หัวข้อวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์โปรตีโอมและทรานสคริปโตมของต่อมน้ำลายยุง *Anopheles campestris*-like ที่มีศักยภาพเป็นพาหะนำเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium vivax*	
ผู้เขียน	นางสาวศรีวตาภรณ์ ส.สุวรรณ์	
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ปรสิตวิทยา)	
คณะกรรมการที่ปรึกษา	รศ. ดร.นริศรา จริยะพันธุ์	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	รศ. ดร.อุดม ชัยทอง	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	ผศ. ดร.อติพร แซ่อึ้ง	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

เชื้อมาลาเรียระยะสปอโรซอยต์ต้องเข้าสู่ต่อมน้ำลายของยุงที่เป็นพาหะก่อนที่จะติดต่อสู่โฮสต์ที่เป็นสัตว์มีกระดูกสันหลัง วงจรการสร้างสปอโรซอยต์ในยุงอยู่ในช่วง 10 ถึง 21 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและอุณหภูมิ โปรตีนจากต่อมน้ำลายของยุงจะถูกฉีดเข้าสู่โฮสต์พร้อมกับเชื้อมาลาเรียระยะสปอโรซอยต์ในขณะที่ยุงกำลังกินเลือด ยุงก้นปล่อง *Anopheles campestris*-like เป็นยุงที่มีศักยภาพสูงในการเป็นพาหะนำเชื้อมาลาเรียชนิด *Plasmodium vivax* ในประเทศไทย โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวัดและวิเคราะห์โปรตีนในต่อมน้ำลายของยุงชนิดนี้ และจำแนกชนิดและคำนวณปริมาณโปรตีนจากต่อมน้ำลายยุงที่มีการหลั่งออกมาหลังจากการกินเลือดด้วยวิธี sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), two-dimentional gel electrophoresis (2-DE) และ nano-liquid chromatography-mass spectrometry (Nano-LC/MS) ปริมาณทั้งหมดของโปรตีนของต่อมน้ำลายยุงเพศผู้และเพศเมียที่มี อายุ 3 ถึง 5 วัน เท่ากับ 0.1 ± 0.05 µg ต่อคู่ต่อม และ 1.38 ± 0.01 µg ต่อ คู่ต่อม ตามลำดับ การวิเคราะห์ด้วยวิธี SDS-PAGE แสดงให้เห็นถึงโปรตีนหลักอย่างน้อย 12 โปรตีนในต่อมน้ำลายยุงเพศเมีย โปรตีนหลักแสดงออกแตกต่างกันในแต่ละส่วนของต่อมน้ำลายยุงเพศเมีย นอกจากนี้ ยังพบว่ามีไกลโคโปรตีนในต่อมน้ำลายยุงเพศเมียอย่างน้อย 14 โปรตีน เป็นที่น่าสนใจว่า รูปแบบการแสดงออกของโปรตีนต่อมน้ำลายยุงเพศผู้มีความคล้ายคลึงกันกับเพศเมียในส่วนของต่อมน้ำลายคู่ข้างส่วนต้น ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า โปรตีนจากต่อมน้ำลายในส่วนนี้มีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการกินน้ำตาล ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี 2-DE แสดงให้เห็นว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การลดลงอย่างมีนัยสำคัญของจุดโปรตีนหลัก 19 จุดในยุงอายุ 3 ถึง 5 วันที่ได้กินเลือดครั้งแรก และจุดโปรตีนหลัก 14 จุดในยุงที่ได้กินเลือดครั้งที่สองหลังจากกินเลือดครั้งแรกไปแล้ว 14 วัน โปรตีนที่มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทั้งสองกลุ่มได้แก่ putative 5'-nucleotidase/apyrase, anti-platelet protein, long-form D7 salivary gland protein, D7-related 1 protein, short form D7r1 และ gSG6 นอกจากนี้ได้ทำการแยกโคลนของ cDNA ที่พบมากในห้องสมุด cDNA ของต่อมน้ำลายยุงเพศเมีย เมื่อได้วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม BLAST พบว่าโคลน cDNA 2 โคลนจาก 30 โคลนมีลำดับเบสคล้ายกับของ D7-related 1 *Anopheles stephensi* ร้อยละ 66 และ 74 ตามลำดับ ผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า โปรตีน D7-related 1 มีการแสดงออกอย่างมากในต่อมน้ำลายยุง *An. campestris*-like เพศเมีย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Proteomic and Transcriptomic Analyses of Salivary Glands of *Anophesles campestris*-like Mosquito, a Potential Vector of *Plasmodium vivax*	
Author	Ms. Sriwatapron Sor-suwan	
Degree	Doctor of Philosophy (Parasitology)	
Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Narissara Jariyapan	Advisor
	Assoc. Prof. Dr. Udom Chaithong	Co-advisor
	Asst. Prof. Dr. Atiporn Seaung	Co-advisor

ABSTRACT

Malaria sporozoites must invade the salivary glands of mosquito vectors before transmitting to vertebrate hosts. The sporogonic cycle span within the mosquitoes ranges from 10 to 21 days depending on the species of parasites and temperature. Salivary proteins of the mosquitoes are injected into the vertebrate host during blood feeding, together with malaria sporozoites. *Anopheles campestris*-like is a high-potential malaria vector of *Plasmodium vivax* in Thailand. In this study, its salivary gland proteins were determined and analyzed. Also, the salivary gland proteins depleted after blood feeding were identified and quantified by using sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), two-dimentional gel electrophoresis (2-DE) and nano-liquid chromatography-mass spectrometry (Naono-LC/MS). The total amount of salivary gland proteins in the three to five days old male and female mosquitoes were approximately 0.1 ± 0.05 µg/gland pair and 1.38 ± 0.01 µg/gland pair, respectively. SDS-PAGE analysis revealed at least 12 major proteins in the female salivary glands. The major proteins expressed in each morphological region of the female glands were different. In addition, at least 14 glycoproteins were detected in the salivary glands of the females. Interestingly, salivary gland protein profiles of the male mosquitoes were similar to the proximal-lateral lobes of female glands, suggesting that a role of these lobes involves sugar feeding. 2-DE analysis showed that 19 major protein

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

spots depleted significantly in the female salivary glands of three to five days old mosquitoes when fed on their first blood meal, and 14 major proteins decreased significantly in mosquitoes fed on their second blood meal at days 14 after the first blood meal. The significantly depleted proteins in both groups included putative 5'-nucleotidase/apyrase, anti-platelet protein, long-form D7 salivary gland protein, D7-related 1 protein, short form D7r1 and gSG6. Moreover, abundant cDNA clones were isolated from a female *An. campestris*-like salivary gland cDNA library constructed in this study. BLAST analysis revealed that two in 30 cDNA clones were matched significantly with D7-related 1 *Anopheles stephensi* at 66 % and 74 %, respectively. This result suggests that the D7-related 1 protein is expressed abundantly in the salivary glands of female *An. campestris*-like mosquitoes.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved