
Abstract

RNA interference technology is developed and employed for efficient shrimp culture in Thailand. dsRNAs (~400pb) with the nucleotide sequence for yellow head virus (YHV) protease gene, and white spot syndrome virus (WSSV) Pro-rr2 were designed and synthesized in E.coli for knock-down of the cognate genes in shrimp. Similarly, dsRNA-GIH was produced in E.coli. Injection of dsRNA protease silenced YHV protease gene and prevented YHV infection. Injection for dsRNA Pro-rr2 protected YHV and WSSV infections and shrimp mortality. Injection of dsRNA-GIH produced from E.coli stimulated shrimp ovulation as good as eye-stock cutting which is considered cruel to the animals.

Such application of RNA interference technology in shrimp culture should lead to development of vaccine to prevent and to cure the virus infection in shrimp.

This research yielded six Q1 international publications and two manuscripts in press.

บทคัดย่อ

งานวิจัยการใช้เทคโนโลยี RNA interference เพื่อการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย โดยการสร้างและใช้ dsRNA เพื่อพัฒนาวัคซีนป้องกันการติดเชื้อไวรัสในกุ้ง และเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการวางไข่ของกุ้งโดยการสร้าง dsRNA ประมาณ 400bp ซึ่งมีลำดับเบสตรงกับยีน protease ของไวรัสหัวเหลือง (YHV) และตรงกับยีน Pro-rr2 ของไวรัสตัวแดงดวงขาว (WSSV) เมื่อฉีด dsRNA ดังกล่าว พบสามารถป้องกันการติดเชื้อ YHV และ WSSV ในกุ้งได้ดี การใช้ dsRNA-GIH ผลิตจาก *E.coli* พบกุ้งวางไข่ได้ดีเท่าเทียม วิธีการตัดต่อที่ใช้ในปัจจุบัน

ได้ศึกษาการทำ dsRNA เข้าสู่เซลล์กุ้ง พบการใช้กระบวนการ endocytosis ในการนำเข้าสู่ hepatopancreas แต่ไม่ใช้ในการนำเข้าสู่ gills

ได้ศึกษาการเข้าสู่เซลล์ของ YHV พบต้องใช้ early endosomal protein (PmEEA1) หาก knock-down ด้วย dsRNA พบ YHV ไม่สามารถ infect กุ้งได้ เป็นการป้องกันการติดเชื้อ YHV ได้

ได้ศึกษา Argonaut (Ago) protein ในการป้องกันการติดเชื้อไวรัส โดยในกุ้งมี Ago ถึง 4 ชนิด พบการใช้ dsRNA Ago1 และ Ago3 สามารถยับยั้งการตายของกุ้ง เมื่อติดเชื้อ YHV และพบ dsRNA ของ Ago3 เท่านั้นที่ยับยั้ง WSSV และลดการตายของกุ้งจากการติดเชื้อ WSSV ได้ การศึกษานี้ทำให้ทราบการลดการตายของกุ้งจากการติดเชื้อไวรัส ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาวัคซีนป้องกันการติดเชื้อไวรัสในกุ้งในอนาคต

งานวิจัยนี้มีผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (Q1) จำนวน 6 ฉบับ และ manuscript พร้อมตีพิมพ์ จำนวน 2 ฉบับ