GENERIC METHOD FOR PROPAGATION OF SHRIMP VIRUSES IN SF-9 INSECT CELLS

ANUWAT SRITON

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (MICROBIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2011

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

GENERIC METHOD FOR PROPAGATION OF SHRIMP VIRUSES IN SF-9 INSECT CELLS

ANUWAT SRITON 4936045 SCMI/M

M.Sc. (MICROBIOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: SUKATHIDA UBOL, Ph.D., TIMOTHY WILLIAM FLEGEL, Ph.D., BOONSIRM WITHYACHUMNARNKUL, Ph.D.

ABSTRACT

Experiments with crustacean viruses are hampered by lack of susceptible continuous cell lines. To overcome this problem, lepidopteran cell lines were challenged with a shrimp DNA virus (white spot syndrome virus: WSSV) and RNA virus (yellow head virus: YHV) followed by serial, split-passage with immunohistochemical monitoring by confocal laser microscopy using labeled monoclonal antibodies to shrimp viral antigens. Stable, immortal cultures with 100% of the cells expressing shrimp-virus antigens were obtained, although the infected cells appeared grossly normal by phase contrast microscopy. Nor did they show any ultrastructural modifications characteristic of the challenge viruses. These persistently-expressing insect cell cultures were stable and could be continuously passaged, stored and revived as required. Since both DNA and RNA viruses were used, this appears to be a generic process that may be applicable to other shrimp viruses as well.

KEY WORDS: SHRIMP / VIRUS / INSECT CELL LINE / WSSV / YHV

60 pages

Copyright by Mahidol University

วิธีพื้นฐานสำหรับการเพิ่มจำนวนของไวรัสกุ้งในเซลล์แมลง Sf-9

GENERIC METHOD FOR PROPAGATION OF SHRIMP VIRUSES IN Sf-9 INSECT CELLS

อนุวัฒน์ ศรีธน 4936045 SCMI/M

วท.ม. (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ศุขธิดา อุบล, Ph.D., ทิมโมที วิลเลียม เฟลเกล, Ph.D., บุญเสริม วิทยชำนาญกุล, Ph.D.

บทคัดย่อ

การศึกษาเกี่ยวกับไวรัสของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนมีข้อจำกัดเนื่องจากขาดเซลล์เพาะเลี้ยงทีมีความไวต่อเชื้อไวรัส การแก้ปัญหานี้ทำได้โดยการใช้เซลล์เพาะเลี้ยงของแมลงมาเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อด้วยไวรัสตัวแดงดวงขาวซึ่งเป็นดีเอ็นเอไวรัสและไวรัสหัวเหลืองซึ่งเป็นอาร์เอ็นเอไวรัสของกุ้ง หลังจากนั้นทำการขยายเซลล์ในรุ่นถัดไปโดยใช้เซลล์ติดเชื้อจากรุ่นก่อนหน้ามาผสมกับเซลล์ปกติ และตรวจสอบการติดเชื้อโดยใช้วิธีติดตามเชื้อไวรัสในเซลล์ด้วยแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสนั้นและนำไปตรวจดูด้วยเทคนิค confocal microscopy ผลการทดลองพบว่ามีเซลล์เพาะเลี้ยงของแมลงติดเชื้อไวรัสทั้งหมด (100%) อย่างไรก็ดี เซลล์เพาะเลี้ยงที่ติดเชื้อเหล่านี้ไม่แสดงลักษณะภายนอกและลักษณะภายในที่เปลี่ยนแปลงหรือผิดปกติไปจากเซลล์เพาะเลี้ยงที่ไม่ติดเชื้อ เซลล์เพาะเลี้ยงที่ติดเชื้อไวรัสแบบเรื้อรังนี้มีความคงที่และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อๆไปได้ สามารถที่จะเก็บและเอามาใช้ได้เมื่อต้องการ การที่ทั้งไวรัสชนิดดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอสามารถเจริญได้ในเซลล์เพาะเลี้ยงของแมลง อาจจะถือว่าเป็นวิธีพื้นฐานที่สามารถประยุกต์ใช้กับไวรัสของกุ้งตัวอื่นๆได้

60 หน้า

Copyright by Mahidol University