Appendix V

บทคัดย่อที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการ

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพและเนื้อเยื่อวิทยาของเปลือกกุ้งกุลาดำตลอดวงจรการลอกคราบ

วราภรณ์ พรหมวิกร[1] พรพิมล คีรีรัตน์[1] ปิยากร บุญยัง[1] ประนอม อินทสะโร[1] พินิจ ทวีธรรมเสวี[1] และ บุญเสริม วิทยชำนาญกุล[2]
[1]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112
[2]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ และ หน่วยวิจัยเพื่อความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพกุ้ง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ 10400

บทนำ การลอกคราบคือปรากฏการณ์ที่กุ้งสลัดเอาเปลือกเก่าที่ห่อหุ้มตัวออกและสร้างเปลือกใหม่ขึ้นมาแทนที่ซึ่งพบได้ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังรวมทั้งกุ้ง การลอกคราบเป็นกระบวนการที่กุ้งมีการเปลี่ยนแปลงของร่างกายเป็นวงจรอย่างต่อเนื่องตลอดอายุขัยเพื่อก่อให้เกิดการเจริญเติบโต แม้ว่าการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการลอกคราบได้เกิดขึ้นมายาวนานกว่า 70 ปี ซึ่งส่วนใหญ่ศึกษาในปูชนิดต่างๆ ความรู้ดังกล่าวก็ยังไม่กระจ่างชัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำที่เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ยังไม่ได้รับความสนใจเท่าที่ควร ดังนั้นเพื่อทำให้ความรู้เกี่ยวกับกลไกการลอกคราบของกุ้งกุลาดำกระจ่างชัดขึ้น เราจึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง องค์ประกอบทางชีวเคมี และการแสดงออกของสารพันธุกรรมในเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆตลอดวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ สำหรับการทดลองครั้งนี้เรานำเสนอการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพ และเนื้อเยื่อวิทยาของเปลือกของกุ้งกุลาดำตลอดวงจรการลอกคราบ

วิธีการ นำกุ้งกุลาดำที่มีน้ำหนัก 10-20 กรัม จากบ่อเลี้ยงธรรมชาติมาเลี้ยงในบ่อเพาะพักในห้องปฏิบัติการ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยให้อาหารเม็ดวันละ 3 ครั้ง การตรวจสอบระยะการลอกคราบของกุ้งแต่ละตัวกระทำทุกวันอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และเนื้อเยื่อวิทยาในแต่ละระยะการลอกคราบได้รับการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ผล และวิจารณ์การทดลอง ระยะการลอกคราบที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วยระยะก่อน หลัง และระหว่างการลอกคราบ ลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงตลอดวงจรการลอกคราบและใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ระยะของการลอกคราบ ได้แก่ ความมากน้อยของการแยกออกจากเปลือกของเนื้อเยื่อผิวหนัง ลักษณะของเนื้อเยื่อผิวหนัง และความก้าวหน้าของการเกิดของตุ่มขน การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาศึกษาจากตำแหน่งและลักษณะการสะสมของคาร์โบไฮเดรต และเส้นใยคอลลาเจนในเปลือก ซึ่งทำให้เห็นว่าเปลือกประกอบด้วยชั้นย่อย ๆ 4 ชั้น เรียงจากด้านนอกมาด้านใน ได้แก่ epicuticle, exocuticle, endocuticle และ membranous layer แต่ละชั้นมีเอกลักษณะของตนเอง ซึ่งเปลือกทั้ง 4 ชั้นนี้จะพบได้สมบูรณ์เมื่อกุ้งอยู่ในระยะระหว่างการลอกคราบเท่านั้น และทั้ง 4 ชั้นนี้จะผลัดเปลี่ยนกันหลุดลอกและเกิดขึ้นใหม่ตลอดวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ การศึกษานี้ทำให้ทราบว่ากระบวนการทางกายภาพและชีวภาพของการหลุดลอกและเกิดใหม่ของเปลือกเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา และมีความเฉพาะสำหรับแต่ละระยะของวงจรการลอกคราบ กระบวนการนี้รวมถึงการสร้างและการปรับแต่งโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นผลการทดลองนี้อาจเป็นประโยชน์ต่อการคำนวณปรับการให้สารอาหารที่เหมาะสมต่อความต้องการของกุ้งกุลาดำในแต่ละระยะของการลอกคราบเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ ผลการศึกษานี้ยังนำไปใช้เป็นดัชนีมาตรฐานบ่งชี้ระยะการลอกคราบในการทดลองต่อ ๆ ไป เพื่อการศึกษากลไกของกระบวนการลอกคราบ เราหวังว่าผลการศึกษาที่จะเกิดขึ้นจะเป็นประโยชน์ต่อการส่งเสริมและควบคุมการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ

Physical and histological changes of the cuticle through molting cycle of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*).

Waraporn Promwikorn[1], Pornpimol Kirirat[1], Piyakorn Boonyoung[1], Pranom Intasaro[1], Pinij Thaweethamsewee[1], and Boonsirm Withyachumnarnkul[2].

[1] Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat-Yai, Songkhla, Thailand, 90112.

[2] Department of Anatomy and Center of excellence for shrimp molecular biology and biotechnology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, 10400.

Background Molting, a phenomenon of shredding the old cuticle and re-generating the new one, is found in shrimps and many other species of invertebrates. Through shrimp life, molting cycles are repeated several times in order to increase body size and mass (growth). Although it has long been studied over seventy years, the regulatory mechanism of the molting cycle is not yet fully understood. Especially, the molting cycle of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), which is well-known as an important agricultural export product of Thailand, is far from attention. In order to clearly understand regulatory mechanism of molting cycle in the black tiger shrimp, we have been investigating changes of structure, biochemical components, and gene expression in various organs and tissues related to molting stages of the black tiger shrimps. In this study we present physical and histological changes of the cuticle of the black tiger shrimp through molting cycle.

Materials & Methods Healthy black tiger shrimps (*Penaeus monodon*), 10-20 g body-weight, were transferred from natural farms to culture in aquariums at Dept. Anatomy, PSU., where they were fed three times a day with commercial food. Each shrimp were examined for molting stages at least twice a day. Changes of the cuticle through molting cycle were physically, and histologically investigated under a light microscope.

Results & Discussion Molting stages, which have been investigated in this experiment, are consisted of premolt, postmolt, and intermolt stages. Physical changes of the cuticular tissue through molting cycle were observed under a light microscope followed the degree of retraction of the epidermal tissue from the cuticle, the characteristics of the epidermis, and the progression of setal cone formation. It was next revealed by histological study that carbohydrate and collagen fibers deposition in the mature cuticle is unique in each sub-layer of the cuticle. Hence the cuticle is histologically divided into four layers from exterior to interior: a thin epicuticle, a lamellae-like pattern exocuticle, a fine endocuticle, and a membranous layer. These four layers aredifferent in carbohydrate deposition, and completely observed only when the shrimps are in the intermolt stage, and they take turn to de- and re-generate through pre- and postmolt stages. This finding suggests that physical and biological processes of de- and re-generation of the cuticle have actively occurred at all time. These processes include protein and carbohydrate syntheses and modification. The result may be useful for management of nutrient feeding at particular molting stage to shrimp culture to acquire maximal shrimp growth for each round of molting cycle. The results also serve as standard criteria in follow-up experiments to further investigate the regulatory mechanism of the molting cycle. We expect that the forthcoming results will be beneficial to promote and regulate growth of the black tiger shrimp.

การชี้แสดงตำแหน่งของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในเปลือกกุ้งกุลาดำสัมพันธ์กับวงจรการลอกคราบ

วราภรณ์ พรหมวิกร[1] พรพิมล คีรีรัตน์[1] ปิยากร บุญยัง[1] และ บุญเสริม วิทยชำนาญกุล [2]

[1]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

[2]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ และ หน่วยวิจัยเพื่อความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพกุ้ง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ 10400

บทนำ การลอกคราบคือปรากฏการณ์ที่กุ้งสลัดเอาเปลือกเก่าที่ห่อหุ้มตัวออกและสร้างเปลือกใหม่ขึ้นมาแทนที่ซึ่งพบได้ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังรวมทั้งกุ้งเพื่อให้เกิดการเจริญเติบโต แม้ว่าการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการลอกคราบได้เกิดขึ้นมายาวนานกว่า 70 ปี ซึ่งส่วนใหญ่ศึกษาในปูชนิดต่างๆ ความรู้ดังกล่าวก็ยังไม่กระจ่างชัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำที่เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ยังไม่ได้รับความสนใจเท่าที่ควร ดังนั้นเพื่อทำให้ความรู้เกี่ยวกับกลไกการลอกคราบของกุ้งกุลาดำกระจ่างชัดขึ้น เราจึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง องค์ประกอบทางชีวเคมี และการแสดงออกของสารพันธุกรรมในเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆตลอดวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ

วัตถุประสงค์ สำหรับการทดลองครั้งนี้เพื่อชี้แสดงตำแหน่งทางเนื้อเยื่อวิทยาของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในเปลือกกุ้งกุลาดำสัมพันธ์กับวงจรการลอกคราบ

วิธีการ เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีน้ำหนัก 10-20 กรัม ในห้องปฏิบัติการ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ การตรวจสอบระยะการลอกคราบของกุ้งแต่ละตัวกระทำทุกวัน และทำการศึกษาสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในเปลือกกุ้งกุลาดำในระยะก่อน หลัง และระหว่างการลอกคราบด้วยวิธีทางเนื้อเยื่อวิทยา

ผล และวิจารณ์การทดลอง จากการศึกษาตำแหน่งและลักษณะการสะสมของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน เส้นใยคอลลาเจน และ แคลเซียมในเปลือก พบว่าเปลือกประกอบด้วยชั้นย่อย ๆ 4 ชั้น เรียงจากด้านนอกมาด้านใน ได้แก่ epicuticle, exocuticle, endocuticle และ membranous layer แต่ละชั้นมีเอกลักษณะของตนเอง ซึ่งเปลือกทั้ง 4 ชั้นนี้ จะพบได้สมบูรณ์เมื่อกุ้งอยู่ในระยะระหว่างการลอกคราบเท่านั้น และทั้ง 4 ชั้นนี้จะผลัดเปลี่ยนกันหลุดลอกและเกิดขึ้นใหม่ตลอดวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ การศึกษานี้ทำให้ทราบว่ากระบวนการทางกายภาพและชีวภาพของการหลุดลอกและเกิดใหม่ของเปลือกเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา และมีความเฉพาะสำหรับแต่ละระยะของวงจรการลอกคราบ ดังนั้นผลการทดลองนี้อาจเป็นประโยชน์ต่อการคำนวณปรับการให้สารอาหารที่เหมาะสมต่อความต้องการของกุ้งกุลาดำในแต่ละระยะของการลอกคราบเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ

คำสำคัญ เปลือกกุ้ง กุ้งกุลาดำ วงจรการลอกคราบ

Histological localisation of organic and in-organic components in the cuticle of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) related to molting cycle.

***Waraporn Promwikorn*[1], *Pornpimol Kirirat*[1], *Piyakorn Boonyoung*[1], *and Boonsirm Withyachumnarnkul*[2].**

[1] *Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat-Yai, Songkhla, Thailand, 90112.* [2] *Department of Anatomy and Center of excellence for shrimp molecular biology and biotechnology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, 10400.*

Background Molting, a phenomenon of shredding the old cuticle and re-generating the new one, is found in shrimps and many other species of invertebrates in order to increase body size and mass (growth). Although it has long been studied over seventy years, the regulatory mechanism of the molting cycle is not yet fully understood. Especially, the molting cycle of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), which is well-known as an important agricultural export product of Thailand, is far from attention. We therefore have been investigating regulatory mechanism of molting cycle in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*).

Objective In this study we present histological localization of collagen fibers, lipid, carbohydrate, and calcium in the cuticle of the black tiger shrimp related to molting cycle.

Materials & Methods Healthy black tiger shrimps (*Penaeus monodon*), 10-20 g body-weight, cultured in aquariums at Dept. Anatomy, PSU. Each shrimp were physically examined molting stages daily. Changes of organic and in-organic components in the cuticle of each molting stage were histologically investigated.

Results & Discussion The cuticles of black tiger shrimps in premolt, postmolt, and intermolt stages were histological localized for carbohydrate, lipid, collagen fibers and calcium deposition. It is found that the mature cuticle is histologically divided into four layers from exterior to interior: a thin epicuticle, a lamellae-like pattern exocuticle, a fine endocuticle, and a membranous layer. These four layers are different in organic and in-organic composition, and completely observed only when the shrimps are in the intermolt stage, and they take turn to de- and re-generate through pre- and postmolt stages. This finding suggests that biological processes of de- and re-generation of the cuticle have actively occurred at all time. The result may be useful for management of nutrient feeding to each stage of the molting cycle for shrimp culture to acquire maximal shrimp growth in each molting cycle.

Key words cuticle, black tiger shrimp, molting cycle

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการแสดงออกของโปรตีนในเนื้อเยื่อผิวหนังตลอดวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ

วราภรณ์ พรหมวิกร[1] สุวรรณี ขุนทองปาน[1] พรพิมล คีรีรัตน์[1] ประนอม อินทสะโร[1] พินิจ ทวีธรรมเสวี และ บุญเสริม วิทยชำนาญกุล [2]

[1]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

[2]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ และ หน่วยวิจัยเพื่อความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพกุ้ง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ 10400

บทนำ การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำหลังระยะตัวอ่อนขึ้นอยู่กับการลอกคราบ และเนื้อเยื่อผิวหนังเป็นโครงสร้างที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับกระบวนการการลอกคราบนี้ แม้ว่าการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการลอกคราบได้เกิดขึ้นมายาวนานกว่า 70 ปี ซึ่งส่วนใหญ่ศึกษาในปูชนิดต่างๆ ความรู้ดังกล่าวก็ยังไม่กระจ่างชัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำที่เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ยังไม่ได้รับความสนใจเท่าที่ควร ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งที่จะทำให้ความรู้เกี่ยวกับกลไกการลอกคราบของกุ้งกุลาดำกระจ่างชัดมากขึ้น

วัตถุประสงค์ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการแสดงออกของโปรตีนในเนื้อเยื่อผิวหนังของกุ้งกุลาดำในแต่ละระยะก่อน และ หลังการลอกคราบ และ ระยะระหว่างวงจรการลอกคราบ

วิธีการ เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีน้ำหนัก 10-20 กรัม ในห้องปฏิบัติการ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ การตรวจสอบระยะการลอกคราบของกุ้งแต่ละตัวกระทำทุกวัน การศึกษาโครงสร้างของเนื้อเยื่อผิวหนัง และการสะสมของของไกลโคโปรตีนในเนื้อเยื่อของชั้นใต้ผิวหนังทำโดยวิธีทางเนื้อเยื่อวิทยาด้วยการย้อมด้วย trichrome และ PAS และการศึกษาการแสดงออกของโปรตีนทำโดยวิธีการแยกโปรตีนบนแผ่นวุ้นสองมิติและย้อมด้วยเกลือเงิน

ผล และวิจารณ์การทดลอง จากการศึกษาด้านโครงสร้างพบว่าเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังมีการเพิ่มความสูงมากขึ้นในระยะกลางของช่วงก่อนการลอกคราบไปจนถึงระยะต้นของช่วงหลังการลอกคราบ จากการศึกษาการสะสมของไกลโคโปรตีนในเนื้อเยื่อของชั้นใต้ผิวหนังพบว่ามีการการสะสมของไกลโคโปรตีนเพิ่มมากขึ้นในระยะดังกล่าวข้างต้นด้วย และจากการศึกษาการแสดงออกของโปรตีนในเนื้อเยื่อผิวหนังพบว่าการแสดงออกของโปรตีนหลายชนิด มีการเพิ่ม หรือลด อย่างเห็นได้ชัด การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าโครงสร้างและการแสดงออกของโปรตีนในเนื้อเยื่อผิวหนังของกุ้งกุลาดำมีการเปลี่ยนแปลงตลอดวงจรการลอกคราบ ซึ่งดูเหมือนว่าการเปลี่ยนแปลงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในระยะก่อน และหลังการลอกคราบ และลดลงในระยะระหว่างวงจรการลอกคราบ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า เนื้อเยื่อผิวหนังมีบทบาทสำคัญต่อการสลัดเอาเปลือกเก่าออกและการสร้างเปลือกใหม่ขึ้นมาแทนที่

Changes in epidermal structure and protein expression during molting cycle of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*).

***Waraporn Promwikorn*[1*], *Suwannee Khunthongpan*[1], *Pornpimol Kirirat*[1], *Pranom Intasaro*[1], *Pinij Thaweethamsewee*[1] *and Boonsirm Withyachumnarnkul*[2].**

[1] *Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat-Yai, Songkhla, Thailand, 90112.* [2] *Department of Anatomy and Center of excellence for shrimp molecular biology and biotechnology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand, 10400.*

Background In shrimp, the cycle of post-embryonic growth and development is characterized by a unique molting process. Epidermis plays an important role in the molting process. Although it has long been studied over seventy years, the regulatory mechanism of the molting cycle is not yet fully understood. Especially, the molting cycle of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), which is well-known as an important agricultural export product of Thailand, is far from attention. We therefore have been investigating regulatory mechanism of the molting cycle in the black tiger shrimp.

The objectives To investigate changes in epidermal structure and protein expression during molting cycle of the black tiger shrimp by histochemistry and two dimension gel electrophoresis.

Materials and methods Healthy black tiger shrimps (*Penaeus monodon*), 10-20 g body-weight, were transferred from natural farms to culture in aquariums at Dept. Anatomy, PSU., where they were fed three times a day with commercial food. Each shrimp were examined for molting stages at least once a day. Epidermal and sub-epidermis morphology of each molting stage were histologically investigated by staining with Masson's trichromes, and periodic acid Schiff's reagents, respectively. Epidermal protein expression was analysed by two dimension gel electrophoresis and silver stained.

Result and discussion It was found that the height of epidermis increases during the period of mid-premolt throughout early-postmolt stages. Glycoprotein deposition in sub-epidermis region is also increased corresponding to the above period. After protein expression were investigated, it was found that the protein expression of each molting stage shown in 2D gels were different. Many proteins are up- or down-regulated through the process of the molting cycle. The results obviously indicate that the epidermal, sub-epidermal structure and protein expression of the black tiger shrimp dynamically changed related to the molting cycle. It seemed that the activities of the epidermis and sub-epidermis are active during premolt and postmolt stages, but dormant during intermolt stage. These evidences strongly indicate the important roles of epidermal tissues on shredding off the old cuticle and rebuilding the new one.

การประยุกต์เทคนิคโปรตีโอมิกซ์กับงานวิจัยทางกายวิภาคศาสตร์

วราภรณ์ พรหมวิกร[1] และ *วิภาวี อนุพันธ์พิศิษฐ์*[2]

1 ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90112

2 ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ถ.สุขุมวิท23 กรุงเทพฯ 10110

บทนำ โปรตีโอมิกซ์ เป็นศาสตร์ที่ศึกษาถึงกลไกการแสดงออกของสารพันธุกรรม (gene expression) โดยการศึกษาจะเน้นไปที่การศึกษาการแสดงออกของโปรตีนภายในเซลล์ (protein expression) การศึกษาโปรตีนมีความสำคัญเนื่องจาก โปรตีนทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของเซลล์ และโปรตีนไม่ได้ถูกควบคุมด้วยยีนเสมอไป เพราะโปรตีนสามารถถูกควบคุมการแสดงออกในระดับหลังจากการแปลรหัสพันธุกรรมในกระบวนการสร้างโปรตีนได้ ซึ่งอาจเป็นได้ในขณะปรับแต่งโปรตีนในกระบวนการสร้างโปรตีน หรือ อาจถูกควบคุมโดยปฏิกิริยาจากโปรตีนชนิดอื่นที่ไปมีความสัมพันธ์ด้วย โปรตีโอมิกซ์ จะเน้นไปยังการศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของการแสดงออกของโปรตีนภายในเซลล์ที่อยู่ในต่างสถานการณ์ (states/conditions/treatments) เทคนิคการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางในงานวิจัยหลายแขนง เช่น การแพทย์ การเกษตร และ เทคโนโลยีชีวภาพ เป็นต้น

วัตถุประสงค์ เพื่อแสดงการประยุกต์เทคนิคการวิจัยด้านโปรตีโอมิกซ์กับงานวิจัยทางกายวิภาคศาสตร์

วิธีการ เทคนิคที่ใช้ศึกษาโปรตีโอมิกซ์ ประกอบด้วย การเตรียมตัวอย่าง การแยกโปรตีนบนแผ่นวุ้นแบบสองมิติ การวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของโปรตีน และ การใช้ฐานข้อมูลชีวสารสนเทศน์

ผล และวิจารณ์การทดลอง การนำภาพโปรตีนที่แยกได้บนแผ่นวุ้นสองมิติมาเปรียบเทียบกันจะทำให้ทราบว่ามีโปรตีนใดบ้างที่มีการเปลี่ยนแปลงในสถานการณ์ที่เราสนใจ ซึ่งนำไปสู่การประยุกต์ใช้มากมาย โดยความรู้และเทคนิคนี้ได้นำมาใช้พัฒนางานวิจัย และ ก่อให้เกิดความเข้มแข็งของการเรียนการสอนระดับปริญญาโท และปริญญาเอก นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดการเชื่อมโยงของกลุ่มนักวิจัยของประเทศไทยทั้งระหว่างคณะ และระหว่างมหาวิทยาลัย ทั้งภายใน และต่างประเทศ โดยงานวิจัยด้านโปรตีโอมิกซ์ที่กำลังดำเนินการอยู่และจะดำเนินการในอนาคตอันใกล้นี้ ได้แก่ การศึกษากลไกการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ การค้นหาโปรตีนมาร์กเกอร์ของการเกิดมะเร็งของศีรษะและคอในระยะแรกเริ่ม การศึกษาผลของรังสีรักษาต่อรูปแบบการแสดงออกของโปรตีนในมะเร็งของศีรษะและคอ และ การค้นหาความผิดปกติของโปรตีนที่เกิดขึ้นในโรคสมองเสื่อม ซึ่งคาดว่าผลการวิจัยที่ได้จะนำไปสู่ประโยชน์อย่างกว้างขวางทั้งในด้านการเกษตรและการแพทย์

คำสำคัญ โปรตีโอมิกซ์ แผ่นวุ้นแบบสองมิติ การแสดงออกของโปรตีน ชีวสารสนเทศน์

Application of Proteomics Technology in Anatomical Research.

***Waraporn Promwikorn*[1] *and Vipavee Anupunpisit*[2]**

1 Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat-Yai, Songkhla 90112.

2 Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Sukhumvit 23, Bangkok 10110.

Background Proteomics is a novel-potential research tool used to study changes in protein expression. It is well-known that a protein is the functional unit of a gene. However, not every proteins are encoded by genomes. Many proteins are regulated at post-translation levels, for example, protein modifications and protein-protein interaction. After genomes of many species are successfully sequenced, the roles of those genes to the cells are now in questions. Proteomics is probably the answer of that. Proteomics study is focused on comparison of protein expression in cells or tissues at different stages/conditions/ treatments in order to know which particular proteins are changing in those different conditions. Proteomics is now widely applied in many research area, for example, medical research, agricultural research, and biotechnological research.

Objective To demonstrate the applications of proteomics technology in anatomical research.

Materials & Methods Methodology used in proteomics study includes sample preparation, two dimension-gel electrophoresis, 2D gel image analysis, and protein informatics.

Results & Discussion The comparison of protein expression on 2D-gel map will be able to point out proteins changed in different conditions. This will lead to further applications. The on-going and forth-coming research works in our laboratory include the study of regulatory mechanism of the molting cycle of the black tiger shrimp, investigation of protein marker for detection of early developed head and neck cancer, the effect of radiotherapy on protein profile of head and neck cancer, and changes in protein expression of the brain in dementia animals. Some of these projects are collaboration with another research groups in Thailand and abroad. It is apparently that the forth-coming results will be beneficial to a variety of researches including agricultural and medical researches.

Key words proteomics, two dimension-gel electrophoresis, protein expression, bioinformatics

CHANGES IN EPIDERMAL PROTEIN EXPRESSION DURING MOLTING CYCLE OF THE BLACK TIGER SHRIMP REVEALED BY TWO DIMENSION GEL ELECTROPHORESIS.

Waraporn Promwikorn[1*], Suwannee Khunthongpan[1], Chaiwutt Bauneaw[1], Pornpimol Kiririrat[1], Pranom Intasaro[1], Pinij Thaweethamsewee[1] and Boonsirm Withyachumnarnkul [2].

[1] Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat-Yai, Songkhla, Thailand, 90112.

[2] Department of Anatomy and Center of excellence for shrimp molecular biology and biotechnology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand, 10400.

Abstract

In shrimp, the cycle of post-embryonic growth and development is characterized by a unique molting process. Epidermis plays important role in molting process, which is stimulated by an increase in ecdysteroid hormone secreted from a pair of cephalothoracic Y-organs. Although it has long been studied over seventy years, the regulatory mechanism of the molting cycle is not yet fully understood. Especially, the molting cycle of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), which is well-known as an important agricultural export product of Thailand, is far from attention. We therefore have been investigating regulatory mechanism of the molting cycle in the black tiger shrimp. In this study we showed changes in epidermal protein expression during molting cycle of the black tiger shrimp by one and two dimension gel electrophoresis. It was initially found that epidermal and sub-epidermal morphology was changing through the molting cycle. We further investigate protein expression in premolt, postmolt and intermolting stages by one and two dimension gel electrophoresis (1D and 2D SDS-PAGE). It was found that the patterns of protein expression of each molting stage shown by 1D and 2D gels were different. Many proteins are up- or down-regulated through the process of molting cycle. This result indicates that these protein play important roles in the regulatory mechanism of the molting cycle. The protein identification of these protein spots will be next characterised.

Changes in epidermal structure and protein expression during molting cycle of the black tiger shrimp.

Waraporn Promwikorn[1*], Pornpimol Kirirat[1], Pranom Intasaro[1], Pinij Thaweethamsewee[1] and Boonsirm Withyachumnarnkul [2].

[1] *Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat-Yai, Songkhla, Thailand, 90112.*
[2] *Department of Anatomy and Center of excellence for shrimp molecular biology and biotechnology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand, 10400.*

Abstract— In shrimp, the cycle of post-embryonic growth and development is characterized by a unique molting process. Epidermis plays important role in molting process, which is stimulated by an increase in ecdysteroid hormone secreted from a pair of cephalothoracic Y-organs. Although it has long been studied over seventy years, the regulatory mechanism of the molting cycle is not yet fully understood. Especially, the molting cycle of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), which is well-known as an important agricultural export product of Thailand, is far from attention. We therefore have been investigating regulatory mechanism of the molting cycle in the black tiger shrimp. In this study we showed changes in epidermal protein expression during molting cycle of the black tiger shrimp by one and two dimension gel electrophoresis. It was initially found that epidermal and sub-epidermal morphology was changing through the molting cycle. We further investigate protein expression in premolt, postmolt and intermolting stages by one and two dimension gel electrophoresis (1D and 2D SDS-PAGE). It was found that the patterns of protein expression of each molting stage shown by 1D and 2D gels were different. Many proteins are up- or down-regulated through the process of molting cycle. This result indicates that these protein play important roles in the regulatory mechanism of the molting cycle. The protein identification of these protein spots will be next characterised.

Keywords—molting cycle, black tiger shrimp, epidermal tissue, 2D SDS-PAGE

Output

1. **Promwikorn, W.,** Kirirat, P. and Thaweethamsewee, P. (2004) Index of molt staging in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Songklanakarin Journal of Science and Technology, in press.*
2. **Promwikorn, W.,** Kirirat, P., Boonyoung, P., Intasaro, P., Thaweethamsewee, P. and Withyachumnarnkul, B. (2004). Changes of epidermal morphology of the black tiger shrimp related to molting stages, *manucript in preparation.*

* corresponding author: Tel.: +66 74 288135, Fax: +66 74 446663 , e-mail: waraporn.p@psu.ac.th