

ไวรัสพีอาร์อาร์เอส (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus) และเซอร์โคไวรัส (Porcine Circovirus) เป็นไวรัสที่สร้างความสูญเสียแก่อุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรทั่วโลก ทำการแยกไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์อเมริกาเหนือ (01)NP1) และสายพันธุ์ยุโรป (01)RB1) ในประเทศไทย ด้วยเซลล์เพาะเลี้ยง MARC-145 ทำการเพิ่มปริมาณไวรัสและสกัดอาร์เอ็นเอที่ได้นำมาใช้เพื่อสังเคราะห์ยีนนิวคลีโอแคปซิด (nucleocapsid) หรือโออาร์เอฟ (ORF) 7 แล้วโคลนลงสู่เวกเตอร์ pBAD Directional TOPO[®] เพื่อผลิตรีคอมบิแนนต์โปรตีนของนิวคลีโอแคปซิดโปรตีนในระบบของเชื้อแบคทีเรียอีโคไล (*E.coli*) สายพันธุ์ TOP10 ได้ 6XHis-ORF7 รีคอมบิแนนต์โปรตีน และผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยนิกเกิลเอ็นทีเอคอลลัมน์ (Ni-NTA Column) รีคอมบิแนนต์โปรตีนที่ได้จะมีขนาดประมาณ 30 กิโลดาลตัน และนำไปใช้ในการเคลือบเพลทอีไลซ่า (ELISA) สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส พบว่าค่าตัดทิ้ง (cut-off) ของชุดตรวจสอบแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ผลิตจากรีคอมบิแนนต์โปรตีนจะมีค่าเอส/พี (S/P ratio) เท่ากับ 0.4 ซึ่งชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาขึ้นให้ผลการทดสอบเทียบเท่ากับชุดตรวจสอบของบริษัท IDEXX ที่มีใช้อยู่ทั่วไป สำหรับเซอร์โคไวรัสในสุกรได้ปฏิบัติเช่นเดียวกับไวรัสพีอาร์อาร์เอส โดยได้แยกเซอร์โคไวรัสจากสุกรที่ติดเชื้อและทำการโคลนยีนและผลิตรีคอมบิแนนต์โปรตีนส่วนแคปซิดโปรตีน หรือส่วนโออาร์เอฟ2ซึ่งรีคอมบิแนนต์โปรตีนที่ได้จะมีขนาดประมาณ 30 กิโลดาลตัน และอยู่ระหว่างการทดสอบความเสถียรของรีคอมบิแนนต์โปรตีนเพื่อผลิตชุดตรวจสอบเปรียบเทียบกับชุดตรวจสอบมาตรฐานต่อไป

Abstract

207116

Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) and Porcine Circovirus (PCV) cause economic losses in pig industry all over the world including Thailand. Thai PRRSV were isolated using MARC-145 and identified as the US strain (01NP1) and EU strain (01RB1). Gene coding for nucleocapsid (N) or ORF7 was isolated and amplified by RT-PCR. The PCR product was cloned into pBAD Directional TOPO[®] Expression Vector and nucleocapsid recombinant proteins from either strain were expressed in the TOP10 *E.coli*. The 6XHis-ORF7 recombinant proteins were purified in a single step by Ni-NTA Column affinity chromatography with approximated molecular mass of 30 kDa. The cut-off value of the S/P ratio from the recombinant proteins coated ELISA was 0.4. The developed PRRS-ELISA yielded the results similar to the Idexx ELISA. Similarly, ORF2 PCR product of PCV-2 was cloned and expressed. Purification and stability tests of the recombinant protein are undergoing and comparing with the commercial PCV-ELISA.