

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: **MRG4980113**

ชื่อโครงการ: การสังเคราะห์และศึกษาการแสดงออกของยีนที่เก็บ

รหัสแอนติเจนที่จำเพาะจากพยาธิใบไม้ในตับ *Fasciola gigantica*

(ชื่อหลักวิจัย): กุลธิดา ชัยธีระยานนท์ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address : sckcn@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

ในพยาธิใบไม้ในตับ *Fasciola* จะใช้ Peroxiredoxin เป็น antioxidant เอมไซม์ที่มีคุณสมบัติใช้กำจัด H_2O_2 ตรงตำแหน่ง active site ที่มี cysteine อยู่ เนื่องจากพยาธิชนิดนี้ไม่มี catalase และพบว่าปริมาณการแสดงออกของ glutathione peroxidase มีอยู่น้อยมาก ในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาว่าสามารถพบ Peroxiredoxins (Prxs) ในพยาธิใบไม้ในตับ *F. gigantica* ได้หรือไม่ รวมทั้งยังศึกษาการทำงานที่เกี่ยวข้องกับการต้านสารอนุมูลอิสระของออกซิเจนด้วย จึงได้โคลนยีนที่มีคุณสมบัติเป็นสาร antioxidant นั่นคือ 2-Cys Peroxiredoxin โดยวิธีการทำ immunoscreening ต่อ cDNA library ของพยาธิใบไม้ในตับ *F. gigantica* และทำปฏิกิริยากับโพลีโคลนัลแอนติบอดีต่อชิ้นผิวของพยาธิและ พบยีนจำนวน 2 isoform คือ FgPrx1 และ FgPrx2 ที่แสดงลำดับที่สมบูรณ์ของกรดอะมิโน 218 ตัว โดย FgPrx1 มีน้ำหนักโมเลกุล 24.57 kDa ส่วน FgPrx2 มีน้ำหนักโมเลกุล 24.63 kDa ซึ่งทั้ง 2 isoforms นี้มีความเหมือนของ amino acids ประมาณ 98.6% และกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมประมาณ 50% identity เมื่อวิเคราะห์ phylogenetic tree พบว่ายีน FgPrx1 และ FgPrx2 อยู่ในกลุ่มเดียวกับ peroxiredoxin ของ *F. hepatica* ผลของการศึกษาการแสดงออกของ mRNA ของยีน FgPrx มีการแสดงออกอย่างต่อเนื่องของการเจริญเติบโตในพยาธิตัวเต็มวัยจะพบ FgPrx ในเนื้อเยื่อ caecal epithelium เซลล์ชั้นผิว (tegument) ที่หุ้มผิวนอกของพยาธิและบุผิวในส่วน ventral sucker และในระบบสืบพันธุ์ของพยาธิเพศผู้และเมียซึ่งได้แก่ เซลล์ vitelline และไข่และเซลล์ใน testis กับ prostrate gland ส่วนของพยาธิตัวอ่อนอายุ 4 สัปดาห์ ตัวอ่อนระยะ newly excysted juvenile และ metacercaria การแสดงออกของยีน Prx มีลักษณะคล้ายกับที่พบในพยาธิตัวเต็มวัยคือมีการติดสีที่ caecum อย่างเด่นชัดและเซลล์ชั้นผิว หลังจากที่ได้ผลิต recombinant โปรตีนของยีนชนิดนี้ แล้วและศึกษาถึงการกระจายของ native FgPrx โปรตีนพบว่าการแสดงออกของโปรตีนคล้ายกับการแสดงออกของยีนอย่างเด่นชัด ยกเว้นในระบบสืบพันธุ์ของพยาธิเพศผู้ที่มีน้อยมาก นอกจากนี้ antiserum ต่อ recombinant FgPrx สามารถ ทำ

