

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5580189

ชื่อโครงการ : การโคลนยีนและการศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนที่เป็นช่องทางผ่านของน้ำ (อะควอพอริน, OvAQP1-3) จากพยาธิตัวตืด *Opisthorchis viverrini*

ชื่อนักวิจัย : อาจารย์ ดร. อมรรัตน์ เกิดแก้ว

อีเมลล์ : amornrut_gead@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี 6 เดือน

บทคัดย่อ : โปรตีนอะควอพอรินมีความสำคัญในการควบคุมปริมาณน้ำสิ่งมีชีวิตทุกชนิด โปรตีนอะควอพอรินอยู่กลุ่มแฟมิลี major intrinsic protein (MIP) และซับแฟมิลี integral membrane protein อะควอพอรินเป็นเป็นพาหนะหรือเป้าหมายที่สำคัญสำหรับการรักษาความดันออสโมติก ตัวอย่างโมเลกุลพิเศษที่สามารถเคลื่อนที่ผ่านโปรตีนอะควอพอรินของโปรโตซัวได้ เช่น ไฮโดรอกซียูเรีย และ ไฮโดรอกไซด์ของไตรวาเลนท์แอนติโมนี ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้สามารถเข้าโปรโตซัวได้ ข้อมูลด้าน expressed sequence tag (EST) ของพยาธิตัวตืด *Opisthorchis viverrini* แสดงถึง อะควอพอรินโฮโมลอก ที่ยังไม่ได้ศึกษา *O. viverrini* เป็นพยาธิตัวตืดที่สำคัญในประเทศไทย เป็นสาเหตุของโรค opisthorchiasis และยังเกี่ยวข้องกับมะเร็งท่อน้ำดีอีกด้วย การแพร่ระบาดของพยาธิ *O. viverrini* ในคน มีอัตราค่อนข้างสูงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จากผลการวิจัยของคณะผู้วิจัย ได้แยก 3 ไอโซฟอร์ม ของอะควอพอริน จากพยาธิตัวตืด *O. viverrini* (OvAQP-1, 2 และ 3) โดยเทคนิค reverse transcriptase PCR จากอาร์เอ็นเอรวมของพยาธิตัวตืด *O. viverrini* ระยะตัวเต็มวัย โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากข้อมูล EST จากผลการศึกษาก่อนการโคลนนิ่ง พบว่ายีน OvAQP-1 และ OvAQP-2 แสดงออกในพยาธิตัวตืด *O. viverrini* ในระยะ newly excysted juvenile จนถึงระยะตัวเต็มวัย ในขณะที่ยีน OvAQP-3 แสดงออกในระยะ 2 สัปดาห์จนถึงระยะตัวเต็มวัย จากการศึกษาด้านอิมมูโนพยาธิวิทยา พบว่า โปรตีนอะควอพอรินทั้ง 3 ไอโซฟอร์ม อยู่บริเวณผิวหุ้ม (tegument) เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (parenchyma) และสเปิร์ม (spermatozoa) การศึกษาหน้าที่ของโปรตีนอะควอพอริน ดำเนินการวิจัยในไข่มุก *Xenopus* ซึ่งพบว่า อะควอพอริน OvAQP1, OvAQP2 และ OvAQP3 สามารถเป็นช่องทางผ่านสำหรับโมเลกุลของน้ำ ยูเรีย และกลีเซอรอล ในปริมาณที่แตกต่างกัน สำหรับการศึกษาในอนาคตจะทำการยับยั้งการแสดงออกของยีนอะควอพอรินด้วยเทคนิค RNAi และการยับยั้งการทำงานของโปรตีนอะควอพอรินทั้งสามไอโซฟอร์มนี้ด้วยยาขับปัสสาวะ

คำหลัก : อะควอพอริน, major intrinsic protein, พยาธิตัวตืด, *Opisthorchis viverrini*

Abstract

Project Code : MRG5580189

Project Title : Molecular cloning and characterization of three water channel proteins (aquaporins, OvAQP1-3) from *Opisthorchis viverrini*

Investigator : Dr. Amornrat Geadkaew

E-mail Address : amornrut_gead@hotmail.com

Project Period : 2 years 6 months

Abstract: Aquaporins (AQP) are essential mediators of water regulation in all living organisms. They are members of the major intrinsic protein (MIP) superfamily of integral membrane protein. Aquaporins are potential vehicles or targets for chemotherapy. Two examples of toxic molecules that can pass through protozoan aquaporins are hydroxyurea and the hydroxide of trivalent antimony, which kill protozoan parasites. It is interesting that an expressed sequence tag (EST) database of the human liver fluke, *Opisthorchis viverrini*, showed three aquaporin homologues that have not been characterized yet. *O. viverrini* is an important liver fluke in Thailand which causes opisthorchiasis and is associated with cholangiocarcinoma. The prevalence of *O. viverrini* in humans is very high in Northeastern Thailand. In our study, we have isolated three aquaporin homologues (OvAQP-1, 2 and 3) by reverse transcriptase PCR from total RNA of adult *O. viverrini* using specific primers designed from ESTs. OvAQP-2 and OvAQP-3 transcripts were detected in newly excysted juveniles and later stages, while OvAQP-1 transcripts were detected in 2-week-old juveniles and later stages. Immunohistochemical analysis demonstrated that the three OvAQPs are located in tegument, parenchyma and spermatozoa of the parasite. Functional characterization was performed by *Xenopus* oocyte swelling. OvAQP-1, OvAQP-2, and OvAQP-3 were found to conduct water, urea and glycerol albeit at different rates. In further studies we will investigate RNAi knockout and specific inhibition of these parasite AQPs by distinct pharmaceuticals.

Keywords : aquaporin, major intrinsic protein, liver fluke, *Opisthorchis viverrini*