

Expression of Recombinant Capsid Protein of Psittacine Beak and Feather Disease Virus Capsid Protein using *Pichia pastoris* system

Ladawan Sariya^{1*} Parut Suksai¹ Adisak Songjaeng² Phirom Prompiram¹

¹The Monitoring and Surveillance Center for Zoonotic Diseases in Wildlife and Exotic Animals, Faculty of Veterinary Science, Mahidol University, 999 Phuttamonthon 4 Road, Salaya, Nakhon Pathom 73170, Thailand.

²Dengue Hemorrhagic Fever Research Unit, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand.

*Corresponding author, E-mail address: ladawan.sar@mahidol.ac.th

Abstract

Psittacine beak and feather disease virus (BFDV) is a haemagglutination circo virus causing psittacine beak and feather disease (PBFD) in psittacine birds. The infected birds showed feather dystrophy and occasionally associated with beak deformities. Development of vaccine and detection of the disease is difficult and ineffective due to this virus could not be cultured in tissue or cell lines and embryonated eggs. The aim of this study was to express recombinant capsid protein of BFDV using *Pichia pastoris* system. The recombinant protein was purified by affinity binding with Ni-NTA resin. From the results, the time point of protein expression was 48 hours after inducing with methanol. The recombinant capsid protein was expressed in inclusion bodies form. From SDS-PAGE analysis, the protein had molecular weight of 38 kDa. Moreover, Western blot analysis demonstrated that this recombinant protein could react with convalescent serum from BFDV-infected bird. Based on this information, it would be a potential to develop in house BFDV capsid protein-based diagnostic test and vaccine in the future.

Keywords: Recombinant capsid protein, Psittacine beak and feather disease virus, *Pichiapastoris*

การแสดงออกของรีคอมบิแนนท์โปรตีนเปลือกนอกของเชื้อไวรัส โรคชนและงอยปากผิดปกติโดยใช้ระบบเชื้อยีสต์ *Pichiapastoris*

ลดาวัลย์ สาริยา^{1*} ปฐก สุกใส¹ อติศักดิ์ ส่งแจ้ง² ภิรมย์ พรหมพิราม¹

¹ศูนย์เฝ้าระวังและติดตามโรคจากสัตว์ป่า สัตว์ต่างถิ่นและสัตว์อพยพ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

999 ถ. พุทธรณชาติ สาย 4 ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

²หน่วยวิจัยโรคไขเลือดออก คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล อ.บางกอกน้อย จ.กรุงเทพมหานคร 10700

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: ladawan.sar@mahidol.ac.th

บทคัดย่อ

เชื้อไวรัสโรคชนและงอยปากผิดปกติเป็น haemagglutination circo virus และเป็นสาเหตุของโรคชนและงอยปากผิดปกติที่พบในกลุ่มนกตระกูลนกปากขอ นกที่เป็นโรคจะมีอาการขนร่วงและอาจมีงอยปากยื่นยาวไม่สวยงาม เนื่องจากเชื้อนี้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงในเนื้อเยื่อหรือเซลล์เพาะเลี้ยงและไข่ไก่ฟักได้ เป็นผลให้การพัฒนาวิธีการตรวจและการพัฒนาวัคซีนต่อโรคทำได้ค่อนข้างยาก ดังนั้น ในการศึกษาในครั้งนี้จะทำการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนเปลือกนอกของเชื้อไวรัสโรคชนและงอยปากผิดปกติ โดยให้ยีนมีการแสดงออกโดยอาศัยระบบเชื้อยีสต์ *Pichia pastoris* จากนั้นทำให้รีคอมบิแนนท์โปรตีนบริสุทธิ์โดยอาศัยหลักการ Affinity binding กับโมเลกุลของโลหะนิกเกิล จากผลการแสดงออกของรีคอมบิแนนท์โปรตีนเปลือกนอกพบว่าโปรตีนมีการแสดงออกได้ดีที่สุดหลังจากกระตุ้นด้วยเมทานอล 48 ชั่วโมง และพบว่าส่วนใหญ่เป็น inclusion bodies เมื่อนำโปรตีนมาทำการแยกขนาดด้วยกระแสไฟฟ้า พบว่าโปรตีนมีขนาดประมาณ 38 kDa นอกจากนี้ยังพบว่ารีคอมบิแนนท์โปรตีนสามารถจับกับซีรัมของนกที่ติดเชื้อไวรัสโรคชนและงอยปากผิดปกติได้ เมื่อตรวจด้วยวิธี Western blot analysis ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้จะช่วยในการพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อและผลิตวัคซีนต่อเชื้อไวรัสโรคชนและงอยปากผิดปกติ โดยใช้รีคอมบิแนนท์โปรตีนเปลือกนอกในอนาคต

คำสำคัญ : รีคอมบิแนนท์โปรตีนเปลือกนอก เชื้อไวรัสโรคชนและงอยปากผิดปกติ เชื้อยีสต์ *Pichiapastoris*