

จินต์ภาณี ณ นคร 2551: ลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ H3N2 ในประเทศไทยและการผลิตโปรตีนลูกผสม M1 ปริญาวิทยาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ วรวิทย์ วัชชวัลคุ, D.M.S. 83 หน้า

เชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกร เป็นเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ที่ก่อโรคทางระบบทางเดินหายใจเฉียบพลัน ไวรัสนี้จัดอยู่ในวงศ์ *Orthomyxoviridae* ในปัจจุบัน เชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่แบ่งออกเป็น 3 สายพันธุ์หลักๆ คือ H1N1, H1N2 และ H3N2 ซึ่งพบกระจายอยู่ในประชากรสุกรทั่วโลก ในการศึกษาเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกร A/SW/Thailand/KU5.1/04 (H3N2) ได้ถูกเพาะแยกเชื้อและทำการศึกษาวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของยีนทั้ง 8 แห่ง โดยการทำให้ genotyping และ phylogenetic analysis แสดงให้เห็นว่าเชื้อไวรัสที่ศึกษานั้นน่าจะเกิดจาก triple reassortant ซึ่งประกอบไปด้วย ยีน HA และ NA ได้จาก human-like influenza virus ที่มาจาก North America ส่วนยีน NS และ NP ได้จาก swine influenza virus (SIV) ที่มีลักษณะคล้ายกับ SIV ที่พบที่ North America และยีน M, PA, PB1 และ PB2 ได้จาก SIV ที่มีลักษณะคล้ายกับ SIV ที่พบในทวีปยุโรป ผลจากการศึกษายังบ่งบอกว่าเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ นั้นสามารถติดไปมาระหว่าง สุกรกับคนได้ และผลจากการนำเข้าหรือส่งออกของสัตว์ก็เป็นปัจจัยที่สำคัญ ที่ทำให้เกิดการติดต่อแพร่กระจาย ของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ไปทั่วโลกได้นอกจากนี้ ในศึกษานี้ยังได้ทำการสังเคราะห์โปรตีนลูกผสม M1 ใน *E.coli* โดยการสกัดอาร์เอ็นเอจากเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกร A/SW/Thailand/KU7.2/04 (H3N2) เพื่อใช้เป็นต้นแบบในการเพิ่มปริมาณยีน M ของไวรัสด้วยวิธีการ Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ แล้วนำชิ้นส่วนของยีน M มาเชื่อมต่อกับพลาสมิด pQE30 ถ่ายพลาสมิดลูกผสมที่ได้เข้าสู่ *E.coli* สายพันธุ์ M15 สำหรับโปรตีนลูกผสม M1 ได้ เมื่อนำไปฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกระต่าย พบว่าแอนติบอดีที่ได้ สามารถใช้ตรวจสอบการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในเซลล์เพาะเลี้ยงได้ ดังนั้นโปรตีนลูกผสมและแอนติบอดีที่ผลิตได้สามารถนำมาพัฒนาสำหรับการวินิจฉัยโรคไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ต่อไป

Jinpanee Na Nakorn 2008: Genetic Characterization of Swine Influenza Virus Subtype H3N2 in Thailand and Production of Recombinant M1 Protein. Master of Science (Agricultural Biotechnology), Major Field: Agricultural Biotechnology, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Associate Professor Worawidh Wajjwalku, D.M.S. 83 pages.

Swine influenza virus (SIV) is an influenza A virus causing an acute respiratory disease in swine. The virus is classified as a member of the family *Orthomyxoviridae*. Up to date, three major subtypes of SIV, H1N1, H1N2 and H3N2, are circulating in swine populations throughout the world. In this study, A/SW/Thailand/KU5.1/04 (H3N2) was isolated and its eight genes were characterized and analyzed. Genotyping and phylogenetic analyses demonstrated that KU5.1 virus may be a triple reassortant comprising of the HA and NA genes from human-like influenza viruses from North America, the NS and NP genes from a SIV closely related to North American swine viruses and the M, PA, PB1 and PB2 genes related to those of European SIV. The results restate that transmission of influenza A virus among human and swine populations is common. International live-animal trading may be an important mean for SIV transmission among countries in analogy to the transmission of global Flu via aviation. In addition, we also expressed M gene of an SIV, A/SW/Thailand/KU7.2/04 (H3N2) in *E. coli*. The viral RNA was extracted from MDCK cells infected with the SIV subtype H3N2. The viral RNA was extracted and used as template for M gene by RT-PCR using specific primer. The M1 gene was cloned into the pQE30 and expressed in *E. coli*. The recombinant M1 protein was used as an antigen for the production of polyclonal antibodies in rabbit. The results indicated that the polyclonal antibodies could detect influenza A virus in infected cells by immunoperoxidase monolayer assay (IPMA). Therefore, the recombinant M1 protein and the rabbit hyperimmune serum may be used for diagnostic purposes.