

**ANALYSIS OF HIV-1 UNCOATING IN DIFFERENT CELL  
TYPES AND EFFECT OF CAPSID PHOSPHORYLATION ON  
UNCOATING**

**PATHAWUT WACHARAPORNIN**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY  
(MEDICAL MICROBIOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2006**

**ISBN 974-04-6898-5**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การศึกษาวิเคราะห์กระบวนการ UNCOATING ของเชื้อเอชไอวี-1 ในเซลล์ชนิดต่างๆ และผลของการ PHOSPHORYLATION ของโปรตีน CAPSID ต่อการ UNCOATING (ANALYSIS OF HIV-1 UNCOATING IN DIFFERENT CELL TYPES AND EFFECT OF CAPSID PHOSPHORYLATION ON UNCOATING)

ปราวุฒิ วัชรภรณ์ 4437262 SIMM/D

ปร. ด. (จุลชีววิทยาการแพทย์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ประเสริฐ เอื้อวรากุล, พ.บ., Dr.Med., สุดา ลุขศิริโรจนกุล, Ph.D., วรณี กัญฐกมลกุล, Ph.D., โกวิท พัฒนาปัญญาสัตย์, Ph.D.

#### บทคัดย่อ

Uncoating เป็นกระบวนการหนึ่งที่ต้องเพิ่มจำนวนของไวรัส ความรู้เกี่ยวกับการ uncoating ของเชื้อเอชไอวี-1 ในปัจจุบันยังมีอยู่อย่างจำกัด แบบจำลองการ uncoating ซึ่งใช้ในการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการ uncoating สามารถเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพใน activated CD4+ lymphocyte แต่ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ใน quiescent CD4+ lymphocyte การ uncoating มีความสัมพันธ์กับการกระตุ้นให้การ reverse transcription เกิดได้สมบูรณ์ การเปลี่ยนกรดอะมิโนของโปรตีน capsid จาก serine ไปเป็น alanine ที่ตำแหน่งสำคัญสำหรับการ phosphorylation ทำให้ความสามารถในการ uncoating ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ความแข็งแรงของ core particle ก็ลดลงด้วย แสดงว่าการลดลงของความสามารถในการ uncoating ไม่ได้เกิดจากความแข็งแรงทางกายภาพของ core particle ที่เพิ่มขึ้น การเลียนแบบผลของประจุลบของ serine ที่ถูก phosphorylation โดยการเปลี่ยนกรดอะมิโนจาก serine ไปเป็น aspartic acid ไม่สามารถช่วยในการ uncoating และการติดเชื้อมีประสิทธิภาพเหมือนเดิม การยับยั้งการทำงานของหน่วยย่อยที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ cAMP-dependent protein kinase (PKA) ที่ถูกบรรจุเข้ามากับอนุภาคไวรัสทำให้ความสามารถในการ uncoating ลดลงเล็กน้อย ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการ uncoating ของเชื้อเอชไอวี-1 ต้องการส่วนประกอบที่จำเป็นจากเซลล์ซึ่งขึ้นกับสถานะที่เซลล์ถูกกระตุ้นและการ phosphorylation ของโปรตีน capsid

112 หน้า. ISBN 974-04-6898-5

ANALYSIS OF HIV-1 UNCOATING IN DIFFERENT CELL TYPES AND EFFECT OF CAPSID PHOSPHORYLATION ON UNCOATING

PATHAWUT WACHARAPORNIN 4437262 SIMM/D

Ph.D. (MEDICAL MICROBIOLOGY)

THESIS ADVISORS: PRASERT AUEWARAKUL, M.D., Dr.Med., SUDA LOUISIROTCHANAKUL, Ph.D., WANNEE KANTAKAMALAKUL, Ph.D., KOVIT PATTANAPANYASAT, Ph.D.

ABSTRACT

Uncoating is an essential step in the viral replication cycle. Little is known about the mechanism and requirement of HIV uncoating. Using an *in vitro* uncoating model, this study demonstrated that the uncoating of HIV-1 was efficiently induced by lysate from activated CD4<sup>+</sup> lymphocytes, while quiescent CD4<sup>+</sup> lymphocyte lysate was unable to uncoat HIV-1 core. The uncoating activity was associated with an induction of *in vitro* reverse transcription of the viral genome. Serine-to-alanine mutation at each residue of the three major phosphorylation sites of HIV-1 capsid protein could significantly reduce the uncoating activity. Core stability of the mutants was lower than that of the wild-type virus so that the lack of efficient uncoating of each mutant could not be due to an increase in capsid physical stability. Serine-to-aspartic acid mutation to mimic the negative charge of phosphor-serine could not restore either uncoating activity or infectivity. Suppression of virion-associated catalytic subunit of cAMP-dependent protein kinase (C-PKA) activity could slightly lower the uncoating activity. Taken together, these results suggested a requirement of cellular activation-dependent factors and capsid protein phosphorylation for HIV-1 uncoating.

KEY WORDS : HIV-1/ UNCOATING/ LYMPHOCYTE/ QUIESCENT CELL/  
CAPSID/ PHOSPHORYLATION

112 P. ISBN 974-04-6898-5