จิรัฏฐกร เธียรธนันต์กุล 2554: การสร้างรีคอมบิแนนท์โปรตีน E2 ของไวรัสชิคุนกุนยา เพื่อใช้พัฒนาชุดตรวจโรคชิคุนกุนยา ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา) สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ ร้อยเอกชัยวัฒน์ กิตติกูล, วท.ม. 93 หน้า

โรคชิคุนกุนยาหรือโรคไข้ปวดข้อยุงลายเป็นปัญหาทางสาธารณสุขของหลายประเทศในแถบเอเชียและแอฟริกา เกิดจากการติดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาโดยมียุงลายเป็นพาหะนำโรค โปรตีน E2 ของไวรัสชิคุนกุนยามีบทบาทในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกาย ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้ทำการผลิตโปรตีน E2 ของไวรัสชิคุนกุนยา โดยการตัดต่อยีน E2 เข้าสู่ พลาสมิด pET21a และให้ชื่อว่า pET21a-CHK-E2 พบว่าเหมือนกันถึง 99 เปอร์เซ็นต์ทั้งลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโน เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนกับไวรัสชิคุนกุนยา สายพันธุ์ Ross (AF490259.2.) เมื่อนำรีคอมบิแนนท์พลาสมิด ดังกล่าวเข้าสู่ *Escherichia coli* สายพันธุ์ BL21 (DE3) pLysS เพื่อผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน E2 โดยใช้สภาวะการเหนี่ยวนำการสร้างโปรตีน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของ IPTG ที่ 0.5 มิลลิโมลาร์ และใช้ระยะเวลาในการเหนี่ยวนำเป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่ารีคอมบิแนนท์โปรตีน E2 มีขนาด ประมาณ 46 กิโลดาลตันและเป็นโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำอยู่ในรูปของ inclusion bodies การศึกษาคุณลักษณะของรีคอมบิแนนท์โปรตีน E2 โดยทำปฏิกิริยากับตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยโรคไข้ปวดข้อยุงลายและตัวอย่างซีรัมคนปกติด้วยวิธี Western blot และ Dot blot จากผลการศึกษาพบว่ารีคอมบิแนนท์โปรตีน E2 สามารถจับกับแอนติบอดีในตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยและไม่ทำปฏิกิริยากับตัวอย่างซีรัมคนปกติ แสดงให้เห็นว่า รีคอมบิแนนท์โปรตีน E2 น่าจะนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการพัฒนาชุดตรวจโรคได้ เช่น ELISA หรือ immunochromatography (IC) ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเบื้องต้นในการนำรีคอมบิแนนท์โปรตีน E2 ไปพัฒนาชุดตรวจโรค โดยใช้หลักการ IC ผลจากการศึกษาพบว่า รีคอมบิแนนท์โปรตีน E2 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยโรคไข้ปวดข้อยุงลายและตัวอย่างซีรัมคนปกติได้ แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำรีคอมบิแนนท์โปรตีน E2 ไปใช้เป็นวัตถุดิบในการพัฒนาชุดตรวจโรคไข้ปวดข้อยุงลาย

_____ _____ ___/___/___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์