ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การหาลำดับเบสของโค้คดิ้งซีเควนซ์และการวิเคราะห์การ แสคงออกของยืนไบไกลแคนในช้างเอเชีย (Elephas maximus)

ผู้เขียน

นางวราลักษณ์ เสาร์แก้ว

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.คร.สิริวคี ชมเคช อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผศ.น.สพ.คร.ฉัตรโชติ ทิตาราม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

จากการศึกษาในคน หนูและกระต่าย พบว่ายืน biglycan เป็นยืนที่มีส่วนสำคัญต่อการรักษา บาดแผลรวมทั้งการสร้างกระดูกและเส้นใยคอลลาเจน ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงได้ทำการค้นหาลำคับ เบสของยืน biglycan บริเวณ coding sequence และลำคับกรดอะมิโนของโปรตีน biglycan รวมทั้ง ศึกษาระดับการแสดงออกของยืนนี้ในเนื้อเยื่อต่างๆและเนื้อเยื่อที่มีบาดแผลของช้างเอเชียเพื่อใช้เป็น ข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาหน้าที่ของยืนและการรักษาโรคในช้างเอเชีย โดยได้ทำการโคลน coding sequence ของยืน biglycan จาก cDNA ของช้างเอเชียจำนวน 3 เจือก ผลการศึกษาพบว่า coding sequence ของยืน biglycan ในช้างเอเชียมีขนาด 1,110 bp (accession number: JQ753329) กำหนดการสร้างโปรตีนขนาด 369 กรดอะมิโน เมื่อนำไป BLAST กับฐานข้อมูล GenBank พบว่า coding sequence และลำดับกรดอะมิโนในช้างเอเชียมีความเหมือนกับช้างแอฟริกา 99% และ 98% ตามลำดับสำหรับผลการวิเคราะห์ phylogenetic tree ของลำดับกรดอะมิโนพบว่าโปรตีน biglycan ของช้างเอเชียมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับช้างแอฟริกามากก่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมชนิดอื่นส่วน ระยะห่างทางพันธุกรรมของลำดับกรดอะมิโนของช้างเอเชียมีความใกล้ชิดกับช้างแอฟริกามากที่สุด คือ 0.014 รองลงมาคือ หนู (rat) หนู (mice) และกระต่าย เป็น 0.036, 0.042 และ 0.045 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบตำแหน่งที่มีความแปรผันของยืน biglycan ในลำคับเขสที่ 303 (T->C) ซึ่งเป็นชนิด

silent mutation และผลการศึกษาระดับการแสดงออกของขึ้น biglycan ในเนื้อเชื่อ จำนวน 15 ชนิด ได้แก่ ผิวหนัง ตับอ่อน หัวใจ กระดูกอ่อน ลำไส้ใหญ่ ไต ปอด กล้ามเนื้อ ม้าม ตับ ซีกัม ต่อม น้ำเหลือง ลำไส้เล็ก รก และ ต่อมไทมัส ของช้างจำนวน 6 เชือก พบการแสดงออกของขึ้นในทุก เนื้อเชื่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อเชื่อกระดูกอ่อนที่มีระดับการแสดงออกสูงที่สุดลำดับถัดมาคือ เนื้อเชื่อม้าม นอกจากนี้ในเนื้อเชื่อผิวหนังที่มีบาดแผลพบระดับการแสดงออกของขืน biglycan ที่ มากกว่าผิวหนังปกติ

คำสำคัญ: ยืนใบไกลแคน ช้างเอเชีย การแสดงออกของยืนใบไกลแคน



Thesis Title Sequencing of Coding Sequence and Expression Analysis of

Biglycan Gene in Asian Elephant (Elephas maximus)

Author Mrs. Waralak Saokaew

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisory Committee Asst. Prof. Dr. Siriwadee Chomdej Advisor

Asst. Prof. Dr. Chatchote Thitaram Co-advisor

Abstract

It was found, in studies conducted among human, rats and rabbits, that biglycan gene has important roles in wound healing as well as in bone and collagen formation. Therefore, this study aims to investigate the coding sequence and deduced amino acid sequence of biglycan gene. Also, study in expression level of biglycan gene in different tissues and wound tissue. These provide the fundamental data for studying of its function as well as for further research concerning treatment of disorders in Asian elephant. The coding sequence of biglycan cDNA was cloned from 3 Asian elephants. The results showed that the coding sequence of biglycan gene in Asian elephant was 1,110 bp (accession number: JQ753329), encoding 369 amino acids. Then, BLAST with GenBank database, the coding sequence and amino acid sequence of Asian elephants had 99% and 98% of similarity to those of the African elephants, respectively. Furthermore, the phylogenetic tree analysis of amino acid sequence showed that Asian elephant biglycan protein has close genetic relationship with African elephant biglycan protein than other mammals. Genetic distance analysis of amino acid sequence between Asian elephants and African elephants revealed the smallest distance that is 0.014 while rat, mice and rabbit are 0.036, 0.042 and 0.045, respectively. Moreover, polymorphic site at position 303 (T->C) was silent mutation. The relative expression of biglycan among 15 tissues (skin, pancreas, heart, cartilage, large intestine, kidney, lung, muscle, spleen, liver, cecum, lymph node, small intestine, placenta and thymus) in 6 Asian elephants indicated that biglycan gene was expressed in all of tissues especially in cartilage which found the greatest expression following by spleen. Finally, the relative expression of biglycan in wound skin was expressed higher than normal skin.

Keywords: biglycan gene, Asian elephant, biglycan gene expression

