บทความปริทัศน์ / Review article
Journal of Medicine and Health Sciences (Vol.15 No.2 August 2008)

# การใช้ Caenorhabditis elegans เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่าง ในการศึกษาระบบต่าง ๆ ของมนุษย์

สิรินันท์ นิลวรางกูร
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

## บทคัดย่อ

ช่วง 20 ปีที่ผ่านมามีการใช้ Caenorhabditis elegans (*C.elegans*) เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่างแทนสัตว์ทดลองเช่น หนู ในการศึกษาหน้าที่การทำงานของยีน การพัฒนาของตัวอ่อน การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การทำงานของระบบประสาท การแบ่งตัวแบบ meiosis และการศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ programmed cell death นอกจากนี้หลังจากมีการค้นพบกลไกการทำงานของ RNA interference ใน *C.elegans* และการค้นพบการนำ green fluorescence protein (GFP) ไปใช้ในการติดตามการแสดงออกของยีน ทำให้มีงานวิจัยที่ใช้ *C.elegans* เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่างมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมาก บทความนี้กล่าวถึงลักณะรูปร่างและวงจรชีวิตของ *C.elegans* เหตุผลที่ใช้ *C.elegans* เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่างในการศึกษาตามที่กล่าวข้างต้น รวมถึงตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ *C.elegans*

**คำสำคัญ**: Caenorhabditis elegans (*C.elegans*), model organism

# Why do more scientists use Caenorhabditis elegans as a model organism to study human system?

Sirinun Nilwarangkoon✉
Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

## Abstract

During the last two decades, the number of scientists using Caenorhabditis elegans (*C.elegans*) as the model organism, instead of experimental animals such as rat and mice, has increased. The fields of study included gene function, embryonic development and differentiation, embryonic morphogenesis, nervous system, meiotic cell division and genes involve in programmed cell death. Moreover, *C.elegans* has been drastically used as model organism after the revelation of mechanism of RNA interference and the discovery of green fluorescence protein (GFP) tagged technique to trace the localization of gene expression. This article reviewed the biological data of *C.elegans*, as well as provided some examples of research and reasons why scientists have been using *C.elegans* as model organism to study the above issues.

Sirinun Nilwarangkoon
Department of Biochemistry, Faculty of Medicine
Srinakharinwirot University
Sukhumwit 23, Wattana, Bangkok 10110
Telephone number: 02-260 2233 extension 4603

**ทำไมจึงใช้ *C.elegans* เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่างในการศึกษาชีววิทยาของสัตว์ชั้นสูง**

การศึกษา *C.elegans* เริ่มต้นขึ้นในปี ค.ศ. 1963 จากการสำรวจฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information1 ในงานวิจัยที่เกี่ยวกับ *C.elegans*พบว่าหลังจากที่เริ่มมีการตีพิมพ์ได้ 7 ปี มีงานวิจัยเพิ่มขึ้นอย่างมากมาย ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *C.elegans* ได้รับความสนใจมากมายในงานวิจัยซึ่งมีในหลากหลายสาขา โดยงานวิจัยที่โดดเด่นคืองานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ apoptosis และ RNA interference ซึ่งเป็นงานวิจัยที่ได้รับรางวัลโนเบล

**ตารางที่ 1 จำนวนงานวิจัยเกี่ยวกับ *C.elegans* ที่ได้ตีพิมพ์ตั้งแต่เริ่มขึ้นในปี 1963 จนถึงปัจจุบัน จากการสำรวจจากฐานข้อมูลของ** National Center for Biotechnology Information (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)

| ปี ค.ศ. | จำนวนผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ (ฉบับ) |
|---|---|
| 1963 – 1970 | 4 |
| 1971 – 1980 | 142 |
| 1981 – 1990 | 1,192 |
| 1991 – 2000 | 5,227 |
| 2001 – ธันวาคม 2008 | 9,735 |
| รวมทั้งสิ้น | 16,300 |

โดยทั่วไปในการศึกษาชีววิทยาของสัตว์ชั้นสูง มักจะใช้สัตว์อย่างเช่น หนู หรือ กระต่าย เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่างเพื่อศึกษากลไกหรือความผิดปกติต่างๆ เช่น ศึกษาการกลายพันธุ์ของยีน หน้าที่การทำงานของยีน และการพัฒนาการของระบบอวัยวะ แต่สัตว์เหล่านี้มีวงจรชีวิตยาวหลายปี ดังนั้นจึงต้องใช้เวลานานหลายสัปดาห์หรือเป็นเดือนจึงจะเห็นผล *C.elegans* เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นสูง (eukaryote) เช่นเดียวกับมนุษย์ ทำให้มีโครงสร้างของเซลล์ โครงสร้างในระดับอณูชีววิทยา วิธีการควบคุมการทำงานของร่างกาย เช่นเดียวกับสัตว์ชั้นสูง ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษา *C.elegans* อาจนำมาปรับใช้กับสิ่งมีชีวิตชั้นสูงได้ นอกจากนี้จากการศึกษาหน้าที่การทำงานของหลายยีนพบว่ายีนของมนุษย์สามารถทำงานแทนยีนของ *C.elegans* ได้ และยีนของ *C.elegans* หลายยีนทำหน้าที่เหมือนกับยีนของมนุษย์[2]

การใช้ *C.elegans* มีข้อดีคือ มีวงจรชีวิตที่สั้น มีชีววิทยาที่เรียบง่าย ลำตัวใสทำให้สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงภายในตัวได้ง่ายโดยใช้กล้องจุลทรรศน์เลี้ยงได้ง่ายในห้องทดลองโดยไม่ต้องการเครื่องมือพิเศษมากมาย เหมาะในการศึกษาและวิเคราะห์เกี่ยวกับพันธุศาสตร์เนื่องจากมีขนาดของจีโนมที่เล็ก ได้มีการศึกษาชีววิทยาของ *C.elegans* อย่างครบถ้วน ตั้งแต่ลำดับเบสทั้งหมดในจีโนม การกำหนดแผนที่ของยีน (gene mapping) หน้าที่ของแต่ละยีน การจัดทำ cell lineage ทั้งหมด การศึกษาระบบสืบพันธุ์และระบบประสาท การศึกษาพฤติกรรม ซึ่งจากการศึกษาพบว่า *C.elegans* มีลักษณะทางชีววิทยาหลายอย่างเหมือนกับมนุษย์ เช่น *C.elegans* พัฒนาจากเซลล์เดียวหลังจากผสมพันธุ์กลายเป็นหลายเซลล์โดยมีการแบ่งตัวแบบ meiosis จากนั้นมีการพัฒนารูปร่าง (morphology) จนกลายเป็นตัวอ่อน ตัวเต็มวัย เกิดการแก่ (senescence) และตายในที่สุด รวมทั้ง *C.elegans* มีระบบประสาท มีระบบกล้ามเนื้อ มีระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้ *C.elegans* ยังสามารถแสดงพฤติกรรมง่ายๆ ได้ เช่น อาการติด nicotine จากบุหรี่ และอาการเหงื่อที่แสดงออกเมื่อขาดกรดอะมิโนที่จำเป็น

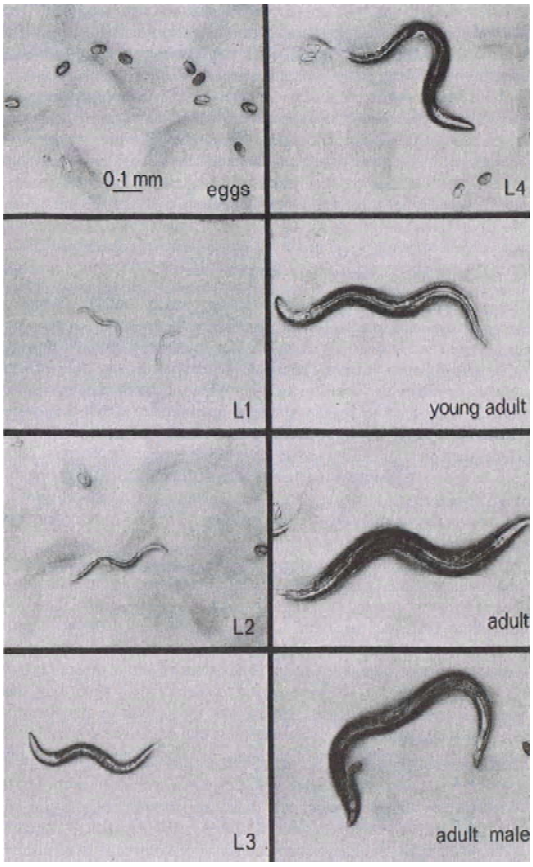
**ข้อมูลทั่วไป**[1, 2, 3]

Caenorhabditis elegans (*C.elegans*) คือหนอนขนาดเล็กชนิดหนึ่งใน phylum Nematoda เป็นหนอนที่ไม่ต้องพึ่งพาสิ่งมีชีวิตอื่นในการดำรงชีพ (free-living organism) อาศัยอยู่ในดิน มีขนาดยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร กินแบคทีเรียและสสารเน่าเปื่อยเป็นอาหาร มีอายุประมาณ 2-3 สัปดาห์ และมีวงจรชีวิตประมาณ 3 วัน C.elegans มี 2 เพศ คือ เพศผู้และ hermaphrodite ซึ่ง hermaphrodite ผลิตทั้ง oocyte และ sperm และสามารถผสมพันธุ์ในตัวเองได้ (self fertilisation) ส่วนเพศผู้สามารถผสมพันธุ์กับ hermaphrodite ได้ แต่ hermaphrodite ไม่สามารถผสมพันธุ์กันเองได้[2,3]

*C.elegans* เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีกายวิภาคและพันธุกรรมที่ไม่ซับซ้อน hermaphrodite ที่โตเต็มวัย (adult) มีเซลล์ที่ไม่ใช่เซลล์สืบพันธุ์ (somatic cell) 959 เซลล์ ส่วนตัวผู้ที่โตเต็มที่ (adult male) มี 1031 เซลล์ มีขนาดของจีโนมประมาณ 100 ล้านคู่เบส และมียีนประมาณ 20,000 ยีน ซึ่งมีจำนวนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับจีโนมมนุษย์ที่มีประมาณสามพันล้านคู่เบส และประมาณ 45,000 ยีน ทำให้การศึกษาหน้าที่การทำงานของยีนใน *C.elegans* ง่ายกว่ามาก นอกจากนี้ *C.elegans* ยังเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดแรกที่มีการหาลำดับเบสทั้งหมดในจีโนมได้เป็นผลสำเร็จ ซึ่งเทคนิคที่ใช้ในการหาลำดับเบสของจีโนมและเทคนิคที่ใช้ในการทำแผนที่ยีน (gene mapping) ของ *C.elegans* เป็นต้นแบบของเทคนิคที่ใช้ในการหาลำดับเบสและแผนที่ยีนของมนุษย์ด้วย[2,3]

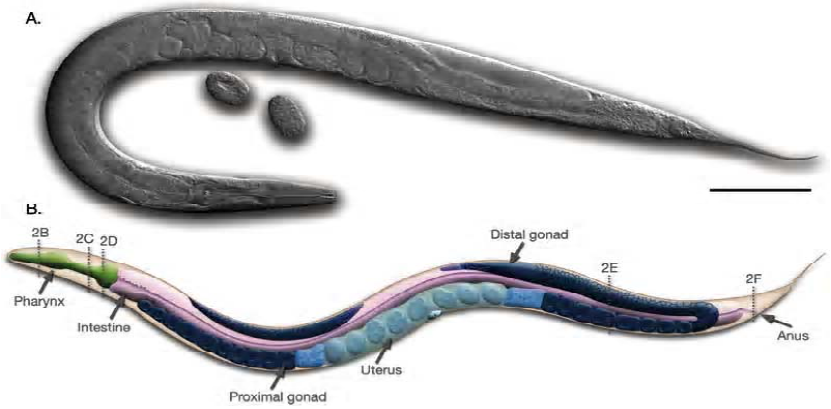
ในปัจจุบันมีการใช้ *C.elegans* เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่างในการศึกษาในหลายสาขาวิชากันอย่างแพร่หลาย เนื่องมาจากเหตุผลหลายประการ เช่น สามารถเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้โดยไม่ยุ่งยาก โดยสามารถเลี้ยงบน agar ในจานเพาะเลี้ยง หรือเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี Escherichia coli เป็นแหล่งอาหาร นอกจากนี้ยังสามารถแช่แข็งไว้ได้เป็นเวลานานและเมื่อนำมาละลายก็สามารถเจริญเติบโตต่อได้ทันที

ลำตัวของ *C.elegans* เป็นลำตัวเดี่ยว (unsegmented) สมมาตรทั้งซ้ายและขวา (bilaterally symmetrical) มีลำตัวยาวเรียว มีชั้นผิวนอกปกคลุมลำตัว มีช่องกลางลำตัวบรรจุด้วยของเหลว (fluid-filled pseudocoelomate) มีอวัยวะประกอบด้วย ปาก หลอดอาหาร (pharynx) ลำไส้ ต่อมเพศ (gonad) และ ทวารหนัก เพศผู้มี single-lobed gonad, vas deferens และหางที่มี neuron กล้ามเนื้อและโครงสร้างพิเศษที่มีไว้เพื่อผสมพันธุ์ ซึ่งโครงสร้างตรงส่วนหางนี้ทำให้สามารถแยกตัวผู้ออกจาก hermaphrodite ได้ (ในรูปที่ 1 และ 2) gonad เป็นที่ผลิต spermatid แล้วเก็บไว้ใน seminal vesicle และจะหลั่งออกมาผ่านทาง vas deferens ไปยัง cloaca



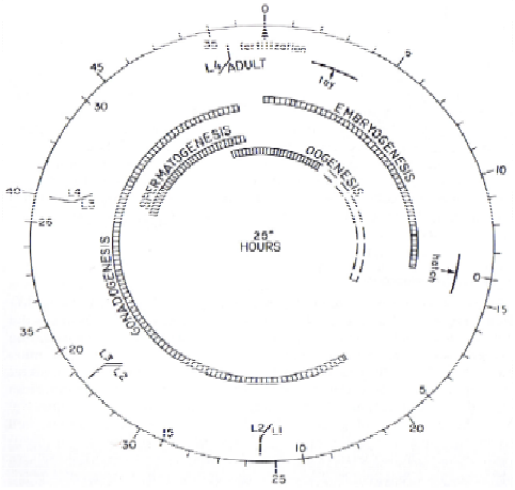

**รูปที่ 1 แสดง ไข่ larva ทั้ง 4 ระยะ และ ตัวเต็มวัยของ *C.elegans* รูปขวาล่างแสดง** hermaphrodite[2]

Journal of Medicine and Health Sciences
Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University
(Vol.15 No.2 August 2008)




**รูปที่ 2 กายวิภาคของ *C.elegans* hermaphrodite (ตัวเต็มวัย) A. ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงให้เห็นลำตัวใสสามารถมองเห็นอวัยวะภายใน** Scale bar 0.1 mm **B. ภาพวาดแสดงกายวิภาคของ *C.elegans*[3]**

ส่วน hermaphrodite มีรังไข่ 2 อัน ท่อนำไข่ spermatheca และ มดลูก spermatheca เชื่อมต่อกับมดลูก ซึ่งมีไข่ที่ถูกผสมแล้ว มดลูกมีทางเปิดไปภายนอกผ่านทาง vulva ซึ่งยื่นออกมาจากผิวหนัง ไข่ที่โตเต็มวัยจะถูกผสมกับ sperm จาก hermaphrodite เอง หรือจากตัวผู้ sperm จะเข้ามายังมดลูก ผสมกับไข่ และอยู่ใน spermatheca หลังจากไข่ผสมกับ sperm ได้ประมาณ 3 ชั่วโมง hermaphrodite ก็จะวางไข่ (lay) นอกลำตัว (รูปที่ 3) ซึ่งระหว่างอยู่ในไข่ จะมีการพัฒนาของตัวอ่อน (embryogenesis) และ 14 ชั่วโมงหลังผสมพันธุ์ ตัวอ่อนจะฟักออกจากไข่ (hatch) เมื่อออกจากไข่จะเรียกว่าขั้น larva 1 (L1) โดยระยะ larva จะแบ่งออกเป็น 4 ระยะ (L1-L4) ซึ่งแต่ละระยะจะคั่นด้วยการลอกคราบ เมื่อพ้นระยะ larva ก็จะกลายเป็นตัวเต็มวัย (adult)




**รูปที่ 3 แสดงวงจรชีวิตของ *C.elegans* ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตัวเลขที่แสดงอยู่นอกวงกลมใหญ่ คือ จำนวนชั่วโมงหลังจากผสมพันธุ์** (fertilization) **ตัวเลขข้างในวงกลมใหญ่ คือ จำนวนชั่วโมงหลังจากออกจากไข่** (hatch) **ส่วน** L1, L2, L3 **และ** L4 **คือ** larva **ระยะที่** 1, 2, 3 **และ** 4 **ตามลำดับ ตัวพิมพ์ใหญ่แสดงช่วงเวลาในการเกิด** embryogenesis, oogenesis, gonadogenesis **และ spermatogenesis**[2]

ในระยะ larva ถ้ามีอาหารไม่เพียงพอ larva จะเข้าสู่ระยะพักที่เรียกว่า dauer ซึ่งสามารถมีชีวิตอยู่ได้ถึงสามเดือน โดยไม่ต้องกินอาหารและไม่มีการพัฒนาเป็น larva ขั้นต่อไป เมื่อมีอาหารพอเพียง dauer ก็จะเข้าสู่วงจรชีวิตปกติต่อไป[2]

**ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ *C.elegans* เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่าง**

**1. จาก DNA double helix ของ Watson และ Crick นำไปสู่ programmed cell death**

หลังจากที่ James Watson, Maurice Wilkins และ Francis Crick ได้รับรางวัล Nobel สาขาสรีรวิทยาหรือการแพทย์ในปี ค.ศ.1962 สำหรับการค้นพบโครงสร้าง double helix ของ [illegible][4] การศึกษาเกี่ยวกับ *C.elegans* ก็ได้เริ่มต้นขึ้นในปี ค.ศ. 1963 โดย Sydney Brenner จากมหาวิทยาลัย Berkeley, California ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยได้ร่วมมือกับ Max Perutz ในการศึกษาเกี่ยวกับ cell differentiation, organ development และ ระบบประสาท โดยใช้สัตว์หลายเซลล์ที่มีชีววิทยาที่ไม่ซับซ้อนมาใช้เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่างในการศึกษา ซึ่งก็คือ *C.elegans* โดยเริ่มศึกษาวงจรชีวิต จากนั้นศึกษาเซลล์ทุกเซลล์ของ C.elegans และศึกษา lineage ของเซลล์ และในปี ค.ศ. 1974 Brenner ได้ตีพิมพ์ผลงานเรื่อง The genetics of Caenorhabditis elegans[5] ซึ่งบอกถึงวิธีการที่ใช้ในการแยกและการกำหนดตำแหน่งของยีนในจีโนมของ *C.elegans* โดยใช้วิธีการทำให้กลายพันธุ์ (gene mutation) ซึ่งการกลายพันธุ์ของบางยีนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรม การเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการเคลื่อนที่ และในปี ค.ศ. 1979 Brenner ได้ตีพิมพ์ผลงานเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ของยีนใน *C.elegans* ซึ่งมีผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์และต่อการพัฒนาของอวัยวะ[6]

ในปี ค.ศ. 1986 John Sulston จากมหาวิทยาลัย Cambridge ประเทศอังกฤษ ได้ตีพิมพ์ผลงานวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาการแบ่งตัวของเซลล์จากไข่ที่ถูกผสมแล้วจนกระทั่งได้ 959 เซลล์ ใน *C.elegans* ที่โตเต็มวัย[7] นอกจากนี้ Sulston ยังได้อธิบายถึง cell lineage ของระบบประสาท และพบว่า *C.elegans* ทุกตัวมีโปรแกรมการแบ่งเซลล์และ differentiation ที่แน่นอนและเหมือนกันทุกประการ ซึ่งจากงานวิจัยนี้ Sulston ยังพบว่าเซลล์บางเซลล์มีการตายแบบ programmed cell death และได้ค้นพบยีนตัวแรกที่เกี่ยวข้องกับการตายแบบ programmed cell death คือ *nuc-1* ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำลายดีเอ็นเอในเซลล์ที่ตายแล้ว

จากนั้น Robert Horvitz จากมหาวิทยาลัย Cambridge ประเทศอังกฤษ ได้ศึกษาว่าใน *C.elegans* มีโปรแกรมของยีนใดบ้างที่ควบคุมการตายของเซลล์ และในปี ค.ศ. 1986 Horvitz ได้ตีพิมพ์ผลงานเกี่ยวกับหน้าที่ของยีน *ced-3* และ *ced-4* ในการเริ่มต้นกระบวนการ programmed cell death ใน *C.elegans*[8] และในปี ค.ศ. 1992 Horvitz พบว่ายีน *ced-9* ใน *C.elegans* ทำหน้าที่ในการป้องกันเซลล์จากกระบวนการ programmed cell death[9] โดยไปมีปฏิสัมพันธ์กับยีน *ced-3* และ *ced-4* และ Horvitz ยังได้ค้นพบยีนอีกมากที่ทำหน้าที่กำจัดเซลล์ที่ตายแล้ว นอกจากนี้ Horvitz ได้แสดงว่าในจีโนมของมนุษย์มียีนที่คล้ายกับยีน *ced-3* ซึ่งปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พบว่ายีนส่วนใหญ่ที่ควบคุมการตายของเซลล์ใน *C.elegans* มีความคล้ายกับยีนในมนุษย์ และในปี ค.ศ. 2002 Sydney Brenner, H. Robert Horvitz และ John E. Sulston ได้รับรางวัลโนเบลสาขาสรีรวิทยาหรือการแพทย์ (Nobel Prize in Physiology or Medicine)[4] ในการค้นพบการควบคุมการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของอวัยวะ

และ programmed cell death[9] ซึ่งเป็นการศึกษาใน *C.elegans* จากการค้นพบยีน *ced-3, ced-4* และ *ced-9* เป็นการเริ่มต้นการศึกษา programmed cell death ในสัตว์ชั้นสูง และพบว่าทั้งใน *C.elegans* และสัตว์ชั้นสูงนั้นมีกระบวนการ programmed cell death ที่เหมือนกัน[9]

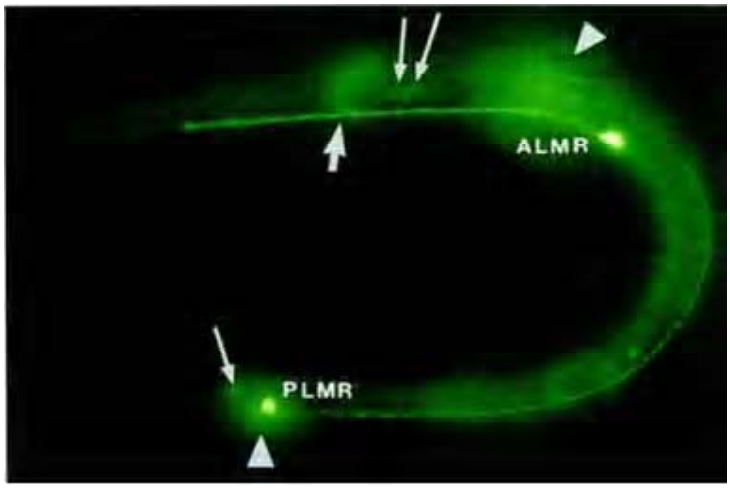
**2. การศึกษา RNA interference**

ในปี ค.ศ. 1998 Andrew A. Fire และ Craig Mello จาก Carnegie Institution of Washington ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ตีพิมพ์ผลงานเกี่ยวกับการค้นพบกลไกการสลาย mRNA ที่จำเพาะในเซลล์ของ *C.elegans*[10] กลไกนี้เรียกว่า RNA interference (RNAi) เกิดขึ้นเมื่อมีอาร์เอ็นเอสายคู่ถูกนำเข้าไปในเซลล์ ซึ่งอาร์เอ็นเอสายคู่นี้มีลำดับเบสที่เหมือนกับลำดับเบสบน mRNA ในเซลล์ เมื่ออาร์เอ็นเอสายคู่นี้เข้าไปในเซลล์แล้วจะทำให้เกิดการสลายของ mRNA ที่มีลำดับเบสตรงกัน ทำให้ไม่มีการสังเคราะห์โปรตีนจาก mRNA เส้นนั้น เรียกว่า gene silencing กระบวนการนี้เกิดได้ทั้งในพืช สัตว์ รวมถึงมนุษย์ด้วย ซึ่งการศึกษาใน *C.elegans* พบว่า gene silencing ถ่ายทอดไปยังลูกหลานด้วย จากผลงานนี้ทำให้ Andrew A. Fire และ Craig Mello ได้รับรางวัลโนเบลสาขาสรีรวิทยาหรือการแพทย์ในปี ค.ศ. 2006[4] ซึ่งการค้นพบนี้ได้ถูกใช้เป็นวิธีพื้นฐานในการศึกษาหน้าที่การทำงานของยีน และอาจนำไปสู่การรักษาโรคทางพันธุกรรมและโรคที่เกิดจากไวรัสต่อไป

ปัจจุบันมีการใช้ RNAi กับ *C.elegans* ในการศึกษาโรค หน้าที่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับโรคและการทำงานต่างๆ ซึ่งการศึกษาหน้าที่ของยีนโดยใช้ RNAi ใน *C.elegans* นั้นง่ายกว่าใช้ในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากสามารถใส่ RNAi เข้าไปใน E.coli ได้ และนำ E.coli นั้นไปเป็นอาหารให้กับ *C.elegans* ซึ่ง RNAi เมื่อเข้าไปในเซลล์ของ *C.elegans* ก็ทำงานได้เลยและความผิดปกติที่เกิดจาก RNAi ยังถ่ายทอดไปสู่ลูกหลานด้วย ทำให้สังเกตพฤติกรรมและหน้าที่ของยีนได้นาน

**3. งานวิจัยอื่น ๆ**

นอกจากงานวิจัยใน *C.elegans* ที่ได้รับรางวัลโนเบลแล้ว ยังมีงานวิจัยอีกชิ้นหนึ่งที่เกี่ยวกับ *C.elegans* และได้รับรางวัลโนเบลในปี ค.ศ. 2008 นั่นคือ การค้นพบโปรตีนสีเขียวเรืองแสง (green fluorescent protein, GFP) จากแมงกะพรุน ผู้ที่ได้รับรางวัล คือ Osamu Shimomura, Martin Chalfie และ Roger Y. Tsien[4] โดย Osamu Shimomura เป็นคนแรกที่สกัด GFP จากแมงกะพรุน Aequorea victoria เขาพบว่าโปรตีนนี้จะเรืองแสงเป็นสีเขียวภายใต้รังสีอุลตร้าไวโอเลต ส่วน Martin Chalfie เป็นผู้ที่นำยีนของ GFP มาต่อกับยีน γ-tubulin ของ *C.elegans* ภายใต้ promoter ของ ยีน γ-tubulin เพื่อติดตามตำแหน่งการแสดงออกของยีน[11] และพบว่ามีการแสดงออกที่ touch receptor neuron 2 แห่ง (รูปที่ 4)




**รูปที่ 4 การแสดงออกของยีน GFP ที่ต่ออยู่กับ ยีน γ-tubulin ภายใต้ γ-tubulin promoter โดยพบการแสดงออกที่ touch receptor neuron 2 ตำแหน่ง (เครื่องหมายสามเหลี่ยม)**[11]

และยังได้ตีพิมพ์บทความเกี่ยวกับการใช้ GFP เพื่อติดตามการแสดงออกของยีน และติดตามตำแหน่งของโปรตีนเป้าหมายอีกด้วย[12] ส่วน Roger Y.Tsien เป็นผู้ศึกษากลไกการเกิดแสงของโปรตีนเรืองแสง[12] พบว่าเมื่อกระตุ้น (excitation) โปรตีนเรืองแสงด้วยความยาวคลื่นหนึ่ง (490 นาโนเมตร สำหรับ GFP)[4,13] โปรตีนจะดูดกลืนแสงและคายแสง (emission) ออกมาในความยาวคลื่นที่ยาวกว่า (507 นาโนเมตร สำหรับ GFP) ซึ่งเมื่อใช้กล้องจุลทรรศน์ที่ติดตั้งตัวกรองแสง (filter) สำหรับสีนั้นก็จะสามารถมองเห็นสีที่เกิดขึ้นได้ ในปัจจุบันมีการใช้โปรตีนเรืองแสงอยู่หลายสี[12] ซึ่งเมื่อตัดต่อยีนสำหรับโปรตีนเรืองแสงเข้ากับยีนที่ต้องการศึกษาการแสดงออกภายใต้ promoter ของยีนนั้น ซึ่ง promoter เป็นตัวกำหนดว่ายีนนั้นจะมีการแสดงออกที่อวัยวะใด และการการที่ติดโปรตีนเรืองแสงเข้าไปทำให้ตำแหน่งที่มีการแสดงออกของยีนมองเห็นเป็นสีขึ้น และถ้าใช้โปรตีนเรืองแสงที่มีการคายแสงที่ความยาวคลื่นต่างกันตัดต่อเข้ากับยีนต่างชนิดกัน ทำให้สามารถติดตามการแสดงออกของยีนหลายตัวในเวลาเดียวกันได้ว่ายีนเหล่านั้นมีการแสดงร่วมกันหรือต่างกันอย่างไร เป็นการศึกษา subcellular localization ของโปรตีนต่างๆ

*C.elegans* ยังถูกนำไปใช้ในการศึกษาพฤติกรรมการติด nicotine[14] ซึ่งจากงานวิจัยแสดงให้เห็นว่า *C.elegans* แสดงอาการติด nicotine เช่นเดียวกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม คือ เมื่อให้ nicotine ใหม่ๆ การเคลื่อนไหวจะช้าลงและเปลี่ยนเป็นเร็วขึ้น (locomotion stimulation) เมื่อเลี้ยง *C.elegans* ในอาหารที่มี nicotine เป็นเวลานาน *C.elegans* เกิดอาการทนต่อ nicotine (nicotine tolerance) และเมื่อนำ *C.elegans* ที่ทนต่อ nicotine มาเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี nicotine พบว่า *C.elegans* มีการเคลื่อนที่ที่เร็วขึ้น และยังพบว่าถ้าเลี้ยง *C.elegans* ในอาหารที่ไม่มี nicotine สลับกับอาหารที่มี nicotine ทำให้ *C.elegans* มีอาการ sensitize ต่อ nicotine เมื่อทำการศึกษาในระดับอณูชีววิทยา พบว่า *C.elegans* ที่มียีน TRPC (transient receptor potential canonical) channel ที่ผิดปกติ ทำให้การตอบสนองต่อ nicotine เปลี่ยนไป ซึ่งถูกกู้ได้ (rescued) เมื่อใส่ยีน TRPC channel ของคนเข้าไปใน *C.elegans*

นอกจากนี้ยังมีการศึกษากลไกการเปลี่ยนแปลงของ neuronal protein ของ *C.elegans* เมื่อได้รับแอลกอฮอล์ด้วย จากการศึกษา[15] พบว่าเอธานอลไปกระตุ้นยีน slo-1

สำหรับโปรตีน BK potassium channel ทำให้ไปยับยั้งการทำงานของ neuron เมื่อดูจากพฤติกรรมพบว่า มีการเคลื่อนที่ที่ผิดปกติมีการวางไข่ที่ผิดปกติ เมื่อเลี้ยง *C.elegans* ในอาหารที่มีปริมาณเอธานอลสูง (400-500 mM) พบว่า *C.elegans* ไม่เคลื่อนที่และไม่วางไข่

จากการศึกษาของผู้เขียนในงานวิจัยวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาเอกเกี่ยวกับโปรตีนขนส่งกรดอะมิโน (amino acid transporter 4, AAT4) ใน *C.elegans* โดยใช้ RNAi ทำให้เกิด gene silencing ของยีนสำหรับโปรตีน AAT4[16] พบว่า AAT4 ซึ่งทำหน้าที่ขนส่งกรดอะมิโนที่มีแขนงข้างเป็นวงแหวน คือ phenylalanine, tryptophan และ tyrosine เมื่อเกิด gene silencing ทำให้ไม่มีการแสดงออกของ AAT4 และไม่สามารถขนส่งกรดอะมิโนเหล่านี้เข้าไปในเซลล์ได้ ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นกรดอะมิโนจำเป็น อาการของคนที่ขาดกรดอะมิโน Phenylalanine คือ สับสน ไม่มีแรง ความตื่นตัวลดลง ความจำลดลงและไม่มีความอยากอาหาร ซึ่ง *C.elegans* ที่ขาด Phenylalanine มีอาการคล้ายกับที่พบในคน คือ เคลื่อนที่ช้าลง ไม่กินอาหาร เมื่อออกไปนอกเขตที่เป็นอาหารแล้ว ไม่สามารถกลับมาที่เดิมได้ ซึ่งคล้ายกับอาการที่เกิดขึ้นในคน

ในปี ค.ศ. 1989 เริ่มมีการศึกษาเกี่ยวกับผลของรังสีต่อการทำงานของยีนโดยใช้ *C.elegans* เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่าง[17] โดยพบว่า ionizing radiation ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในบางส่วนของยีน ทำให้เกิดการเป็นหมัน และเกิดความเสียหายต่อ X-chromosome และในปี ค.ศ. 1991 เริ่มมีการนำ *C.elegans* มาใช้ในการศึกษาผลกระทบของการเดินทางในอวกาศ[18] ซึ่งพบว่าทำให้เกิดอาการคล้ายกับการแก่ (aging) และในปี ค.ศ. 2004 องค์การบริหารการบินและอวกาศแห่งชาติ ของสหรัฐอเมริกา (NASA, National Aeronautics and Space Administration) ได้ส่ง *C.elegans* ขึ้นไปกับกระสวยอวกาศโซยุส[19] เพื่อศึกษาผลกระทบของภาวะไร้แรงโน้มถ่วงต่อยีนใน *C.elegans* เพื่อทำให้เข้าใจ ผลกระทบของอวกาศต่อนักบินอวกาศที่ทำงานอยู่ในสถานีอวกาศนานาชาติ (international space station) นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลของรังสีในอวกาศต่อการกลายพันธุ์ของยีน ผลของการอยู่ในอวกาศต่อความเสถียรของจีโนม การแสดงออกของยีน microtubule และ microfilament สรีรวิทยาของกล้ามเนื้อ การแบ่งตัวของโครโมโซม และ germ cell apoptosis

นอกจากงานที่กล่าวมาข้างต้นยังมีการใช้ *C.elegans* เป็นตัวแทนในการศึกษา transcription factor ที่ควบคุมยีนที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนที่ใช้ในกระบวนการ differentiation ในระหว่างกระบวนการ spermatogenesis และoogenesis ของสเปิร์มและไข่[20] มีการศึกษาโปรตีนใน *C.elegans* ที่คล้ายกับ cytochrome P450 ซึ่งเมื่อทำให้เกิด gene silencing โดย RNAi พบว่าทำให้เกิดความผิดปกติเกี่ยวกับขั้ว (polarity) ของตัวอ่อนระหว่างที่มีการแบ่งตัวแบบ meiosis[21] มีการใช้ *C.elegans* เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่างในการศึกษา GABA synapses ที่ความผิดปกติมีความเกี่ยวข้องกับโรค epilepsy[22] เป็นต้น

## 4. ฐานข้อมูลเกี่ยวกับ *C.elegans*

ปัจจุบันมีฐานข้อมูลเกี่ยวกับ *C.elegans* อยู่มากโดยจะมีฐานข้อมูลใหญ่ คือ http://www.wormbase.org/[23] ซึ่งเป็นฐานข้อมูลสำหรับ C. elegans ทุกสายพันธุ์ และข้อมูลเกี่ยวกับทุกอย่างของ *C.elegans* มีข้อมูลทั้งลำดับเบสทั้งหมดในจีโนม ข้อมูลเกี่ยวกับยีนทั้งหมด genetic map, SNP, marker, allele ต่างๆ มีเครื่องมือที่ช่วยในการเปรียบเทียบลำดับเบส คือ Blast สามารถค้นหายีนที่ต้องการ ผลที่แสดงออกมาจะบอกรายละเอียดถึงตำแหน่งของยีน โปรตีนที่แสดงออก ทั้งยังมีการเปรียบเทียบกับยีนของสัตว์จาก species อื่น เช่น คน และ หนู เป็นต้น

**ฐานข้อมูลอื่นๆ ได้แก่**

http://biosci.umn.edu/CGC/[24] สั่งซื้อ *C.elegans* จาก *C.elegans* genetic center (GCG)
http://www.geneservice.co.uk/products/clones/Celegans_Fos.jsp[25] สำหรับซื้อ cosmid ที่บรรจุจีโนมหรือยีน
http://www.nig.ac.jp/section/kohara/koharae.html[26] เป็นที่รวบรวม EST clone
http://www.wormbook.org/[27] เป็นแหล่งความรู้เกี่ยวกับ *C.elegans*
http://www.wormatlas.org/[28] เป็นแหล่งข้อมูลการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับกายวิภาคของ *C.elegans*
http://www.wormimage.org/[29] เป็นฐานข้อมูลเกี่ยวกับรูปและภาพถ่ายของ *C.elegans*

**สรุป**

*C.elegans* เป็นสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ขนาดเล็กที่ปัจจุบันนำมาใช้เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่างในการศึกษาระบบต่างๆ ของร่างกาย เนื่องจาก *C.elegans* มีชีววิทยาและกายวิภาคที่ไม่ซับซ้อน มีวงจรชีวิตสั้นซึ่งเหมาะสำหรับการศึกษาหน้าที่ของยีนและการศึกษาเกี่ยวกับพันธุศาสตร์ ทำให้สามารถสังเกตติดตามผลได้โดยใช้เวลาไม่นาน จากงานวิจัยหลายเรื่อง พบว่ามียีนของ *C.elegans* หลายยีนเป็น homolog ของยีนในคน ทำให้ใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาได้ นอกจากนี้ *C.elegans* ยังมีพัฒนาการของตัวอ่อน (development and differentiation) เหมือนกับสัตว์ชั้นสูง จึงมีการใช้ *C.elegans* ในการศึกษาการแบ่งตัวและการพัฒนาการของตัวอ่อนด้วย *C.elegans* ยังถูกนำมาใช้เป็นสิ่งมีชีวิตตัวอย่างในการศึกษา apoptosis เนื่องจากกระบวนการ apoptosis ใน *C.elegans* มีวิถี (pathway) เช่นเดียวกับของสัตว์ชั้นสูงและยังมียีนหลายยีนที่เป็น homolog กันกับของมนุษย์ เนื่องจาก *C.elegans* มีระบบประสาทที่ไม่ซับซ้อน มี neuron น้อยกว่าในคนมาก ดังนั้นจึงมีการศึกษาการทำงานของระบบประสาทโดยใช้ *C.elegans* ด้วย นอกจากนั้น *C.elegans* สามารถแสดงพฤติกรรมง่ายๆ ได้ จึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาพฤติกรรมเมื่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงทั้งบนพื้นโลกและในอวกาศอีกด้วย และจากการค้นพบกลไกการทำงานของ RNAi และการพัฒนาการใช้ GFP จึงทำให้งานวิจัยใน *C.elegans* มีเพิ่มขึ้นมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านการค้นหาความสัมพันธ์ของยีนกับโรคต่างๆ ซึ่งจะนำไปสู่แนวทางในการรักษาและเพื่อความเป็นอยู่ที่ดีขึ้นของมนุษย์

**เอกสารอ้างอิง**

1. The U.S. National Library of Medicine and the National Institutes of Health. 2008 [cited 2008 Nov 25]; Available from: URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov
2. William WB, editor. The nematode Caenorhabditis elegans. Cold Spring Harbor Laboratory;1998.
3. Altun ZF and Hall DH. 2005. Handbook of C.elegans Anatomy. In Worm Atlas. http://www.wormatlas.org/handbook/contents.html
4. The Nobel Foundation [Online]. 2008 [cited 2008 Nov 25]; Available from: URL: http://nobelprize.org/nobel_prizes
5. Brenner S. The Genetics of Caenorhabditis elegans. Genetics 1979;77:71-94.
6. Hodgkin J, Horvitz HR, Brenner S. Non disjunction mutants of the nematode CAENORHABDITIS ELEGANS. Genetics 1979;91:67-94.
7. Coulson A, Sulston J, Brenner S, Karn J. Toward a physical map of the genome of the nematode Caenorhabditis elegans. Proc.Natl. Acad.Sci. USA 1986;83:7821-5.

8. Ellis HM, Horvitz HR. Genetic control of programmed cell death in the nematode C. elegans. Cell 1986;44:817-29.
9. Hengartner MO, Ellis RE, Horvitz HR. Caenorhabditis elegans gene ced-9 protects cells from programmed cell death. Nature1992;356:494-9.
10. Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans. Nature 1998;391:744-5.
11. Mitani S, Du H, Hall DH, Driscoll M, Chalfie M. Combinatorial control of touch receptor neuron expression in Caenorhabditiselegans. Development 1993;119:773-83.
12. Chalfie M, Tu Y, Euskirchen G, Ward WW, Prasher DC. Green fluorescent protein as a marker for gene expression. Science 1994;263:802-5.
13. Living Colors User Manual. Protocol No. PT2040-1. Version No. PP1Y691. Clonetech Laboratories, Inc. Published 26 November 2001.
14. Feng Z, Li W, Ward A, Piggott BJ, Larkspur ER, et al. A C. elegans Model of nicotine-dependent behavior: Regulation by TRP-family channels. Cell 2006;127:621-33.
15. Davies AG, Pierce-Shimomura JT, Kim H, VanHoven MK, Thiele TR, Bonci A, et al. A central role of the BK potassium channel in behavioral responses to ethanol in C. elegans. Cell 2003;115:655-6.
16. Identification and characterization of a Caenorhabditis elegans intestinal amino acid transporter: its roles in the assimilation of dietary protein and protein nutrition. Sirinun Nilwarangkoon, Taku Hirata, Kanokporn Phetdee, Ellappan Babu, Hitoshi Endou and Yoshikatsu Kanai. Ph.D. thesis research. Kyorin University School of Medicine 2007.
17. Nelson GA, Schubert WW, Marshall TM, Benton ER, Benton EV. Radiation effects in Caenorhabditis elegans, mutagenesis by high and low LET ionizing radiation. Mutat Res 1989;212:181-92.
18. Johnson TE, Nelson GA. Caenorhabditis elegans: a model system for space biol ogy studies. Exp Gerontol 1991;26:299-309.
19. National Aeronautics and Space Administration: Exploration Systems Mission Directorate [cited 2008 Nov 11] Available from: URL: http://weboflife.nasa.gov/earthBased.html
20. Henderson MA, Cronland E, Dunkelbarger S, Contreras V, Strome S, Keiper BD. A germline-specific isoform of eIF4E (IFE-1) is required for efficient translation of stored mRNAs and maturation of both oocytes and sperm. J Cell Sci. 2009;122:1529-39.
21. Benenati G, Penkov S, M?ller-Reichert T, Entchev EV, Kurzchalia TV. Two cytochrome P450s in Caenorhabditis elegans are essential for the organization of eggshell, correct execution of meiosis and the polarization of embryo. Dev. 2009;126:382-93.

22. Vashlishan AB, Madison JM, Dybbs M, Bai J, Sieburth D, Ch'ng Q, et al. An RNAi screen identifies genes that regulate GABA synapses. Neuron 2008;58:346-61
23. California Institute of Technology, Cold Spring Harbor Laboratory, Washington University at St. Louis, and The Wellcome Trust Sanger Institute. 1999-2008 [cited 2008 Nov 25]; Available from: URL: http: //www.wormbase.org/
24. The University of Minnesota. 1999-2007 [cited 2008 Nov 25]; Available from: URL: http://biosci.umn.edu/CGC/
25. Source BioScience plc 2008 [cited 2008 Nov 25]; Available from: URL: http://www. geneservice.co.uk/products/clones/ Celegans Fos.jsp
26. National Institute of Genetics 2004 [cited 2008 Nov 25]; Available from: URL: http:// www. nig.ac.jp/section/kohara/koharae.html
27. WormBook, ed. The C. elegans Research Community, WormBook, doi/10.1895/ wormbook.1.7.1,http://www.wormbook.org.
28. WormAtlas. Altun, Z. F. and Hall, D. H.(ed.s). 2002-2006. http://www.wormatlas.org
29. The Center for C.elegans Anatomy. 2001-2009[cited 2008 Nov 25]; Available from: URL:http://www.wormimage.org/