

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ:	MRG5080040
ชื่อโครงการ:	การโคลนและการศึกษาการแสดงออกของ complement components C3 และ C8 γ ในปลาดุกอุย <i>Clarias macrocephalus</i>
ชื่อนักวิจัยหลัก:	ดร. อัจฉรา จุฑาเกตุ ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี e-mail: acharar@agri.ubu.ac.th และ ach_r25@yahoo.com
ชื่อนักวิจัยพี่เลี้ยง:	ศาสตราจารย์ ดร. อัญชลี ทัศนากจร ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย e-mail: fsciakm@chulkn.car.chula.ac.th
ระยะเวลาโครงการ:	4 ปี 6 เดือน (ธันวาคม 2549 ถึง พฤษภาคม 2554)

ระบบคอมพลีเมนต์เป็นกลไกการป้องกันร่างกายของโฮสต์ที่มีประสิทธิภาพอย่างยิ่งอันหนึ่งโดยทำหน้าที่ส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบไม่จำเพาะ และแบบจำเพาะเจาะจง ในที่นี้ได้รายงานผลการศึกษาการโคลน และการแสดงออกของ complement components C3 และ C8 γ ในปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) ลำดับกรดอะมิโนความยาวสี่ในห้าส่วนของ C3 cDNA ที่โคลนได้จากปลาดุกอุย (*C. macrocephalus* C3) มีความเหมือนกันกับลำดับกรดอะมิโนในบริเวณที่สอดคล้องกันของ C3 จากปลาและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ระดับความเหมือน 52-64 % และ 41-45 % ตามลำดับ ส่วนลำดับกรดอะมิโนทั้งสายของ C8 γ (*C. macrocephalus* C8 γ) ที่โคลนได้นั้นมีความคล้ายคลึงกับลำดับกรดอะมิโนของ C8 γ จากปลาและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ระดับความเหมือน 44-50 % และ 36 % ตามลำดับ และยังคงคล้ายกับโปรตีนตัวอื่นที่เป็นสมาชิกของครอบครัว Lipocalin ที่ระดับความเหมือน 22-30 % จากผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ *C. macrocephalus* C3 และ C3 จากสัตว์ชนิดอื่นพบว่า *C. macrocephalus* C3 ประกอบไปด้วยส่วนที่ทำหน้าที่สำคัญหลายส่วน เช่น thiolester site, cleavage sites สำหรับ C3 convertase และ factor I และ properdin binding site ซึ่งพบใน C3 จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สำหรับ *C. macrocephalus* C8 γ นั้นดู

เหมือนว่าจะประกอบไปด้วยลำดับที่สงวนไว้ คือ lipocalin domain และ cysteine residues เช่นเดียวกันกับที่พบใน C8 γ ของคน การศึกษาการแสดงของยีน C3 และ C8 γ ในปลาอุกอุยขนาดเต็มวัยที่มีสุขภาพดีพบว่าตับเป็นอวัยวะหลักที่มีการแสดงออกของยีนทั้งสอง และยังตรวจพบการแสดงออกของยีน C3 และ C8 γ ทันทีหลังจากที่ปลาอุกอุยฟักเป็นตัว และมีระดับการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นเมื่อปลาเริ่มพัฒนาหรือมีอายุมากขึ้น นอกจากนี้การศึกษากการแสดงออกของยีน C3 และ C8 γ ในปลาอุกอุยขนาดปลานี้หลังจากได้รับอาหารที่ผสม β -glucan เป็นระยะเวลา 1, 3, 7, 14 วัน พบว่ายีน C3 มีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้น โดยมีการแสดงออกมากที่สุดเมื่อปลาได้รับอาหารที่ผสม β -glucan เป็นระยะเวลา 7 วัน และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ mRNA ของยีน C8 γ ในปลาที่ได้รับอาหารที่ผสม β -glucan

คำสำคัญ: *C. macrocephalus* ปลาอุกอุย C3 C8 γ การแสดงออกของยีน

Abstract

Project Code:	MRG5080040
Project Title:	Cloning and expression analysis of complement components C3 and C8 γ in walking catfish <i>Clarias macrocephalus</i>
Main Researcher:	Achara Jutagate, Ph.D. Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University e-mail: acharar@agri.ubu.ac.th, ac_r25@yahoo.com
Mentor:	Prof. Anchalee Tassanakajon, Ph.D. Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University e-mail: fsciakm@chulkn.car.chula.ac.th
Project Period:	4.5 years (December 2006 - May 2011)

Complement system is a powerful host defense mechanism that contributes to both innate and acquired immunity. Herein, we reported the cloning and expression analysis of the third complement component (C3) and the gamma subunit of the eighth complement component (C8 γ) in the walking catfish, *Clarias macrocephalus*. The deduced amino acid sequence of the partial *C. macrocephalus* C3 cDNA revealed 52-64% and 41-45% identity with fish and mammal orthologs, respectively. The entire amino acid sequence of *C. macrocephalus* C8 γ was similar to the C8 γ sequences of fish (44-50% identity) and mammals (36% identity) and to other proteins in lipocalin family (22-30% identity). The *C. macrocephalus* C3 sequence contained many functionally important sites such as thiolester site, cleavage sites for C3 convertase and factor I as well as properdin binding site, which are present in mammalian C3. The lipocalin domain and all cysteine residues, found in human C8 γ , seem to be conserved in *C. macrocephalus* C8 γ . In a healthy adult fish, the mRNAs of C3 and C8 γ were mainly expressed in liver. The developmental expression analysis also showed that C3 and C8 γ transcripts were presented in *C. macrocephalus* after hatching and gradually increased during larval development. In addition, the expressions of *C. macrocephalus* C3 and C8 γ transcripts were examined in catfish fingerlings fed with β -glucan for 1, 3, 7 and 14 days. Semi-quantitative PCR analysis showed that C3 expression in liver of walking catfish was significantly induced by β -glucan feeding whereas no difference

of the expression levels of *C. macrocephalus* C8 γ mRNA was observed. The highest level of C3 gene expression was observed in catfish fingerlings fed with β -glucan for 7 days.

Key words: *C. macrocephalus*, Walking catfish, Complement component C3,
Complement component C8 γ , Gene expression