

กุ้งกุลาดำเป็นสัตว์เศรษฐกิจและทำรายได้ให้กับประเทศไทยอย่างมหาศาล ความรู้เกี่ยวกับการลอกคราบของกุ้งกุลาดำที่มีอยู่แล้วในอดีตยังไม่เพียงพอต่อการอธิบายถึงกระบวนการลอกคราบและกลไกการควบคุมการลอกคราบในเชิงลึกของกุ้งกุลาดำให้เข้าใจได้ การวิจัยครั้งนี้มุ่งเพื่อเปรียบเทียบลักษณะการแสดงออกของโปรตีนในเนื้อเยื่อผิวหนังของแต่ละระยะการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ ซึ่งประกอบด้วยระยะ D0, D1, D2, D3, D4, A, B1 และ B2 และค้นหาคุณสมบัติของโปรตีนที่เปลี่ยนแปลงการแสดงออกสัมพันธ์กับวงจรการลอกคราบ โดยใช้วิธีทางโปรตีโอมิกส์ ผลการศึกษาด้วย 2D SDS-PAGE และวิเคราะห์จุดโปรตีนจำนวน 604 จุด พบว่า มีจุดโปรตีนจำนวน 48 จุด ที่เปลี่ยนแปลงความเข้มของจุดโปรตีนตลอดวงจรการลอกคราบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ที่ความเชื่อมั่น 95%) โดยมีจุดโปรตีนจำนวน 3 จุด ที่แสดงออกสูงสุดในระยะ D0 1 จุด ที่แสดงออกสูงสุดในระยะ D1 4 จุด ที่แสดงออกสูงสุดในระยะ D2 1 จุด ที่แสดงออกสูงสุดในระยะ D3 24 จุด ที่แสดงออกสูงสุดในระยะ D4 9 จุด ที่แสดงออกสูงสุดในระยะ A 3 จุด ที่แสดงออกสูงสุดในระยะ B1 และ 3 จุด ที่แสดงออกสูงสุดในระยะ B2 โปรตีนทั้ง 48 จุดนี้ได้ถูกนำไปวิเคราะห์ชนิดและคุณสมบัติของโปรตีนด้วยเครื่อง LC-MS/MS (Q-TOF MS) โดยใช้ partial peptide sequence ที่ได้จากการย่อยจุดโปรตีนแต่ละจุดที่ปรากฏบนแผ่นเจล และเปรียบเทียบกับผลจากการสืบค้นในฐานข้อมูล NCBI nr มีโปรตีนจำนวน 18 จุด ที่ประสบความสำเร็จในการสืบค้นในขณะนี้ ได้แก่ Pyruvate kinase Phosphoglucose isomerase Vitellogenin Putative fructose 1,6- biphosphate aldolase Allergen pen m 2 Arginine kinase Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase Mitochondrial F0-ATP synthase β -chain Keratin 9 Keratin type II Keratin 10 Inhibitor of angiotensin converting enzyme Catalase CG6871-PA Heat shock protein 70 α -Crustacyanin-C1 Keratin-1 Gelsolin และ MICAL-like protein ผลการศึกษาครั้งนี้บ่งบอกว่า โปรตีนชนิดต่างๆ มีการผลิตเปลี่ยนแปลงการแสดงออกไปตามระยะต่างๆ ตลอดวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ โดยระยะ D4 มีการแสดงออกของโปรตีนมากที่สุด ผลการศึกษาสะท้อนให้เห็นว่าแต่ละระยะการลอกคราบถูกควบคุมด้วยกลไกที่แตกต่างกันภายใต้การทำงานของโปรตีนหลาก หลายชนิดสอดคล้องตามหน้าที่ของแต่ละระยะ ซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดวงจรการลอกคราบ การค้นพบโปรตีนเหล่านี้ทำให้เข้าใจกลไกที่เกิดขึ้นในวงจรการลอกคราบดีขึ้น บทบาทที่เป็นไปได้ของโปรตีนเหล่านี้ต่อวงจรการลอกคราบได้บรรยายรายละเอียดไว้ในรายงาน การศึกษาที่ควรทำต่อเพื่อทำให้ความรู้เกี่ยวกับกลไกการลอกคราบสมบูรณ์ คือการยืนยันการแสดงออกของจุดโปรตีนที่ได้รายงานในงานวิจัยนี้ด้วยวิธีการอื่นเพิ่มเติม และการค้นคว้าชื่อและคุณสมบัติของจุดโปรตีนที่ยังไม่ประสบความสำเร็จในขณะนี้ด้วยวิธีการหรือเครื่องมืออื่น เพื่อสร้างองค์ความรู้เกี่ยวกับกลไกการลอกคราบระดับชีวโมเลกุลให้ครบถ้วนสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

The aim of this study is to investigate the protein profiling of epidermal protein and the identifications of molted-related proteins using proteomics approach throughout 8 different molting stages; including D0, D1, D2, D3, D4, A, B1 and B2, of the black tiger shrimp. The results show that the intensity of 48 of 603 proteins is significantly changed ($p < 0.05$), while the molting cycle progresses. There are 3 protein spots that are maximal expressed in D0 stage, 1 protein spot that is maximal expressed in D1 stage, 4 protein spots that are maximal expressed in D2 stage, 1 protein spot that is maximal expressed in D3 stage, 24 protein spots that are maximal expressed in D4 stage, 9 protein spots that are maximal expressed in A stage, 3 protein spots that are maximal expressed in B1 stage, and 3 protein spots that are maximal expressed in B2 stage. These 48 protein spots are further characterized for the identifications with LC-MS/MS (Q-TOF MS). Their partial peptide sequences are acquired from in-gel digestion, and searched for the protein informatics against the NCBI nr database. So far, 18 protein spots are successfully identified. These include Pyruvate kinase, Phosphoglucose isomerase, Vitellogenin, Putative fructose 1,6- biphosphate aldolase, Allergen pen m 2, Arginine kinase, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, Mitochondrial F0-ATP synthase β -chain, Keratin 9, Keratin type II, Keratin 10, Inhibitor of angiotensin converting enzyme, Catalase CG6871-PA, Heat shock protein 70, α -Crustacyanin-C1, Keratin-1, Gelsolin and MICAL-like protein. The results suggest that different sets of proteins take turn to be expressed in, and play important role on a particular molting stage. This is in accord with previous information that each molting stage is responsible for different crucial tasks in regulating the molting cycle progression. It seems that the epidermal protein functions are most highly active in D4 stage. The possible role of each protein on the molting cycle is discussed in the report. Further studies are required for completing the knowledge of regulatory mechanism of molting. The protein expression would be next confirmed with other methods, and more protein identifications related to the molting cycle are necessary.