

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเชื้อ CSFV สายพันธุ์ hot strain ผ่านกระบวนการ RNAi โดยใช้ siRNA 2 สาย ที่มีความจำเพาะต่อยีนเป้าหมายแตกต่างกัน คือ siRNA_103 มีความจำเพาะต่อบริเวณ 5'NCR และ siRNA_253 ที่มีความจำเพาะต่อโปรตีน C ของเชื้อ CSFV ใช้เซลล์ SK-6 เริ่มต้นที่ 40,000 เซลล์ เลี้ยงเซลล์ในไมโครเพลทขนาด 24 หลุม ติดเชื้อไวรัสภายหลังเริ่มเลี้ยงเซลล์ 24 ชั่วโมง และใช้สำหรับการ transfection ภายหลังการติดเชื้อ 24 ชั่วโมง ผลการทดสอบความเป็นพิษของ transfection reagent และ siRNAs ต่อเซลล์เพาะเลี้ยง พบว่าสัดส่วนที่เหมาะสมของ transfection siRNAs complex (transfection reagent (μ l) : siRNA (μ g) คือ 3.75 : 0.75 ผลของการยับยั้งเชื้อไวรัสหิวาต์สุกรโดยกระบวนการ RNAi จากการติดเชื้อไวรัสก่อน และหลังการ transfection siRNA พบว่า siRNA_103 และ siRNA_253 ที่ปริมาตรทดสอบ 0.75 ไมโครกรัม สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสหิวาต์สุกรได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อไวรัสที่ความเข้มข้น $10^{1.4125}$ TCID₅₀ ได้ และสามารถทำให้ไตเตอร์ของไวรัสลดลงที่ความเข้มข้นของไวรัส $10^{2.825}$ และ $10^{5.65}$ TCID₅₀ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Our aim for this experiment was to investigate the inhibition of CSF virus replication using 2 siRNAs. The first siRNA was siRNA_103 which was target to 5'NCR region and the second one was siRNA_253 which was target to nucleocapsid protein (C) of CSFV. 40,000 SK-6 cells in 24 wells culture plate was used for viral replication 24 hours after seeding then for transfection 24 hours later. Toxicity study of transfection reagent and siRNAs was also performed. The suitable proportion of transfection reagent (μ l): siRNA (μ g) which caused no toxicity to SK-6 cells was 3.75:0.75. The study on virus replication inhibition of siRNAs before and after infection found that siRNA_103 and siRNA_253 at 0.75 μ g showed promising effect on inhibition of CSFV in cell culture. However the inhibition efficiency depended on viral infection doses. At $10^{2.85}$ and $10^{5.65}$ TCID₅₀ of CSFV infection doses both siRNAs decreased virus replication compare to mock transfection whereas at $10^{1.4125}$ TCID₅₀ of CSFV infection doses 100 percent inhibition of virus was found.