

ชื่อวิทยานิพนธ์ การแสดงออกของยีนของโปรตีนกระตุ้นเซลล์จับกินสิ่งแปลกปลอมในกุ้งกุลาดำ
ผู้เขียน นางสาวภคินี เดชะมาก
สาขาวิชา ชีวเคมี
ปีการศึกษา 2548

บทคัดย่อ

ยีนของโปรตีนกระตุ้นเซลล์จับกินสิ่งแปลกปลอม (RPL26) มีการแสดงออกสูง
ขึ้นในเลือดของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่อ่อนกำลัง
(IVH) เชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวที่อ่อนกำลัง (inactivated WSSV) และสาร fucoidan โดยมีการ
แสดงออกสูงสุดเพิ่มเป็น 3 เท่า ของการแสดงออกของยีน RPL26 ในกลุ่มควบคุม ที่ 72 ชั่วโมง
เมื่อกระตุ้นด้วย IVH เพิ่มเป็น 3 เท่า ที่ 1 สัปดาห์ เมื่อกระตุ้นด้วย inactivated WSSV และเพิ่ม
เป็น 4.8 เท่า ที่ 2 สัปดาห์ เมื่อกระตุ้นด้วย fucoidan และจากการศึกษาการมีชีวิตรอดหลังจากได้
รับวัคซีน IVH ไป 72 ชั่วโมงโดยใช้เชื้อไวรัส WSSV ที่ความเข้มข้น 7×10^{-6} และ 9×10^{-6} จากสาร
ละลายไวรัสเริ่มต้น พบการมีชีวิตรอดสูงกว่ากลุ่มควบคุมโดยมีค่า RPS เป็น 50% และ 46%
ตามลำดับ นอกจากนี้การให้กุ้งกุลาดำได้รับอาหารผสม IVH ปริมาณ 225 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
ของน้ำหนักกุ้ง/วัน 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักกุ้ง/วัน และ 375 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของ
น้ำหนักกุ้ง/วัน สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัส WSSV โดยมีค่า RPS เป็น 33% 75% และ
34% ตามลำดับ และเมื่อศึกษาการมีชีวิตรอดของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสม IVH ปริมาณ 300
มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักกุ้ง/วัน ซึ่งได้รับเชื้อไวรัส WSSV 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง พบอัตราการ
มีชีวิตรอดสูงขึ้นโดยมีค่า RPS เป็น 60% และ 33% ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทำการเตรียมโปรตีน
ลูกผสม GST-RPL26 ในแบคทีเรีย *E. coli* BL21 ได้โปรตีนขนาดประมาณ 45 กิโลดาลตัน
และโปรตีน GST สำหรับใช้เป็นกลุ่มควบคุม (29 กิโลดาลตัน) โปรตีน GST-RPL26 สามารถ
ป้องกันการติดเชื้อไวรัส WSSV ในกุ้ง โดยมีค่า RPS เป็น 13% 64% และ 33% เมื่อได้รับ
โปรตีนปริมาณ 4 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักตัว 16 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักตัว และ 32
ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักตัว ตามลำดับ โปรตีน GST-RPL26 บริสุทธิ์ สามารถกระตุ้นกระบวนการ
การ phagocytosis ของเซลล์เม็ดเลือด ที่ได้รับการผสมกับโปรตีนปริมาณ 0.01 ไมโครกรัม 0.05
ไมโครกรัม และ 0.10 ไมโครกรัม ตามลำดับ โดยมีค่า phagocytic index และ เปอร์เซ็นต์
phagocytosis สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการทดลองชี้ให้เห็นถึงคุณสมบัติ
ของ IVH ในการชักนำให้เกิดการแสดงออกของยีน RPL26 และการป้องกันการติดเชื้อไวรัส
WSSV นอกจากนี้พบว่าโปรตีน RPL26 มีคุณสมบัติเป็นโปรตีนกระตุ้นเซลล์จับกินสิ่งแปลก
ปลอม ช่วยป้องกันการติดเชื้อไวรัส WSSV ซึ่งระดับการแสดงออกของยีน RPL26 ยังสามารถใช้
เป็นตัวบ่งชี้การตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งได้อีกด้วย

Thesis Title Expression of Macrophage Activating Protein Gene in *Penaeus monodon*
Author Miss Passanee Deachamag
Major Program Biochemistry
Academic Year 2005

ABSTRACT

The expression level of ribosomal protein L26 (RPL26) gene, a macrophage activator, was detected in hemolymph of immunized-black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). An intramuscular vaccination with inactivated *Vibrio harveyi* (IVH), formalin-inactivated WSSV and fucoidan produced a significantly increased expression ($p < 0.05$) of the RPL26 gene in *P. monodon*. Activation was detected by RT-PCR, with maximum expression occurring after 72 hours (3-fold), 1 week (3-fold) and 2 weeks (4.8-fold) post-vaccination, respectively. The relative percent survival (RPS) of shrimps challenged with a 7×10^{-6} and a 9×10^{-6} dilution of WSSV, 72 hours post-vaccination with an intramuscular injection of IVH were 50% and 46% respectively. An oral administration of IVH at 225, 300 and 375 mg/kg of body weight/day also protected shrimps from WSSV infection and the RPS was 33%, 75% and 34% respectively. The single and twice challenge test (9×10^{-6} dilution of WSSV) of shrimps which immunized by oral administration (IVH at 300 mg/kg of body weight/day) were found to survive 60% and 33% respectively.

The recombinant proteins of glutathione s-transferase-ribosomal protein L26 (GST-RPL26) from *E. coli* BL21 had a molecular mass of approximately 45 kDa while a glutathione s-transferase (GST) protein was 29 kDa. The GST protein was used as control groups for all experiments. The RPS of shrimps were injected with GST-RPL26 at 4, 16 and 32 $\mu\text{g/g}$ shrimp after WSSV infection (3 hours post vaccination) were 13%, 64% and 33% respectively. Phagocytic index and percentage of phagocytosis were significantly ($p < 0.05$) increased when shrimp hemocyte were mixed with purified GST-RPL26 at 0.01 μg , 0.05 μg and 0.10 μg respectively. The result indicated that vaccination with IVH induced the RPL26 and facilitated the defense mechanism against WSSV infection. In additions, RPL26 can act as macrophage activating protein to protect shrimp from WSSV and can used as an indicator of the immune response of the cultured shrimp.