บทนำ

White spot syndrome virus (WSSV) เป็นไวรัสที่ระบาดและก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมหาศาลในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงกุ้ง ไวรัสมีรูปร่างเป็นแท่ง (ovoid-to-bacilliform) มี tail-like appendix ที่ปลายด้านหนึ่ง การถ่ายแบบดีเอ็นเอ (replication) และ สังเคราะห์สิ่งหุ้ม (envelop) ของไวรัสเกิดขึ้นในนิวเคลียส ปัจจุบันยังไม่ทราบกลไกที่แท้จริงที่ไวรัสเข้าสู่เซลล์ กระจายไปทั่วร่างกาย และทำปฏิกิริยากับโปรตีนใดของเซลล์ อนุภาคไวรัสประกอบด้วยโปรตีนอย่างน้อย 5 ชนิดตามขนาดคือ 28 kDa (VP28), 26 kDa (VP26), 24 kDa (VP24), 19 kDa (VP19) และ 15 kDa (VP 15) แบ่งโปรตีนเหล่านี้เป็น 2 กลุ่มคือ VP28 และ VP19 เป็นโปรตีนของสิ่งหุ้ม ส่วน VP26, VP24 และ VP 15 คือโปรตีนหุ้มสารพันธุกรรม (nucleocapsid) โปรตีน VP26, VP28 ทำหน้าที่สำคัญในช่วงแรกของการติดเชื้อ WSSV (Van Hulten et al., 2002; Kim et al., 2004)

การศึกษาว่าโปรตีนใดของไวรัสทำหน้าที่สำคัญในกลไกการติดเชื้อในสัตว์บางชนิด มักใช้วิธี neutralization ด้วยแอนติบอดี และทดลองกับเซลล์เพาะเลี้ยง เพื่อค้นหา epitope ที่ทำให้ไวรัสไม่สามารถยึดเกาะที่ผิวเซลล์ หรือเข้าสู่เซลล์ หรือสลัดสิ่งหุ้ม (uncoating) (Burton et al., 2000) เมื่อทราบ epitope แล้ว ก็สามารถนำแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ epitope (neutralizing antibody) ไปใช้ในการป้องกันไวรัสไม่ให้เข้าสู่เซลล์ หรือยับยั้งการเจริญของไวรัสในเซลล์ได้ ดังงานวิจัยในโครงการที่ 1 ซึ่ง pC9 เป็นโปรตีนที่จับกับ envelope glycoprotein ของไวรัสตัวแดงดวงขาว และทดสอบว่าจะสามารถใช้ในการล้างฤทธิ์ของไวรัสหรือไม่ อย่างไรก็ตามนอกเหนือไปจากการยับยั้งที่ envelope protein แล้ว การศึกษากลไกการเพิ่มจำนวนของไวรัส ก็เป็นเรื่องที่น่าสนใจ และจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งหากสามารถหาวิธียับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสในเซลล์ได้ ในที่นี้จึงสนใจที่จะศึกษายีน Receptor for activated protein kinase C1 (*RACK1*) จากคลังยีนของเลือดกุ้งที่ติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว *Pm-RACK1* มีความเหมือนกับยีน *RACK1* ของแมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) 80% ผึ้ง (*Apis mellifera*) 83% หนอน (*Bombyx mori*) 82% ปลา (*Danio rerio*) 79% หนู (*Mus musculus*) 78% และ คน (*Homo sapiens*) 78% จากการทำนายรูปร่างและโครงสร้างของ RACK1 ประกอบด้วย WD domain (W= Tryptophan, D=Aspatic acid) ซ้ำกัน 7 โดเมน ซึ่งเป็นส่วนที่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์กันโปรตีนอื่นทำหน้าที่เปรียบเสมือนเป็น adaptor protein

ได้มีการศึกษา RACK1 interacting proteins และบทบาทหน้าที่ของ RACK1 เมื่อทำงานร่วมกับ RACK1 interacting proteins ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ทำให้ทราบว่า RACK1 มีหน้าที่ที่หลากหลายและเกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆภายในเซลล์ แต่ที่ให้ความสนใจในที่นี้ คือ ความเกี่ยวข้องของ RACK1 และ RACK1 interacting proteins กับกระบวนการติดเชื้อไวรัสและแบคทีเรียของเซลล์ (Sklan et al., 2006) ดังนั้นหากเราสามารถใช้ *Pm-RACK1* ของกุ้งนำไปสู่การค้นหา RACK1 interacting protein(s) ซึ่งอาจมีมากกว่าหนึ่งชนิด โดยจะใช้เทคนิค yeast two hybrid system ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ค้นหาและศึกษา protein-protein interaction แล้วศึกษาว่าโปรตีนนั้นมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อหรือไม่ และเป็น

ตัวช่วยหรือยับยั้งการเพิ่มจำนวนไวรัสตัวแดงดวงขาว ก็จะสามารถนำไปสู่การแก้ไขปัญหาการแพร่ระบาดของโรคกุ้งได้โดยตรง

White spot syndrome virus (WSSV) เป็นไวรัสที่ระบาดและก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมหาศาลในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงกุ้ง ไวรัสมีรูปร่างเป็นแท่ง (ovoid-to-bacilliform) มี tail-like appendix ที่ปลายด้านหนึ่ง การถ่ายแบบดีเอ็นเอ (replication) และ สังเคราะห์สิ่งหุ้ม (envelop) ของไวรัสเกิดขึ้นในนิวเคลียส ปัจจุบันยังไม่ทราบกลไกที่แท้จริงที่ไวรัสเข้าสู่เซลล์ กระจายไปทั่วร่างกาย และทำปฏิกิริยากับโปรตีนใดของเซลล์ อนุภาคไวรัสประกอบด้วยโปรตีนอย่างน้อย 5 ชนิดตามขนาดคือ 28 kDa (VP28), 26 kDa (VP26), 24 kDa (VP24), 19 kDa (VP19) และ 15 kDa (VP 15) แบ่งโปรตีนเหล่านี้เป็น 2 กลุ่มคือ VP28 และ VP19 เป็นโปรตีนของสิ่งหุ้ม ส่วน VP26, VP24 และ VP 15 คือโปรตีนหุ้มสารพันธุกรรม (nucleocapsid) โปรตีน VP26, VP28 ทำหน้าที่สำคัญในช่วงแรกของการติดเชื้อ WSSV (Van Hulten et al., 2002; Kim et al., 2004)

การศึกษาว่าโปรตีนใดของไวรัสทำหน้าที่สำคัญในกลไกการติดเชื้อในสัตว์บางชนิด มักใช้วิธี neutralization ด้วยแอนติบอดี และทดลองกับเซลล์เพาะเลี้ยง เพื่อค้นหา epitope ที่ทำให้ไวรัสไม่สามารถยึดเกาะที่ผิวเซลล์ หรือเข้าสู่เซลล์ หรือสลัดสิ่งหุ้ม (uncoating) (Burton et al., 2000) เมื่อทราบ epitope แล้ว ก็สามารถนำแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ epitope (neutralizing antibody) ไปใช้ในการป้องกันไวรัสไม่ให้เข้าสู่เซลล์ หรือยับยั้งการเจริญของไวรัสในเซลล์ได้ ดังงานวิจัยในโครงการที่ 1 ซึ่ง pC9 เป็นโปรตีนที่จับกับ envelope glycoprotein ของไวรัสตัวแดงดวงขาว และทดสอบว่าจะสามารถใช้ในการล้างฤทธิ์ของไวรัสหรือไม่ อย่างไรก็ตามนอกเหนือไปจากการยับยั้งที่ envelope protein แล้ว การศึกษากลไกการเพิ่มจำนวนของไวรัส ก็เป็นเรื่องที่น่าสนใจ และจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งหากสามารถหาวิธียับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสในเซลล์ได้ ในที่นี้จึงสนใจที่จะศึกษายีน Receptor for activated protein kinase C1 (*RACK1*) จากคลังยีนของเลือดกุ้งที่ติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว *Pm-RACK1* มีความเหมือนกับยีน *RACK1* ของแมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) 80% ผึ้ง (*Apis mellifera*) 83% หนอน (*Bombyx mori*) 82% ปลา (*Danio rerio*) 79% หนู (*Mus musculus*) 78% และ คน (*Homo sapiens*) 78% จากการทำนายรูปร่างและโครงสร้างของ RACK1 ประกอบด้วย WD domain (W= Tryptophan, D=Aspatic acid) ซ้ำกัน 7 โดเมน ซึ่งเป็นส่วนที่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนอื่น ทำหน้าที่เปรียบเสมือนเป็น adaptor protein

ได้มีการศึกษา RACK1 interacting proteins และบทบาทหน้าที่ของ RACK1 เมื่อทำงานร่วมกับ RACK1 interacting proteins ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ทำให้ทราบว่า RACK1 มีหน้าที่ที่หลากหลายและเกี่ยวข้องกับกระบวนการต่าง ๆภายในเซลล์ แต่ที่เราให้ความสนใจในที่นี้ คือ ความเกี่ยวข้องของ RACK1และ RACK1 interacting proteins กับกระบวนการติดเชื้อไวรัสและแบคทีเรียของเซลล์ (Sklan et al., 2006) ดังนั้นหากเราสามารถใช้ *Pm-RACK1* ของกุ้งนำไปสู่การค้นหา RACK1 interacting protein(s) ซึ่งอาจมีมากกว่าหนึ่งชนิด โดยจะใช้เทคนิค yeast two hybrid system ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้

ค้นหาและศึกษา protein-protein interaction แล้วศึกษาว่าโปรตีนนั้นมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อหรือไม่ และเป็นตัวช่วยหรือยับยั้งการเพิ่มจำนวนไวรัสตัวแดงดวงขาว ก็จะสามารถนำไปสู่การแก้ไขปัญหาการแพร่ระบาดของโรคกุ้งได้โดยตรง