การโคลนชิ้น cDNA สายสมบูรณ์ และ ศึกษาคุณลักษณะของตัวรับ dopamine ในกุ้งกุลาดำ
CLONING AND CHARACTERIZATION OF DOPAMINE RECEPTOR FROM BLACK TIGER SHRIMP

สุจิตราภรณ์ สุขถาวร 5137034 MBMG/M

วท.ม. (อณูพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรมศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อภินันท์ อุดมกิจ, Ph.D., สกล พันธุ์ยิ้ม, Ph.D.,
เฉลิมพร องศ์วรโสภณ, Ph.D., พงโสภี อัตศาสตร์, Ph.D.

บทคัดย่อ

กระบวนการสืบพันธุ์ของกุ้งกุลาดำถูกควบคุมโดยฮอร์โมนหลายชนิด ซึ่ง dopamine เป็นสารสื่อประสาทชนิดหนึ่งที่สันนิษฐานว่าเกี่ยวข้องกับกระบวนการพัฒนารังไข่ โดยทำหน้าที่ยับยั้งการสร้าง gonad-stimulating hormone (GSH) เนื่องจาก dopamine ทำงานโดยอาศัยตัวรับ dopamine ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ คือ การ clone ชิ้น cDNA สายสมบูรณ์และการศึกษาคุณลักษณะของตัวรับ dopamine ในกุ้งกุลาดำ (DAR_Pem) รวมทั้งศึกษาการแสดงออกของตัวรับ dopamine ในอวัยวะต่าง ๆ ของกุ้งแม่พันธุ์ จากผลการศึกษาพบว่า ชิ้น cDNA สายสมบูรณ์ ของตัวรับ dopamine มีจำนวนนิวคลีโอไทด์ 1,990 คู่เบส ประกอบด้วย ORF ขนาด 1,359 คู่เบส ถอดรหัสให้โปรตีนที่มีความยาว 452 กรดอะมิโน ซึ่งลำดับกรดอะมิโนของตัวรับ dopamine นี้คล้ายกับตัวรับ dopamine ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง กลุ่ม arthropod โครงสร้างของตัวรับ dopamine จัดอยู่ในกลุ่มของ G-protein coupled receptor การศึกษา การแสดงออกของตัวรับ dopamine ในระดับ mRNA ด้วยเทคนิค RT-PCR พบว่า ตัวรับ dopamine มีการแสดงออกในอวัยวะต่างๆ เช่น ก้านตา, สมอง, ตับ, รังไข่, เส้นประสาทส่วนท้องและปมประสาทส่วนอก อย่างไรก็ตาม dopamine มีการแสดงออกระดับสูงในอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับศูนย์กลางระบบประสาท เช่น สมอง และก้านตา แต่ในรังไข่มีการแสดงออกของตัวรับ dopamine ในระดับต่ำ การแสดงออกของตัวรับ dopamine ในสมองจะเพิ่มขึ้นเมื่อกุ้งมีการพัฒนารังไข่จากกุ้งระยะที่ 1 ไปสู่ระยะที่ 3 และลดลงอย่างรวดเร็วในระยะที่ 4 เป็นไปได้ว่า dopamine อาจจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการพัฒนารังไข่โดยผ่านตัวรับ dopamine ในการยับยั้งการสร้างฮอร์โมน GSH ในสมอง และส่งผลทางอ้อมในรังไข่ นอกจากนี้ ปริมาณของตัวรับ dopamine ยังถูกศึกษาในระดับโปรตีน โดยใช้แอนติบอดีที่ผลิตจากปลาย C-tail ของตัวรับ dopamine แต่การศึกษานี้ไม่ประสบความสำเร็จ ซึ่งอาจเป็นเพราะมีการสร้างตัวรับ dopamine ในปริมาณน้อย นอกจากนี้แอนติบอดีที่ใช้ยังเกิดปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างซีรัมของสัตว์ที่ใช้ในการผลิตแอนติบอดีกับโปรตีนในรังไข่ของกุ้ง จากการแสดงออกของตัวรับ dopamine ในเซลล์ COS-1 พบว่าตัวรับ dopamine มีการแสดงออกบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์และตัวรับ dopamine ตอบสนองต่อสารสื่อประสาท dopamine ซึ่งนำไปสู่การเพิ่มระดับของ cAMP ภายในเซลล์ บ่งบอกว่า ตัวรับ dopamine ในกุ้งกุลาดำนี้เป็นตัวรับชนิดที่ 1 อย่างไรก็ตาม ต้องทำการยืนยันคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของตัวรับ dopamine จากความจำเพาะของ ligand โดยการใช้ agonist และ antagonist

107 หน้า