัสมีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในเซลล์ที่มีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นของโปรตีน DTX3L และ PARP9 เมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ ในทางตรงกันข้ามเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน IFI16 ที่ลดลงทำให้การติดเชื้อไวรัสเพิ่มจำนวนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยิ่งไปกว่านั้นคณะผู้วิจัยยังพบว่า โปรตีน DTX3L และ PARP9 สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสซิกุนกุนยาในระยะ cell-to-cell transmission และ diffusion กล่าวโดยสรุปงานวิจัยชิ้นนี้เป็นการรายงานความสามารถของโปรตีน DTX3L และ PARP9 ในการต้านเชื้อไวรัสที่สามารถติดต่อดโดยแมลง (Arbovirus) เป็นครั้งแรก

คำหลัก: DTX3L; PARP9; เชื้อไวรัสซิกุนกุนยา; เชื้อไวรัสซิกา; เชื้อไวรัสที่สามารถติดต่อดโดยแมลง; ต้านเชื้อไวรัส; เซลล์ผิวหนังของมนุษย์

Abstract

Project Code: MRG6280009

Project Title: Antiviral activity of the E3 Ligase/ADP-Ribosyltransferase DTX3L-PARP9 during arbovirus infection of human skin fibroblasts.

Investigator: Asst. Prof. Dr. Sineewanlaya Wichit, Mahidol University

E-mail Address: sineewanlaya.wic@mahidol.ac.th

Project Period: 2 Years

Abstract: Emerging arboviruses such as Chikungunya virus (CHIKV) and Zika virus (ZIKV) poses a worldwide threat to human health. Currently, neither vaccine nor antiviral treatment is available. Novel molecules that can inhibit the viral replication are urgent needed. Our preliminary study using high throughput proteomic analysis of ZIKV infections in human skin cells using Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture (SILAC)-based mass-spectrometry analysis demonstrated a significant up-regulation of DTX3L-PARP9 proteins. Further, the interaction between E3 Ligase/ADP-Ribosyltransferase DTX3L-PARP9 complex with STAT1 was found to promote interferon-stimulated gene expression leading to an activation of antivirus activity. DTX3L-PARP9 complex was also found to control viral infection by directly depredated of viral 3C proteases. However, antiviral activity of the proteins complex against arboviruses has not been studied till date.

In this study, we investigated DTX3L-PARP9 antiviral activity and found that forced expression of the proteins completely restricted CHIKV and ZIKV infection while endogenous silencing of the gene markedly increased virus replication by Real-time PCR and Plaque assay at both 24 and 48 hpi. Furthermore, we have discovered that DTX3L-PARP9 inhibited CHIKV replication, at least, in cell-to-cell transmission as well as the diffusion step. Taken together, this study provides the first evidence of an antivirus activity of DTX3L-PARP9 during in vitro arbovirus infection, thus expanding its antiviral spectrum that paves the way to further development of antiviral drugs and vaccines.

Keywords: DTX3L; PARP9; Chikungunya virus; Zika virus; Arbovirus; Antiviral; Human skin fibroblasts