

ดัดแปลงจากต้นฉบับ

ผลงานวิจัยดีเด่นของ มหาวิทยาลัยมหิดล



มหาวิทยาลัยมหิดล
บัญชี@งแมหิดล

งานสารสนเทศงานวิจัย กองบริหารงานวิจัย
สำนักงานอธิการบดีมหาวิทยาลัยมหิดล
โทร. 02-849-6241-6 โทรสาร 02-849-6247
E-mail : dircopra@mahidol.ac.th

การแทรกชิ้นส่วนของ viral DNA ของ IHNV ในจีโนมกึ่งกลูตา
ทำให้มีโอกาสเกิด false positive ในการวินิจฉัยโรคไวรัสด้วยเทคนิค PCR

มีรายงานการพบชิ้นส่วนของ viral DNA สอดแทรก (insertion) เข้าไปอยู่ในจีโนมของกึ่งและแมลงซึ่งมีสมมติฐานว่า อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้างภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะที่สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ งานวิจัยนี้ได้ตรวจหาการแทรก สอดของชิ้นส่วนไวรัส IHNV ที่อยู่ในกลุ่ม parvovirus ในจีโนมของกึ่งกลูตาที่อาจจะเกิดขึ้นนอกเหนือจากชิ้นส่วนที่รายงาน มาก่อนหน้านี้ เมื่อตรวจด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 7 คู่ ที่จำเพาะและครอบคลุมจีโนมของ IHNV ขนาด 4 kb พบว่า ตัวอย่างกึ่งให้ผลบวกและลบกับไพรเมอร์แตกต่างกัน โดยไม่มีรูปแบบที่แน่นอนและน่าจะเป็นตัวอย่างที่มีการสอดแทรกเข้าไป อยู่ในจีโนมของกึ่งกลูตา ในตัวอย่างหนึ่งที่น่ามาทดสอบกับวิธี walking genome พบว่าส่วนที่เป็นชิ้นส่วนไวรัสเชื่อมต่อกับ ส่วนที่มีลักษณะคล้าย microsatellite ที่พบในกึ่ง และในตัวอย่างเดียวกันยังพบว่าชิ้นส่วนไวรัสเชื่อมต่อกับจีโนมกึ่งในอีก ตำแหน่ง ซึ่งเมื่อทำ PCR ทดสอบโดยใช้ไพรเมอร์เส้นแรกที่ยึดเกาะกับ EST ของกึ่งกลูตา และไพรเมอร์เส้นที่สองจำเพาะกับ IHNV ก็ยืนยันได้ว่า การแทรกสอดประเภทนี้พบได้ในตัวอย่างอื่นๆ ด้วย รวมทั้งตัวอย่างที่มีการติดเชื้อไวรัสแต่ไม่แสดง อาการของโรค นอกจากนี้ตัวอย่างที่พบยังให้ผลบวกลงกับชุดตรวจทางการค้า ดังนั้นผลงานวิจัยนี้สนับสนุนสมมติฐานที่ว่า การแทรกสอดของชิ้นส่วนไวรัสในจีโนมกึ่งจะเกิดในลักษณะที่ไม่มีรูปแบบและขนาดของชิ้นส่วนที่แน่นอน และถ้ากึ่งที่มีการ สอดแทรกของชิ้นส่วนไวรัสสามารถสร้างภูมิคุ้มกันตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ ผลกระทบจากปรากฏการณ์นี้ทำให้เกิดผลบวกลง จากชุดตรวจทางการค้า จะส่งผลให้เกิดความสูญเสียกับอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงและคัดเลือกสายพันธุ์ที่ปลอดโรค

ติดต่อขอรายละเอียดเพิ่มเติม

	หัวหน้าโครงการ	ดร. กิโมที พลีทอง
<input type="checkbox"/>	ที่อยู่	Center Shrimp คณะวิทยาศาสตร์ ม.มหิดล 232 จ.พระราม ๖ นครศรีธรรมราช เขตราชวิถี กรุงเทพฯ 10400
	โทร	๐๒-๓๐๑-๕๙๙๖ ๐๙๑-๔๐๕-๕๙๓๓
	Email	scvsm@mahidol.ac.th
	ผู้ร่วมวิจัย	ดร. อรรถวิมล สักดิโสทรสมาน
<input type="checkbox"/>	ที่อยู่	Center Shrimp คณะวิทยาศาสตร์ ม.มหิดล 232 จ.พระราม ๖ นครศรีธรรมราช เขตราชวิถี กรุงเทพฯ 10400
	โทร	๐๒-๓๐๑-๕๙๙๙ ๐๙๕-๔๔๕-๙๒๑๖
	Email	scvsm@mahidol.ac.th



MAHIDOL UNIVERSITY
Wisdom of the Land

Research Management and Development
Office of the President
Tel : 02-849-6241-6 Fax : 02-849-6247
E-mail : dircopra@mahidol.ac.th

abstract

Scattered reports of viral inserts in shrimp and insect genomes led to the hypothesis that random, autonomous insertion of such sequences occurs in these organisms and leads to specific, heritable immunity. To test the prediction regarding random insertion of viral sequences into the shrimp genome, we examined the giant tiger shrimp for random genomic insertion of Penaeus stylirostris densovirus (also called IHNV). By PCR analysis using a set of 7 overlapping primer pairs to cover the whole IHNV genome (4 kb), PCR failure with some pairs indicated sequence gaps that revealed a random pattern of putative viral inserts in the genomes of individual shrimp. Targeting a putative insert from one arbitrarily selected specimen, we used genomewalking to reveal a viral insert linked to a host microsatellite-like fragment. This differed from 2 previously reported inserted fragments of IHNV in *P. monodon*. In one specimen, 2 slightly different inserts were revealed, probably on paired chromosomes. By design and use of chimeric shrimp/virus primer pairs we proved that similar insertions occurred in several shrimp specimens, including those infected with IHNV but showing no signs of disease. For the infected specimens, the inserts gave false positive PCR test results using 309F/R primers and a new IQ2000 test protocol currently recommended for detection of infectious IHNV. This is the first experimental support for the hypothesis-based prediction that a random number and length of sequence fragments from a single virus genome may occur in the shrimp genome. Since some inserts can give false positive results for infectious IHNV with the recommended methods above, they may have a negative effect on international seafood trade. In addition, discard of domesticated shrimp breeding stocks based on such false positive results might have negative consequences, if such inserts are related to shrimp viral disease tolerance, as also hypothesized.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

ติดต่อขอรายละเอียดเพิ่มเติม

211	หน่วยงานที่ติดต่อ : ชื่อ : โทร : Email :	Prof. Timothy Flegel Center Shrimp, Faculty of Science Mahidol University 232 Rama VI Road, Phayathai, Rajabhera Bangkok 10400 02-201-5876 / 081-103-5833 SETWF@MAHIDOL.AC.TH
711	หน่วยงานที่ติดต่อ : ชื่อ : โทร : Email :	Dr. Vanvimon Saksmetrom Center Shrimp, Faculty of Science Mahidol University 232 Rama VI Road, Phayathai, Rajabhera, Bangkok 10400 02-201-5889 / 081-245-8712 sevsm@mahidol.ac.th