



RECOMBINANT PROTEIN-BASED DIAGNOSTICS IN VETERINARY MEDICINE

โปรตีนลูกผสม เพื่อการวินิจฉัยทางสัตวแพทย์

โดย..น.สพ.เจษฎา รัตโนภาส กลุ่มพยาธิวิทยา

ปัจจุบัน

การตรวจวินิจฉัยทางสัตวแพทย์สามารถทำได้โดย ตรวจหาเชื้อก่อโรค และตรวจการตอบสนองของภูมิคุ้มกันของร่างกายสัตว์ที่จำเพาะต่อเชื้อก่อโรค ซึ่งจะทำให้สัตวแพทย์สามารถหามาตรการเพื่อป้องกันการแพร่ระบาด และวางมาตรการควบคุมได้อย่างถูกต้อง ปัจจุบันนี้ด้วยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมก่อให้เกิดการผลิตและพัฒนาด้าน recombinant DNA ซึ่งมีส่วนสำคัญในความก้าวหน้าทางการรักษา วินิจฉัย และป้องกันโรค นอกจากนี้ความก้าวหน้าของวิทยาการด้านการหาลำดับเบสในสายพันธุกรรม ทำให้นักวิทยาศาสตร์สามารถสังเคราะห์สายดีเอ็นเอเพื่อการผลิตโปรตีนลูกผสมได้ง่ายขึ้น (รูปที่ 1) โดยโปรตีนลูกผสมนำมาใช้งานในหลายๆ รูปแบบ เช่น ใช้ในการหา drug target ใช้เป็นต้นแบบของ subunit vaccine หรือใช้เป็นชีวสารเพื่อการวินิจฉัยโรคเป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้เป็นแอนติเจนในการวินิจฉัยโรคของเทคนิคซีรัมวิทยาเพื่อใช้ในการสำรวจโรคประจำถิ่น หรือ โรคต่างถิ่น โดยจุดประสงค์ของจดหมายข่าวฉบับนี้เพื่อแนะนำเบื้องต้นถึงการผลิตโปรตีนลูกผสมและกล่าวอย่างสังเขปถึงการนำโปรตีนชนิดนี้มาใช้ในปัจจุบัน

เพื่อเป็น

การลดค่าใช้จ่ายของการเพาะเลี้ยงเชื้อและเซลล์ อีกทั้งเพื่อใช้ในการผลิตชีวสารในการวินิจฉัยโรคหรือผลิต subunit vaccine ทั้งในแง่ต้นแบบทางห้องปฏิบัติการหรือเพื่อการค้า ปัจจุบันหลายๆ ห้องปฏิบัติการใช้ระบบ prokaryotic system (รูปที่ 2) ในการผลิตโปรตีน เนื่องจากได้ปริมาณโปรตีนที่สูงใช้ต้นทุนน้อยในการจัดตั้งห้องปฏิบัติการเพื่อการผลิต อย่างไรก็ตามข้อบกพร่องของการผลิตโปรตีนในระบบดังกล่าวคือ การขาดการปรับแต่งหลังทรานสเลชันในการสังเคราะห์โปรตีน (posttranslation modification) ซึ่งมีความจำเป็นอย่างมากสำหรับโปรตีนบางชนิดเพื่อการทำงานที่สมบูรณ์ ตัวอย่างเช่น ในการผลิตโปรตีนลูกผสมจาก glycoprotein gene ของเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค เพื่อเป็นแอนติเจนสำหรับการวินิจฉัยทางซีรัมวิทยา โปรตีนที่ได้จาก gene ดังกล่าว ต้องการการปรับแต่งหลังทรานสเลชัน (รูปที่ 3) โดยกระบวนการเติมคาร์โบไฮเดรตในสายโพลีเปปไทด์ (glycosylation)

อุตสาหกรรม

ปศุสัตว์มีบทบาทสำคัญในความมั่นคงด้านอาหารทั่วโลก โรคติดเชื้อในสัตว์ เป็นภัยคุกคามที่สำคัญสำหรับ สัตว์เศรษฐกิจ ทำให้เกษตรกรสูญเสียรายได้ ผลผลิตลดลง

รวมถึงถูกใช้เป็นข้อกีดกันทางการค้าเพื่อนำเข้า ส่งออกในที่สุด นอกจากความสูญเสียทางเศรษฐกิจดังกล่าวข้างต้น โรคติดเชื้อยังก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์และระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์เอง เหนี่ยวนำให้เกิดโรคติดเชื้อแทรกซ้อน ตามมา อีกทั้งโรคติดเชื้อหลายๆ ชนิดนำมาสู่ภัยคุกคามด้านสาธารณสุข เช่น สัตว์สู่คน ดังนั้น การวินิจฉัยจึงเป็นสิ่งสำคัญ ในการป้องกันการแพร่ระบาด หรือการใช้เทคนิคทางซีรัมวิทยาเพื่อการเฝ้าระวัง (serosurveillance) โดยตารางด้านล่าง เป็นการนำโปรตีนลูกผสมมาใช้โดยเทคนิคต่างๆ เพื่อการชันสูตรโรค นอกจากนี้ตัวอย่างโปรตีนลูกผสมดังกล่าวสามารถใช้ตรวจแยกการตอบสนองของภูมิคุ้มกันดังกล่าวที่เกิดจากการติดเชื้อหรือเกิดจากการได้รับวัคซีน (DIVA)

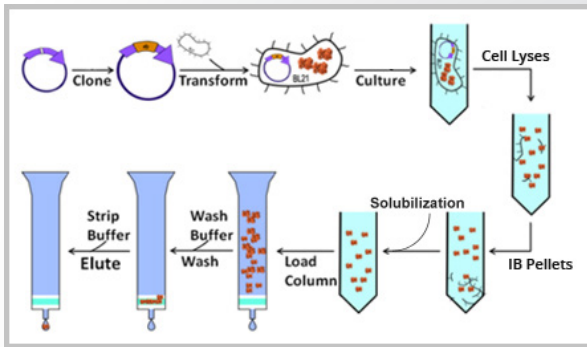
โปรตีนลูกผสมที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยเพื่อตรวจการตอบสนองของภูมิคุ้มกันของสัตว์จากการติดเชื้อ

เชื้อไวรัส	โปรตีนเป้าหมาย	ระบบในการ expression	เทคนิคในการวินิจฉัย
Pseudorabies virus	Glycoprotein E (gE)	Prokaryotic/Eukaryotic	ELISA, latex agglutination test
Porcine parvo virus	NSP(NS-1)	Prokaryotic	ELISA
Foot and mouth disease virus	NSP(3AB), NSPs(3ABC และ 3D)	Prokaryotic/Eukaryotic	I- ELISA, blocking sandwich ELISA
Rinderpest virus	Nucleocapsid protein	Eukaryotic	I- ELISA
Bluetongue virus	NSP(NS-3)	Prokaryotic	NSP3-ELISA
Equine infectious anemia virus	S2 protein	Prokaryotic	ELISA
African horse sickness virus	NSP(NS-3)	Prokaryotic	NS3-ELISA
Equine rhinitis virus	S2 protein	Prokaryotic	I-ELISA
Avian reo virus	NSPs	Prokaryotic	I-ELISAs
Avian influenza virus	NSP(NS-1)	Prokaryotic	I-ELISA

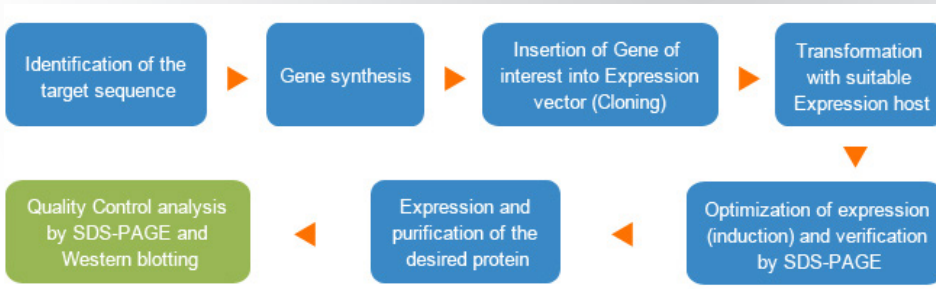
(ดัดแปลงจาก Balamurugan et al., 2010)

โปรตีน

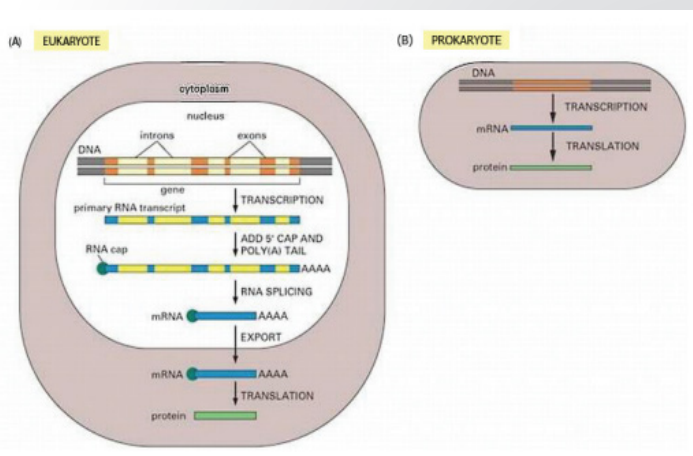
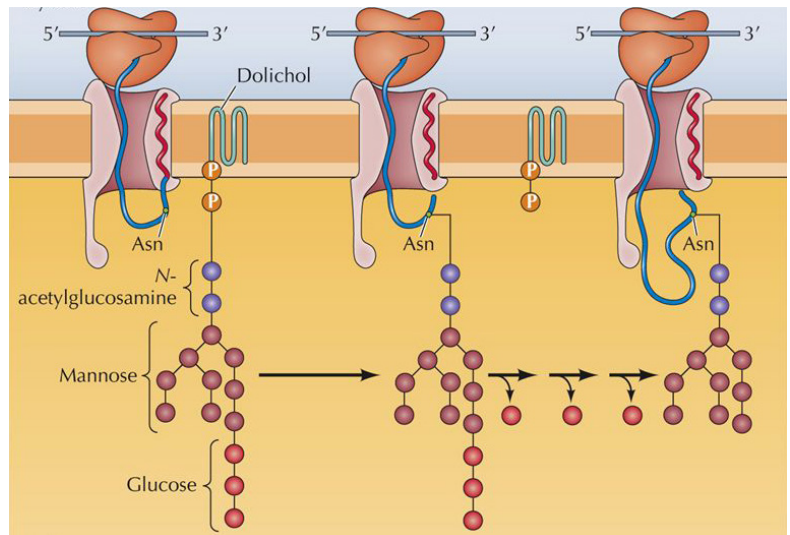
ลูกผสมมีบทบาทสำคัญเป็นอย่างยิ่งในการวินิจฉัยโรคทางสัตวแพทย์ เนื่องจากผลิตได้ง่าย ปลอดภัยแก่ผู้ผลิต สามารถนำเข้าส่งออกไปยังต่างประเทศได้ง่าย เนื่องจากไม่ก่อให้เกิดโรคตามมา อย่างไรก็ตามโปรตีนลูกผสมมีคุณค่าทางการแพทย์มากขึ้น เมื่อนำมาใช้ในวัคซีนป้องกันโรคโรคเนื่องจากไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในอนาคต ไม่ก่อให้เกิดการ turn virulence จาก live attenuated vaccine รวมทั้งนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการสร้างเซตปลอดโรค



รูปที่ 1 แสดงขั้นตอนโดยสรุปของการผลิตโปรตีนลูกผสม
(ที่มา: <http://abgenex.com/recombinant-protein-production>)



รูปที่ 2 แสดง glycosylation ปรับแต่งหลัง
ทรานสเลชันในการสังเคราะห์โปรตีน
(posttranslation modification)
(ที่มา: <http://slideplayer.com/slide/10696140/37/images/57/Figure+11.17+Protein+glycosylation+in+the+ER.jpg>)



รูปที่ 3 แสดงความแตกต่างระหว่างขั้นตอนการผลิต
โปรตีนแบบ eukaryotic A, และ prokaryotic system B
(ดัดแปลงจากหนังสือ การผลิตและการควบคุมคุณภาพ Biotech-
nological products, สถาบันชีววัตถุกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์)

ขอเชิญเสนอเรื่องวิชาการจัดพิมพ์ทางจดหมายข่าว ส่งมาที่
คุณปิยะวรรณ เกิดพันธ์ Email: piyawank@dld.go.th
ค้นจดหมายข่าวย้อนหลังได้ที่ <http://niah.dld.go.th/th/files/newsletter/search.php>



จดหมายข่าวสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

ISSN 1685-2206

วัตถุประสงค์

เพื่อเผยแพร่วิชาการด้านสุขภาพสัตว์โดยเป็นสื่อกลางแลกเปลี่ยนข่าวสารวิชาการเสนอแนะแนวทางการแก้ปัญหาด้านสุขภาพสัตว์และการเลี้ยงสัตว์ รวมทั้งการประชาสัมพันธ์กิจกรรมด้านสุขภาพสัตว์

เจ้าของ

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
เกษตรกลาง เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทร. 0-2579-8908-14 โทรสาร.0-2579-8918-19

ที่ปรึกษา

นายสัตวแพทย์ไพโรจน์ เฮงแสงชัย รองอธิบดีกรมปศุสัตว์
นายสัตวแพทย์ปรีชา วงษ์วิจารณ์ ผู้อำนวยการสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
หัวหน้ากลุ่ม / ส่วน / ศูนย์ / ฝ่าย สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

กองบรรณาธิการ

นายสัตวแพทย์นพพร โต๊ะมี (บรรณาธิการ)	สัตวแพทย์หญิง ดร.รุ่งรัตน์ ไสยสมบัติ	นางสาวพนม ไสยจิตร
นายสัตวแพทย์เจษฎา รัตนธาดา	นายสัตวแพทย์เอกรินทร์ คงคำ	นายสมชาย ช่างทอง
สัตวแพทย์หญิงจันทร์จันทรา วัฒนเมธานนท์	สัตวแพทย์หญิงบุษรา สิทธิวิเชียรวงศ์	นางสาวปิยะวรรณ เกิดพันธ์
สัตวแพทย์หญิงธวัชรัตน์ เกียรติยิ่งอังสุลี	นายสัตวแพทย์พิรวิทย์ บุญปางบรรพ	ว่าที่ ร.ต.อนิวัตร พ่วงทอง
นายสัตวแพทย์เจษฎา จุลไถวัลสุจิรัต	นายสัตวแพทย์ ดร.กรีลีลย์ พรหมทองสุข	นางสาวสาวิตรี ลั่นศรี
สัตวแพทย์หญิงนันทพร วันดี	สัตวแพทย์หญิงกฤดากร วงษ์ทองสาลี	นางสาวชนกพร บุญศาสตร์
		นายพลกฤต มหานาม

จัดพิมพ์และเผยแพร่

ฝ่ายถ่ายทอดเทคโนโลยี กลุ่มบริหารจัดการสุขภาพสัตว์ สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

สำนักงาน

กลุ่มบริหารจัดการสุขภาพสัตว์ สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

กำหนดออก

ปีละ 6 ฉบับ ทุกๆ 2 เดือน ฉบับละ 1,200 ชุด

พิมพ์ที่

บริษัท ปิยอนด์ พับลิชชิง จำกัด



สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
กรมปศุสัตว์ จตุจักร กทม. 10900
ที่ กษ 0609/พิเศษ

ในราชการกรมปศุสัตว์

ชำระค่าฝากส่งเป็นรายเดือน
ใบอนุญาตที่ 1/2521
ไปรษณีย์โทรเลขราชเทวี