

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5480215

ชื่อโครงการ : การสังเคราะห์และศึกษาคุณลักษณะ ของโกนาโดโทรปิน รีริสสังฮอร์โมนในหอย
เป้าฮื้อเขตร้อน *Haliotis asinina*

ชื่อนักวิจัย : ดร. ปริญญาพร หนูอุไร

อีเมลล์ : fone2526@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

บทคัดย่อ :

โกนาโดโทรปิน รีริสสังฮอร์โมน (GnRH) เป็นฮอร์โมนที่มีความสำคัญในการควบคุมกระบวนการสืบพันธุ์ ซึ่งมีการศึกษาอย่างแพร่หลายในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง แต่ยังไม่พบรายงานการศึกษาถึงลักษณะโครงสร้างทางโมเลกุลและหน้าที่ของ GnRH ในหอยเป้าฮื้อ จึงเป็นที่มาของงานวิจัยชิ้นนี้โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณลักษณะของยีนและโครงสร้างของโปรตีน GnRH ในปมประสาท cerebral และ pleuropedal ของหอยเป้าฮื้อ *Haliotis asinina* ตัวเต็มวัยเพศเมีย ด้วยวิธี Rapid amplification of cDNA ends (RACE) และ Immunohistochemistry และศึกษาหน้าที่ของ GnRH ในการเจริญเพิ่มจำนวนของเซลล์สืบพันธุ์ในรังไข่ด้วยวิธี *in vivo* 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) assay การทดลองพบลำดับเบสบางส่วนของยีนที่มีคุณลักษณะคล้าย GnRH ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกันกับ GnRH ที่พบในหอยสายพันธุ์อื่น และให้ชื่อว่า abalone GnRH (abGnRH) โดยเมื่อถอดรหัสเป็นสายโปรตีนบริเวณ active GnRH ประกอบด้วยกรดอะมิโน 12 ตัวที่มีส่วนอนุรักษ์เหมือนกับโครงสร้างของ GnRH ที่พบในสัตว์กลุ่ม protostomians จากการศึกษากายวิภาคของ abGnRH ในปมประสาท cerebral และ pleuropedal พบ abGnRH ในเซลล์ประสาทผลิตฮอร์โมนชนิดที่ 1 กระจายทั่วไปบริเวณด้านหน้าและด้านหลังของปมประสาท cerebral และบริเวณ ventral และ dorsal horn ของปมประสาท pleuropedal นอกจากนี้ยังพบ abGnRH ในเส้นใยประสาทบริเวณด้านหลังของปมประสาท cerebral และบริเวณด้านหน้าของ ventral horn ของปมประสาท pleuropedal จากการศึกษาผลของ abGnRH และ buserelin ต่อการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ พบว่า buserelin และ abGnRH ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 นาโนกรัมต่อน้ำหนักตัว (กรัม) สามารถกระตุ้นการพัฒนาของรังไข่ โดยสามารถเพิ่มจำนวนของเซลล์ไข่ระยะ oögonia และระยะ early oocyte ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 1,000 นาโนกรัมต่อน้ำหนักตัว (กรัม) ให้ผลดังกล่าวลดลง จากการศึกษาครั้งนี้เป็นการค้นพบลักษณะโครงสร้างและหน้าที่ที่สำคัญของ GnRH ในกระบวนการสืบพันธุ์ในหอยเป้าฮื้อ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยง เพื่อเพิ่มรอบการสืบพันธุ์ให้ได้ผลผลิตลูกหอยมากขึ้น

คำหลัก : โกนาโดโทรปิน รีริสสังฮอร์โมน *Haliotis asinina* การเพิ่มจำนวนของเซลล์ไข่ วิธี BrdU

Abstract

Project Code : MRG5480215

Project Title : Molecular cloning and characterization of gonadotropin releasing hormone-like peptide in the tropical abalone, *Haliotis asinina*

Investigator : Parinyaporn Nuurai

E-mail Address : fone2526@yahoo.com

Project Period : 2 years

Abstract :

In various animal groups, both vertebrate and invertebrate, it has been reported that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) is an important regulator of reproductive function. However, knowledge of the molecular characteristic of GnRH and its function in the abalone is inadequate. Therefore, we have characterized the GnRH gene and its peptide sequence from the ganglia of sexually mature female *Haliotis asinina* using Rapid amplification of cDNA ends (RACE) and Immunohistochemistry techniques and study its biological function by *in vivo* 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) gonadal cell proliferation assay. A partial length cDNA encoding GnRH-related gene was generated from *H. asinina* ganglia and demonstrated a high similarity with other gastropods. The deduced 12 amino acids sequence of abalone GnRH (abGnRH)-like peptide showed a high conservation with other protostomians' GnRH. An antibody generated against abGnRH showed specific localization within the cerebral and pleuropedal ganglia. abGnRH was localized in type-1 neurosecretory cells that are widely distributed within the ventral and dorsal parts of the cerebral ganglion and also observed in nerve fiber bundles extending into the dorsal part of the ganglion. In the pleuropedal ganglion, abGnRH immunoreactive cells were distributed in both ventral and dorsal horns. Nerve fibers containing abGnRH immunoreactivity were also detected primarily within the ventral region of ventral horns of the ganglion. The effect of buserelin and abGnRH on ovarian proliferation of *H. asinina* was investigated by *in vivo* BrdU assay. Groups of one-year-old female abalone were injected with buserelin and abGnRH at doses of 250 and 500 ng/g BW and exhibited a stimulatory effect on ovarian maturation and oocyte proliferation. The abGnRH at high dose of 1,000 ng/g BW had a lesser effect on inducing ovarian maturation and oocyte proliferation. These findings provide important knowledge on the molecular characteristics and function of GnRH on abalone reproduction which could be applied in aquaculture to enhance abalone reproduction.

Keywords : GnRH, *Haliotis asinina*, ovarian cell proliferation, BrdU assay