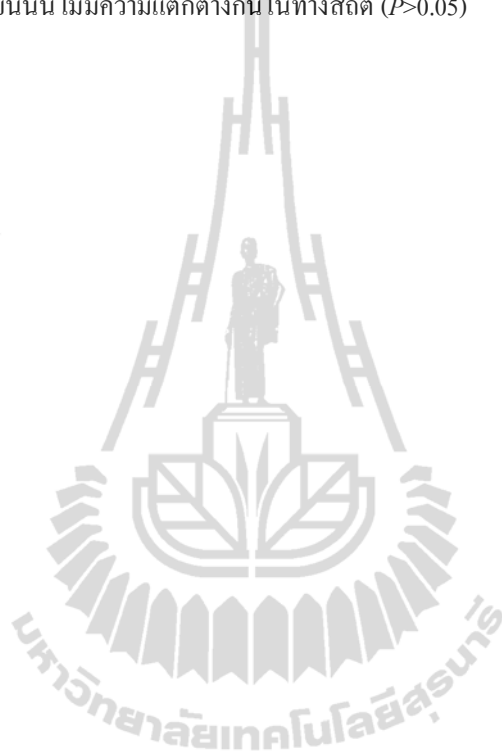


อารยา แจ้งไพโร : การโคลน การแสดงออกของเอ็มอาร์เอ็นเอ และผลของแอนตาโกนิสต์ของเมลานอคอร์ติน 4 รีเซปเตอร์ต่อการกินได้ในปลาสด (CLONING, EXPRESSION OF mRNA, AND ANTAGONIST EFFECT OF MELANOCORTIN 4 RECEPTOR (*MC4R*) ON FEED INTAKE IN SNAKESKIN GOURAMI (*TRICHOGASTER PECTORALIS*))

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรินทร์ บุญอนันตชนะ, 163 หน้า.

ปลาสด (*Trichogaster pectoralis*) เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และเป็นปลาที่นิยมเลี้ยงเป็นปลาสวยงาม แต่การศึกษาทางด้านลักษณะทางพันธุกรรมและทางอณูพันธุวิทยาของปลาสดยังมีอยู่น้อยมาก ยีนเมลานอคอร์ติน 4 รีเซปเตอร์ (melanocortin 4 receptor; *MC4R*) มีความเกี่ยวข้องกับสมรรถภาพการเจริญเติบโต และการควบคุมสมดุลพลังงานในสัตว์ การศึกษาลักษณะโครงสร้างของยีนและโปรตีน *MC4R* จากปลาสด (*Trichogaster pectoralis*) (*TpMC4R*) พบว่าโปรตีน *TpMC4R* มีความคล้ายคลึงกับโปรตีน *MC4R* จากสัตว์มีกระดูกสันหลังอื่น ๆ ผลการวิเคราะห์โดยการสร้าง Phylogenetic tree ของโปรตีน *TpMC4R* กับ โปรตีน melanocortin receptor ชนิดต่าง ๆ ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง พบว่าโปรตีน *TpMC4R* อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับโปรตีน *MC4R* ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง และโปรตีน *TpMC4R* มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้เคียงกับปลากระดูกแข็งมากที่สุด การศึกษาการแสดงออกของยีน *TpMC4R* ในระหว่างการพัฒนาการของตัวอ่อนที่ระยะ 5, 7, 11, 15, 21, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังจากที่ปลาสดวางไข่ (hours post spawning : hps) รวมไปถึงไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ พบว่ายีน *TpMC4R* มีการแสดงออกในทุกระยะของการพัฒนาการของตัวอ่อน นอกจากนี้ *TpMC4R* ยังมีการแสดงออกในไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิด้วย แสดงให้เห็นว่ายีน *TpMC4R* จัดเป็น maternal ยีนและจากการวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน *TpMC4R* ด้วยเทคนิค Real time RT-PCR ในอวัยวะต่าง ๆ ของปลาสดที่ระยะโตเต็มวัย พบว่ายีน *TpMC4R* มีการแสดงออกมากที่สุด ในสมองทุกส่วนและในอวัยวะ (testis) อวัยวะที่มีการแสดงออกของยีน *TpMC4R* ในระดับปานกลาง คือ เหงือก (gill) ตับ (liver) ไตส่วนบน (head kidney) ไตส่วนล่าง (trunk kidney) ลำไส้ (intestine) กล้ามเนื้อ (muscle) และ รังไข่ (ovary) อวัยวะที่มีการแสดงออกของยีน *TpMC4R* ในระดับต่ำ คือ กระเพาะอาหาร (stomach) และอวัยวะที่มีการแสดงออกของยีน *TpMC4R* ในระดับต่ำที่สุด คือ ม้าม (spleen) การศึกษาเปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีน *TpMC4R* ในสมองแต่ละส่วนของปลาสดในระหว่างมื้ออาหาร ได้ทำการฝึกให้ปลาสดกินอาหารวันละ 2 มื้อ ในเวลา 10.00 และ 16.00 น. และทำการวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน *TpMC4R* ที่เวลา 9.00 11.00 13.00 และ 15.00 น. พบว่าปลาสดมีการแสดงออกของยีน *TpMC4R* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่เวลา 15.00 น. หรือ 1 ชั่วโมงก่อนอาหารเย็น และเมื่อทำการศึกษาผลของการอดอาหารต่อการแสดงออกของยีน *TpMC4R* โดยทำการวิเคราะห์ระดับของยีน *TpMC4R* ที่

ระยะเวลาการอดอาหาร 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง พบว่าที่เวลาการอดอาหาร 6 และ 12 ชั่วโมงมีระดับการแสดงออกของยีน *TpMC4R* ในระดับต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ายีน *TpMC4R* มีความสัมพันธ์กับการกินอาหารในรอบวันและสมดุลพลังงานในระหว่างการอดอาหาร และการศึกษาผลของ MC4R antagonist (HS024) ต่อการกินได้ในปลาสด ที่ฉีด HS024 ที่ระดับ 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ และ 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ เปรียบเทียบกับปลาที่ไม่ได้รับการฉีด (กลุ่มควบคุม) และปลาสดที่มีการฉีดด้วยน้ำเกลือ (0.9% NaCl) พบว่าปลาสดที่ฉีดด้วย antagonist HS024 มีการกินได้ที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการกินได้ที่เพิ่มขึ้นนั้นไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$)



สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

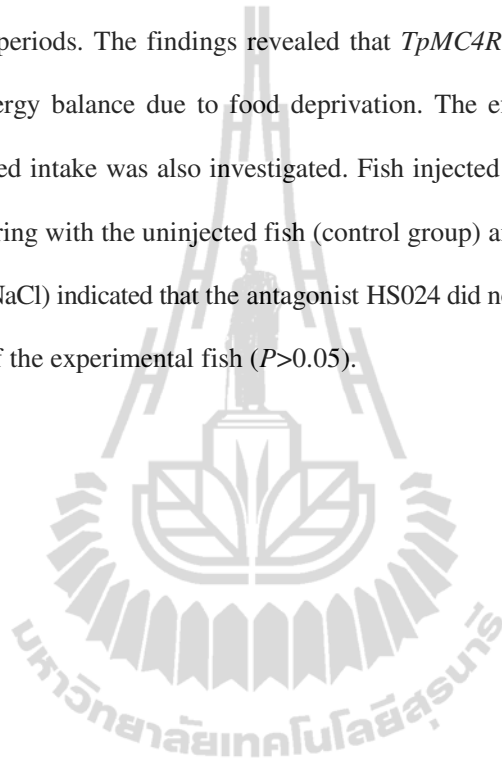
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

ARAYA JANGPRAI : CLONING, EXPRESSION OF mRNA, AND
ANTAGONIST EFFECT OF MELANOCORTIN 4 RECEPTOR (*MC4R*) ON
FEED INTAKE IN SNAKESKIN GOURAMI (*TRICHOGASTER*
PECTORALIS). THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SURINTORN
BOONANUNTANASARN, Ph.D., 163 PP.

MELANOCORTIN 4 RECEPTOR/ MC4R/ MC4R ANTAGONIST/ FEED INTAKE/
SNAKESKIN GOURAMI/ *Trichogaster pectoralis*

Snakeskin gourami (*Trichogaster pectoralis*) has been not only important as commercial species but also popular as aquarium fish, but its genetic aspects including conventional and molecular genetic studies are limited. Melanocortin 4 receptor (*MC4R*) has been reported to involve with growth performance and control of energy homeostasis in animals. Characterization of *MC4R* from Snakeskin gourami (*Trichogaster pectoralis*) (*TpMC4R*) showed that its protein sequence is similar to that of vertebrates. Phylogenetic trees analysis of *TpMC4R* and other vertebrates melanocortin receptors showed that *TpMC4R* was *MC4R* orthologues, closely related to piscine *MC4Rs*. *TpMC4R* expression was determined during embryogenesis at 5, 7, 11, 15, 21, 24 and 48 hours post spawning (hps). The expression of *TpMC4R* was also analyzed in unfertilized egg. The *TpMC4R* transcripts were detected in embryo at all developmental stages. Its mRNA was also detected in unfertilized eggs, suggesting that *TpMC4R* could be classified as maternal mRNA. Real-time RT-PCR graded expression in each organ of adult fish indicated that *TpMC4R* expression was strong in all brain regions and testis; moderate in gill, liver, head kidney, trunk kidney, intestine, muscle and ovary; low in stomach; and rare

in spleen. Fish were fed twice a day at 10:00 and 16:00, the expression profile of *TpMC4R* during daily feeding in each region of the brain was examined at 9:00, 11:00, 13:00 and 15:00. Significant reduction of the *TpMC4R* expression was seen at 15:00 (1 h before dinner). Moreover, effects of short term fasting (6, 12, 18 and 24 h) on *TpMC4R* expression were determined. Significantly lower expression of *TpMC4R* was observed at 6 and 12 hour fasting periods. The findings revealed that *TpMC4R* was related to daily feed intake and energy balance due to food deprivation. The effect of MC4R antagonist (HS024) on feed intake was also investigated. Fish injected with HS024 at 1 and 3 µg/kg-fish comparing with the uninjected fish (control group) and fish injected with normal saline (0.9% NaCl) indicated that the antagonist HS024 did not significantly increase the feed intake of the experimental fish ($P>0.05$).



School of Animal Production Technology Student's Signature _____

Academic Year 2010 Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____