บทคัดย่อ

การระบาดของไวรัส Influenza (H5N1) ในสัตว์ปีก และรายงานการติดเชื้อสายพันธุ์นี้จากสัตว์ปีกไปสู่คนในช่วงระหว่างปี ค.ศ. 2004-2005 ก่อให้เกิดความกังวลไปทั่วโลกว่าไวรัสสายพันธุ์นี้อาจเกิดกลายพันธุ์และสามารถแพร่เชื้อระหว่างมนุษย์ อาจทำให้เกิดเกิดการระบาดไปทั่วโลก (pandemic) การใช้วัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อกรณีมีการระบาดเกิดขึ้น เป็นวิธีการหลักซึ่งจะช่วยลดความสูญเสียต่อชีวิตและทรัพย์สินของประชากรโลกได้ การผลิตวัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อไวรัสในปัจจุบันเป็นการผลิตไวรัส ซึ่งต้องมีการป้องกันการแพร่ของเชื้อไปยังสิ่งแวดล้อมขณะดำเนินการผลิต ซึ่งระบบป้องกันนั้นมีต้นทุนสูง โดยเฉพาะในการขยายขนาดการผลิตในระดับอุตสาหกรรม

การผลิตวัคซีนในรูปแบบการใช้เฉพาะโปรตีนองค์ประกอบของไวรัสส่วนที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี เช่น Hemagglutinin เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการผลิตวัคซีนที่ไม่ต้องมีระบบควบคุมความปลอดภัยของไวรัสขณะดำเนินการผลิต โครงการนี้ได้ทำการผลิต Recombinant hemagglutinin protein จาก Baculovirus Expression Insect Cell System ซึ่งทำโดยการทำพันธุวิศ กรรมแบคคิวโลไวรัส ซึ่งเป็นไวรัสที่มีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ให้มียีน hemagglutinin ของไวรัสอินฟลูเอนซา (H5N1) ให้แทรกเป็นส่วนหนึ่งของพันธุกรรมและเมื่อนำแบคคิวโลไวรัสนี้ไปติดเชื้อเข้าสู่เซลล์แมลง เซลลแมลงมีการสร้าง recombinant hemagglutinin protein ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยวิธี Western blot analysis โดยใช้ monoclonal antibody ที่มีความจำเพาะกับโปรตีน hemagglutinin ของไวรัส Influenza (H5N1) โดยโปรตีนที่ผลิตมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับโปรตีน heamgglutinin ของไวรัสอินฟลูเอนซา คือ สามารถตกตะกอนเม็ดเลือดแดง (hemagglutination) เมื่อตรวจสอบด้วย Heamagglutination Assay (HA assay) นอกจากนี้ยังได้ทำการสกัดโปรตีน Recombinant hemagglutinin protein ให้บริสุทธิ์โดยใช้ Chromatography 3 ขั้นตอน ได้แก่ Anion exchange chromatography (QXL/QFF) ต่อด้วย Cation Exchange chromatography (SPFF) และ Hydroxyapatite Chromatography (CHT) เพื่อให้พร้อมนำไปทดสอบการเป็นวัคซีนต่อไป

คำสำคัญ: ไวรัสอินฟลูเอนซา(H5N1)/ Baculovirus expression system/ Hemagglutinin protein

Abstract

Spreading of avian influenza virus (H5N1) and reports on human infection during 2004-2005 caused worldwide concern on influenza pandemic. Vaccine is a main method to prevent loses from this disease. To produce this vaccine, viruses must be produced in large amount to be used as antigen to trigger immune system. The viruses are however infectious, therefore virus containment at high biosafety level is required. This certainly affects cost for construction of vaccine factory.

An alternative method is to use recombinant influenza virus protein as antigen. Viral proteins that stimulate immune response such as hemagglutinin could be used. In this study, hemagglutinin protein was produced by Baculovirus Expression Insect Cell System. Baculovirus, which is safe to human and environment, was genetically engineered to have hemagglutin gene inserted into its genome. The genetically engineered baculoviruses were then infected into their natural insect cell hosts. The recombinant hemagglutinin protein was produced in infected insect cells as shown by Western blot analysis using a specic monoclonal antibody against HA protein of influenza virus (H5N1). The recombinant hemagglutinin protein was found to be active in Heamagglutination Assay (HA) as its native hemagglutin protein from influenza virus. Furthermore, the recombiant hemagglutinin protein from infected insect cells can be purified by using 3 steps chromatography; Anion exchange chromatography (QXL/QFF), Cation Exchange chromatography (SPFF) and Hydroxyapatite Chromatography (CHT). The purified recombinant hemagglutinin is now ready to be further tested for vaccine.

Keywords: Influenza virus (H5N1)/ Baculovirus expression system/ Hemagglutinin protein