บทคัดย่อ

231241

หนอนเยื่อไผ่*(Omphisa fuscidentalis)* เป็นระยะตัวหนอนอินสตาร์ที่ 5 ของผีเสื้อกลางคืน เข้าสู่ระยะไดอะพอสในต้นไผ่ตั้งแต่เดือนกันยายนถึงเดือนพฤษภาคมของปีถัดไป ในระหว่างระยะไดอะพอสพบว่ามีความเข้มข้นของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ต่ำและจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อสิ้นสุดระยะไดอะพอส การให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ (juvenile hormone analogue : JHA, methoprene) แก่หนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอส ทำให้ปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนเพิ่มสูงขึ้น พร้อมกับเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ดักแด้ ผลนี้แสดงให้เห็นว่าการให้ JHA อาจจะไปกระตุ้นต่อมโปรทอแรคซิคให้เพิ่มการหลั่งเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ การกระตุ้นและการสิ้นสุดไดอะพอสอาจเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีนจำเพาะในแต่ละเนื้อเยื่อ เอคไดโซนรีเซพเตอร์ยีน(EcR) เกี่ยวข้องกับการลอกคราบของแมลงซึ่งผ่านกลไกของสองนิวเคลียร์รีเซพเตอร์คือ EcRc และ ultraspiracle protein (USP) เนื่องจาก JHA เพิ่มปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ของหนอนเยื่อไผ่ให้สูงขึ้น การควบคุมการแสดงออกของเอคไดโซนรีเซพเตอร์ยีนอาจจะเกี่ยวข้องกับการทำงานของ JHA ในการศึกษาครั้งนี้ จึงทำการแยก ecdysone receptor (*OfEcR*) ทั้งสอง isoform คือ *OfEcR-A* และ *OfEcR-B1* และศึกษาการแสดงออกของยีนหลังจากให้ฮอร์โมน JHA ผลจากการโคลน *OfEcR-A* และ *OfEcR-B1* ที่ได้ประกอบด้วย A/B, C, D และ E regions พบว่า *OfEcR-A* มีความยาว 2,400 bp ประกอบด้วย 514 กรดอะมิโน และ OfEcR-B1 มีความยาว 2,407 bp ประกอบด้วย 541 กรดอะมิโน ทั้งสอง isoforms มีความแตกต่างกันในส่วน N-terminal A/B จากข้อมูล database แสดงให้เห็นว่า *OfEcR-A* และ *OfEcR-B1* มีความเหมือนสูงเมื่อเทียบกับ *Chilo suppressalis EcR* (*CsEcR-A and B1*), *Choristoneura fumiferana EcR* (*CfRcR-A and B1)* และ*Bombyx mori EcR* (*BmEcR-A and B1*) ตามลำดับ และมีความเหมือนน้อยเมื่อเทียบกับ *Drosophila melanogaster EcR* (*DmEcR-A and B1)* การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ *OfEcR-A* and *OfEcR-B1* ในต่อมโปรทอแรคซิคในช่วง 0-22 วันหลังจากให้ JHA 0.1 ไมโครกรัม พบว่าการแสดงออกของทั้ง *OfEcR-A และ OfEcR-B1* mRNA เพิ่มขึ้น หลังจากให้ฮอร์โมน JHA 14 วันและเพิ่มสูงสุดวันที่ 20 การเพิ่มขึ้นสูงสุดของทั้งสองไอโซฟอร์มนี้สัมพันธ์กับช่วงเวลาที่ระดับฮอร์โมนเอคไดโซนเพิ่มขึ้นในฮีโมลิมพ์ จากผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า JHA กระตุ้นการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์และการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนนี้ชักนำให้การแสดงออกของ *EcR* mRNAs ในต่อมโปรทอแรคซิคเพิ่มขึ้นด้วย

Abstract

231241

The bamboo borer, *Omphisa fuscidentalis*, the fifth instars larvae enter diapause in the bamboo stem in September and are in diapause until the following May. During larval diapause, the ecdysteroid titer remains at low levels and increases towards the diapause termination. An application of juvenile hormone analogue (JHA), methoprene, to diapause larvae induces an increase in ecdysteroid titer and eventually pupation. These results indicate that JHA may stimulate the prothoracic glands (PG) to increase ecdysteroid titer in hemolymph. Diapause initiation and termination may involve in changes in expression of specific genes in individual tissues. Ecdysone receptor (EcR) gene is a regulatory specific of insect molting which is mediated via two nuclear receptor superfamily members, ecdysone receptor and its heterodimeric partner, ultraspiracle protein (USP). Since JHA increases ecdysteroid titer in hemolymph of the diapause larvae of the bamboo borer, control of the expression of the ecdysone receptor gene (*EcR*) in the PGs may be involved in the action of JHA. In the present study, we first identified, two isoforms of ecdysone receptor from the bamboo borer, *Omphisa fuscidentalis* (*OfEcR*) and examined for their expression levels during the diapause period as well as those after JHA application. We have cloned both *OfEcR-A* and *OfEcR-B1* encoding the A/B, C, D, and E regions. The *OfEcR-A* mRNA was 2,400 bp in length which encoding 514 amino acids and *OfEcR B1* was 2,407 bp in length which encoding 541 amino acids. Two isoforms differed only in the N-terminal A/B region. A database search revealed that the *OfEcR-A* and *OfEcR-B*1 have high sequence identity with *Chilo suppressalis EcR* (*CsEcR-A and B1*), *Choristoneura fumiferana EcR* (*CfRcR-A and B1)* and *Bombyx mori EcR* (*BmEcR-A and B1*), respectively and lower identity to the *Drosophila melanogaster EcR* (*DmEcR-A and B1)*. The expression profile of *OfEcR-A* and *OfEcR-B1* in the PG during 0-22 day of 0.1 ug JHA application showed that both *OfEcR-A* and *OfEcR-B1* mRNA expression in the PG increased 14 days after JHA application and peaked at Day 20. These peaks of both isoforms correlated with the time of the increase in the ecdysteroid titer in hemolymph. These results suggest that JHA stimulates the increase in hemolymph ecdysteroids, and then the increased ecdysteroids induce the increase in EcR mRNAs in PG.