

การวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีนชนิดใหม่อะควอพอรินจากพยาธิฟาสซิโอลาไกแกนดิกา

Functional analysis of novel aquaporins from *Fasciola gigantica*

Amomrat Geadkaew^a, Julia von Bülow^b, Eric Beitz^b, Suksiri Vichasri Grams^c, Vithoon Viyanant^a,
Rudi Grams^{a,*}

^a Graduate Program in Biomedical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Phaholyothin Road, KlongLuang, Pathumthani 12121, Thailand

^b Pharmazeutisches Institut, Christian-Albrechts-Universität, Kiel 24118, Germany

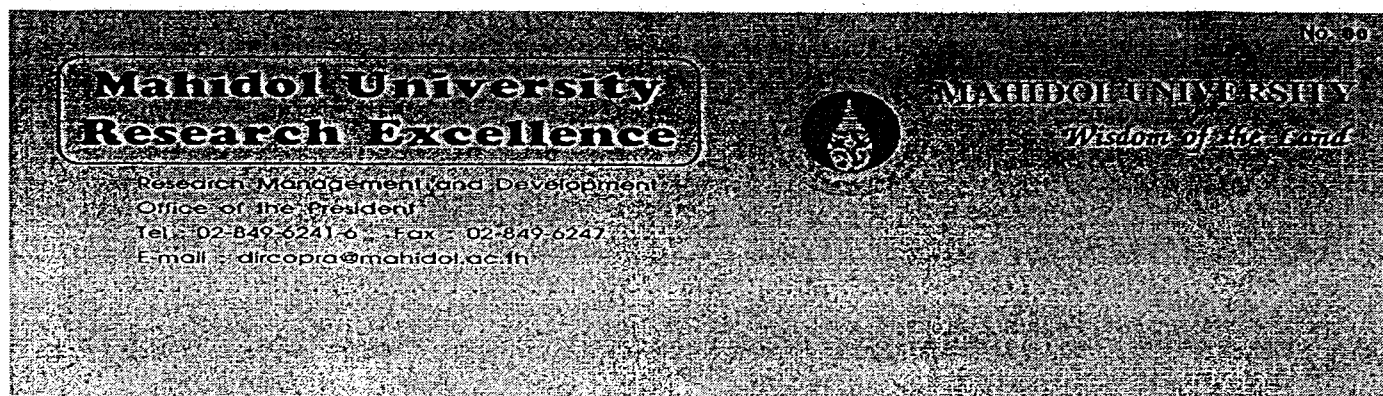
^c Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

บทคัดย่อ

โรคพยาธิใบไม้ตับ (fasciolosis) เกิดจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับจินสฟาซิโอลาเป็นโรคที่สำคัญของสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อค้นหาโมเลกุลที่มีแนวโน้มเป็นตัวจับยาตัวใหม่ (new drug target) คณะผู้วิจัยได้ศึกษาอะควอพอริน (AQP) ของพยาธิฟาสซิโอลาไกแกนดิกา AQP มีหน้าที่ช่วยขนส่งน้ำ กลีเซอรอล และโมเลกุลอื่น ๆ ผ่านเซลล์เยื่อบุผิว โครงสร้าง หน้าที่ และพยาธิสภาพของ AQP ได้มีการศึกษาอย่างละเอียดในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่ในทริมาโทด ยังไม่มีข้อมูลของโปรตีนชนิดนี้มากนัก ดังนั้นในการศึกษานี้ คณะผู้วิจัยได้ศึกษาคุณสมบัติอะควอพอริน (AQP) สองรูปแบบ (isoform) ที่มีความใกล้เคียงกัน คือ FgAQP-1 และ FgAQP-2 จากพยาธิฟาสซิโอลาไกแกนดิกา ผลจากการวิเคราะห์ทางอิมมูโนโบลอตเคมี พบโปรตีนอะควอพอริน ที่เซลล์เยื่อบุผิวของส่วนที่อื่นไปยังผนังลำตัว (intestine) และผนังลำตัว นอกจากนี้ยังพบโปรตีนนี้ที่เซลล์เยื่อบุอวัยวะ (Testes) และรังไข่ (ovary) การแสดงออกของ FgAQPs ในโอโอไซท์ของกบ (*Xenopus oocyte*) ช่วยเพิ่มการซึมผ่านของน้ำมากขึ้น 3 - 4 เท่า แต่ไม่มีผลต่อการซึมผ่านของกลีเซอรอล และยูเรีย AQPs มี NPA motifs อยู่ถึง 2 motifs ที่มีความคงที่มากในวิวัฒนาการ และมีความสำคัญต่อการทำหน้าที่เป็นทางลำเลียงน้ำ สำหรับ FgAQP-1 และ FgAQP-2 รูปแบบของ NPA ตามธรรมชาติคือ TAA การเปลี่ยนเบสโดยการแทนที่ของ Thr ด้วย Asn ใน TAA motif ของ FgAQP-1 ช่วยเพิ่มอัตราการซึมผ่านน้ำเป็น 2 เท่า แต่ไม่มีผลต่อการซึมผ่านของกลีเซอรอลและยูเรีย และการแทนที่ของเบสจาก Cys204 โดย Tyr กลับทำให้สูญเสียความสามารถในการลำเลียงน้ำ นอกจากนี้การศึกษานี้ในการแสดงออกของยีนในสัตว์ยังพบว่า FgAQPs ไม่ใช่ช่องทางในการลำเลียงเมทิลามีนและแอมโมเนีย เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่าง AQP-1 ของหนูกับ FgAQPs พบว่า FgAQPs ช่วยการซึมผ่านของน้ำน้อยกว่า ดังนั้นการศึกษานี้วิเคราะห์ในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) จะช่วยบ่งชี้การทำหน้าที่ควบคุมปริมาณน้ำของโปรตีนชนิดนี้ในพยาธิฟาสซิโอลาไดโนนาค

ติดต่อขอรายละเอียดเพิ่มเติม	
รูป	หัวหน้าโครงการ
	ที่อยู่
รูป	โทร
	Email
	ผู้ร่วมวิจัย
	ที่อยู่
	โทร
	Email

ผศ.สุศิริ วิชสารี กรม
 ผศ.สุศิริ วิชสารี กรม
 ผศ.สุศิริ วิชสารี กรม
 ๐๒-๒๐๑๕๔๖
 gadsuc@mahidol.ac.th



Functional analysis of novel aquaporins from *Fasciola gigantica*

Amornrat Geadkaew^a, Julia von Bülow^b, Eric Beitz^b, Suksiri Vichasri Grams^c, Vithoon Viyanant^a, Rudi Grams^{a,*}

^a Graduate Program in Biomedical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Phaholyothin Road, KlongLuang, Pathumthani 12121, Thailand

^b Pharmazeutisches Institut, Christian-Albrechts-Universität, Kiel 24118, Germany

^c Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

Abstract

Fascioliasis, caused by liver flukes of the genus *Fasciola*, is an important disease of ruminants. In order to identify a potential new drug target we have studied a aquaporin (AQP) in *Fasciola gigantica*. AQPs facilitate the transport of water, glycerol and other small solutes across biological membranes. The structure, function, and pathology of AQPs have been extensively studied in mammals but data for AQPs from trematodes is still limited. In the present study, we have functionally characterized two closely related AQP isoforms, FgAQP-1 and FgAQP-2, from the trematode *F. gigantica*. Immunohistochemical analysis located the FgAQPs in the tegumental cells, their processes and the tegumen itself. In addition, they were present in the epithelial linings of testes and ovary. Expression in *Xenopus* oocytes of these FgAQPs increased osmotic water permeability 3–4-fold but failed to increase glycerol and urea permeability. AQPs have two highly conserved NPA motifs that are important for the function of the channel pore. In FgAQP-1 and FgAQP-2 the first NPA motifs changed to TAA. Substitution of Thr with Asn in the TAA motif of FgAQP-1 increased its water permeability twofold but did not affect urea and glycerol impermeability while the substitution at the pore mouth of Cys 204 by Tyr caused loss of water permeability. In addition, the FgAQPs did not increase methylamine and ammonia permeability after expression in yeast. In comparison to rat AQP-1 the described FgAQPs showed low water permeability and further in vivo analyses are necessary to determine their contribution to osmoregulation in *Fasciola*.

Keywords: Platyhelminthes *Fasciola gigantica* Aquaporin Tegument Testes Ovary

For More Information	
Picture	Name (FI) : Address : Tel. : Email :
Picture	Name : Mrs. Suksiri Vichasri Grams Address : Dept. of Biology, Fac. of Science Mahidol University, Rama VI Rd, BKK 10400 Tel. : 02-2015480 Email : qrsvc@mahidol.ac.th