# บทที่ 5

## สรุปและข้อเสนอแนะ

1. สามารถทำการเพาะเลี้ยงเซลล์จากเนื้อเยื่อส่วนไตของปลากะพงขาว ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์สังเคราะห์ L-15 ซึ่งมีส่วนผสมของซีรัม 10 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของเกลือแกง 8,000 มิลลิกรัมต่อลิตรและพัฒนาเป็นเซลล์ไลน์ได้เป็นผลสำเร็จ โดยการทำการถ่ายเลี้ยงเซลล์ได้อย่างต่อเนื่องมากกว่า 75 ครั้ง เซลล์มีรูปร่างเป็นเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial-like cells) สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 42 ปราศจากการปนเปื้อนของแบคทีเรีย เชื้อรา และไมโคพลาสมา สามารถเก็บรักษาเซลล์ SK ที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียสและไนโตรเจนเหลว (-196 องศาเซลเซียส) ได้เป็นเวลานานกว่า 24 เดือน โดยมีอัตราการเจริญกลับคืนมาใหม่ (% recovery) 83.20 และ 74.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เซลล์ที่ผลิตได้สามารถยอมรับเชื้อไวรัส SGV, Chub, SHRV, RSIV และ GIV-2 นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการแยกเชื้อไวรัส SIV ซึ่งเป็นสาเหตุการตายของลูกปลากะพงขาวในโรงเพาะฟักได้เป็นครั้งแรก และให้ชื่อเซลล์ที่สามารถผลิตได้ในครั้งนี้ว่า "seabass kidney (SK)"

2. สามารถประยุกต์ใช้เซลล์ SK ในการศึกษาลักษณะและคุณสมบัติของไวรัส SIV ซึ่งพบว่าไวรัส SIV มีรูปร่างแบบหลายเหลี่ยม ผนังมีส่วนประกอบของไขมันหุ้ม (lipid envelope) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 200-220 นาโนเมตร มีกรดนิวคลีอิกชนิด DNA สามารถเพิ่มจำนวนได้ดีในเซลล์ SK ที่ระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่าไตเตอร์ประมาณ $10^{5.66}$ $TCID_{50}$/ml. และมีค่าลดลงเมื่อมีการแช่แข็งและหลอมละลายหลาย ๆ ครั้ง ไวรัส SIV จะถูกยับยั้งที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือที่ระดับ pH 3 เป็นเวลา 30 นาที สามารถแยกไวรัสดังกล่าวให้บริสุทธิ์ได้ในสารละลายซูโครสแบบต่อเนื่องความเข้มข้น 10-60 เปอร์เซ็นต์ อนุภาคไวรัส SIV ประกอบด้วยโครงสร้างโปรตีนรวม 27 แถบ ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 21-120 kDa และมีน้ำหนักโมเลกุลรวมประมาณ 1,700 kDa

3. สามารถประยุกต์ใช้เซลล์ SK ในการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัส SIV สำหรับการผลิตแอนติบอดีจากกระต่ายเพื่อใช้ประโยชน์ในการตรวจวินิจฉัยโรค ซึ่งแอนติบอดีที่ผลิตได้มีค่าการเจือจางประมาณ 25,600 เท่า โดยวิธี indirect dot blot immunoassay แต่ไม่มีคุณสมบัติในการลบล้าง

ฤทธิ์ต่อเชื้อ SIV และการทดสอบปฏิกริยารวมตัวกับแถบโครงสร้างโปรตีนไวรัสโดยวิธี western blotting พบว่าแอนติบอดีสามารถรวมตัวกับแถบโปรตีนหลักของเชื้อไวรัส ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 26, 28, 29, 32, 38, 40, 45, 49, 54, 65, 70, 90, 102 และ 113 kDa และสามารถเกิดปฏิกริยารวมตัวข้ามกลุ่มกับแถบโครงสร้างโปรตีนหลักของเชื้อไวรัส GIV-1, GIV-2 และ TFIV ซึ่งมีการแพร่ระบาดในปลาและกบได้ เช่นเดียวกับผลการทดสอบการตรวจหาเชื้อไวรัส ซึ่งพบว่าแอนติบอดีสามารถเกิดปฏิกริยาข้ามกลุ่ม (croos reaction) กับเชื้ออิริโดไวรัสได้ อย่างไรก็ตามผลจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าแอนติบอดีที่ผลิตได้สามารถเกิดปฏิกริยารวมตัวแบบจำเพาะกับแถบโครงสร้างโปรตีนไวรัส SIV ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 26 และ 28 kDa ได้ ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับการพัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยโรคที่มีประสิทธิภาพและมีความแม่นยำยิ่งขึ้นในอนาคต เช่น การผลิต monoclonal antibodies ต่อแถบโครงสร้างโปรตีนดังกล่าว

เซลล์ไลน์ นอกจากจะประยุกต์ใช้ในการศึกษาทางไวรัสวิทยาแล้ว ยังสามารถใช้ในการผลิตวัคซีนเพื่อป้องกันโรค การศึกษาทางพิษวิทยา ภูมิคุ้มกัน พันธุกรรม รวมถึงงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพอีกด้วย