ไวรัสพีอาร์อาร์เอสยับยั้งการสร้าง IFNγ และ TNFα mRNA และ protein แต่กระตุ้นการสร้าง IL-10 mRNA และ protein ในโมโนซัยต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับโมโนซัยต์ของกลุ่มควบคุม ไวรัสไม่มีผลต่อการสร้าง IL-1, IL-12p35, IL-12p40 และ TGFβ mRNA

pIFNγ สามารถกระตุ้นการสร้าง IFNγ และ TNFα และยับยั้งการสร้าง IL-10 mRNA และ protein ในโมโนซัยต์ของสุกรซึ่งบ่มร่วมกับไวรัสพีอาร์อาร์เอสและ LPS อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีผลต่อการสร้าง IL-1, IL-12p35, IL-12p40 และ TGFβ mRNA

การที่ pIFNγ สามารถกระตุ้นการสร้าง IFNγ และ TNFα และยับยั้งการสร้าง IL-10 บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของ pIFNγ ที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (cell-mediated adaptive immunity) ต่อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

งานวิจัยในอนาคตควรศึกษาประสิทธิภาพของ pIFNγ ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันใน *in vivo* เมื่อใช้ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส

เอกสารอ้างอิง

Charerntantanakul W, Platt R, Roth JA. Effects of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected antigen-presenting cells on T cell activation and antiviral cytokine production. *Viral Immunol.* 2006; 19(4), 646-661.

Royaee AR, Husmann RJ, Dawson HD, Calzada-Nova G, Schnitzlein WM, Zuckermann FA, Lunney JK. Deciphering the involvement of innate immune factors in the development of the host response to PRRSV vaccination. *Vet Immunol Immunopathol.* 2004; 102:199-216.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

   1.1 Charerntantanakul W. Evaluation of plasmids expressing interferon gamma in induction of cell-mediated immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Manuscript in preparation*.

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

   2.1 เชิงวิชาการ

   งานวิจัยนี้ใช้เป็นส่วนหนึ่งในการเรียนการสอนในระดับบัณฑิตศึกษาของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ (วิชา ทช 534 ไวรัสวิทยาในสัตว์ และวิชา ทช 535 ภูมิคุ้มกันวิทยาในสัตว์) ในด้านเทคนิคทางพันธุศาสตร์โมเลกุล ไวรัสวิทยา และภูมิคุ้มกันวิทยาในสัตว์

3. การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ

   3.1 Charerntantanakul W. Evaluation of plasmids expressing interferon gamma in induction of cell-mediated immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. ***งานประชุมวิชาการสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้***. (กำหนดจัดในเดือนพฤษภาคม 2554)

ภาคผนวก

>1st_Base_295131_wasin_T7_Promoter

NTGCTGTAGCTTGGTACGAGCTCGGATCCAGTACCCTTCACCATGGGTTATACAACTTATTT

CTTAGCTTTTCAGCTTTGCGTGACTTTGTGTTTTTCTGGCTCTTACTGCCAGGCGCCCTTTTT

TAAAGAAATAACGATCCTAAAGGACTATTTTAATGCAAGTACCTCAGATGTACCTAATGGTGG

ACCTCTTTTCTTAGAAATTTTGAAGAATTGGAAAGAGGAGAGTGACAAAAAAATAATTCAGAG

CCAAATTGTCTCCTTCTACTTCAAATTCTTTGAAATCTTCAAAGATAACCAGGCCATTCAAAG

GAGCATGGATGTGATCAAGCAAGACATGTTTCAGAGGTTCCTAAATGGTAGCTCTGGGAAAC

TGAATGACTTCGAAAAGCTGATTAAAATTCCGGTAGATAATCTGCAGATCCAGCGCAAAGCC

ATCAGTGAACTCATCAAAGTGATGAATGATCTGTCACCAAGGTCTAACCTAAGAAAGCGGAA

GAGAAGTCAGACTATGTTCCAAGGCCAGAGAGCATCAAAATAAAAGGGTCAAGACAATTCTG

CAGATATCCAGCACAGTGGCGGCCGCTCGAGTCTAGAGGGCCCGCGGTTCGAAGGTAAGC

CTATCCCTAACCCTCTCCTCGGTCTCGATTCTACGCGTACCGGTCATCATCACCATCACCAT

TGAGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTG

CCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAA

ATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGGTGG

GGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGAATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGT

GGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGAAAGAACCAGCTGGGGCTCTAGGGGGTATCCCCACGC

GCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGGGGTGGGGGGTTACCCCGCAGCGTGACCG

CTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCCCTT

รูปที่ 1 ผลการทำ DNA sequencing ของ pIFNγ โดยใช้ T7 forward primer

>1st_Base_295132_wasin_BGH-rev

NGTGGTACTCAATGGTGTGGTGTGATGACCGGTACGCGTAGAATCGAGACCGAGGAGAGG

GTTAGGGATAGGCTTACCTTCGAACCGCGGGCCCTCTAGACTCGAGCGGCCGCCACTGTG

CTGGATATCTGCAGAATTGTCTTGACCCTTTTATTTTGATGCTCTCTGGCCTTGGAACATAGT

CTGACTTCTCTTCCGCTTTCTTAGGTTAGACCTTGGTGACAGATCATTCATCACTTTGATGAG

TTCACTGATGGCTTTGCGCTGGATCTGCAGATTATCTACCGGAATTTTAATCAGCTTTTCGAA

GTCATTCAGTTTCCCAGAGCTACCATTTAGGAACCTCTGAAACATGTCTTGCTTGATCACATC

CATGCTCCTTTGAATGGCCTGGTTATCTTTGAAGATTTCAAAGAATTTGAAGTAGAAGGAGAC

AATTTGGCTCTGAATTATTTTTTTGTCACTCTCCTCTTTCCAATTCTTCAAAATTTCTAAGAAAA

GAGGTCCACCATTAGGTACATCTGAGGTACTTGCATTAAAATAGTCCTTTAGGATCGTTATTT

CTTTAAAAAAGGGCGCCTGGCAGTAAGAGCCAGAAAAACACAAAGTCACGCAAAGCTGAAA

AGCTAAGAAATAAGTTGTATAACCCATGGTGAAGGGTACTGGATCCGAGCTCGGTACCAAGC

TTAACTAGCCAGCTTGGGTCTCCCTATAGTGAGTCGTATTAATTTCGATAAGCCAGTAAGCA

GTGGGTTCTCTAGTTAGCCAGAGAGCTCTGCTTATATAGACCTCCCACCGTACACGCCTACC

GCCCATTTGCGTCAATGGGGCGGAGTTGTTACGACATTTTGGAAAGTCCCGTTGATTTTGGT

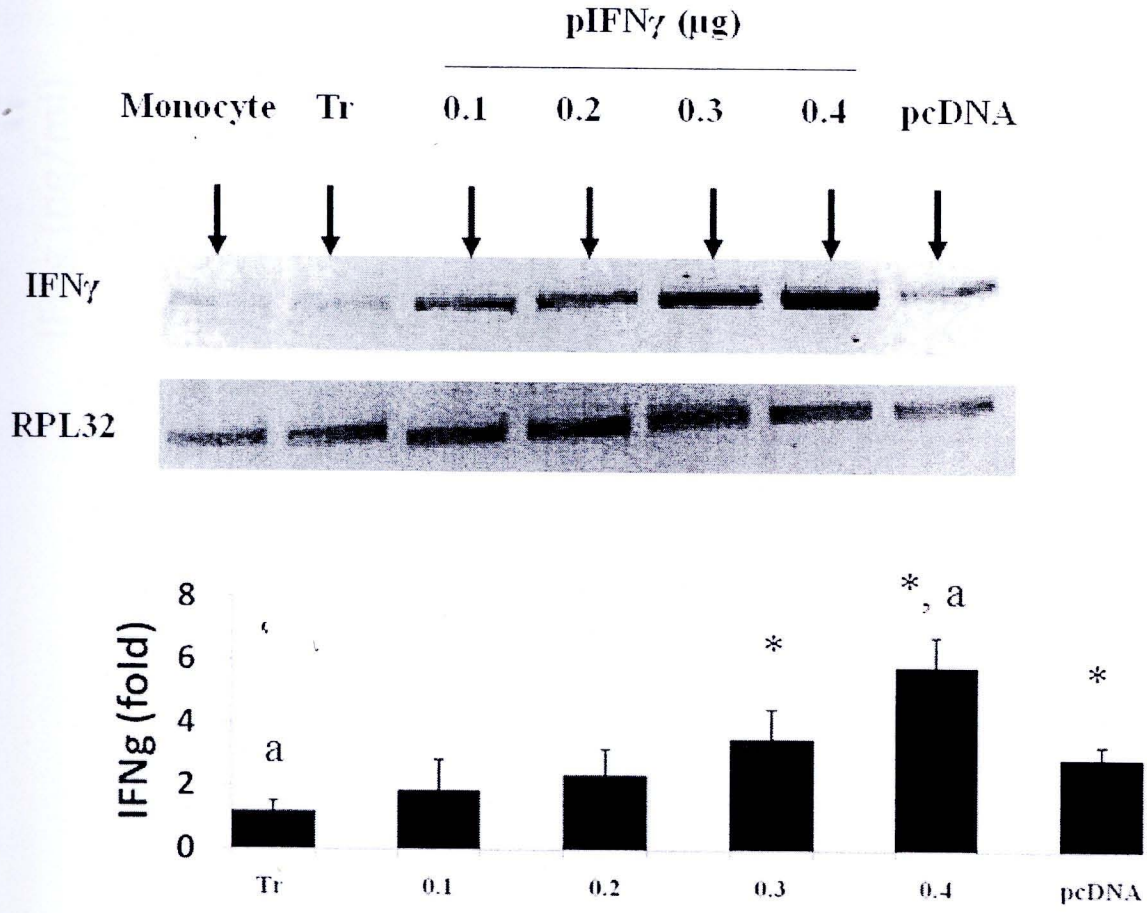
GCCAAAACAAACTCCCATTGACGTCAATGGGGTGGAGACTTGGAAATCCCCGTGAGTCAAA

CCGCTATCCACGCCCATTGATGTACTGCCAAAACCGCATCACCATGGTAATAGCGATGACTA

ATACGTAGATGTACTGCCAAGTAGGAAAGTCCCATAAGGTCATGTACTGGGCATAATGCCAG

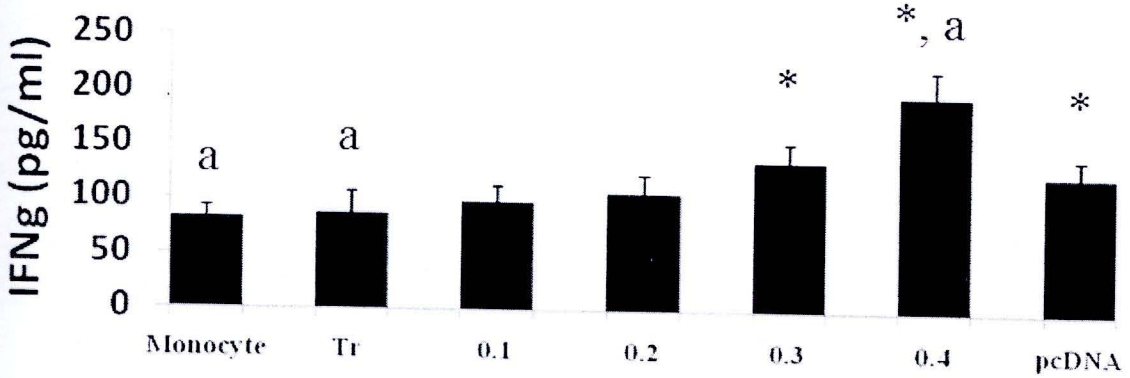
GCGGGCCATTTACCGTCATTGACGTCAAAAGGGGGCCGT

รูปที่ 1 (ต่อ) ผลการทำ DNA sequencing ของ pIFNγ โดยใช้ BGH reverse primer

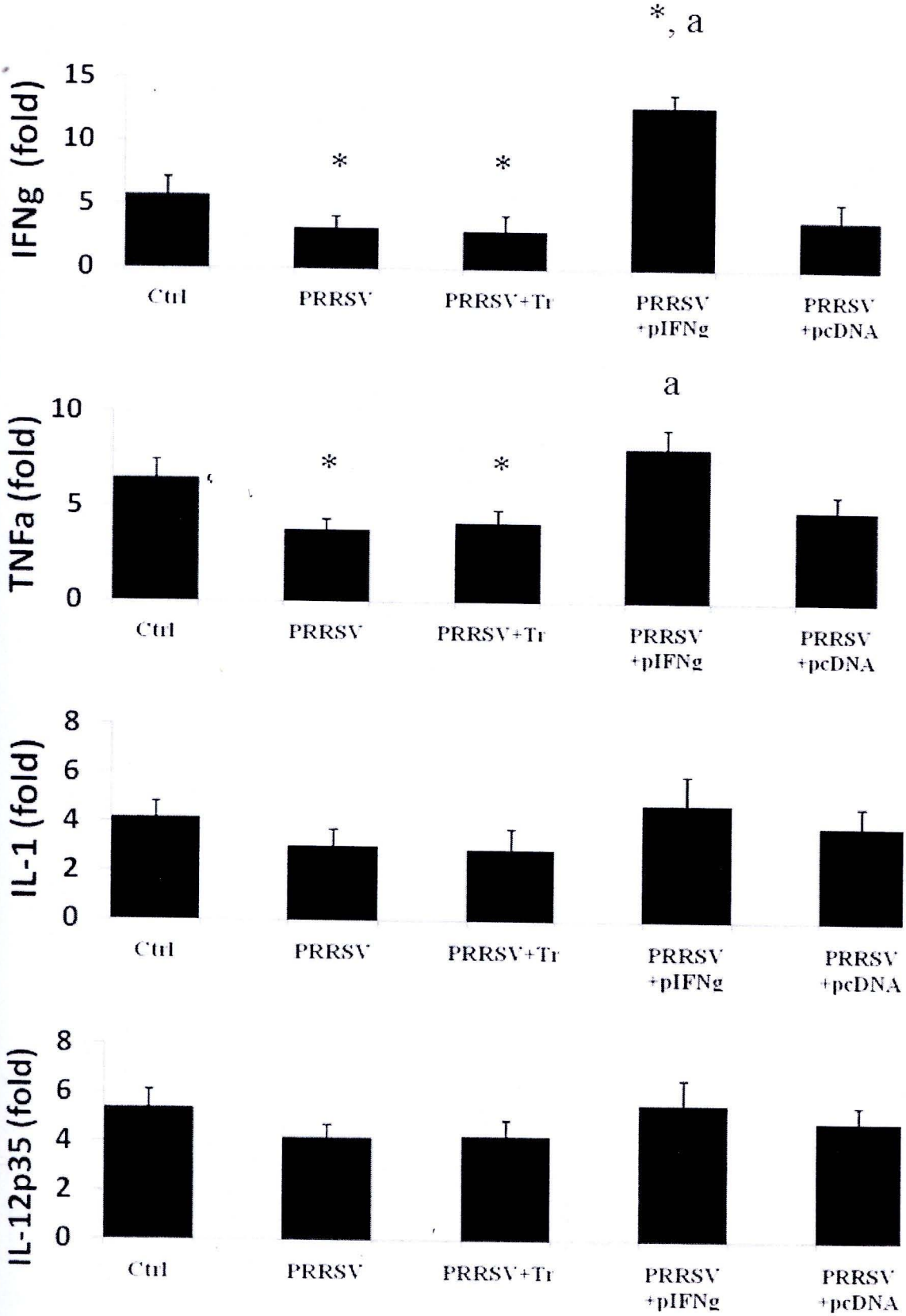


รูปที่ 2 (บน) การแสดงออกของยีน IFNγ และ ribosomal protein large 32 (RPL32) ในโมโนซัยต์ของสุกร (Monocyte) โมโนซัยต์ที่ได้รับ transfection reagent เพียงอย่างเดียว (Tr) หรือได้รับ pIFNγ ที่ปริมาณ 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 μg และโมโนซัยต์ที่ได้รับ pcDNA vector ที่ปริมาณ 0.4 μg

(ล่าง) ระดับการแสดงออกของยีน IFNγ ที่ถูก normalized ด้วย RPL32 ในกลุ่มทดลองต่างๆ อักษร a แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ pcDNA (ทดสอบด้วยวิธี one-way ANOVA และ Dunnett's t test) สัญลักษณ์ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ Tr control (ทดสอบด้วยวิธี one-way ANOVA และ Dunnett's t test)

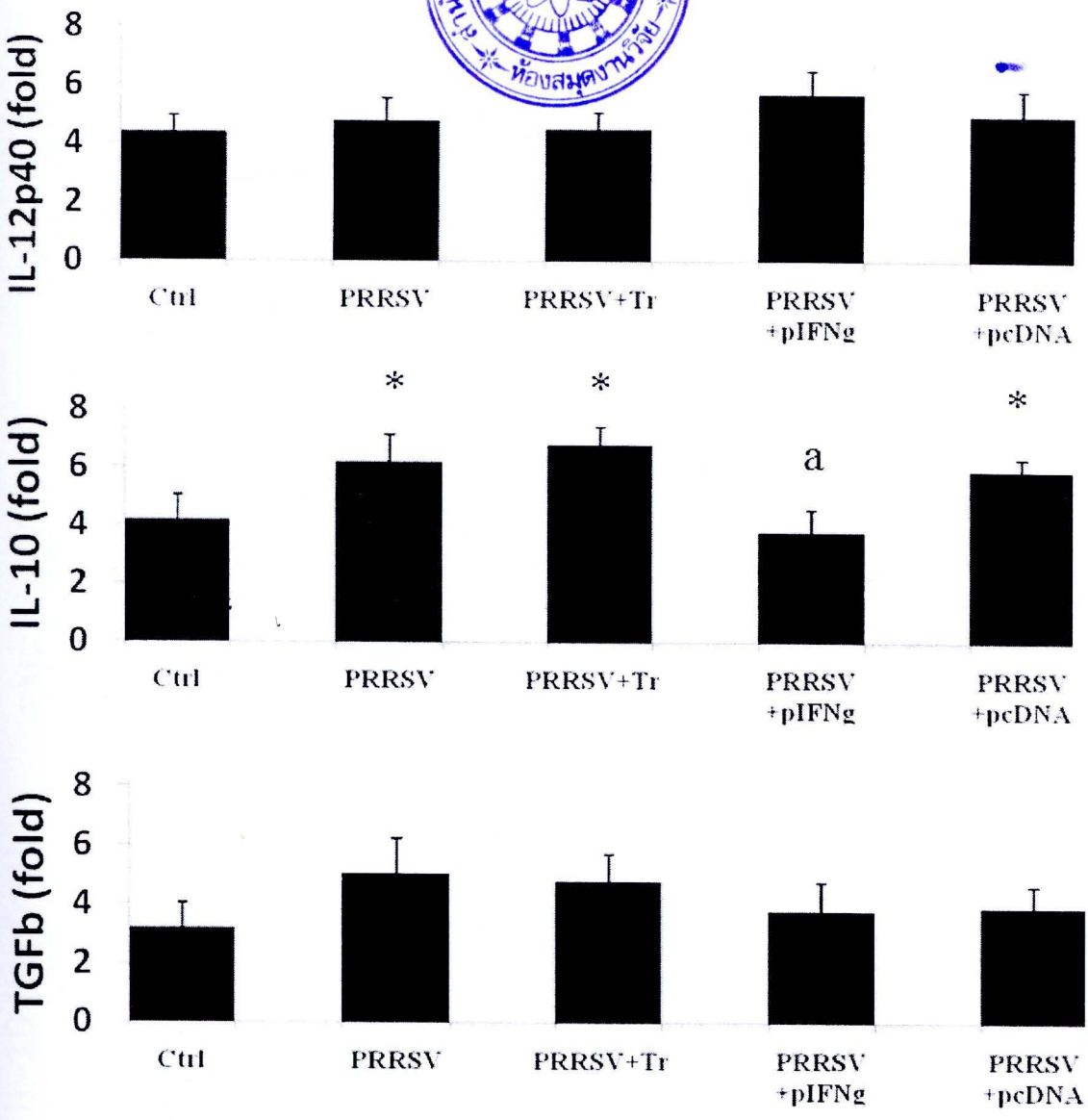


รูปที่ 3 ปริมาณ IFNγ ใน cell culture supernatant ของโมโนซัยต์ (Monocyte) โมโนซัยต์ที่ได้รับ transfection reagent เพียงอย่างเดียว (Tr) หรือได้รับ pIFNγ ที่ปริมาณ 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 µg และโมโนซัยต์ที่ได้รับ pcDNA vector ที่ปริมาณ 0.4 µg อักษร a แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ pcDNA (ทดสอบด้วยวิธี one-way ANOVA และ Dunnett's t test) สัญลักษณ์ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ Monocyte (ทดสอบด้วยวิธี one-way ANOVA และ Dunnett's t test)


*, a
IFNg (fold)
15
10
5
0
*
*
Ctrl
PRRSV
PRRSV+Tr
PRRSV +pIFNg
PRRSV +pcDNA
a
TNFa (fold)
10
5
0
*
*
Ctrl
PRRSV
PRRSV+Tr
PRRSV +pIFNg
PRRSV +pcDNA
IL-1 (fold)
8
6
4
2
0
Ctrl
PRRSV
PRRSV+Tr
PRRSV +pIFNg
PRRSV +pcDNA
IL-12p35 (fold)
8
6
4
2
0
Ctrl
PRRSV
PRRSV+Tr
PRRSV +pIFNg
PRRSV +pcDNA

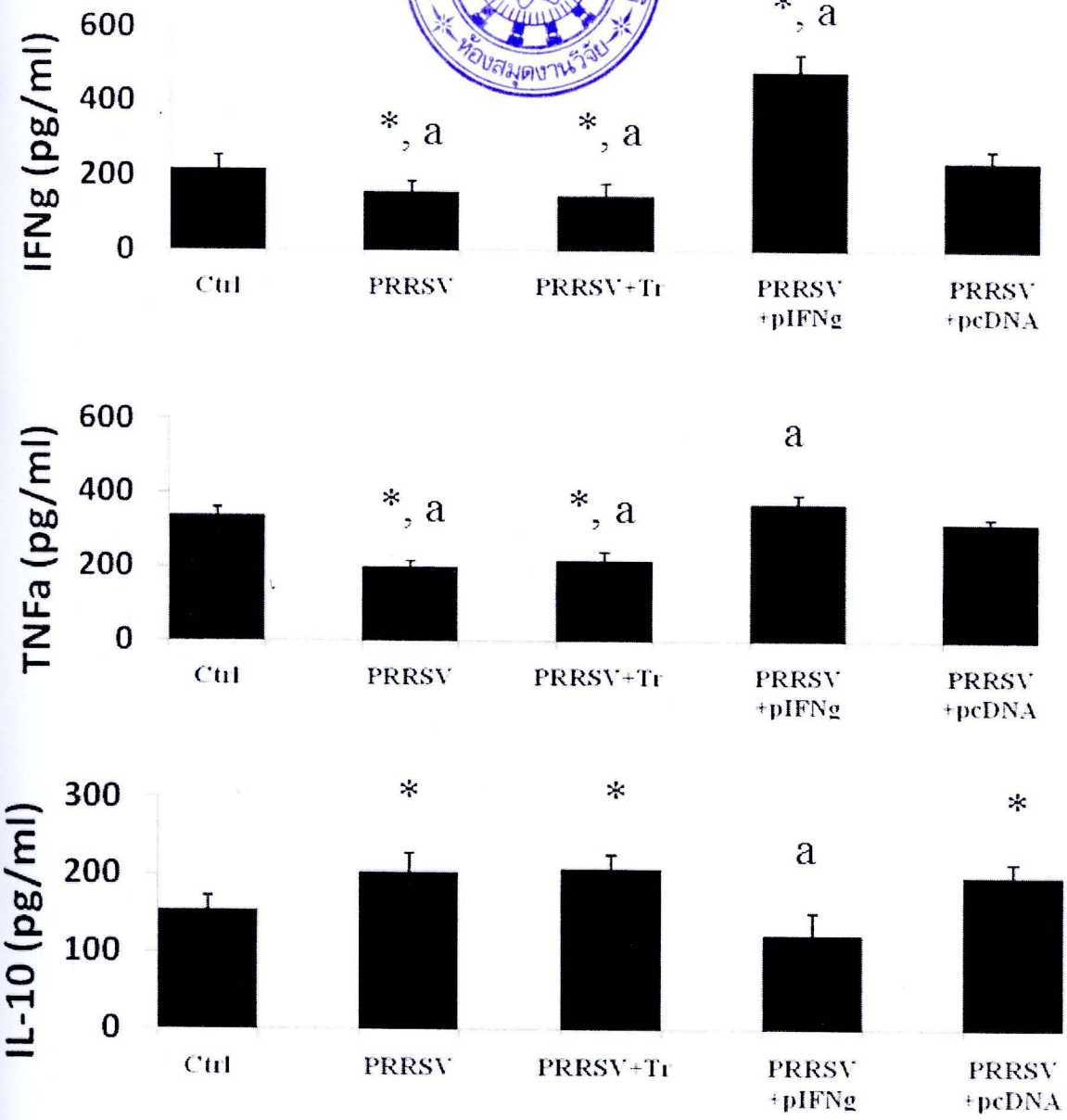
รูปที่ 4

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย



รูปที่ 4 (ต่อ) ระดับการแสดงออกของยีน IFNγ, TNFα, IL-1, IL-12p35, IL-12p40, IL-10 และ TGFβ ที่ถูก normalized ด้วย RPL32 ในโมโนซัยต์ที่กระตุ้นด้วย LPS (Ctrl) โมโนซัยต์ที่ได้รับไวรัสพีอาร์อาร์เอสและ LPS (PRRSV) โมโนซัยต์ที่ได้รับไวรัสพีอาร์อาร์เอส, transfection reagent และ LPS (PRRSV+Tr) โมโนซัยต์ที่ได้รับไวรัสพีอาร์อาร์เอสและ pIFNγ ที่ปริมาณ 0.4 µg (PRRSV+pIFNγ) และโมโนซัยต์ที่ได้รับที่ได้รับไวรัสพีอาร์อาร์เอสและ pcDNA vector ที่ปริมาณ 0.4 µg (PRRSV+pcDNA) อักษร a แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ PRRSV+pcDNA (ทดสอบด้วยวิธี one-way ANOVA และ Dunnett's t test) สัญลักษณ์ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ Ctrl (ทดสอบด้วยวิธี one-way ANOVA และ Dunnett's t test)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ - 4 ก.ค. 2555
เลขทะเบียน 246856
เลขเรียกหนังสือ



รูปที่ 5 ปริมาณ IFNγ, TNFα และ IL-10 ใน cell culture supernatant ของโมโนซัยต์ที่กระตุ้นด้วย LPS (Ctrl) โมโนซัยต์ที่ได้รับไวรัสพีอาร์อาร์เอสและ LPS (PRRSV) โมโนซัยต์ที่ได้รับไวรัสพีอาร์อาร์เอส, transfection reagent และ LPS (PRRSV+Tr) โมโนซัยต์ที่ได้รับไวรัสพีอาร์อาร์เอสและ pIFNγ ที่ปริมาณ 0.4 µg (PRRSV+pIFNγ) และโมโนซัยต์ที่ได้รับที่ได้รับไวรัสพีอาร์อาร์เอสและ pcDNA vector ที่ปริมาณ 0.4 µg (PRRSV+pcDNA) อักษร a แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ PRRSV+pcDNA (ทดสอบด้วยวิธี one-way ANOVA และ Dunnett's t test) สัญลักษณ์ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ Ctrl (ทดสอบด้วยวิธี one-way ANOVA และ Dunnett's t test)