

รูปแบบ Abstract (บทคัดย่อ)

Project Code: TRG5880175

Project Title: การโคลนและการกระจายตัวของ oxytocin/ vasopressin-like mRNA ในปูม้า *Portunus pelagicus* และผลกระตุ้นของฮอร์โมนต่อการสร้าง สเตียรอยด์ การพัฒนาที่สมบูรณ์ของรังไข่ (Molecular cloning and distribution of oxytocin/ vasopressin-like mRNA, in the blue crab, *Portunus pelagicus*, with its stimulatory effects on steroidogenesis and ovarian maturation)

Investigator: ดร.จิรวรรณ แซ่ตัน ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

E-mail Address: jisaetan@gmail.com

Project Period: 2 ปี

Abstract:

This study was aimed to characterize the full length of mRNA of oxytocin/ vasopressin (OT/VP)-like mRNA in female *Portunus pelagicus* (*Ppe*OT/VP-like mRNA) using a partial *Ppe*OT/VP sequence obtained previously in our transcriptome analysis (Saetan, 2014) to construct the primers. The *Ppe*OT/VP-like mRNA was 626 bp long and it encoded the preprohormones containing 158 amino acids. This preprohormone consisted of a signal peptide, an active nonapeptide (CFITNCPPG) followed by the dibasic cleavage site (GKR), and the neurophysin domain. Sequence alignment of *Ppe*OT/VP-like peptide with those of other animals revealed strong molecular conservation. Phylogenetic analysis revealed that the *Ppe*OT/VP-like peptide was clustered within the group of crustacean OT/VP-like peptide. Analysis by RT-PCR revealed the expression of mRNA transcripts in the eyestalk, brain, ventral nerve cord (VNC), ovary, intestine and gill. The *in situ* hybridization demonstrated the cellular localizations of the transcripts in the central nervous system (CNS) and ovary tissues. In the eyestalk, the mRNA expression was observed in the neuronal cluster 1-5 but not in the sinus gland complex. In the brain and the VNC, the transcripts were detected in all

neuronal clusters but not in the glial cell. In the ovary, the transcripts were found in all stages of oocytes (Oc1, Oc2, Oc3, and Oc4). In addition, synthetic OT/VP-like peptide could stimulate steroid release from the mature ovary. The knowledge gained from this study will provide more understanding on *P. pelagicus* neuro-endocrinological controls of crab reproduction and may be usefully in promoting the production of crab by aquaculture.

Keywords: Oxytocin/vasopressin-like peptide; *Portunus pelagicus*; molecular cloning; steroid release

บทคัดย่อ:

การศึกษาครั้งนี้ได้แสดงลำดับ mRNA เต็มเส้นที่คล้าย oxytocin/ vasopressin (OT/VP) ในปูม้าเพศเมีย (*Ppe*/OT/VP-like mRNA) โดยได้ใช้ลำดับ mRNA บางส่วนของยีนนี้ที่ได้จากการทำ transcriptome (Saetan, 2014) เพื่อสังเคราะห์ไพรเมอร์ จากการศึกษาพบว่า *Ppe*/OT/VP-like mRNA มีความยาวทั้งสิ้น 626 bp และจะแปลรหัสให้ preprohormone ที่มี 158 amino acid ซึ่งประกอบด้วยส่วนของ signal peptide, active nonapeptide (CFITNCPG) ที่ตามด้วย dibasic cleavage site (GKR), และส่วนของ neurophysin domain เมื่อนำลำดับ mRNA ที่ได้ แปลงเป็น protein และนำไปเปรียบเทียบกับโปรตีนของสัตว์ชนิดอื่น พบว่า ลำดับโปรตีนมีความอนุรักษ์สูงมาก จากการวิเคราะห์ด้วย phylogenetic tree พบว่า *Ppe*/OT/VP-like peptide ถูกจัดกลุ่มอยู่ใน crustacean OT/VP-like peptide การศึกษาการกระจายตัวของ *Ppe*/OT/VP-like mRNA โดยวิธี RT-PCR พบว่า mRNA ของยีนนี้กระจายตัวอยู่ในก้ามตา สมอ ปมประสาทส่วนท้อง รังไข่ ลำไส้ และเหงือก ของปูม้า จากการทำ *in situ* hybridization พบว่า mRNA ของยีนนี้ถูกสร้างในกลุ่มเซลล์ประสาทที่ 1-5 และไม่พบ mRNA ชนิดนี้ใน sinus gland complex ในสมอและปมประสาทส่วนท้องพบว่า mRNA ชนิดนี้ถูกพบในเซลล์ประสาททุกกลุ่มเซลล์ แต่ไม่พบในเซลล์ประสาทคำจุน ในรังไข่ พบ mRNA ชนิดนี้ในเซลล์ไข่ทุกระยะ (Oc1, Oc2, Oc3, and Oc4) นอกจากนี้ การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ OT/VP-like peptide พบว่าสามารถกระตุ้นการหลั่ง steroid จากไข่ระยะสมบูรณ์ได้ ความรู้ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้มีความเข้าใจเรื่อง neuro-endocrinological controls ที่เกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ในปูม้ามากขึ้น และอาจเป็นประโยชน์ในการเพิ่มผลผลิตการเพาะเลี้ยงปูม้าต่อไป

คำสำคัญ: Oxytocin/vasopressin-like peptide; *Portunus pelagicus*; molecular cloning; steroid release