

บทคัดย่อ

เชื้อไวรัสเดงกีและเชื้อไวรัสซิกุนกูยาเป็นเชื้อไวรัสที่มีุงเป็นพาหะนำโรค เป็นตัวก่อปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ ถึงแม้ว่าเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดนี้จะอยู่ต่างตระกูลกัน แต่เชื้อไวรัสทั้งคู่ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม 4 โดยการจัดจำแนกเชื้อไวรัสตามหลักการของ Baltimore classification เนื่องจากเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดนี้มีสารพันธุกรรมเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยวชนิดสายบวก ที่ผ่านมาข้อจำกัดที่สำคัญต่อการพัฒนาวัคซีนรูปแบบอนุภาคคล้ายไวรัส (virus like particle; VLP) ของเชื้อไวรัสเดงกี คือ การที่ได้ผลผลิตน้อยจากระบบเซลล์เพาะเลี้ยง แต่อนุภาคคล้ายไวรัสซิกุนกูยาสามารถถูกสร้างได้จากระบบเซลล์เพาะเลี้ยง โดยมีระดับสูงกว่าเชื้อไวรัสเดงกีมาก ดังนั้นการศึกษาทำความเข้าใจถึงกลไกของเชื้อไวรัสซิกุนกูยา อาจนำไปสู่การประยุกต์ใช้เพื่อปรับปรุงระบบการสร้างอนุภาคคล้ายไวรัสเดงกีได้ โปรตีนแคปซิดของเชื้อไวรัสซิกุนกูยามีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน p62 (โปรตีนในกระบวนการ autophagy) โดยอาศัยการทำงานของโปรตีน ubiquitin และโปรตีน nuclear dot protein 52 (NDP52) โดยไม่อาศัยการทำงานของโปรตีน ubiquitin แต่เรายังไม่ทราบว่าโปรตีนของเชื้อไวรัสเดงกีมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนข้างต้นหรือไม่ และเรายังไม่สามารถตรวจพบปฏิสัมพันธ์ดังกล่าวได้ ดังนั้นเพื่อเป็นการศึกษาทำความเข้าใจถึงหน้าที่ของโปรตีนในกระบวนการ ubiquitination ระหว่างที่มีการติดเชื้อไวรัสซิกุนกูยา เราจึงได้ทำการศึกษาน้ำที่ของโปรตีน UBE2L3 ซึ่งเป็นเอนไซม์ ubiquitin ligase และทราบแล้วว่าเป็นเป้าหมายของเอนไซม์ protease ของเชื้อไวรัสซิกุนกูยา โดยเราได้ใส่สารพันธุกรรมแบบเต็มของโปรตีน UBE2L3 เข้าไปภายในเซลล์ HEK293T/15 ด้วยวิธี transfection จากนั้นจึงทำการติดเชื้อเซลล์ด้วยเชื้อไวรัสซิกุนกูยา พบว่าเซลล์มีระดับการติดเชื้อไวรัสและการแสดงออกของโปรตีนเปลือกหุ้มลดลง แต่ไม่มีผลกระทบต่อระดับสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัส จากผลการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า โปรตีน UBE2L3 เป็นโปรตีนเป้าหมายของโปรตีน nsP2 protease ของเชื้อไวรัสซิกุนกูยา จึงถือว่าการศึกษานี้ช่วยเพิ่มความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับความสำคัญของกระบวนการ ubiquitination ในระหว่างที่มีการติดเชื้อไวรัส

คำสำคัญ: ไวรัสซิกุนกูยา; ไวรัสเดงกี; p62; nsp52; UBE2L3

Abstract

Dengue virus (DENV) and chikungunya virus (CHIKV) are both mosquito transmitted viruses that cause a significant public health burden. Although the two viruses belong to different virus families, they are both classified as group IV viruses in the Baltimore classification as they are both single stranded positive sense RNA viruses. The significant bottle neck in virus like particle vaccine (VLP) development for DENV is the low yield in cell culture systems. CHIKV is produced several orders of magnitude higher than DENV in cell culture systems, so by understanding mechanisms in CHIKV, it may be possible to adapt across to an improved DENV VLP platform. The CHIKV capsid protein interacts with the autophagy protein p62 in a ubiquitin dependent manner, and with the nuclear dot protein 52 (NDP52) in a ubiquitin independent manner. Whether the DENV protein interacts with either protein was unknown, and we were unable to detect an interaction. To further understand the role of ubiquitination protein in CHIKV infection, the role of UBE2L3, a ubiquitin ligase known to be a target of the CHIKV protease, in CHIKV was investigated. Transfection of full length UBE2L3 into HEK293T/17 cells prior to CHIKV infection reduced levels of infection and E protein expression but did not alter RNA genome levels. These results show that UBE2L3 is a cellular target of the CHIKV nsP2 protease and increase our understanding of the importance of ubiquitination during virus infection.

Key words: Chikungunya virus, dengue virus, p62, nsp52, UBE2L3