

บทคัดย่อ

การแพร่ระบาดของโรคไข้เลือดออกได้ส่งผลกระทบเป็นวงกว้างต่อผู้ที่ติดเชื้อประมาณ 3.5 พันล้านคน จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้โรคไข้เลือดออกกลายเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญมาก พะยะของโรคไข้เลือดออกคือไวรัสเด็งกี โดยในกระบวนการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของไวรัส นั้น โปรตีนชนิด NS5 เป็นโปรตีนที่สำคัญตัวหนึ่งของไวรัสเด็งกีที่มีหน้าที่ทางเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของไวรัส ในรายงานก่อนหน้านี้ยังพบว่าโปรตีน NS5 ได้ผ่านกระบวนการปรับแต่งชนิดฟอสโฟริเลชันและซูโมอีเลชันซึ่งมีผลต่อการทำงานของโปรตีน อย่างไรก็ตามงานวิจัยฉบับนี้ได้ค้นพบเป็นครั้งแรกว่า โปรตีน NS5 ยังถูกปรับแต่งด้วยกระบวนการกลูตาริไลโอไนเลชันด้วย นอกจากนี้นักวิจัยยังทำการระบุกรดอะมิโนที่สำคัญสำหรับกระบวนการกลูตาริไลโอไนเลชันด้วยเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี จำนวน 3 ตัว นอกจากนี้นักวิจัยยังทำการสร้างดีเอ็นเอสายผสมของยีน NS5 จากไวรัสเด็งกีและซีกาเพื่อนำมาแสดงออกในแบคทีเรีย โปรตีน NS5 จากทั้งสองไวรัสหลังจากการทำให้บริสุทธิ์แล้วได้นำไปศึกษาหน้าที่ทางด้านเอ็นไซม์ 2 ชนิด คือ guanylyltransferase และ RNA-dependent RNA polymerase ผลการศึกษาพบว่าเมื่อโปรตีนถูกปรับแต่งด้วยกระบวนการกลูตาริไลโอไนเลชันก็จะส่งผลต่อการทำงานของโปรตีนทั้งสองเช่นกัน

Abstract

It has been estimated for dengue infection that the global population at risk is 3.5 billion people, which makes dengue an important public health problem. The causative agents of dengue are dengue viruses. For dengue virus replication, the dengue virus NS5 protein is of special importance as it has several enzyme activities important for viral replication. Previous reports of phosphorylation and SUMOylation of dengue NS5 have shown these protein modifications have important consequences for NS5 functions. In this report we identify glutathionylation, another reversible post translation modification that impacts on NS5 enzyme activity. Using dengue virus infected cells we employed specific antibodies and mass spectrometry to identify 3 cysteine residues of NS5 protein as being glutathionylated. Glutathionylation is a post translational protein modification where glutathione is covalently attached to a cysteine residue. We showed glutathionylation occurs on 3 conserved cysteine residues of dengue NS5. Then we generated two flavivirus recombinant full length proteins, dengue NS5 and Zika NS5, to characterize two of the NS5 enzyme activities, namely, guanylyltransferase and RNA-dependent RNA polymerase activities. We show glutathionylation of dengue and Zika NS5 affects enzyme activities of the two flavivirus proteins. The data suggests that glutathionylation is a general feature of the flavivirus NS5 protein and the modification has the potential to modulate several of the NS5 enzyme functions.

Keywords: Non-structural protein 5, NS5; post translational protein modification; dengue virus; guanylyltransferase; RNA-dependent RNA polymerase

Project Code: TRG5980012

Project Title: Investigation into a potential novel regulation mechanism of dengue virus NS5 on its RNA capping activity

Investigator: Dr. Chonticha Saisawang/Institute of Molecular Biosciences,
Mahidol University

E-mail Address: chonticha.sai@mahidol.ac.th

Project Period: 2 years