บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การคัดเลือกฟาจลูกผสม pCANTAB 5E ของกุ้งปกติและกุ้งติดเชื้อ WSSV ที่สามารถจับกับ WSSV

ในการคัดเลือกฟาจลูกผสม pCANTAB 5E ที่สามารถจับกับ WSSV โดยเลือกใช้เทคนิค Phage Display ซึ่งมีประสิทธิภาพในการคัดเลือกหรือทดสอบปฏิกิริยาการจับกันอย่างจำเพาะของโปรตีนที่ผลิตจากยีนต่างๆกับโปรตีนเป้าหมาย (target protein) (Smith, 1985; Szardenings *et al*., 1997; Jacobosson and Frykberg, 1995; Roberts *et al*., 1992; Saggio *et al*., 1995) Krager และคณะ (2000) ได้ทำการดัดแปลงเอา phage display screening system มาใช้โดยให้ phage display มีการผลิตโปรตีนที่สามารถจับกับ receptor ของเซลล์พืชเช่นเดียวกับโปรตีนของไวรัส ซึ่งจะมีผลให้มีการแย่งจับกับโปรตีนของไวรัส มีผลให้ไวรัสไม่สามารถเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านได้ ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงเลือกใช้ เทคนิค Phage Display ในการค้นหายีนที่มีปฏิกิริยาต่อ WSSV โดยใช้คุณสมบัติของฟาจที่มีการผลิตโปรตีนออกมาที่ปลาย phage tip และนำไปใช้ในการคัดเลือก recombinant phage ที่จับกับ WSSV และยังสะดวกในการแยก interactive clone ที่ต้องการ ด้วยการติดเชื้อ phage เข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย TG1

เปรียบเทียบผลของการค้นหายีนที่มีปฏิกิริยาต่อ WSSV ระหว่างในกุ้งปกติและกุ้งที่ติดเชื้อ WSSV จาก Phage Display library ในฟาจมิด pCANTAB 5E พบว่า phage ที่จับกับ WSSV นั้นได้มาจาก cDNA library ของกุ้งที่ติดเชื้อ WSSV โดยยีนที่ได้มีขนาด 171 bp ซึ่งมีขนาดสั้นและเนื่องจากผลการศึกษาลำดับเบสของยีนไม่พบ poly (A) tail ที่อยู่บริเวณปลาย 3′ ของ mRNA ที่เตรียมได้มีขนาดเป็นผลให้สังเคราะห์ cDNA ได้สายสั้นด้วย นอกจากนั้นประสิทธิภาพของพลาสมิดพาหะ (pCANTAB 5E) อาจมีผลทำให้ยีนขนาดใหญ่ไม่สามารถเชื่อมต่อได้ดีเท่าชิ้นขนาดเล็ก ดังนั้นจึงได้มีการ

เตรียม cDNA library ขึ้นใหม่ โดยใช้ GeneRacer™ Kit (Invitrogen, California, USA) โดยหลักการทำงานของเอนไซม์ reverse transcriptase และ kit นี้มีคุณสมบัติพิเศษโดยมีการกำจัด phosphate group ที่ปลาย 5′ cap structure จากสาย mRNA ทั้งที่สมบูรณ์และไม่สมบรูณ์ เติม adaptor เข้ากับปลาย 5′ mRNA ที่สมบูรณ์ แล้วสร้างสาย DNA โดยเทคนิค PCR ที่มีการออกแบบ PCR primer ทั้งปลาย 5′ และ 3′ ของ mRNA ทำให้มีโอกาสสูงที่จะได้สายดีเอ็นเอที่สมบูรณ์ ซึ่งต่างจากการสังเคราะห์ cDNA ของ ZAP ด้วย ZAP Express® cDNA Synthesis Kit ซึ่งมีการสังเคราะห์ cDNA จาก mRNA ทั้งหมด (ซึ่งเป็นสายที่สมบูรณ์และไม่สมบูรณ์) ดังนั้นจึงมี cDNA ที่สมบูรณ์และไม่สมบรูณ์ปะปนกันอยู่

นอกจากนั้นเมื่อทำการเปรียบเทียบขนาดของ cDNA ที่เตรียมด้วย ZAP Express® cDNA Synthesis Kit (Stratagene, California, USA) ในรูปที่ 3.3 กับ cDNA ที่เตรียมขึ้นใหม่ด้วย GeneRacer™ Kit (Invitrogen, California, USA) ในรูปที่ 3.10 พบว่า cDNA จาก GeneRacer™ Kit มีขนาดเฉลี่ยใหญ่กว่า cDNA จาก ZAP Express® cDNA Synthesis Kit โดยขนาดของ cDNA จาก GeneRacer™ Kit มีค่าในช่วง 300-1,500 bp แต่ขนาดของ cDNA จาก ZAP Express® cDNA Synthesis Kit มีค่าในช่วง 50-800 bp ดังนั้น cDNA library ชุดใหม่ที่ได้น่าจะให้ยีนที่มีลำดับเบสที่สมบรูณ์กว่าชุดเก่า

4.2 การทดสอบการจับกันระหว่างโปรตีนที่ผลิตจากโคลน pC9 ใน *E.coli* HB2151 cells กับโปรตีนของไวรัส WSSV

เราเลือกใช้พลาสมิดลูกผสมจาก transformed cells TG1 ซึ่งเป็น suppressor cell คือมีการกดการทำงานของยีน amber ซึ่งเป็น stop codon ที่อยู่ระหว่างชิ้น insert จาก library และ gene 3 เพื่อใช้ในการเตรียม recombinant phage ที่มีประสิทธิภาพ โดยมี helper phage M13K07 ช่วยทำให้พลาสมิดลูกผสม pCANTAB 5E สามารถสร้างโปรตีนห่อหุ้มตัวเองและแสดงคุณสมบัติของ phage เพื่อใช้ในการ panning แต่

หากต้องการผลิตโปรตีนที่ผลิตจากโคลน pC9 จึงต้องใช้เซลล์ HB2151 ซึ่งเป็น nonsuppressor cell จึงจะสามารถผลิตโปรตีนที่ผลิตจากโคลน pC9 โดยการชักนำของ IPTG และโปรตีนที่ได้จะอยู่ในรูป extracellular protein คือโปรตีนที่ผลิตแล้วหลั่งออกมานอกเซลล์ทำให้สะดวกในการนำไปใช้

หลังจากผลิตโปรตีนที่ผลิตจากโคลน pC9 ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนอยู่ในช่วง 2,000-3,000 Da จึงทำการติดฉลากโปรตีนที่ผลิตจากโคลน pC9 ด้วย biotin-conjugated เพื่อใช้ในการทดสอบปฏิกิริยาการจับกับโปรตีนของไวรัสโดยการทำ western blotting ซึ่งผลจากการทดลองพบว่า เกิดสีม่วงบนแถบของโปรตีน VP19 ซึ่งเป็น envelope glycoprotein ของไวรัส แต่ไม่เกิดแถบสีม่วงบนแถบของโปรตีน VP15 ซึ่งเป็น nucleocapsid ของไวรัส (Hulten *et al.*, 2000) แสดงให้เห็นว่าโปรตีนที่ผลิตจากโคลน pC9 สามารถจับกับโปรตีน VP19 อย่างจำเพาะ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาว่า envelope glycoprotein เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เข้าจับกับ specific receptor molecule บน outer membrane ของเซลล์เจ้าบ้าน ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการย่อยผนังเซลล์และการรวมกันของเมมเบรนของไวรัสและเซลล์เจ้าบ้าน เพื่อให้มีการขนส่ง virion และปลดปล่อย nucleocapsid ซึ่งมีสารพันธุกรรมของไวรัสอยู่ภายใน (Gilbert *et al.*, (1995 อ้างโดย Damico and Bates, 2000); Hefferon *et al.*, 1999) Gilbert และคณะ (1995) ได้ศึกษาเกี่ยวกับความจำเพาะต่อการจับของ Tva ซึ่งทำหน้าที่เป็น host cell receptor ของ avian leukosis and sarcoma virus (ALSV) ซึ่งเป็น ไวรัสในกลุ่ม retrovirus ซึ่งพบว่า Tva จะมีความจำเพาะกับ subgroup A envelope glycoprotein (Env-A) ของไวรัสชนิดนี้เท่านั้น ซึ่งก่อให้เกิดการติดเชื้อในเซลล์เจ้าบ้าน โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ Env-A เมื่อถูกจับกับ Tva จะมีสมบัติให้เกิดการรวมตัวกับเมมเบรนของเซลล์เจ้าบ้าน (fusion active state) แต่เมื่อเปรียบเทียบการจับกันของ Tva กับ กับ subgroup C envelope glycoprotein (Env-C) พบว่าเซลล์เจ้าบ้านไม่ถูกติดเชื้อด้วยไวรัส ALSV และนอกจากนั้นจากการทดลองของ Manchester และคณะ (2000) ได้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการติดเชื้อ measle virus (MV) ในเซลล์ชนิดต่างๆ เช่น lymphocytes, versus หรือ fibroblasts ซึ่งเป็น

เซลล์ที่มีและไม่มียีนที่ควบคุมการผลิต CD46 ซึ่งเป็น cellular receptor ของไวรัสพบว่าเซลล์ที่มีการผลิต CD46 จะมีปริมาณไวรัสมากกว่าเซลล์ที่ไม่มีการผลิตโปรตีน CD46 อีกด้วย

แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำยีนจากโคลน pC9 ไปเปรียบเทียบลำดับเบสกับยีนของ receptor จากฐานข้อมูลในธนาคารยีนพบว่า ไม่พบส่วน conserve sequence ของยีน receptor บนยีนจากโคลน pC9 และจากการทดลองนี้ยีนจากโคลน pC9 ถูกสกัดได้จากกุ้งที่ติดเชื้อ WSSV แต่ไม่พบในกุ้งปกติ ดังนั้นโปรตีนที่ผลิตจากโคลน pC9 ที่ศึกษาจึงไม่จัดอยู่ในกลุ่มโปรตีน receptor หากแต่เป็นโปรตีนที่ผลิตขึ้นจากเซลล์กุ้งหรือจากไวรัสที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับ envelope glycoprotein ของไวรัส WSSV ได้

จากการศึกษาข้างต้นจึงเป็นที่น่าสนใจในการนำเอาโปรตีนที่ผลิตจากโคลน pC9 ไปใช้ในการศึกษากลไกการเข้าติดเชื้อของไวรัส WSSV และอาจนำมาประยุกต์ใช้เป็นตัวแย่งจับกับไวรัสแทน virus receptor ในกุ้ง ใช้ในการเตรียมบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งให้ปลอดเชื้อ WSSV หรืออาจประยุกต์ใช้เป็นตัวตรวจจับ WSSV ในบ่อและตัวกุ้งได้อีกด้วย

4.3 การทำ Dot Blot hybridization เพื่อหาชิ้นยีนเต็มของชิ้นยีนจากโคลน pC9 ใน pCR®4-TOPO® library

ทำการตรวจจับชิ้นยีนของโคลน pC9 ใน pCR®4-TOPO® library โดยใช้ชิ้นยีนจากโคลน pC9 เป็นตัวตรวจจับ ซึ่งผลการ hybridize เกิดขึ้นอย่างไม่จำเพาะเนื่องจากลำดับเบสของตัวตรวจจับกับส่วนของ TOPO vector มีความเหมือนกันถึง 52% จึงทำให้เกิด false positive จึงทำการหาขนาดของชิ้นยีนในแต่ละโคลน โดยทำการสุ่มคัดเลือกยีนที่ต้องการมา 83 โคลนใน 324 โคลนจาก library โดยเลือกโคลนที่สีติดม่วงเข้มและติดสีม่วงเร็ว เนื่องจากโคลนเหล่านั้นน่าจะมีลำดับของยีนที่มีลำดับความสัมพันธ์กับยีนที่มีปฏิกิริยากับไวรัสมากกว่าโคลนอื่นๆ ทำการย่อยพลาสมิดลูกผสมด้วยเอนไซม์ *EcoR* I แล้ววิเคราะห์ขนาดของยีนในแต่ละโคลนบน 1.5% agarose gel electrophoresis ซึ่งพบว่ามีความหลากหลายแบ่งเป็น 10 ขนาดด้วยกัน

คัดเลือกโคลนที่เป็นตัวแทนของแต่ละขนาดมา 10 โคลน (pCR47, pCR108, pCR118, pCR121, pCR136, pCR154, pCR190, pCR202, pCR206 และ pCR241) ทำการศึกษาลำดับเบสและทำการเปรียบเทียบผลที่ได้กับข้อมูลของธนาคารยีน ปรากฏว่าไม่พบ positive clone (ชิ้นยีนเต็มของโคลน pC9) ที่ต้องการ แต่มียีนที่น่าสนใจคือ amino acid starvation-induced protein (ASI), elongation factor 1-alpha (EF1-α), ribosomal protein และ macrophage activator protein

จากข้อมูลในผลการทดลองพบว่าโคลน pCR47 ที่มีขนาดประมาณ 800 bp เหมือนกับ amino acid starvation-induced protein(ASI) ของหนู *Rattus norvegigus* ที่มีขนาด 746 bp คิดเป็น 64.1% และมีความเหมือนกับ PvP 421 L99-29 *Litopenaeus vannamei* cDNA คิดเป็น 70% ซึ่งเป็น unknown gene (Genbank Acc : BF024120) ซึ่งได้จากการคัดเลือก immune gene จาก Pacific White Shrimp, *L. vannamei* โดยการทำ hybridization ด้วย *P. monodon* pPO probe (Gross, *et al.*, 2001)

Shay และคณะ (1990) พบว่าเมื่อทำการชักนำให้เกิดภาวะการขาดแคลนกรดอะมิโนในเซลล์ตับของหนูเป็นเวลา 12 ชั่วโมง mRNA ที่สกัดได้ในช่วงของการเกิดภาวะนั้นจะมีส่วนของยีนที่แสดงออกเป็น ASI protein นอกจากนั้นยังทำให้สารบางตัว เช่น β-actin, Cu-Zn superoxide dismutase และ glyceraldehyde triphosphate และ histone H1 ลดลงถึง 25-50 % จากระดับในสภาวะปกติ ในการชักนำ ASI mRNA จะถูกระงับเมื่อนำเซลล์ที่ขาดกรดอะมิโนกลับมาเลี้ยงในอาหารที่มีการเสริมกรดอะมิโน

ในภาวะขาดแคลนกรดอะมิโนของแบคทีเรียจะส่งผลกระตุ้นการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ในการสังเคราะห์กรดอะมิโนนั้นขึ้น ส่วนในยีสต์จะมีการควบคุมให้สังเคราะห์กรดอะมิโนที่ใช้ในกระบวนการ transcription และ posttranscription เกิดขึ้นในภาวะขาดแคลน (Miller *et al.*, 1978 อ้างโดย Shay, *et al.*, 1990) ซึ่ง ASI protein มีความสำคัญต่อกระบวนการขนส่งกรดอะมิโนที่จำเป็นในกระบวนการ transcription และtranslation โดยจะเกิดการสังเคราะห์ไกลโคโปรตีนที่เกาะอยู่บนผิวเมมเบรน เพื่อให้มีการขนส่งโปรตีนจากภายนอกเซลล์ (Kilberg *et al.*,

1986; Gazzola *et al.*, 1972 and Barber *et al.*, 1983 อ้างโดย Shay *et al.*, 1990) ในการทดลองนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ WSSV ที่เข้าติดเชื้อในกุ้งดึงเอากรดอะมิโนที่จำเป็นไปใช้ในการเพิ่มจำนวนไวรัส ทำให้กุ้งมีการสร้างโปรตีนนี้ขึ้นเพื่อกระตุ้นให้มีการขนส่งโปรตีนจากภายนอกเซลล์มาทดแทน

โคลน pCR118 และ pCR206 ที่มีขนาดประมาณ 2,000 bp เหมือนกับ elongation factor 1-alpha (EF1-α) ที่มีขนาด 1,718 bp เพียง 31.8% แต่มีความยาวของลำดับเบสที่เหมือนถึง 413 bp ซึ่งผลที่ได้ดังกล่าวอาจเนื่องมาจากประสิทธิภาพของขั้นตอนการเตรียม cDNA ที่ไม่ได้ลำดับเบสทั้งหมดของยีน

Elongation factor 1-alpha (EF1-α) เป็นโปรตีนที่มีความสำคัญในกระบวนการแปลรหัสของโปรตีน (translation) ซึ่ง EF1-α จะทำหน้าที่นำ aminoacetyl-tRNA ไปยัง mRNA-ribosome complex แล้วทำการแปรรหัสเป็นโปรตีนต่อไป (Nowell *et al.*, unpublished) ซึ่งสอดคล้องกับผลจากโคลน pCR47 โดยกุ้งที่ติดเชื้อ WSSV อาจเกิดสภาวะขาดแคลนกรดอะมิโน เซลล์จะกระตุ้นให้มีการแปลรหัสเพื่อผลิตโปรตีนมาทดแทนหรืออาจเกิดจากการกระตุ้นของไวรัสให้มีการสร้างโปรตีนที่จำเป็นต่อการเพิ่มจำนวนของไวรัส

Cimarelli และ Luban (1999) ทำการทดลองพบว่า HIV-1 matrix protein (MA) สามารถทำปฏิกิริยากับ EF1-α ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการเข้าจับของ HIV-1 Gag polyprotein ในเซลล์ได้ เมื่อเกิดการจับกันแล้วจะมีผลยับยั้งกระบวนการ translation ในหลอดทดลอง ซึ่งจากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่า EF1-α น่าจะมีความเกี่ยวข้องปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เจ้าบ้านกับไวรัส ดังนั้นหากไวรัส WSSV เข้าเกาะกับ EF1-α เช่นเดียวกับ HIV-1 จะมีผลยับยั้งการผลิตโปรตีนที่จำเป็นภายในเซลล์เจ้าบ้าน

โคลน pCR154 ที่มีขนาดประมาณ 500 bp เหมือนกับ ribosomal protein L26 (RPL26) ที่มีขนาด 472 bp ได้จากการสกัดแยก cDNA ของ *P. japonicus* (Watanabe, 1998) คิดเป็น 98.6% ซึ่งมี open reading frame ของโปรตีนเท่ากับ 144 กรดอะมิโน นอกจากนั้นเมื่อเปรียบเทียบความเหมือนของยีน RPL26 ของ *Mus musculus* กับโคลน pCR154 คิดเป็น 63.1% ซึ่งโปรตีน RPL26 มีการแสดงออก

เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของ macrophage (macrophage activator) โดยจากการทดลองของ Segade และคณะ (1995) พบว่าเมื่อทำการทดลองเลี้ยงเซลล์ macrophage-like cell line RAW 264.7 ด้วย lipopolysaccharide (LPS), interferonγ (IFNγ) และซิลิกาซึ่งเป็นสิ่งแปลกปลอม โดยผลจากการทดลองพบว่าจะมีปริมาณ mRNA ของ RPL26 เพิ่มขึ้นมากกว่าสภาวะปกติ สำหรับในการทดลองครั้งนี้จึงเป็นที่น่าสนใจว่าเมื่อมีการติดเชื้อ WSSV ในกุ้งแล้ว อาจส่งผลให้เกิดกระบวนการ phagocytosis ซึ่งชักนำให้มีอัตราการสังเคราะห์โปรตีนดังกล่าวเพิ่มขึ้นเพื่อกระตุ้นการทำงานของ macrophage ในการทำลายเชื้อ WSSV ที่บุกรุกเซลล์

โคลน pCR136 ที่มีขนาดประมาณ 800 bp เหมือนกับ ribosomal protein L23a (RPL23a) ที่มีขนาด 725 bp คิดเป็น 28.3% ซึ่งเป็นโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์และใช้ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน

Koyama และคณะ (1999) พบว่า RPL23a เป็น ribosomal protein ของ large subunit ซึ่งทำปฏิกิริยากับ Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) ซึ่งเป็น nuclear enzyme ที่จับกับส่วนปลายสายดีเอ็นเอ และย่อยสายดีเอ็นเอในปฏิกิริยา ADP-ribosylation ใน Drosophila ซึ่ง RPL23a มีส่วนของ Ala-,Lys- และ Pro-rich sequence ที่ปลาย N และมีส่วนปลาย C เหมือนกับ histone (H1)

โคลน pCR190 ที่มีขนาดประมาณ 400 bp เหมือนกับ ribosomal protein L30a (RPL30a) ของ *Drosophila melanogaster* ที่มีขนาด 414 bp และมี open reading frame ของโปรตีนเท่ากับ 111 กรดอะมิโน คิดเป็น 74.7% ซึ่งเป็นโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์และใช้ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน (protein biosynthesis)

โคลน pCR202 ที่มีขนาดประมาณ 1,000 bp เหมือนกับ ribosomal protein L7a (RPL7a) ของ *Takifugu rubripes* ที่มีขนาด 1,015 bp คิดเป็น 45.9% ซึ่งเป็นโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์และใช้ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน (protein biosynthesis)

Zhu และคณะ (2001) ได้ศึกษาการแสดงออกของ ribosomal protein L7 โดยการชักนำของเอทานอลในเซลล์มะเร็งของผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเต้านม (breast cancer) ซึ่งจากการศึกษาในทางการแพทย์พบว่าผู้ที่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จะมีความเสี่ยงต่อ

การเป็นมะเร็งที่เต้านม ซึ่งเมื่อทำการเลี้ยงเซลล์มะเร็งในอาหารที่มีแอลกอฮอล์พบว่าปริมาณของ RPL7a มีค่าสูงกว่าในเซลล์ปกติถึงสองเท่า นั่นคือ RPL7a จะเกี่ยวข้องกับการควบคุมการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเซลล์ (cellular transfomation) และการเจริญของเซลล์มะเร็ง (tumor growth) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง RPL7a จะกระตุ้น trk oncogene โดยรวมอยู่ในส่วนลำดับเบสด้านปลาย N ของ tyrosine kinase receptor ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิด tumor cell differentiation

ดังนั้นจากการทดลองครั้งนี้โคลน pCR190, pCR202 และ pCR136 ที่มีลำดับเบสเหมือนกับส่วนของ ribosomal protein L30, L7a และ L23A ตามลำดับ โดยมีความเหมือนอยู่ในช่วง 25-70% ซึ่งโปรตีนเหล่านี้จะถูกสังเคราะห์และใช้ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์สิ่งมีชีวิต (Zhu *et al.*, 2001) ซึ่งอาจมีการกระตุ้นให้ผลิตในปริมาณมากขึ้น โดยเกิดจากความต้องการในการใช้โปรตีนเพื่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อ WSSV ในเซลล์ของกุ้ง

เป็นที่น่าสังเกตว่ายีนที่ได้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม ribosomal protein ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกิดขึ้นในขั้นตอนเริ่มต้นการสังเคราะห์โปรตีนชนิดต่างๆ โดยน่าจะมีผลมาจากระยะเวลาที่ทำการเก็บเลือดกุ้งหลังจากฉีดเชื้อ WSSV ในขั้นตอนการเตรียม RNA โดยเวลาที่เก็บเลือดครั้งหลังสุดคือชั่วโมงที่ 6 หลังการฉีดเชื้อ ซึ่งอาจสั้นเกินไปสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการติดเชื้อ WSSV ซึ่งในโอกาสต่อไปหากมีการศึกษาโดยเพิ่มระยะเวลาในการเก็บเลือดกุ้งที่ติดเชื้อให้มากขึ้นคาดว่าน่าจะได้ยีนที่น่าสนใจยิ่งขึ้น

นอกจากนั้นยีนจากโคลน pCR108, pCR241 และ pCR121 ที่มีขนาดประมาณ 1,300, 1,800 และ 900 bp ตามลำดับ ซึ่งมีลำดับเบสที่ไม่เหมือนกับส่วนต่างๆของยีนของสิ่งมีชีวิตใดๆในธนาคารยีนเลย แต่อย่างไรก็ตาม unknown (novel) gene เหล่านี้อาจมีความสำคัญในการตอบสนองต่อการติดเชื้อ WSSV

จากการทดลองจะเห็นได้ว่ายีนเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับกระบวนการสำคัญของสิ่งมีชีวิตโดยอาจเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นระบบต่างๆในร่างกาย รวมถึงระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่าการเตรียม cDNA library ชุดนี้มีประสิทธิภาพ เนื่องจาก

ผลการศึกษาลำดับเบสของยีนที่สุ่มมาเพียง 10 โคลนแต่สามารถค้นพบยีนที่สำคัญถึง 4 กลุ่มด้วยกัน นอกจากนั้นในการศึกษาครั้งนี้ยังมียีนของโคลนต่างๆจาก 324 โคลนที่ยังไม่ได้ศึกษาลำดับเบส ทั้งนี้จึงน่าจะมีการนำยีนเหล่านี้ไปทำการศึกษาต่อไป ซึ่งอาจทำให้มีการค้นพบยีนอื่นๆที่มีความสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันและการเกิดปฏิกิริยาการตอบสนองต่อการติดเชื้อ WSSV ในกุ้งกุลาดำอีกด้วย