ความชุกและการจำแนกยีนโพลีเมอเรสของลิมโฟคริพโตไวรัสในชะนี

นางสาวปิรยา ภักดีวิโรจน์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-53-1650-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PREVALENCE AND CHARACTERIZATION OF POLYMERASE GENE OF GIBBON LYMPHOCRYPTOVIRUS

Miss Piraya Phakdeewirot

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medical Science
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2004

ISBN 974-53-1650-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความชุกและการจำแนกยีนโพลีเมอเรสของลิมโฟคริพโตไวรัสในชะนี
โดย	นางสาวปิรยา ภักดีวิโรจน์
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ศาสตราจารย์นายแพทย์ยง ภู่วรวรรณ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ นสพ. ดร. คณิศักดิ์ อรวีระกุล
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วนิดา นพพรพันธุ์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์นายแพทย์ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ภาวพันธ์ ภัทรโกศล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศาสตราจารย์ นพ. ยง ภู่วรวรรณ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ นสพ. ดร. คณิศักดิ์ อรวีระกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วนิดา นพพรพันธุ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นสพ. ดร. อลงกร อมรศิลป์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปิรยา ภักดีวิโรจน์ : ความชุกและการจำแนกยีนโพลีเมอเรสของลิมโฟคริพโตไวรัสในชะนี (PREVALENCE AND CHARACTERIZATION OF POLYMERASE GENE OF GIBBON LYMPHOCRYPTOVIRUS) อ. ที่ปรึกษา : ศ.นพ.ยง ภู่วรวรรณ, อ. ที่ปรึกษาร่วม รศ. นสพ. ดร. คณิศักดิ์ อรวีระกุล, ผศ. ดร. วนิดา นพพรพันธุ์, 149 หน้า. ISBN 974-53-1650-4.

ลิมโฟคริพโตไวรัส (Lymphocryptovirus: LCV) เป็นไวรัสในจีนัส *gammaherpesvirinae* ที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ LCV ที่ถูกค้นพบในชะนีมีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับ Epstein-Barr virus (EBV) ซึ่งเป็นไวรัสที่ก่อโรคในคน โดยไวรัสทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะทางชีววิทยาร่วมกันและมีรูปแบบการกระจายของเชื้อใกล้เคียงกัน จากการศึกษาความชุกและการจำแนกเชื้อ LCV ในชะนีจำนวน 70 ตัว ประกอบด้วย ชะนีมือขาว 51 ตัว ชะนีมงกุฎ 18 ตัวและชะนีมือดำ 1 ตัว โดยได้ทำการตรวจหาเชื้อ LCV จาก PBMC ของชะนีด้วยวิธี semi-nested PCR ที่ใช้ primer ต่อส่วนโพลีเมอเรสยีนของ LCV พบว่าชะนีมีอัตราการติดเชื้อ LCV ทั้งสิ้น 64 ตัวจากทั้งหมด 70 ตัว คิดเป็น 91.4% และทำการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนโพลีเมอเรสยีนของ LCV จากนั้นจึงใช้โปรแกรม BLAST เพื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนใน GenBank พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนโพลีเมอเรสยีนของ LCV มีความใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนโพลีเมอเรสยีนของ EBV ถึง 82% และมีลำดับกรดอะมิโนใกล้เคียงกับ EBV 92% และจากการสร้าง phylogenetic tree เพื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโดไทด์ของ LCV นั้น พบว่าLCV ของชะนีมีการแยกกลุ่มออกจาก LCV ของ primate ชนิดอื่นอย่างชัดเจนแต่ถึงอย่างไรก็ยังมีลักษณะที่ใกล้เคียงกับกลุ่ม primate อยู่มาก ดังนั้นจากการจำแนกเชื้อ LCV ในกลุ่มของชะนีหรือ nonhuman primate จะช่วยอธิบายถึงความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการของเชื้อไวรัสในจีนัส *gammaherpesvirinae* และเป็นพื้นฐานของการศึกษาเชิงพยาธิสภาพของเชื้อไวรัสต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์……..ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา……..2547……ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4674747030 : MAJOR MEDICAL SCIENCE
KEYWORD : GIBBON / HYLOBATES / HERPESVIRUS / LYMPHOCRYPTOVIRUS / POLYMERASE GENE / PHYLOGENETIC TREE

PIRAYA PHAKDEEWIROT : PREVALENCE AND CHARACTERIZATION OF POLYMERASE GENE OF GIBBON LYMPHOCRYPTOVIRUS. THESIS ADVISOR : PROF. YONG POOVORAWAN, MD., THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. KANISAK ORAVERAKUL, DVM. Ph.D., ASST. PROF. VANIDA NOPPONPUNTH, Ph.D., 149 pp. ISBN 974-53-1650-4.

Lymphocryptovirus (LCV), an infectious agent of global distribution, is found in various non-human primates. As a herpesvirus inherently infecting gibbons it is closely related to human Epstein-Barr virus (EBV) with which it shares considerable genetic, biologic and epidemiologic features. In order to investigate its seroprevalence and molecular characterization we collected blood samples from 70 gibbons (51 *Hylobates lar*, 18 *Hylobates pileatus* and 1 *Hylobates agilis*) for further separation into peripheral blood mononuclear cells (PBMC). Sixty-four from seventy (91.4%) PBMCs yielded the partial LCV DNA polymerase gene by semi-nested PCR as a 416-bp product, which we subjected to direct sequencing and comparison with nucleotide sequences stored in GenBank applying the BLAST program. All sequences showed 82% nucleic acid and 92% amino acid identity to human EBV. Phylogenetic tree analysis demonstrated gibbon LCVs clustered separately from other *gammaherpesvirinae* but closely related to LCV of other species. Further characterization of nonhuman primate LCV might thus provide new insight into both evolution and pathogenicity of *gammaherpesvirinae*.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Field of study….Medical science……. Student's signature.....
Academic year……. 2004……..Advisor's signature.....
Co-advisor's signature.....
Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยขอบคุณศาสตราจารย์นายแพทย์ยง ภู่วรวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้โอกาสในการศึกษาต่อในระดับปริญญาโท และได้ทำการศึกษาวิจัยในห้องปฏิบัติการที่เพียบพร้อม และที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้ความรู้และข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ นสพ. ดร. คณิศักดิ์ อรวีระกุลและผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วนิดา นพพรพันธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจนช่วยตรวจสอบแก้ไข ข้อบกพร่องวิทยานิพนธ์ในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความรู้จนสำเร็จการศึกษาในระดับมหาบัณฑิต

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในศูนย์เชี่ยวชาญพิเศษหน่วยวิจัยไวรัสตับอักเสบ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ ความรู้ ตลอดจนคำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างมากในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่บัณฑิตศึกษา คณะแพทยศาสตร์ ที่กรุณาช่วยเหลือ ให้คำแนะนำตลอดจนดำเนินการด้านทะเบียนและประมวลผลการศึกษาตั้งแต่แรกเข้าศึกษากระทั่งสำเร็จการศึกษา

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณครอบครัว และนายสากล บู่ทอง เป็นอย่างยิ่งที่ให้โอกาสในการศึกษาต่อในระดับปริญญาโท ให้ความรักและเป็นกำลังใจจนสำเร็จในการศึกษาครั้งนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ฌ
สารบัญภาพ.....ญ
คำย่อ.....ฏ
บทที่ 1 บทนำ.....1
- วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....2
- ขอบเขตของการวิจัย.....3
- ข้อจำกัดของการวิจัย.....4
- คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....4
- คำสำคัญ.....4
- ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....5
- อนุกรมวิธานของเชื้อ Herpesvirus.....5
- วงชีวิตของ LCV.....6
- อาการแสดงและพยาธิสภาพการติดเชื้อใน genus Lymphocryptovirus.....8
- การค้นพบ LCV.....8
- วิธีการตรวจเพื่อวินิจฉัยเชื้อ LCV.....11
- ชะนี.....13
- ถิ่นกำเนิดของชะนี.....14
- ชะนีในประเทศไทย.....15
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....18
- รูปแบบการวิจัย.....18
- ประชากรศึกษา.....18
- การเก็บตัวอย่าง.....18
- เครื่องมือและวัสดุที่ใช้ในการวิจัย.....19

หน้า

- สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย.....20
- วิธีการดำเนินการวิจัย.....21
- การวิเคราะห์ข้อมูล..... 31

บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 33

- ผลการทดสอบความจำเพาะของ primer ต่อเชื้อไวรัสใน Family *Herpesviridae*.....34
- ผลจากการตรวจกรองการติดเชื้อ LCV ในส่วน *pol* gene.....34
- ผลของการเพิ่มจำนวน Internal control..... 35
- ผลของการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV ในส่วน *pol* gene..... 37
- Phylogenetic analysis.....41
- ลำดับกรดอะมิโนของ LCV ในส่วน *pol* gene.....45

บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....51

รายการอ้างอิง.....54

ภาคผนวก.....58

ภาคผนวก ก..... 59

ภาคผนวก ข.....60

ภาคผนวก ค.....61

ภาคผนวก ง.....63

ภาคผนวก จ..... 84

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....149

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงการแบ่งกลุ่มไวรัสใน Family *Herpesviridae*	6
2	แสดงรายละเอียดของ primer แต่ละเส้น	27
3	แสดงส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR เพื่อเพิ่มจำนวน DNA ของ LCV ในส่วน *pol* gene และ GAPDH gene	28
4	แสดงอุณหภูมิและเวลาของการทำ PCR ของ LCV ในส่วน *pol* gene และ GAPDH	28
5	แสดงส่วนผสมของสารที่ใช้ในการทำ cycle sequencing	29
6	แสดงผลสรุปจากการตรวจกรองเชื้อ LCV ในส่วน pol gene ใน PBMC ของชะนีโดยวิธี semi-nested PCR	36
7	แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ของ primate lymphocryptovirus จาก GenBank ที่ใช้สร้าง phylogenetic tree	41
8	แสดงตัวอย่างการเปรียบเทียบ %nucleotide identity ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ nonhuman primate LCV และ EBV	43
9	แสดงสรุปผลการเปรียบ %nucleotide identity ระหว่าง LCV ของชะนีที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับ LCV ของ nonhuman primate และ EBV	44
10	แสดงตัวอย่างการเปรียบเทียบ %amino acid identity ของลำดับกรดอะมิโนในส่วน *pol* gene ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับลำดับกรดอะมิโนของ nonhuman primate LCV และ EBV	48
11	แสดงสรุปผลการเปรียบ %amino acid identity ระหว่าง LCV ของชะนีที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับ LCV ของ nonhuman primate และ EBV	49
12	แสดงการแปลงนิวคลีโอไทด์ 3 ตัวเป็นกรดอะมิโน1 ตัว	60

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงโครงสร้างระดับโมเลกุลของไวรัส	5
2	แสดงวงชีวิตของ LCV	7
3	แสดงอนุกรมวิธานของ primate	10
4	แสดง consensus degenerate primer	12
5	แสดงการทำ PCR โดยใช้ consensus degenerated primer	12
6	แสดงถิ่นที่อยู่ของชะนี	14
7	แสดงชะนีมือขาว	15
8	แสดงชะนีมงกุฎ	16
9	แสดงชะนีมือดำ	17
10	แสดงขั้นตอนการสกัด DNA	25
11	แสดงขั้นตอนการตกตะกอนผลผลิตที่ได้จากการเข้า cycle sequencing	30
12	แสดงผลผลิตขนาด 416 bp ที่ได้จากการทำ semi-nested PCR ของ LCV ในส่วน *pol* gene	34
13	แสดงผลผลิตขนาด 199 bp ที่ได้จากการทำ PCR ของ GAPDH gene	35
14	แสดงตัวอย่างผลการ BLAST ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ของ LCV ชะนี	37
15	แสดงตัวอย่างของ chromatogram จากการใช้ primer LCV F1	38
16	แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ของ LCV ชะนีทั้ง 64 ตัวอย่างกับลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิงจาก GenBank	40
17	แสดง unrooted phylogenetic tree จากส่วน *pol* gene ของ LCV ในชะนี เปรียบเทียบกับ LCV ใน nonhuman primate และ EBV	46
18	แสดงตัวอย่างผลการ BLAST ลำดับกรดอะมิโนในส่วน *pol* gene ของ LCV ชะนี	42
19	แสดงลำดับกรดอะมิโนของ LCV ในส่วน *pol* gene ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ เปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของ nonhuman primate และ EBV	47

คำย่อ

คำย่อ	ความหมาย
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
bp	Base pair
DNA	Deoxyribonucleic acid
dNTP	Deoxyribonucleotide triphosphate
EBV	Epstein-Barr virus
EBNA	Epstein-Barr virus nuclear Antigen
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EtOH	Ethanol
GAPDH	Glyceraldehydes-3-phosphatedehydrogenase
HBV	Hepatitis B virus
HHV-4	Human herpesvirus 4
IAA	Isoamyl
IFA	Indirect immunofluorescence assay
IgG	Immunoglobulin
IM	Infectious mononucleosis
LCV	Lymphocryptovirus
ml	Milliliter
NaOAc	Sodium acetate
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
pol	Polymerase
PCR	Polymerase Chain Reaction
pmol	Picomol
SIV	Simian Immunodeficiency Virus
Tm	melting temperature
µl	Microliter
VCA	Viral Capsid Antigen

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Herpesvirus เป็นไวรัสที่ทำให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์เป็นจำนวนมาก จัดอยู่ใน family *Herpeviridae* มีจีโนมเป็น DNA สายคู่และเป็นสายตรง DNA ยาวประมาณ 124-235 kbp โดยมีการแยก subfamily ออกได้เป็น *Alpha-*, *Beta-* และ *Gammaherpesvirinae* โดยที่ subfamily *gammaherpesvirinae* ประกอบด้วย genus *Lymphocryptovirus* (LCV) และ *Rhadinovirus* (RV) สำหรับ LCV ในคนคือ Epstein-Barr virus (EBV) หรือ human herpesvirus 4 (HHV-4) เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรค Infectious mononucleosis (IM) และมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งในคน เช่น Burkitt's lymphoma, nasopharyngeal carcinoma, B-cell lympho proliferative disorder, Hodgkin's disease และ gastric carcinoma **(1)** การติดเชื้อ EBV เริ่มต้นโดยผ่านทางน้ำลายและไวรัสจะเพิ่มจำนวนได้ดีที่บริเวณ oropharyngeal epithelial cell แล้วจะเข้าไปทำให้เกิดการติดเชื้อใน B cell โดยผ่านทาง oropharynx เป็นผลให้เกิดการติดเชื้อแบบแอบแฝงใน B cell (latent infection) และเพิ่มจำนวนเป็นบางครั้งในปริมาณน้อยที่ orophaynx **(2)** การติดเชื้อ EBV ในระยะ latent infection นี้ โดยทั่วไปจะไม่แสดงอาการ แต่สามารถพัฒนาไปสู่การเพิ่มจำนวนของ lymphocyte (lymphoproliferation) และเจริญไปเป็นมะเร็งได้ (lymphoma) หากผู้ป่วยนั้นอยู่ในสภาวะการกดภูมิคุ้มกัน ภาวะพร่องภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (congenital immuno deficiencies) การได้รับยากดภูมิคุ้มกันหลังจากการทำปลูกถ่ายเนื้อเยื่อหรือติดเชื้อ HIV **(3)**

ปัจจุบัน lymphocryptovirus ในสัตว์ตระกูลต่างๆมีความเกี่ยวพันธ์กันจากการศึกษา phylogenetic analysis ทำให้ทราบว่าไวรัสในกลุ่มนี้มีความเชื่อมโยงกันและสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ เช่น ในอุรังอุตัง มีการติดเชื้อ gammaherpesvirus ที่คล้ายกับ EBV ในคน และมีการศึกษาถึง LCV ในลิงชนิดอื่นอีก เช่น ลิงบาบูน ลิงแสม ลิง marmoset ลิง cynomolgus และลิง macaque **(4, 5, 6)**

ในชะนีไทยสามารถตรวจพบ IgG antibody ต่อเชื้อ HSV-1 HSV-2 CMV และ EBV ได้ร้อยละ 28.2 28.2 17.9 และ14.1 ตามลำดับ **(7)** อย่างไรก็ตามการตรวจดังกล่าวเป็นการตรวจโดยวิธี ELISA โดยใช้น้ำยาที่ใช้ตรวจหา herpesvirus ในคน ทำให้เชื่อว่า herpesvirus ที่อยู่ในสัตว์จำพวก nonhuman primates น่าจะมีการ cross reactivity กับ herpesvirus ในคนได้

ลิงโลกเก่า (The Old World nonhuman primate) เช่นลิงชิมแปนซี, ลิงอุรังอุตัง ชะนี รวมทั้งคนด้วย และลิงโลกใหม่ (The New World monkey) เช่น ลิง mamosets ลิง tamarine ลิง

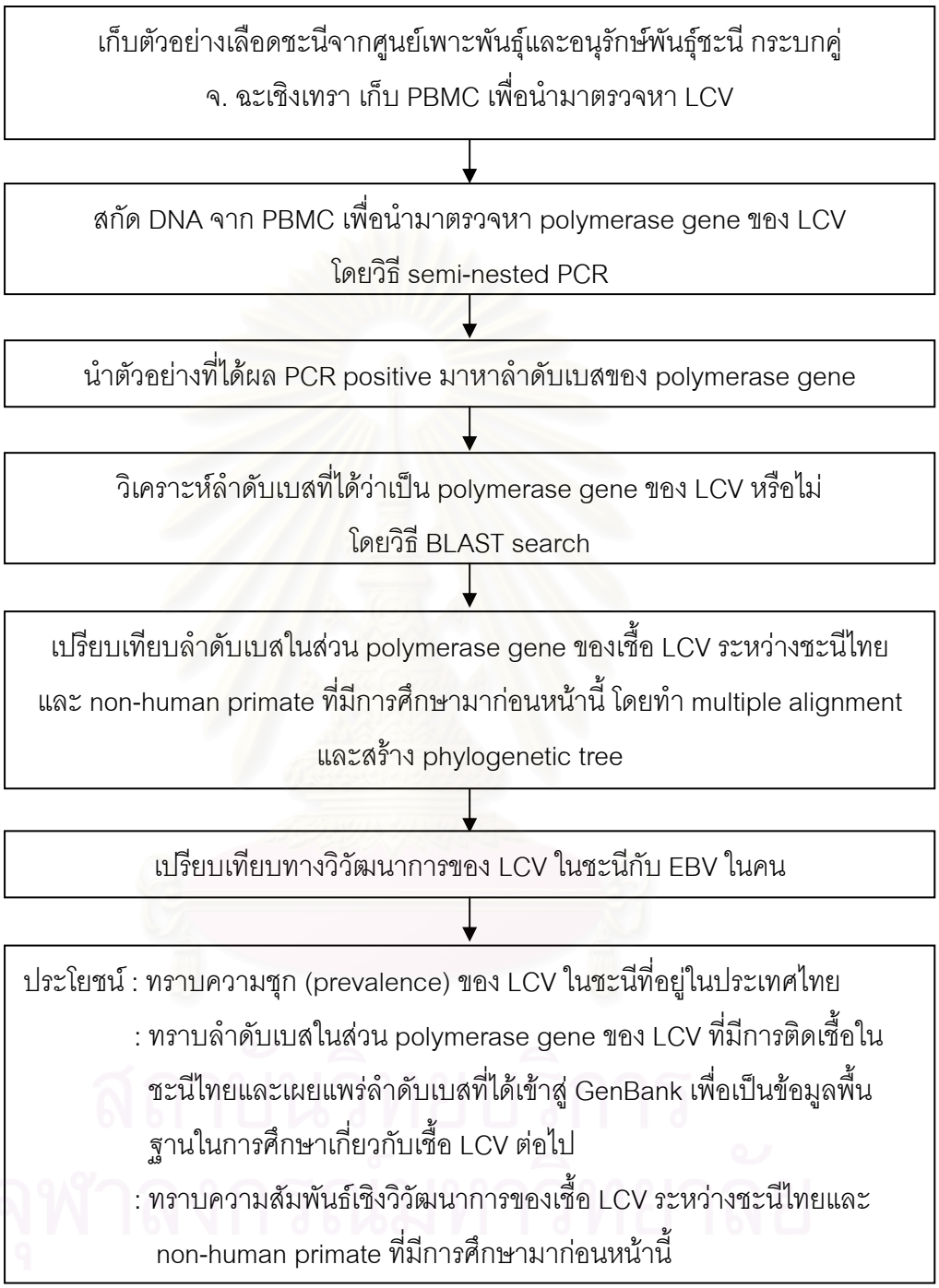
squirrel โดยทั่วไปจะมีการติดเชื้อ herpesviruses ใน subgroup เดียวกันกับ EBV คือ LCV subgroup ซึ่งมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับไวรัส EBV ในคนเป็นอย่างมาก โดย genome จะเป็น homologous กันและมีคุณลักษณะทางชีววิทยาร่วมกัน (2) เชื่อว่าไวรัสทั้งสองหรือในกลุ่มนี้น่าจะมีสายวิวัฒนา การร่วมกัน การติดเชื้อ EBV พบได้มากในกลุ่มวัยเจริญพันธุ์ มีการติดเชื้อในกระแสเลือดและบริเวณ oropharynx ตลอดชีวิตและ LCV สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งในลิงที่อยู่ในภาวะกดภูมิคุ้มกันได้ (2, 3) เช่น ในลิง marmoset (8) เมื่อ LCV-infected B cell ในกระแสเลือดแล้ว จะมี antibody ใน serum ตลอดชีวิต antibody นี้สามารถเกิด cross react กับ EBV antigen และสามารถนำมาใช้จำแนกการติดเชื้อ LCV ในลิงได้ (9)

LCV ในสัตว์โดยเฉพาะในกลุ่มลิงไม่มีหาง (Apes) ซึ่งได้แก่ ลิงชิมแพนซี กอริลลา อุรังอุตัง ชะนีและคน ไวรัสในกลุ่มนี้จะใกล้เคียงกับ EBV ในคนมากแต่ข้อมูลเกี่ยวกับ genome ของ LCV ในชะนียังไม่มีรายละเอียดที่แน่ชัด ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาแรกที่จะทำให้ทราบรายละเอียดดังกล่าว และเพื่อจะได้ข้อมูลที่เป็นไวรัสชนิดใหม่ (Novel virus) การศึกษาเพื่อหาลำดับเบสของ LCV ในชะนี โดยเฉพาะในส่วน polymerase gene (*pol* gene) จะทำให้ทราบลำดับวิวัฒนาการที่ถูกต้องชัดเจนขึ้น เนื่องจากเป็นส่วนที่มีความ conserve ที่เหมาะสม นอกจากนี้การศึกษาข้อมูลพื้นฐานการติดเชื้อ LCV ในชะนีจะเป็นประโยชน์ที่สามารถนำมาประยุกต์เป็น animal model เพื่อเป็นแบบจำลองการติดเชื้อ EBV ในคนได้เป็นอย่างดี เนื่องจากชะนีมีวิวัฒนาการใกล้เคียงกับคนมากกว่าลิงชนิดอื่นๆที่มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และลักษณะสายพันธุ์ของ Herpesvirus โดยเฉพาะ LCV ที่อยู่ในชะนียังไม่มีข้อมูล

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. จำแนก (characterize) ยีนโพลีเมอเรสของ LCV ที่มีการติดเชื้อในชะนีไทย
2. เปรียบเทียบความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ LCV ในยีนส่วนโพลีเมอเรสระหว่างชะนีไทยและ non-human primate และ gammaherpesvirus ในคน ที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้
3. ศึกษาความชุก (prevalence) ของ LCV ในชะนีที่อยู่ในประเทศไทย

ขอบเขตของการวิจัย



ข้อจำกัดของการวิจัย

ปริมาณ PBMC มีอย่างจำกัด อาจไม่เพียงพอต่อการทำซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลอง

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

Molecular characterization คือ การศึกษาจำแนกลำดับเบสในส่วน polymerase gene ระหว่าง LCV ในชะนีไทย รวมถึงศึกษาลำดับของกรดอะมิโนที่เปลี่ยนไปหากพบความแตกต่างของลำดับเบส

คำสำคัญ

Gibbon

Hylobates

Herpesvirus

lymphocryptovirus

Polymerase gene

Phylogenetic tree

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เนื่องจากยังไม่มีข้อมูลดังกล่าวในไวรัส LCV ในชะนี ดังนั้นการหาไวรัสนี้จึงเป็นเรื่องใหม่ โดยจะมีประโยชน์ดังนี้

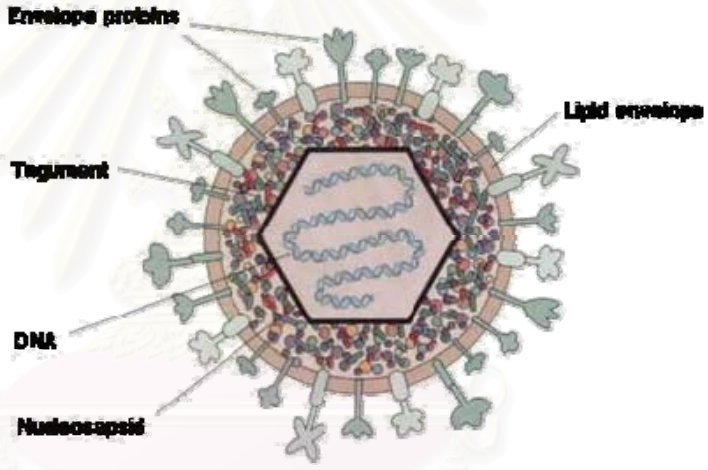
1. ทราบถึงอุบัติการณ์การติดเชื้อ LCV ในชะนีที่อยู่ในประเทศไทย
2. ทราบลำดับเบสในส่วน polymerase gene ของ LCV ที่มีการติดเชื้อในชะนีไทย
3. ทราบถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในส่วน polymerase gene ของเชื้อ LCV ระหว่างชะนีไทยและ non-human primate ที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้
4. เผยแพร่ลำดับเบสที่ได้เข้าสู่ GenBank เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อ LCV ต่อไปในอนาคต โดยเฉพาะถ้ามีการติดเชื้อไวรัสข้ามสายพันธุ์หรือข้าม host หรือโรคอุบัติใหม่ (emerging) ข้ามมายังมนุษย์
5. เป็นข้อมูลส่วนหนึ่งในการพิจารณาเลือก animal model ที่จะนำมาทำการศึกษาการติดเชื้อ LCV ใน non-human primate เพื่อเป็นแบบอย่างเปรียบเทียบการติดเชื้อ EBV ในคนต่อไปในอนาคต

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อนุกรมวิธานของเชื้อ Herpesvirus

Herpesvirus เป็นไวรัสที่ทำให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์เป็นจำนวนมาก จัดอยู่ใน family *Herpeviridae* มีจีโนมเป็น DNA สายคู่และเป็นสายตรง DNA ยาวประมาณ 124-235 kbp บรรจุอยู่ภายใน Icosahedral capsid และมี envelope ห่อหุ้มภายนอก ดังรูปที่ 1 ไวรัสในกลุ่มนี้สามารถแยกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ *Alpha- Beta-* และ *Gammaherpesvirinae* (ตารางที่ 1) ลักษณะร่วมของไวรัสในกลุ่มนี้คือ เมื่อติดเชื้อแล้ว เชื้อจะหลบซ่อนอยู่ในร่างกายได้ตลอดไป



รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างระดับโมเลกุลของไวรัส

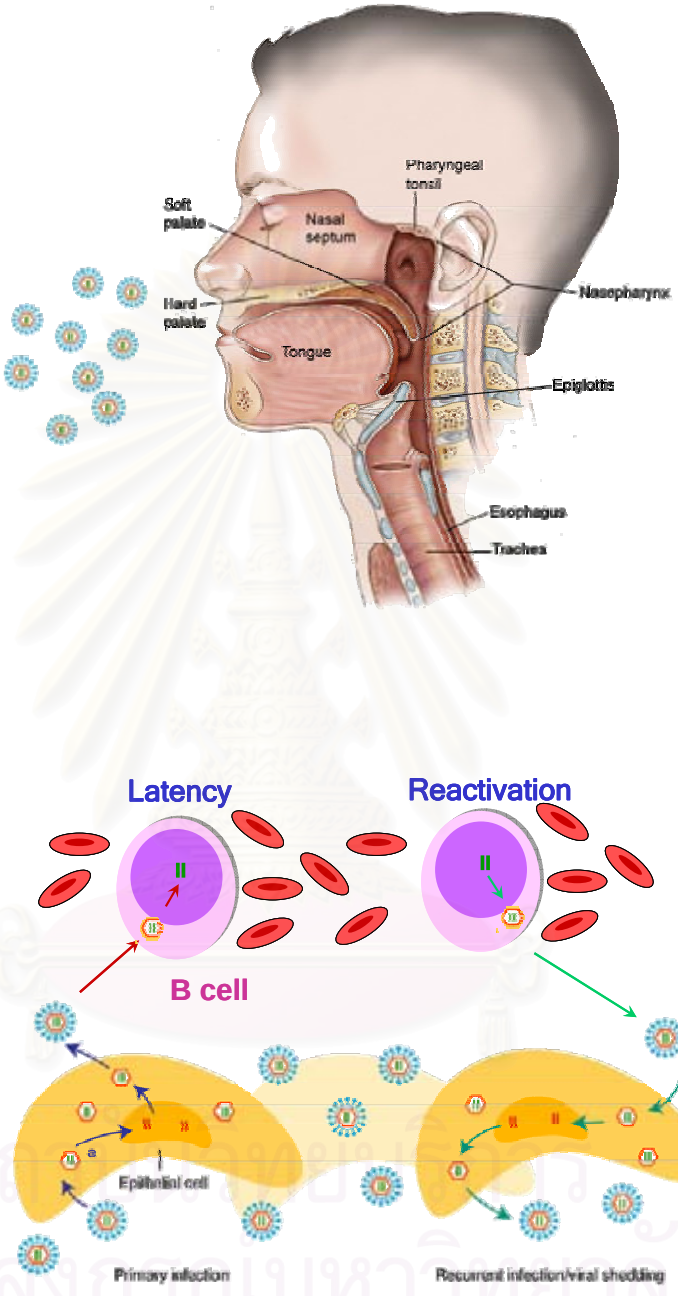
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 แสดงการแบ่งกลุ่มไวรัสใน Family *Herpesviridae*

ชื่อไวรัส	คำย่อ	ทำให้เกิดโรค
subfamily *Alphaherpesvirinaes*		
genus *Simplexvirus*		
- Herpes simplex virus 1	HSV-1	แผลที่ปาก ตา บริเวณเหนือเอวขึ้นมา
- Herpes simplex virus 2	HSV-2	โรคเริม แผลบริเวณต่ำกว่าเอว อวัยวะสืบพันธุ์
genus *varicellovirus*		
- Varicella-Zoster virus	VZV	อีสุกอีใส งูสวัด
subfamily *Betaherpesvirinae*		
genus *Cytomegalovirus*		
- Human cytomegalovirus	CMV, HHV-5	infectious mononucleosis
genus *Roseorovirus*		
- Human herpesvirus-6	HHV-6	ไข้ออกผื่นในเด็ก
- Human herpesvirus-7	HHV-7	ไข้ออกผื่นในเด็ก
subfamily *Gammaherpesvirinae*		
genus *Lymphocryptovirus*		
- Epstein-Barr virus	EBV, HHV-4	มะเร็งโพรงหลังจมูก มะเร็งต่อมน้ำเหลือง ฯลฯ
- Simian lymphocryptovirus	LCV	เป็น cofactor ในการเกิดมะเร็งในลิง
genus *Rhadinovirus*		
- Human herpesvirus-8	HHV-8	Karposi's sarcoma
- Simian rhadinovirus	RV	ก่อโรคเหมือน Karposi's sarcoma ในคน

วงชีวิตของ LCV

การติดเชื้อ LCV ของชะนีซึ่งเป็นไวรัสในจีนัสเดียวกันกับ EBV ของคนมีความคล้ายกัน โดยเริ่มต้นติดต่อกันโดยผ่านทางน้ำลายและไวรัสจะเพิ่มจำนวนได้ดีที่บริเวณเซลล์เยื่อบุผิวคอหอยของช่องปาก แล้วจะเข้าไปทำให้เกิดการติดเชื้อในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด บี โดยผ่านทางเยื่อบุผิวคอหอยของช่องปาก (oropharynx) เป็นผลให้เกิดการติดเชื้อแบบแอบแฝงในเม็ดเลือดขาวชนิด บี (latent infection) และเพิ่มจำนวนเป็นบางครั้งในปริมาณน้อยที่บริเวณคอหอย **(2)** (รูปที่ 2) การติดเชื้อในระยะ latent infection นี้ โดยทั่วไปจะไม่แสดงอาการ แต่สามารถพัฒนาไปสู่การเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์และเจริญไปเป็นมะเร็งได้ หากผู้ป่วยนั้นอยู่ในสภาวะถูกกดภูมิคุ้ม กัน ภาวะพร่องภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (congenital immunodeficiencies) การได้รับยากดภูมิคุ้มกันหลังจากการทำปลูกถ่ายเนื้อเยื่อหรือติดเชื้อ HIV **(3)**



รูปที่ 2 แสดงวงชีวิตของ LCV

อาการแสดงและพยาธิสภาพการติดเชื้อใน genus *Lymphocryptovirus*

ผู้ที่ได้รับเชื้อในวัยเด็ก ส่วนใหญ่จะไม่มีอาการ ในขณะที่ประมาณ 40% ของผู้ที่ได้รับเชื้อในวัยรุ่นหรือวัยผู้ใหญ่ จะมีอาการและอาการแสดงของ infectious mononucleosis ได้ กล่าวคือ มีไข้ เจ็บคอและมี white patch ที่ต่อมทอนซิลและคอหอย ต่อมน้ำเหลืองที่คอโตทั้งสองข้าง อาจพบตับและม้ามโต และที่สำคัญคือ พบระดับของเอนไซม์ตับสูงขึ้นได้มากกว่า 80% ของผู้ป่วย ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการและอาการแสดงทางระบบประสาทได้ เช่น การเกิดสมองอักเสบ (encephalitis) หรือสมองน้อยอักเสบ (cerebellitis) การตรวจเม็ดเลือดขาวอาจพบเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์สูงกว่าปกติ (lymphocytosis) และมี atypical lymphocyte เพิ่มขึ้นในเลือด โดยที่ atypical lymphocyte จะมีปริมาณแตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละคน ตั้งแต่แทบจะไม่พบเลย จนถึงเกือบทั้งหมดของ lymphocyte ในเลือดเป็น atypical lymphocyte เฉลี่ยแล้วพบได้ประมาณ 3% ของเม็ดเลือดขาวในเลือด **(10)**

นอกเหนือไปจาก infectious mononucleosis ซึ่งเป็นอาการแสดงของการติดเชื้ออย่างเฉียบพลันแล้ว รายชื่อโรคที่ค้นพบว่า EBV มีบทบาทเกี่ยวข้องด้วย เพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ ตลอดเวลา มีทั้งโรคที่มีความสัมพันธ์ค่อนข้างชัดเจน เช่น nasopharyngeal carcinoma และ lymphoma หลายๆ ชนิด ตลอดจนโรคที่มีการรายงานการตรวจพบยีนของ EBV ในเนื้อเยื่อแต่ต้องการการศึกษาบทบาทของเชื้อโดยละเอียดต่อไป เช่น มะเร็งเต้านม หรือ มะเร็งของกล้ามเนื้อเรียบ เป็นต้น ในกลุ่มของอาการและอาการแสดง ที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ EBV ใน lymphoid tissue นั้น แม้จะมีการแบ่งและเรียกชื่อแตกต่างกันไปหลายๆ โรคหรือกลุ่มอาการ แต่ในผู้ป่วยหลายราย อาการที่พบอาจเหลื่อมล้ำกันหรือพบกลุ่มอาการมากกว่าหนึ่งกลุ่มเป็นเวลาต่อเนื่องกันหรือในเวลาเกี่ยวกันได้ เช่น ผู้ป่วย fatal infectious mononucleosis อาจพบกลุ่มอาการของ hemophagocytic syndrome ร่วมด้วย **(11)** หรือผู้ป่วย chronic active EBV infection อาจมีอาการแสดงของ hemophagocytic syndrome ไปพร้อมๆกันและเมื่อติดตามผู้ป่วยต่อไปอาจพบว่าผู้ป่วยส่วนหนึ่งกลายไปเป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลืองได้ เป็นต้น

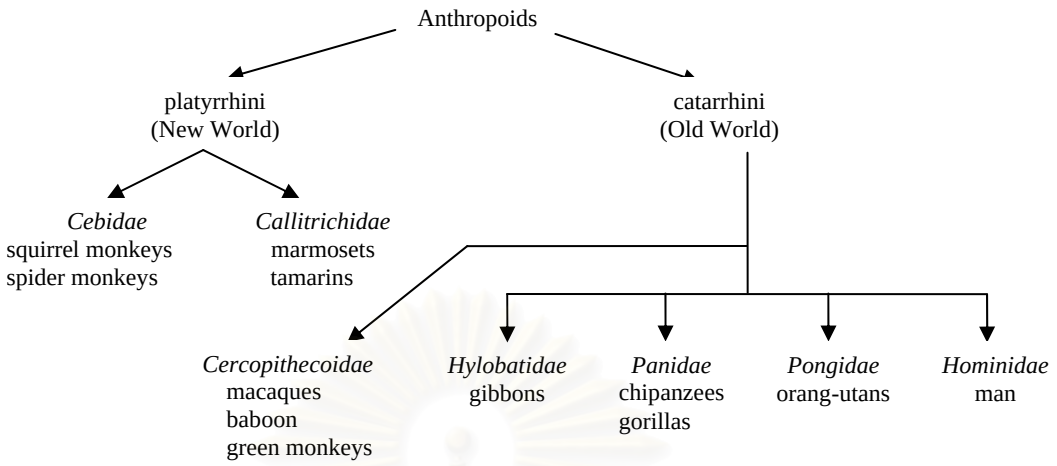
การค้นพบ LCV

ในปี 1970 พบว่า Epstein-Barr virus (EBV) ที่ติดเชื้อในลิงกลุ่ม Old World nonhuman primates มีความสัมพันธ์กับ Lymphocryptovirus (LCV) โดยผู้ทำการศึกษาค้นคว้าได้พัฒนาวิธี indirect immunofluorescence assay มาใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีในลิงกลุ่ม Old World nonhuman primate ชนิดต่างๆ ซึ่งแอนติบอดีนี้มีคุณสมบัติ cross-react ต่อแอนติเจนในส่วน capsid ของ EBV (viral capsid antigen; VCA) **(9)** แต่การตรวจหาแอนติบอดีที่ cross-react ต่อ

EBV ในลิงกลุ่ม New World primate ไม่ประสบผลสำเร็จ แสดงให้เห็นว่า LCV มีความจำเพาะต่อคนและ Old World nonhuman primate เท่านั้น ทำให้แบบแผนทางวิวัฒนาการนี้มีความแตกต่างกันอย่างมาก เมื่อเปรียบเทียบกับ Kaposi's sarcoma herpesvirus ที่มีความสัมพันธ์กับ Gammaherpesvirus ใน genus rhadinovirus ซึ่งพบในคน Old World nonhuman primates และ New World nonhuman primates รวมทั้ง non-primate ชนิดต่างๆ

การพัฒนาเซลล์มะเร็งที่ติดเชื้อ LCV จาก Old World nonhuman primate ที่มีสุขภาพดีและจากลิงที่ติดเชื้อ LCV โดยลิงตัวแรกที่มีการตรวจหา LCV คือ ลิงบาบูน ที่ Institute of Experimental Pathology, USSA Academy of Medical Science เมือง Sukhumi ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งศึกษาในช่วงต้นปี ค.ศ.1967 ที่มีการแพร่ระบาดของโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองในลิงบาบูนและยังตรวจพบ colony จากการเพาะเชื้อใน lymphoid cell line พบว่าอนุภาคของ herpesvirus มีการ cross-react ต่อ VCA ในลิงบาบูนที่เป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (9) รวมทั้งยังสามารถตรวจพบเชื้อ LCV จาก PBMC ในลิงที่มีสุขภาพดี โดยการเพาะเลี้ยงในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ติดเชื้อ LCV จากลิงอีกด้วย (12) นอกจากเซลล์มะเร็งที่ติดเชื้อ LCV จากลิงบาบูนแล้ว ยังมีการพัฒนาเซลล์มะเร็งจากเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซท์ของลิงชิมแพนซี (13) กอลิร่า (14) อุรังอุตัง (15) และลิงแสมชนิดต่างๆ (4, 16) ทั้งที่มีสุขภาพดีและที่เป็นโรคอีกด้วย ซึ่งจากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่าเซลล์มะเร็งเหล่านี้สามารถเหนี่ยวนำให้เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ชนิด บี จากลิงชนิดเดียวกันและลิงชนิดที่ใกล้เคียงกันเกิดภาวะอมตะ (Immortal) หมายความว่าในขณะที่เซลล์ทั่วไปสามารถแบ่งตัวในหลอดทดลองได้ในจำนวนรอบที่จำกัด แต่เซลล์ที่ติดเชื้อ LCV จะแบ่งตัวได้ไม่มีที่สิ้นสุด รวมทั้งยังสร้าง latent infection nuclear Antigen ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในซีรั่มของลิงเช่นเดียวกับ EBV nuclear Antigen (EBNA) แต่ความสามารถในการเกิด cross-react กับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ EBV ในซีรั่มคนได้ไม่ดี (9, 14, 16)

การติดเชื้อ LCV ใน nonhuman primates มีความคล้ายคลึงกับการติดเชื้อ EBV ในคน โดย nonhuman primates จะให้ผลแอนติบอดีต่อ VCA ในซีรั่มเป็นบวกตั้งแต่แรกเกิด เนื่องจากมีการถ่ายทอดผ่านทางแอนติบอดีของแม่ แต่หลังจาก 4-6 เดือน ผลแอนติบอดีต่อ VCA จะเป็นลบ ซึ่งส่วนใหญ่พบว่าผลแอนติบอดีต่อ VCA จะกลับมาให้ผลบวกอีกครั้งเมื่ออายุประมาณ 1 ปี แสดงให้เห็นว่ามีอัตราการติดเชื้อมีสูง แอนติบอดีที่สร้างขึ้นนี้จะคงอยู่ตลอดชีวิต ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการแยกเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด บี ที่ติดเชื้อ LCV จากเลือดของลิงสุขภาพดี และมีประโยชน์ในการตรวจหาไวรัสที่หลบซ่อนอยู่บริเวณคอหอย ทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างคนและ nonhuman primate ซึ่งเป็น host ของ LCV (17)



รูปที่ 3 แสดงอนุกรมวิธานของ primate (18)

หลังจากมีการศึกษาจีโนมของ EBV ต่อมาจึงมีผู้ทำการศึกษาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV กับ EBV พบว่า LCV มีความสัมพันธ์ร่วมกันกับ EBV (4, 5, 17) โดยพบว่าดีเอ็นเอของ EBV ทุกชิ้นส่วน มีการ cross-react กับดีเอ็นเอของ LCV จากลิงบาบูนและ ชิมแพนซีซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือน (%homology) ระหว่าง LCV กับ EBV เท่ากับ 40% เป็นที่น่าสนใจว่าตำแหน่งที่สามารถถูกตัดด้วยเอนไซม์ *BamHI E* และ *Nhet* บนส่วนที่เกิด cross-react ระหว่าง EBV และ LCVในขณะนั้นไม่ค่อยให้ความสนใจ ซึ่งทั้ง 2 ตำแหน่งนี้จะถอดรหัสให้แอนติเจนกลุ่ม latent infection nuclear Antigen 3 (EBNA-3A EBNA-3B และ EBNA-3C) และ latent infection membrane protein 1 และ 2 ต่อมาจึงได้ทำการศึกษาและแสดงให้เห็นว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ตรงตำแหน่งนี้มีความแตกต่างกันอย่างมาก

ในขณะเดียวกันได้มีการศึกษาถึงการนำ nonhuman primate มาเป็นสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาการติดเชื้อ EBV ในกลุ่ม New world primates โดยทดลองในลิง cotton-top tamarins โดยใส่เชื้อ EBV ชนิดที่สามารถพัฒนาไปเป็นมะเร็งหรือชนิดที่สามารถถูกร่างกายกำจัดได้เข้าไปในร่างกายลิง แต่ในกลุ่ม Old world primate ชนิดต่าง ๆ มีหลักฐานการทดลองเพียงเล็กน้อยที่สามารถทดลองการติดเชื้อได้สำเร็จ เช่น ในลิง rhesus และลิงชิมแพนซี เมื่อทำให้ติดเชื้อได้ด้วย EBV สายพันธุ์ B95-8 หรือ P3HR-1 (19) อย่างไรก็ตามยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าสาเหตุที่ Old World nonhuman primate ไม่ติดเชื้อจากการใส่เชื้อเข้าไป อาจมีสาเหตุมาจากการมี cross reactive กับระบบภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการติดเชื้อ LCV ตามธรรมชาติ หรือเชื้อ EBV ที่ใช้ใส่เข้าไปนั้นไม่สมบูรณ์ หรือทางที่ใส่เชื้อเข้าสู่ร่างกายลิงไม่เหมาะสม หรือความจำเพาะของชนิดของลิงต่อเชื้อ LCV ที่สามารถเหนี่ยวนำให้เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด บี เกิดภาวะอมตะ (17) ด้วยเหตุผล

ดังกล่าวจึงมีการพัฒนาสัตว์ทดลองเพื่อนำมาใช้ศึกษาพยาธิสภาพของการติดเชื้อ EBV ในสัตว์ทดลองที่อยู่ในภาวะภูมิคุ้มกันถูกกดจากการติดเชื้อ simian immunodeficiency virus (SIV) เปรียบเทียบกับการเกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองจากการติดเชื้อ EBV ในผู้ป่วย AIDS (19)

การศึกษาวิจัยใน rhesus macaques พบว่าลิงสามารถติดเชื้อ rhesus LCV โดยวิธี oral inoculation (2) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ rhesus macaques ในกลุ่มที่ติดเชื้อแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรังที่ได้รับเชื้อ LCV ตามธรรมชาติ โดยไวรัสจะแพร่กระจายทางน้ำลายและจะหลบซ่อนอยู่ในร่างกายโดยไม่แสดงอาการ แสดงให้เห็นว่ามีการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน (immunological control) ร่วมกับการหลบเลี่ยงภูมิคุ้มกันของเชื้อ LCV ในกระแสเลือด ซึ่งเหมือนกับการติดเชื้อ EBV ในคน โดยการศึกษาเหล่านี้เกิดขึ้นได้จากการแยกเชื้อ LCV ที่ได้จากลิง rhesus (20) และการพัฒนา specific pathogen-free macaque colonies ที่ได้จากลิงที่ไม่ติดเชื้อ (LCV-naïve animals) (6) ดังนั้น rhesus macaques และลิงที่พบว่าติดเชื้อ LCV ตามธรรมชาติจึงถูกใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาการควบคุมการแสดงออกยีนของไวรัส กระบวนการเหนี่ยวนำให้ยีนของไวรัสเกิดการ transcription และการส่งผ่านสัญญาณของไวรัส

วิธีการตรวจเพื่อวินิจฉัยเชื้อ LCV

การวินิจฉัยทางน้ำเหลือง

จากการตรวจทางน้ำเหลืองวิทยาเพื่อหาเชื้อ herpesvirus ในลิงชนิดต่างๆโดยใช้ ELISA และ immunoblot ที่ใช้ตรวจในคน พบว่าลิงในกลุ่มเอฟ ได้แก่ ลิงชิมแพนซี กอริลลา อุรังอุตัง และชะนี ซึ่งมีความใกล้เคียงกับคนมากนั้นมีแอนติบอดีในซีรั่มที่สามารถเกิด cross react กับแอนติเจนของ herpesvirus ในคนได้ (21) แสดงว่าไวรัสมีลักษณะคล้ายกันและมีโอกาสที่ไวรัสจะติดข้ามมายังคนได้ เช่นเดียวกับลิงแสม (Rhesus monkey) ลิงเขียวแอฟริกา (African green monkey) และลิง Cynomolgous ซึ่งเป็นลิงในกลุ่ม New World primate ก็มี แอนติบอดีที่เกิด cross react กับ antigen ของ Epstein-Barr virus (EBV) ในคนจากการตรวจโดยวิธี complement fixation ได้เช่นเดียวกัน (22) การวินิจฉัยการติดเชื้อ LCV มักจะมีความจำเป็นที่ต้องอาศัยวิธีการทางชีวโมเลกุลมาช่วย เช่น การตรวจหา viral load ในเลือด (ซีรั่ม พลาสมา หรือใน peripheral blood mononuclear cell) เป็นต้น

การวินิจฉัยทางชีวโมเลกุล

ในปี ค.ศ. 1996 Vandevanter และคณะ ได้พัฒนาการตรวจหาเชื้อ herpesvirus โดยใช้ consensus primer ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ herpesvirus ชนิดต่างๆที่ทราบลำดับ sequence แล้วและเลือกบริเวณที่มีความ conserve มาออกแบบ primer โดยมีการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบางตำแหน่ง (degenerated) เพื่อให้สามารถตรวจหา herpesvirus ในสัตว์ทุกชนิดได้อย่างครอบคลุม (23)

Consensus primer ที่พัฒนาขึ้นนี้ ใช้ในการตรวจหาเชื้อ herpesvirus ในส่วนโพลีเมอเรสยีนที่ไม่เคยทราบลำดับ sequence มาก่อน ประกอบด้วย primer จำนวน 5 เส้น ดังรูปที่ 4

DFA : 5'-GA**Y**TT**Y**GC**N**AG**YY**T**N**TA**Y**CC-3'

ILK : 5'-TCCTGGACAAGCAGCA**RNYS**GC**NM**T**N**AA-3'

KG1 : 5'-GTCTTGCTCACCAG**N**TC**N**AC**N**CC**Y**TT-3'

TGV : 5'-TGTAACTCGGTGTA**Y**GG**N**TT**Y**AC**N**GG**N**GT-3'

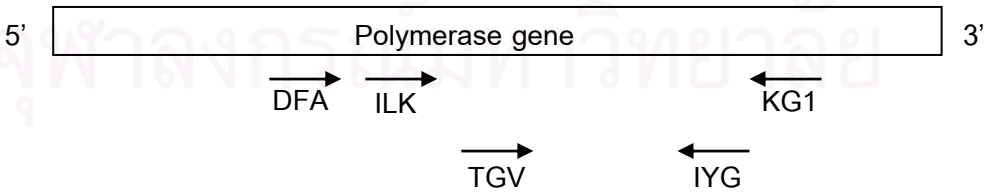
IYG : 5'-CACAGAGTCCGT**R**TC**N**CC**R**TA**D**AT-3

N = A, G, C, T **D** = A, G, T **Y** = C, T

M =A, C **S** = G, C **R** = A, G

รูปที่ 4 แสดง consensus degenerated primer

โดยในปฏิกิริยา PCR รอบแรกนั้นจะใช้ primer 3 เส้นคือ DFA ILK และ KG1 หลังจากนั้นจึงนำไปทำปฏิกิริยา PCR ต่อในรอบที่สองโดยใช้ primer TGV และ IYG ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 แผนภาพแสดงการทำ PCR โดยใช้ consensus degenerated primer

Consensus primer ทั้ง 5 เส้นนี้ ได้นำมาใช้ในการตรวจหา herpesvirus ในสิ่งมีชีวิต 22 ชนิดรวมทั้งคนด้วยเป็นครั้งแรก (23) ต่อมาจึงได้มีผู้นำ primer นี้ไปใช้ในการตรวจหา herpesvirus ในสัตว์ต่างๆอีกหลายชนิดเช่น แพะ (24) อุรังอุตัง (25) และสัตว์จำพวก Old World และ New World nonhuman primate อีกหลายชนิด (26) นอกจากนี้ยังใช้ในการตรวจหาและจำแนก herpesvirus 1-5 ในคนด้วย (27)

ชะนี (Gibbon)

ชะนีจัดอยู่ใน Kingdom *Animalia*, Phylum *Chordata*, Subphylum *Vertebrata*, Class *Mammalia*, Order *Primates*, และ Family *Hylobatidae*

ชะนีไม่ใช่ลิงแต่เป็นวานร ชะนีเป็นสัตว์พวกเดียวกับกอริลล่าและชิมแพนซีในทวีปแอฟริกาและอุรังอุตังแห่งเกาะบอร์เนียวและสุมาตราประเทศอินโดนีเซีย สัตว์ทั้ง 4 ชนิดไม่มีหาง ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญทางรูปร่างที่ใช้จำแนกสัตว์ทั้ง 4 ชนิดออกจากลิงชนิดอื่น ๆ

สัตว์จำพวกวานร หรือที่เรียกว่า “Ape” นี้มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับมนุษย์มากที่สุด พฤติกรรมของมันจึงใกล้เคียงกับมนุษย์ เช่น การสร้างครอบครัว ดังนั้นจึงมีการศึกษาพฤติกรรมของชะนีมือขาว รวมทั้งพืชอาหารที่ชะนีกินในยามปกติ หรือเจ็บป่วย ซึ่งอาจนำไปสู่การหายารักษาโรคในมนุษย์ได้

ชะนีเป็นลิงไม่มีหางขนาดเล็กที่สุด มีแขนยาวมากและร้องเสียงดังกึกก้องไปทั่วผืนป่า เมื่อโตเต็มที่จะมีน้ำหนัก 4-8 กิโลกรัมและสูงประมาณ 1 เมตร ด้วยแขนที่ยาวมากจึงทำให้ชะนีสามารถยื่นมือลงมาถึงปลายเท้าได้ในขณะยืน ชะนีเป็นสัตว์หากินกลางวันและอาศัยอยู่แต่บนต้นไม้สูง 10 ถึง 30 เมตร ในชั้นเรือนยอดของป่าดิบชื้นอันรกทึบ ไม่ค่อยลงมาพื้นดิน จะพบชะนีแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เท่านั้น

ชะนีจะอยู่กันเป็นครอบครัว โดยตัวผู้ 1 ตัวจับคู่กับตัวเมีย 1 ตัว มีสมาชิกในครอบครัว 2-6 ตัว แม่ชะนีจะเป็นผู้นำครอบครัวในการดำรงชีวิตประจำวัน เช่น การออกหาอาหาร และจะออกลูกทุกๆ 3-5 ปี ลูกอ่อนจะกอดเกาะท้องแม่กินนมประมาณ 2 ปี หลังจากนั้นจึงหย่านม แต่ก็ยังอยู่ใกล้ๆกับแม่ เมื่อลูกชะนีโตเต็มวัยจะถูกขับออกจากครอบครัว ชะนีตัวผู้กับตัวเมียมีขนาดเท่ากันและมีฟันเขี้ยวยาวเท่ากัน

ชะนีแต่ละครอบครัวจะมีอาณาเขตครอบครองประมาณ 70-200 ไร่ และจะอาศัยอยู่เฉพาะในเขตครอบครองของมันเท่านั้น การร้องของชะนีเป็นการประกาศอาณาเขต สื่อเตือนไม่ให้ชะนีครอบครัวอื่นหากินบุกรุกเข้ามาในอาณาเขตของตน ชะนีมีอายุยืนยาวกว่า 30 ปี การ

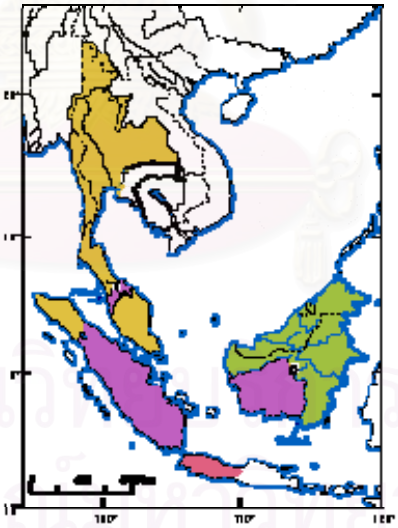
ดำรงชีวิตในป่าต้องคอยระวังสัตว์นักล่าขนาดใหญ่ ที่อาจล่าชะนีเป็นอาหาร เช่น เสือดาว เสือโคร่ง งูเหลือม งูหลามและนกอินทรี

อาหารหลักของชะนีคือ ผลไม้ ใบไม้ ดอกไม้ สัตว์ขนาดเล็กและแมลง ชะนีจะกินผลไม้ขนาดเล็กโดยการกลืนกินทั้งลูกซึ่งภายในจะมีเมล็ด เช่น ลูกไทร มะเม่า มะปริง ลูกหยีเขา กล้วยหมูสัง ลูกเมื่อย ฯลฯ หรือกลืนกินเมล็ดผลไม้ขนาดใหญ่ เช่น กระท้อน ชมวงป่า ขนุนป่า เป็นต้น

สถานการณ์ของชะนีในประเทศไทยตกอยู่ในภาวะที่น่าเป็นห่วง เนื่องจากถิ่นอาศัยตามธรรมชาติลดน้อยลงนอกจากนี้ยังถูกล่าโดยมนุษย์ ตามอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดของสัตว์ป่าและพืชป่าที่กำลังจะสูญพันธุ์(CITES) ชะนีในโลกทั้ง 12 ชนิด ล้วนถูกจัดอยู่ในบัญชีแนบท้ายหมายเลข 1 ซึ่งหมายถึงสัตว์ป่าที่หาได้ยาก

ถิ่นกำเนิดของชะนี

ชะนีอาศัยอยู่ในเขตเอเชียใต้ (อินเดีย และบังคลาเทศ) เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (ไทย ลาว กัมพูชา เวียดนาม มาเลเซีย และอินโดนีเซีย) และที่มณฑลยูนาน ทางใต้สุดของประเทศจีน



รูปที่ 6 แผนที่แสดงถิ่นที่อยู่ของชะนี

ชะนีในประเทศไทย

ชะนีมีทั้งหมด 12 สายพันธุ์ ในประเทศไทยมีชะนีอยู่ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ ชะนีมือขาว ชะนีมงกุฎและชะนีมือดำ

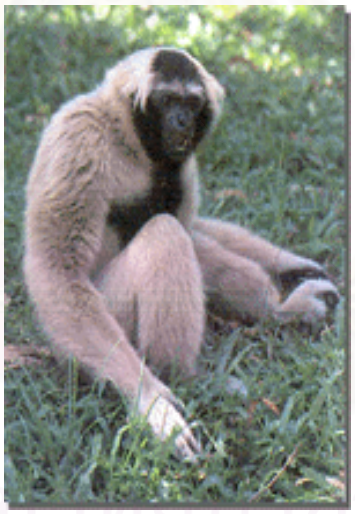
1. **ชะนีมือขาว (ชะนีธรรมดา)**
   - Lar gibbon (White-handed gibbon)
   - ชื่อทางวิทยาศาสตร์: *Hylobates lar*
   - ลักษณะทั่วไป: ชะนีมือขาวมีทั้งสีดำและสีขาว ส่วนหลังมือและหลังเท้าเป็นสีขาวและมีวงขาวรอบใบหน้า ใบหน้าและหูดำ มือยาว รูปร่างเพรียว ไม่มีหาง

รูปที่ 7 ชะนีมือขาว (*Hylobates lar*)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. **ชะนีมงกุฎ(ชะนีหัวมงกุฎ)**

- Pileated gibbon
- ชื่อทางวิทยาศาสตร์: *Hylobates pileatus*
- ลักษณะทั่วไป: ตัวผู้สีดำ ตัวเมียสีขาวนวล เมื่อเกิดใหม่สีขาวนวลเหมือนกัน พออายุ 4-6 เดือน ขนที่หน้าอกจะเปลี่ยนสีเป็นสีดำเกิดเป็นรูปสามเหลี่ยมปลายแหลมลงที่ท้อง และบนหัวขนเปลี่ยนเป็นสีดำ เกิดขึ้นตรงกลางหัวเป็นรูปทรงกลม พออายุประมาณ 3-4 ปี ตัวผู้ขนจะเปลี่ยนเป็นสีดำทั่วตัว ยกเว้นคิ้ว ถุงอัณฑะ หลังมือหลังเท้าและวงรอบใบหน้า ซึ่งขนจะเป็นสีขาวดังเดิม รอบๆจุดดำบนหัวจะมีขนสีขาวยาวเป็นลอนแซมขึ้นมาเห็นเด่นชัด ส่วนตัวเมียขนทั่วตัวไม่เปลี่ยนสีดำ สีขนจะคงเดิม ที่หน้าอกและบนหัวจะมีสีดำ มองดูที่หน้าอกคล้ายผูกเอี๊ยมดำและ บนหัวดูคล้ายเป็นมงกุฎสีดำ ขนรอบจุดดำบนหัวเป็นลอนยาวสีขาวเช่นเดียวกับตัวผู้



รูปที่ 8 ชะนีมงกุฎ (*Hylobates pileatus*)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. **ชะนีมือดำ**

- Agile gibbon (Black-handed gibbon)
- ชื่อทางวิทยาศาสตร์ : *Hylobates agilis*
- ลักษณะทั่วไป: ชะนีมือดำมีรูปร่างสีสันคล้ายชะนีมือขาวมาก ทั้งตัวผู้และตัวเมียจะไม่มีการเปลี่ยนสี เช่นถ้าเกิดมามีสีดำก็จะมีสีดำไปตลอด ทั้งสองเพศอาจมีสีขาวหรือสีดำก็ได้ ชะนีมือดำไม่มีวงขาวรอบใบหน้า แต่บางตัวก็อาจมีเป็นรอยขาวจางๆ และที่คิ้วเป็นสีขาว ขนที่มือและเท้าสีดำ บริเวณกระหม่อมแบน หัวจะเป็นรูปสามเหลี่ยม

รูปที่ 9 ชะนีมือดำ (*Hylobates agilis*)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงพรรณนา (Cross-sectional, Descriptive research)

ประชากรศึกษา

ชะนีจากศูนย์เพาะพันธุ์และอนุรักษ์พันธุ์ชะนีของกรมป่าไม้ที่กระบกคู่ จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 70 ตัว เพศผู้ 37 ตัว เพศเมีย 33 ตัว มีอายุระหว่าง 1-25 ปี โดยชะนีทุกตัวมีสุขภาพแข็งแรง โดยมีการเก็บตัวอย่างไว้แล้วที่ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางหน่วยปฏิบัติการวิจัยไวรัสตับอักเสบ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยตัวอย่างที่ได้มีข้อมูลพื้นฐานและรายละเอียดต่างๆ เกี่ยวกับชะนีจากการศึกษาไวรัสตับอักเสบบี (HBV) ในชะนี (28) และได้มีการเก็บตัวอย่างดังกล่าวไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป การศึกษาในครั้งนี้ได้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมจากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นที่เรียบร้อยแล้ว

การเก็บตัวอย่าง

สัตวแพทย์จะทำการฉีดยาสลบให้แก่ชะนี และเป็นผู้เจาะเลือดจำนวน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร เพื่อแบ่งใส่หลอดเก็บเลือด 2 ชนิด คือ

1. หลอดที่มีสารกันเลือดแข็งตัวเป็น EDTA เพื่อนำเลือดที่ได้ไปทำการปั่นแยกเม็ดเลือดขาว (Peripheral Blood Mononuclear Cell: PBMC)

2. หลอดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งตัว เพื่อนำไปปั่นแยกเอาส่วนที่เป็นน้ำเหลือง

จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทำการตรวจหา LCV

เครื่องมือและวัสดุที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องมือ

1.1. Pipette tip : 10 ul, 200 ul และ 1,000 ul (Elkay, Ireland)

1.2. Microcentrifuge tube : 0.2 ml, 0.5 ml, 1.5 ml (AxyGEN, USA)

1.3. Polypropylene conical tube : 15 ml และ 50 ml (Elkay, Ireland)

1.4. Beaker : 50 ml, 1000ml, 200 ml, 500 ml, 1,000 ml (Pyrex, USA.)

1.5. Flask : 250 ml, 500 ml, 1,000 ml (Pyrex, USA.)

1.6. Reagent bottele : 100 ml, 250 ml, 500 ml, 1,000 ml (Duran, USA)

1.7. Cylinder : 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250, 500 ml, 1,000 ml (Pyrex, USA.)

1.8. Pipette rack (Eppendorf, Germany)

1.9. Thermometer (Precision , Germany)

1.10. Parafilm (American National Can, USA)

1.11. Plastic wrap

1.12. Stirring-magnetic bar

1.13. sequence ABI 310 kit (Perkin-Elmer, USA.)

1.14. Combs (Bio-RAD, Hercules, California)

1.15. Electrophoresis chamber set (Bio-RAD, USA)

2. อุปกรณ์

2.1 Automatic adjustable micropipette : P2 (0.1-2 ul), P10 (0.5-10 ul), P20 (5-20 ul), P100 (20-100ul), P1000 (0.1-1 ml) (Eppendorf, Germany)

2.2 ortex mixer (Scientific industry, USA)

2.3 Stirring hot plate (Bamstead/Thermolyne, USA)

2.4 Centrifuge (Beckman GS-6R, USA)

2.5 Refrigerate microcentrifuge (Universal 16R Hettich, USA)

2.6 Microcentrifuge 0.2 ml (Axygen, USA)

2.7 Microcentrifuge 1.5 ml (Elkay, USA)

2.8 Themal cycle (GeneAmp PCR System 2400, Perkin-Elmer, Boston)

2.9 Power supply model 250 (Giboco BRL, USA)

2.10 Multi-block heater (Lab-Line Instrument Inc., USA)

2.11 Gel Doc 1000 (Bio-RAD, USA)

2.12 Mitsubishi Video copy processor (Bio-RAD, USA)

2.13 Thermal paper (Bio-RAD, USA)

2.14 Refrigerator 4^0 c (Misubishi, Japan)

2.15 Freezer -20^0C (Sanyo, Japan)

2.16 Freezer -70^0C (Forma Scientific, USA)

2.17 Water Purification equipment (Water pro Ps, USA)

2.18 ABIPRISM^{TM} 310 Genetic (Perkin-Elmer, USA)

2.19 Autoclave (Hydroclave MC10 Harvey, USA)

2.20 Balance (PB1502 Mettler Toledo, Switzerland)

สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1. สารเคมีทั่วไป

1.1 Agarose molecular grade (Promega, USA)

1.2 Diethyl pyrocarbonate (Sigma, Singapore)

1.3 Ethidium bromide (Sigma, Singapore)

1.4 Sucrose (USB, Hong kong)

1.5 100 base pair DNA ladder (Biolab, USA)

2. สารเคมีสำหรับการสกัด DNA (DNA extraction)

1.6 Isoamyl alcohol (Sigma, Singapore)

1.7 Absolute ethanol (Sigma, Singapore)

1.8 Disodium ethylenediamine tetracetic acid : EDTA (USB, Hong kong)

1.9 Tris base (USB, Hong kong)

1.10 Boric acid (USB, Hong kong)

3. สารเคมีสำหรับการทำ PCR

1.11 Eppendorf MasterMix (2.5x)(Eppendorf, USA)

4. สารเคมีสำหรับการทำผลผลิต PCR ให้บริสุทธิ์

1.12 Perfect Gel Cleanup (Eppendorf, USA)

5. สารเคมีสำหรับการทำ DNA sequencing

1.13 BigDye terminator v.3.1 cycle sequencing RR-100 (Perkin-Elmer, USA)

1.14 BigDye terminator v.3.1 cycle 5x buffer (Perkin-Elmer, USA)

1.15 Template suspension reagent : TSR (Perkin-Elmer, USA)

วิธีการดำเนินการวิจัย

Positive control

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ไม่มี positive control ของ LCV เพราะฉะนั้นจึงต้องทำการสุ่มเลือกตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจหาแอนติบอดีต่อ EBV เป็นบวกจากการศึกษาก่อนหน้านี้[7] เนื่องจากแอนติบอดีของ LCV นี้สามารถเกิด cross react กับแอนติเจนของ EBV ได้ เพราะฉะนั้นชะนีที่ให้ผลแอนติบอดีต่อ EBV เป็นบวกอาจมีการติดเชื้อ LCV จึงเลือกตัวอย่างดังกล่าวมาเพื่อสุ่มหา positive control

จากนั้นนำเม็ดเลือดขาวของตัวอย่างที่สุ่มได้สกัด DNA และเพิ่มจำนวน LCV ในส่วน polymerase gene ตามวิธีทำ จนกว่าจะได้ตัวอย่างที่ให้ผลบวก หลังจากนั้นนำผลิตผลที่ได้ทำการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) เพื่อยืนยันผลว่าเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV แล้วนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เข้าโปรแกรม www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast เมื่อได้ตัวอย่าง PBMC ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็น LCV ในส่วน polymerase gene แล้วจึงนำ PBMC ที่ให้ผลบวกนั้นเป็น positive control

Negative control

เนื่องจาก LCV เป็น DNA ไวรัส เพราะฉะนั้น Negative control ในการศึกษาครั้งนี้ คือ น้ำที่ปราศจากเอนไซม์ย่อย DNA (Dnase) คือ Distilled water ที่มีปริมาตรเท่ากับ DNA ที่ใช้ในการทดลอง

Internal control

เพื่อเป็นการยืนยันว่าสามารถสกัด DNA ได้จริง ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้เลือกใช้ DNA ที่มีอยู่ในเซลล์ปกติทุกเซลล์เพื่อเป็นการยืนยันผลการสกัดว่าการให้ผลลบกับการทำ PCR ของ LCV ให้ผลเป็นลบจริง ไม่ใช่จากการสกัดไม่ได้ DNA เพราะการสกัด DNA ในเซลล์ที่มีอยู่ในเซลล์ปกติทุกเซลล์นั้นจะให้ผลบวกเสมอ หากให้ผลลบจะสามารถบอกได้อย่างชัดเจนว่าไม่สามารถสกัด DNA ได้และในการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกใช้ DNA ในส่วน GAPDH (glyceraldehydes-3-phosphatedehydrogenase) ของชะนี เพราะเซลล์ทุกเซลล์จะมี GAPDH อยู่มากเพื่อทำหน้าที่ในกระบวนการเมตาบอลิสมของคาร์โบไฮเดรต ในกรณีของ LCV จะติดเชื้อแบบแอบแฝงอยู่ในเซลล์

เม็ดเลือดขาวชนิด B cell (PBMC) ซึ่งเซลล์เหล่านี้ก็สามารถพบ GAPDH ได้เช่นกัน เพราะฉะนั้นจึงเลือกใช้ GAPDH ที่เป็น DNA เป็น internal control เพื่อยืนยันว่าสามารถสกัด DNA ได้จริง จึงได้ทำการเพิ่มปริมาณ DNAของ GAPDH ด้วยวิธี PCR ซึ่งต้องให้ผลบวกเสมอ หากการเพิ่มปริมาณ DNA ของ LCV ให้ผลลบ และการเพิ่มปริมาณ DNA ของ GAPDH ให้ผลลบเช่นกัน จะต้องทำการสกัด DNA ใหม่เพราะไม่สามารถสกัด DNA ได้

การออกแบบ Primers

การศึกษาครั้งนี้จะตรวจกรองการติดเชื้อ LCV ใน PBMC ของชะนีทุกตัวโดยการเพิ่มจำนวน LCV ในส่วน *pol* gene และเพิ่มจำนวน DNA ของชะนีในส่วน GAPDH gene ดังนี้

LCV ส่วนโพลีเมอเรส (polymerase) – จะทำการเพิ่มจำนวน LCV ในส่วน *pol* gene ด้วยวิธี seminested polymerase chain reaction (seminested-PCR) การออกแบบ primers ในส่วนนี้จะออกแบบจาก *pol* gene ของ *Hylobates lar* LCV ที่อยู่บนฐานข้อมูลของ GenBank accession No. AY196147 เมื่อนำ primer ที่ออกแบบเรียบร้อยแล้วทำการ BLAST จะได้ผลดังนี้

1. ผลการ BLAST primer LCV F1

Sequences producing significant alignments: Score E (bits) Value

gi|40353370|gb|AY425964.1| Hylobates nomascus leucogenys ly... 44 0.003

gi|34808784|gb|AY196147.1| Hylobates lar lymphocryptovirus ... 44 0.003

gi|34808772|gb|AY174068.1| Hylobates leucogenys lymphocrypt... 44 0.003

gi|37726528|gb|AY166457.1| Pan troglodytes lymphocryptoviru... 36 0.71

gi|59074|emb|V01555.1|EBV Epstein-Barr virus (EBV) genome, ... 36 0.71

gi|23893576|emb|AJ507799.1|HHV507799 Human herpesvirus 4 co... 36 0.71

gi|40548684|gb|AY425965.1| Pongo pygmaeus lymphocryptovirus... 36 0.71

gi|15054874|gb|AF290600.1|AF290600 Gorilla lymphocryptoviru... 36 0.71

gi|18025465|gb|AY037858.1| Cercopithicine herpesvirus 15 st... 36 0.71

gi|13491956|gb|AF250885.1|AF250885 Gorilla lymphocryptoviru... 36 0.71

gi|13491954|gb|AF250884.1|AF250884 Gorilla lymphocryptoviru... 36 0.71

gi|13491952|gb|AF250883.1|AF250883 Gorilla lymphocryptoviru... 36 0.71

gi|330330|gb|M80517.1|HS4B958RAJ Epstein-Barr virus, artifa... 36 0.71

gi|34808774|gb|AY174069.1| Papio hamadryas lymphocryptoviru... 36 0.71

gi|34808770|gb|AY174067.1| Cercocebus aterrimus lymphocrypt... 36 0.71

gi|34391445|gb|AY139028.1| Ateles paniscus lymphocryptoviru... 36 0.71

gi|33330678|gb|AF534228.1| Piliocolobus badius lymphocrypto... 36 0.71

gi|33330674|gb|AF534226.1| Pan troglodytes lymphocryptoviru... 36 0.71

gi|40287431|gb|AF534225.2| Gorilla gorilla lymphocryptoviru... 36 0.71

gi|33330664|gb|AF534221.1| Macaca fascicularis lymphocrypto... 36 0.71

gi|33330660|gb|AF534219.1| Colobus guereza lymphocryptoviru... 36 0.71

2. ผลการ BLAST primer LCV R1

Sequences producing significant alignments: Score E (bits) Value

gi|34808784|gb|AY196147.1| Hylobates lar lymphocryptovirus ... 33 2.4

3. ผลการ BLAST primer LCV R2

Sequences producing significant alignments: Score E (bits) Value

gi|34808784|gb|AY196147.1| Hylobates lar lymphocryptovirus ... 38 0.090

จากผลการ BLAST แสดงให้เห็นว่า primer ที่ทำการออกแบบมีความจำเพาะกับ LCV ในส่วน *pol* geneที่ติดเชื้อใน nonhuman primate ชนิดต่างๆรวมทั้งชะนีด้วย

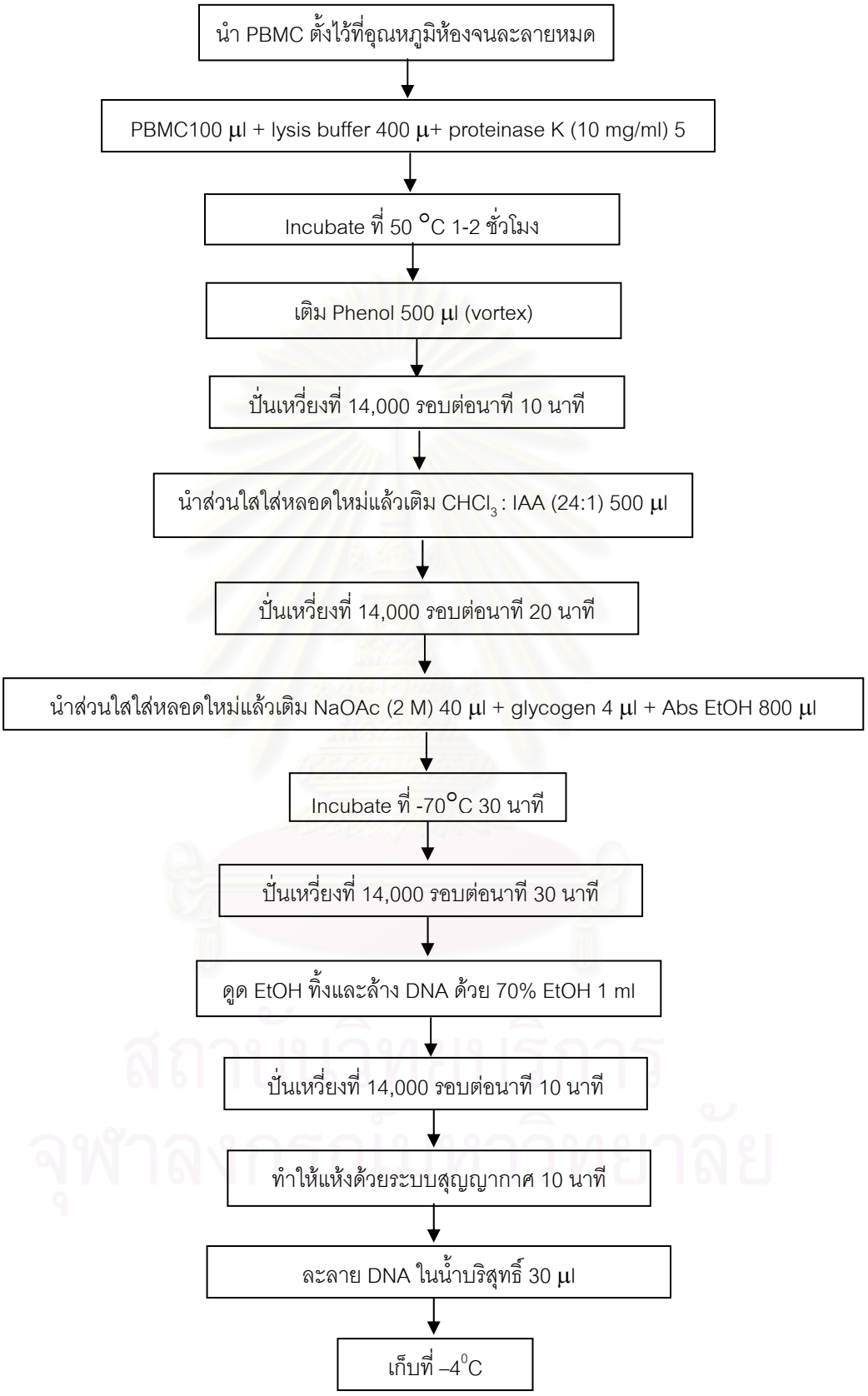
GAPDH gene – (glyceraldehydes-3-phosphatedehydrogenase) ของชะนีเพื่อใช้เป็น internal control GAPDH gene อยู่บนโครโมโซม 12 (12p13) การออกแบบ primers ในส่วนนี้จะออกแบบจากการนำลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน GAPDH gene ของคนที่อยู่บนฐานข้อมูล GenBank accession number. XM372812, XM373373, XM294070, XM372710, BC014085, BC023632, BC013310, BC004109, BC029618, BC026907, NM002046, AJ005371, J04038 และ M33197 มาเปรียบเทียบกันเพื่อหาตำแหน่งที่มีความ conserve และออกแบบ primer ที่ตำแหน่งนั้น โดยผลผลิตของ GAPDH DNA ที่ได้จะมีความยาว 199 bp

การตรวจกรองการติดเชื้อ LCV โดยการเพิ่มจำนวนไวรัสในยีนส่วนโพลีเมอเรส

การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

ใช้ PBMC ปริมาณ 100 μl ในการสกัด DNA ด้วยวิธี phenol/chloroform ดังรูปที่ 10 หลังจากสกัดแล้วจะได้ปริมาณ DNA ที่ละลายน้ำปริมาณ 30 μl จากนั้นจึงนำไปใช้เป็น DNA เริ่มต้นในการเพิ่มจำนวน DNA ในยีนส่วนโพลีเมอเรสของ LCV และยีนส่วน GAPDH ของชะนี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10 แสดงขั้นตอนการสกัด DNA

การเพิ่มจำนวน LCV **ในส่วน** *pol* gene **และ** GAPDH gene **ของซะนีโดยใช้วิธี** polymerase chain reaction

เพิ่มปริมาณ LCV ในส่วน *pol* gene โดยใช้วิธี semi-nested PCR และเพิ่มปริมาณ GAPDH ใช้วิธี PCR โดยใส่สารตามตารางที่ 3 จากนั้นนำ microtube ที่ใส่สารละลายดังกล่าวทั้งหมดใส่ในเครื่อง thermal cycler (GeneAmp PCR System 2400, Perkin-Elmer, Boston) โดยมีอุณหภูมิตามตารางที่ 4 และดูผลผลิตจากการทำ PCR ได้โดยการนำผลผลิตที่ได้ทั้งหมดผสมกับ loding dye แล้วใส่ลงในหลุมของ 2% agarose gel electrophoresis ที่ได้ทำการเตรียม gel แบบแผ่นนอนราบเรียบร้อยแล้ว จากนั้นใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และใช้ marker 100 bp จะได้ขนาดของผลผลิตดังตารางที่ 2 จากนั้นนำ gel แช่ในสารละลาย 0.1% ethidium bromide ประมาณ 10-15 นาที และนำเข้าเครื่องฉายรังสีอัลตราไวโอเลตเพื่อถ่ายภาพแถบ DNAที่ได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 แสดงรายละเอียดของ primers แต่ละเส้น

ยีน	primer	ลำดับเบส	ตำแหน่ง	ความยาว (bp)	Tm (^{0}C)	%GC	product size
polymerase	outer forward primer (LCV F1)	5′ TGTTATTCTACTATGATAACGC 3′	1795-1816*	22	58	32	F1/R1=451 bp F1/R2=416 bp
	outer reverse primer (LCV R1)	5′ ACTGCCYCCCGGGTTAAG 3′	2227-2245*	18	62	61	
	inner reverse primer (LCV R2)	5′ GGCTGAGGGGCCAATGCCT 3′	2192-2210*	19	64	68	
GAPDH	forward primer (GAPDH F)	5′ CTTCACCACCATGGAGAAGG 3′	395-414**	20	62	55	199 bp
	reverse primer (GAPDH R)	5′ GTTGTCATGGATGACCTTGGC 3′	573-593**	21	64	52	

* เปรียบเทียบกับตำแหน่งบนลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ของ EBV accession number V01555

** เปรียบเทียบกับตำแหน่งบนลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน GAPDH gene ของคน accession number M33197

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 แสดงส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR เพื่อเพิ่มจำนวน DNA ของ LCV ในส่วน *pol* gene และ GAPDH gene

สารละลาย	*pol* gene (volume/tube)		GAPDH (volume/tube)
	1^0 PCR	2^0 PCR	
Distilled water	13.4 µl	13.4 µl	13 µl
2.5 PCR master mix	10 µl	10 µl	10 µl
LCV F1 primer (25 µM)	0.3 µl	0.3 µl	-
LCV R1 primer (25 µM)	0.3 µl	-	-
LCV R2 primer (25 µM)	-	0.3 µl	-
GAPDH F primer (25 µM)	-	-	0.5 µl
GAPDH R primer (25 µM)	-	-	0.5 µl
DNA Template/PCR product	1 µl	1 µl	1 µl
Total volume	25 µl	25 µl	25 µl

ตารางที่ 4 แสดงอุณหภูมิและเวลาของการทำ PCR ของ LCV ในส่วน *pol* gene และ GAPDH gene

PCR Cycle	*pol* gene		GAPDH
	1^0 PCR	2^0 PCR	
Pre-denaturation	94 ^{0}C 5 min	94 ^{0}C 5 min	94 ^{0}C 5 min
Denaturation	94 ^{0}C 1 min	94 ^{0}C 1 min	94 ^{0}C 1 min
Annealing	54 ^{0}C 30 sec	54 ^{0}C 30 sec	55 ^{0}C 30 sec
Extension	72 ^{0}C 1 min	72 ^{0}C 1 min	72 ^{0}C 30 sec
	ทำซ้ำ 35 รอบ	ทำซ้ำ 35 รอบ	ทำซ้ำ 35 รอบ
Post-extension	72 ^{0}C 7 min	72 ^{0}C 7 min	72 ^{0}C 7 min

การตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing)

ทำผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR ให้บริสุทธิ์เพื่อนำไปตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยตัด gel ที่ให้ผลบวกต่อ LCV และทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ Perfect Gel Cleanup แล้วตรวจสอบ product ที่ได้จากการทำให้บริสุทธิ์ โดยนำ product 5 µl ทำการ run gel electrophoresis อีกครั้งหนึ่งว่าได้ชิ้นส่วน DNA ที่ต้องการหรือไม่และไม่มี DNA อื่นเจือปน หลังจากนั้นจึงนำผลผลิตที่ผ่านการตรวจสอบแล้วเข้าสู่ cycle sequencing การตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์นั้นจะใช้ primers LCV F1 หรือ LCV R2 โดยใส่สารตามตารางที่ 5 และนำผลผลิตจาก cycle sequencing ที่ได้มาตกตะกอนเพื่อนำไปอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วย ABIPRISM™ 310 ดังรูปที่ 11

ตารางที่ 5 แสดงส่วนผสมของสารที่ใช้ในการทำ cycle sequencing

สารละลาย	**ปริมาณสารที่ใส่ในแต่ละหลอด**
Distilled water	5.33 µl
5 X buffer	2 µl
BigDye RR-100	4 µl
Primer LCV F1	0.67 µl
ผลผลิตที่ทำให้บริสุทธิ์แล้ว	8 µl
Total volume	20 µl

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 11 แสดงขั้นตอนการตกตะกอนผลผลิตที่ได้จากการเข้า cycle sequencing

เมื่ออ่านผลแล้วจึงนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จาก forward primer หรือ reverse primer อ่านเปรียบเทียบกัน โดยที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จาก reverse primer จะต้องทำการ reverse complementary ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ก่อน แล้วจึงนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้อ่านเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จาก forward primer โดยอาศัยโปรแกรม CLUSTAL X และทำการวิเคราะห์ผลต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

1. ข้อมูลทั่วไปของชะนีทั้งหมด: แสดงเป็นตารางรายละเอียด
   - ข้อมูลประวัติของชะนี ได้แก่ ชื่อ สายพันธุ์ อายุ เพศ กรง เป็นต้น
2. ข้อมูลการตรวจหา LCV DNA
   - อุบัติการณ์ของการติดเชื้อ LCV: รายงานผลเป็นเปอร์เซนต์
3. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV ในส่วน *pol* gene: เมื่อทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์จากการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของ forward primer หรือ reverse primer เรียบร้อยแล้ว
   - ทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตอื่นที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม (GenBank) โดยใช้โปรแกรม BLAST จาก www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast
   - เพื่อให้เห็นความเหมือนหรือความแตกต่างอย่างชัดเจนของลำดับนิวคลีโอไทด์ จะใช้โปรแกรม ClustalX Version 1.8 เพื่อเปรียบเทียบที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV ที่มีการศึกษาใน nonhuman primate ชนิดอื่น
   - สร้าง phylogenetic tree จากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้โดยใช้โปรแกรม Clustal X Version 1.8 และ Tree View Version 1.5
   - ทำการหา % nucleotide identity เปรียบเทียบระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV ที่ได้กันเอง รวมถึงทำการเปรียบเทียบ % nucleotide identity ของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการวิจัยนี้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV จาก nonhuman primate และ EBV โดยใช้ Sequence Identity Matrix จากโปรแกรม BioEdit version 5.0.9
4. เมื่อทำการแปลลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นลำดับกรดอะมิโนของ LCV ในส่วน *pol* gene แล้วจึงทำการวิเคราะห์ผล ดังนี้
   - ทำการทำการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนที่ได้กับลำดับกรดอะมิโนของสิ่งมีชีวิตอื่นที่มีอยู่ในธนาคารรหัสพันธุกรรม (GenBank) โดยใช้โปรแกรม BLAST จาก www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast
   - เพื่อให้เห็นความเหมือนหรือความแตกต่างอย่างชัดเจนของลำดับกรดอะมิโน จะใช้โปรแกรม CLUSTAL X เพื่อเปรียบเทียบที่ลำดับกรดอะมิโนได้จากการศึกษา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในครั้งนี้กับลำดับกรดอะมิโนของ LCV ที่มีการศึกษาใน nonhuman primate ชนิดอื่นและ EBV

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บเลือดชะนีจากศูนย์เพาะพันธุ์และอนุรักษ์พันธุ์ชะนีกระบกคู่ จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 70 ตัว เพศผู้ 37 ตัว เพศเมีย 33 ตัว มีอายุระหว่าง 1-25 ปี ประกอบด้วยชะนี 3 สายพันธุ์ ได้แก่ ชะนีมือขาว (*H. lar*) จำนวน 51 ตัว ชะนีมงกุฎ (*H. pileatus*) จำนวน 18 ตัว และชะนีมือดำ (*H. agilis*) ซึ่งเกิดจากการผสมสายพันธุ์ชะนีมือขาวกับชะนีมงกุฎ จำนวน 1 ตัว (ตารางที่ 6) ตัวอย่างชะนีที่ใช้ในการวิจัยส่วนใหญ่เป็นชะนีมือขาว โดยที่มีชะนีมือดำในการวิจัยมีเพียงตัวเดียวเท่านั้น การเลี้ยงชะนีที่ศูนย์เพาะพันธุ์ชะนีจะแบ่งพื้นที่เป็น 3 ส่วน คือ C L และ R โดยแต่ละส่วนจะมีลักษณะและจำนวนกรงที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ชะนีที่มีคู่แล้วจะจัดให้อยู่ในกรงเดียวกัน ข้อมูลเกี่ยวกับชะนี เช่น ชื่อ เพศ สายพันธุ์ หมายเลขกรง ได้แสดงรายละเอียดไว้ในภาคผนวก ค

ชะนีทุกตัวเคยตรวจกรองการติดเชื้อในกลุ่ม Herpesvirus ในซีรั่มจากการใช้ชุดตรวจ ELISA เพื่อหาแอนติบอดีต่อเชื้อ herpesvirus ในคน (7) และทุกตัวได้รับการตรวจหาการติดเชื้อ LCV โดยการทำ semi-nested PCR ในส่วน *pol* gene รวมทั้งการตรวจหา GAPDH gene ของชะนี

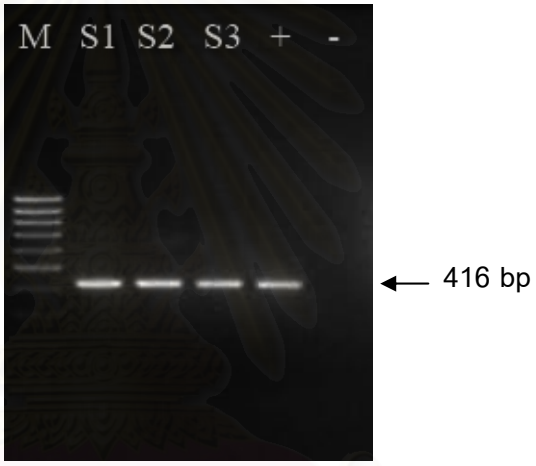
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการทดสอบความจำเพาะของ primer ต่อเชื้อไวรัสใน Family *Herpesviridae*

จากการทดสอบความจำเพาะของ primer ต่อเชื้อไวรัสใน Family *Herpesviridae* ได้แก่ HSV-1 HSV-2 VZV EBV CMV HHV-6 HHV-7 HHV-8 และ LCV พบว่า primer มีความจำเพาะต่อเชื้อ LCV เท่านั้น

ผลจากการตรวจกรองการติดเชื้อ LCV ในส่วน *pol* gene

จากการทำ semi-nested PCR ของ LCV RNA ส่วน *pol* gene แล้วจะได้ผลผลิตจากการทำ PCR รอบสองขนาด 416 bp ตามรูปที่ 12 ผลปรากฏว่า PBMC จากชะนีทั้งหมดจำนวน 70 ตัวอย่าง ให้ผลบวก 64 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 91.4

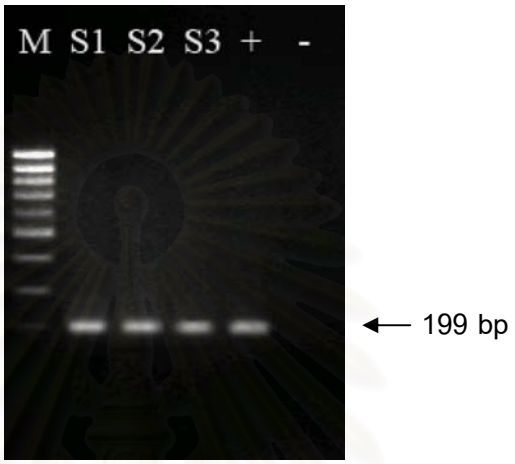


รูปที่ 12 แสดงผลผลิตขนาด 416 bp ที่ได้จากการทำ semi-nested PCR ของ LCV ในส่วน *pol* gene โดยที่ M คือ 100 bp marker, S1 คือ ตัวอย่าง ที่ 1, S2 คือ ตัวอย่างที่ 2, S3 คือ ตัวอย่างที่ 3, + คือ positive control และ - คือ negative control ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลของการเพิ่มจำนวน Internal control

ในการตรวจกรองการติดเชื้อ LCV ใน PBMC จะใช้ GAPDH ของชะนีเป็น internal control ทุกครั้ง จากการทำ PCR ของ GAPDH จะให้ผลผลิตขนาด 199 bp ตามรูปที่ 13 และ PBMC ที่ทำการตรวจกรอง LCV ในส่วน *pol* geneให้ผลบวกกับการทำ PCR ของ GAPDH ทุกราย



รูปที่ 13 แสดงผลผลิตขนาด 199 bp ที่ได้จากการทำ PCR ของ GAPDH gene โดยที่ M คือ 100 bp marker, S1 คือ ตัวอย่าง ที่ 1, S2 คือ ตัวอย่างที่ 2, S3 คือ ตัวอย่างที่ 3, + คือ positive control และ - คือ negative control ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 แสดงผลสรุปจากการตรวจกรองเชื้อ LCV ส่วน pol geneใน PBMC ของชะนี โดยวิธี semi-nested PCR

No.	Name	Species	cage	sex	Age	LCV DNA	No.	Name	Species	cage	sex	Age	LCV DNA
G1	Tua	*H. lar*	C07	F	21	-	G36	Thongchai	*H. lar*	R14	M	18	+
G2	Ream	*H. lar*	L13	F	13	-	G37	Emmee	*H. lar*	R15	F	NA	+
G3	Ice	*H. lar*	R05	F	NA	-	G38	Songdiaw	*H. lar*	R15	M	NA	+
G4	Nana	*H. lar*	R17	F	13	-	G39	Ole	*H. lar*	R16	M	NA	+
G5	Clyde	*H. lar*	R25	F	11	-	G40	Pek	*H. lar*	R16	M	NA	+
G6	Bonnie	*H. lar*	R25	F	11	-	G41	Quan	*H. lar*	R17	F	12	+
G7	Mek	*H. lar*	C02	F	14	+	G42	Pokpik	*H. lar*	R19	F	NA	+
G8	Pok	*H. lar*	C02	M	14	+	G43	Dokdik	*H. lar*	R19	F	NA	+
G9	Ted	*H. lar*	C03	M	NA	+	G44	Kevin	*H. lar*	R20	F	NA	+
G10	Jew	*H. lar*	C04	F	25	+	G45	Mickey	*H. lar*	R21	M	18	+
G11	John	*H. lar*	C04	M	NA	+	G46	Emma	*H. lar*	R22	F	17	+
G12	Ying Yong	*H. lar*	C05	M	18	+	G47	Namhieb	*H. lar*	R23	F	19	+
G13	Apple	*H. lar*	C06	M	NA	+	G48	Jaay	*H. lar*	R24	F	13	+
G14	Phoon	*H. lar*	C07	M	15	+	G49	Nicole	*H. lar*	R26	F	NA	+
G15	Toffee	*H. lar*	C08	F	NA	+	G50	Midnight	*H. lar*	R27	M	16	+
G16	Brownie	*H. lar*	C08	M	NA	+	G51	Roger	*H. lar*	R28	M	NA	+
G17	Benzo	*H. lar*	C09	M	23	+	G52	Piercy	*H. pileatus*	C11	F	18	+
G18	Phong	*H. lar*	C10	M	NA	+	G53	Leuis	*H. pileatus*	C12	F	NA	+
G19	Sang	*H. lar*	L14	F	10	+	G54	Mila	*H. pileatus*	C12	F	15	+
G20	Baloo	*H. lar*	L14	M	10	+	G55	Kristine	*H. pileatus*	C13	M	12	+
G21	L16M	*H. lar*	L16	M	NA	+	G56	Saan	*H. pileatus*	C13	M	22	+
G22	Vetan	*H. lar*	R01	F	NA	+	G57	Chim	*H. pileatus*	C14	F	15	+
G23	Rusty	*H. lar*	R03	M	NA	+	G58	Saboo	*H. pileatus*	C15	M	15	+
G24	Ivana	*H. lar*	R04	F	NA	+	G59	Ni	*H. pileatus*	C15	F	14	+
G25	Jacko	*H. lar*	R04	M	NA	+	G60	Nong Chai	*H. pileatus*	C16	M	16	+
G26	Darkie	*H. lar*	R05	M	NA	+	G61	Pilly	*H. pileatus*	C17	M	16	+
G27	Kingkong	*H. lar*	R06	M	NA	+	G62	Nong Ni	*H. pileatus*	C17	F	17	+
G28	Jieb	*H. lar*	R06	F	NA	+	G63	Farouk	*H. pileatus*	C18	M	12	+
G29	Kong2	*H. lar*	R07	M	NA	+	G64	Roen	*H. pileatus*	C19	M	13	+
G30	Somsak	*H. lar*	R08	M	17	+	G65	Koo	*H. pileatus*	C20	F	20	+
G31	Plaa	*H. lar*	R09	F	16	+	G66	Jack	*H. pileatus*	C20	M	20	+
G32	Diaw	*H. lar*	R09	M	NA	+	G67	Candy	*H. pileatus*	C21	F	23	+
G33	Bun	*H. lar*	R11	M	20	+	G68	Daew	*H. pileatus*	C22	F	NA	+
G34	Mongkut	*H. lar*	R12	M	15	+	G69	Gift	*H. pileatus*	C23	F	NA	+
G35	Ooy	*H. lar*	R13	M	19	+	G70	Tarzan	*H. agilis*	L18	M	NA	+

NA หมายถึง Not Available, Age มีหน่วยเป็น ปี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV ในส่วน *pol* gene

BLAST

ผลจากการทำ semi-nested PCR ในส่วน ***pol*** gene ของ LCV มีจำนวน PBMC ของชะนีที่ให้ผลบวกทั้งหมด 64 ตัวอย่าง เมื่อนำผลผลิตของ gene ในส่วนนี้ทั้งหมดมาตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ (รูปที่ 15) และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เข้าโปรแกรม BLAST ปรากฏว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน ***pol*** gene ทุกเส้นใกล้เคียงกับ LCV ในส่วน ***pol*** gene ของ ***H. lar*** accession number AY196147 มากที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนตั้งแต่ 97-100% (รูปที่ 14)

>gi|34808784|gb|AY196147.1| Hylobates lar lymphocryptovirus 1 DNA polymerase (dpol) gene, partial cds

Length = 459

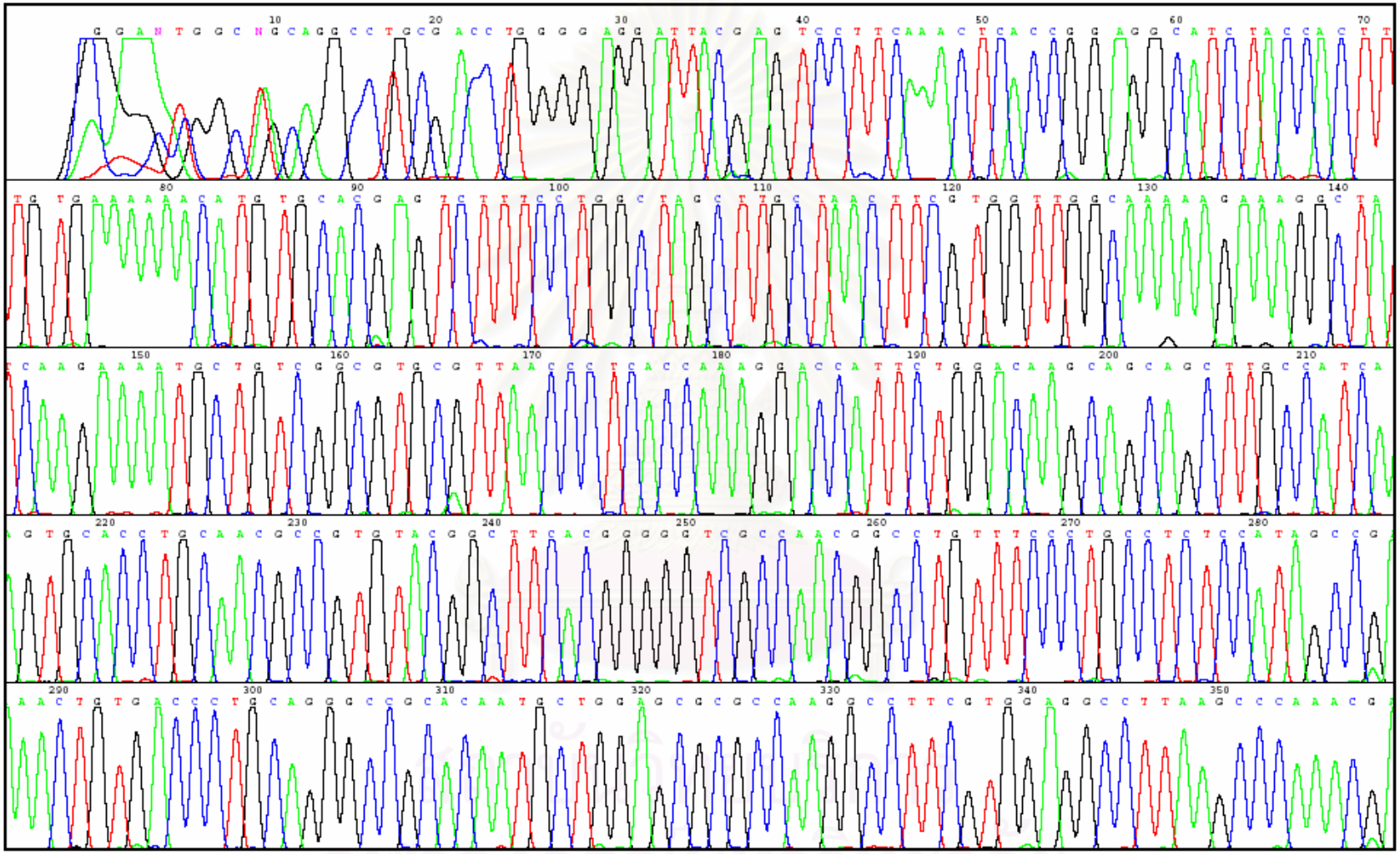
Score = 716 bits (361), Expect = 0.0

Identities = 361/361 (100%)

Strand = Plus / Plus

```
Query: 1   ctggggaggattacgagtccttcaaactcaccggaggcatctaccactttgtgaaaaaac 60
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 59  ctggggaggattacgagtccttcaaactcaccggaggcatctaccactttgtgaaaaaac 118

Query: 61  atgtgcacgagtctttcctggctagtttgctaacatcgtggttggcaaaaagaaaggcta 120
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 119 atgtgcacgagtctttcctggctagtttgctaacatcgtggttggcaaaaagaaaggcta 178

Query: 121 tcaagaaaatgttgtcggcgtgcgcaaatccgcaccaaaggaccattctggacaagcagc 180
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 179 tcaagaaaatgttgtcggcgtgcgcaaatccgcaccaaaggaccattctggacaagcagc 238

Query: 181 agcttgccatcaagtgtacctgcaacgccgtgtacggcttcacgggggtcgccaacggcc 240
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 239 agcttgccatcaagtgtacctgcaacgccgtgtacggcttcacgggggtcgccaacggcc 298

Query: 241 tgtttccctgcctctccatagccgaaactgtgaccctgcagggccgcacaatgctggagc 300
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 299 tgtttccctgcctctccatagccgaaactgtgaccctgcagggccgcacaatgctggagc 358

Query: 301 gtgccaaggccttcgtggaggcactaagcccaaacgatctgcaggcattggcccctcagc 360
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 359 gtgccaaggccttcgtggaggcactaagcccaaacgatctgcaggcattggcccctcagc 418

Query: 361 c 361
           |
Sbjct: 419 c 419
```

รูปที่ 14 แสดงตัวอย่างผลการ BLAST ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน ***pol*** gene ของ LCV ชะนี



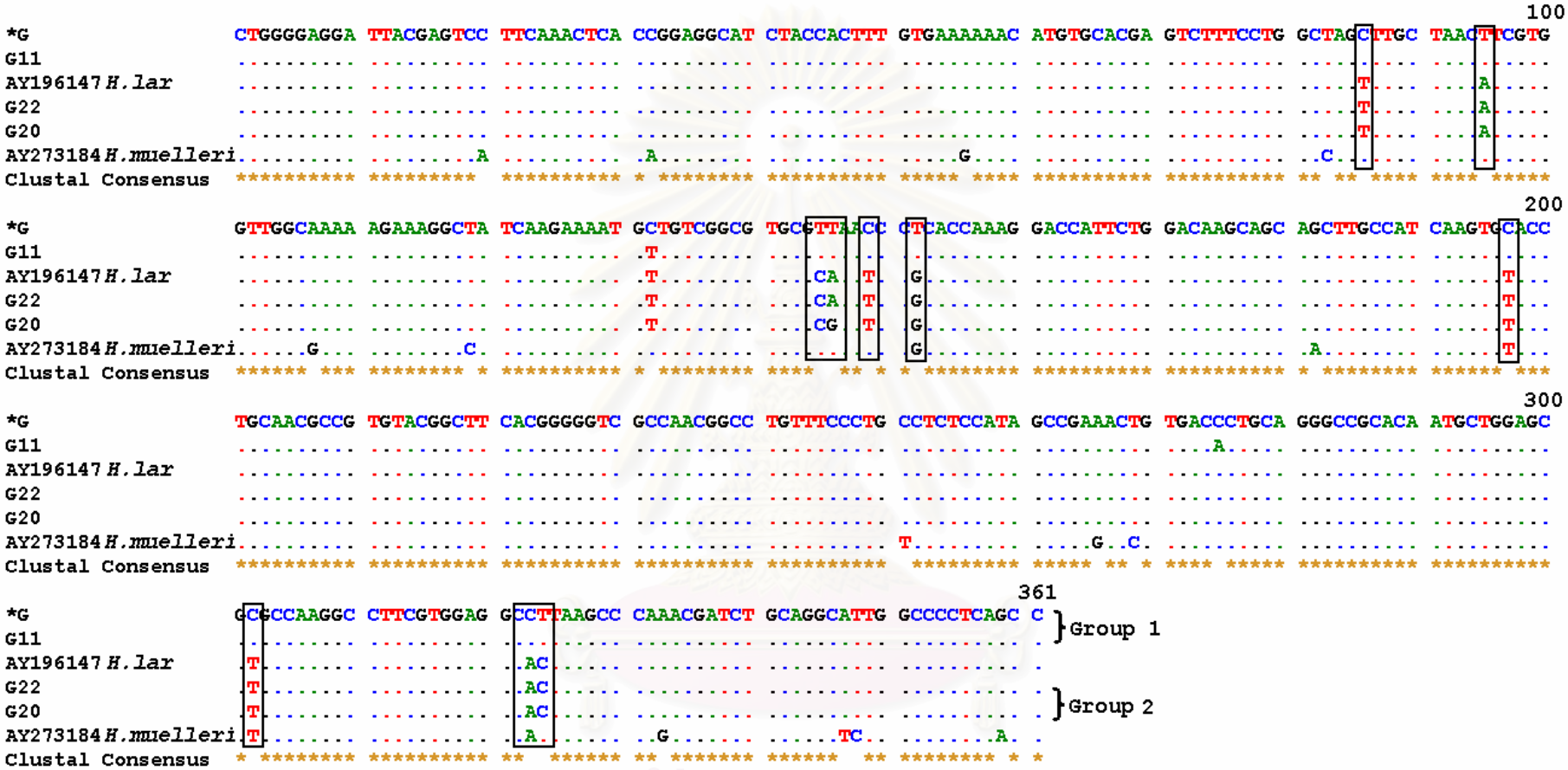
รูปที่ 15 แสดงตัวอย่างของ chromatogram จากการใช้ primer LCV F1

CLUSTAL X

จากนั้นจึงนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ทั้งหมดเข้าโปรแกรม CLUSTAL X เพื่อเปรียบเทียบให้เห็นถึงความเหมือนหรือความแตกต่างอย่างชัดเจนของลำดับนิวคลีโอไทด์ของการศึกษาในครั้งนี้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ของ LCV ที่มีการศึกษาก่อนหน้านี้ accession number AY196147 (*H.lar* LCV) และ AY273184 (*H.muelleri* LCV) (รูปที่ 16) หากพิจารณาตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ในกรอบสีดำ 10 ตำแหน่งในรูปที่ 16 จะเห็นว่าอาจแบ่ง LCV ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ออกเป็น 2 กลุ่ม

1. กลุ่มที่ 1 จำนวน 62 ตัวอย่าง คือ PBMC จากชะนี G11 และ *G (G7 ถึง G70 ยกเว้น G11 G20 และ G22)
2. กลุ่มที่ 2 จำนวน 2 ตัวอย่าง คือ PBMC จากชะนี G20 และ G22

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 16 แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ของ LCV ชะนี ทั้ง 64 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิงของชะนีที่เคยรายงานจาก GenBank โดยที่ G11 G20 G22 และ *G (G7 ถึง G70 ยกเว้น G11 G20 และ G22) คือ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้, AY196147 (*H.lar* LCV) และ AY273184 (*H. muelleri* LCV) คือลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิง , · แทนนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกัน, กรอบสีดำแสดงตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ที่สามารถแบ่ง LCV ออกได้เป็น 2 กลุ่ม

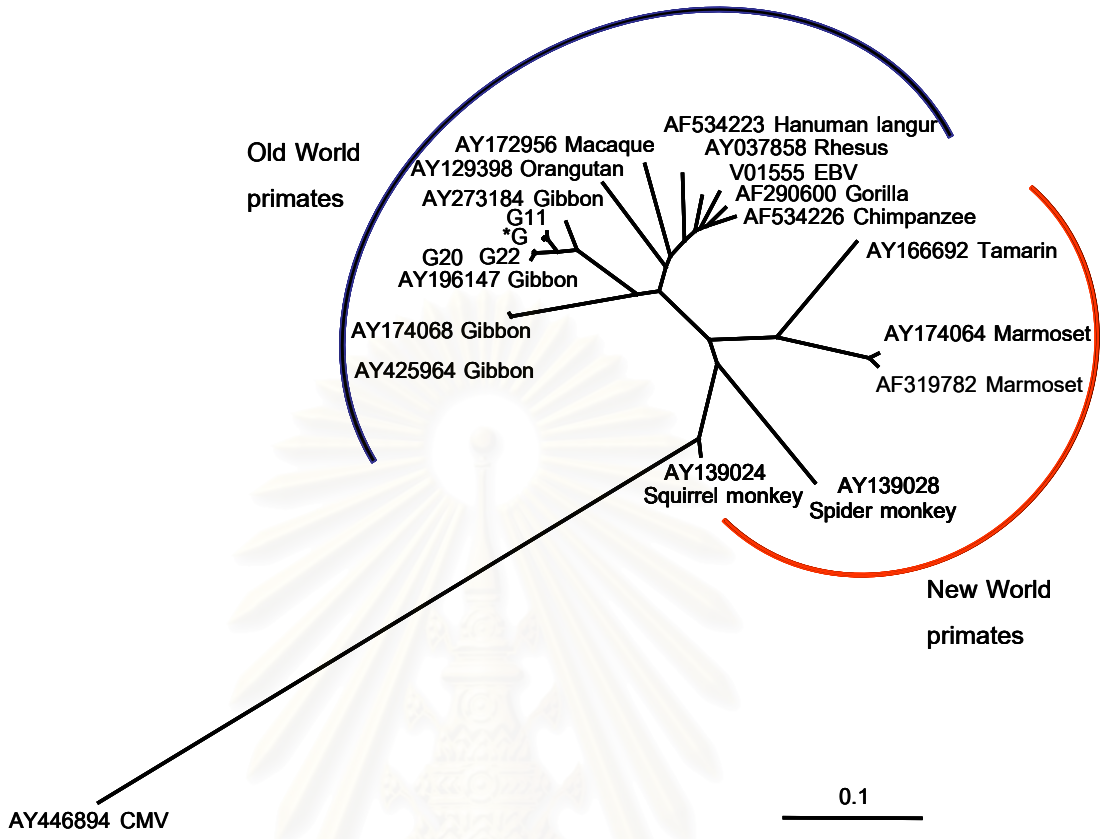
PHYLOGENETIC ANALYSIS

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ขนาด 361 bp ที่ได้จาก PBMC ชะนีทั้ง 64 ตัวอย่าง สร้าง phylogenetic tree เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ของ LCV จาก nonhuman primate อื่นที่เคยมีรายงานใน GenBank รวมทั้ง EBV (ตารางที่ 7) โดยใช้โปรแกรม CLUSTAL X และอ่านผล unrooted phylogenetic tree โดยใช้โปรแกรม TREEVIEW (รูปที่ 17) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้ CLUSTAL X คือ

1. กลุ่มที่ 1 จำนวน 62 ตัวอย่าง คือ PBMC จากชะนี G11 และ *G (G7 ถึง G70 ยกเว้น G11 G20 และ G22)
2. กลุ่มที่ 2 จำนวน 2 ตัวอย่าง คือ PBMC จากชะนี G20 และ G22

ตารางที่ 7 ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ของ primate lymphocryptoviruses จาก GenBank ที่ใช้สร้าง phylogenetic tree

Virus name	Alternative name	Accession no.
Old World primate LCV		
Hylobates lar LCV	White-handed gibbon LCV	AY196147
Hylobates muelleri LCV	Bornean gibbon LCV	AY273184
Hylobates nomascus leucogenys LCV	Northern white-cheeked gibbon LCV	AY425964
Hylobates leucogenys LCV	White-cheeked gibbon LCV	AY174068
Gorilla LCV	Gorilla LCV	AF290600
Pan troglodytes LCV	Chimpanzee LCV	AF534226
Pongo pygmaeus LCV	Orangutan LCV	AY129398
Semnopithecus entellus LCV	Hanuman langur LCV	AF534223
Macaca sylvanus LCV	Barbary macaque LCV	AY172956
Cercopithicine herpesvirus 15	Rhesus LCV	AY037858
Human herpesvirus 4	Epstein-Barr virus	V01555
New World primate lymphocryptovirus		
Ateles paniscus LCV	Spider monkey LCV	AY139028
Saimiri sciureus LCV	Squirrel monkey LCV	AY139024
Callithrix jacchus LCV	Common Marmoset LCV	AY174064
Callitrichine herpesvirus 3	Marmoset LCV	AF319782
Saguinus midas LCV	Red-footed Tamarin LCV	AY166692



รูปที่ 17 แสดง unrooted phylogenetic tree จากส่วน *pol* gene ของ LCV ในชะนีเปรียบเทียบกับ LCV ใน nonhuman primate และ EBV ในคนโดยมี Cytomegalovirus (CMV) accession number AY446894 เป็น outgroup

จาก Phylogenetic tree พบว่า LCV จาก Old World primate และ New Wordl primate จะแยกกลุ่มกันอย่างชัดเจน และพบว่า LCV ของชะนีจะแยกกิ่งออกจาก LCV ของ Old World primate อื่นๆ โดย LCV ของชะนีที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับ LCV ของชะนีที่เคยมีรายงานจากประเทศเยอรมนี accession number AY196147 มากที่สุด

จากนั้นทำการเปรียบเทียบหา %nucleotide identity ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ด้วยกันเอง (ตารางที่ 8) รวมถึงทำการเปรียบเทียบ % nucleotide identity ของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้นี้กับ nonhuman primate อื่นและ EBV โดยใช้ Sequence Identity Matrix จากโปรแกรม BioEdit version 5.0.9 ผลปรากฏว่า

1. %nucleotide identity ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ด้วยกันเอง มีค่าระหว่าง 97-100% (ตารางที่ 8)
2. %nucleotide identity ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้กับ EBV มีค่าเท่ากับ 82% (ตารางที่ 8)
3. %nucleotide identity ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ nonhuman primate LCV มีค่าดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 8 แสดงตัวอย่างการเปรียบเทียบ %nucleotide identity ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ nonhuman primate LCV และ EBV

Sequence Identity Matrix

Seq->	EBV	Gorilla	Chimp	Orang	Gibbon[1]	Gibbon[2]	*G	G11	G22	G20
EBV	100	94	94	86	82	82	82	82	82	82
Gorilla	---	100	96	88	82	83	81	81	82	82
Chimp	---	---	100	88	82	83	83	82	82	83
Orang	---	---	---	100	81	81	81	81	81	81
Gibbon[1]	---	---	---	---	100	94	97	97	100	100
Gibbon[2]	---	---	---	---	---	100	95	94	94	94
*G	---	---	---	---	---	---	100	99	97	97
G11	---	---	---	---	---	---	---	100	97	97
G22	---	---	---	---	---	---	---	---	100	100
G20	---	---	---	---	---	---	---	---	---	100

หมายเหตุ - Gibbon[1] **คือ** *H.lar* accession no. AY196147

- Gibbon[2] **คือ** *H.muelleri* accession no. AY273184
- LCV **ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่** *G (G7-G70 ยกเว้น G11 G20 และ G22) G11 G20 และ G22

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 สรุปผลการเปรียบ %nucleotide identity ระหว่าง LCV ของชะนีที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับ LCV ของ nonhuman primate และ EBV

Virus name	Alternative name	Accession no.	%Identity
Old World primate LCV			
Hylobates lar LCV	White-handed gibbon LCV	AY196147	97-100%
Hylobates muelleri LCV	Bornean gibbon LCV	AY273184	94-95%
Hylobates nomascus leucogenys LCV	Northern white-cheeked gibbon LCV	AY425964	82-83%
Hylobates leucogenys LCV	White-cheeked gibbon LCV	AY174068	71-72%
Gorilla LCV	Gorilla LCV	AF290600	81-82%
Pan troglodytes LCV	Chimpanzee LCV	AF534226	81-83%
Pongo pygmaeus LCV	Orangutan LCV	AY129398	80-81%
Semnopithecus entellus LCV	Hanuman langur LCV	AF534223	80-81%
Macaca sylvanus LCV	Barbary macaque LCV	AY172956	80-81%
Cercopithicine herpesvirus 15	Rhesus LCV	AY037858	82-83%
Human herpesvirus 4	Epstein-Barr virus	V01555	82%
New World primate lymphocryptovirus			
Ateles paniscus LCV	Spider monkey LCV	AY139028	
Saimiri sciureus LCV	Squirrel monkey LCV	AY139024	72%
Callithrix jacchus LCV	Common Marmoset LCV	AY174064	75%
Callitrichine herpesvirus 3	Marmoset LCV	AF319782	71-72%
Saguinus midas LCV	Red-footed Tamarin LCV	AY166692	71-72%
			71%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลำดับกรดอะมิโนของ LCV **ในส่วน** *pol* gene

BLAST

เมื่อแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ให้เป็นลำดับกรดอะมิโนแล้วนำลำดับกรดอะมิโนทุกเส้นเข้าโปรแกรม BLAST ปรากฏว่า (รูปที่ 18)

1. ลำดับกรดอะมิโนในกลุ่มที่ 1 คือ G11 และ *G (G7 ถึง G70 ยกเว้น G11 G20 และ G22) ใกล้เคียงกับลำดับกรดอะมิโนในส่วน *pol* gene ของ *H.lar* LCV accession no. AAP41945 และ *H.muelleri* LCV accession no. AAQ18438 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือน 99%
2. ลำดับกรดอะมิโนในกลุ่มที่ 2 คือ G20 และ G22 ใกล้เคียงกับลำดับกรดอะมิโนในส่วน *pol* gene ของ *H.lar* LCV accession no. AAP41945 และ *H.muelleri* LCV accession no. AAQ18438 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือน 100% และ 99% ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

>gi|33415858|gb|AAQ18438.1| DNA polymerase [Hylobates muelleri lymphocryptovirus 1]

Length = 144

Score = 239 bits (611), Expect = 1e-62

Identities = 118/119 (99%), Positives = 119/119 (100%)

```
Query: 1   GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIKKMLSACVNPHQRTILDKQQ 60
           GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIKKMLSACVNPHQRTILDKQQ
Sbjct: 12  GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIKKMLSACVNPHQRTILDKQQ 71

Query: 61  LAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTMLERAKAFVEALSPNDLQALAPQ 119
           LAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTMLERAKAFVEALSP+DLQALAPQ
Sbjct: 72  LAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTMLERAKAFVEALSPDDLQALAPQ 130
```

>gi|34808785|gb|AAP41945.1| DNA polymerase [Hylobates lar lymphocryptovirus 1]

Length = 153

Score = 240 bits (612), Expect = 9e-63

Identities = 118/119 (99%), Positives = 118/119 (99%)

```
Query: 1   GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIKKMLSACVNPHQRTILDKQQ 60
           GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIKKMLSAC NPHQRTILDKQQ
Sbjct: 21  GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIKKMLSACANPHQRTILDKQQ 80

Query: 61  LAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTMLERAKAFVEALSPNDLQALAPQ 119
           LAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTMLERAKAFVEALSPNDLQALAPQ
Sbjct: 81  LAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTMLERAKAFVEALSPNDLQALAPQ 139
```

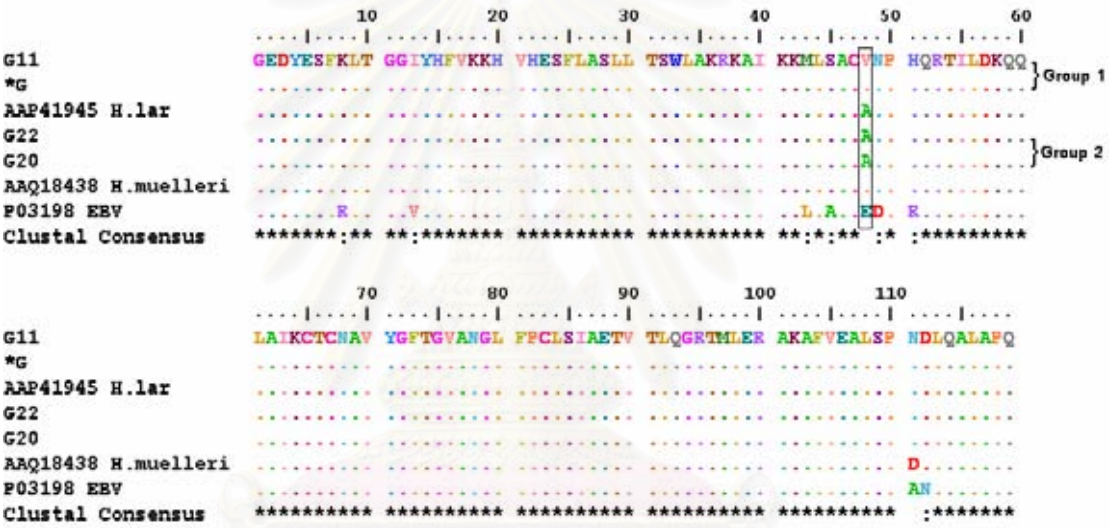
รูปที่ 18 แสดงตัวอย่างผลการ BLAST ลำดับกรดอะมิโนในส่วน pol gene ของ LCV ชะนี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CLUSTAL X

จากนั้นนำเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนที่ได้กับลำดับกรดอะมิโนอ้างอิงในส่วน *pol* gene จาก GenBank โดยใช้โปรแกรม CLUSTAL X ผลที่ได้ คือ ลำดับกรดอะมิโนของ LCV ในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีความแตกต่างกัน 1 ตำแหน่ง คือ กรดอะมิโนลำดับที่ 48 (รูปที่ 19)

1. กลุ่มที่ 1 ได้แก่ G11 และ *G (G7-G70 ยกเว้น G11 G20 และ G22) กรดอะมิโนเป็น Valine (V) เหมือนกับกรดอะมิโนของ *H.muelleri* accession number AAQ18438
2. กลุ่มที่ 2 ได้แก่ G20 และ G22 กรดอะมิโนเป็น Alanine (A) เหมือนกับกรดอะมิโนของ *H.lar* accession number AAP41945



รูปที่ 19 แสดงลำดับกรดอะมิโนของ LCV ในส่วน *pol* gene ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ เปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของ nonhuman primate และ EBV โดยที่ G11 G20 G22 และ *G (G7 ถึง G70 ยกเว้น G11 G20 และ G22) คือ ลำดับกรดอะมิโนของ LCV ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้, AAP41945 (*H.lar* LCV) AAQ18438 (*H. muelleri* LCV) และ P03198 (EBV) คือลำดับกรดอะมิโนอ้างอิงจาก GenBank , · แทนกรดอะมิโนที่เหมือนกัน, กรอบสีดำแสดงตำแหน่งของกรดอะมิโนที่สามารถแบ่ง LCV ออกได้เป็น 2 กลุ่ม

จากนั้นทำการเปรียบเทียบหา % amino acid identity ระหว่างลำดับกรดอะมิโนที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ด้วยกันเอง (ตารางที่ 10) รวมถึงทำการเปรียบเทียบ % amino acid identity ของลำดับกรดอะมิโนที่ได้นี้กับ nonhuman primate อื่นและ EBVโดยใช้ Sequence Identity Matrix จากโปรแกรม BioEdit version 5.0.9 ผลปรากฏว่า

1. %amino acid identity ระหว่างลำดับกรดอะมิโนที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ด้วยกันเอง มีค่าระหว่าง 97-100% (ตารางที่ 10)
2. %amino acid identity ระหว่างลำดับกรดอะมิโนที่ทำการศึกษาในครั้งนี้กับ EBV มีค่าเท่ากับ 92% (ตารางที่ 10)
3. %amino acid identity ระหว่างลำดับกรดอะมิโนที่ทำการศึกษาในครั้งนี้กับลำดับกรดอะมิโนของ nonhuman primate LCV มีค่าดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 10 แสดงตัวอย่างการเปรียบเทียบ %amino acid identity ของลำดับกรดอะมิโนในส่วน *pol* gene ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับลำดับกรดอะมิโนของ nonhuman primate LCV และ EBV

Seq->	Gibbon[1]	Gibbon[2]	EBV	*G	G11	G22	G20
Gibbon[1]	100	98	92	99	99	100	100
Gibbon[2]	---	100	92	99	99	98	98
EBV	---	---	100	92	92	92	92
*G	---	---	---	100	100	99	99
G11	---	---	---	---	100	99	99
G22	---	---	---	---	---	100	100
G20	---	---	---	---	---	---	100

หมายเหตุ - Gibbon[1] คือ *H.lar* accession no. AAP41945

- Gibbon[2] คือ *H.muelleri* accession no. AAQ18438
- EBV accession no. P03198
- LCV ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่ *G (G7-G70 ยกเว้น G11 G20 และ G22) G11 G20 และ G22

ตารางที่ 11 สรุปผลการเปรียบ %amino acid identity ในส่วน *pol* gene ระหว่าง LCV ของชะนีที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับ LCV ของ nonhuman primate และ EBV

Virus name	Alternative name	Accession no.	%Identity
Old World primate LCV			
Hylobates lar LCV	White-handed gibbon LCV	AY196147	99-100%
Hylobates muelleri LCV	Bornean gibbon LCV	AY273184	98-99%
Hylobates nomascus leucogenys LCV	Northern white-cheeked gibbon LCV	AY425964	92%
Hylobates leucogenys LCV	White-cheeked gibbon LCV	AY174068	92%
Gorilla LCV	Gorilla LCV	AF290600	91%
Pan troglodytes LCV	Chimpanzee LCV	AF534226	89%
Pongo pygmaeus LCV	Orangutan LCV	AY129398	88%
Semnopithecus entellus LCV	Hanuman langur LCV	AF534223	89%
Macaca sylvanus LCV	Barbary macaque LCV	AY172956	91%
Cercopithicine herpesvirus 15	Rhesus LCV	AY037858	92%
Human herpesvirus 4	Epstein-Barr virus	V01555	92%
New World primate lymphocryptovirus			
Ateles paniscus LCV	Spider monkey LCV	AY139028	86%
Saimiri sciureus LCV	Squirrel monkey LCV	AY139024	81%
Callithrix jacchus LCV	Common Marmoset LCV	AY174064	83%
Callitrichine herpesvirus 3	Marmoset LCV	AF319782	82%
Saguinus midas LCV	Red-footed Tamarin LCV	AY166692	81%

สรุป LCV ในส่วน pol gene ของชะนี

ผลจากการใช้โปรแกรม CLUSTAL X เพื่อสังเกตความเหมือนกันของลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโน และสร้าง phylogenetic tree จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV ในส่วน *pol* gene ให้ผลตรงกัน คือ LCV ที่ได้จากการศึกษานี้ทั้ง 64 ตัวอย่างสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. กลุ่มที่ 1 จำนวน 62 ตัวอย่าง คือ G11 และ *G (G7 ถึง G70 ยกเว้น G11 G20 และ G22)
2. กลุ่มที่ 2 จำนวน 2 ตัวอย่าง คือ G20 และ G22

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน *pol* gene ทุกเส้นมี %nucleotide identity ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ด้วยกันเอง มีค่าระหว่าง 97-100% โดยมีความใกล้เคียงกับ LCV ในส่วน *pol* gene ของ *H. lar* accession number AY196147 มากที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนเท่ากับ 97-100% และมีความใกล้เคียงกับ EBV มี %nucleotide identity เท่ากับ 82%

ลำดับกรดอะมิโนในส่วน *pol* gene ทุกเส้นมี %amino acid identity ระหว่างลำดับกรดอะมิโนที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ด้วยกันเอง มีค่าระหว่าง 97-100% โดยมีความใกล้เคียงกับ LCV ในส่วน *pol* gene ของ *H.lar* accession number AAP41945 และ *H.muelleri* accession number AAQ18438 มากที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนเท่ากับ 99-100% และมีความใกล้เคียงกับ EBV มี %amino acid identity เท่ากับ 92%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ชะนี (gibbons: *Hylobates* species) สามารถพบได้ทั่วไปในภูมิภาคร้อนชื้น เขตป่าฝนของทวีปเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งรวมถึงประเทศไทย ลาว กัมพูชา อินโดนีเซีย มาเลเซีย ฯลฯ ชะนีจัดอยู่ใน family *Hylobatidae* ซึ่งในประเทศไทยนั้นมีชะนีอยู่ 3 ชนิดคือ ชะนีมือขาว (*Hylobates lar*) ชะนีมงกุฎ (*Hylobates pileatus*) และชะนีมือดำ (*Hylobates agilis*) ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้มีความเสี่ยงสูงที่จะสูญพันธุ์ เนื่องมาจากแหล่งที่อยู่อาศัยของมันถูกทำลายรวมถึงการลักลอบค้าสัตว์ป่าอย่างผิดกฎหมายด้วย ดังนั้นทางรัฐบาลไทยจึงได้ขึ้นทะเบียนสัตว์เหล่านี้เป็นสัตว์ป่าคุ้มครองตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พุทธศักราช 2535 หลังจากที่ได้ขึ้นทะเบียนเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองแล้วชะนีนับร้อยตัวก็ได้รับการช่วยเหลือจากองค์กรของรัฐบาลไทยให้มีการตรวจหาโรคติดเชื้อต่างๆ เพื่อป้องกันการกระจายของโรคซึ่งอาจมีผลต่อสุขภาพและการสืบพันธุ์ของประชากรชะนีหลังจากที่ปล่อยกลับคืนสู่ป่า รวมถึงเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสมาสู่คน การตรวจหาการติดเชื้อ LCV ในชะนีที่ศูนย์อนุรักษ์และเพาะพันธุ์ชะนีกระบกคู่ จังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่าชะนี 64 ตัว (91.4%) ตรวจพบ DNA ของเชื้อไวรัส ซึ่งชะนีเหล่านี้อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสในกลุ่มประชากรชะนีอื่น ๆ ได้

การติดเชื้อ LCV ซึ่งเกี่ยวข้องกับกลุ่ม EBV ในกลุ่มลิงโลกเก่า (Old World primates) ถูกพบในช่วงต้นถึงกลางคริตศตวรรษที่ 1970 โดยผู้ที่ค้นพบได้พัฒนาการตรวจ Indirect immuno fluorescence เพื่อที่จะตรวจแอนติบอดีที่ cross-reactive ต่อ EBV capsid antigen (VCA) ในซีรั่มของกลุ่มลิงโลกเก่า **(18)** แต่ไม่สามารถตรวจแอนติบอดีที่ cross-reactive ต่อเชื้อ EBV ในกลุ่มลิงโลกใหม่ (New World primates) ได้ แสดงให้เห็นว่า LCV ถูกจำกัดให้ติดเชื้อในคนและกลุ่มลิงโลกเก่า

ชะนีที่นำมาใช้ในการทดลองนี้มีทั้งสิ้น 70 ตัว ซึ่งเป็นชะนีจากศูนย์อนุรักษ์และเพาะพันธุ์ชะนีกระบกคู่ จังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งประกอบด้วย ชะนีมือขาว 51 ตัว ชะนีมงกุฎ 18 ตัว และชะนีมือดำ 1 ตัว เพื่อที่จะตรวจหาความชุกในการติดเชื้อ LCV ในชะนีเหล่านี้ จึงได้มีการเจาะเลือดชะนีและเก็บส่วนที่เป็น Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC) แล้วจึงนำมาแยก DNA เพื่อทำ PCR ซึ่งได้กล่าวถึงในส่วนของขั้นตอนการทดลองแล้วเพื่อตรวจหาเชื้อ LCV โดยใช้ primer ที่จำเพาะต่อส่วน Polymerase Gene (primer LCVF1, LCVF2 และ LCVR2) ของเชื้อ LCV ผลจากการทำ PCR ปรากฏว่า ชะนี 64 ใน 70 ตัว คิดเป็น 91.4% มีผล DNA ของ LCV เป็นบวก โดยชะนีเหล่านี้ไม่ได้แสดงอาการผิดปกติแต่ก็สามารถแพร่กระจายเชื้อไปสู่ประชากรชะนีอื่น ๆ ได้ ซึ่งการ

ทดลองของกมลและคณะ ก็แสดงให้เห็นว่ามีการติดเชื้อ Herpesvirus ชนิดอื่น ๆ ในชะนีด้วย โดยใช้ชุดตรวจ ELISA เพื่อหา IgG แอนติบอดี ต่อ Herpesvirus ในคน พบว่า ความชุกในการติดเชื้อ HSV-1, HSV-2, CMV และ EBV เป็น 28.2%, 28.2% 17.9% และ 14.1% ตามลำดับ (7)

การตรวจหา IgG แอนติบอดีต่อแอนติเจนที่มีส่วนคล้ายคลึงกันระหว่างคนและลิงโลกเก่า (Old world nonhuman primate) (7, 29) ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีการทดลองที่เป็นมาตรฐานในการตรวจหาเชื้อ LCV ในชะนี รวมถึงยังไม่มีการพัฒนาเทคนิคทาง ELISA ที่จำเพาะต่อเชื้อ LCV ดังนั้นเพื่อที่จะพัฒนาการตรวจ ELISA ต่อเชื้อ LCV จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงการตอบสนองของชะนีต่อเชื้อ LCV รวมถึง Rhadinovirus 2 (RV2) ซึ่งเป็น Gammaherpesvirus อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจทำให้การตรวจ ELISA ต่อ เชื้อ LCV เกิดการ cross-reactive ต่อเชื้อชนิดนี้ได้

ในปัจจุบันนี้ยังไม่มีการรายงานถึงการติดเชื้อ LCV จากชะนีมายังคน แต่การติดเชื้อ LCV ในชะนีมีความชุกที่ค่อนข้างสูงซึ่งแสดงให้เห็นว่า LCV เป็นเชื้อสำคัญที่ติดต่อกันในกลุ่มชะนี นอกจากชะนีแล้ว ได้มีรายงานการติดเชื้อ LCV ในลิงแทมารีน (tamarine) ซึ่งพบว่าลิงมากกว่า 50% ติดเชื้อ LCV (30) และนอกจากนี้ยังพบว่าชะนี 8 ใน 24 ตัว คิดเป็น 33% มีการติดเชื้อ HSV-1 อีกด้วย (21)

ในการศึกษานี้ได้ทำการวิเคราะห์ในส่วนของ Polymerase Gene ของเชื้อ LCV ซึ่งพบว่าชะนีที่ศูนย์อนุรักษ์และเพาะพันธุ์ชะนีกระบกคู่มีความชุกในการติดเชื้อที่สูงโดยชะนีเหล่านั้นไม่แสดงอาการ จากการหาลำดับเบสของ Herpesvirus จากสัตว์ซึ่งมีสปีชีส์แตกต่างกันทำให้พบว่า Herpesvirus มีลักษณะที่ใกล้เคียงกัน (31) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า Herpesvirus มีวิวัฒนาการที่คล้ายคลึงกันในสัตว์ต่างสปีชีส์ ซึ่งการศึกษาวิวัฒนาการของ Herpesvirus นั้นจะมีประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษาวิวัฒนาการของ Herpesvirus ในคน (32) นอกจากนี้ได้มีศึกษาการติดเชื้อ LCV ในชะนีและพบว่าชะนีที่ติดเชื้อ LCV สามารถแสดงลักษณะที่เหมาะสมในการใช้เป็นสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาการติดเชื้อ EBV ในคนได้อย่างดี (2) ในส่วนของลำดับเบสของเชื้อ LCV นั้น ได้มีรายงานถึงความเหมือนกันของลำดับเบสระหว่างเชื้อ EBV ของคนและ LCV ของลิง Rhesus โดยพบว่ามีความคล้ายคลึงกันถึง 75.6% (5) ดังนั้นหากเปรียบเทียบระหว่างเชื้อ EBV ในคนและ LCV ในชะนีก็อาจจะพบว่าเชื้อ LCV สามารถอยู่ในชะนี ในระยะ latent phase โดยไม่แสดงอาการเช่นเดียวกับการติดเชื้อ EBV ในคนที่ไม่แสดงอาการ นอกจากนี้ ยังพบว่ามีการติดเชื้อ LCV ในกลุ่มลิงโลกใหม่จำพวกลิง Marmoset และลิง Squirrel อีกด้วย (5)

เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์เปรียบเทียบในส่วน Polymerase gene ของเชื้อ LCV แล้วพบว่าสามารถแยกออกได้เป็น 2 กลุ่มอย่างชัดเจน ซึ่งกลุ่มแรกประกอบด้วยตัวอย่างที่ G7-G70 โดยที่ G20 และ G22 จะอยู่ในกลุ่มที่สอง เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV ที่ได้ทำการ BLAST

เพื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่อยู่ใน GenBank พบว่ามีความเหมือนกับ LCV ของ *H.lar* Accession number AY196147 มากที่สุดมีค่าตั้งแต่ 97-100% และมีส่วนที่เหมือนกับ EBV ในคน accession number V015555 ถึง 82% และเมื่อทำการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ LCV แล้วพบว่าสามารถแยกตัวอย่างออกได้เป็น 2 กลุ่มเช่นเดียวกัน ซึ่งลำดับกรดอะมิโนมีความแตก ต่างกันที่ตำแหน่ง 48 โดยกลุ่มแรก คือ G7-G70 มีกรดอะมิโนเป็น Valine ในขณะที่กลุ่มที่สองมีกรดอะมิโนเป็น Alanine และเมื่อนำลำดับกรดอะมิโนของ LCV ทั้งหมดทำการ BLAST พบว่ามีความใกล้เคียงกับลำดับกรดอะมิโนของ LCV จาก *H.lar* accession number AAP41945 และ *H.muelleri* accession number AAQ18438 มากที่สุดถึง 99-100% ซึ่งการที่ LCV มีลักษณะคล้ายกับ EBV นี้จะมีผลดีต่อการศึกษาการติดเชื้อ EBV ในคนโดยใช้ชะนีที่ติดเชื้อ LCV เป็นสัตว์ทดลอง เมื่อวิเคราะห์ลำดับเบสของ LCV Polymerase gene โดย Phylogenetic tree แล้วพบว่า LCV ในกลุ่มลิงโลกเก่า แยกกิ่งจาก LCV ในกลุ่มลิงโลกใหม่อย่างชัดเจน ในกลุ่มของลิงโลกเก่าซึ่งประกอบด้วย ลิงบาบูน อุรังอุตัง ชิมแพนซี และกอริลล่านั้นพบว่า LCV ในลิงแต่ละชนิดนั้นยังไม่แยกกิ่งออกจากกันอย่างชัดเจนเนื่องจากความซับซ้อนทางวิวัฒนาการของลิงเหล่านั้น

สัตว์ในกลุ่ม Primate นั้นกล่าวได้ว่าเป็นสัตว์ที่มีความใกล้เคียงกับมนุษย์เป็นอย่างมาก ดังนั้นเราจึงให้ความสนใจในการศึกษาเกี่ยวกับการติดเชื้อไวรัสในสัตว์กลุ่มนี้เพื่อที่จะใช้เป็นสัตว์ทดลองในการเปรียบเทียบลักษณะการติดเชื้อไวรัสในคน ในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาลักษณะของเชื้อ LCV ที่ติดในชะนี โดยศึกษาจำเพาะส่วน Polymerase gene ซึ่งลักษณะของเชื้อมีลักษณะคล้ายกับเชื้อ EBV ที่ติดในคน ซึ่งคาดว่าจากการศึกษาลักษณะที่คล้ายคลึงกันนี้จะมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการศึกษาในอนาคตต่อไป โดยสามารถพัฒนาเพื่อศึกษาหาลำดับเบสของ Polymerase ทั้ง gene หรือศึกษาลำดับเบสทั้งจีโนมของ Herpesvirus เพื่อเป็นเครื่องมือสำคัญในการดูแลและป้องกันการติดเชื้อในชะนีซึ่งเป็นสัตว์ที่ใกล้จะสูญพันธุ์อีกด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

1. Peng, R.; Gordadze, A. V.; Fuentes, P. E. M.; Wang, F.; Zong, J.; Hayward, G. S. et al. Sequence and functional analysis of EBNA-LP and EBNA2 proteins from nonhuman primate lymphocryptoviruses. J Virol 74 (2000): 379-389.
2. Moghaddam, A.; Rosenzweig, M.; Lee-Parritz, D.; Annis, B.; Johnson, R. P.; and Wang, F. An animal model for acute and persistent Epstein-Barr virus infection. Science 276 (1997): 2030-2033.
3. Feichtinger, H.; Putkonen, P.; Parravicini, C.; Li, S. L.; Kaaya, E. E.; Bottiger, D. et al. Malignant lymphomas in cynomolgus monkeys infected with simian immunodeficiency virus. Am J Pathol 137 (1990): 1311-1315.
4. Ohara, N.; Hayashi, K.; Teramoto, N.; Oka, T.; Fujimoto, K.; Yoshikawa, Y. et al. Sequence analysis and variation of EBNA-1 in Epstein-Barr virus-related herpesvirus of cynomolgus monkey. Intervirology 43 (2000): 102-106.
5. Cho, Y.; Ramer, J.; Rivailler, P.; Quink, C.; Garber, R. L.; Beier, D. R. et al. An Epstein-Barr-related herpesvirus from marmoset lymphomas. Proc Natl Acad Sci U S A 2001;98:1224-1229.
6. Desrosiers, R. C.; Sasseville, V. G.; Czajak, S. C.; Zhang, X.; Mansfield, K. G.; Kaur, A. et al. A herpesvirus of rhesus monkeys related to the human Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. J Virol 71 (1997): 9764-9769.
7. Sakulwira, K.; Theamboonlers, A.; Charoonrut, P.; Ratanakorn, P.; and Poovorawan, Y. Serological evidence of herpesvirus infection in gibbons. BMC Microbiol 2 (2002): 11.
8. Cox, C.; Chang, S.; Karran, L.; Griffin, B.; and Wedderburn, N. Persistent Epstein-Barr virus infection in the common marmoset (Callithrix jacchus). J Gen Virol 77 (1996): 1173-1180.
9. Rabin, H.; Neubauer, R. H.; Hopkins, R. F. 3rd; Dzhikidze, E. K.; Shevtsova, Z. V.; and Lapin, B. A. Transforming activity and antigenicity of an Epstein-Barr-like virus from lymphoblastoid cell lines of baboons with lymphoid disease. Intervirology 8 (1977): 240-249.

10. Schooley, R. T. Epstein-Barr Virus (Infectious Mononucleosis). In, G. L. Mandell;, J. E. Bennett; and, R. Dolin (ed.), Principles and Practice of Infectious Diseases, pp. 1599-1613. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000.

11. Okano, M.; and Gross, T. G. Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic syndrome and fatal infectious mononucleosis. Am J Hematol 53 (1996): 111-115.

12. Falk, L.; Deinhardt, F.; Nonoyama, M.; Wolfe, L. G.; and Bergholz, C. Properties of a baboon lymphotropic herpesvirus related to Epstein-Barr virus. Int J Cancer 18 (1976): 798-807.

13. Gerber, P.; Pritchett, R. F.; and Kieff, E. D. Antigens and DNA of a chimpanzee agent related to Epstein-Barr virus. J Virol 19 (1976): 1090-1099.

14. Neubauer, R.H.; Rabin, H.; Strnad, B. C.; Nonoyama, M.; and Nelson-Rees, W. A. Establishment of a lymphoblastoid cell line and isolation of an Epstein-Barr-related virus of gorilla origin. J Virol 31 (1979): 845-848.

15. Rasheed, S.; Rongey, R. W.; Bruszweski, J.; Nelson-Rees, W. A.; Rabin, H.; Neubauer, R. H. et al. Establishment of a cell line with associated Epstein-Barr-like virus from a leukemic orangutan. Science 198 (1977): 407-409.

16. Fujimoto, K.; Terato, K.; Miyamoto, J.; Ishiko, H.; Fujisaki, M.; Cho, F. et al. Establishment of a B-lymphoblastoid cell line infected with Epstein-Barr-related virus from a cynomolgus monkey (Macaca fascicularis). J Med Primatol 19 (1990): 21-30.

17. Moghaddam, A.; Koch, J.; Annis, B.; and Wang, F. Infection of human B lymphocytes with lymphocryptoviruses related to Epstein-Barr virus. J Virol 72 (1998): 3205-3212.

18. Wang, F.; Rivailler, P.; Rao, P.; and Cho, Y. Simian homologues of Epstein-Barr virus. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 356 (2001): 489-497.

19. Levine, P. H.; Leiseca, S. A.; Hewetson, J. F.; Traul, K. A.; Andrese, A. P.; Granlund, D. J. et al. Infection of rhesus monkeys and chimpanzees with Epstein-Barr virus. Arch Virol 66 (1980): 341-351.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

20. Rangan, S. R.; Martin, L. N.; Bozelka, B. E.; Wang, N.; and Gormus, B. J. Epstein-Barr virus-related herpesvirus from a rhesus monkey (Macaca mulatta) with malignant lymphoma. Int J Cancer 38 (1986): 425-432.

21. Eberle, R.; and Hilliard, J. K. Serological evidence for variation in the incidence of herpesvirus infections in different species of apes. J Clin Microbiol 27 (1989): 1357-1366.

22. Gerber, P.; and Birch, S. M. Complement-fixing antibodies in sera of human and nonhuman primates to viral antigens derived from Burkitt's lymphoma cells. Proc Natl Acad Sci U S A 58 (1967): 478-484.

23. VanDevanter, D. R.; Warrener, P.; Bennett, L.; Schultz, E. R.; Coulter, S.; Garber, R. L. et al. Detection and analysis of diverse herpesviral species by consensus primer PCR. J Clin Microbiol 34 (1996): 1666-1671.

24. Chmielewicz, B.; Goltz, M.; and Ehlers, B. Detection and multigenic characterization of a novel gammaherpesvirus in goats. Virus Res 75 (2001): 87-94.

25. Sakulwira, K.; Theamboonlers, A.; Oraveerakul, K.; Chaiyabutr, N.; Bhattarakosol, P.; and Poovorawan, Y. Orangutan herpesvirus. J Med Primatol 33 (2004): 25-9.

26. Ehlers, B.; Ochs, A.; Leendertz, F.; Goltz, M.; Boesch, C.; and Matz-Rensing, K. Novel simian homologues of Epstein-Barr virus. J Virol 77 (2003): 10695-10699.

27. Sakulwira, K.; Vanapongtipagorn, P.; Theamboonlers, A.; Bhattarakosol, P.; Wananukul, S.; and Poovorawan, Y. Detection and differentiation of human herpesviruses 1-5 by consensus primer PCR and RFLP. Asian Pac J Allergy Immunol 21 (2003): 55-61.

28. Noppornpanth, S.; Haagmans, B. L.; Bhattarakosol, P.; Ratanakorn, P.; Niesters, H. G.; Osterhaus, A. D.; and Poovorawan, Y. Molecular epidemiology of gibbon hepatitis B virus transmission. J Gen Virol 84 (2003): 147-155.

29. Gerber, P.; Kalter, S. S.; Schidlovsky, G.; Peterson, W. D. Jr.; and Daniel, M. D. Biologic and antigenic characteristics of Epstein-Barr virus-related Herpesviruses of chimpanzees and baboons. Int J Cancer 20 (1977): 448-459.

30. de Thoisy, B.; Pouliquen, J. F.; Lacoste, V.; Gessain, A.; and Kazanji, M. Novel gamma-1 herpesviruses identified in free-ranging new world monkeys (golden-handed tamarin [Saguinus midas], squirrel monkey [Saimiri sciureus], and white-faced saki [Pithecia pithecia]) in French Guiana. J Virol 77 (2003): 9099-9105.

31. Karlin, S.; Mocarski, E. S.; and Schachtel, G. A. Molecular evolution of herpesviruses: genomic and protein sequence comparisons. J Virol 68 (1994): 1886-1902.

32. McGeoch, D. J.; Dolan, A.; Ralph, A. C. Toward a comprehensive phylogeny for mammalian and avian herpesviruses. J Virol 74 (2000): 10401-10406.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

1. 5 x Tris borate buffer (5 x TBE)

Tris – base	54	กรัม
Boric acid	27.5	กรัม
EDTA (pH 8.0)	20	มิลลิลิตร

จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2. 1 x Tris borate buffer (1 x TBE)

5 x TBE	200	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	800	มิลลิลิตร

3. 2% (w/v) agarose gel

Agarose gel	4	กรัม
1 x TBE	200	มิลลิลิตร

เขย่าแล้วนำเข้าไมโครเวฟจนกว่า agarose gel จะละลายหมด

4. 10% Ethidium bromide

Ethidium bromide	30	ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	300	มิลลิลิตร

5. loading dye

0.25% Bromphenol blue

40% (w/v) sucrose in water

จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วเก็บที่ 4 ^{0}C

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 12 แสดงการแปลงนิวคลีโอไทด์ 3 ตัวเป็นกรดอะมิโน1 ตัว

	2nd				
1st	C	T	A	G	3rd
C	Proline [*Pro*, P]	Leucine [*Leu*, L]	Histidine [*His*, H]	Arginine [*Arg*, R]	C
	Proline [*Pro*, P]	Leucine [*Leu*, L]	Histidine [*His*, H]	Arginine [*Arg*, R]	T
	Proline [*Pro*, P]	Leucine [*Leu*, L]	Glutamine [*Gln*, Q]	Arginine [*Arg*, R]	A
	Proline [*Pro*, P]	Leucine [*Leu*, L]	Glutamine [*Gln*, Q]	Arginine [*Arg*, R]	G
T	Serine [*Ser*, S]	Phenylalanine [*Phe*, F]	Tyrosine [*Tyr*, Y]	Cysteine [*Cys*, C]	C
	Serine [*Ser*, S]	Phenylalanine [*Phe*, F]	Tyrosine [*Tyr*, Y]	Cysteine [*Cys*, C]	T
	Serine [*Ser*, S]	Leucine [*Leu*, L]	**Stop**	**Stop**	A
	Serine [*Ser*, S]	Leucine [*Leu*, L]	**Stop**	Tryptophan [*Trp*, W]	G
A	Threonine [*Thr*, T]	Isoleucine [*Ile*, I]	Asparagine [*Asn*, N]	Serine [*Ser*, S]	C
	Threonine [*Thr*, T]	Isoleucine [*Ile*, I]	Asparagine [*Asn*, N]	Serine [*Ser*, S]	T
	Threonine [*Thr*, T]	Isoleucine [*Ile*, I]	Lysine [*Lys*, K]	Arginine [*Arg*, R]	A
	Threonine [*Thr*, T]	Methionine [*Met*, M]	Lysine [*Lys*, K]	Arginine [*Arg*, R]	G
G	Alanine [*Ala*, A]	Valine [*Val*, V]	Aspartic acid [*Asp*, D]	Glycine [*Gly*, G]	C
	Alanine [*Ala*, A]	Valine [*Val*, V]	Aspartic acid [*Asp*, D]	Glycine [*Gly*, G]	T
	Alanine [*Ala*, A]	Valine [*Val*, V]	Glutamic acid [*Glu*, E]	Glycine [*Gly*, G]	A
	Alanine [*Ala*, A]	Valine [*Val*, V]	Glutamic acid [*Glu*, E]	Glycine [*Gly*, G]	G

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

ข้อมูลรายละเอียดของชะนี

No.	Name	microchip code	Species	Cage	sex	Born	Arrived	Accession no.
G1	Tua	122721665A	*H. lar*	C7	F	1984		-
G2	Ream	116529115A	*H. lar*	L13	F	1992		-
G3	Ice	116749756A	*H. lar*	R5	F		2000	-
G4	Nana	-	*H. lar*	R17	F	1992		-
G5	Clyde	401B15183B	*H. lar*	R25	F	1994		-
G6	Bonnie	401A2C2D14	*H. lar*	R25	F	1994		-
G7	Mek	122762633A	*H. lar*	C2	F	1991		AY972555
G8	Pok	122758331A	*H. lar*	C2	M	1991		AY972556
G9	Ted	TN000049337	*H. lar*	C3	M			AY972557
G10	Jew	122749117A	*H. lar*	C4	F	1980		AY972558
G11	John	122746332A	*H. lar*	C4	M		1996	AY972559
G12	Ying Yong	TN000875082	*H. lar*	C5	M	1987		AY972560
G13	Apple	TN000101833	*H. lar*	C6	M	1988		AY972561
G14	Phoon	116827386A	*H. lar*	C7	M	1990		AY972562
G15	Toffee	116917373A	*H. lar*	C8	F			AY972563
G16	Brownie	122731673A	*H. lar*	C8	M			AY972564
G17	Benzo	122712683A	*H. lar*	C9	M	1982		AY972565
G18	Phong	122677497A	*H. lar*	C10	M			AY972566
G19	Sang	116749797A	*H. lar*	L14	F	1995		AY972567
G20	Baloo	116736464A	*H. lar*	L14	M	1995		AY972568
G21	L16M	401A1F6E45	*H. lar*	L16	M	1994		AY972569
G22	Vetan	12276132A	*H. lar*	R1	F	1984		AY972570
G23	Rusty	122752561A	*H. lar*	R3	M		1996	AY972571
G24	Ivana	TN000772361	*H. lar*	R4	F	1987		AY972572
G25	Jacko	TN001097325	*H. lar*	R4	M	1988		AY972573
G26	Darkie	116939650A	*H. lar*	R5	M		2000	AY972574
G27	Kingkong	122677225A	*H. lar*	R6	M		1996	AY972575
G28	Jieb	122676565A	*H. lar*	R6	F	1982		AY972576
G29	Kong2	122676527A	*H. lar*	R7	M	1991		AY972577
G30	Somsak	OOO887520	*H. lar*	R8	M	1988		AY972578
G31	Plaa	116936761A	*H. lar*	R9	F	1989		AY972579
G32	Diaw	116414222A	*H. lar*	R9	M			AY972580
G33	Bun	-	*H. lar*	R11	M	1985		AY972581
G34	Mongkut	401A54437C	*H. lar*	R12	M	1990		AY972582

No.	Name	microchip code	Species	Cage	sex	Born	Arrived	Accession no.
G35	Ooy	-	*H. lar*	R13	M	1986		AY972583
G36	Thongchai	-	*H. lar*	R14	M	1987		AY972584
G37	Emmee	116833533A	*H. lar*	R15	F		1997	AY972585
G38	Songdiaw	-	*H. lar*	R15	M		1997	AY972586
G39	Ole	116824574A	*H. lar*	R16	M		1997	AY972587
G40	Pek	-	*H. lar*	R16	M		1997	AY972588
G41	Quan	-	*H. lar*	R17	F	1993		AY972589
G42	Pokpik	401A2F3D3A	*H. lar*	R19	F		1998	AY972590
G43	Dokdik	401A682508	*H. lar*	R19	F		1998	AY972591
G44	Kevin	1167525964A	*H. lar*	R20	F		2000	AY972592
G45	Mickey	401A371D16	*H. lar*	R21	M	1987		AY972593
G46	Emma	116758633A	*H. lar*	R22	F	1988		AY972594
G47	Namhieb	4019553A1A	*H. lar*	R23	F	1986		AY972595
G48	Jaay	OOO803791	*H. lar*	R24	F	1992		AY972596
G49	Nicole	116869170A	*H. lar*	R26	F			AY972597
G50	Midnight	122677730A	*H. lar*	R27	M	1989		AY972598
G51	Roger	401A606631	*H. lar*	R28	M		1989	AY972599
G52	Piercy	122709363A	*H. pileatus*	C11	F		1996	AY972600
G53	Leuis	122717623A	*H. pileatus*	C12	F	1990		AY972601
G54	Mila	TN000773585	*H. pileatus*	C12	F	1990		AY972602
G55	Kristine	122709557A	*H. pileatus*	C13	M	1993		AY972603
G56	Saan	122752495A	*H. pileatus*	C13	M	1983		AY972604
G57	Chim	116464221A	*H. pileatus*	C14	F	1990		AY972605
G58	Saboo	TN000770817	*H. pileatus*	C15	M	1990		AY972606
G59	Ni	116411213A	*H. pileatus*	C15	F	1991		AY972607
G60	Nong Chai	116444145A	*H. pileatus*	C16	M	1989		AY972608
G61	Pilly	TN000311539	*H. pileatus*	C17	M	1989		AY972609
G62	Nong Ni	TN00307095	*H. pileatus*	C17	F	1988		AY972610
G63	Farouk	401B256844	*H. pileatus*	C18	M	1993		AY972611
G64	Roen	122746225A	*H. pileatus*	C19	M	1992		AY972612
G65	Koo	116757314A	*H. pileatus*	C20	F	1985		AY972613
G66	Jack	116752443A	*H. pileatus*	C20	M	1985		AY972614
G67	Candy	401A697335	*H. pileatus*	C21	F	1982		AY972615
G68	Daew	401D0A1A4B	*H. pileatus*	C22	F			AY972616
G69	Gift	122676133A	*H. pileatus*	C23	F		1998	AY972617
G70	Tarzan	401A2F3C0D	*H. agilis*	L18	M			AY972618

ภาคผนวก ง

แสดงรายงานการตีพิมพ์บางส่วนของวิทยานิพนธ์ในวารสาร

1. ปิรยา ภักดีวิโรจน์, สัญชัย พยุงภร, อภิรดี เทียมบุญเลิศ, ยง ภู่วรวรรณ. Non-human primate lymphocryptovirus. คู่มือและบทคัดย่อ ประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 14 สมาคมไวรัสวิทยา (ประเทศไทย), 2547: 33-37.
2. คาดว่าจะได้ตีพิมพ์ในวารสาร Journal of Medical Primatology หัวข้อเรื่อง Prevalence and Characterization of Polymerase Gene of Gibbon Lymphocryptovirus

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Non-human Primates Lymphocryptovirus

ปิรยา ภักดีวิโรจน์[1], สัญชัย พยุงภร[2], อภิรดี เทียมบุญเลิศ[3], ยง ภู่วรวรรณ[3]

[1] นิสิตมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์, [2] นิสิตดุษฎีบัณฑิต สาขาชีวเวชศาสตร์ ,
[3] ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านไวรัสตับอักเสบ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

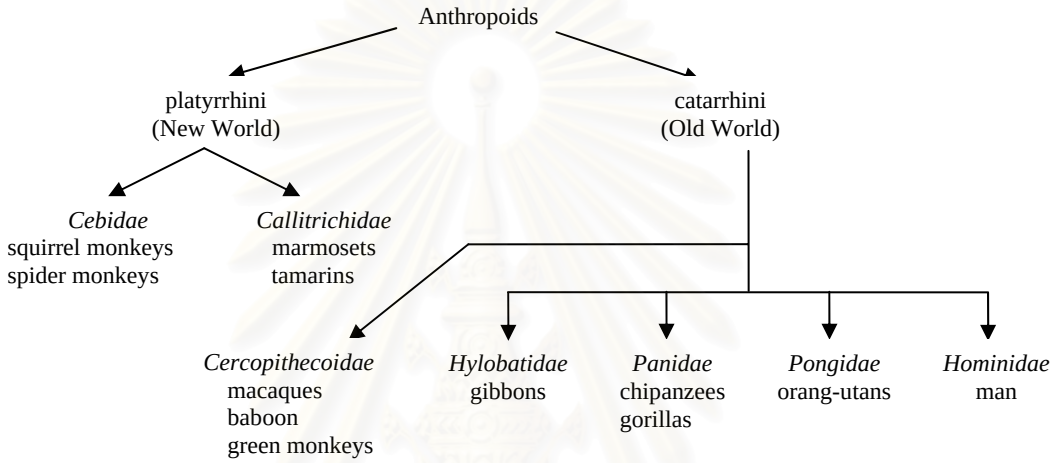
ลิมโฟคริพโตไวรัส เป็นดีเอ็นเอไวรัสสายคู่ ในกลุ่ม *Herpesviridae* ไวรัสในกลุ่มนี้ทำให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์เป็นจำนวนมากโดยมีการแยก subfamily ออกเป็น *Alpha-, Beta-* และ *Gammaherpes virinae*โดยที่ subfamily *gammaherpesvirinae* แบ่งเป็น genus *Lymphocryptovirus* (LCV) และ *Rhadinovirus* (RRV) สำหรับ genus *Lymphocryptovirus* ประกอบด้วยไวรัส 2 ชนิดคือ Epstein-Barr virus (EBV) เป็นไวรัสก่อโรคในคนและ Simian Lymphocryptovirus (LCV) ทำให้เกิดโรคในสัตว์กลุ่ม nonhuman primate

LCV ในคนหรือ EBV เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรค Infectious mononucleosis (IM) และมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งในคน เช่น Burkitt's lymphoma, nasopharyngeal carcinoma, B-cell lymphoproliferative disorder, Hodgkin's disease และ gastric carcinoma[(1)] การติดเชื้อ EBV เริ่มต้นโดยผ่านทางน้ำลายและไวรัสจะเพิ่มจำนวนได้ดีที่บริเวณ oropharyngeal epithelial cell แล้วทำให้เกิดการติดเชื้อใน B cell โดยผ่านทาง oropharynx เป็นผลให้เกิดการติดเชื้อแบบซ่อนเร้นใน B cell (latent infection) และเพิ่มจำนวนเป็นบางครั้งในปริมาณน้อยที่ orophaynx[(2)] การติดเชื้อ EBV ในระยะ latent infection นี้ โดยทั่วไปจะไม่แสดงอาการ แต่สามารถพัฒนากระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ lymphocyte (lymphoproli feration) และกลายเป็นมะเร็งได้ (lymphoma) ถ้าผู้ป่วยนั้นอยู่ในสภาวะการกดภูมิคุ้มกันหรือภาวะภูมิคุ้ม กันบกพร่องโดยกำเนิด (congenital immunodeficiencies) และการได้รับยากดภูมิคุ้มกันหลังจากการทำปลูกถ่ายเนื้อเยื่อหรือติดเชื้อ HIV[(3)]

ลิงโลกเก่า (The Old World non-human primate) เช่นลิง macaques บาบูน และลิงโลกใหม่ (The New World monkey) เช่น ชิมแพนซี ชะนี โดยทั่วไปจะมีการติดเชื้อ herpesviruses ในsubgroup เดียวกันกับ EBV คือ LCV subgroup ซึ่งมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับไวรัส EBV ในคนเป็นอย่างมาก โดย genome จะ homologous กันและมีคุณลักษณะทางชีววิทยาร่วมกัน[(2)] ไวรัสทั้งสองหรือในกลุ่มนี้น่าจะมีสายวิวัฒนา การร่วมกัน การติดเชื้อ LCV พบได้มากในลิงกลุ่มวัย

เจริญพันธุ์ มีการติดเชื้อในกระแสเลือดและบริเวณ oropharynx ตลอดชีวิตและ LCV สามารถทำให้เกิดมะเร็งในลิงที่อยู่ในภาวะกดภูมิคุ้มกันได้[2, 3] เช่น ในลิง Marmoset[4]

ปัจจุบัน LCV ในสัตว์ตระกูลต่างๆมีความเกี่ยวพันธ์กัน จากการศึกษา phylogenetic analysis ทำให้ทราบว่าไวรัสในกลุ่มนี้มีความเชื่อมโยงและสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ เช่น ในอุรังอุตังมีการติดเชื้อ gamma herpesvirus ที่คล้ายกับ EBV ในคน และมีการศึกษาถึง LCV ในลิงชนิดอื่นอีก เช่น baboon, rhesus, marmoset, cynomolgus macaque[5-7]



รูปที่ 1 แสดงอนุกรมวิธานของ primates[8]

การติดเชื้อ LCV ใน non-human primates มีความคล้ายคลึงกับการติดเชื้อ EBV ในคน โดย non-human primates จะให้ผลบวก viral capsid antigen (VCA) Antibody ใน serum ตั้งแต่แรกเกิด เนื่องจากมีการส่งผ่าน Antibody ของแม่ แต่หลังจาก 4-6 เดือน VCA Antibody จะเป็นลบ ซึ่งส่วนใหญ่พบว่าผล VCA Antibody จะกลับมาบวกอีกครั้งเมื่ออายุประมาณ 1 ปี แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อมีความชุกสูง Antibody ที่สร้างขึ้นนี้จะอยู่ตลอดชีวิตและสามารถเกิด cross react กับ EBV antigen จึงนำมาใช้จำแนกการติดเชื้อ LCV ในลิงได้[9] ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการแยก B-cell line ที่ติดเชื้อ LCV จาก peripheral blood ของลิงสุขภาพดี และมีประโยชน์ในการตรวจหาไวรัสที่หลบซ่อนอยู่บริเวณ oropharynx ทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างคนและ non-human primate ซึ่งเป็น host ของ LCV

ชะนีไทยสามารถตรวจพบ antiHSV1 antiHSV2 antiCMV และantiEBV IgG ได้ร้อยละ 28.2 28.2 17.9 และ14.1 ตามลำดับ[10] อย่างไรก็ตามการตรวจดังกล่าวเป็นการตรวจโดยวิธี ELISA โดยใช้น้ำยาที่ใช้ตรวจหา herpesvirus ในคน ทำให้เชื่อว่า herpesvirus ที่อยู่ในสัตว์จำพวก non-human primates น่าจะมีการ cross reactivity กับ herpesvirus ในคนได้

LCV ในสัตว์โดยเฉพาะในกลุ่มลิงไม่มีหาง (Apes) ได้แก่ ชิมแพนซี กอริลลา อุรังอุตัง ชะนี และคน ไวรัสในกลุ่มนี้จะใกล้เคียงกับ EBV ในคนมาก แต่ข้อมูลเกี่ยวกับ genome ของ LCV ในชะนียังไม่มีมากนัก การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่จะทำให้ทราบรายละเอียดดังกล่าว และเพื่อจะได้ข้อมูลที่เป็นไวรัสชนิดใหม่ (Novel virus) การศึกษาเพื่อหาลำดับเบสของ LCV ในชะนีโดยเฉพาะในส่วน polymerase gene (*pol* gene) ทำให้ทราบลำดับวิวัฒนาการที่ถูกต้องชัดเจนขึ้น เนื่องจากเป็นส่วนที่มีความ conserve ที่เหมาะสม นอกจากนี้การศึกษาข้อมูลพื้นฐานการติดเชื้อ LCV ในชะนีจะเป็นประโยชน์สามารถนำมาประยุกต์เป็น animal model เพื่อเป็นแบบจำลองการติดเชื้อ EBV ในคนได้เป็นอย่างดี เนื่องจากชะนีมีวิวัฒนาการใกล้เคียงกับคนมากกว่าลิงชนิดอื่นๆที่มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และลักษณะสายพันธุ์ของ Herpesvirus โดยเฉพาะ LCV ที่อยู่ในชะนียังไม่มีข้อมูลเพียงพอ

การตรวจหา LCV ในเม็ดเลือดขาวโดยวิธี Seminested PCR

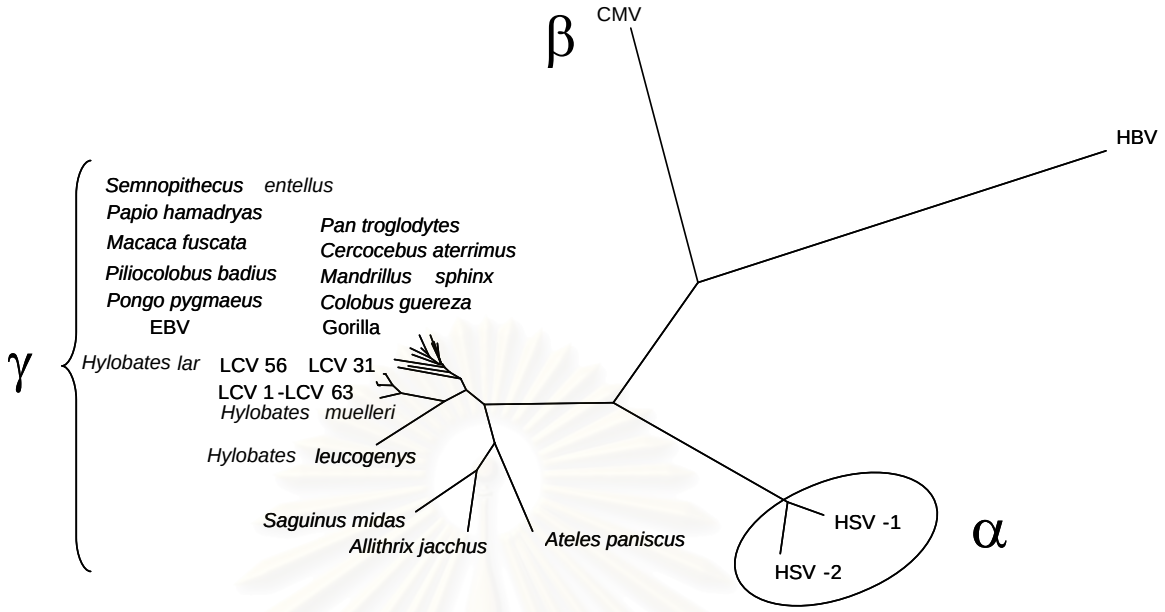
เริ่มต้นจากการออกแบบ primers ที่จำเพาะต่อส่วน *pol* gene เพื่อใช้ในการเพิ่มจำนวน DNA ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) ทำการปรับสภาวะของปฏิกิริยา PCR จากนั้นคัดเลือก sample ที่ให้ผล LCV positive ซึ่งมีขนาด 416 bp ไปทำการหาลำดับเบส (DNA sequencing) เพื่อตรวจสอบลำดับเบสที่ได้ แล้วนำมาเป็น positive control

ตรวจหาเชื้อ LCV ในเม็ดเลือดขาวชะนี จำนวนทั้งสิ้น 68 ตัวอย่าง พบว่าให้ผลบวก 63 ตัวอย่าง ผลลบ 5 ตัวอย่าง โดยใช้ยีน Glyceraldehyde-3-phosphatedehydrogenase (GAPDH) เป็น internal control ขนาด product 199 bp

การตรวจสอบลำดับเบสของ LCV DNA ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณ DNA โดยการทำ DNA sequencing

จาก 63 ตัวอย่าง ที่ให้ผลบวกจากการทำ Seminested PCR นำมาทำ DNA sequence มาเปรียบเทียบกับ sequence ที่มีรายงานไว้ใน GenBank database พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ LCV ใน *H. lar* (ความเหมือนร้อยละ 98)

จากนั้นจึงนำ DNA sequence ที่ได้ทำ Phylogenetic analysis เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของ LCV ในชะนีทั้ง 63 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับ LCV และ herpesvirus กลุ่มอื่นๆ ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงการวิเคราะห์กลุ่มชนิดไวรัสโดย phylogenetic analysis ในส่วนของ *pol* gene

จาก phylogenetic tree พบว่า nucleotide sequence ในส่วน polymerase gene ของ LCV ในชะนีที่ได้จากการศึกษานี้ มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการใกล้เคียงกับ LCV ในกลุ่ม Primates อื่นๆ นอกจากนี้มีความใกล้เคียงกับ EBV ซึ่งอยู่ในกลุ่ม gammaherpesvirus ด้วย

ขณะนี้ได้ทำการ walking เพื่ออ่านลำดับเบสของ *pol* gene LCV ของชะนีให้ได้ครบทั้งยีน

การศึกษาดังกล่าว นับเป็นการศึกษาพื้นฐานของไวรัส LCV ในสัตว์ต่างสายพันธุ์ เพื่อเปรียบเทียบและใช้เป็นแบบอย่างในการศึกษารายละเอียดต่อไปในอนาคต โดยใช้เปรียบเทียบกับ EBV และกลไกการเกิดโรคในมนุษย์ต่อไป โดยเฉพาะกลไกการเกิด oncogenesis ของไวรัสในกลุ่มดังกล่าว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทาง ไวรัสตับอักเสบ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และสำนักงานส่งเสริมการวิจัยแห่งประเทศไทย สกว. ในส่วนเมธีวิจัยอาวุโส สกว. ศ.นพ. ยง ภู่วรวรรณ ที่ได้ให้การสนับสนุนกลุ่มวิจัยและการพัฒนาวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Peng R, Gordadze AV, Fuentes Panana EM, Wang F, Zong J, Hayward GS, et al. Sequence and functional analysis of EBNA-LP and EBNA2 proteins from nonhuman primate lymphocryptoviruses. J Virol 2000;74:379-89.
2. Moghaddam A, Rosenzweig M, Lee-Parritz D, Annis B, Johnson RP, Wang F. An animal model for acute and persistent Epstein-Barr virus infection. Science 1997;276:2030-3.
3. Feichtinger H, Putkonen P, Parravicini C, Li SL, Kaaya EE, Bottiger D, et al. Malignant lymphomas in cynomolgus monkeys infected with simian immunodeficiency virus. Am J Pathol 1990;137:1311-5.
4. Cox C, Chang S, Karran L, Griffin B, Wedderburn N. Persistent Epstein-Barr virus infection in the common marmoset (Callithrix jacchus). J Gen Virol 1996;77:1173-80.
5. Ohara N, Hayashi K, Teramoto N, Oka T, Fujimoto K, Yoshikawa Y, et al. Sequence analysis and variation of EBNA-1 in Epstein-Barr virus-related herpesvirus of cynomolgus monkey. Intervirology 2000;43:102-6.
6. Cho Y, Ramer J, Rivailler P, Quink C, Garber RL, Beier DR, et al. An Epstein-Barr-related herpesvirus from marmoset lymphomas. Proc Natl Acad Sci U S A 2001;98:1224-9.
7. Desrosiers RC, Sasseville VG, Czajak SC, Zhang X, Mansfield KG, Kaur A, et al. A herpesvirus of rhesus monkeys related to the human Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. J Virol 1997;71:9764-9.
8. Wang F, Rivailler P, Rao P, Cho Y. Simian homologues of Epstein-Barr virus. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2001;356:489-97.
9. Rabin H, Neubauer RH, Hopkins RF, 3rd, Dzhikidze EK, Shevtsova ZV, Lapin BA. Transforming activity and antigenicity of an Epstein-Barr-like virus from lymphoblastoid cell lines of baboons with lymphoid disease. Intervirology 1977;8:240-9.
10. Sakulwira K, Theamboonlers A, Charoonrut P, Ratanakorn P, Poovorawan Y. Serological evidence of herpesvirus infection in gibbons. BMC Microbiol 2002;2:11.

Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of Gibbon Lymphocryptovirus

Piraya Phakdeewirot, Sunchai Payungporn, Salin Chutinimitkul, Apiradee Theamboonlers and Yong Poovorawan

Center of Excellence in Viral Hepatitis Research, Faculty of Medicine,

Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

Correspondence address:

Professor Yong Poovorawan, MD

Center of Excellence in Viral Hepatitis Research

Department of Pediatrics

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University and Hospital

Rama IV road, Patumwan

Bangkok, Thailand 10330

Email: Yong.P@chula.ac.th

Tel.: +662-2256-4909

Fax: +662-2256-4929

Running title: Gibbon lymphocryptovirus

Total number of Text:

Figures: 2

Tables: 1

Key Word: Gibbon, Herpesvirus, lymphocryptovirus, polymerase gene, *Hylobates*, Prevalence

Acknowledgements of funding: This project was supported by the CE in Viral Hepatitis Research the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University & Hospital and the Thailand Research Fund, Senior Research Scholar.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Abstract

Lymphocryptovirus (LCV), an infectious agent of global distribution, is found in various non-human primates. As a herpesvirus inherently infecting gibbons it is closely related to human Epstein-Barr virus (EBV) with which it shares considerable genetic, biologic and epidemiologic features. In order to investigate its seroprevalence and molecular characterization we collected blood samples from 70 gibbons (51 *Hylobates lar*, 18 *Hylobates pileatus* and 1 *Hylobates agilis*) for further separation into serum and peripheral blood mononuclear cells (PBMC). Only 13/70 (18.6%) sera were serologically positive for human EBV IgG but 64/70 (91.4%) PBMCs yielded the partial LCV DNA polymerase gene by semi-nested PCR as a 416-bp product, which we subjected to direct sequencing and comparison with nucleotide sequences stored in GenBank applying the BLAST program. All sequences showed 84% nucleic acid and 91% amino acid identity to human EBV. Phylogenetic tree analysis demonstrated gibbon LCVs clustered separately from other *gammaherpesvirinae* but closely related to LCV of other species. Further characterization of nonhuman primate LCV might thus provide new insight into both evolution and pathogenicity of *gammaherpesvirinae* .

Introduction

Herpesvirus is a large double stranded DNA virus, a member of the *Herpesviridae* family which is not only found in humans but also in many animal species including primates. This family can be divided into three subfamilies, *alpha-, beta-*, and *gammaherpesvirinae*, on the basis of their distinct biological properties, genomic organization, and sequence relatedness. The gammaherpesviruses include EBV and related B-cell-tropic viruses infecting great apes and Old World primates which are known as the lymphocryptoviruses [20]. The gamma subgroup also includes the T-cell-tropic herpesvirus saimiri of New World primates and related members detected in horses, cattle and other species which have been called rhadinoviruses. Epstein-Barr virus (EBV) is a human gammaherpesvirus of the lymphocryptovirus (LCV) genera which is associated with the development of several different malignancies, including B-cell lymphomas, Burkitt's lymphoma, nasopharyngeal carcinomas, Hodgkin's disease and

gastric carcinomas. EBV is generally spread to and between young children through saliva with subsequent virus replication in the oropharynx and infection of peripheral blood B lymphocytes. Thereupon, EBV persists as a latent infection in a small fraction of B lymphocytes and replicates sporadically at low levels in the oropharynx. Latent EBV infection is generally asymptomatic but it can lead to lymphoproliferation and lymphomas in individuals that are immunosuppressed due to congenital immunodeficiencies, immunosuppressive drugs after transplantation, or human immunodeficiency virus (HIV) infection [19].

The Old World nonhuman primates, such as macaques, baboon, chimpanzees, and apes, are inherently infected with EBV-related viruses of the same lymphocryptovirus subgroup [1, 9]. The simian LCV genomes are colinearly homologous with the EBV genome and the repertoire of lytic and latent infection genes is virtually identical [12, 17]. EBV and nonhuman LCV also share common biological properties, including a high prevalence among the adult population, persistent infection of the peripheral blood and oropharynx, and a potential for LCV-induced malignancies in immunosuppresed hosts [9, 17] such as lymphoma reported in marmoset [2, 3]. The primates have LCV-infected B cells in the peripheral blood and maintain serum antibodies for life [10]. These antibodies closely relate and cross-react with EBV antigens and can be used to identify LCV infection in nonhuman primates [5, 13, 19, 21]. Knowledge of nonhuman lymphocryptovirus is advantageous for preparing a database on LCV in case of cross-species infection or transmission to humans and for choosing a suitable nonhuman primate model for further comparative studies between LCV and EBV infection in humans. An infectious disease screening process is necessary to interrupt the spread of diseases, including herpesvirus infection. However, the data on seroprevalence, as well as the molecular structure of gibbon and nonhuman primate herpesvirus is still limited.

Our objective has been to study the prevalence and perform molecular characterization and phylogenetic analysis on the polymerase gene of LCV in gibbons in Thailand.

Materials and Methods

Study population

A total of 70 captive gibbons kept at the Krabok Koo Wildlife Breeding Centre, Royal Forest Department in Cha-Cheng-Sao, Thailand, were included in the study. The gibbons are housed in small monogamous families. Most of them were born in the wild and all were examined and determined to be in good health. The population consisted of 37 males and 33 females between 1 and 21 years old and belonging to the following species: *H. lar* (white-handed gibbon, n=51), *H.pileatus* (pileated gibbon, n=18) and *H.agilis* (black-handed gibbon, n=1).

Sample collection.

Seventy blood samples were obtained by venipuncture during a brief period of anesthesia by Ketamine according to the routine health-care program. Sera were separated from clotted blood within 12 hours by centrifugation at 1500 rpm for 10 minutes. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were separated from whole EDTA blood applying Ficoll-Hypaque gradients. All specimens were stored at -70 °C until further analysis.

Serology

As no screening test is available for gibbon herpesviruses, screening for serum antibodies against EBV was performed by ELISA using the HUMAN-ELISA-Antibodies-Test (Human, Wiesbaden, Germany). The procedure applied followed the manufacturer's recommendations. An optical density of the tested specimens above the cut-off value was considered a positive result. The part of results has been reported elsewhere.

LCV DNA extraction

DNA was extracted from 100 μl PBMC with proteinase K/SDS in Tris buffer, pH 8, followed by phenol/chloroform extraction and ethanol precipitation. The pellet was dissolved in 30 μl sterile water and directly subjected to semi-nested PCR based amplification.

Semi-nested PCR for LCV DNA detection

LCV DNA was amplified in an automated thermocycler (GeneAmp PCR System 2400, Perkin-Elmer, Boston) using semi-nested primers specific for the DNA polymerase gene of LCV. The primers for gibbon LCV detection were designed following the published sequence on the GenBank database (AY196147). For the first round of amplification we used forward primer LCV F1 (5'-TGTTATTCTACTATGATAACGC-3') and reverse primer LCV R1 (5'-ACTGCCYCCCGGGTTAAG-3'). The second round was performed applying forward primer LCV F1 and reverse primer LCV R2 (5'-GGCTGAGGGGCCAATGCCT-3'). The reaction mixtures for both PCR rounds were prepared in an identical manner. Briefly, one μl of DNA sample was combined with a reaction mixture containing 10 μl of 2.5X Eppendorf MasterMix (Hamburg, Germany), 0.5 μM forward primer, 0.5 μM reverse primer and sterile water in a final volume of 25 μl. Both PCR rounds were performed under the following conditions: After an initial 5 min pre-denaturation step at 94°C, 35 cycles of amplification were performed, each including 1 minute denaturation at 94°C, 30 second annealing at 55°C and 1 minute extension at 72°C, followed by a final 7 minutes extension step at 72°C.

Internal PCR amplification control

As the house-keeping gene, GAPDH (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) was selected thus serving as an internal control for DNA extraction. GAPDH DNA was amplified by using forward primer GAPDH F (5'-CTTCACCACCATGGAGAAGG-3') and GAPDH R (5'-GTTGTCATGGATGACCTTGGC-3').

The primers were located in conserved regions to ensure high sensitivity for the amplification. Agarose gel electrophoresis

Each amplified DNA sample (10 μl) was added to loading buffer (5 μl) and run on a 1.5% agarose gel stained with ethidium bromide on preparation at 100 V for 60 min. The 416-bp and 199-bp bands, corresponding to the amplified LCV and GAPDH PCR product, respectively were visualized on a UV transilluminator (Figure 1).

DNA purification and sequencing

The PCR Product was purified for direct sequencing using the Gel Extraction Kit (Perfectprep Gel Cleanup, Eppendorf, Hamburg, Germany) according to the manufacturer's recommendations and subsequently subjected to 2% agarose gel electrophoresis in order to ascertain its purity.

Eight microliters of DNA sample were subjected to cycle sequencing by the ABI Prism 310 Genetic Analyser (Perkin-Elmer Cetus, NJ.) using dye-labeled terminators and 3.2 pmol of specific primer in a final reaction volume of 20 μl. This amplification round was performed according to the manufacturer's specifications, using primer LCV F1 to amplify the particular DNA strand of interest for further sequencing. The extension products were subsequently purified from excess unincorporated dye terminators by ethanol precipitation according to the manufacturer's specifications (Perkin-Elmer Cetus, NJ.) and subjected to sequence analysis by the ABI Prism 310 Genetic Analyser.

Nucleotide comparison and phylogenetic analysis

We applied the BLAST program to compare them with other human and nonhuman LCV sequences and performed phylogenetic analysis. For phylogenetic analysis, the polymerase nucleotide sequences of LCV isolated from gibbon were compared with those of the polymerase gene sequences of different species of LCV (listed in table 1) and cytomegalovirus (AY446894) obtained from the GenBank database which served as references and outgroup for the phylogenetic tree analysis. All of these sequences were multiply aligned, using CLUSTAL X from version 3.75c of the PHYLIP software package (Professor J. Felsenstein, Department of Genetics,

University of Washington, Washington DC). Version 1.5 of the TREEVIEW program (Dr R.D.M. Page, Institute of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow, U.K.) was then used to construct an unrooted phylogenetic tree.

Data analysis

The data was analyzed applying descriptive analysis and expressed as percentage of prevalence.

Table 1. DNA polymerase sequence of lymphocryptoviruses

Virus name	Alternative name	Accession no.
Old World primate lymphocryptovirus		
Hylobates lar lymphocryptovirus 1	White-handed gibbon lymphocryptovirus	AY196147
Hylobates muelleri LCV	Bornean gibbon lymphocryptovirus	AY273184
Hylobates nomascus leucogenys LCV	Northern white-cheeked gibbon lymphocryptoviru	AY425964
Hylobates leucogenys LCV	White-cheeked gibbon lymphocryptovirus	AY174068
Gorilla Lymphocryptovirus	Gorilla Lymphocryptovirus	AF290600
Pan troglodytes LCV	Chimpanzee lymphocryptovirus	AF534226
Pongo pygmaeus LCV	Orangutan lymphocryptovirus	AY129398
Semnopithecus entellus LCV	Hanuman langur lymphocryptovirus	AF534223
Macaca sylvanus LCV	Barbary macaque lymphocryptovirus	AY172956
Cercopithicine herpesvirus 15	Rhesus lymphocryptovirus	AY037858
Human herpesvirus 4	Epstein-Barr virus	V01555
New World primate lymphocryptovirus		
Ateles paniscus LCV	Spider monkey lymphocryptovirus	AY139028
Saimiri sciureus LCV	Squirrel monkey lymphocryptovirus	AY139024
Callithrix jacchus LCV	Common Marmoset lymphocryptovirus	AY174064
Callitrichine herpesvirus 3	Marmoset lymphocryptovirus	AF319782
Saguinus midas LCV	Red-footed Tamarin lymphocryptovirus	AY166692

Results

In this study, 70 gibbon serum samples (isolated from Krabok Koo Wildlife Breeding Centre) were tested for the presence of IgG antibodies against human EBV. Serological tests indicated that 18.6% of the animals were positive. In addition, 70 PBMC samples were examined by semi-nested PCR for the presence of LCV DNA (*pol* gene). We found that 91.4% of the animals yielded positive results.

All samples were tested by serology for EBV antibody and by semi-nested PCR for LCV DNA. The results obtained by ELISA and semi-nested PCR show some discrepancy in that 17.1% were positive by ELISA and 91.4% by semi-nested PCR, respectively. Only 2 (2.9%) showed positive for EBV antibody yet negative for LCV DNA. In contrast, 50 specimens (71.4%) were negative for EBV antibody but positive for LCV DNA.

The sequences obtained in this study have been submitted to GenBank and assigned accession numbers AY972555 to AY972618.

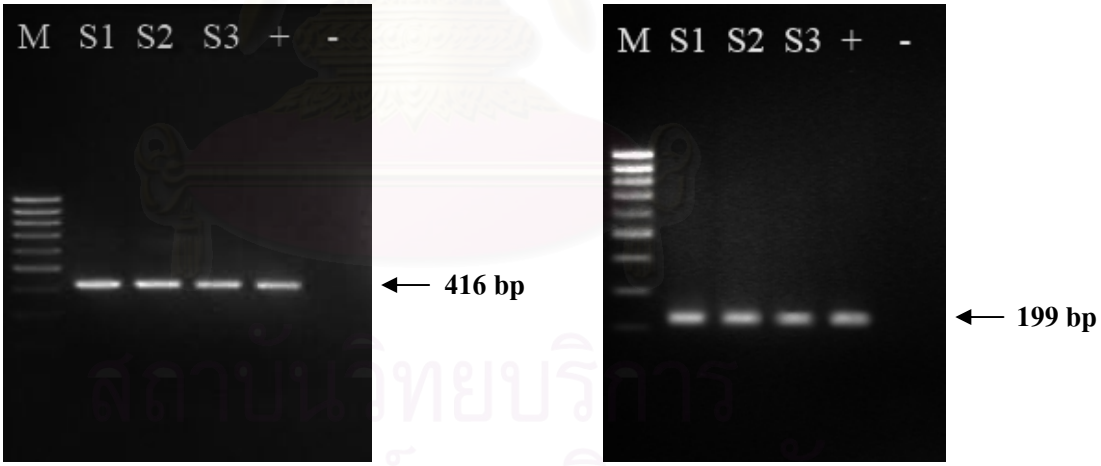


Figure 1 (a) Agarose gel electrophoresis of the 416-bp PCR product using primer pair LCV F1/LCV R1 and LCV F1/LCV R2. Lane1:100 bp marker, lane2-4: S1-S3; gibbon samples, lane5; +: positive control and lane6; -: Sterile water used as the negative control. (b) Internal control showing the GAPDH PCR product.

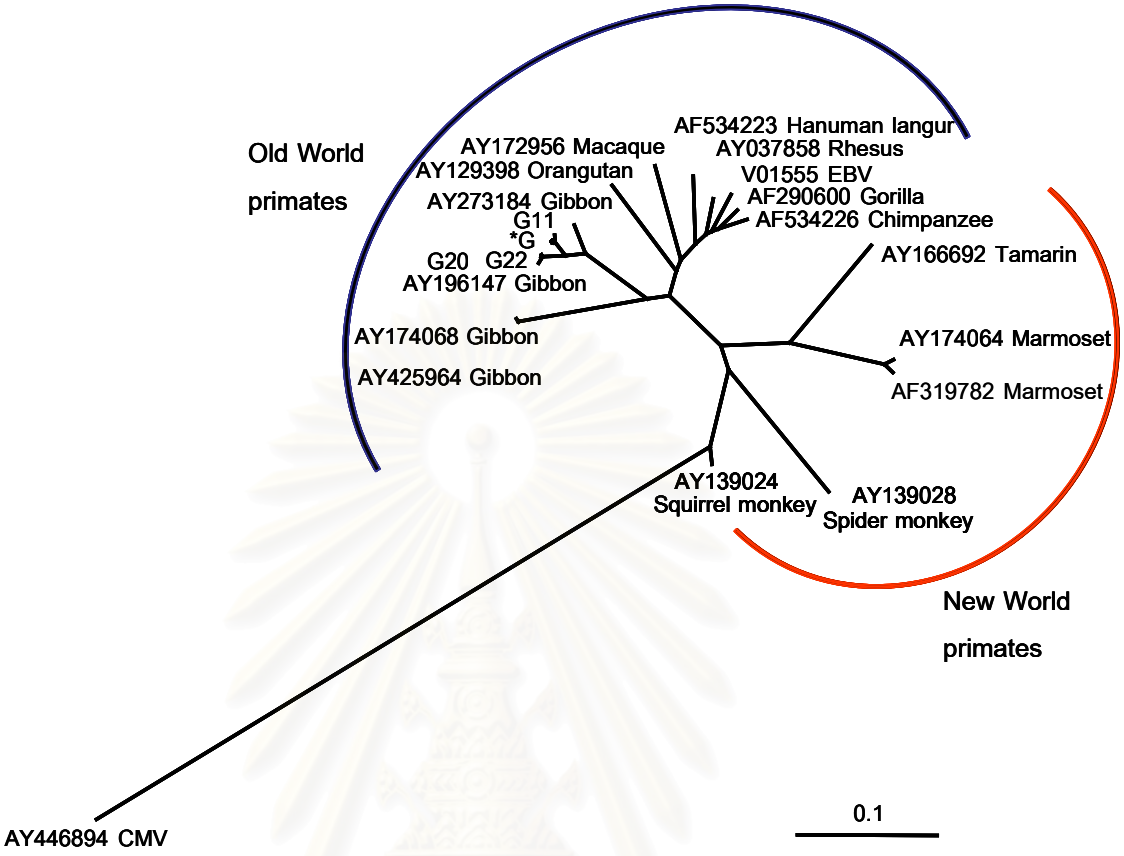


Figure 2 Phylogenetic analysis of the partial DNA polymerase gene sequences of gibbon lymphocryptoviruses, compared with other nonhuman primate lymphocryptoviruses and using cytomegalovirus (AY446894) as an outgroup. The sequences of gibbon lymphocryptoviruses (G) were most closely related to *H.lar* LCV (AY196147) and *H.muelleri* LCV (AY273184). Previously published sequences were included and their accession numbers are as follows: *H.lar* LCV (AY196147); *H.muelleri* LCV (AY273184); *H.nomascus leucogenys* LCV (AY425964); *H. leucogenys* LCV (AY174068); Macaca sylvanus LCV (AY172956); Gorilla LCV (AF290600); *Pan troglodytes* LCV (AF534226); *Pongo pygmaeus* LCV (AY129398); *Saguinus midas* LCV (AY166692); *Ateles paniscus* LCV (AY139028); *Callithrix jacchus* LCV (AY174064); *Saimiri sciureus* LCV (AY139024); *Semnopithecus entellus* LCV (AF534223); Cercopithicine hv15 (AY037858); Callitrichine hv3 (AF319782), and EBV (V01555). *G

comprise G7-G70 (AY972555 to AY972618) except for G11 (AY972559), G20 (AY972568) and G22 (AY972570).

Phylogenic analysis was performed based on the 361-bp DNA polymerase gene of herpesviruses to generate the phylogenetic tree (Figure 2). These herpesviruses were clearly divided into three subfamilies: *alpha-, beta-* and *gammaherpesvirinae*. The gibbon LCV formed a sub-branch most closely related to *Hylobates lar* lymphocryptovirus [8] and also closely related to EBV (*Human herpesvirus 4*). The partial DNA sequence of the DNA polymerase gene was distinct from other identified herpesviruses, but showed profound similarity to sequences from several other gammaherpesviruses.

All gibbon LCV sequences showed 97-100% nucleic acid and 99-100% amino acid identity across the 361-bp alignment. Furthermore, the gibbon LCV sequences revealed 82% nucleic acid and 92% amino acid identity to the human EBV sequence. Searching the GenBank database by using the BLAST web server demonstrated that these sequences were most similar to the DNA polymerase of the gammaherpesvirus subfamily (data not shown).

Discussion

Wild gibbons (Hylobates species) can be found throughout the tropical rainforests of South and Southeast Asia, including Thailand, Laos, Cambodia, Indonesia and Malaysia. The genus Hylobates is represented in these areas by three species, the white-handed gibbons (*H.lar*), the pileated gibbons (*H.pileatus*) and the black-handed gibbons (*H.agilis*). They are at high risk of extinction due to habitat loss and increased illegal pet trade. After categorization as a conserved wild animal in Thailand, hundreds of appropriated and abandoned gibbons have been handed over to the authorities of the Thai government. An infectious disease screening process was initiated to prevent potential spread of disease that may interfere with the health and reproduction of the wild gibbon population after reintroduction to the forest. Transmission of these viruses to humans, which may constitute a public health risk, was also evaluated. Serological screening for IgG antibodies against EBV in the gibbons kept at the Krabok Koo Centre

showed that approximately 18.6% of the animals were infected with LCV; 64 animals were LCV DNA-positive carriers and could be a source of virus spread in the gibbon population.

Infection of Old World nonhuman primates with Epstein-Barr virus (EBV) related lymphocryptoviruses (LCVs) was recognized in the early to mid-1970s. Investigators used the newly developed indirect immunofluorescence assay to detect antibodies cross-reactive to the EBV capsid antigen (VCA) in the serum of many Old World nonhuman primate species [22]. The failure to detect EBV cross-reactive antibodies in New World primates suggested that LCVs were restricted to humans and nonhuman Old World primates.

The animals examined were 70 captive gibbons kept at the Krabok Koo Wildlife Breeding Center in Cha-Cheng-Sao province, Thailand, comprising 3 species of gibbons; *H.lar* (n=51), *H.pileatus* (n=18) and *H.agilis* (n=1). In order to determine the prevalence of LCV infection in gibbons, we screened 70 available PBMC samples for LCV by PCR using previously described primer sequences from the *pol* gene region (LCVF1, LCVR1 and LCVR2). Based on semi-nested PCR, prevalence proved high in that 64 of 70 gibbons (91.4%) were LCV DNA-positive carriers and could be a source of virus spread in the gibbon population. The results of herpesvirus infection in wild animals have shown a high prevalence of LCV infection in gibbons compared with data obtained by previous serological studies conducted on different species of apes which had screened for herpesvirus antibody by commercially available ELISA for human herpesvirus, demonstrating that IgG antibody prevalence against HSV-1, HSV-2, CMV and EBV was 28.2%, 28.2%, 17.9% and 14.1%, respectively [21].

There has been evidence of cross-species reactivity as both human and nonhuman (Old World) primates exhibit close antigen relations between their IgG antigens [10, 21]. Currently, there is no “gold standard” for identifying gibbon LCV infection, making it difficult to validate the sensitivity and specificity of ELISA results. In order to further test the sensitivity and specificity of the gibbon LCV IgG ELISA, we examined the serologic response in an experimentally infected gibbon. Gibbons are also commonly infected with gibbon rhadinovirus2 (RV2), a gammaherpesvirus of the

rhadinovirus subgroup [6]. Therefore, serologic responses detected with gibbon LCV IgG might be due to cross-reactive antibodies specific for RV2 IgG.

As yet, LCV transmission from captive animals to humans has not been reported. The high prevalence of LCV infection in captive gibbons shows that LCV is an important infectious agent in captive gibbons. The prevalence of tamarine LCV was reported to exceed 50%, with 30 of 53 animals positive [4] and 8 of 24 gibbon serum samples tested (33%) were positive and reacted more strongly with the HSV-1 antigen than with any other herpesvirus antigen [7].

We report here the detection and partial molecular characterization of the polymerase gene of the *gammaherpesvirinae* subfamily. This finding indicates a high prevalence of asymptomatic LCV infection in captive gibbons. Another study has also described most herpesvirus infections as latent and asymptomatic in nonhuman primates [22].

Cho *et al.* (2001) reported a 75.6% sequence similarity between EBV and rhesus LCV as opposed to a mere 47.3% similarity between EBV and marmoset LCV. Like EBV in human**s**, this virus may persist in gibbon**s** in a latent phase without producing any acute symptoms. LCV infection was prevalent in New World primate species (marmoset lymphomas and squirrel monkeys) [2].

The genomes of herpesviruses isolated from different host species can be closely related, suggesting that the evolution of herpesviruses has occurred across host species [14] and that the study of human herpesvirus evolution would benefit from better characterization of animal herpesvirus genomes [16]. Experimental infection of gibbons with gibbon LCV provides an animal model which accurately reproduces many aspects of acute and persistent EBV infection in humans [17].

Based on nucleic acid sequence comparisons of the partial *pol* gene sequence, the DNA polymerase of *H.lar* LCV (accession number AY196147) has the highest similarity to gibbon LCV (96-100% identical) followed by 82% identity to human EBV (accession number V01555) as has been reported previously [8]. A closely related herpesvirus of the same lymphocryptovirus genera as EBV inherently infects gibbons and thus provides an important animal model for studying EBV pathogenesis.

The rhesus LCV *EBER1* (EBV-encoded small RNA1) has 73 and 68% nucleotide identity with the EBV and the baboon LCV *EBER1* gene, respectively. The *EBER2* genes are less well conserved, with only 42 and 38% identity with the EBV and baboon LCV *EBER2* [18].

Phylogenetic analyses based on the LCV polymerase gene has shown that the Old World primate LCV lineage formed a sister clade to that of the New World primate LCV. Within the Old World primate LCV group, resolution of the branching pattern was incomplete and hence suggestive of a complex history as has previously been reported on the LCV glycoprotein B (*gB*) genes of baboon, orangutan, chimpanzee and gorilla [11].

Primates have been publicized as important animal model systems for studying human virus infection based on the profound similarities in both viruses and natural hosts. The objective of the present study has been to extend the phylogenetic analysis by including gibbons as another simian species closely related to humans and hence, investigating sera obtained from these animals for the presence of LCV or LCV-like DNA should benefit the genome research on herpesviruses.

In this study, we amplified part of the LCV DNA polymerase gene using specific primers. We will attempt to examine the complete polymerase gene of gibbon LCV and believe that this study might constitute crucial groundwork for further studies on the entire genome of this herpesvirus to elucidate its pathogenesis. Thus, it might provide an important tool for primate care and for identifying LCV-naïve animals for experimental studies.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Acknowledgements

The authors would like to express their profound gratitude to Dr. Schwann Tunhikorn, Head of Wildlife Research Division, and the entire staff of the Royal Forest Department (Wildlife Conservation Division), Krabook Koo, Cha-Cheng-Sao province, Thailand, for their invaluable cooperation in this project and Ms Petra Hirsch for reviewing the manuscript.

Reference

1. Ablashi DV, Gerber P, Easton J: Oncogenic herpesviruses of nonhuman primates. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2:229-241, 1979.
2. Cho Y, Ramer J, Rivailler P, Quink C, Garber RL, Beier DR, Wang F: An Epstein-Barr-related herpesvirus from marmoset lymphomas. Proc Natl Acad Sci USA 98:1224-1229, 2001.
3. Cox C, Chang S, Karran L, Griffin B, Wedderburn N: Persistent Epstein-Barr virus infection in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). J Gen Virol 77:1173-1180, 1996.
4. de Thoisy B, Pouliquen JF, Lacoste V, Gessain A, Kazanji M: Novel gamma-1 herpesviruses identified in free-ranging new world monkeys (golden-handed tamarin [Saguinus midas], squirrel monkey [Saimiri sciureus], and white-faced saki [Pithecia pithecia]) in French Guiana. J Virol 77:9099-9105, 2003.
5. Dunkel VC, Pry TW, Henle G, Henle W: Immunofluorescence tests for antibodies to Epstein-Barr virus with sera of lower primates. J Natl Cancer Inst 49:435-440, 1972.
6. Duprez R, Boulanger E, Roman Y, Gessain A: Novel gamma-2-herpesvirus of the Rhadinovirus 2 lineage in gibbons. Emerg Infect Dis 10:899-902, 2004.
7. Eberle R, Hilliard JK: Serological evidence for variation in the incidence of herpesvirus infections in different species of apes. J Clin Microbiol 27:1357-1366, 1989.
8. Ehlers B, Ochs A, Leendertz F, Goltz M, Boesch C, Matz-Rensing K: Novel simian homologues of Epstein-Barr virus. J Virol 77:10695-10699, 2003.
9. Frank A, Andiman WA, Miller G: Epstein-Barr virus and nonhuman primates: natural and experimental infection. Adv Cancer Res 23:171-201, 1976.
10. Gerber P, Kalter SS, Schidlovsky G, Peterson WD Jr, Daniel MD: Biologic and antigenic characteristics of Epstein-Barr virus-related Herpesviruses of chimpanzees and baboons. Int J Cancer 20:448-459, 1977.
11. Gerner CS, Dolan A, McGeoch DJ: Phylogenetic relationships in the Lymphocryptovirus genus of the Gammaherpesvirinae. Virus Res 99:187-192, 2004.

12. Heller M, Gerber P, Kieff E: Herpesvirus papio DNA is similar in organization to Epstein-Barr virus DNA. J Virol 37:698-709, 1981.
13. Kalter SS, Heberling RL, Ratner JJ: EBV antibody in sera of non-human primates. Nature 238:353-354, 1972.
14. Karlin S, Mocarski ES, Schachtel GA: Molecular evolution of herpesviruses: genomic and protein sequence comparisons. J Virol 68:1886-1902, 1994.
15. Levy JA, Levy SB, Hirshaut Y, Kafuko G, Prince A: Presence of EBV antibodies in sera from wild chimpanzees. Nature 233:559-560, 1971.
16. McGeoch DJ, Dolan A, Ralph AC: Toward a comprehensive phylogeny for mammalian and avian herpesviruses. J Virol 74:10401-10406, 2000.
17. Moghaddam A, Rosenzweig M, Lee-Parritz D, Annis B, Johnson RP, Wang F: An animal model for acute and persistent Epstein-Barr virus infection. Science 276:2030-2033, 1997.
18. Rao P, Jiang H, Wang F: Cloning of the rhesus lymphocryptovirus viral capsid antigen and Epstein-Barr virus-encoded small RNA homologues and use in diagnosis of acute and persistent infections. J Clin Microbiol 38:3219-3225, 2000.
19. Rickinson AB, Kieff E: Epstein-Barr virus. In: Fields virology, Vol. 2, 3rd edn. Fields, Knipe & Howley (eds). Philadelphia, New York: Lippincott-Raven Publishers 2397-2446, 1996.
20. Roizmann B, Desrosiers RC, Fleckenstein B, Lopez C, Minson AC, Studdert MJ: The family Herpesviridae: an update. The Herpesvirus Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Arch Virol 123:425-449, 1992.
21. Sakulwira K, Theamboonlers A, Charoonrut P, Ratanakorn P, Poovorawan Y: Serological evidence of herpesvirus infection in gibbons. BMC Microbiol 2:11, 2002.
22. Wang F, Rivailler P, Rao P, Cho Y: Simian homologues of Epstein-Barr virus. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 356:489-497, 2001.

ภาคผนวก จ

แสดงรายงานการ submitted ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LCV ทั้งหมดในการศึกษาครั้งนี้ลงใน GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

```
LOCUS       AY972555       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G7 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972555
VERSION     AY972555
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G7"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972556       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G8 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972556
VERSION     AY972556
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G8"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972557      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G9 DNA polymerase
                (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972557
VERSION     AY972557
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G9"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972558       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G10 DNA polymerase
                (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972558
VERSION     AY972558
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G10"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972559       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G11 DNA polymerase
                (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972559
VERSION     AY972559
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G11"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gttgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972560       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G12 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972560
VERSION     AY972560
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G12"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972561       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G13 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972561
VERSION     AY972561
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G13"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972562       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G14 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972562
VERSION     AY972562
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G14"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972563       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G15 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972563
VERSION     AY972563
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G15"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972564       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G16 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972564
VERSION     AY972564
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G16"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972565       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G17 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972565
VERSION     AY972565
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G17"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972566       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G18 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972566
VERSION     AY972566
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G18"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972567      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G19 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972567
VERSION     AY972567
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G19"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972568       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G20 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972568
VERSION     AY972568
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G20"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACANPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagtttgc taacatcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gttgtcggcg tgcgcgaatc cgcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgtacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gtgccaaggc cttcgtggag gcactaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972569       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G21 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972569
VERSION     AY972569
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G21"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972570       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G22 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972570
VERSION     AY972570
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G22"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACANPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagtttgc taacatcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gttgtcggcg tgcgcaaatc cgcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgtacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gtgccaaggc cttcgtggag gcactaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972571       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G23 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972571
VERSION     AY972571
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G23"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972572       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G24 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972572
VERSION     AY972572
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G24"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972573       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G25 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972573
VERSION     AY972573
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G25"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972574       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G26 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972574
VERSION     AY972574
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G26"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972575       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G27 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972575
VERSION     AY972575
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G27"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972576       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G28 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972576
VERSION     AY972576
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G28"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972577      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G29 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972577
VERSION     AY972577
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G29"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972578       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G30 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972578
VERSION     AY972578
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G30"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972579       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G31 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972579
VERSION     AY972579
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G31"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972580       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G32 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972580
VERSION     AY972580
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G32"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972581       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G33 DNA polymerase
            (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972581
VERSION     AY972581
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G33"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972582       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G34 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972582
VERSION     AY972582
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G34"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972583       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G35 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972583
VERSION     AY972583
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G35"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972584       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G36 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972584
VERSION     AY972584
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G36"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972585       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G37 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972585
VERSION     AY972585
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G37"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972586       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G38 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972586
VERSION     AY972586
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G38"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972587      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G39 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972587
VERSION     AY972587
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G39"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972588       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G40 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972588
VERSION     AY972588
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G40"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972589       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G41 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972589
VERSION     AY972589
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G41"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972590       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G42 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972590
VERSION     AY972590
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G42"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972591       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G43 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972591
VERSION     AY972591
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                 Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G43"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972592       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G44 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972592
VERSION     AY972592
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G44"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972593       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G45 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972593
VERSION     AY972593
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G45"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972594       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G46 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972594
VERSION     AY972594
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G46"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972595       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G47 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972595
VERSION     AY972595
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G47"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972596       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G48 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972596
VERSION     AY972596
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G48"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972597      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G49 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972597
VERSION     AY972597
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G49"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972598       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G50 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972598
VERSION     AY972598
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G50"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972599       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates lar lymphocryptovirus 1 strain G51 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972599
VERSION     AY972599
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates lar lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates lar lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
                  Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates lar lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G51"
                     /db_xref="taxon:230176"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                     KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                     LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972600       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1 strain G52 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972600
VERSION     AY972600
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G52"
                     /db_xref="taxon:323230"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972601      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1 strain G53 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972601
VERSION     AY972601
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G53"
                     /db_xref="taxon:323230"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972602       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1 strain G54 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972602
VERSION     AY972602
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus; lymphocryptovirus 1.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus 1"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G54"
                     /db_xref="taxon:323230"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972603      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G55 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972603
VERSION     AY972603
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G55"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972604       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G56 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972604
VERSION     AY972604
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G56"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972605       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G57 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972605
VERSION     AY972605
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G57"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972606       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G58 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972606
VERSION     AY972606
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G58"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972607      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G59 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972607
VERSION     AY972607
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G59"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972608       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G60 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972608
VERSION     AY972608
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G60"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972609      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G61 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972609
VERSION     AY972609
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G61"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972610       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G62 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972610
VERSION     AY972610
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G62"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972611      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G63 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972611
VERSION     AY972611
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G63"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

```
LOCUS       AY972612      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G64 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972612
VERSION     AY972612
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G64"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972613      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G65 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972613
VERSION     AY972613
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G65"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972614       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G66 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972614
VERSION     AY972614
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G66"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgacactgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972615       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G67 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972615
VERSION     AY972615
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G67"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972616       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G68 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972616
VERSION     AY972616
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G68"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972617      361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates pileatus lymphocryptovirus strain G69 DNA polymerase
            (dpol) gene, partial cds.
ACCESSION   AY972617
VERSION     AY972617
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates pileatus lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates pileatus lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
            Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates pileatus lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G69"
                     /db_xref="taxon:323232"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

```
LOCUS       AY972618       361 bp    DNA     linear   VRL 12-APR-2005
DEFINITION  Hylobates agilis lymphocryptovirus strain G70 DNA polymerase
     (dpol)gene, partial cds.
ACCESSION   AY972618
VERSION     AY972618
KEYWORDS    .
SOURCE      Hylobates agilis lymphocryptovirus
  ORGANISM  Hylobates agilis lymphocryptovirus
            Viruses; dsDNA viruses, no RNA stage; Herpesviridae;
            Gammaherpesvirinae; Lymphocryptovirus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Prevalence and Molecular Characterization of Polymerase Gene of
            Gibbon Lymphocryptovirus
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 361)
  AUTHORS   Phakdeewirot,P.,Payungporn,S.,Chutinimitkul,S.,Theamboonlers,A.
            and Poovorawan,Y.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-MAR-2005) Pediatrics, Chulalongkorn University,
             Rama IV, Bangkok 10330, Thailand
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..361
                     /organism="Hylobates agilis lymphocryptovirus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="G70"
                     /db_xref="taxon:323233"
                     /country="Thailand"
     gene            <1..>361
                     /gene="dpol"
     CDS             <1..>361
                     /gene="dpol"
                     /codon_start=3
                     /product="DNA polymerase"
                     /translation="GEDYESFKLTGGIYHFVKKHVHESFLASLLTSWLAKRKAIK
                    KMLSACVNPHQRTILDKQQLAIKCTCNAVYGFTGVANGLFPCLSIAETVTLQGRTM
                    LERAKAFVEALSPNDLQALAPQP"
ORIGIN
        1 ctggggagga ttacgagtcc ttcaaactca ccggaggcat ctaccacttt gtgaaaaaac
       61 atgtgcacga gtctttcctg gctagcttgc taacttcgtg gttggcaaaa agaaaggcta
      121 tcaagaaaat gctgtcggcg tgcgttaacc ctcaccaaag gaccattctg gacaagcagc
      181 agcttgccat caagtgcacc tgcaacgccg tgtacggctt cacgggggtc gccaacggcc
      241 tgtttccctg cctctccata gccgaaactg tgaccctgca gggccgcaca atgctggagc
      301 gcgccaaggc cttcgtggag gccttaagcc caaacgatct gcaggcattg gcccctcagc
      361 c
//
```

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ-นามสกุล ปิรยา ภักดีวิโรจน์ **เพศ** หญิง

อายุ 25 ปี **เกิด** 20 กุมภาพันธ์ 2523

สถานที่เกิด โรงพยาบาลวชิระภูเก็ต จังหวัดภูเก็ต

ที่อยู่ 23/8 ซ. ตลิ่งชัน ต. ตลาดใหญ่ อ. เมืองภูเก็ต จ. ภูเก็ต 83000

ประวัติการศึกษา

ระดับปริญญาตรี สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) จากคณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี 2545

ระดับปริญญาโท เข้าศึกษาต่อระดับวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต หลักสูตรวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2546

การตีพิมพ์ในวารสารต่างประเทศ

- เสนอผลงานหัวข้อเรื่อง Prevalence and Characterization of Polymerase Gene of Gibbon Lymphocryptovirus เพื่อตีพิมพ์ในวารสาร Journal of Medical Primatology

การตีพิมพ์ในวารสารในประเทศ

- เขียนบทความหัวข้อเรื่อง Non-human primates Lymphocryptovirus ลงในคู่มือและบทคัดย่อในการประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 14 วันที่ 19 พฤศจิกายน พ.ศ. 2547 ของสมาคมไวรัสวิทยา ณ โรงแรม The Twin Towers รองเมือง ปทุมวัน กรุงเทพมหานคร โดยสมาคมไวรัสวิทยา (ประเทศไทย)

การนำเสนอผลงานในหัวข้อ Non Human Primates Lymphocryptovirus

- นำเสนอผลงานในหัวข้อเรื่อง Prevalence and Characterization of Polymerase Gene of Gibbon Lymphocryptovirus ในการประชุมกลุ่มเมธีวิจัยอาวุโส สกว. ศ.นพ. ยง ภู่วรวรรณ วันที่ 27 พฤษภาคม 2547 ณ ห้องประชุม ตึก ส.ก. ชั้น 11