

จากการศึกษาเพื่อค้นหาโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำโดยอาศัยเทคนิค phage display ที่ผ่านมา พบว่าโคลนที่ได้สามารถผลิตโปรตีน ขนาดประมาณ 3 กิโลดาลตัน จึงเรียกโปรตีนดังกล่าวว่า White Spot Syndrome Viral Binding Protein (WBP) ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าโปรตีน WBP สามารถจับได้อย่างจำเพาะกับโปรตีน VP26 ของไวรัสตัวแดงดวงขาวซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 22 กิโลดาลตัน โดยโปรตีนดังกล่าวจัดเป็นโปรตีนในกลุ่มที่มีคุณสมบัติเกี่ยวกับโครงสร้าง (Structural protein) และมีตำแหน่งอยู่บนเปลือกหุ้มของอนุภาคไวรัส (Envelope) ที่เชื่อว่าไวรัสจะอาศัยโปรตีนในกลุ่มดังกล่าวเป็นส่วนสำคัญในการยึดเกาะและเชื่อมต่อกับผนังเซลล์ของเซลล์เจ้าบ้าน ดังนั้นการที่พบว่าโปรตีน WBP สามารถจับได้อย่างจำเพาะกับโปรตีน VP26 ในการศึกษาครั้งนี้จึงนำโปรตีน WBP มาทดสอบความสามารถในการลบล้างฤทธิ์ของไวรัส ในรูปแบบของ *In vitro* ซึ่งผลจากการทดลองพบว่าเมื่อนำโปรตีน WBP ปริมาณต่างๆ มาบ่มกับไวรัสตัวแดงดวงขาว แล้วนำสารละลายผสมดังกล่าวมาบ่มกับเซลล์เม็ดเลือด พบว่าโปรตีน WBP สามารถลบล้างฤทธิ์ของไวรัสตัวแดงดวงขาวและส่งผลให้จำนวนของไวรัสที่สามารถเกาะและยึดจับกับเซลล์เม็ดเลือดมีจำนวนของไวรัสลดลงตามปริมาณของโปรตีน WBP ที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้โปรตีน WBP ที่ปริมาณ 80 ไมโครกรัม สามารถลบล้างฤทธิ์ของไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ดีที่สุด ซึ่งทำให้จำนวนของไวรัสลดลงเหลือเท่ากับ 6.0×10^2 copies เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เป็น positive control ซึ่งมีจำนวนของไวรัสตัวแดงดวงขาวที่สามารถเกาะกับเซลล์เม็ดเลือดได้ เท่ากับ 2.0×10^7 copies การศึกษาในขั้นต่อมาเป็นการทดสอบความสามารถในการลบล้างฤทธิ์ไวรัสตัวแดงดวงขาวของโปรตีน WBP ในรูปแบบ *in vivo* โดยการนำโปรตีน WBP ที่ปริมาณต่างๆ มาบ่มกับไวรัสตัวแดงดวงขาว แล้วนำไปฉีดในกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) ซึ่งเมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน พบว่าโปรตีน WBP ที่ปริมาณ 80 ไมโครกรัมสามารถลบล้างฤทธิ์ของไวรัสตัวแดงดวงขาวแล้วทำให้กุ้งมีอัตราการมีชีวิตรอดมากที่สุดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของค่า RPS (Relative percentage survival) เท่ากับ 89% ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าโปรตีน WBP เป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการลบล้างฤทธิ์ไวรัสตัวแดงดวงขาว โดยสามารถคงทนและรักษาประสิทธิภาพในการลบล้างฤทธิ์ไว้นาน 24 ชั่วโมง เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

คำสำคัญของเรื่องที่ทำการวิจัย: Binding proteins, gene, Shrimp, WSSV

Abstract

213155

In a previous study, the interactive gene of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) to white spot syndrome virus (WSSV) was screened using phage display technique. The clone encoded a 3 kDa protein and was named White Spot Syndrome Viral Binding Protein (WBP). In this study the WBP showed binding with VP26 (22 kDa) envelope structural protein of WSSV by western blotting. As WBP had the ability to bind with VP26, so WBP was assayed for neutralizing activity of the WSSV. *In vitro* neutralization assay was tested with various quantities of WBP that preincubated with WSSV and then the mixtures were incubated with the hemocytes. Preincubation with increasing amounts of WBP resulted in decreasing numbers of WSSV particles were recovered from the hemocytes. Especially, the WSSV that was neutralized by WBP at 80 μg . The numbers of WSSV particles recovered from the hemocytes was 6.0×10^2 copies while those of WSSV without treated by WBP (positive control) was 2.0×10^7 copies. In addition, *In vivo* neutralization assay was investigated with WBP at different concentrations and then injected intramuscularly to the white shrimp (*Penaeus vannamei*). Fifteen days after injection, the result showed that the neutralization of WSSV with 80 μg of WBP gave 89% relative percentage survival. These results demonstrated that WBP was effective in neutralization the virulence of WSSV and WBP was stable at room temperature for 24 hours.

Keywords: Binding proteins, gene, Shrimp, WSSV