

บทคัดย่อ

โปรแกรมการตายของเซลล์ (programmed cell death, PCD) เป็นเหตุการณ์ที่จำเป็นต่อการเจริญพัฒนาในสัตว์รวมทั้งแมลงให้เป็นไปอย่างปกติ และเป็นเหตุการณ์ที่ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนที่สำคัญคือ ฮอโมน 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน (20-hydroxyecdysone, 20E) โดยจะทำหน้าที่ในการย่อยสลายเซลล์และเนื้อเยื่อที่ไม่จำเป็นออกไปในแมลงบางชนิดต่อมสร้างไหมส่วนต้น (anterior silk glands, ASGs) จัดเป็นเนื้อเยื่อที่พบในระยะตัว หนอนและจะถูกกำจัดไปเมื่อตัวหนอนเปลี่ยนเป็นดักแด้ หนึ่งในยีนที่พบว่ามีความสำคัญต่อการควบคุมการตายคือ *Broad-Complex* gene (*BR-C*) ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของฮอโมนจูวีไนล์สังเคราะห์ (juvenile hormone analogue, JHA) ต่อการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์และศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์กับการแสดงออกของยีน *BR-C* ในต่อมสร้างไหมส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอส ผลการศึกษาพบว่า ต่อมสร้างไหมส่วนต้นของหนอนที่ได้รับฮอโมนจูวีไนล์สังเคราะห์ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.1 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตรทำให้ต่อมสร้างไหมส่วนต้นเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ได้โดยทุกความเข้มข้นของฮอโมนทำให้ต่อมเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา แบ่งได้เป็น 6 ระดับคะแนนการตาย (PCD score = 0-5 และค่าเฉลี่ยของระดับคะแนนการตายในดักแด้ระยะสุดท้าย (G3) ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฮอโมน นอกจากนี้ยังพบว่าฮอโมนจูวีไนล์ที่ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตรสามารถชักนำให้ต่อมเกิดการอัดแน่นของนิวเคลียสและเกิดการแตกหักของนิวเคลียสได้เร็วที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับฮอโมนที่ความเข้มข้นต่ำ อย่างไรก็ตาม ไม่พบการแตกหักของ DNA เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *BR-C* และการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นโดย JHA จึงได้ทำการหาลำดับเบสของยีน *BR-C* บางส่วน (partial sequences) จากอิมิตเตอร์มิสของดักแด้ระยะ G2 พบว่า ยีนมีขนาด 636 คู่เบสมีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับหนอนใบยาสูบ (*Manduca sexta*) และหนอนไหม (*Bombyx mori*) คิดเป็น 78% และ 76% ตามลำดับ เมื่อตรวจวัดการแสดงออกของยีน *BR-C* ในหนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอสระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์โดยวิธี semi-qualitative PCR พบว่ายีน *BR-C* มีการแสดงออกลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงเดือนกุมภาพันธ์ นอกจากนั้นแล้วยังได้เก็บตัวอย่างต่อมสร้างไหมส่วนต้นจากหนอนเยื่อไผ่ที่ได้รับฮอโมนจูวีไนล์ความเข้มข้นต่างๆ มาตรวจวัดการแสดงออกของยีน ผลการทดลองพบว่า ฮอโมนจูวีไนล์ทุกความเข้มข้นมีผลต่อการแสดงออกของยีน *BR-C* ในรูปแบบเดียวกัน งานวิจัยในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าฮอโมนจูวีไนล์สามารถชักนำให้ต่อมสร้างไหมส่วนต้นเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ได้และมีผลต่อการแสดงออกของยีน *BR-C* แต่อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์กับการแสดงออกของยีน *BR-C* ได้อย่างชัดเจน

คำสำคัญ: Apoptosis, Diapause termination, Juvenile hormone, Methoprene

ABSTRACT

Programmed cell death (PCD) is essential to the development of animals and insects. An event that is controlled by the 20-hydroxyecdysone (20E). Anterior silk glands (ASGs) is larval-specific tissues that are normally eliminated by PCD after pupation. One of the genes found to be important to control the PCD is *Broad-complex* (*BR-C*). This research was conducted effects of juvenile hormone analogue (JHA) to programmed cell death and relationship between programmed cell death with *BR-C* gene expression in the anterior silk glands of the bamboo borer (*Omphisa fuscidentalis* Hampson). Results showed that PCD was occurred in all the ASGs of larvae treated with different concentration of JHA (0.1, 0.5, 1.0 μg / 5 μl). 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 of the glands from the larvae treated with those concentrations of hormone at the end of pupal stage (G3) was in a dose response manner. In addition, it was found that 1.0 μg / 5 μl JHA was able to induce nuclear condensation and nuclear fragmentation the fastest compared to low concentrations. However, DNA fragmentation was not observed. Furthermore, partial sequences of *BR-C* were identified in order to indicate the relationship of *BR-C* and PCD induced by JHA. 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*. 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 it was not clearly of how *BR-C* involved with PCD, these researches indicated that JHA induced PCD effectively and affected *BR-C* expression.

Keywords: Apoptosis, Diapause termination, Juvenile hormone, Methoprene