บทคัดย่อ

223404

การใช้ไข่ของกบ *Xenopus laevis* เป็นแบบจำลองสำหรับงานวิจัยเพื่อศึกษาโครงสร้างและการทำงานของโปรทีนที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์เป็นที่นิยมกันมากทั้งในอดีตและปัจจุบัน ทั้งนี้เนื่องจากไข่ของกบชนิดนี้มีขนาดใหญ่และการเลี้ยงดูแลกบชนิดนี้ไม่ยุ่งยาก แต่สำหรับประเทศไทย งานวิจัยที่ใช้กบชนิดนี้มีน้อยมากและต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ ทำให้มีความยุ่งยากและราคาแพง กบนา (*Rana tigerina*) เป็นกบที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทยและราคาไม่แพง ลักษณะและโครงสร้างภายในของไข่มีความคล้ายคลึงกับไข่ของกบ *Xenopus laevis* มาก การวิจัยครั้งนี้จึงต้องการศึกษาว่าจะสามารถใช้ไข่ของกบนาเป็นแบบจำลองสำหรับงานวิจัยแทนการใช้ไข่ของ *Xenopus laevis* ได้หรือไม่

ทำการเลี้ยงกบนาในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมอุณหภูมิและแสงสว่างตลอดเวลา ทำการผ่าตัดหน้าท้องเพื่อแยกรังไข่ออกมาจำนวนหนึ่ง ศึกษาการพัฒนาการของไข่โดยการดูจากลักษณะภายนอกและขนาด สามารถแบ่งการพัฒนาการของไข่ออกเป็น 6 ระยะ โดยระยะที่ 1 เป็นระยะที่ไข่มีการพัฒนาน้อยที่สุด ระยะที่สามารถนำมาใช้ศึกษาการแสดงออกของโปรทีนได้คือระยะที่ 5 และ 6 เพราะเป็นระยะที่ไข่มีการพัฒนามาก ทำการนับจำนวนไข่ที่อยู่ในระยะต่าง ๆ ติดตามเก็บข้อมูลเดือนละครั้ง พบว่าในช่วงปีแรกของการเลี้ยงกบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ไข่มีการพัฒนาไม่ถึงระยะที่ 5 และ 6 แต่ในปีที่ 2 และ 3 พบว่าไข่มีการพัฒนาถึงระยะที่ 5 และ 6 ตลอดทั้งปี จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงว่าการพัฒนาการของไข่กบสามารถถูกควบคุมได้จากสภาพแวดล้อมภายนอก

เมื่อทำการศึกษาความสามารถของไข่ในการสังเคราะห์โปรทีนหลังจากที่ฉีด RNA จากภายนอกเข้าไปในไข่กบ โดยเริ่มจากการใช้ collagenase ย่อยสลาย collagen ที่อยู่บนผิวของไข่กบ พบว่าไข่กบนามีความไวต่อการถูกทำลายโดยเอ็นไซม์ชนิดนี้มากกว่าไข่ของกบ *Xenopus laevis* ไม่น้อยกว่า 10 เท่า และเมื่อศึกษาการแสดงออกของโปรทีนโดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าภายในไข่หลังจากกระตุ้นด้วยสารสื่อประสาท พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าเกิดขึ้น จากผลการศึกษาที่ได้นี้ สามารถตั้งสมมุติฐานเพื่ออธิบายสิ่งที่เกิดขึ้นได้ว่าอาจเกิดจากไข่ของกบนาไม่สามารถเปลี่ยน RNA ที่ฉีดเข้าไปจากภายนอกเป็นโปรทีนได้ หรืออาจเกิดจากความแรงของ collagenase ทำให้กระบวนการบางอย่างภายในเซลล์ไข่กบที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของโปรทีนได้รับความเสียหาย อย่างไรก็ตามจะต้องหาสาเหตุที่แท้จริงต่อไป

Abstract

223404

The oocyte from *Xenopus laevis* is a very powerful tool for studies of the structure and function of membrane proteins. The *Xenopus* oocytes are a popular model because of their large size (~ 1.0 mm) and giving mature oocyte all year round. In Thailand, the using *Xenopus laevis* is rare and the frogs are not available. Previous structural and histological studies demonstrated that the oocytes from *Rana tigerina* were similar to those from *Xenopus* laevis, so, this study aims to assess whether the *Rana* oocyts are used in stead of *Xenopus* oocytes as the experimental model.

Rana oocytes were kept in 23 ± 1°C laboratory room with 12-12 hr light-dark control. After the oocytes were isolated, they were classified into six stages based on size, color and histology. Stage I oocytes were smallest and less developed while stage V and VI oocytes were well developed and used for the protein expression experiments. In the first year of study, stage V and VI oocytes were not observed during December – February but in the second and third years these two stages were clearly seen all year round. These results suggest that development of oocytes was regulated by environment changes.

Study of protein expression demonstrated that *Rana* oocytes were more sensitive to collagenase at least 10 times than *Xenopus* oocytes. Comparing to *Xenopus* oocytes, RNA injected *Rana* oocytes did not show current changes after stimulating by neurotransmitters. To explain this result, it was hypothesized that either *Rana* oocytes were not able to translate the RNA to protein or the collagenase caused a damage of translation machinery inside the cells. However, the exact cause should be evaluated.