

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5580159

ชื่อโครงการ : ลักษณะสมบัติของครัสตินจากกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*

ชื่อนักวิจัย : นายสุเชาว์ ดอนพุดชา

อีเมลล์ : suchao@swu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : ตั้งแต่วันที่ 2 กรกฎาคม 2555 ถึง วันที่ 1 กรกฎาคม 2557

บทคัดย่อ:

ครัสติน (crustin) เป็นเปปไทด์ต้านจุลชีพที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์จำพวก crustacean ซึ่งมีหน้าที่ป้องกันการบุกรุกของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคโดยตรง จากการค้นหาและรวบรวมข้อมูลที่ได้จากฐานข้อมูล expressed sequence tags (EST) ของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) พบว่า มีครัสตินชนิดที่ 1 อยู่ 2 ไอโซฟอร์ม (carcininPm1 และ 2) และครัสตินชนิดที่ 2 อยู่ 10 ไอโซฟอร์ม (crustinPm1-10) โดยครัสตินที่พบเป็นจำนวนมากคือ crustinPm1 crustinPm4 และ crustinPm7 โดยสมาชิกในแต่ละไอโซฟอร์มมีบริเวณ Gly-rich ที่มีขนาดที่หลากหลายกันไป นอกจากนี้บริเวณ Cys-rich ของสมาชิกในกลุ่ม crustinPm1 และ crustinPm4 ยังพบว่า มีการขยายหายไปบางส่วนอีกด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำ crustinPm4 ซึ่งเป็นครัสตินที่มีบริเวณ Gly-rich ยาวที่สุดมาศึกษาต่อไป โดยอวัยวะของกุ้งกุลาดำที่มีการแสดงออกของ crustinPm4 มากที่สุด คือ hemocyte นอกจากนี้ยังพบว่า crustinPm4 มีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้น เมื่อกุ้งกุลาดำได้รับเชื้อ WSSV อีกด้วย และเมื่อนำ crustinPm4 ไปศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพ โดยการผลิต crustinPm4 ในระบบของ *Escherichia coli* พบว่า crustinPm4 มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียคือ *Bacillus megaterium* แต่ crustinPm4 ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* *Micrococcus luteus* และ *Staphylococcus aureus* ได้ แต่อย่างไรก็ตาม crustinPm4 ยังมีฤทธิ์อย่างอ่อนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *E. coli* 363 และ *Vibrio harveyi* 639 นอกจากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแล้ว crustinPm4 ยังถูกนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการติดเชื้อไวรัส WSSV ของกุ้งกุลาดำอีกด้วย ผลที่ได้พบว่า การแสดงออกของยีน ie1 ของ WSSV ในเซลล์เม็ดเลือดของกุ้งกุลาดำลดลง เมื่อนำ WSSV มาบ่มกับ crustinPm4 ก่อนใส่ผสมลงไปเซลล์เม็ดเลือดของกุ้งกุลาดำ นอกจากนี้ crustinPm4 ยังแสดงให้เห็นว่า crustinPm4 สามารถชะลอการตายของกุ้งกุลาดำให้ช้าลงได้ 1 วันครึ่ง เมื่อกุ้งกุลาดำติดเชื้อ WSSV

คำหลัก: ครัสติน; ความหลากหลายทางพันธุกรรม; โดเมน WAP; กุ้งกุลาดำ; WSSV

Abstract

Project Code : MRG5580159

Project Title : Characterization of crustin from the black tiger shrimp *Penaeus monodon*

Investigator : Suchao Donpudsa

E-mail Address : suchao@swu.ac.th

Project Period : 2nd July 2012 - 1st July 2014

Abstract:

An antimicrobial protein, crustin, is involved in the innate immunity of crustacean by defending the host directly against the microbial pathogens. By data mining the *Penaeus monodon* EST database, two type I crustins, carcininPm1 and 2, and ten type II crustins, crustinPm1–10, were identified. The abundant crustins were crustinPm1, 4 and 7, each with variation in the length of Gly-rich repeat among its members. A few crustinPm1, 4 and 7 with deletion in the Cys-rich region were also observed. Furthermore, the crustinPm4 with the longest N-terminal Gly-rich region was characterized. The crustinPm4 allelic genes were expressed mainly from the hemocytes. Its expression was up-regulated readily by WSSV infection and gradually decreased to normal level afterwards. The recombinant crustinPm4-1 (rcrustinPm4-1) isoform was produced using the *Escherichia coli* expression system and tested for its antimicrobial activity. The rcrustinPm4-1 was able to inhibit the growth of a Gram-positive bacterium, *Bacillus megaterium* but not *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* and *Staphylococcus aureus*. It also inhibited the growth of two Gram-negative bacteria, *E. coli* 363 and *Vibrio harveyi* 639 at lower potency. The rcrustinPm4-1 affected the WSSV infection because the expression of an intermediate early gene *ie1* in WSSV-infected hemocyte cell culture was reduced. It was shown further that the rcrustinPm4-1 could delay by about one and a half days the manifestation of disease by WSSV.

Keywords : Crustin; Genetic variation; WAP domain; *Penaeus monodon*; WSSV