Abstract

Increasing efficiency of shrimp culture in Thailand through RNAi technology was undertaking by two aspects; increasing egg production in the female without a cruel eye ablation, and the control of loss by major shrimp viruses. DsRNA-GIH (Gonad inhibiting hormone) of 400 bp was produced in *E.coli* and mixed with cathionic cholesterol-base liposome for injection. Shrimps injected with the dsRNA gave a comparable or better egg production than those receiving the eye ablation treatment. However, they showed no sign of weakness and mortality. It is evident that dsRNA injection increased an efficiency of egg-production.

Control of shrimp viruses by application of dsRNA was performed by the injection which knocked-down viral genes (protease or RNA polymerase) or shrimp genes required for viral replication (e.g. Rab proteins). To increase the efficiency, VLP (virus-like-particles) was prepared from the cloned coat protein of PstDNA in *E.coli*. By engineering VLP to entrap dsRNA-YHV in *E.coli*, the VLP gave inhibition of YHV replication in shrimp. This paves the way to increase efficiency of YHV protection in the shrimp culture.

This research yielded seven Q1/Q2 international publications and five manuscript-in-preparations. Five Ph.D. students and two M.Sc. students were enrolled to conduct research on RNA interference technology.

บทคัดย่อ

การใช้เทคโนโลยี RNAi มาเพิ่มประสิทธิภาพของการเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย ควรใช้การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไข่กุ้งเพศเมีย โดยไม่ต้องตัดตาซึ่งเป็นการทารุณและอาจมีการห้ามปฏิบัติในอนาคต และเนื่องจากการเลี้ยงกุ้งได้รับความเสียหายอยู่เสมอจากการติดเชื้อไวรัสที่สำคัญ เช่น ไวรัสหัวเหลือง จึงได้มีการผลิต dsRNA ที่มีประสิทธิภาพ ได้แก่ dsRNA-GIH (Gonad inhibiting hormone) ขนาด 400 bp ใน *E.coli* แล้วนำ dsRNA ดังกล่าวผสมกับ cathionic cholesterol-base liposome เพื่อฉีดกุ้งเพศเมียในการกระตุ้นการวางไข่ พบกุ้งซึ่งฉีด dsRNA-GIH สามารถกระตุ้นการวางไข่ได้ทัดเทียมหรือดีกว่าวิธีการตัดตาซึ่งใช้อยู่ในปัจจุบัน ซึ่งพบว่ากุ้งตัดตาจะอ่อนแอและตายในที่สุด จะเห็นว่าการใช้ฉีด dsRNA-GIH เพิ่มประสิทธิภาพการวางไข่ และปราศจากการทารุณสัตว์

การใช้ dsRNA ในการควบคุมไวรัสสำคัญในกุ้ง เช่น ไวรัสหัวเหลือง กระทำโดยการฉีด dsRNA-YHV เพื่อกำจัด mRNA ของไวรัสหัวเหลือง (protease gene หรือ RNA polymerase gene) หรือ mRNA ของยีนสำคัญของกุ้ง ซึ่งไวรัสใช้ในการเพิ่มจำนวน (e.g. Rab proteins) ส่งผลให้ไม่มีการเพิ่มจำนวนไวรัสในกุ้ง เราได้พัฒนา VLP (virus-like-particles) โดยสร้างใน *E.coli* ซึ่งเมื่อสร้างรวมกับ dsRNA ก็จะได้ VLP ซึ่งสามารถ knock-down ยีนของไวรัส ทำให้ไวรัสเพิ่มจำนวนไม่ได้ เป็นวิธีการที่จะเพิ่มประสิทธิภาพของการป้องกัน YHV ในกุ้ง ลดการตายของกุ้งจากการติดเชื้อไวรัส

งานวิจัยนี้มีผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (Q1 / Q2) จำนวน 7 ฉบับ และผลิตผลงานพร้อมตีพิมพ์ จำนวน 5 ฉบับ มีนักศึกษาปริญญาเอก จำนวน 5 คน ปริญญาโท 2 คน