

การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียไวรัสอย่างต่อเนื่องในเซลล์แมลง (Serial passage) มีผลทำให้เกิดการสะสมของไวรัสที่มีสารพันธุกรรมที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งนำไปสู่การลดประสิทธิภาพของไวรัสในการ infection ในเซลล์แมลง เรียกว่าการเกิด "passage effect" จากการศึกษาแบบของโปรตีนทั้งหมดของแบคทีเรียไวรัส *Helicoverpa armigera* NPV (HaNPV) สายพันธุ์ที่แยกในประเทศไทย หลังการทำ serial passage ใน *Heliothis zea* cells (Hz cells) ด้วยเทคนิค 2-D PAGE พบว่ามีโปรตีนบางชนิดของไวรัสที่มีการสังเคราะห์เพิ่มมากขึ้นและเมื่อนำขนาดโมเลกุลและ pI ของโปรตีนเหล่านี้ไปเทียบกับโปรตีนในฐานข้อมูลพบว่ามีโปรตีน 1 ชนิดที่ตรงกับฐานข้อมูล คือ HaNPV open reading frame ที่ 27 ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาหน้าที่ของยีน HaNPVOrf27 ที่คาดว่าอาจเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิด passage effect ของแบคทีเรียไวรัส

จากการตรวจสอบระดับการ transcription ของ HaNPVOrf27 ด้วยเทคนิค RT-PCR พบว่ายีน HaNPVOrf27 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในไวรัสที่ผ่านการ passage หลายครั้ง ซึ่งยืนยันผลการตรวจสอบโปรตีนก่อนหน้านั้น หลังจากนั้นจึงทำการศึกษาหน้าที่ของ HaNPVOrf27 ด้วยเทคนิค RNA interference (RNAi) โดยชักนำ dsRNA ที่จำเพาะต่อยีน HaNPVOrf27 เข้าสู่ Hz เซลล์ที่ถูก infect ด้วยไวรัสที่ได้รับการ passage ใน Hz อย่างต่อเนื่องพบว่าเทคนิค RNAi สามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนนี้ และส่งผลให้ไวรัสมีการสร้างผลึกลดลง และเซลล์แมลงตายโดยมีลักษณะของการเกิด apoptosis จากผลการทดลองนี้สันนิษฐานว่าหน้าที่ของยีน HaNPVOrf27 น่าจะเกี่ยวข้องกับการสร้างผลึกไวรัส และการป้องกันการเกิด apoptosis

Serial passaging of baculovirus in cell culture leads to rapidly accumulating mutant also known as "passage effect" which result in changing of virus efficiency. Protein profiles of a Thai-isolated *Helicoverpa armigera* NPV (HaNPV) after serial passaged were investigated by 2-D PAGE. Some viral proteins were shown to be produced at higher amounts compare to the virus which had only a few passages. One of the proteins had been matched to the gene in the baculovirus database and identified as the protein encoded from HaNPV Open Reading Frame 27(HaNPVOrf27). This study was aimed to study functions of the HaNPVOrf27 that was suspected to be involved in the passage effect.

Study of HaNPVOrf27 transcription after serial passage by RT-PCR also confirmed that the HaNPVOrf27 transcription level of serially passaged virus was higher. To study its roles in the baculovirus passage effect, the RNAi technique using dsRNA specific to the HaNPVOrf27 was introduced to the infected cells. The HaNPVOrf27 transcription level was found to be decreased after the RNAi was introduced. The infected cell viabilities and morphology were observed under microscope. It was found that inhibition of HaNPVOrf27 expression led to the decrease in the number of polyhedron formation and rapid cell death in apoptosis manner. The function(s) of the HaNPVOrf27 was therefore proposed that it may play some roles in polyhedra formation processes and/or involve in presentation of apoptotic cell death (or anti-apoptosis).