

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การโคลนและการแสดงออกของยีน *D7-related 1* และ *D7-related 2* ของยุงก้นปล่องชนิด *Anopheles cracens*

ผู้เขียน

นางสาวมนต์สุดา สุวรรณมาลี

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ปรสตีวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร. นริศรา จริยะพันธุ์

ประธานกรรมการ

รศ. เวช ชูโชติ

กรรมการ

รศ.ดร. อัจฉริยา จิตต์ภักดี

กรรมการ

บทคัดย่อ

โปรตีน *D7-related* ถูกค้นพบในต่อมน้ำลายของกลุ่มยุงก้นปล่องและกลุ่มยุงคิวลิสิณี ยุงก้นปล่อง *Anopheles cracens* (ชื่อเดิม *An. dirus* สปีชีส์ B) เป็นพาหะสำคัญของมาลาเรียของคนในแถบภาคพื้นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อย่างไรก็ตามความรู้เกี่ยวกับโปรตีน *D7* ที่พบในยุง *An. cracens* ยังมีน้อย ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ค้นหาลำดับนิวคลีโอไทด์สายสมบูรณ์ของ *D7-related 1* และ *D7-related 2* จาก cDNA library ที่ได้จากต่อมน้ำลายยุงเพศเมียด้วยวิธี DIG hybridization ลำดับนิวคลีโอไทด์สายสมบูรณ์ของ *D7-related 1* ประกอบด้วย 613 คู่เบส ซึ่งมีบางส่วนถูกถอดรหัสเป็นกรดอะมิโนจำนวน 166 ตัว (498 คู่เบส) โดยกรดอะมิโนเหล่านี้ประกอบด้วยบริเวณที่เป็น signal peptide ที่อยู่ด้านปลาย 5' จำนวน 20 ตัว และบริเวณโปรตีนสมบูรณ์ 146 ตัว ซึ่งมีน้ำหนักมวลโมเลกุลที่ทำนายได้ 16.3 กิโลดาลตัน (ค่า pI เท่ากับ 9.02) ส่วนลำดับนิวคลีโอไทด์สายสมบูรณ์ของ *D7-related 2* ประกอบด้วย 589 คู่เบส ซึ่งสามารถถอดรหัสเป็นกรดอะมิโนจำนวน 169 ตัว (507 คู่เบส) โดยส่วนนี้ประกอบด้วยบริเวณ signal peptide จำนวน 20 ตัวและโปรตีนสมบูรณ์ 149 ตัว ซึ่งมีน้ำหนักมวลโมเลกุลที่ทำนายได้ 16.4 กิโลดาลตัน (ค่า pI เท่ากับ 4.9) โครงสร้างการจัดเรียงตัวของยีน *D7-related 1* และ *D7-related 2* ประกอบด้วย exon 3 ส่วนซึ่งถูกค้นด้วย intron 2 ส่วนและ

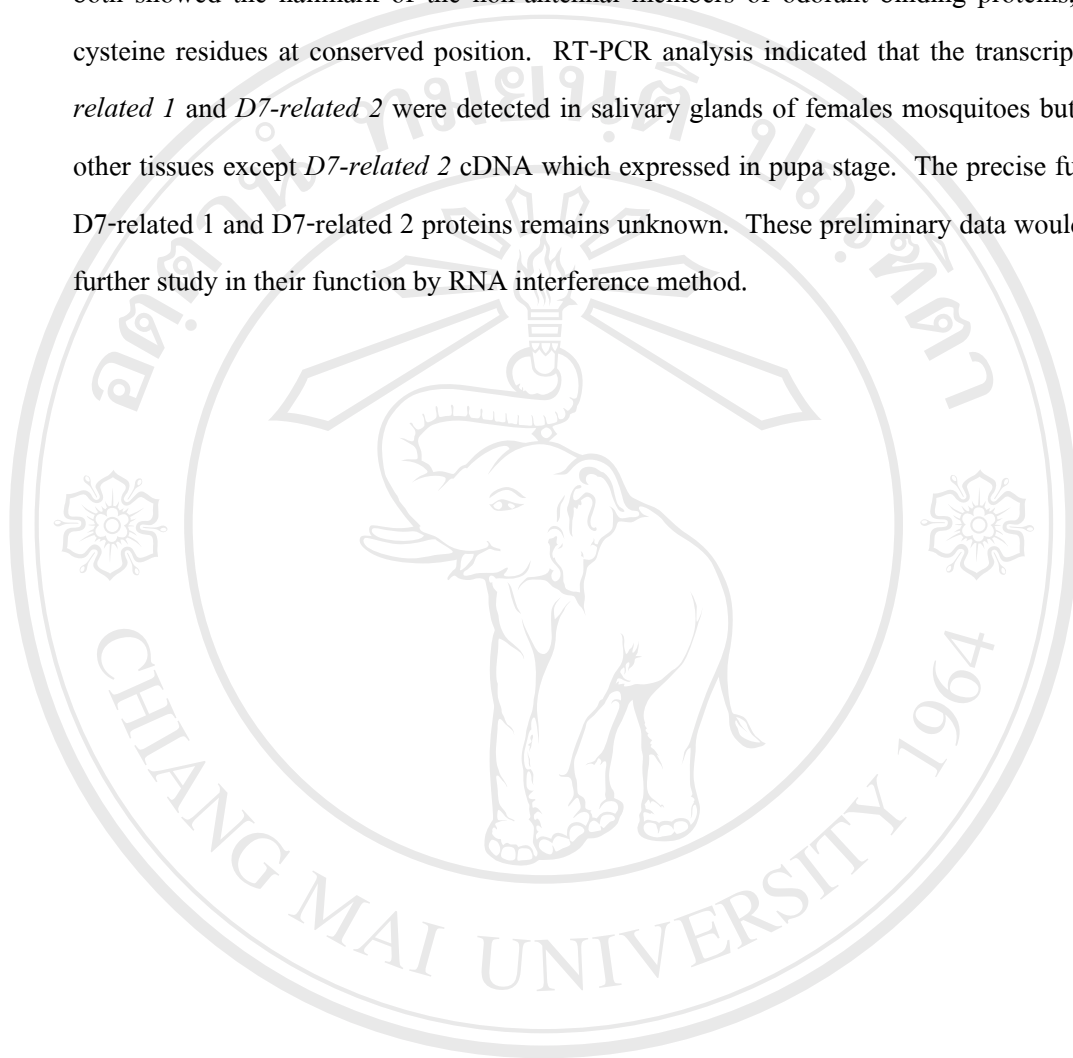
มีบริเวณปลาย 5' และปลาย 3' ซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มีการถอดรหัสอยู่ที่ส่วนหัวและท้ายของยีน การวิเคราะห์ด้วยแผนผัง Cladogram แสดงให้เห็นว่าโปรตีนทั้งสองนี้จัดอยู่ในแฟมิลี D7 นอกจากนี้โปรตีนทั้งสองยังแสดงลักษณะที่เห็นได้เด่นชัดของการเป็นโปรตีนจับกลืนที่ไม่อยู่ในหมวด โดยมีตำแหน่งกรดอะมิโน cysteine อยู่ 4 ตำแหน่ง การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธี RT-PCR พบว่า *D7-related 1* และ *D7-related 2* ถูกถอดรหัสที่ต่อมน้ำลายแต่ไม่พบในเนื้อเยื่อบริเวณอื่นๆ ยกเว้นลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *D7-related 2* ที่มีการแสดงออกที่ระยะดักแด้ หน้าที่ที่แท้จริงของโปรตีน *D7-related 1* และ *D7-related 2* ยังไม่ทราบ ข้อมูลเหล่านี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อนำไปสู่การศึกษาเกี่ยวกับหน้าที่ของโปรตีนดังกล่าวด้วยวิธี RNA interference ต่อไป

<b>Thesis Title</b>	Cloning and Expression of <i>D7-related 1</i> and <i>D7-related 2</i> Genes of <i>Anopheles cracens</i>	
<b>Author</b>	Miss Monsuda Suwanmalee	
<b>Degree</b>	Master of Science (Parasitology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Assist. Prof. Dr. Narissara Jariyapan	Chairperson
	Assoc. Prof. Wej Choochote	Member
	Assoc. Prof. Dr. Atchariya Jitpakdi	Member

### Abstract

D7-related proteins are found in salivary glands anophelines and culicines mosquitoes. *Anopheles cracens* (formerly *An. dirus* species B) is an important vector of human malaria in Southeast Asia. However, little is known about D7-related proteins of *An. cracens*. In this study, complete cDNAs encoding *D7-related 1* and *D7-related 2* were isolated by screening an adult female salivary gland cDNA library using DIG hybridization. The *D7-related 1* full-length cDNA consisted of 613 base pairs (bp). It exhibited an open reading frame (ORF) coding for 166 amino acids (498 bp), which consisted of a signal peptide of 20 amino acids at the 5'-end and mature protein of 146 amino acids with calculated molecular mass of 16.3 kilodaltons (pI 9.02). The *D7-related 2* full-length cDNA consisted of 589 bp, with ORF of 169 amino acids (507 bp), comprising a signal peptide of 20 amino acids and a mature protein of 149 amino acids with 16.4 kilodaton (pI 4.9). The structural organization gDNAs of *D7-related 1* and *D7-related 2* contained 3 exons that are separated by 2 introns, and flanked by 5'- and 3'-UTRs. Cladogram analysis indicated that D7-related 1 and D7-related 2 were members of D7 family. Furthermore,

both showed the hallmark of the non-antennal members of odorant binding proteins, the four cysteine residues at conserved position. RT-PCR analysis indicated that the transcripts of *D7-related 1* and *D7-related 2* were detected in salivary glands of females mosquitoes but not with other tissues except *D7-related 2* cDNA which expressed in pupa stage. The precise function of *D7-related 1* and *D7-related 2* proteins remains unknown. These preliminary data would lead for further study in their function by RNA interference method.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved