

จรรยาภรณ์ เพชรคง 2553: การโคลนและการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนแอลฟาอะไมเลสในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุวิศวกรรม) สาขาพันธุวิศวกรรม โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์เลิศลักษณ์ เงินศิริ, Ph.D. 85 หน้า

แอลฟาอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งและไกลโคเจนในสัตว์ ในการศึกษานี้เป็นการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนแอลฟาอะไมเลส (α -Amylase, *PmAmy*) ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) โดยใช้เทคนิค Rapid Amplification of cDNA Ends (RACE) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *PmAmy* cDNA มีความยาวเท่ากับ 1647 คู่เบส โดยส่วนของ Open reading frame มีความยาวเท่ากับ 1539 คู่เบส ซึ่งแปลรหัสเป็นกรดอะมิโนจำนวน 512 เรซิดิวซ์ โดยมีน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ที่คำนวณได้ 56.90 กิโลดาลตัน และ 5.04 ตามลำดับซึ่งโปรตีนที่คาดหมายนี้ประกอบไปด้วยบริเวณอนุรักษ์ทั้งหมด 9 ตำแหน่ง ได้แก่ FEW, GFAGVQVSP, DAVINH, NYGD, LNDLN, GFRIDPSKH, EVID, FIDNHD และ GYTRAMSSY เมื่อนำลำดับกรดอะมิโนของ *PmAmy* มาเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vanamei*) พบว่ามีความเหมือนกัน 95.31 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการศึกษาการแสดงออกของยีน *PmAmy* ในเนื้อเยื่อของกุ้งกุลาดำระยะตัวเต็มวัยอายุ 40 วัน ด้วยวิธี Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) พบว่ายีน *PmAmy* มีการแสดงออกมากที่สุดในเนื้อเยื่อดับอ่อน (hepatopancreas) เนื้อเยื่อที่มีการแสดงออกรองลงมา ได้แก่ ทางเดินอาหารส่วนต้น (fore gut) ทางเดินอาหารส่วนกลาง (mid gut) ทางเดินอาหารส่วนท้าย (hind gut) และหัวใจ (heart) ส่วนเนื้อเยื่อที่ก้านตา (eyestalk) และเหงือก (gills) มีการแสดงออกน้อยที่สุด