

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของฮอร์โมนจูวีไนล์และการแสดงออกของยีน <i>Broad-Complex</i> ต่อโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ (<i>Omphisa fuscidentalis</i> Hampson)
ผู้เขียน	นางสาวสุภากรินทร์ บุญคุณะ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)
คณะกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มนพร มานะบุญ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ศาสตราจารย์ ดร. ทิพวรรณ สิงห์ไตรภพ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

โปรแกรมการตายของเซลล์ (programmed cell death, PCD) เป็นเหตุการณ์ที่จำเป็นต่อการเจริญพัฒนาอย่างเป็นปกติในสัตว์รวมทั้งแมลง การกระตุ้นโปรแกรมการตายของเซลล์ในแมลงเกิดในระหว่างการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากตัวหนอนเป็นดักแด้โดยเป็นผลมาจากการกระตุ้นของฮอร์โมน 20-ไฮดรอกซีเอคไโดโซน (20-hydroxyecdysone, 20E) แล้วทำให้ยีนหลายๆ ตัวทำงาน ทำให้มีการย่อยสลายเซลล์และเนื้อเยื่อที่ไม่จำเป็นของตัวหนอนออกไป หนึ่งในยีนที่พบว่ามีความสำคัญต่อการควบคุมการตายคือ *Broad-Complex* gene (*BR-C*) ในหนอนเยื่อไผ่ (*Omphisa fuscidentalis* Hampson) การให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ (juvenile hormone analogue, JHA) ทำให้หนอนเปลี่ยนเป็นดักแด้ โดยทำให้ระดับฮอร์โมนเอคไโดโซนในฮีโมลิมฟ์สูงขึ้น งานวิจัยนี้จึงเกิดขึ้นเพื่อศึกษาศึกษาผลของฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ต่อการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์และศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์กับการแสดงออกของยีน *BR-C* ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอส ผลการศึกษาพบว่าต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนที่ได้รับฮอร์โมนจูวีไนล์ทุกความเข้มข้น (0.1 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร) เกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ได้ โดยทุกความเข้มข้นของฮอร์โมนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่สามารถแบ่งเป็นระดับคะแนนการตายได้ 6 ระดับ (PCD score = 0-5) อย่างไรก็ตามพบว่าค่าเฉลี่ยของระดับคะแนนการตายของต่อมที่ได้จากหนอนที่ได้รับฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ความเข้มข้นดังกล่าวที่ดักแด้ระยะสุดท้าย (G3) ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ

ฮอร์โมน และพบว่าฮอร์โมนจูวีนัลที่ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร สามารถชักนำให้
ต่อมเกิดการอัดแน่นของนิวเคลียสและเกิดการแตกหักของนิวเคลียสได้เร็วที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ
ฮอร์โมนที่ความเข้มข้นต่ำกว่า แต่ไม่พบการแตกหักของ DNA เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างยีน
BR-C และการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นโดย JHA จึงได้ทำการหาลำดับเบสของยีน
BR-C บางส่วน (partial sequences) จากเนื้อเยื่อผิวหนังของดักแด้ระยะ G2 พบว่า ยีนมีขนาด 636 คู่เบส
มีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับหนอนใบยาสูบ (*Manduca sexta*) และหนอนไหม (*Bombyx mori*) คิดเป็น
78% และ 76% ตามลำดับ เมื่อตรวจวัดการแสดงออกของยีน *BR-C* ในหนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอส
ระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ โดยวิธี semi-qualitative PCR พบว่ายีน *BR-C* มีการแสดงออก
ลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงเดือนกุมภาพันธ์ อีกทั้งยังได้เก็บตัวอย่างต่อมสร้างไหมส่วนต้นจากหนอนเยื่อไผ่
ที่ได้รับฮอร์โมนจูวีนัลความเข้มข้นต่างๆ มาตรวจวัดการแสดงออกของยีน ผลการทดลองพบว่ารูปแบบ
การแสดงออกของยีน *BR-C* มีความคล้ายคลึงกัน ถึงแม้ว่าผลการทดลองที่ได้ อาจยังไม่สามารถอธิบาย
ความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์กับการแสดงออกของยีน *BR-C* ได้อย่างชัดเจน
แต่งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าฮอร์โมนจูวีนัลสังเคราะห์มีประสิทธิภาพในการชักนำให้ต่อมสร้างไหมส่วนต้น
เกิดโปรแกรมการตายของเซลล์และมีผลต่อการแสดงออกของยีน *BR-C*

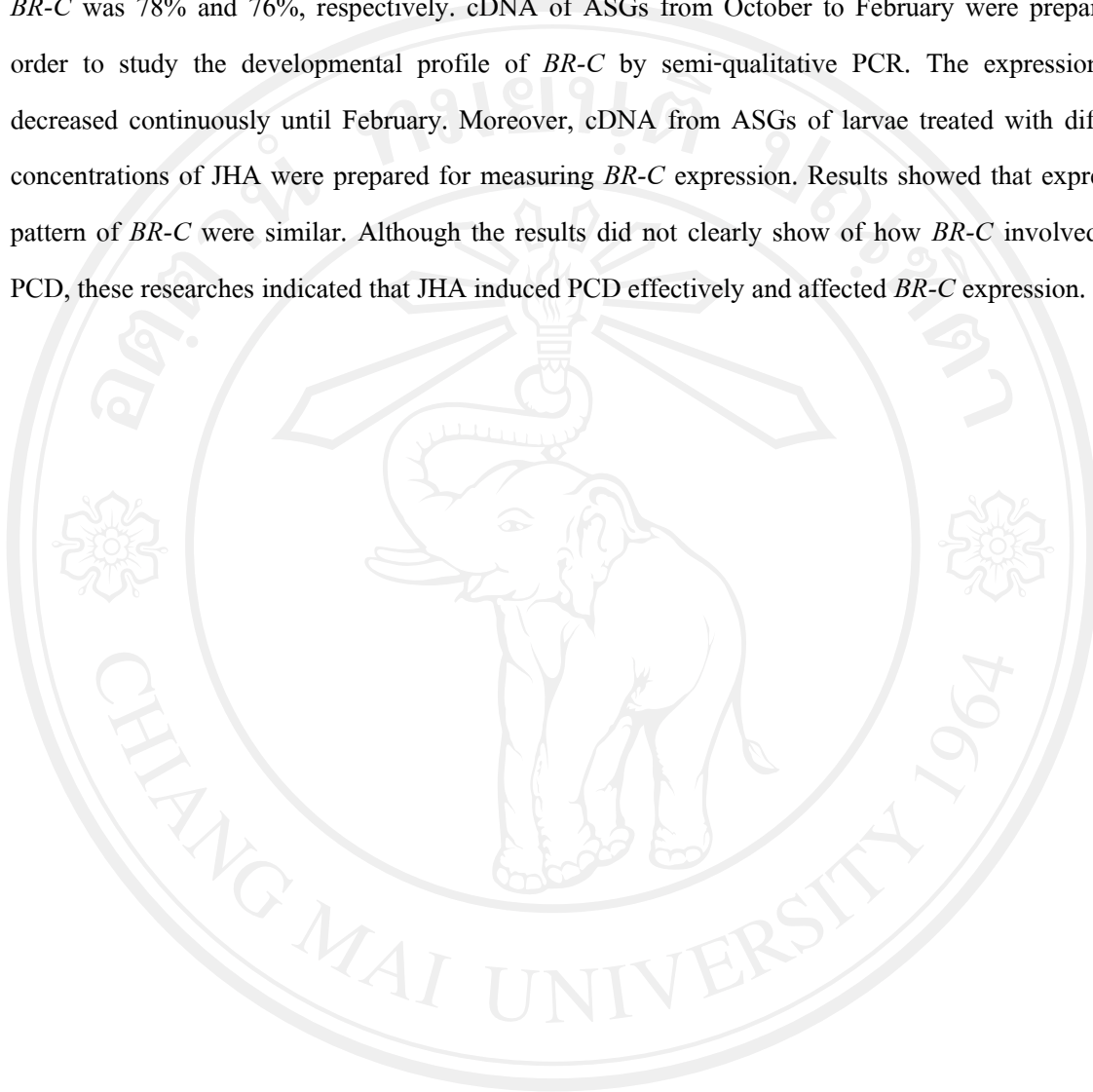
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Effects of Juvenile Hormone and <i>Broad-Complex</i> Gene Expression on Programmed Cell Death in the Anterior Silk Glands of the Bamboo Borer (<i>Omphisa fuscidentalis</i> Hampson)	
Author	Ms. Suparin Bunkuna	
Degree	Master of Science (Biology)	
Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Manaporn Manaboon	Advisor
	Prof. Dr. Tippawan Singtripop	Co-advisor

ABSTRACT

Programmed cell death (PCD) is essential for normal development of animals including insects. Activation of PCD in insects is occurred during the transformation from larvae to pupae due to the stimulation of 20-hydroxyecdysone (20E) which activates several sets of genes functions, results in an elimination of unnecessary larval cells and tissues. One of the genes found to be important to control the PCD is *Broad-complex* (*BR-C*). In the bamboo borer (*Omphisa fuscidentalis* Hampson), application of juvenile hormone analogue (JHA) can induce pupation by increasing hemolymph ecdysteroid titer. Thus, this research was conducted in order to study the effects of JHA on PCD and relationship between PCD and *BR-C* gene expression in the anterior silk glands. Results showed that PCD was occurred in all the ASGs of larvae treated with different concentration of JHA (0.1, 0.5, 1.0 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$). All concentrations of JHA caused morphological changes to the gland which could be divided in to 6 levels of death (PCD score = 0-5). However, the mean score value of the glands from larvae treated with those concentrations of hormone at the end of pupal stage (G3) was depend on hormone concentrations. In addition, it was found that 1.0 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ JHA was able to induce nuclear condensation and nuclear fragmentation the fastest compared to lower concentrations. However, DNA fragmentation was not observed. In an attempt to indicate the relationship of *BR-C* and PCD induced by JHA, partial sequences

of *BR-C* were identified. A partial cDNA sequences were isolated from epidermis of G2-stage larvae with 636 base pair nucleotides. The similarity of *OfBR-C* with *Manduca sexta BR-C* and *Bombyx mori BR-C* was 78% and 76%, respectively. cDNA of ASGs from October to February were prepared in order to study the developmental profile of *BR-C* by semi-qualitative PCR. The expression was decreased continuously until February. Moreover, cDNA from ASGs of larvae treated with different concentrations of JHA were prepared for measuring *BR-C* expression. Results showed that expression pattern of *BR-C* were similar. Although the results did not clearly show of how *BR-C* involved with PCD, these researches indicated that JHA induced PCD effectively and affected *BR-C* expression.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved