

ชื่อเรื่อง	การศึกษาผลของพลาสมิดที่โคลนด้วยอินเตอร์เฟอรอนแกมมาของสุกรต่อการแบ่งตัวของ porcine reproductive and respiratory syndrome virus ในเซลล์ MARC-145
ชื่อผู้เขียน	นางสาวสุรางคนางค์ แยมกันชู
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วสิน เจริญทัศน์ธนกุล

บทคัดย่อ

อินเตอร์เฟอรอนแกมมา (interferon gamma ; IFN γ) เป็นไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบช่วยลดการติดเชื้อ porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) ในสุกร จุดมุ่งหมายในการศึกษานี้เพื่อสร้างพลาสมิดที่มียีน IFN γ ของสุกรและทดสอบประสิทธิภาพของพลาสมิดดังกล่าวต่อการแบ่งตัวของ PRRSV ในเซลล์มะเร็งไคลิง (MARC-145) โดยจากการทำ Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) จาก peripheral blood mononuclear cell ของสุกรด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบจากยีน IFN γ ของสุกรที่รายงานในฐานข้อมูล (NM_213948) พบว่าได้ยีน IFN γ ขนาด 501 คู่เบส เมื่อแปลรหัสเป็นโปรตีนได้เป็นสายยาว 166 กรดอะมิโน ซึ่งยีน IFN γ ที่แยกได้เหมือนกับยีนเดียวกันที่รายงานในฐานข้อมูล 99% มี 2 เบสที่เกิดจากการแทนที่ของเบส A เป็น G ที่ตำแหน่ง 4 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนจาก serine เป็น glycine ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงแบบเป็นกลางแต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของโปรตีน และ เบส A เป็น G ที่ตำแหน่ง 438 ซึ่งไม่มีผลต่อลำดับกรดอะมิโน เมื่อนำพลาสมิดที่มียีน IFN γ ไปถ่ายเข้าสู่เซลล์ MARC-145 และทดสอบด้วยเทคนิค RT-PCR และ ELISA พบว่า พลาสมิดสามารถแสดงออกยีน IFN γ ได้ทั้งในระดับ mRNA และระดับโปรตีน พลาสมิดที่มียีน IFN γ สามารถลด cytopathic effect ในเซลล์ MARC-15 ที่ บ่มร่วมกับ PRRSV ได้ แสดงว่าพลาสมิดดังกล่าวมีผลยับยั้งต่อการแบ่งตัวของ PRRSV ซึ่งในอนาคต พลาสมิดนี้อาจจะนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคอันเนื่องมาจาก PRRSV ได้

คำสำคัญ : ยีน, อินเตอร์เฟอรอนแกมมา, สุกร, MARC-145

Title	Study of recombinant plasmids expressing porcine interferon gamma gene on replication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in MARC-145 cells
Author	Miss Surangkanang Yamkanchoo
Degree of	Master of Science in Biotechnology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Wasin Charerntantanakul

ABSTRACT

Interferon gamma (IFN γ) is a pro-inflammatory cytokine that possesses anti-porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) effects. This study aimed to generate recombinant plasmids expressing porcine IFN γ gene and assessed their potential in inhibiting PRRSV replication in MARC-145 cells primarily by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), using IFN γ mRNA isolated from porcine peripheral blood mononuclear cells as templates. Primers from IFN γ were designed based on NM_213948. Results showed that the size of the IFN γ insert was 501 bp which corresponded to 166 amino acids. This nucleotide sequence of the IFN γ insert showed 99% homology to IFN γ mRNA in the database with two nucleotide substitutions, A to G at position 4 and 438. The first substitution resulted in amino acid change from serine to glycine while the second substitution did not result in any amino acid change. When transfected into MARC-145 cells and assessed by RT-PCR and ELISA techniques, the recombinant plasmids could express IFN γ at transcription and translation levels. The recombinant plasmids were able to decrease cytopathic effect in MARC-145 cells induced by PRRSV. These results indicated that recombinant plasmids expressing porcine IFN γ could effectively inhibit the replication of PRRSV in MARC-145 cell. In the future, the recombinant plasmids may be applied therapeutically for PRRSV-mediated diseases.

Keyword : gene, interferon gamma, pig, MARC-145