การศึกษาลักษณะการแสดงออกของโปรตีนในเนื้อเยื่อผิวหนัง ตลอดวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ

Study of Protein Expression in the Epidermis during the Molting Cycle of the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)

สุวรรณี ขุนทองปาน

Suwannee Khunthongpan

เลขหมู่ QL444.M33 ส475 2552 ฉ. 1

Bib Key 343297

23 ธ.ค. 2552

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Biotechnology
Prince of Songkla University
2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาลักษณะการแสดงออกของโปรตีนในเนื้อเยื่อผิวหนังตลอดวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ

ผู้เขียน นางสาวสุวรรณี ขุนทองปาน

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ พรหมวิกร)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ดร.วรสันต์ โสภณ)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ดร.อภิชาติ อู่ไพจิตร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ พรหมวิกร)

.....กรรมการ

(ดร.วรสันต์ โสภณ)

.....กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.บุญเสริม วิทยชำนาญกุล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาลักษณะการแสดงออกของโปรตีนในเนื้อเยื่อผิวหนังตลอดวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ

ผู้เขียน นางสาวสุวรรณี ขุนทองปาน

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2551

บทคัดย่อ

การศึกษารูปแบบการแสดงออกของโปรตีน ตลอดวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำทั้ง 8 ระยะ ได้แก่ ระยะ D0 D1 D2 D3 D4 A B1 และ B2 ทำโดยเทคนิคแผ่นวุ้นสองมิติ (2D SDS-PAGE) และย้อมสีแผ่นวุ้นด้วยสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต ผลการทดลองเมื่อเปรียบเทียบด้วยสายตา พบว่ารูปแบบการแสดงออก และความเข้มของจุดโปรตีนในทุกระยะของวงจรการลอกคราบมีความแตกต่างไม่มากนัก เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบความเข้มของจุดโปรตีนบนแผ่นวุ้นจากตัวอย่างทั้ง 8 ระยะ จำนวน 3-4 ชุด ด้วย Imagemaster 2D platinum software (Amersham Biosciences) พบว่าความเข้มของจุดโปรตีนจำนวน 48 จุด มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดวงจรการลอกคราบเมื่อทดสอบด้วยสถิตินอนพาราเมตริก จุดโปรตีนจำนวน 15 จุด จากจำนวน 48 จุดนี้ถูกนำไปศึกษาต่อเพื่อระบุชนิดของโปรตีนด้วย LC-MS/MS ผลในขณะนี้มีจุดโปรตีนที่วิเคราะห์และสืบค้นได้เป็นผลสำเร็จจำนวน 2 จุด และจุดโปรตีนที่เหลือยังอยู่ระหว่างการวิเคราะห์โดยโปรตีนทั้ง 2 ชนิดที่พบนี้มีการแสดงออกสูงสุดในระยะ B1 โปรตีน 2 ชนิด ดังกล่าวคือ allergen Pen m 2 ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำให้เกิดภูมิแพ้ในคน และเป็นไปได้ว่ามีความเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรทในชั้นใต้เนื้อเยื่อผิวหนัง เพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาเปลือกให้แข็งขึ้น และ crustacyanin-C1 subunit ซึ่งเป็นรงควัตถุสำคัญในการเกิดสีของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง การค้นพบในครั้งนี้เป็นเพียงส่วนหนึ่งของกระบวนการที่เกิดขึ้นทั้งหมดภายในเนื้อเยื่อผิวหนัง การศึกษาต่อเนื่องเพื่อค้นหาโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลอกคราบมีความจำเป็นที่จะต้องดำเนินการต่อไป เพื่อให้ความรู้เชิงลึกเกี่ยวกับกลไกการควบคุมการลอกคราบของกุ้งกุลาดำมีมากขึ้น ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการเลี้ยงกุ้งของเกษตรกร และเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการค้นคว้าวิจัยกุ้งกุลาดำ ซึ่งเป็นสินค้าทางการเกษตรส่งออกที่มีความสำคัญต่อประเทศไทย

Thesis Title Study of Protein Expression in the Epidermis during the Molting Cycle of the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)

Author Miss Suwannee Khunthongpan

Major Program Biotechnology

Academic Year 2008

ABSTRACT

The protein profilings of epidermal protein throughout 8 different molting stages; including D0, D1, D2, D3, D4, A, B1 and B2, of the black tiger shrimp were investigated by two dimension gel electrophoresis (2D SDS-PAGE) followed with silver staining. The result showed that the protein expression profilings and intensity from all stages were not much different when compared by eyes. When the gels of 8 molting stages in 3-4 replicated experiments were analyzed by the Imagemaster 2D platinum software (Amersham Biosciences), it was found that the intensity of 48 protein spots was significantly different ($\alpha<0.05$) throughout the molting cycle, when analyzed by non- parametric statistics. A total of 15 from 48 protein spots were analysed with LC-MS/MS. 2 protein spots were so far successfully identified, while the others were being analysed. The 2 proteins were allergen Pen m2 and crustacyanin-C1 subunit. Both protein spots were highest expressed in stage B1. Allergen Pen m 2 may involve in carbohydrate metabolism in the sub-epidermis, which is for development of cuticle. Crustacyanin-C1 subunit is a pigment, which produces coloration in invertebrate. This finding is a part of the whole process occurred in epidermis during molting. Further investigation for protein identifications is required for more understanding of the regulatory mechanism of the molting cycle of the black tiger shrimp (*P. monodon*). This study will be beneficial to shrimp farming and advanced research in the black tiger shrimp, which is an important agricultural export product of Thailand.