

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ผลของการกลายพันธุ์ในยีนดีเอ็นเอพอลิเมอเรสของไวรัสก่อโรค
ริมชนิดที่ 1 ต่อการดื้อยาอะไซโคลเวียร์

ผู้เขียน

นางสาวอ้อมหทัย ดีแท้

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร. ยิ่งมณี ตระกูลพั้ว

บทคัดย่อ

การดื้อต่อยาอะไซโคลเวียร์ เป็นปัญหาที่สำคัญในทางคลินิก เนื่องจากทำให้การรักษาโรคติดเชื้อไวรัสต้องใช้เวลาเพิ่มขึ้น ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ทำการตรวจวิเคราะห์หาผลของการกลายพันธุ์ในยีน DNA polymerase ของไวรัสก่อโรคริมชนิดที่ 1 ต่อการดื้อยา acyclovir (ACV) โดยทำการทดสอบยาต้านไวรัส ACV ความเข้มข้น 0-50 $\mu\text{g/ml}$ ในการยับยั้งเชื้อไวรัสมาตรฐาน HSV-1F และเชื้อไวรัสตัวอย่างจำนวน 32 ตัวอย่าง โดยวิธี Plaque Reduction Assay พบว่าค่าความเข้มข้นของยา ACV ที่ยับยั้งเชื้อไวรัสได้ 50% หรือ Inhibitory concentration (IC_{50}) ที่ใช้ยับยั้งเชื้อ HSV สายพันธุ์มาตรฐาน HSV-1F เท่ากับ 1.39 ส่วนไวรัสตัวอย่างที่มีค่า IC_{50} มากกว่า 5 $\mu\text{g/ml}$ จัดว่าเป็นสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา ACV พบจำนวน 9 ตัวอย่าง คือไวรัสหมายเลข 1-A, 1-B, 5, 11, 12, 19, 22, 25 และ 31 ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.41, 6.14, 15.39, 6.74, 11.98, 7.13, 11.78, 7.04 และ 11.81 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน DNA polymerase โดยแยกสกัด DNA จากไวรัส 9 ตัวอย่างนี้ และเพิ่มปริมาณ DNA บริเวณ DNA polymerase gene โดยเทคนิค PCR เพื่อตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน DNA polymerase ของเชื้อไวรัสตัวอย่าง และเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนกับไวรัสมาตรฐาน HSV-1F accession no. AX358316 พบว่าไวรัสหมายเลข 1-A, 1-B, 11, 12, 19, 22, 25 และ 31 มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน 3 ตำแหน่ง คือ A823V, V905M, S920P โดยการแทนที่ของกรดอะมิโน อาจมีผลต่อโครงสร้างและหน้าที่ของเอนไซม์ DNA

polymerase ทำให้ไวรัสเกิดการดีดอ่า ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ จึงมีประโยชน์เพื่อทราบถึงการกลายพันธุ์ใน DNA polymerase gene ซึ่งมีผลต่อการดีดอ่า ACV ของเชื้อ HSV-1 และการพัฒนาต่อต้านเชื้อไวรัสต่อสายพันธุ์ที่ดีดอ่าในอนาคต



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Effect of Mutation in DNA Polymerase Gene of Herpes Simplex Virus Type 1 on Acyclovir Resistance
Author	Miss Aomhatai Deethae
Degree	Master of Science (Biology)
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Yingmanee Tragoolpua

ABSTRACT

ACV resistance become an issue of clinical importance since prolonged antiviral therapy may be required for management of the infection. In this study, effect of mutation in DNA polymerase gene of herpes simplex virus type 1 on acyclovir resistance was investigated. Thirty-two isolates of HSV-1 were determined for the susceptibility to ACV, at concentrations of 0-50 $\mu\text{g/ml}$, comparing to standard HSV-1F using plaque reduction assay. 50% Inhibitory concentration (IC_{50}) was determined and HSV isolates, which showed $\text{IC}_{50} > 5 \mu\text{g/ml}$ were considered to be ACV resistance. IC_{50} of nine isolates; 1-A, 1-B, 5, 11, 12, 19, 22, 25 and 31, were 8.41, 6.14, 15.39, 6.74, 11.98, 7.13, 11.78, 7.04 and 11.81 respectively, while IC_{50} of HSV-1F was 1.39. To analyzed mutation in the DNA polymerase gene, genomic DNA was extracted from nine isolates. DNA polymerase gene of HSV-1 was amplified by PCR technique and nucleotide sequence of DNA polymerase gene was analyzed and compared with standard HSV-1F accession no. AX358316. The results showed that three amino acid substitutions, A823V, V905M and S920P were found at the same position in eight isolates; 1-A, 1-B, 11, 12, 19, 22, 25 and 31. The substitutions of amino acids may affect the structure and function of DNA polymerase enzyme and resulted in ACV resistant strains. This study is useful to understand the

mutation in DNA polymerase gene that confer ACV resistance in HSV-1 and to develop anti-HSV agents against resistant strains in the future.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved