รหัสโครงการ : MRG4780145

ชื่อโครงการ: การสังเคราะห์ยีนและโปรตีนจำเพาะที่แสดงออกใน vitelline cells ของพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica* ที่มีศักยภาพในการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคด้วยวิธี immunodiagnosis

ชื่อนักวิจัย : อาดูลย์ มีพูล

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

Email address: ardool@buu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 1 กรกฎาคม 2547 – 30 มิถุนายน 2549

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษายีนที่มีการแสดงออกใน vitelline cells ของพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica* ซึ่งเป็นพยาธิที่ก่อให้เกิดปัญหากับอุตสาหกรรมสัตว์เลี้ยงของประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยการตรวจหายีนจาก cDNA libray พบว่าสามารถค้นพบยีนใหม่จำนวน 5 ยีน คือ vitelline protein BI (VPBI), tegumental antigen protein (VgFg16), protein kinase / endoribonulcease like protein (VgFg28), carboxyltranferase like protein (VgFg29), tetraspanin like protein (VgFg37) ในการศึกษานี้ได้ทำการเลือกยีนที่ได้มาทำการสังเคราะห์โปรตีน แล้วนำไปผลิตและศึกษาคุณสมบัติโพลีโคลนอล แอนติบอดี จำนวน 3 ยีน ดังนี้

VPBI ที่สังเคราะห์ได้มีน้ำหนักโมเลกุล 31.5 kDa และ แอนติบอดี ที่ผลิตได้สามารถทำปฏิกิริยากับ 31 kDa native protein ที่สกัดจากพยาธิตัวเต็มวัยด้วยวิธี acid urea extraction ได้ และเมื่อนำไปย้อมกับเนื้อเยื่อพยาธิตัวเต็มวัยพบว่าสามารถย้อมที่ vitelline cell ที่อยู่ภายใน vitelline follicle และย้อมติด eggshell ทั้งที่อยู่ภายใน uterus และที่ปล่อยออกมานอกตัวพยาธิ

VgFg 16 ที่สังเคราะห์ได้มีน้ำหนักโมเลกุล 15 kDa และแอนติบอดีที่ผลิตได้สามารถทำปฏิกิริยากับ native protein ที่สกัดจาก tegument และ whole body พยาธิ *F. gigantica* ตัวเต็มวัยได้ และเมื่อนำไปย้อมกับเนื้อเยื่อพยาธิตัวเต็มวัยพบว่าสามารถย้อมติดเฉพาะที่ syncytial layer และ tegumental cell layer ของ tegument

VgFg 28 ที่สังเคราะห์ได้มีน้ำหนักโมเลกุล 25 kDa และแอนติบอดี ที่ผลิตได้สามารถทำปฏิกิริยากับ native protein ที่สกัดจาก whole body ได้ แต่เมื่อนำไปย้อมกับเนื้อเยื่อพยาธิตัวเต็มวัยพบว่าให้ผลไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ย้อมด้วยเซรุ่มของหนูก่อนการฉีดกระตุ้นด้วยโปรตีนสังเคราะห์

จากการศึกษานี้สามารถผลิตโปรตีนสังเคราะห์ และโพลีโคลนอล แอนติบอดี ที่ต้านต่อโปรตีนสังเคราะห์ที่มีความจำเพาะต่อ native protein ที่อาจใช้ในการศึกษาต่อยอดในการผลิตชุดตรวจสอบการติดเชื้อและวัคซีนป้องกันพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* ในอนาคตได้

คำหลัก : vitelline gland, *Fasciola gigantica*, recombinant protein

Project Code: MRG4780145

Project Title: Cloning, identification, and expression of specific genes expressed in the vitelline cells of *Fasciola gigantica* that have immunodiagnosis potential

Investigator: Ardool Meepool

Faculty of A Health Science, burapha University, chonburi, Thailand

Email Address: ardool@buu.ac.th

Project Period: 1th July 2004 – 30th June 2506

This study aims to clone vitelline specific genes of liver fluke *Fasciola gigantica*, which is caused economical problem of the veterinary industrial of Thailand and the South-east Asian Region. There are 6 genes have been identified from cDNA library screening: including vitelline protein BI (VPBI), tegumental antigen protein (VgFg16), protein kinase / endoribonulcease like protein (VgFg28), carboxyltranferase like protein (VgFg29), tetraspanin like protein (VgFg37) and catepsin L protease. Three cDNA clones are selected for recombinant protein and immunological studies.

The 31.5 kDa recombinant VPBI has been expressed and purified. The polyclonal antibody against this recombinant protein could react with 31 kDa native protein extracted from whole body of the adult parasite by acid urea extraction. Further more, this polyclonal antibody reacts with the vitelline cells within vitelline follicles and also the eggshell of the eggs within the uterus as well as the secreted eggs.

The 15 kDa recombinant VgFg16 protein has been expressed and purified. The polyclonal antibody against this recombinant protein could react with native protein extracted from tegument and whole body of adult *F. gigantica*. In addition this polyclonal antibody could react with the syncytial and tegumental cell layers of the adult tegument.

The 25 kDa recombinant VgFg28 protein has been expressed and purified. The polyclonal antibody against this recombinant protein could react with native protein extracted from whole body of adult *F. gigantica.* In another way, the immunoperoxidase staining using this polyclonal antibody shows no any difference from those of using the preimmunized serum.

This study have been expressed and purified recombinant proteins and produced polyclonal antibodies against recombinant proteins that are the materials for vaccines and immunodiganosis development in the further studies.

Keywords: vitelline gland, *Fasciola gigantica***,** recombinant protein