

SILENCING OF *PENAEUS MONODON* RAB7 ON INFECTIOUS HYPODERMAL AND HEMATOPOIETIC NECROSIS VIRUS INFECTION

KWANRUEAN BENJAWAN 5137040 MBMG/M

M.Sc. (MOLECULAR GENETICS AND GENETIC ENGINEERING)

THESIS ADVISORY COMMITTEE : CHALERMPORN ONGVARRASOPONE, Ph.D., SAKOL PANYIM, Ph.D., APINUNT UDOMKIT, Ph.D., PONGSOPEE ATTASART, Ph.D.

ABSTRACT

Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) is a single-stranded linear DNA virus belonging to the *Parvovirus* family. This virus causes runt-deformity syndrome (RDS) and physical abnormalities in *L. vannamei*. The previous evidence suggests that Rab7 may be involved in an endosomal trafficking process for virus replication in shrimp. In this study, dsRNA corresponding to an endogenous *Rab7* gene of *P. monodon* (dsRNA-PmRab7) was used to study the inhibitory effect against IHHNV through RNAi pathway. Rab7 of *L. vannamei* (LvRab7) can be knocked down approximately 96% after 2 days and 100% after 4 days post injection of dsRNA-PmRab7. Suppression of LvRab7 mRNA by using dsRNA-PmRab7 showed inhibition of IHHNV replication in both the co-injection experiment of IHHNV and dsRNA-PmRab7, and the experiment of dsRNA-PmRab7 injection 2 days before IHHNV challenge. In the therapeutic effect of dsRNA-PmRab7 on IHHNV replication, the low dose injection of dsRNA-PmRab7 (0.63 µg/g shrimp) at 1 day after IHHNV challenge can inhibit IHHNV replication after 5 days. Furthermore, the double injection of dsRNA-PmRab7 (2.5 µg/g shrimp) at 1 and 5 day (s) after IHHNV challenge can reduce IHHNV replication after 10 days. These results suggest that LvRab7 is involved in IHHNV replication in *L. vannamei*.

KEY WORDS: dsRNA/ ENDOSOMAL TRAFFICKING/ IHHNV/ PmRab7/ RNAi

59 pages

ผลของการยับยั้ง Rab7 ในกุ้งขาวต่อการเพิ่มจำนวนไวรัสไอเอสเอชเอชเอ็น

SILENCING OF *PENAEUS MONODON* RAB7 ON INFECTIOUS HYPODERMAL AND HEMATOPOIETIC NECROSIS VIRUS INFECTION

ขวัญเรือน เบ็ญจวรรณ 5137040 MBMG/M

วท.ม. (อนุพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรมศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : เฉลิมพร องค์กร โสภณ, Ph.D., สกล พันธุ์ยิ้ม, Ph.D., อภินันท์ อุดมกิจ, Ph.D., พงโสภี อุตศาสตร์, ปร.ค.

บทคัดย่อ

ไวรัสไอเอสเอชเอชเอ็นเป็นไวรัสที่มีดีเอ็นเอสายเดี่ยวเป็นสารพันธุกรรม ซึ่งอยู่ในวงศ์ *Parvovirus* ไวรัสชนิดนี้ทำให้กุ้งขาวที่ติดโรคมีรูปร่างแคระแกร็นหรือผิดปกติไป การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า Rab7 เกี่ยวข้องกับกระบวนการเคลื่อนที่แบบเอ็นโดไซโทซิสมระหว่างการเพิ่มจำนวนของไวรัส ในการศึกษาครั้งนี้ได้มีการนำอาร์เอ็นเอสายคู่ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับยีน Rab7 ในกุ้งกุลาดำ (dsRNA-PmRab7) มายับยั้งการแสดงออกของยีน Rab7 ในกุ้งขาว เพื่อศึกษาผลการยับยั้งยีน LvRab7 ต่อการเพิ่มจำนวนของไวรัสไอเอสเอชเอชเอ็นในกุ้งขาว ผลการศึกษาพบว่า dsRNA-PmRab7 สามารถยับยั้งการแสดงออกของยีน LvRab7 ได้ ประมาณ 96% และ 100% ในวันที่ 2 และ 4 หลังจากฉีดอาร์เอ็นเอสายคู่ โดยผลของการยับยั้งยีน LvRab7 โดย dsRNA-PmRab7 สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสไอเอสเอชเอชเอ็นได้ ทั้งจากการฉีดอาร์เอ็นเอสายคู่พร้อมกับไวรัสและการฉีดอาร์เอ็นเอสายคู่ก่อนติดไวรัส 2 วัน สำหรับการศึกษาการรักษากุ้งขาวที่ติดไวรัสไอเอสเอชเอชเอ็นด้วยอาร์เอ็นเอสายคู่ (dsRNA-PmRab7) พบว่า กุ้งที่ถูกฉีดด้วย dsRNA-PmRab7 ในปริมาณน้อยที่ 0.63 ไมโครกรัมต่อกรัมกุ้ง หลังจากติดไวรัส 1 วัน ให้ผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสไอเอสเอชเอชเอ็นได้ หลังกุ้งติดเชื้อได้ 5 วัน กุ้งที่ถูกฉีด dsRNA-PmRab7 2 ครั้ง ในปริมาณครั้งละ 2.5 ไมโครกรัมต่อกรัมกุ้ง หลังจากติดไวรัส 1 วัน และ 5 วัน ให้ผลการลดการเพิ่มจำนวนของไวรัสไอเอสเอชเอชเอ็นได้หลังกุ้งติดไวรัสได้ 10 วัน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า Rab7 เกี่ยวข้องในกระบวนการเพิ่มจำนวนของไวรัสไอเอสเอชเอชเอ็นในกุ้งขาว