

การศึกษาค้นคว้านี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการผลิตที่เหมาะสมในระดับห้องปฏิบัติการของโปรตีน Nonstructural (NS1) ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ที่มีการระบาดในประเทศไทยด้วยวิธีทางพันธุวิศวกรรม โดยเริ่มจากนำยีน NS1 ของไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ A/little grebe/Thailand/Phichit-01/2004(H5N1) ที่เก็บไว้ใน TOPO vector plasmid มาเพิ่มจำนวนด้วยวิธี PCR จากนั้นสร้าง recombinant plasmid NS1 ด้วย pET TOPO vector plasmid และเพิ่มจำนวน recombinant plasmid NS1 โดยการ transform เข้าสู่ *E.coli* สายพันธุ์ TOP10F' ทำการสกัด recombinant plasmid NS1 แล้ว transform เข้าสู่ *E.coli* สายพันธุ์ BL21 star (DE3) เพื่อชักนำให้เกิดการแสดงออกของยีน NS1 จากนั้นสกัดโปรตีนที่แบคทีเรียสังเคราะห์ทำให้โปรตีนที่ได้มีความบริสุทธิ์และทดสอบโปรตีนที่ผลิตได้ด้วยวิธี Western blot ผลการศึกษาสามารถผลิตโปรตีน NS1 ที่มีความบริสุทธิ์ในระดับห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะที่ทำการทดลอง

The purpose of this work is to find an optimal condition for the production of nonstructural (NS1) protein of avian influenza subtype H5N1 isolated from Thailand using genetic engineering in laboratory scale. NS1 gene of avian influenza virus—A/little grebe/Thailand/Phichit-01/2004(H5N1)—maintained in TOPO plasmid vector was amplified using PCR. The expression recombinant plasmid NS1 was constructed using pET TOPO vector. To amplify, the recombination plasmid was transformed into *E.coli* strain TOP10F'. The extracted recombinant plasmid NS1 was expressed in *E.coli* strain BL21 star (DE3). The recombinant protein was extracted, purified, and finally detected by Western blot analysis. The result of showed that under this experimental condition, the purified NS1 protein can be produced in the laboratory scale.