53303804: MAJOR : BIOLOGY

KEY WORDS: DENGUE VIRUS, BIOLOGICAL MARKER, B-CELL EPITOPES
SIRIWAT THAISONTHI COMPARISON OF FULL-LENGTH GENOMICS SEQUENCES BETWEEN DENGUE VIRUS SEROTYPE 3, PARENTAL STRAIN, AND ITS DERIVATIVES, AND B-CELL EPITOPES PREDICTION FROM ENVELOPE REGION. THESIS ADVISORS: ASSIST. PROF. JUNDEE RABABLERT, Ph.D. AND ASSOC.PROF. SUTEE YOKSAN, M.D., Ph.D. pp.

Biological markers are normally used to evaluate the candidate of live-attenuated dengue vaccines. D3V 16562 Vero 23 and D3V 16562 Vero 33 which were derivatives of D3V 16562, parental strain, showed the similar biological data. We used molecular techniques and computational tools to evaluate these derivatives. The nucleotide and amino acid sequences of the derivatives were compared to their parent. The secondary structures of untranslated regions and B-cell epitopes were predicted. The results showed that nucleotide substitutions mostly occurred in NS5 and NS5 of V2 was unusual because of amino acid change at 3349 (tryptophan →stop codon). The nucleotide substitutions in 5' UTR, prM, E, NS1, NS2A, NS3, and 3' UTR were 4, 1, 2, 2, 1, 3, and 2, respectively. The secondary structure of 5' UTR of V2 was different from P and V1. The secondary structure of 3' UTR of V2 was similar to P and certainly distinct from V1. Furthermore, B-cell epitopes prediction revealed that there were 21 epitopes of envelope and the interesting epitope was at position 297-309 because it was in domain III in which the neutralizing antibody is induced. For this study, the attenuation of derivatives was caused by the nucleotide substitutions in 5' UTR, 3' UTR, and NS5 regions. The genotypic data and B-cell epitope make the derivatives attractive for the chimeric and peptide DENV vaccine development.

Department of Biology Graduate School, Silpakorn University
Student's signature ……. Academic Year 2014
Thesis Advisor's signature 1…...……..……2……...……

53303804: สาขาชีววิทยา
คำสำคัญ: เชื้อไวรัสเด็งกี่/ เครื่องหมายทางชีววิทยา / B-cell epitopes

ศิริวัฒน์ ไทยสนธิ: การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างเชื้อไวรัสเด็งกี่ซีโรไทป์ 3 สายพันธุ์พ่อแม่และอนุพันธ์ และการทำนาย B-cell epitopes จากส่วนเปลือก อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ.ดร. จันทร์ดี ระแบบเลิศ และ รศ.ดร.นพ. สุธี ยกส้าน หน้า

เครื่องหมายทางชีววิทยานิยมใช้ในการประเมินคุณสมบัติของวัคซีนเด็งกี่ชนิดเชื้อเป็นอ่อนฤทธิ์ ข้อมูลทางชีววิทยาระบุว่า วัคซีนเด็งกี่ชนิดเชื้อเป็นอ่อนฤทธิ์ซีโรทัยป์ 3 สายพันธุ์ 16562-Vero 23 และ สายพันธุ์ 16562-Vero 33 มีคุณสมบัติเหมือนกันกับ เชื้อไวรัสเด็งกี่ซีโรทัยป์ 3 สายพันธุ์พ่อแม่ 16562 ผู้วิจัยเลือกเทคนิคอณูโมเลกุลและชีวสารสนเทศในการประเมินคุณสมบัติของเชื้อไวรัสและอนุพันธ์ โดย ศึกษาลำดับนิวคลีไทด์ ลำดับกรดอะมิโน โครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ของส่วนที่ไม่มีการแปลรหัส (Untranslated region, UTR) ร่วมกับตำแหน่ง B-cell epitopes ผลการศึกษาพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายพันธุ์ 16562-Vero 33 มีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด บริเวณส่วนโครงสร้างที่ไม่ใช่โปรตีนตำแหน่งที่ 5 (Non-structural, NS 5) ส่งผลทำให้รหัสของกรดอะมิโนทริปโตเฟนที่ตำแหน่ง 3349 เปลี่ยนเป็นรหัสหยุด การเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์พบในบริเวณ ส่วนที่ไม่มีการแปลรหัส (UTR) ตำแหน่ง $5'$, เมมเบรน (Pre-membrane, prM), เปลือก (Envelope, E), ส่วนโครงสร้างที่ไม่ใช่โปรตีน (NS)1, 2A, 3, และ ส่วนที่ไม่มีการแปลรหัส (UTR) ตำแหน่ง $3'$ ซึ่งได้แก่ 4, 1, 2, 2, 1, 3 และ 2 ตามลำดับ โครงสร้างทุติยภูมิส่วนที่ไม่มีการแปลรหัส (UTR) ตำแหน่ง $5'$ของ สายพันธุ์ 16562 Vero 33 มีความแตกต่างจากสายพันธุ์พ่อแม่ และสายพันธุ์ 16562 Vero 23 ในขณะที่ โครงสร้างทุติยภูมิส่วนที่ไม่มีการแปลรหัส (UTR) ตำแหน่ง $3'$ของ สายพันธุ์ 16562 Vero 33 มีโครงสร้างที่คล้ายกับสายพันธุ์พ่อแม่ แต่แตกต่างจากสายพันธุ์ 16562 Vero 23 นอกจากนี้ ในการทำนาย B-cell epitopes แสดงให้เห็นว่าส่วนเปลือกของไวรัสประกอบด้วย epitopes จำนวน 21 ตำแหน่ง โดยตำแหน่งที่ 297-309 มีความสำคัญ เนื่องจากเป็นส่วนโดเมน(domain) III ของส่วนเปลือก ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการสร้างแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ (neutralizing antibody) แสดงให้เห็นว่า การเปลี่ยนแปลงรหัสของกรดอะมิโนในบริเวณ 5'UTR, 3'UTR, และ NS5 ส่งผลทำให้เชื้อไวรัสเกิดการอ่อนฤทธิ์

ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ลายมือชื่อนักศึกษา..... ปีการศึกษา 2557
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์1.....2.....

Acknowledgements

I would like to express my deepest and sincere gratitude to my major advisor, Assistant Professor Dr. Jundee Rabablert, Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University for her continuous and constructive guidance and advice throughout the course of study.

I also would like to express my appreciation to my co-advisor Professor Dr. Sutee Yoksan for giving me a good advice and be guidance for experiment, suggestions and comments.

I would like to express my appreciation to Assistant Professor Dr. Kullanart Obsuwan for her kindness, valuable suggestions and comments.

I would like to special thank Dr. Charung Muangchana, who was the external examiner of my thesis defense for his kindness, willingness, valuable suggestions and comments.

Finally, I would like to express my deepest appreciation to my family for their love, cheerfulness, helpful, understanding, support, guidance and encouragement throughout my life.