

อรุณศิริ ศรีบุญแสน 2552: การศึกษาคุณลักษณะของ Complementary DNA และการแสดงออกของ ยีน Transferrin ในปลาอุกอุย (*Clarias macrocephalus* Günther) ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์ประพันธ์ศักดิ์ ศิริษะภูมิ, Ph.D. 104 หน้า

การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของ Complementary DNA (cDNA) ของยีน Transferrin ของปลาอุกอุย โดยใช้เทคนิค 5' และ 3' Rapid Amplification cDNA Ends (RACEs) PCR พบว่า Transferrin cDNA ของปลาอุกอุยมีความยาวทั้งหมดเท่ากับ 2,183 bp ซึ่งเป็นส่วน Open reading frame 1,884 bp สามารถแปลรหัสเป็นกรดอะมิโนได้ 628 Residues และเมื่อพิจารณาโครงสร้างโปรตีนพบว่า Transferrin ของปลาอุกอุย ประกอบด้วย Iron binding domain จำนวน 2 Lobes ได้แก่ N- และ C-lobes ซึ่งมีลำดับของนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนที่คล้ายคลึงกันและเชื่อมต่อกันด้วย Interdomain bridge นอกจากนี้โครงสร้าง cDNA ของยีน Transferrin ของปลาอุกอุยยังประกอบด้วยตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ใช้จับกับไอออนเหล็ก (Iron-binding ligand) จำนวน 8 ตำแหน่ง ตำแหน่ง Second shell-hydrogen-binding-network, Dilysine trigger และ Carbonate anion จำนวน 8, 4 และ 2 ตำแหน่งตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาลำดับและคุณสมบัติเชิงวิวัฒนาการของลำดับนิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ พบว่ายีน Transferrin ของปลาอุกอุย มีความคล้ายคลึงกับปลากระดูกแข็งมากที่สุดในช่วง 50.5-60.8% และเมื่อทำการศึกษาระดับการแสดงออกของยีน Transferrin จากเนื้อเยื่อที่ได้จากอวัยวะต่าง ๆ ของปลาอุกอุยโดยใช้เทคนิค Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) พบว่ามีการแสดงออกในระดับเท่านั้น นอกจากนี้ เมื่อทำการศึกษาระดับการแสดงออกของยีน Transferrin ภายหลังจากการได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* 2 ความเข้มข้นที่ 10^7 และ 10^9 Colony forming unit (CFU)/ml เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่ระยะเวลา 0, 6, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค Quantitative RT-PCR พบว่าที่ 96 ชั่วโมง ยีน Transferrin ของปลาอุกอุยซึ่งได้รับแบคทีเรียในระดับ 10^7 CFU/ml จะมีระดับการแสดงออกของยีน Transferrin สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนระดับความเข้มข้น 10^9 CFU/ml จะมีผลให้ระดับการแสดงออกของยีน Transferrin ของปลาอุกอุยลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 จนถึงชั่วโมงที่ 24 ตามลำดับ