บทคัดย่อ

207689

ปัญหางูพิษกัดเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย หนึ่งในงูพิษที่สำคัญในไทย คืองูแมวเซา (*Daboia russellii siamensis*) งูชนิดนี้พบมากในแถบภาคกลางและภาคตะวันออกของไทย ผู้ที่ถูกงูชนิดนี้กัด มักมีอาการทางระบบเลือด และภาวะไตวายเฉียบพลัน ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผู้ที่ถูกงูแมวเซากัดเสียชีวิต ในปัจจุบันความรู้เกี่ยวกับกลไกการเกิดพิษหลังถูกงูแมวเซากัด รวมทั้งโปรตีนสำคัญในพิษงูแมวเซาที่อาจมีประโยชน์ทางการแพทย์ ยังไม่มีการศึกษาอย่างแน่ชัด การศึกษาองค์ประกอบของพิษงูแมวเซาในเชิงลึก จะช่วยให้เข้าใจกลไกการเกิดพิษ นำไปสู่การรักษาที่มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น พร้อมทั้งอาจนำความรู้ที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไป จากผลงานที่ผ่านมา ทางกลุ่มผู้วิจัยได้สร้างห้องสมุดยีน (cDNA library) จากต่อมพิษงูแมวเซาได้สำเร็จ และได้มีการศึกษาองค์ประกอบของพิษงูเบื้องต้นด้วยเทคนิค Expressed Sequence Tags Analysis พบว่าในพิษงูมีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ haematostasis เป็นจำนวนมาก ซึ่งสัมพันธ์กับความเป็นพิษของงูแมวเซาที่มีผลโดยตรงต่อระบบเลือดของเหยื่อที่ถูกกัด หลังจากการศึกษาวิจัยในปีแรกได้ทำการแยกบริสุทธิ์โปรตีนพิษงูแมวเซาชนิด RVV-X และ PLA_2 ก่อนโดยใช้วิธี Gel filtration column chromatography และ Anion exchange column chromatography ในการศึกษานี้ได้ทำการโคลนและผลิตโปรตีนที่พบใน cDNA library ด้วย recombinant technology จำนวน 5 ยีนได้สำเร็จ คือ phospholipase A2 (PLA_2), factor X activating enzyme (RVV-X), factor V activating enzyme (RVV-V), serine β-fibrinogenase และ Daboistatin (short disintegrin) โดยที่โปรตีนทุกตัวสามารถทำปฏิกิริยากับ anti his tag ได้ โดยในการศึกษาต่อไปจะเป็นการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของโปรตีนที่ผลิตได้ต่อไป โครงการนี้เป็นโครงการวิจัยต่อเนื่อง 3 ปี (พ.ศ. 2550-2552) ซึ่งในขณะนี้อยู่ในระหว่างการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของโปรตีนที่ผลิตได้ซึ่งคาดว่าโปรตีนแต่ละตัวจะมีความสามารถในการทำงานได้เหมือน native protein และสามารถใช้ในการศึกษาอื่นๆเช่นการหากลไกการเกิดพิษหลังถูกงูแมวเซากัด และอาจนำความรู้ที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไป

Abstract

207689

Venomous snake bite is an important medical problem in Thailand. The subspecies found in Thailand is *Daboia russellii siamensis* that is abundant in Eastern and Central of Thailand. Envenomation presents predominately with hematologic manifestations and acute renal failure (ARF) which are cause of death in Russell's viper bite victims. However, the exact pathogenesis following *Daboia russellii siamensis* envenomation is not well established. Since Russell's viper venom contains several active proteins that present different biological activities, the main toxin in Russell's viper venom involving pathogenesis remains unclear. Moreover, snake venom proteins are source of interested biomedical compounds which may useful for medical applications. Therefore, this research focuses on snake venom component identification to understand the role of toxins involving the pathogenesis for potential treatment in snake-bite patients and investigate the potential snake proteins for use in medical application. In previous study, we have constructed a cDNA library from Russell's viper venom gland and generated expressed sequence tags (ESTs), resulting in sequences associated with haematostasis abnormality found in snake-bite victims. After purification of RVV-X and PLA_2 by Gel filtration column chromatography and Anion exchange column chromatography, we then focused on cloning and expression of recombinant proteins-phospholipase A2 (PLA_2), factor X activating enzyme (RVV-X), factor V activating enzyme (RVV-V), serine β-fibrinogenase and Daboistatin (short disintegrin) found in cDNA library. All recombinant proteins have been successfully expressed and interacted with anti Histidine tag antibody. These proteins will be furture assayed to test their biochemical and toxic properties.