นวนิตย์ คล่องแคล่ว 2552: การศึกษาคุณลักษณะ Complementary DNAs (cDNAs) และการแสดงออกของยีน Anti-lipopolysaccharide Factors ในกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*, de Man) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์ประพันธ์ศักดิ์ ศีรษะภูมิ, Ph.D. 124 หน้า

การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของ cDNA ของยีน Anti-lipopolysaccharide factor (ALF) ในกุ้งก้ามกราม โดยใช้เทคนิค Rapid Amplification of cDNA Ends (RACEs) และการสืบค้นในห้องสมุด Comple - mentary DNA (cDNA) ที่ได้จากเม็ดเลือดและ Androgenic gland ของกุ้งก้ามกราม ทำให้สามารถค้นพบ cDNAs ของยีน ALF ของกุ้งก้ามกรามอย่างน้อย 3 Isoforms คือ Mr-ALF1, Mr-ALF2 และ Mr-ALF3 โดยมีลำดับนิวคลี- โอไทด์ทั้งหมดของ cDNAs เท่ากับ 794, 959 และ 833 bp และเป็นส่วนของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถถอดรหัสเป็นกรดอะมิโน (Open reading frame, ORF) ขนาด 345, 399 และ 366 bp โดยเป็นลำดับของกรดอะมิโน 114, 132 และ 121 Residues ตามลำดับ เมื่อนำเอาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ cDNAs ดังกล่าว มาทำนายโครงสร้างของโปรตีนจะพบตำแหน่งของ LPS binding motif ซึ่งมีความสำคัญในการจับกับเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอม ที่อยู่ระหว่างกรดอะมิโน Cysteine 2 ตำแหน่งที่จับกันเกิดเป็นพันธะ Disulfide อยู่ภายในโมเลกุล อีกทั้งยังมีบริเวณที่เป็น Consensus pattern [(W/T/R)CP(G/S)W(T/A)] เช่นเดียวกับยีน ALF ของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น นอกจากนี้ยังพบตำแหน่งของ Glycosylation จำนวน 1 ตำแหน่งในลำดับของกรดอะมิโนของ Mr-ALF2 และ Mr-ALF3 อีกด้วย การเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับของกรดอะมิโนของ Mr-ALF ทั้งสาม Isoforms ของกุ้งก้ามกราม พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับของกรดอะมิโนของ Mr-ALF1 จะมีความคล้ายคลึงกับ Bristled river shrimp (*Macrobrachium olfersii*) มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้าง Phylogenetic tree ส่วน Mr-ALF2 จะมีความคล้าย คลึงกับ White shrimp (*Litopenaeus schmitti*) และ Kuruma prawn (*Marsupenaeus japonicus*) มากที่สุด และ Mr-ALF3 จะมีความคล้ายคลึงกับ American lobster (*Homarus americanus*) และ Bristled river shrimp (*M. olfersii*) มากที่สุด นอกจากนี้การศึกษาการแสดงออกของยีน Mr-ALF1 และ Mr-ALF2 ในอวัยวะต่าง ๆ ของกุ้งก้ามกราม ด้วยเทคนิค Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) พบว่ายีน Mr-ALF1 มีการแสดงออกมากที่สุดในเซลล์เม็ดเลือด หัวใจ ทางเดินอาหารส่วนกลางและตับและตับอ่อน ส่วนการแสดงออกของยีน Mr-ALF2 มีการแสดงออกมากที่สุดในกลุ่มของเม็ดเลือด ก้านตา ทางเดินอาหารส่วนต้น เหงือกและหัวใจ และเมื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีน Mr-ALF1 และ Mr-ALF2 ในเม็ดเลือดของกุ้งก้ามกราม ภาย หลังจากทำการฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และให้กินอาหารผสมสาร β-glucan ในอัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ด้วยเทคนิค Quantitative Real-Time PCR พบว่าในวันที่ 1 ระดับการแสดงออกของยีน Mr-ALF1 และ Mr-ALF2 จะเพิ่มสูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ Mr-ALF2 เท่านั้นจะมีระดับการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องในวันที่ 3 และวันที่ 7 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ส่วนระดับการแสดง ออกของยีน Mr-ALF1 และ Mr-ALF2 ภายหลังจากให้กินอาหารผสมสาร β-glucan นั้นจะไม่พบความแตกต่างของระดับการแสดงออกของยีน Mr-ALF1 และ Mr-ALF2 ในกลุ่มทดลองเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P\geq0.05$)

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก