



ชีวโมเลกุลในสัตว์หลายเซลล์ที่ตอบสนองต่อเชื้อก่อโรค



ปริญญาโท  
ของ  
รัตนาวดี โคตรวงศ์

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
มีนาคม 2553

ชีวโมเลกุลในสัตว์หลายเซลล์ที่ตอบสนองต่อเชื้อก่อโรค



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

มีนาคม 2553

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ชีวโมเลกุลในสัตว์หลายเซลล์ที่ตอบสนองต่อเชื้อก่อโรค



บทคัดย่อ  
ของ  
รัตนาดี โคตรวงศ์

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
มีนาคม 2553

รัตนาวดี โคตรวงศ์. (2553). *ชีวโมเลกุลในสัตว์หลายเซลล์ที่ตอบสนองต่อเชื้อก่อโรค*. ปรินซ์นิพนธ์ กศ.ม. (เคมี). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการ  
ควบคุม : รองศาสตราจารย์ ดร.ธารารัตน์ ศุภศิริ, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุรชัย สมนานนท์

การติดเชื้อจากจุลชีพเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญในคน ในปศุสัตว์ สัตว์น้ำ และพืชทางการเกษตร ความเข้าใจภาพรวมของการตอบสนองทางชีวเคมีต่อการติดเชื้อไวรัส แบคทีเรีย หรือเชื้อก่อโรคต่างๆ ในคน และสัตว์เศรษฐกิจมีความสำคัญ เพื่อให้เทคโนโลยีระดับโมเลกุลสมัยใหม่ สามารถให้ข้อมูลที่นำไปแก้ปัญหาเหล่านั้นให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น และเนื่องจากข้อมูลต่างๆ ทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ในคนมีความสมบูรณ์มากที่สุด แม้ว่าจะยังไม่สมบูรณ์ทีเดียว ผู้วิจัยจึงได้ทำการวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนในคนในส่วนที่ยังไม่มีผู้รายงาน โดยการวิจัยวิธีการส่งสัญญาณในเซลล์ 5 วิธีคือ Toll, Apoptosis, Cell cycle, MAPK และ JAK/STAT ข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนคนได้ดาวน์โหลดมาจากรายชื่อข้อมูลต่างๆ คือ HPRD, BIND, DIP, IntAct, MINT และ Droid ข้อมูลวิถีทางชีวเคมีดาวน์โหลดมาจาก KEGG และ Reactome ข้อมูลอื่นๆ ดาวน์โหลดมาจาก HGNC, Uniprot, Ensembl และ NCBI สำหรับข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนของคนและเชื้อก่อโรคต่างๆ ได้มาจากบทความวิจัยที่ตีพิมพ์ไว้แล้ว เมื่อได้เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของคนแล้ว นำข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของคนที่ได้ไปสร้างแบบจำลองปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนแมลงหวี่ และไส้เดือน โดยการแปลงข้อมูล ortholog จากนั้นนำข้อมูลปฏิสัมพันธ์ที่ได้มาสร้างเป็นภาพ และวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Cytoscape สามารถสังเกตเห็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นศูนย์กลาง หรือฮับ ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความเชื่อมต่อกับโปรตีนตัวอื่นสูง และน่าจะมีบทบาทที่สำคัญในหน้าที่ต่างๆ ทางชีวเคมี สำหรับโปรตีนที่ยังไม่ทราบหน้าที่ที่ชัดเจน หรือทราบหน้าที่เพียงเล็กน้อย ก็พบในเครือข่ายด้วยเช่นกัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า โปรตีนที่ยังไม่ทราบหน้าที่เหล่านี้ น่าจะมีความสัมพันธ์ในเครือข่ายนี้ การศึกษาโดยใช้วิธีมองภาพรวมทั้งโปรตีโอมสำหรับแต่ละวิธี ช่วยให้เข้าใจบทบาทของโปรตีนต่างๆ ที่อาจมีส่วนต่อการตอบสนองต่อเชื้อก่อโรคได้ดีขึ้น

PATHOGEN RESPONSIVE BIOMOLECULES OF THE METAZOANS.

AN ABSTRACT  
BY  
RATTANAWADEE KOTEWONG



Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the  
Master of Education Degree in Chemistry  
At Srinakharinwirot University  
March 2010

Rattanawadee Kotewong (2010). *Pathogen responsive biomolecules of the metazoans*.

Master thesis, M.Ed. (Chemistry) Bangkok : Graduate School. Srinakharinwirot

University. Adviser committee : Assoc. Prof. Dr. Thararat Supasiri, Asst. Prof.

Dr. Burachai Sonthayanon.

Microbial infections are major health problems in human, livestock, aquatic animals and crop plants. Understanding overall biochemical responses to infections by viruses, bacteria, and other pathogens in human and economic animals is important before modern molecular technology can address those problems in a more effective way. Since biomedical data are readily more available for human system, albeit not complete, we thus analyzed human protein interactions from 5 selected biochemical pathways, namely:- Toll-like, Apoptosis, Cell cycle, MAPK and JAK/STAT. Protein interaction data were downloaded from various databases, namely HPRD, BIND, DIP, IntAct, MINT, Droid. Protein names or symbols were mapped into UniProt ID and the data unified. Pathways data were downloaded from KEGG and Reactome. Other information were from HGNC, UniProt, Ensembl and NCBI databases. Information on host proteins known to interact with pathogen proteins from published literature were also combined. Data were mined in a number of ways. Human protein interaction data were then mapped to construct models in fruit fly and nematode by ortholog identity mapping. The composite macromolecular networks for the pathways were visualized and analyzed by Cytoscape software. A number of high connectivity hubs which play central roles in various biochemical functions could be seen. Proteins known to interact with pathogens were found in high proportion to proteins in each pathway network. Unknown or lesser-known function proteins were also found attached to those hubs, giving additional information that they might participate in those functions. Our proteome-wide study for each pathway provided better understanding on roles those proteins might serve in pathogen responses in human and animals.

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ชีวโมเลกุลในสัตว์หลายเซลล์ที่ตอบสนองต่อเชื้อก่อโรค

ของ

รัตนาวดี โคตรวงศ์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมชาย สันติวัฒนกุล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. 2553

คณะกรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

.....ประธาน

.....ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธารารัตน์ ศุภศิริ)

(ดร.ปิยะดา จิตรตั้งประเสริฐ)

.....กรรมการ

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุรชัย สอนยานนท์)

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธารารัตน์ ศุภศิริ)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุรชัย สอนยานนท์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล รงค์นพรัตน์)

## ประกาศคุณูปการ

ความดีและประโยชน์ของปริญญานิพนธ์เรื่องนี้ ขอมอบให้แก่คุณพ่อมังกร – คุณแม่จันทร์เพ็ญ โคตรวงศ์ ผู้เป็นบุพการีที่รักเคารพยิ่งของผู้วิจัย

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ธารรัตน์ ศุภศิริ ที่กรุณารับเป็นประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ ตรวจสอบต้นฉบับ แก้ไขปรับปรุง ตลอดจนแนะนำสำนวนการใช้ภาษาในการเขียน และให้กำลังใจผู้วิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุรชัย สมนยานนท์ กรุณารับเป็นกรรมการควบคุมงานวิจัย ตรวจสอบปริญญานิพนธ์ และให้แง่คิดเกี่ยวกับการดำรงชีวิตแก่ผู้วิจัยในระหว่างทำงานวิจัย ดร.ปิยะดา จิตรตั้งประเสริฐ ที่กรุณารับเป็นประธานการสอบปริญญานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล รงศ์นพรัตน์ กรุณารับภาระเป็นกรรมการสอบปริญญานิพนธ์เรื่องนี้ ขอบพระคุณอาจารย์ประจำภาควิชาเคมีทุกท่านที่ประสาทความรู้ทางวิชาการแก่ผู้วิจัยจนประสบความสำเร็จในการศึกษา และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และสวทช. ที่มอบทุนอุดหนุนในการวิจัยแก่ผู้วิจัย ผ่านทุนวิจัยของอาจารย์บุรชัย สมนยานนท์

สุดท้าย ปริญญานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ ด้วยความช่วยเหลือจากหลายๆ ท่าน ขอขอบพระคุณ พี่นันทกานต์ เมืองพิล และพีวีรุพห์ ศรีรัตนกมล ที่แนะนำแนวทางในการทำรูปเล่มปริญญานิพนธ์ ชินวัตร ลีกิจเจริญผล (ชินนี่) และอุตร ทวีเมือง (พีตร) ที่ช่วยรวบรวมชุดข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนสำหรับการวิเคราะห์ และให้คำปรึกษาเกี่ยวกับฐานข้อมูล และเป็นธุระเขียนสคริปสำหรับประมวลผลข้อมูล คณาวุฒิ โคตรวงศ์ (น้องโอ) ที่ให้กำลังใจ และเป็นที่ปรึกษาในทุกๆ เรื่อง และขอบคุณเพื่อนๆ และพี่ๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจตลอดเวลาในการศึกษาจนสำเร็จ ขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

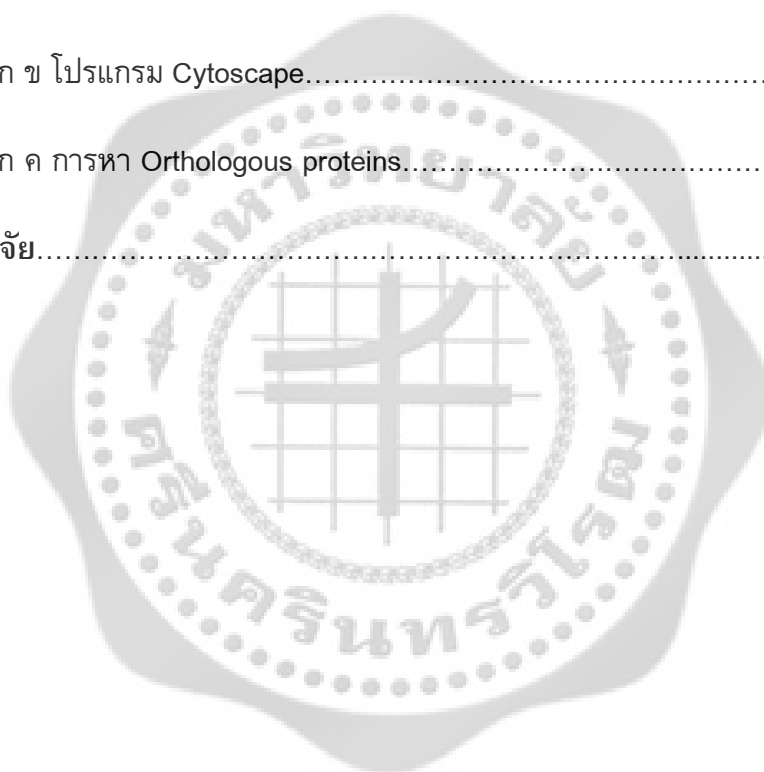
รัตนาวดี โคตรวงศ์

## สารบัญ

| บทที่                                                                   | หน้า      |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 บทนำ.....</b>                                                      | <b>1</b>  |
| 1.1 ภูมิหลัง.....                                                       | 1         |
| 1.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....                                 | 4         |
| 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....                                        | 31        |
| 1.4 ประโยชน์ของงานวิจัย.....                                            | 31        |
| 1.5 ขอบเขตของการวิจัย.....                                              | 32        |
| 1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ.....                                                | 32        |
| <b>2 วัสดุและวิธีการที่ใช้ในการทดลอง.....</b>                           | <b>35</b> |
| 2.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....                                | 35        |
| 2.2 วิธีการและขั้นตอนการทดลอง.....                                      | 36        |
| <b>3 ผลของการทดลอง.....</b>                                             | <b>40</b> |
| 3.1 ข้อมูลเกี่ยวกับโปรตีนใน 5 วิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของคน.....      | 40        |
| 3.2 ข้อมูลเกี่ยวกับโปรตีนใน 5 วิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของแมลงหวี่.... | 60        |
| 3.3 ข้อมูลเกี่ยวกับโปรตีนใน 5 วิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของไส้เดือน.... | 69        |
| <b>4 อภิปรายผลการทดลอง.....</b>                                         | <b>78</b> |
| <b>บรรณานุกรม.....</b>                                                  | <b>84</b> |

## สารบัญ(ต่อ)

| บทที่                                                                                                                                       | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ภาคผนวก.....                                                                                                                                | 88   |
| ภาคผนวก ก รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิธีการส่งสัญญาณ<br>ในแต่ละวิธีที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ<br>Reactome..... | 89   |
| ภาคผนวก ข โปรแกรม Cytoscape.....                                                                                                            | 94   |
| ภาคผนวก ค การหา Orthologous proteins.....                                                                                                   | 96   |
| ประวัติย่อผู้วิจัย.....                                                                                                                     | 98   |



## บัญชีตาราง

| ตาราง                                                                                                                                             | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 จำนวนโปรตีนคนในแต่ละวิธีที่รวบรวมได้จากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome.....                                                                         | 40   |
| 2 เปรียบเทียบจำนวนปฏิสัมพันธ์ที่ได้จากวิธี Uniprot ID retrieval และ<br>Depth First Search.....                                                    | 44   |
| 3 เปรียบเทียบจำนวนโปรตีนที่ได้จากวิธี Uniprot ID retrieval และ<br>Depth First Search.....                                                         | 44   |
| 4 ตัวอย่างโปรตีนที่มีค่า k มากกว่า 100 จากวิธีวิธีการส่งสัญญาณจาก<br>โมเลกุลตัวรับชนิดโกลีในคน.....                                               | 47   |
| 5 จำนวนโปรตีนคนในแต่ละวิธีที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคเปรียบเทียบกับ<br>โปรตีนจากงานวิจัยของ Dyer และคณะ.....                                   | 54   |
| 6 จำนวนปฏิสัมพันธ์ และโปรตีนในแต่ละวิธีการส่งสัญญาณของแมลงหวี่<br>ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในคน.....                         | 61   |
| 7 โปรตีนใน <i>D. melanogaster</i> ที่คาดว่าจะมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค.....                                                            | 65   |
| 8 จำนวนปฏิสัมพันธ์ และโปรตีนในแต่ละวิธีการส่งสัญญาณของ <i>C. elegans</i><br>ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในคน.....               | 69   |
| 9 โปรตีนใน <i>C. elegans</i> ที่คาดว่าจะมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค.....                                                                 | 74   |
| 10 รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิธีการส่งสัญญาณ<br>จากโมเลกุลตัวรับชนิดโกลีที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ<br>Reactome..... | 89   |

## บัญชีตาราง(ต่อ)

ตาราง

หน้า

|                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 11 รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิธีการส่งสัญญาณ<br>ของกระบวนการอะพอพโทซิสที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ<br>Reactome..... | 90 |
| 12 รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิธีการส่งสัญญาณ<br>ของวัฏจักรเซลล์ที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ<br>Reactome.....        | 91 |
| 13 รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิธีการส่งสัญญาณ<br>ของกระบวนการ MAPKที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ<br>Reactome.....      | 92 |
| 14 รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิธีการส่งสัญญาณ<br>ของกระบวนการ JAK/STATที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ<br>Reactome.....  | 93 |

## บัญชีภาพประกอบ

| ภาพประกอบ                                                                                         | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล KEGG.....                                                                  | 6    |
| 2 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล reactome.....                                                              | 7    |
| 3 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล HPRD.....                                                                  | 8    |
| 4 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล DIP.....                                                                   | 9    |
| 5 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล IntAct.....                                                                | 9    |
| 6 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล MINT.....                                                                  | 10   |
| 7 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล Droid.....                                                                 | 11   |
| 8 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล UniProt.....                                                               | 12   |
| 9 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล inparanoid.....                                                            | 12   |
| 10 วิธีการส่งสัญญาณของโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ในคน.....                                             | 14   |
| 11 เปรียบเทียบวิธีการส่งสัญญาณของโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของคน<br>และแมลงหวี่..... | 15   |
| 12 แผนภาพการส่งสัญญาณผ่าน TLR3, TLR7, TLR8 และ TLR9 ในการตอบสนองต่อ<br>ไวรัส.....                 | 16   |
| 13 วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการอะพอพโทซิสในคน.....                                                | 18   |
| 14 แผนภาพกระบวนการอะพอพโทซิสในแมลงหวี่ ( <i>Drosophila</i> ).....                                 | 19   |
| 15 วิธีการส่งสัญญาณของวัฏจักรเซลล์ในคน.....                                                       | 20   |
| 16 โปรตีนในวัฏจักรเซลล์ของคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับไวรัสหลายชนิด.....                                 | 22   |

## บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

| ภาพประกอบ                                                                                                                                                | หน้า |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 17 วิธีการส่งสัญญาณ MAPK ในคน.....                                                                                                                       | 23   |
| 18 วิธีการส่งผ่านสัญญาณ MAPK ในแมลงหวี่.....                                                                                                             | 24   |
| 19 แผนภาพการส่งสัญญาณ MAPK ในการต้านการติดเชื้อของไส้เดือน ( <i>C. elegans</i> ).....                                                                    | 25   |
| 20 วิธีการส่งสัญญาณ JAK-STAT ในคน.....                                                                                                                   | 26   |
| 21 แผนภาพการส่งผ่านสัญญาณ JAK-STAT ในแมลงหวี่.....                                                                                                       | 27   |
| 22 แผนภาพการป้องกันไวรัสของวิธีการส่งสัญญาณ JAK-STAT ในแมลงหวี่.....                                                                                     | 28   |
| 23 ขั้นตอนการดำเนินงานในงานวิจัยนี้.....                                                                                                                 | 36   |
| 24 ตัวอย่างเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่สร้างจากข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ที่ได้จาก<br>วิธี Uniprot ID retrieval ของวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์.....  | 42   |
| 25 ตัวอย่างภาพเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่สร้างจากข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์<br>ที่ได้จากวิธี Depth first search ของวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์..... | 43   |
| 26 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ในคน.....                                                                              | 46   |
| 27 การมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนโปรตีน UCHL1_HUMAN ในวิธีการส่งสัญญาณจาก<br>โมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ในคน.....                                                   | 48   |
| 28 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณอะพอพโทซิสในคน.....                                                                                            | 49   |
| 29 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของวัฏจักรเซลล์ในคน.....                                                                                       | 50   |
| 30 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK ในคน.....                                                                                    | 51   |
| 31 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT ในคน.....                                                                                | 52   |

## บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

| ภาพประกอบ                                                                                                                          | หน้า |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 32 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ทั้ง 5 วิธีการส่งสัญญาณในคน.....                                                                            | 53   |
| 33 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิธีการส่งสัญญาณ<br>จากโมเลกุลตัวรับชนิดโกลีในคน.....                                 | 55   |
| 34 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิธีการส่งสัญญาณ<br>ของกระบวนการอะพอพโทซิส.....                                       | 56   |
| 35 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิธีการส่งสัญญาณ<br>ของวัฏจักรเซลล์.....                                              | 57   |
| 36 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิธีการส่งสัญญาณ<br>ของกระบวนการ MAPK.....                                            | 58   |
| 37 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิธีการส่งสัญญาณ<br>ของกระบวนการ JAK/STAT.....                                        | 59   |
| 38 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิธีการส่งสัญญาณของทั้ง 5 วิธี.....                                                   | 60   |
| 39 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของ<br>กระบวนการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกลีใน <i>D. melanogaster</i> ..... | 62   |
| 40 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของ<br>กระบวนการอะพอพโทซิสใน <i>D. melanogaster</i> .....                        | 62   |
| 41 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของ<br>วัฏจักรเซลล์ใน <i>D. melanogaster</i> .....                               | 63   |

## บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

| ภาพประกอบ                                                                                                                      | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 42 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณของ<br>กระบวนการ MAPK ใน <i>D. melanogaster</i> .....                        | 63   |
| 43 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณของ<br>กระบวนการ JAK/STAT ใน <i>D. melanogaster</i> .....                    | 64   |
| 44 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของกระบวนการทั้ง 5 วิถีการส่งสัญญาณ<br>ใน <i>D. melanogaster</i> .....                          | 64   |
| 45 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ<br>วิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ใน <i>D. melanogaster</i> ..... | 66   |
| 46 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ<br>วิถีการส่งสัญญาณอะพอพโทซิสใน <i>D. melanogaster</i> .....                | 66   |
| 47 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ<br>วิถีการส่งสัญญาณของวัฏจักรเซลล์ใน <i>D. melanogaster</i> .....           | 67   |
| 48 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ<br>วิถีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK ใน <i>D. melanogaster</i> .....        | 67   |
| 49 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ<br>วิถีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT ใน <i>D. melanogaster</i> .....    | 68   |
| 50 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ<br>กระบวนการทั้ง 5 วิถีการส่งสัญญาณใน <i>D. melanogaster</i> .....          | 68   |

## บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

| ภาพประกอบ                                                                                                                      | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 51 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณของ<br>กระบวนการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ใน <i>C. elegans</i> ..... | 70   |
| 52 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณ<br>ของกระบวนการอะพอพโทซิสใน <i>C. elegans</i> .....                         | 71   |
| 53 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณ<br>ของวัฏจักรเซลล์ใน <i>C. elegans</i> .....                                | 71   |
| 54 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณ<br>ของกระบวนการ MAPK ใน <i>C. elegans</i> .....                             | 72   |
| 55 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณของ<br>กระบวนการ JAK/STAT ใน <i>C. elegans</i> .....                         | 72   |
| 56 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของกระบวนการทั้ง 5 วิถีการส่งสัญญาณ<br>ใน <i>C. elegans</i> .....                               | 73   |
| 57 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ<br>วิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ใน <i>C. elegans</i> .....      | 75   |
| 58 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ<br>วิถีการส่งสัญญาณอะพอพโทซิสใน <i>C. elegans</i> .....                     | 75   |
| 59 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ<br>วิถีการส่งสัญญาณของวัฏจักรเซลล์ใน <i>C. elegans</i> .....                | 76   |

## บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

| ภาพประกอบ                                                                | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------|------|
| 60 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ                       |      |
| วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK ใน <i>C. elegans</i> .....             | 76   |
| 61 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ                       |      |
| วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT ใน <i>C. elegans</i> .....         | 77   |
| 62 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ                       |      |
| กระบวนการทั้ง 5 วิธีการส่งสัญญาณใน <i>C. elegans</i> .....               | 77   |
| 63 หน้าต่างโปรแกรม Cytoscape.....                                        | 94   |
| 64 ชุดข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนสำหรับสร้างเครือข่ายปฏิสัมพันธ์     |      |
| ในโปรแกรม Cytoscape.....                                                 | 95   |
| 65 Uniprot ID ของโปรตีนที่ตรงกันระหว่างโปรตีนคนกับโปรตีนของแมลงหวี่..... | 96   |
| 66 การเปลี่ยนปฏิสัมพันธ์ของคนไปเป็นปฏิสัมพันธ์ของแมลงหวี่.....           | 97   |

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ภูมิหลัง

โรคติดเชื้อที่เกิดขึ้นในคนและสัตว์ เกิดขึ้นได้จากจุลชีพต่างๆ เท่าที่รู้จักกันแล้วก็มีนับพันชนิด ซึ่งจัดเป็นกลุ่มใหญ่ได้หลายกลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา โปรโตซัว และไวรัส ตัวอย่างโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย ได้แก่ โรควัณโรค (tuberculosis) ซึ่งพบได้ทั้งในคนและสัตว์ สาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียชนิด *Mycobacterium tuberculosis* โรคที่เกิดจากเชื้อราที่พบในคน ได้แก่ โรคกลาก (Ringworm/serpigo) ซึ่งเป็นโรคผิวหนังจากเชื้อราพวกเดอร์มาโตไฟต์ (dermatophyte) โรคจากเชื้อราที่พบได้ทั้งในคนและในสัตว์ ได้แก่ โรคสปอโรทริโคซิส (sporotrichosis) หรือเฟลายสปอร์โรทริโคซิส (feline sporotrichosis) เป็นโรคเชื้อราที่เกิดในแมว และติดต่อสู่คนได้ง่ายโดยการสัมผัส โรคที่เกิดจากโปรโตซัวที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วง ได้แก่ เชื้ออะมีบา (Amoeba) เชื้อไกอาเดีย (Giardia) และเชื้อในกลุ่มคอกซิเดีย (Coccidia) และกลุ่มสุดท่าย โรคที่เกิดจากไวรัสในคน โรคที่สำคัญได้แก่ โรคเอดส์ โรคไวรัสตับอักเสบ โรคหัดเยอรมัน โรคคางทูม เป็นต้น ส่วนโรคที่เกิดจากไวรัสในสัตว์ ที่พบบ่อยได้แก่ โรคไข้หวัดนก โรคปากเปื่อย-เท้าเปื่อย โดยในบรรดาจุลชีพทั้งสี่กลุ่มนั้น กลุ่มไวรัส นับว่าเป็นปัญหาหลัก ทั้งในคน สัตว์ และยังรวมถึงพืช อีกด้วย

สาเหตุที่ไวรัสก่อให้เกิดปัญหามากเนื่องจาก การดำรงชีพของไวรัสอาศัยกลไกระดับโมเลกุลของเซลล์เจ้าบ้านในการทำงาน ต่างจากสิ่งมีชีวิตกลุ่มอื่นๆ ดังนั้นการหายมารักษาที่มุ่งเป้าโมเลกุลเจ้าบ้านในเซลล์ที่ติดเชื้อจึงทำได้ลำบาก เพราะยาต่างๆ มักจะมีผลต่อการทำงานของเซลล์ปกติด้วย นอกจากนี้ไวรัสยังมีการแบ่งตัวและผลิตไวรัสลูกหลานออกมาเป็นจำนวนมากได้อย่างรวดเร็ว ไวรัสหลายชนิดมีกลไกที่ช่วยให้มันหนีจากการถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์เจ้าบ้านได้ และไวรัสบางชนิดมีอัตราการกลายพันธุ์สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ไวรัสในกลุ่ม RNA viruses ไวรัสทั้งหมดสามารถสร้างโปรตีนบางตัวที่กำหนดรหัสโดยยีนส์จากจีโนมของไวรัสเอง แต่โมเลกุลของโปรตีนไวรัสที่สร้างออกมามีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนหลายตัวของเซลล์เจ้าบ้าน เป็นผลให้เมตาบอลิซึม และการส่งสัญญาณทางชีวเคมีภายในเซลล์ที่ติดเชื้อปรับเปลี่ยนไป ดังนั้นการทำงานของชีวโมเลกุลต่างๆ ของเซลล์เจ้าบ้านโดยรวมจะเปลี่ยนไปในทางที่จีโนมของไวรัสเป็นตัวกำหนด ทำให้เซลล์อวัยวะ หรือทั้งร่างกายเกิดการเจ็บป่วย หรืออาจถึงตายอย่างรวดเร็ว เกิดได้ทั้งในคน สัตว์ พืช และจุลชีพ ปัญหาที่มีจึงเป็นปัญหาทั้งทางการแพทย์ การเกษตร และทางเศรษฐกิจ

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อนี้ ส่งผลให้คน และสัตว์เสียชีวิตเป็นจำนวนมาก ห้องปฏิบัติการวิจัยทั้งในมหาวิทยาลัยของรัฐ และในภาคเอกชนทั่วโลก จึงทุ่มทรัพยากรบุคคล เวลา และงบประมาณในการวิจัยเพื่อให้เข้าใจถึงกลไกการทำงานของเชื้อต่างๆ ส่วนบริษัทยาข้ามชาติก็มีการใช้เงินหลายหมื่นล้านเหรียญสหรัฐในแต่ละปีเพื่อทำการศึกษาวิจัย และพัฒนายาใหม่ๆ ขึ้นมา ดังนั้นความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีในการทำความเข้าใจเกี่ยวกับการติดเชื้อของเชื้อโรค และเพื่อจะระบุโมเลกุลเป้าหมายเพื่อใช้ในการออกแบบโมเลกุลของยาเพื่อการรักษา ซึ่งมุ่งหวังจะลด

การสูญเสียชีวิตของประชากรคน และสัตว์เลี้ยง และความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจที่จะตามมาจึงเป็นสิ่งจำเป็น ขณะเดียวกันยังช่วยให้เกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ ลดการนำเข้า และก่อให้เกิดรากฐานที่สำคัญในการพัฒนาอุตสาหกรรมเทคโนโลยีชีวภาพ

การศึกษากลไกทางชีวเคมีของการเกิดโรคมีการศึกษากันมากในคน ตัวอย่างเช่น การศึกษาวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการอะพอพโทซิส ในการรักษาโรคโลหิตเป็นพิษ (Sepsis)<sup>(1)</sup> การศึกษากลไกการอักเสบในคน การวิเคราะห์เครือข่ายปฏิสัมพันธ์<sup>(2)</sup> และการศึกษาการตายของเซลล์มะเร็งจากวิธีการส่งสัญญาณของโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ ทำให้พบว่ามีสาเหตุมาจากการส่งสัญญาณของ TRADD<sup>(3)</sup> เป็นต้น

นอกจากการศึกษาวิจัยในคนแล้ว ยังมีการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ เป็นแบบจำลองด้วย เช่น การศึกษากลไกทางชีวเคมีของการเกิดโรคในแมลงหวี่ชนิด *Drosophila melanogaster* ได้มีการศึกษาวิธีการส่งสัญญาณของโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ ซึ่งเป็นระบบภูมิคุ้มกันของแมลงหวี่ที่มีความสำคัญมาก<sup>(4)</sup> การศึกษากลไกการต้านไวรัส (RNA virus)<sup>(5)</sup> และการวิเคราะห์กลไกการติดเชื้อแบคทีเรียของแมลงหวี่<sup>(6)</sup> และการศึกษากระบวนการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ได้แก่ ไล์เดียน (*Caenorhabditis elegans*) และยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae* ; Baker's yeast) ตัวอย่างเช่น การศึกษาวัฏจักรเซลล์ของยีสต์ โดยอาศัยการสร้างโมเดลการส่งสัญญาณของ transcription factors<sup>(7)</sup>

ได้มีการประมวลข้อมูลเกี่ยวกับการส่งสัญญาณภายในเซลล์ และวิถีของเมตาบอลิซึมไว้เป็นแหล่งทรัพยากรออนไลน์หลายร้อยแห่ง—แหล่งฐานข้อมูลเหล่านี้มีการรวบรวมไว้ที่ Pathguide (HYPERLINK "<http://www.pathguide.org/>" <http://www.pathguide.org/>) ตัวอย่างฐานข้อมูลที่สำคัญได้แก่ KEGG (HYPERLINK "<http://www.KEGG.com/>" <http://www.KEGG.com/>) และ Reactome (HYPERLINK "<http://www.reactome.org/>" <http://www.reactome.org/>) เป็นต้น

จากข้อมูลของ KEGG และ Reactome มีการจัดกลุ่มปฏิกิริยาทางชีวเคมีในกระบวนการเมตาบอลิซึม และการส่งสัญญาณภายในเซลล์ เป็นวิถี หรือ pathways ต่างๆ เป็นจำนวนมาก แต่วิถีที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันด้วย ได้แก่ Toll-like receptor, Apoptosis, Cell cycle, MAPK และ JAK-STAT signaling pathway เป็นต้น

นอกจากการใช้งานแผนผังปฏิกิริยาบนเว็บแล้ว มีซอฟต์แวร์ที่ใช้ในการศึกษา และวิจัยทางด้านนี้หลายตัว ตัวอย่างที่เป็นที่รู้จักกันดีได้แก่ cytoscape ซึ่งเป็นโปรแกรมสำหรับใช้ในการศึกษาสร้างแบบจำลอง ข้อมูลประเภทปฏิสัมพันธ์ระหว่างกัน เช่น molecular interactions เป็นต้น

การศึกษาวិถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ และปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนมีความสำคัญมาก เพราะเป็นพื้นฐานของการศึกษา ในเชิงชีววิทยาระบบ (Systems Biology) ต่อไปได้อีกในอนาคต

การศึกษาวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ และปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนในคนและสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ที่นักวิทยาศาสตร์ใช้เป็นแบบจำลองนั้น สามารถนำมาสร้างแบบจำลองสำหรับสิ่งมีชีวิตทั่วไปได้ โดยอาศัยการเทียบกับ orthologous proteins ซึ่งก็คือ โปรตีนในสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันที่มีบรรพบุรุษร่วมกัน และคาดว่าจะมีอันตรกิริยาเหมือนกัน ดังนั้นมีความเป็นไปได้ว่า จะทำหน้าที่ทางชีวเคมีคล้ายกัน

ปัจจุบันการศึกษาแนวหนึ่งที่กำลังเป็นที่นิยม เนื่องจากมีฐานข้อมูลให้ศึกษาได้มากขึ้น คือ การศึกษาเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของชีวโมเลกุล (Molecular interaction network or protein-protein interaction network)<sup>(8)</sup> และวงจรการควบคุมการทำงานเชิงพันธุศาสตร์ หรือเชิงการถอดรหัสของยีน (transcriptional or genetic regulatory circuits) โดยได้มีการนำมาใช้สำหรับการศึกษาวิวัฒนาการของโมเลกุล ศึกษากระบวนการต่าง ๆ ของเซลล์ และอธิบายหน้าที่ของโปรตีนที่ค้นพบใหม่โดยเปรียบเทียบจากฐานข้อมูลที่มีอยู่ และจากผลการศึกษาที่มีอยู่มากมายเกี่ยวกับปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน (protein interaction) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงได้มีการนำเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน (protein network) มาใช้เป็นเครื่องมือในการไขความกระจ่างของโมเลกุลพื้นฐานที่ทำให้เกิดโรค โดยเครือข่ายปฏิสัมพันธ์นี้สามารถใช้ในการระบุยีนที่ก่อให้เกิดโรคใหม่ การศึกษาลักษณะเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ (network) ของโปรตีนและเชื้อโรค ระบุโรคที่มีความสัมพันธ์กับเครือข่ายปฏิสัมพันธ์กลุ่มย่อย (subnetworks) และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่เป็นพื้นฐานของโรคแต่ละชนิด และท้ายที่สุดคือ การประยุกต์ใช้กับโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ และพัฒนายาให้มีคุณภาพ ครอบคลุม และเกิดผลข้างเคียงน้อยที่สุด<sup>(9)</sup>

ในงานวิจัยนี้ จะศึกษาชุดของปฏิกิริยาทางชีวเคมีในระบบส่งสัญญาณภายในเซลล์ (biochemical signal transduction) ที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อไวรัสในคนและสัตว์หลายเซลล์ เพื่อจะดูภาพรวมในระดับชีววิทยาระบบ โดยอาศัยการรวบรวมข้อมูลของปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่มาจากข้อมูลจำนวนมากที่มีการศึกษากันแล้ว ผลของการศึกษานี้คาดว่าจะทำให้ทราบขอบเขตอันกว้างขวางของปฏิกิริยาที่มีความสำคัญต่อการเกิดพยาธิสภาพ หรือการตอบสนองของเซลล์ต่อเชื้อโรคหลังเกิดการติดเชื้อ เพื่อให้มีความเข้าใจที่มากขึ้น และเพื่อนำไปสู่การมองหากลุ่มยีนส์และโปรตีนเป้าหมาย เพื่อการบำบัดรักษาโรคติดเชื้อสำหรับคน และสัตว์ต่อไปในอนาคต

## 1.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 1.2.1 การสื่อสารของเซลล์ (Cellular signal transduction)

การสื่อสารของเซลล์เป็นกระบวนการที่ซับซ้อน และมีหลายขั้นตอนที่เกี่ยวข้อง การสื่อสารของเซลล์แบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่ การสื่อสารระหว่างเซลล์ (Intercellular signal transduction) และการสื่อสารภายในเซลล์ (Intracellular signal transduction)

การสื่อสารระหว่างเซลล์ เป็นการสื่อสารระหว่างเซลล์กับเซลล์ ในทางเคมีแล้วจะมีโมเลกุลหลายประเภทถูกผลิตขึ้นจากเซลล์ที่เรียกว่า signaling cell ตัวอย่างของกลุ่มสารชีวโมเลกุลที่เป็นลิแกนด์ ได้แก่ สารสื่อประสาท (neurotransmitters) ฮอร์โมน (hormones) หรือปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับร่างกาย (trophic factors) เป็นต้น ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้สามารถถูกตรวจจับด้วยเซลล์เป้าหมายที่เรียกว่า target cell ซึ่งมีโปรตีนที่สามารถจดจำโมเลกุลนั้นแบบจะเพาะ และมีตำแหน่งอยู่บนผิวเซลล์ (cell membrane) หรือในนิวเคลียส โปรตีนที่ทำหน้าที่จดจำเรียกว่า receptor proteins ซึ่งเมื่อมีการจับแบบจำเพาะแล้วจะมีหน้าที่แรกในการแปลง และส่งสัญญาณภายในเซลล์เป้าหมาย โดยโปรตีน receptor จะแปลงสัญญาณภายนอกที่เข้ามา (extracellular signal) ให้เป็นสัญญาณที่สามารถส่งผ่านเข้าไปภายในเซลล์ (intracellular signal) ได้

การสื่อสารภายในเซลล์ เป็นกระบวนการการส่งสัญญาณภายในเซลล์ ภายหลังจาก receptor รับสัญญาณจากภายนอกที่จำเพาะกับตัวรับสัญญาณของเซลล์เป้าหมาย เมื่อตัวรับสัญญาณเปิดการทำงาน จะไปกระตุ้นวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ โดยไปกระตุ้นการตอบสนองของโปรตีนต่างๆ ภายในเซลล์ ตัวอย่างของโมเลกุลที่รับสัญญาณจาก receptor ได้แก่ GTP-binding proteins โมเลกุลส่งสัญญาณขั้นที่ 2 (second messenger molecules) เช่น cAMP และ cGMP โปรตีน kinases (protein kinases) โปรตีนที่เป็นช่องควบคุมการเคลื่อนย้ายไอออนเข้า-ออกเซลล์ (ion channels) และโปรตีนอื่นๆ ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเซลล์เป้าหมาย โดยโปรตีนภายในเซลล์เหล่านี้ จะมีการส่งสัญญาณกันเป็นทอดๆ มีการขยายสัญญาณ และเปลี่ยนรูปแบบของสัญญาณ ซึ่งสัญญาณโมเลกุลนี้จะทำหน้าที่ควบคุมพฤติกรรม การตอบสนองของเซลล์ต่อสิ่งที่มีมากระตุ้น

#### 1.2.1.1 วิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ (Intracellular signaling cascades)

สัญญาณที่ได้รับจากโปรตีน receptor จะถูกส่งต่อเป็นขั้นตอนอย่างมีระบบผ่านสัญญาณโมเลกุลภายใน (intracellular signaling molecule) โดยสัญญาณโมเลกุลเหล่านี้ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นโปรตีน นอกจากนั้นก็เป็นนิวคลีโอไทด์ เช่น cAMP, cGMP หรือไอออน เช่น  $\text{Ca}^{2+}$  เป็นต้น โมเลกุลบางตัวทำหน้าที่เป็นสารตัวนำสัญญาณ (chemical transducer) หรือในบางกรณีสารเหล่านี้ก็ทำหน้าที่ในการเป็นตัวส่งสัญญาณ (messenger)

โดยส่วนใหญ่แล้วโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นสื่อสัญญาณโมเลกุลภายในจะทำหน้าที่เป็นตัว ปิด-เปิด (molecular switches) ให้มีการส่งทอดของสัญญาณ เมื่อโมเลกุลได้รับการกระตุ้น มันจะเปลี่ยนสภาพจาก inactive form มาเป็น active form (อยู่ในสภาวะที่ถูกกระตุ้น) จนกว่าจะมีสัญญาณอื่นมายับยั้ง (switch off)

โมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวนำสัญญาณจะสามารถทำงานได้สองรูปแบบ คือ ในสภาวะถูกกระตุ้น (switch on) และสภาวะไม่ถูกกระตุ้น (switch off) ซึ่งทั้งสองสภาวะนั้นจะต้องมีการทำงานที่สอดคล้องกัน โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นตัวปิด-เปิดการส่งสัญญาณ สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. โปรตีนที่ทำงานโดยการควบคุมด้วยกระบวนการเติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylation) เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุด ซึ่งในกระบวนการนี้โปรตีนจะถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ kinase โดยเอนไซม์ kinase ทำหน้าที่ในการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับ switch protein ในทางตรงข้าม โปรตีนอีกตัวหนึ่ง ได้แก่ phosphatase ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์กำจัดหมู่ฟอสเฟตออกจาก switch protein การถ่ายทอดสัญญาณผ่าน switch protein เรียกว่า phosphorylation cascade

2. โปรตีนที่ถูกกระตุ้นโดยการเข้าจับกับ GTP หรือเรียก switch protein ในกลุ่มนี้ว่า GTP-binding protein โดย switch protein จะถูกกระตุ้นหรือไม่นั้นขึ้นกับว่า โปรตีนนั้นจับอยู่กับ GTP หรือจับอยู่กับ GDP<sup>(10)</sup>

#### 1.2.1.2 บทบาทของโมเลกุลภายในต่อการส่งทอดสัญญาณภายในเซลล์

1. สัญญาณภายในจะส่งต่อสัญญาณจากจุดที่มีการกระตุ้น ไปสู่สัญญาณโมเลกุลภายในอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องเพื่อให้เกิดการตอบสนองของเซลล์

2. การส่งต่อของสัญญาณเป็นขั้นๆ (signaling cascade) ส่วนใหญ่แล้วเกี่ยวข้องกับกระบวนการขยายของสัญญาณที่เซลล์ได้รับ ทำให้สัญญาณนั้นแรงขึ้นดังนั้นสัญญาณภายนอกที่ความเข้มข้นต่ำๆ ก็สามารถที่จะกระตุ้นต่อเซลล์ให้เกิดการตอบสนองได้

3. การถ่ายทอดสัญญาณโมเลกุลสามารถที่จะมีการกระจายของสัญญาณซึ่งมีผลต่อกระบวนการต่างๆ ในลักษณะคู่ขนาน (parallel) ในทุกขั้นตอนของกระบวนการ สัญญาณสามารถที่จะเปลี่ยน (diverge) และถูกถ่ายทอดไปสู่โมเลกุลเป้าหมาย (intracellular targets) ที่ต่างๆ กันจำนวนมาก ทำให้เกิดแขนงของข้อมูล และกระตุ้นการตอบสนองในลักษณะที่ซับซ้อนยิ่งขึ้น

4. ในแต่ละขั้นตอนของการถ่ายทอดสัญญาณจะมีปัจจัย (factors) อื่นๆ เข้ามาเกี่ยวข้องอีกดังนั้นการถ่ายทอดสัญญาณ (transmission) สามารถถูกเติมแต่งหรือดัดแปลงได้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความต้องการของเซลล์ หรือลักษณะของสภาพแวดล้อม เป็นต้น

## 1.2.2 ฐานข้อมูลสำหรับการศึกษาการส่งสัญญาณภายในเซลล์ และวิถีของเมตาบอลิซึม

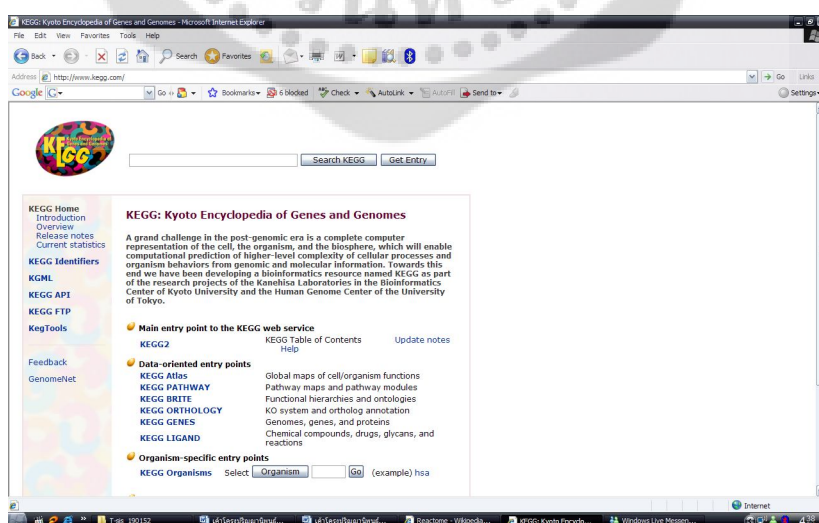
ปัจจุบันนี้การสืบค้น การวิเคราะห์ และการศึกษาข้อมูลจีโนมของสิ่งมีชีวิตต่างๆ สามารถศึกษาได้จากฐานข้อมูล ซึ่งเป็นแหล่งรวบรวมข้อมูลต่างๆ ไว้มากมาย ทำให้สะดวกต่อการศึกษา และการวิจัย โดยเฉพาะการศึกษาวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ และวิถีของเมตาบอลิซึม เนื่องจากช่วยให้สามารถศึกษาเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน และหน้าที่ของโปรตีนในภาพรวมระดับเซลล์ ซึ่งมีฐานข้อมูลสำคัญสำหรับการศึกษาวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ และวิถีเมตาบอลิซึม ดังต่อไปนี้

### 1.2.2.1 ฐานข้อมูลสำหรับการศึกษาวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์

#### 1.2.2.1.1 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)

ฐานข้อมูล KEGG เป็นแหล่งรวบรวมข้อมูลออนไลน์เกี่ยวกับชุดของยีนส์ (genomes) วิถีของเมตาบอลิซึม (metabolic pathway) และกลไกทางชีวเคมีต่างๆ โดยรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับวิถีการส่งสัญญาณ และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโมเลกุลภายในเซลล์ของคน โดยนำเสนอในรูปแบบของแผนภาพวิถีการส่งสัญญาณ ซึ่งสามารถคลิกที่โปรตีนในแผนภาพ เพื่อดูรายละเอียดของโปรตีนแต่ละตัว และสามารถดึงเอาข้อมูลจากฐานข้อมูลอื่นมาใช้ได้ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 1

ข้อมูลของ KEGG แสดงเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโมเลกุล (molecular interaction network) ซึ่งประกอบด้วย แผนภาพแสดงวิถีการส่งสัญญาณ ข้อมูลเกี่ยวกับยีนส์ และโปรตีนในวิถี โดยภายในฐานข้อมูลประกอบด้วย KEGG Pathways ได้แก่ วิถีของเมตาบอลิซึม วิถีของกระบวนการของยีนส์ วิถีของกระบวนการของเซลล์ วิถีของโรคที่เกิดในมนุษย์ และการพัฒนา ยา เป็นต้น



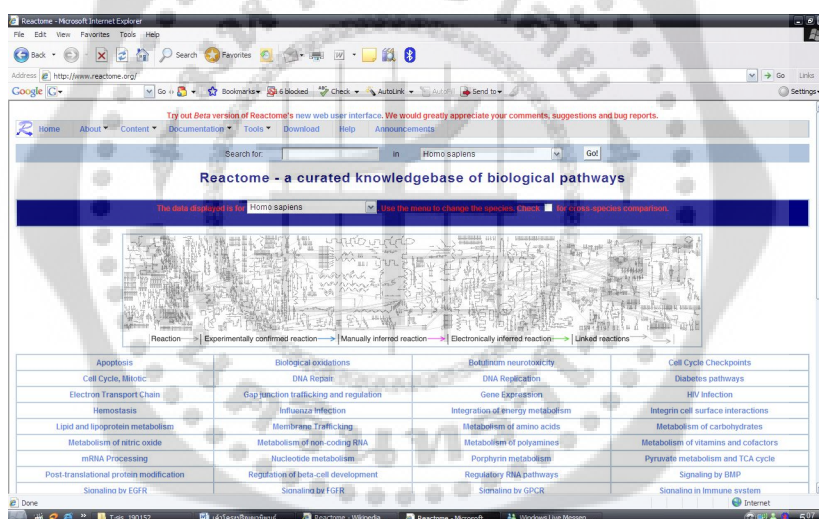
ภาพประกอบ 1 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล KEGG

ที่มา <http://www.kegg.com/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 21/01/09

### 1.2.2.1.2 Reactome

เป็นฐานข้อมูลทางชีววิทยาออนไลน์ ซึ่งอธิบายในรูปของโมเลกุลครอบคลุมทุกๆ ส่วนในร่างกาย โดยกล่าวถึงชีววิทยาของมนุษย์เป็นหลัก ฐานข้อมูล reactome เป็นสารานุกรมออนไลน์ที่เกี่ยวกับวิถีการส่งสัญญาณของเซลล์มนุษย์ เช่น การจำลองตัวเอง (replication) การถอดรหัส (transcription) การแปลรหัส (translation) ของดีเอ็นเอ วัฏจักรเซลล์ เมตาบอลิซึม และวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ นอกจากนี้ยังสามารถค้นหาข้อมูลที่มีการศึกษาล่าสุดเกี่ยวกับหัวข้อที่สนใจได้ เช่น รายละเอียดของโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับวิถีการส่งสัญญาณของฮอร์โมนอินซูลิน หลังจากโปรตีน receptor ถูกกระตุ้น หรือใช้เป็นเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ชุดข้อมูลที่มีขนาดใหญ่ เช่น การวิเคราะห์ DNA microarray เป็นต้น ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2

ข้อมูลในฐานข้อมูล reactome นำมาจากผู้ที่มีความเชี่ยวชาญทางชีววิทยาและบทความ หรืองานวิจัยที่ผ่านการรับรอง ผ่านการตรวจสอบก่อนนำมาเผยแพร่ลงบนเว็บไซต์ และเป็นข้อมูลที่มีการเปลี่ยนแปลงให้มีความทันสมัยเสมอ



ภาพประกอบ 2 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล reactome

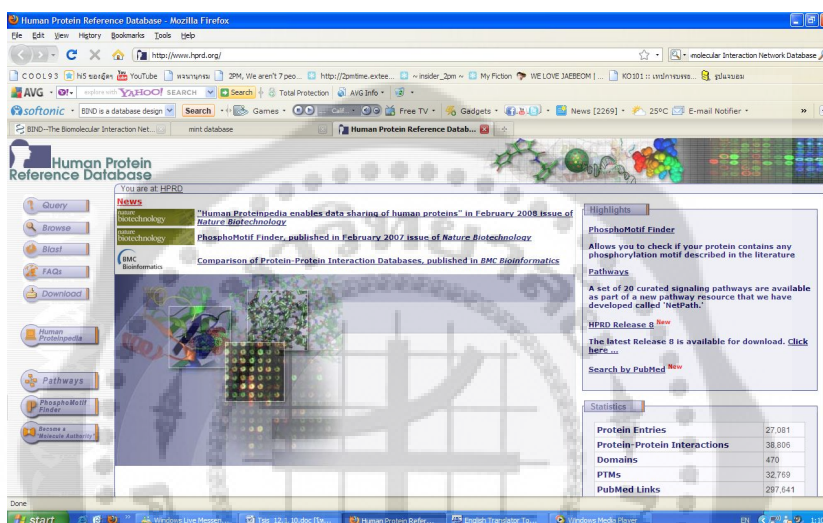
ที่มา <http://www.reactome.org/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 21/01/09

ฐานข้อมูล reactome รวบรวมเนื้อหา และแสดงข้อมูลในรูปของข้อความ โดยจะอธิบายรายละเอียดเกี่ยวกับวิถีการส่งสัญญาณ กลไกการส่งสัญญาณ และโปรตีนที่อยู่ในวิถีการส่งสัญญาณ ซึ่งสามารถเรียกดูข้อมูลของโปรตีนที่สนใจจากฐานข้อมูลอื่นๆ ได้ เช่น Uniprot (U), KEGG (K) และ Ensembl (E) เป็นต้น

### 1.2.2.2 ฐานข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน

#### 1.2.2.2.1 HPRD (Human protein reference database)

ฐานข้อมูล HPRD ได้พัฒนาขึ้นเพื่อรองรับจำนวนข้อมูลที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งภายในฐานข้อมูลประกอบไปด้วยข้อมูลของโปรตีน และการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน ซึ่งผู้ใช้สามารถค้นหาปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนที่สนใจได้ หรือทำการดาวน์โหลดชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์มาได้ โดยไปที่ <http://www.hprd.org/> หน้าต่างเว็บไซต์ของฐานข้อมูล HPRD แสดงในภาพประกอบที่ 3

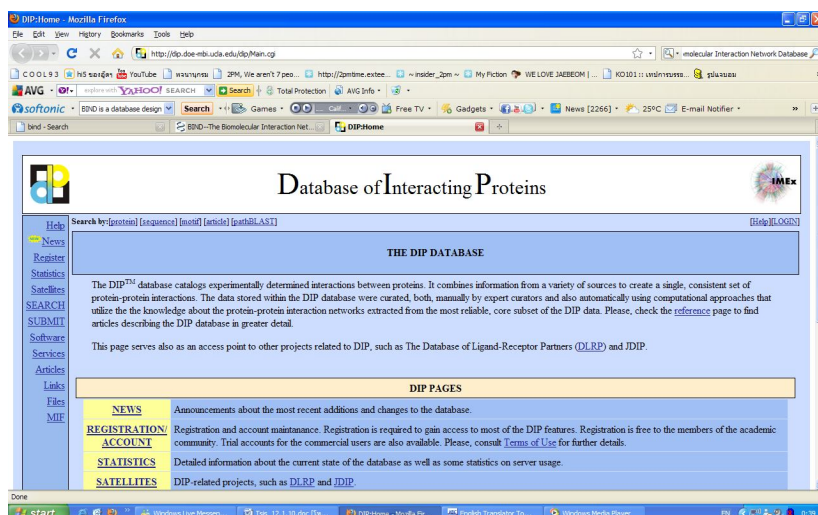


ภาพประกอบ 3 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล HPRD

ที่มา <http://www.hprd.org/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 14/01/10

#### 1.2.2.2.2 DIP (The Database of Interacting Proteins)

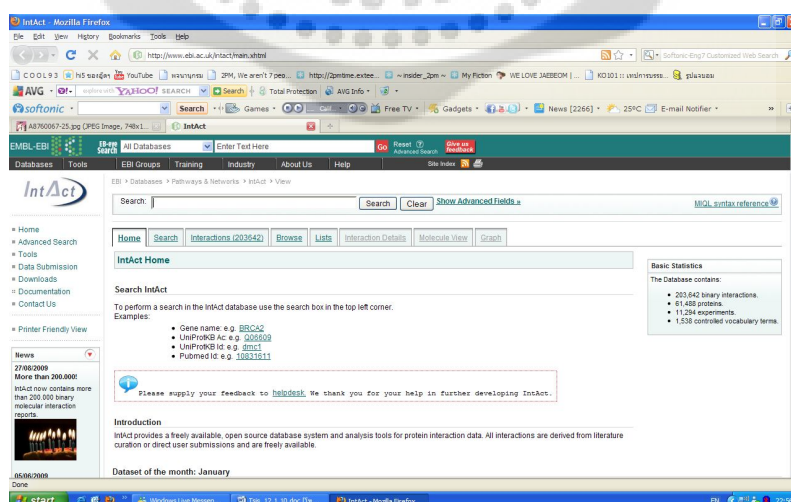
เป็นฐานข้อมูลที่รวบรวมผลการทดลองเกี่ยวกับปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนจากแหล่งข้อมูลที่หลากหลาย เพื่อสร้างชุดปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน สำหรับข้อมูลที่เก็บภายในฐานข้อมูล DIP นั้นได้มาจากผู้เชี่ยวชาญ และจากการคำนวณด้วยกระบวนการทางคอมพิวเตอร์ โดยอาศัยความรู้ทางการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในการสกัดข้อมูลจากแหล่งข้อมูลที่เชื่อถือได้ สามารถเข้าดูและดาวน์โหลดข้อมูลของ DIP ได้ที่ <http://dip.doe-mbi.ucla.edu> หน้าต่างเว็บไซต์ของฐานข้อมูล DIP แสดงในภาพประกอบที่ 4



ภาพประกอบ 4 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล DIP  
ที่มา <http://dip.doe-mbi.ucla.edu/dip/Main.cgi> ข้อมูลเมื่อวันที่ 14/01/10

#### 1.2.2.2.3 IntAct

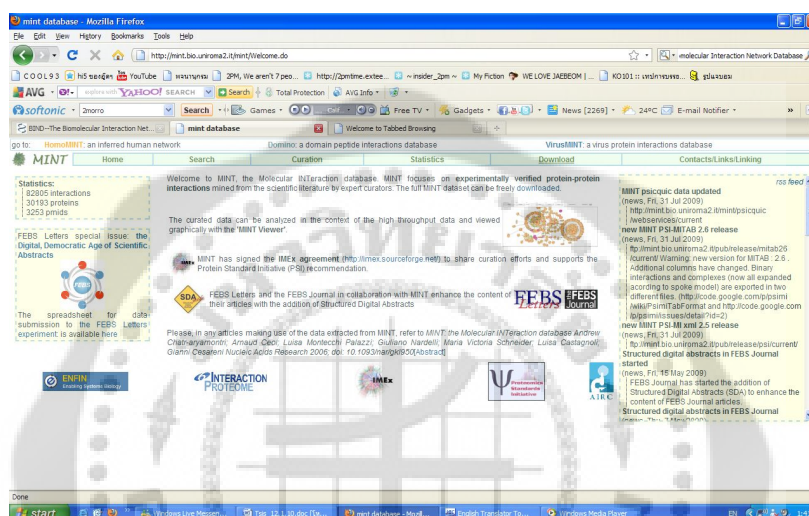
เป็นฐานข้อมูลที่เก็บรวบรวม นำเสนอ และวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน ภายในเว็บจะประกอบไปด้วยบทความ และแผนภาพแสดงการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน นอกจากนี้ยังสามารถทำการวิเคราะห์เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ผ่านทางเว็บไซต์ และสามารถดาวน์โหลดข้อมูลปฏิสัมพันธ์ในรูปแบบ XML ได้อีกด้วย ซึ่งข้อมูลปฏิสัมพันธ์นั้นได้มาจากบทความทางวิชาการ และมีการร่วมงานกับทีมที่ทำฐานข้อมูล Swiss-Prot สามารถเข้าดูและดาวน์โหลดข้อมูลของ IntAct ได้ที่ <http://www.ebi.ac.uk/intact> หน้าต่างเว็บไซต์ของฐานข้อมูล IntAct แสดงในภาพประกอบที่ 5



ภาพประกอบ 5 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล IntAct  
ที่มา <http://www.ebi.ac.uk/intact> ข้อมูลเมื่อวันที่ 13/01/10

#### 1.2.2.2.4 MINT (a Molecular INTeraction database)

ฐานข้อมูล MINT มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการอธิบายเกี่ยวกับปฏิสัมพันธ์ ซึ่งได้ทำการอธิบายเกี่ยวกับการมีปฏิสัมพันธ์ ค่าคงที่ของปฏิสัมพันธ์ และขอบเขตของปฏิสัมพันธ์ ฐานข้อมูล MINT ได้ทำการรวบรวมข้อมูลจากบทความทางวิทยาศาสตร์โดยผู้เชี่ยวชาญ ซึ่งเป็นฐานข้อมูลที่ใช้ง่าย ไม่ซับซ้อน ปัจจุบันมีข้อมูลปฏิสัมพันธ์ 82,805 ปฏิสัมพันธ์ และ 30,193 โปรตีน สามารถเข้าดูและดาวน์โหลดข้อมูลของ MINT ได้ที่ <http://mint.bio.uniroma2.it/mint/index.html> หน้าต่างเว็บไซต์ของฐานข้อมูล MINT แสดงในภาพประกอบที่ 6

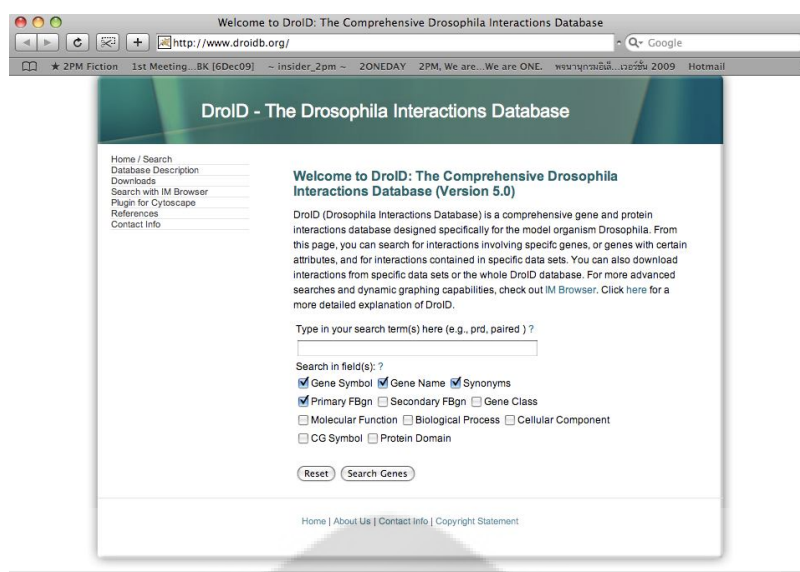


ภาพประกอบ 6 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล MINT

ที่มา <http://mint.bio.uniroma2.it/mint/Welcome.do> ข้อมูลเมื่อวันที่ 13/01/10

#### 1.2.2.2.5 Droid (The Drosophila Interactions Database)

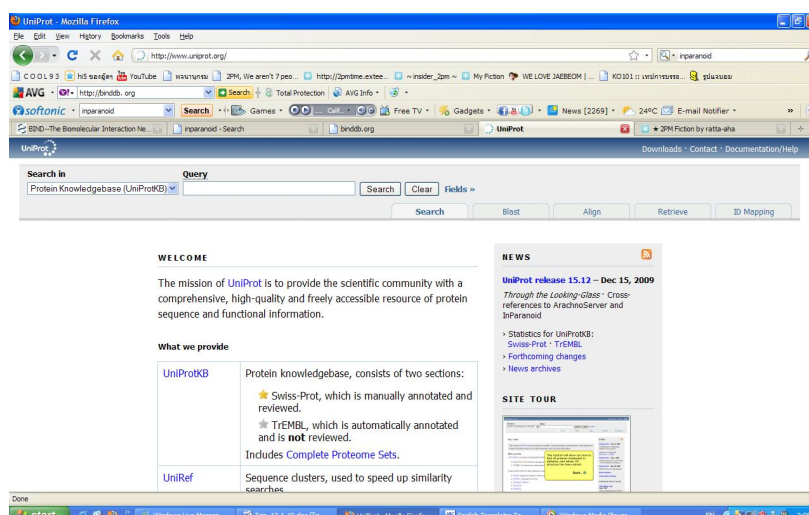
เป็นฐานข้อมูลที่สร้างขึ้นมาสำหรับการศึกษาเกี่ยวกับแมลงหวี่ โดยครอบคลุมในส่วนของยีนส์ โปรตีน ปฏิสัมพันธ์ และแบบจำลองทางชีววิทยาของแมลงหวี่ ฐานข้อมูล Droid นี้ ผู้ใช้สามารถค้นหปฏิสัมพันธ์ ลักษณะ และหน้าที่ของยีนส์ และโปรตีนของแมลงหวี่ นอกจากนี้ยังสามารถทำการดาวน์โหลดข้อมูลปฏิสัมพันธ์ทั้งหมดที่มีในฐานข้อมูล Droid ของแมลงหวี่ ได้ สามารถเข้าดูและดาวน์โหลดข้อมูลของ Droid ได้ที่ <http://www.droidb.org/> หน้าต่างเว็บไซต์ของฐานข้อมูล Droid แสดงในภาพประกอบที่ 7



ภาพประกอบ 7 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล DroID  
ที่มา <http://www.droidb.org/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 14/01/10

### 1.2.2.3 ฐานข้อมูลโปรตีน

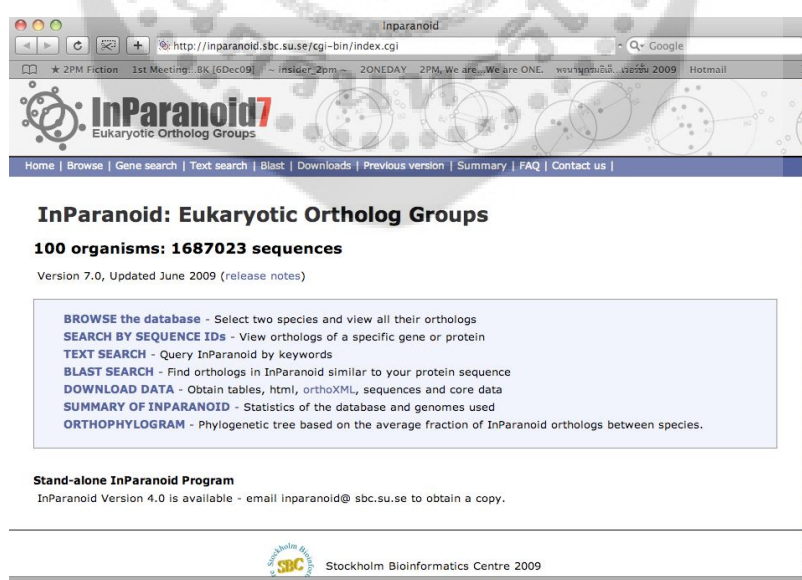
ฐานข้อมูล UniProt เป็นฐานข้อมูลที่มีการจัดการกับข้อมูลของโปรตีนอย่างเป็นระบบ และครอบคลุมรายละเอียดต่างๆ ของโปรตีน ได้แก่ ชื่อโปรตีน สัญลักษณ์โปรตีน ลำดับโปรตีน (protein sequence) และหน้าที่ทางชีววิทยาของโปรตีนคน และสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ สำหรับฐานความรู้เกี่ยวกับข้อมูลของโปรตีนนั้นจะประกอบไปด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนที่มีการตรวจสอบ (reviewed) และส่วนที่ยังไม่ได้มีการตรวจสอบ (unreviewed) คือเป็นส่วนที่มีการค้นพบ แต่ยังไม่มีการยืนยันจากผู้เชี่ยวชาญ นอกจากนี้ยังสามารถทำการแปลรหัสโปรตีนที่มาจากฐานข้อมูลต่างๆ ซึ่งถูกระบุด้วยรหัส หรือสัญลักษณ์อื่นๆ ให้มาเป็นรหัสของ UniProt ได้อีกด้วย ซึ่งสามารถเข้าดูข้อมูลของ UniProt ได้ที่ <http://www.uniprot.org/> หน้าต่างเว็บไซต์ของฐานข้อมูล UniProt แสดงในภาพประกอบที่ 8



ภาพประกอบ 8 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล UniProt  
ที่มา <http://www.uniprot.org/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 13/01/10

#### 1.2.2.4 ฐานข้อมูล ortholog

ฐานข้อมูล Inparanoid เป็นฐานข้อมูลสำหรับการหา ortholog ของโปรตีน โดยได้ทำการเปรียบเทียบโปรตีนระหว่างสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ไว้ ปัจจุบันใช้ inparanoid เวอร์ชัน 7 ซึ่งสามารถเข้าดูและดาวน์โหลดข้อมูลได้ที่ <http://inparanoid.scb.su.se/cgi-bin/index.cgi> หน้าต่างเว็บไซต์ของฐานข้อมูล Inparanoid แสดงในภาพประกอบที่ 9



ภาพประกอบ 9 เว็บไซต์ของฐานข้อมูล inparanoid  
ที่มา <http://inparanoid.scb.su.se/cgi-bin/index.cgi> ข้อมูลเมื่อวันที่ 13/01/10

### 1.2.3 วิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

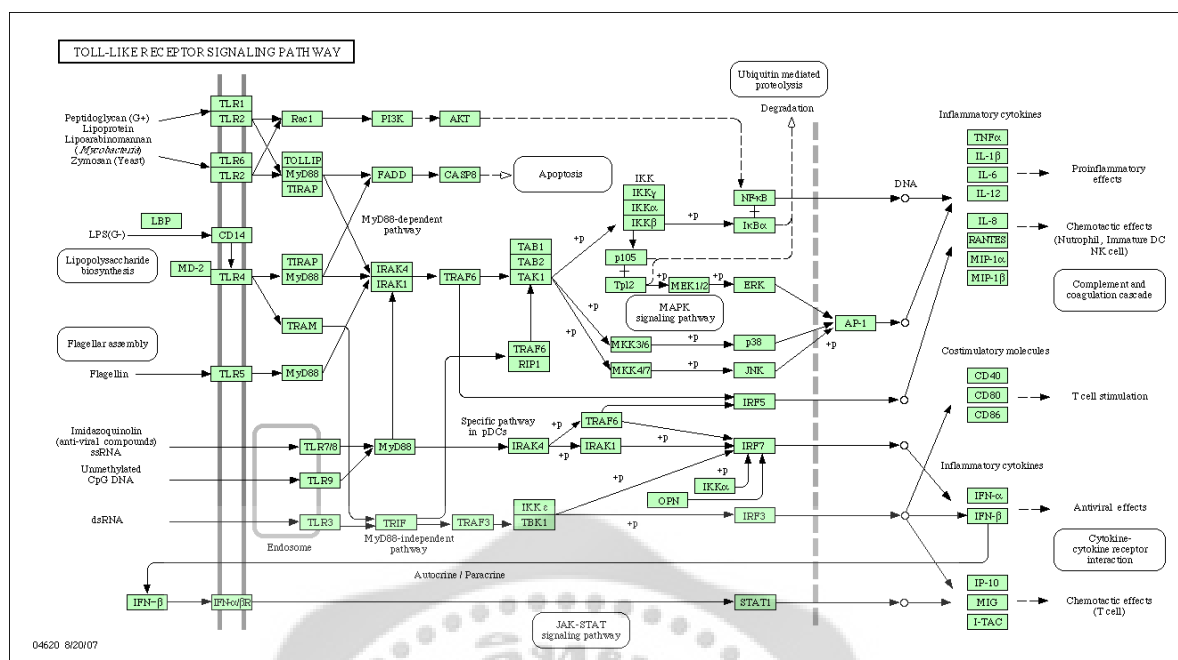
ได้มีการศึกษาวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของคนไว้มากมายหลายวิธี แต่สาเหตุที่เลือกวิธีการส่งสัญญาณ 5 วิธีสำหรับการวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งได้แก่ Toll-like receptor, Apoptosis, Cell cycle, MAPK และ JAK-STAT signaling pathway เนื่องจากทั้ง 5 วิธีนี้ เป็นวิธีที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และมีความสำคัญต่อการดำรงอยู่ของเซลล์ เพราะหากเซลล์เกิดการติดเชื้อแล้ว จะส่งผลกระทบต่อเซลล์มากที่สุด โดยอาจไปรบกวนการแสดงออกของเซลล์ปกติ ส่งผลให้เซลล์มีการตอบสนอง หรือการแสดงออกที่ผิดปกติไปจากเดิม เช่น ทำให้เซลล์ตาย หรือเกิดการถอดรหัสที่ผิดพลาด ส่งผลให้เซลล์เกิดความผิดปกติ นำไปสู่การเกิดมะเร็ง หรือเนื้องอก เป็นต้น นอกจากนี้วิธีการส่งสัญญาณทั้ง 5 วิธี ยังเป็นวิธีที่สามารถพบได้ทั้งในคน และในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังอีกด้วย

#### 1.2.3.1 กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ (Toll-like receptor signaling pathway)

Toll-like receptors เป็นชนิดของตัวรับสัญญาณที่อยู่ผิวเซลล์ โดยจะจดจำโครงสร้างโมเลกุลของเชื้อโรค หลังจากนั้นจะไปกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์ เชื่อว่าพวกมันมีบทบาทต่อระบบภูมิคุ้มกันร่างกายที่มีมาแต่กำเนิด โดยได้รับชื่อที่เหมือนกับยีนส์ Toll ที่ถูกระบุในแมลงหวี่ (*Drosophila*) ในปี 1985 โดย Christiane Nusslein-Volhard<sup>(11)</sup>

##### 1.2.3.1.1 วิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ในคน

Toll-like receptors (TLRs) เป็นภูมิคุ้มกันของร่างกายที่มีติดตัวมาตั้งแต่เกิด ในการต่อต้านเชื้อโรคต่างๆ TLRs จะมีรูปแบบที่จำเพาะกับโมเลกุลของเชื้อโรคแต่ละชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย และไวรัส หลังจาก TLRs ถูกกระตุ้นโดยเชื้อโรคแล้ว ตัวรับสัญญาณอื่นๆ ในวิธีการส่งสัญญาณจะทำการส่งสัญญาณเป็นทอดๆ ส่งผลต่อการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ และตอบสนองต่อการต้านไวรัส ซึ่งผลที่เกิดขึ้นนี้เองจะเป็นการทำลายการติดเชื้อจากเชื้อโรค การมีปฏิสัมพันธ์ (interaction) ของแต่ละ TLRs จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับการรวมตัวกับโปรตีนที่ขยายสัญญาณ (adapter proteins) และการกระตุ้นที่หลากหลายของ transcription factors ได้แก่ nuclear factor (NF- $\kappa$ B) การกระตุ้นของ protein-1 และ interferon regulatory factors นำไปสู่การตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันที่จำเพาะ<sup>(12)</sup> ดังแสดงในภาพประกอบที่ 10



ภาพประกอบ 10 วิธีการส่งสัญญาณของโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ในคน  
ที่มา <http://www.kegg.com/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 20/08/07

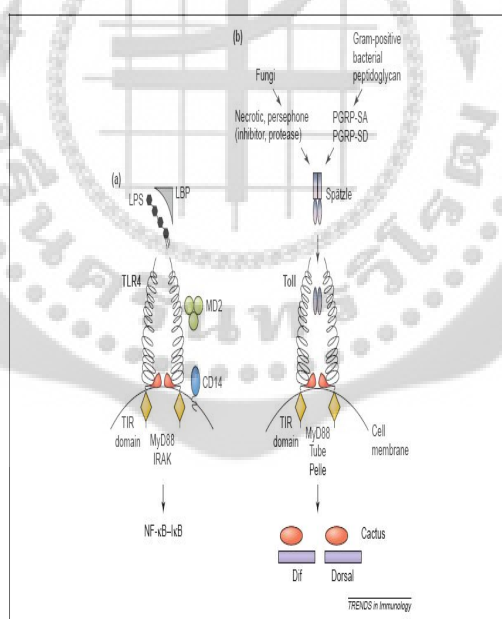
การส่งสัญญาณของโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์เมื่อได้รับการกระตุ้นจากโมเลกุลที่จำเพาะจากภายนอกเซลล์แล้ว โมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์จะส่งสัญญาณผ่านตัวรับภายในเซลล์ และส่งสัญญาณต่อไปยังตัวรับต่างๆ โดยตัวรับที่สำคัญได้แก่ MyD88, IRAK1, TAK1, TAB1, TAB2 และ TRAF6 เป็นต้น<sup>(13)</sup>

TLRs จะเป็นตัวกระตุ้นวิธีการส่งสัญญาณหลัก 2 วิธี วิธีแรกคือ การกระตุ้น transcription factor NF-κB ซึ่งมีหน้าที่หลักในการควบคุมการอักเสบ ควบคุมการถอดรหัสของหลายยีนส์ ที่จะแปลรหัสไปเป็นโปรตีนในภูมิคุ้มกันและการอักเสบ วิธีที่สองคือ การกระตุ้น MAP kinases p38 และ Jun amino-terminal kinase (JNK) ซึ่งมีส่วนร่วมในการถอดรหัส ผลที่เกิดขึ้นนี้เป็นผลเนื่องจากส่วนประกอบของโปรตีนที่อยู่ร่วมกันในวิธีการส่งสัญญาณ และ protein kinases คือ IL-1 receptor associated kinase (IRAK) ซึ่งจะพบในวิธีการส่งสัญญาณของ TLRs ทุกตัว ยกเว้นวิธีการส่งสัญญาณของ TLR3 ซึ่งโดยปกติแล้ว TLRs จะกระตุ้น NF-κB และ MAP kinases ผ่านวิธีการส่งสัญญาณที่ประกอบด้วย IRAK-4 และ IRAK-1 โดยมี kinases เป็นตัวกระตุ้นตัวแรกในการขยายสัญญาณ และเป็นตัวการที่สำคัญเนื่องจาก TLRs ทุกตัวสามารถกระตุ้น NF-κB และ MAP kinases ได้ แต่จะส่งผลต่อการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกัน ซึ่งผลที่เกิดขึ้นเนื่องจากการถูกกระตุ้นจากเชื้อโรคที่แตกต่างกันของ TLRs แต่ละตัว และการมีโปรตีนขยายสัญญาณ (adaptor proteins) ที่แตกต่างกันด้วย<sup>(14)</sup>

### 1.2.3.1.2 วิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ในแมลงหวี่

วิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ในแมลงหวี่ต่างจากในคน นอกจากการให้สัญญาณที่แตกต่างกันแล้ว การตอบสนองต่อเชื้อโรคก็ต่างกันด้วย คือ TLRs ของคนมีการตอบสนองต่อเชื้อโรคโดยตรง คือมีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อโรคโดยตรง แต่ Toll ของแมลงหวี่ มีการตอบสนองต่อเชื้อโรค ได้แก่ แบคทีเรียแกรมลบ และฟังไจ โดย Toll ไม่ตอบสนองต่อเชื้อโรคโดยตรง คือไม่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อโรคโดยตรง แต่จะเชื่อมต่อกับส่วนประกอบอื่นของเชื้อโรค<sup>(15)</sup>

กระบวนการส่งสัญญาณเริ่มจาก Toll ได้รับการกระตุ้นจะส่งผลต่อโปรตีนในแมลงจำนวน 3 โปรตีนในไซโตพลาสซึม ได้แก่ MyD88, Tube และ Pelle ทำให้เกิดเป็นสารประกอบ (signaling complex) ในผนังเซลล์ โดยที่ MyD88 และ Tube ทำหน้าที่เป็นโปรตีนขยายสัญญาณ (adaptor proteins) และ Pelle ทำหน้าที่เป็น serine–threonine kinase สำหรับ TIR [Toll–interleukin-1 (IL-1) receptor] ของ Toll จะเชื่อมต่อกับ TIR ของ MyD88 แต่การเชื่อมต่อนี้จะเกิดขึ้นได้ต่อเมื่อ receptor อยู่ในสถานะที่ทำงาน จะพบว่า MyD88, Tube และ Pelle มีการทำงานร่วมกัน การเพิ่มความเข้มข้นของ Pelle จะทำให้เกิด transphosphorylation และเป็นการกระตุ้นการทำงานของ Pelle kinase ดังแสดงในภาพประกอบที่ 11



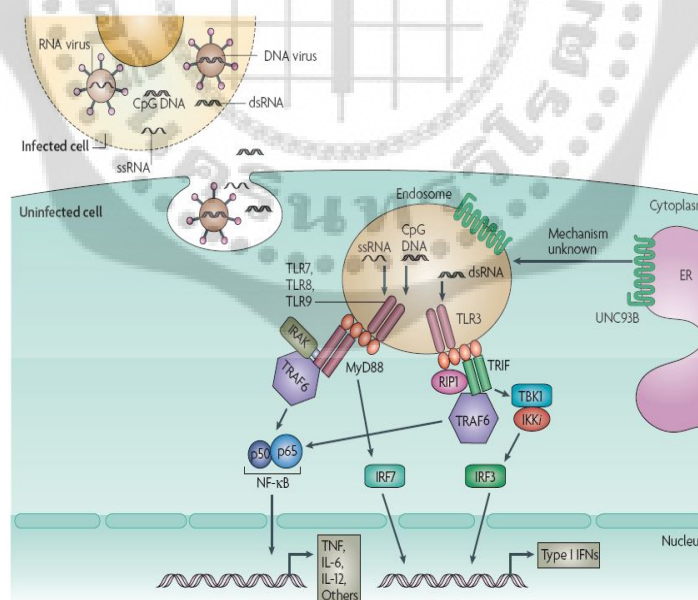
ภาพประกอบ 11 เปรียบเทียบวิธีการส่งสัญญาณของโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของคน และแมลงหวี่ โดย (a) เป็นวิธีการส่งสัญญาณ TLRs ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (b) เป็นวิธีการส่งสัญญาณ Toll ในแมลงหวี่

ที่มา Tanji T. and Ip Y. Tony. (2005). Regulators of the Toll and Imd pathways in the *Drosophila* innate immune response. Trends in immuno. 26(4): 194.

สำหรับแมลงหมี ภายหลังจากที่สัญญาณเคลื่อนที่เข้าสู่นิวเคลียส และกระตุ้นการแสดงออกของยีนส์ที่ทำหน้าที่ในการต้านเชื้อโรค (antimicrobial peptide genes) ซึ่งเกิดขึ้น ภายหลังจากที่ Cactus ถูกเหนี่ยวนำ นอกจากนี้ยังพบการทำงานร่วมกันของ TLR4 กับ CD14 และ MD2 ในวิถีการส่งสัญญาณของ TLRs ในคน และ Pelle และ kinase อื่นๆ ในแมลงหมี ที่ส่งผลโดยตรงต่อการแสดงออกของ Dorsal–Cactus complexes จากการศึกษาวิถีการส่งสัญญาณของ Toll ในแมลงหมี นำไปสู่การศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของ I $\kappa$ B kinase (IKK) complex ที่เป็นลักษณะการแสดงออกของ I $\kappa$ B ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม<sup>(16,17)</sup>

#### 1.2.3.1.3 ผลของการติดเชื้อต่อวิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์

ในเซลล์ที่ยังไม่มีการติดเชื้อ ตัวรับสัญญาณโมเลกุลชนิดทอลล์ (TLRs) สามารถตรวจจับ nucleic acids ในการป้องกันการผลิตที่จะก่อให้เกิดการติดเชื้อกับเซลล์ ซึ่งสามารถทำได้โดยการจดจำ RNA ของไวรัสที่เป็นสายคู่ [double-stranded RNA, (dsRNA)] สายเดี่ยว [single-stranded RNA, (ssRNA)] หรือ CpG ซึ่งเป็น DNA ของไวรัส โดย TLR3 หรือ TLR7, TLR8 และ TLR9 ที่อยู่ใน endosome ในการส่งสัญญาณผ่าน TIR (Toll/interleukin-1 receptor (IL-1R))-domain ที่มี adaptor protein เหนี่ยวนำ interferon- $\beta$ (TRIF) หรือ myeloid differentiation primary-response gene 88 (MyD88) ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 12



ภาพประกอบ 12 แผนภาพการส่งสัญญาณผ่าน TLR3, TLR7, TLR8 และ TLR9 ในการตอบสนองต่อไวรัส

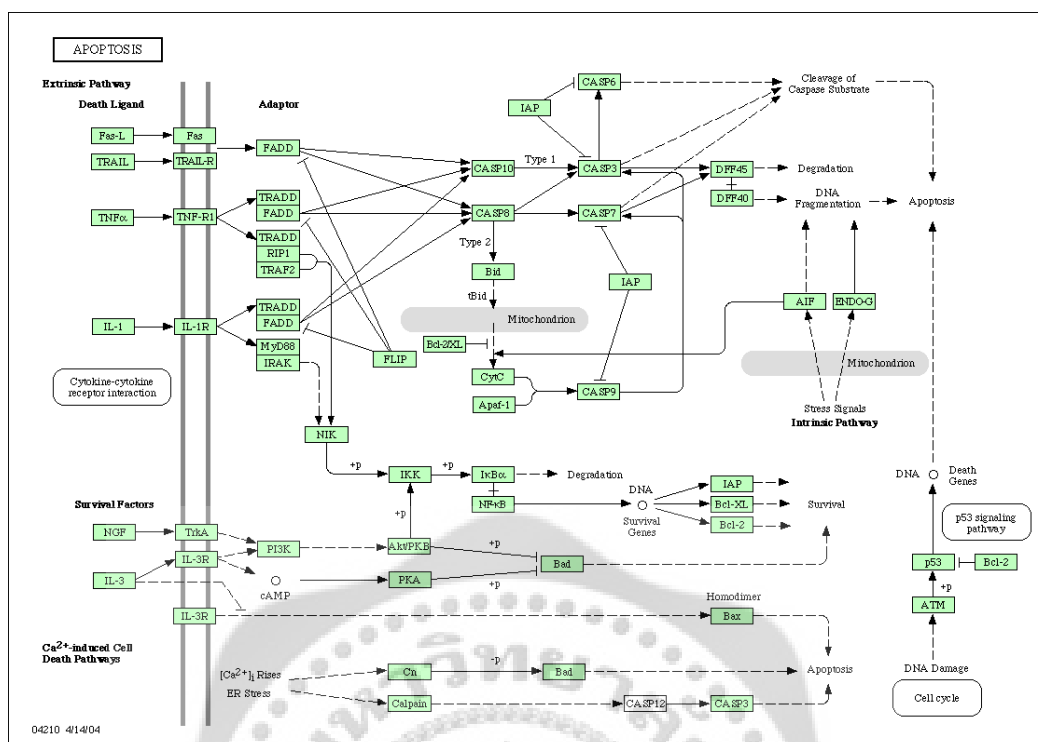
ที่มา Beutler B, et al. (2007). Genetic analysis of resistance to viral infection. Immunol. 7: 756.

UNC93B เป็นโปรตีนใน endoplasmic reticulum (ER) ที่มีความสัมพันธ์กับ TLRs ใน endosomal และมีความสำคัญต่อการส่งสัญญาณ ภายหลังจากที่ TLR3 รับสัญญาณจาก UNC93B แล้ว จะส่งสัญญาณต่อผ่านสารประกอบ (complex) ซึ่งประกอบไปด้วย TRIF, tumour-necrosis factor receptor (TNFR)-associated factor 6 (TRAF6) และ receptor-interacting protein 1 (RIP1) จากนั้นทำการส่งสัญญาณต่อไปให้กับ TANK-binding kinase 1 (TBK1) และ เหนี่ยวนำ I $\kappa$ B (inhibitor of nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)) kinase (IKKi) กระตุ้น interferon (IFN)-regulatory factor 3 (IRF3) และ NF- $\kappa$ B แต่ถ้านสัญญาณเกิดผ่าน MyD88 ที่เป็นสารประกอบอยู่กับ TRAF6 และ IL-1R-associated kinase (IRAK) จะนำไปสู่การกระตุ้น IRF7 และ NF- $\kappa$ B ซึ่งนำไปสู่การอักเสบ<sup>(18,19)</sup>

### 1.2.3.2 กระบวนการอะพอพโทซิส (Apoptosis)

#### 1.2.3.2.1 กระบวนการอะพอพโทซิสในคน

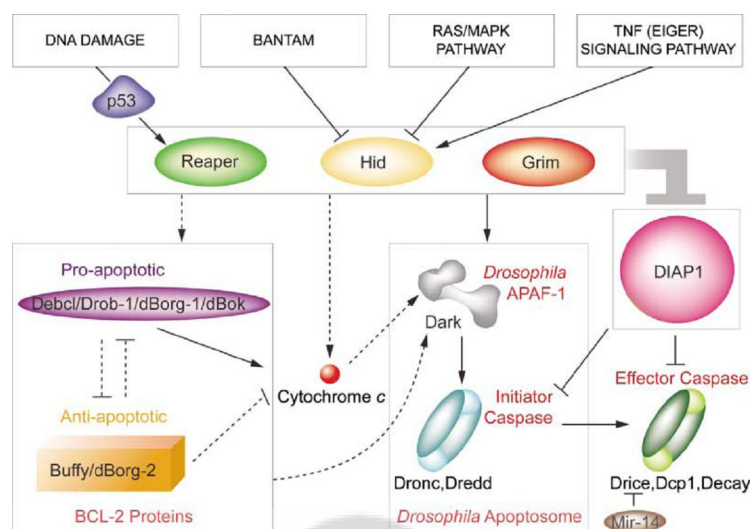
อะพอพโทซิส เป็นรูปแบบหนึ่งของการตายของเซลล์ แบบที่มีการโปรแกรมไว้แล้ว (programmed cell death) ของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับชุดของปฏิกิริยาทางชีวเคมีซึ่งทำให้เซลล์ตายอย่างมีลักษณะที่เฉพาะ หรือกล่าวอย่างจำเพาะคือ เป็นชุดของปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่ทำให้เซลล์มีสัญญาณวิทยาเปลี่ยนแปลงหลายรูปแบบ เช่น การบวมของเซลล์ (blebbing) การเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ เช่นการเหี่ยวของเซลล์ นิวเคลียสแตกเป็นชิ้นส่วน โครมาตินหนาตัวขึ้น และดีเอ็นเอแตกเป็นท่อน กระบวนการกำจัดเศษซากเซลล์จะไม่ทำให้เกิดการกระตุ้นให้เนื้อเยื่อข้างเคียงเกิดความเสียหาย ซึ่งต่างจากการตายแบบการตายเฉพาะส่วน หรือเนโครซิส (necrosis) วิธีการเกิดกระบวนการอะพอพโทซิส ได้แสดงในภาพประกอบที่ 13



ภาพประกอบ 13 วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการอะพอพโทซิสในคน  
ที่มา <http://www.kegg.com/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 14/04/04

#### 1.2.3.2.2 กระบวนการอะพอพโทซิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

กระบวนการอะพอพโทซิสในแมลงหวี่ (*Drosophila*) มีวิธีการส่งสัญญาณมากมาย ที่ควบคุมการแสดงออก ประกอบไปด้วยการกระตุ้น Reaper, Hid, และ Grim (RHG) ซึ่งเป็นศูนย์กลางในการควบคุมการตายของเซลล์ในแมลงหวี่ โดยโปรตีน RHG จะควบคุมการทำงานของ caspase วิธีการส่งสัญญาณประกอบด้วยวิถีของ Reaper ซึ่งจะกระตุ้น apoptosome ให้ไปยับยั้งโปรตีน BCL-2 และกระตุ้น Dark ซึ่งจะไปกระตุ้นวิธีการส่งสัญญาณ caspases โดยมี DIAP1 เป็นตัวยับยั้ง สำหรับโปรตีน RHG อาจจะมีอิทธิพลต่อการทำงานของ caspase โดยการควบคุมการเปลี่ยนรูปร่าง หรือการปลดปล่อย cytochrome c โมเลกุล หรือเชื้อจากภายนอก เช่น microRNAs Bantam และ Mir-14 จะส่งผลต่อกระบวนการอะพอพโทซิส โดยการไปยับยั้ง Hid และ Drice ตามลำดับ<sup>(20)</sup> ดังแสดงในภาพประกอบที่ 14



ภาพประกอบ 14 แผนภาพกระบวนการอะพอพโทซิสในแมลงหวี่ (*Drosophila*)

ที่มา Danial Nika N. and Korsmeyer Stanley J. (2004). Cell Death: Critical control points. Cell press. 116: 208.

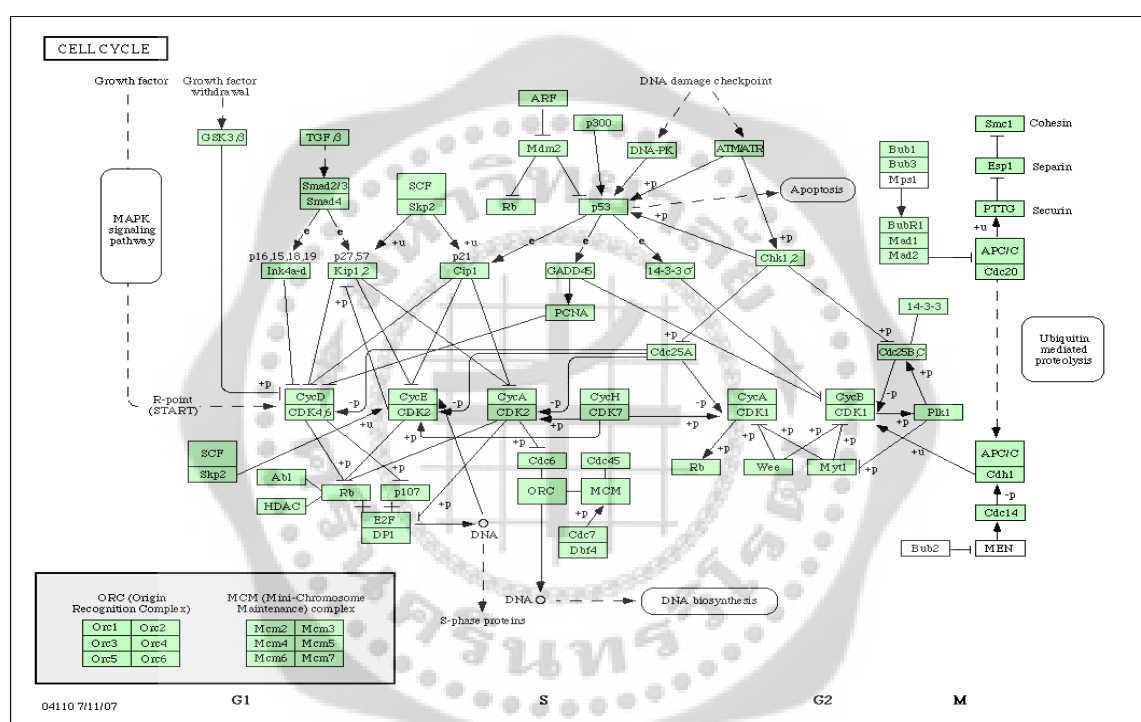
#### 1.2.3.2.3 ผลของการติดเชื้อต่อกระบวนการอะพอพโทซิส

การติดเชื้อจากแบคทีเรียแกรมลบ (gram-negative bacteria) ในแมลงหวี่ (*Drosophila*) จะเป็นการกระตุ้นการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน โดยการกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ imd (immune deficiency (*imd*) signaling cascade) และสำหรับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม การติดเชื้อจะไปกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ NF- $\kappa$ B ผ่านทาง tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1) ในแมลงหวี่ พบว่ามีโปรตีน DIAP2 (*Drosophila melanogaster* IAP2) ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้น NF- $\kappa$ B ส่งผลให้เกิดการแสดงออกของยีนต้านแบคทีเรีย (antibacterial peptide genes) และหลังจากนั้นจะตายภายหลังจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นหน้าที่ของ DIAP2 คือการตอบสนองต่อแบคทีเรียแกรมลบ และมีความจำเป็นสำหรับวิถีการส่งสัญญาณ Imd (Imd signaling cascade) ในการปกป้องอวัยวะต่างๆ จากการติดเชื้อของเชื้อโรค ในระบบภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้าน แม้จะพบ Traf2 ซึ่งอยู่ในตระกูล TNFR-associated factor (Traf) แต่ก็ไม่มีความจำเป็นสำหรับแมลงหวี่ในการต้านการติดเชื้อจากแบคทีเรียแกรมลบ<sup>(21)</sup>

### 1.2.3.3 วัฏจักรเซลล์ (Cell cycle)

#### 1.2.3.3.1 วัฏจักรเซลล์ในคน

วัฏจักรเซลล์เป็นช่วงระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ ในขณะที่เซลล์มีการแบ่งตัว ความจำเป็นที่ต้องมีการแบ่งเซลล์ คือ เพื่อการเจริญเติบโตของร่างกาย ทดแทนเซลล์ที่หมดอายุ สร้างเซลล์สืบพันธุ์ และเพื่อให้เซลล์มีขนาดเล็กลง ทำให้พื้นที่ผิวมาก การแบ่งเซลล์มี 2 แบบ คือ การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส เพื่อสร้างเซลล์ร่างกาย และการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส เพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์ซึ่งวิธีการส่งสัญญาณของวัฏจักรเซลล์ แสดงในภาพประกอบที่ 15



ภาพประกอบ 15 วิธีการส่งสัญญาณของวัฏจักรเซลล์ในคน

ที่มา <http://www.kegg.com/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 11/07/07

#### 1.2.3.3.2 วัฏจักรเซลล์ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

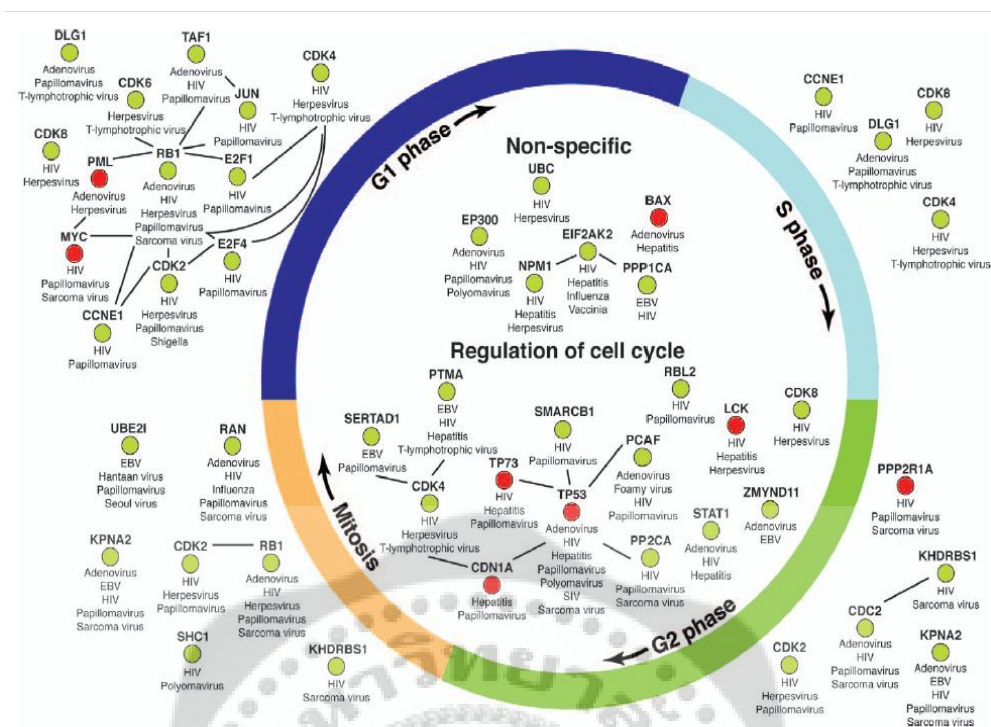
ลักษณะการเกิดวัฏจักรเซลล์ในคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังมีลักษณะคล้ายกัน ตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

Mouysset และคณะ ค้นพบหน้าที่ของ CDC-48 ของไส้เดือน (*Caenorhabditis Elegans*) ในการจำลองดีเอ็นเอ และส่งผลต่อการควบคุมวัฏจักรเซลล์ โดยปกติ CDC-48<sup>UFD-1/NPL-4</sup> มีบทบาทในการดำเนินกิจกรรมในระยะ S phase ของเซลล์ในระยะ mitotic ซึ่งมีความจำเป็นสำหรับการแบ่งเซลล์ของเอมบริโอ และการพัฒนาของเซลล์ไข่ของเพศเมีย ซึ่งหากการพัฒนานี้ผิดพลาด จะส่งผลต่อการทำงานของชุดตรวจสอบการจำลองดีเอ็นเอ ทำให้การจำลองดีเอ็นเอเกิดความผิดพลาด หากเซลล์เกิดการสูญเสียการทำงานในการจำลองตัวเอง จะส่งผลให้ปริมาณของดีเอ็นเอลดลงอย่างมาก ซึ่งเป็นผลมาจากการทำลาย CDC-48, UFD-1 และ NPL-4 นอกจากนี้ยังเป็นการลดการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ และเพิ่มการจำลองตัวเองสำหรับการต้านยาหรือสิ่งแปลกปลอม ดังนั้น CDC-48<sup>UFD-1/NPL-4</sup> ในการจำลองดีเอ็นเอ มีความสำคัญต่อการดำเนินไปข้างหน้าของวัฏจักรเซลล์ และความเสถียรของยีนส์<sup>(22)</sup>

#### 1.2.3.3.3 ผลของการติดเชื้อต่อวัฏจักรเซลล์

มีไวรัสจำนวนมากที่สามารถควบคุมกระบวนการของวัฏจักรเซลล์ในสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยได้มีการวิเคราะห์เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในคนที่เป็เป้าหมายของเชื้อไวรัส ที่ส่งผลต่อกระบวนการของวัฏจักรเซลล์

G1 เป็นระยะเริ่มแรกของวัฏจักรเซลล์ โดยในระยะนี้ มีความต้องการโปรตีนจำนวนมากสำหรับการจำลองดีเอ็นเอ ถอดรหัส และแปลรหัสเป็นโปรตีนออกมา การมีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างเชื้อไวรัส HIV กับระยะ G1 เป็นการมีปฏิสัมพันธ์กันโดยตรง โดยที่ HIV TAT จะไปทำให้ระยะ G1 มีระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น ทำให้การเข้าสู่ระยะ S เกิดช้าลง ซึ่งเป็นการสนับสนุนการแสดงออกของยีนส์ไวรัส ในระยะ G1 ประกอบด้วยโปรตีนของคน 13 โปรตีน และ 10 โปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับ TAT ของไวรัส โดยไวรัสมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนของคน คือ โปรตีน RB1 (retinoblastoma-associated protein) ซึ่งเกิดปฏิสัมพันธ์กับไวรัส 5 ชนิด ได้แก่ Adenovirus, Herpesvirus, HIV, Papillomavirus และ Simian virus และ tumor suppressor ซึ่งมี E2F เป็นโปรตีนที่ควบคุมการถอดรหัสของยีนส์ และมีความจำเป็นสำหรับการเข้าร่วมในระยะ S ของวัฏจักรเซลล์<sup>(23)</sup> ดังแสดงในภาพประกอบที่ 16



ภาพประกอบ 16 โปรตีนในวัฏจักรเซลล์ของคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับไวรัสหลายชนิด  
ที่มา Dyer M. D, Murali T.M. and Sobral B. W. (2007). The landscape of human proteins  
interacting with viruses and other pathogens. Plospathogens. 4(2): 6.

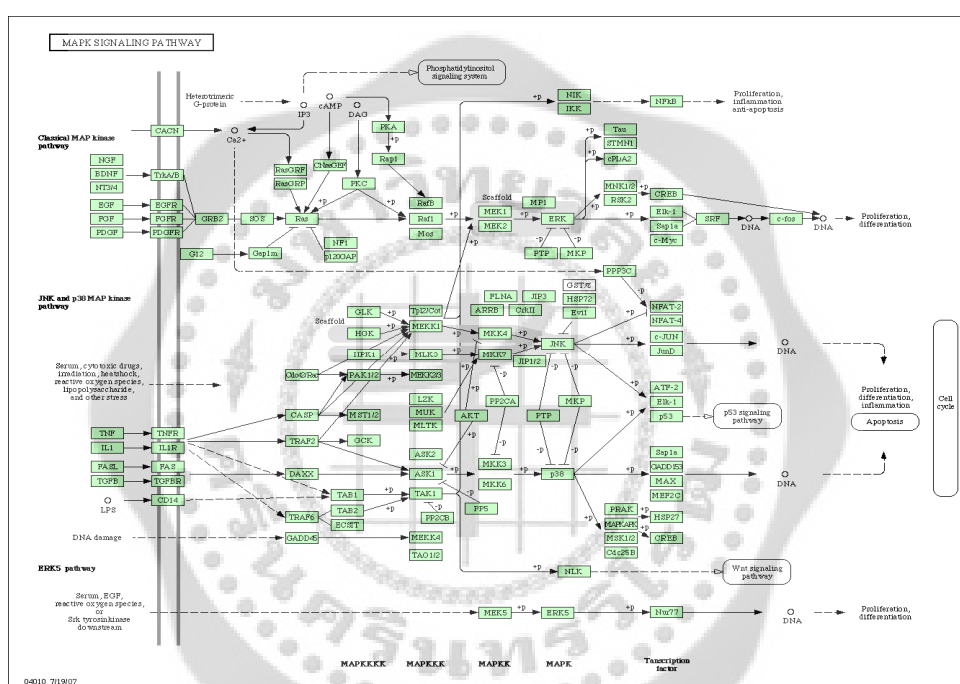
จากภาพที่ 9 วงกลมสีอ่อน แทนโปรตีนคนในวัฏจักรเซลล์ที่มีปฏิสัมพันธ์กับไวรัส  
และวงกลมสีเข้ม แทนโปรตีนคนที่ไม่จากจะมีปฏิสัมพันธ์กับไวรัสแล้ว ยังส่งผลต่อกระบวนการ  
อะพอพโทซิสอีกด้วย

ไวรัส HIV TAT มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน RB1 ของคนในการควบคุมวัฏจักร  
เซลล์ และสนับสนุนการแสดงออกของยีนส์ไวรัส โดยที่ไวรัส HIV สามารถแทรก DNA เข้าไปใน  
ยีนส์ของเจ้าบ้าน และทำให้เกิดเป็นโปรตีนของไวรัส ไวรัสส่วนมากจะทำงานในระยะก่อน  
ระยะ G1 และดำเนินการผ่านระยะ G1 แล้วเข้าสู่ระยะ S ดังนั้นระยะ G1 จะมีการเพิ่มการทำงาน  
ของไวรัส และมีการผลิตโปรตีนของไวรัสจำนวนมาก เช่น ในกรณีของ *Papillomavirus* พบว่า  
โปรตีน VE6 ใน *Papillomavirus* เป็นตัวควบคุมวัฏจักรเซลล์ผ่านการทำงานของ CDC2 และยับยั้ง  
การทำงานของ TP53 ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญในการยับยั้งมะเร็งของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์

### 1.2.3.4 วิธีการส่งผ่านสัญญาณ MAP Kinase (MAPK signaling pathway)

#### 1.2.3.4.1 วิธีการส่งผ่านสัญญาณ MAPK ในคน

MAPKs (Mitogen-activated protein kinases) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการทางกายภาพ ซึ่งประกอบไปด้วย การแพร่พันธุ์ (proliferation) การแยกไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์ (differentiation) การพัฒนาของเซลล์ (development) ระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย (immune function) การตอบสนองต่อความเครียด (stress responses) และกระบวนการอะพอโทซิส (apoptosis) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 17



ภาพประกอบ 17 วิธีการส่งสัญญาณ MAPK ในคน

ที่มา <http://www.kegg.com/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 19/07/07

วิธีการส่งสัญญาณเริ่มจาก MAPK kinase kinase (MKKK หรือ MEKK) เติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylation) ให้กับ MAPK kinase (MKK หรือ MEK) หลังจากนั้น MAPK kinase เติมหมู่ฟอสเฟตให้กับทรีโอนีน (threonine) และไทโรซีน (tyrosine) โดยส่วนที่เป็น kinase ของ MAPK อาจเกิดปฏิสัมพันธ์ และสามารถสร้าง signaling complexes โดยการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนที่จำเพาะ<sup>(24)</sup>

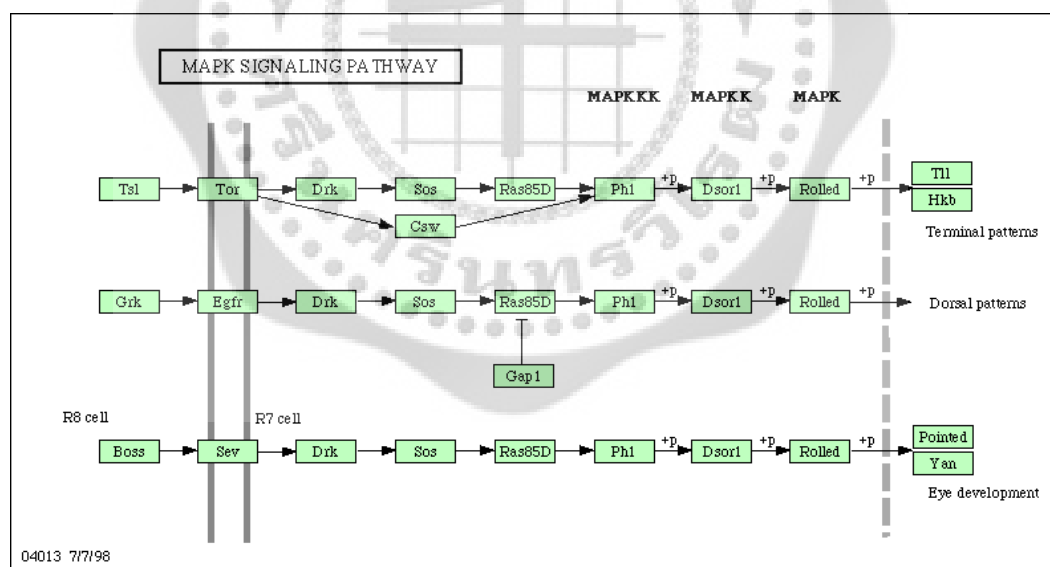
สำหรับวิธีการส่งสัญญาณ MAPK ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ประกอบด้วย 3 กลุ่มหลักๆ แบ่งจากลักษณะพื้นฐานที่คล้ายกัน และการกระตุ้นที่แตกต่างกันโดยสารตั้งต้นที่จำเพาะ ได้แก่ p42/p44 MAPKs หรือ extracellular signal-regulated kinases (ERKs), Jun N-terminal kinases (JNK1, JNK2, JNK3) และ p38 MAPKs ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  และ  $\gamma$ )<sup>(25)</sup>

ปัจจัยที่เกี่ยวเนื่องกับการทำงานของวิถี MAPK kinase ได้แก่ เอนไซม์ kinase ที่เกิดจากการที่ทรานส์คริปต์ถูกเติมหมู่ฟอสเฟตซึ่งจะเปลี่ยนมาอยู่ในสภาวะที่สามารถทำงานได้ การเติมหมู่ฟอสเฟตแก่ซีรีน หรือทรานส์คริปต์ของ MEK-MAP และสุดท้าย การเติมหมู่ฟอสเฟตแก่ MEK1 จากปัจจัยทั้งหมดที่กล่าวมาเป็นการกระตุ้นการทำงานของวิถี

#### 1.2.3.4.2 วิธีการส่งผ่านสัญญาณ MAPK ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

วิธีการส่งสัญญาณ MAPK ในแมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) มีลักษณะการส่งสัญญาณคล้ายกับในคน แต่เมื่อนำโปรตีนมาเปรียบเทียบกับวิธีการส่งสัญญาณ MAPK ในคนแล้วพบว่ามีความน้อยกว่า และมีวิธีการส่งสัญญาณไม่ซับซ้อนเหมือนวิธีการส่งสัญญาณในคน เนื่องจากแมลงหวี่มีช่วงชีวิตที่สั้น ไม่จำเป็นต้องมีระบบภูมิคุ้มกันมากนัก ดังแสดงในภาพประกอบที่

18



ภาพประกอบ 18 วิธีการส่งผ่านสัญญาณ MAPK ในแมลงหวี่

ที่มา <http://www.kegg.com/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 7/07/98

#### 1.2.3.4.3 ผลของการติดเชื้อต่อวิถีการส่งสัญญาณ MAPK

วิถีการส่งสัญญาณ MAP kinase (MAP kinase pathway) ในการต้านการติดเชื้อของไส้เดือน (*C. elegans*) จากแบคทีเรียแกรมลบชนิด *P. aeruginosa* ประกอบไปด้วย MAP3K NSY-1 และ MAP2K SEK-1 ซึ่งเป็นตัวรับสัญญาณ โดยทั้ง *nsy-1* และ *sek-1* เป็นยีนส์ที่พบในไส้เดือนที่มีความรู้สึกไวต่อ *P. aeruginosa* และยีนส์ทั้งสองนี้ทำงานร่วมกันในการกระตุ้น *pmk-1* ในวิถีการถอดรหัสของ p38 ซึ่งอยู่ในตระกูล MAP kinase พบว่ามีการเพิ่มความไวในการต้านการติดเชื้อ นอกจากนี้ TIP-1 ซึ่งนอกจากจะเป็นตัวขยายสัญญาณแล้ว ยังทำหน้าที่ในการปกป้องวิถีการส่งสัญญาณอีกด้วย<sup>(26)</sup> ดังแสดงในภาพประกอบที่ 19

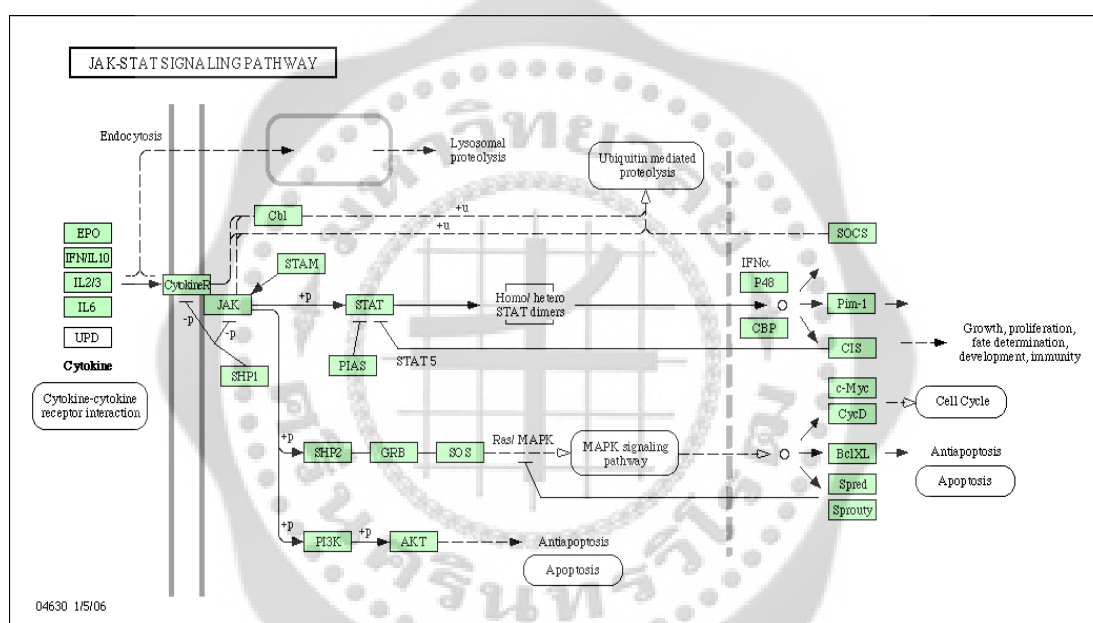


ภาพประกอบ 19 แผนภาพการส่งสัญญาณ MAPK ในการต้านการติดเชื้อของไส้เดือน (*C. elegans*) ที่มา Ewbank J. J. (2006). Signaling in the immune response. Wormbook. p. 4.

### 1.2.3.5 วิธีการส่งผ่านสัญญาณ JAK-STAT (JAK-STAT signaling pathway)

#### 1.2.3.5.1 วิธีการส่งผ่านสัญญาณ JAK-STAT ในคน

วิธีการส่งสัญญาณ JAK (Janus kinase)-STAT เป็นการถ่ายทอดสัญญาณจากภายนอกโมเลกุล (extracellular polypeptide) สู่โปรตีนเป้าหมายในนิวเคลียส โดยเป็นวิธีที่กระตุ้นการถอดรหัส และการส่งผ่านสัญญาณในวิถี JAK-STAT จะควบคุมกระบวนการของเซลล์ในหลายๆ กระบวนการ ได้แก่ ระบบภูมิคุ้มกัน (innate) การเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) การเปลี่ยนไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์ (differentiation) และกระบวนการอะพอพโทซิส (apoptosis) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 20



ภาพประกอบ 20 วิธีการส่งสัญญาณ JAK-STAT ในคน

ที่มา <http://www.kegg.com/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 5/01/06

โปรตีนที่มีความสำคัญในวิถีนี้คือ โปรตีน STAT ทำหน้าที่ถอดรหัสในไซโตพลาสซึม (cytoplasmic) โดยโปรตีน STAT ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมี 7 โปรตีน ได้แก่ STAT 1, 2, 3, 4, 5A, 5B และ 6 ก่อนการกระตุ้น โปรตีน STAT จะอยู่ในรูปของ monomer ในไซโตพลาสซึม หลังจากเกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตแล้ว โปรตีน STAT จะอยู่ในรูปของ dimers

วิธีการส่งสัญญาณ JAK-STAT มีกระบวนการดังต่อไปนี้

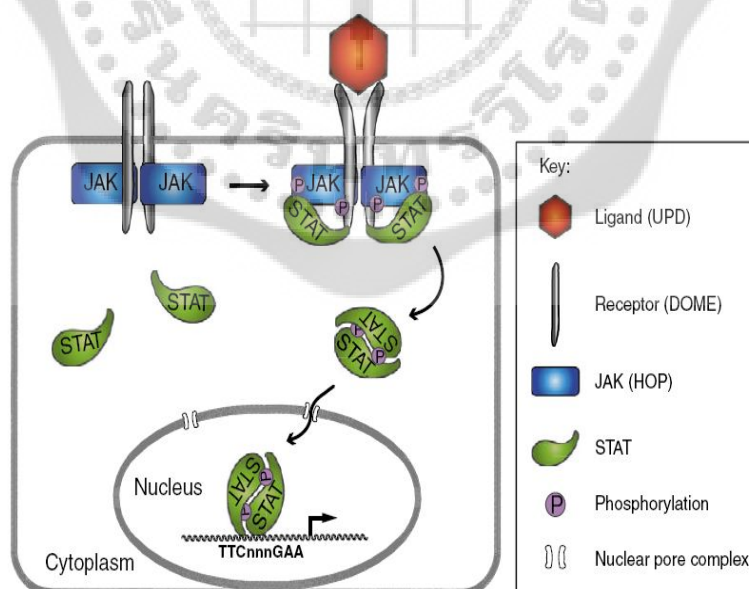
1. cytokine ligand มีปฏิสัมพันธ์กับ cytokine (cytokine receptor) ซึ่งเป็นโปรตีนรับสัญญาณในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพบโปรตีน JAK ได้แก่ JAK1, 2, 3, Tyk2 ที่จำเพาะกับตัวรับสัญญาณ cytokine

2.การมีปฏิสัมพันธ์กับลิแกนด์เป็นการกระตุ้นตัวรับสัญญาณที่เป็น dimer หรือ oligomer เกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตอย่างรวดเร็ว และไปกระตุ้นโปรตีน JAKs โดยการเติมหมู่ฟอสเฟตให้แก่โปรตีน JAKs นำไปสู่การมีปฏิสัมพันธ์อย่างจำเพาะกับโปรตีน STATs ผ่าน SH2 domains<sup>(27)</sup>

3.โปรตีน STATs dimer เคลื่อนตัวเข้าสู่นิวเคลียส และจะส่งผลต่อการแสดงออกของยีนส์ โดยโปรตีน STAT จะทำงานร่วมกับ transcription factors (TFs) อื่นๆ ได้แก่ IRFs, Sp1, Jun, Fos, NF-kB, GR และ coactivators ซึ่งอยู่ในโครมาติน ได้แก่ p300/CBP, PCAF, GCN5, BRG1, HDACs หรือในรูปของสารเชิงซ้อน ภายหลังการถอดรหัสโปรตีน STATs จะถูกกำจัดหมู่ฟอสเฟสออก และเคลื่อนตัวออกจากนิวเคลียสกลับสู่ไซโตพลาสซึม การที่โปรตีน STATs มีการรับและคายหมู่ฟอสเฟสจะทำให้วัฏจักรเกิดความเสถียร

#### 1.2.3.5.2 วิธีที่การส่งผ่านสัญญาณ JAK-STAT ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

ก่อนที่โปรตีนตัวรับสัญญาณของวิธี และ JAKs จะเกิดเป็นสารเชิงซ้อนนั้น dimers จะถูกกระตุ้นจากลิแกนด์ หลังจากที่ถูกกระตุ้น JAKs เกิดการเติมหมู่ฟอสเฟต และตัวรับสัญญาณสร้างบริเวณสำหรับ STATs ที่ถูกเติมเข้าไปสำหรับการกระตุ้นสารเชิงซ้อน ต่อมาเกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตแก่ STATs แล้วเกิดเป็น STAT dimers ซึ่งจะเคลื่อนที่เข้าสู่นิวเคลียส และต่อเชื่อมกับ palindromic DNA sequence สำหรับสนับสนุนยีนส์เป้าหมายในการกระตุ้นการถอดรหัส ดังแสดงในภาพประกอบที่ 21<sup>(28)</sup>

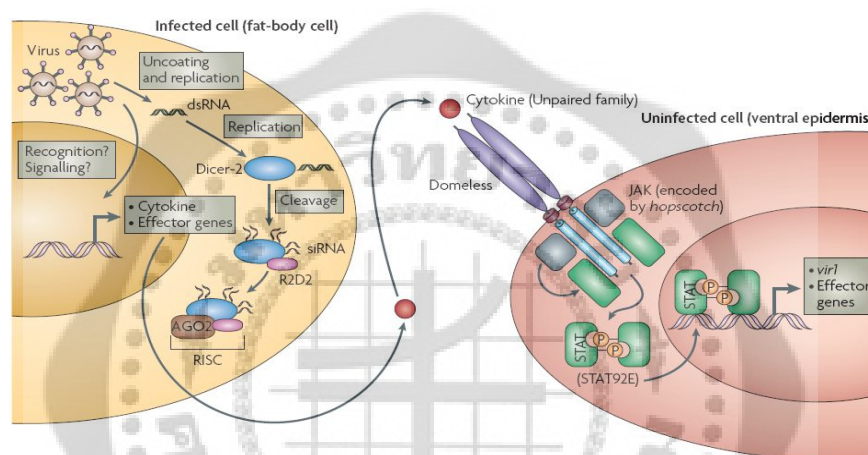


ภาพประกอบ 21 แผนภาพการส่งผ่านสัญญาณ JAK-STAT ในแมลงหวี่

ที่มา Arbouzova Natalia I. and Zeidler Martin P. (2006). JAK/STAT signalling in *Drosophila*: insights into conserved regulatory and cellular functions. Dev. 133: 2606.

### 1.2.3.5.3 ผลของการติดเชื้อต่อวิถีการส่งผ่านสัญญาณ JAK-STAT

วิถีการส่งสัญญาณ JAK-STAT ของแมลงมีวิวัฒนาการในการต้านไวรัส และยังคงมีการอนุรักษ์ไว้ ซึ่งสามารถศึกษาได้จากรูปแบบของการส่งผ่านสัญญาณ เช่น การเหนี่ยวนำ STAT DNA-binding activity ในเซลล์ของยุงที่ถูกโจมตีด้วย flavivirus Japanese encephalitis virus<sup>110</sup> นอกจากนี้ ไวรัสที่มีดีเอ็นเอขนาดใหญ่ เช่น white spot syndrome virus (WSSV; family *Nimaviridae*) สามารถบุกรุกกึ่งโดยวิธีการเหนี่ยวนำ STAT-binding activity ซึ่งเป็นวิธีเดียวกับที่ใช้บุกรุกสัตว์ และทำลายสัตว์เหล่านั้นเพื่อเป็นการสนับสนุนการแสดงออกของยีนส์ไวรัส ดังแสดงในภาพประกอบที่ 22



ภาพประกอบ 22 แผนภาพการป้องกันไวรัสของวิถีการส่งสัญญาณ JAK-STAT ในแมลงหวี่ ที่มา Beutler B, et al. (2007). Genetic analysis of resistance to viral infection. Immunol. 7: 762.

ในการป้องกันการติดเชื้อตามธรรมชาติของเซลล์เจ้าบ้าน โมเลกุล RNA ของไวรัสเป็นเป้าหมายที่มีความจำเพาะ เช่น การติดเชื้อจาก *Drosophila C virus* (DCV) ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำสัญญาณ Janus kinase และไปกระตุ้นการถอดรหัสในวิถีการส่งสัญญาณ JAK-STAT ในเซลล์ที่ยังไม่ติดเชื้อ การเหนี่ยวนำนี้มีตัวกลางคือ gp130 ที่มีลักษณะคล้ายตัวรับสัญญาณ Domeless

การมีปฏิสัมพันธ์กับไวรัส เป็นการกระตุ้นการสังเคราะห์ cytokines ของ Unpaired family และการเชื่อมต่อกับลิแกนด์ เป็นการกระตุ้น Domeless ซึ่งการกระตุ้นโดยวิธีนี้จะเกิดเฉพาะ JAK kinase ใน *D. melanogaster* ที่ถูกถอดรหัสโดยยีน Hopscotch ทำให้เกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตแก่ไทโรซีน และเป็นการกระตุ้นโปรตีน STAT92E ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการถอดรหัสของ *D. melanogaster* จากนั้น STAT92E dimers จะเคลื่อนที่เข้าสู่นิวเคลียส และกระตุ้นการถอดรหัสของยีนส์

## งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Giot และคณะ ได้ทำการศึกษาเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของแมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาระบบชีววิทยาในคน โดยใช้เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในแมลงหวี่ โดยทำการแยกโปรตีน 10,623 โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการถอดรหัสดีเอ็นเอ และนำมาสร้างเป็นแผนที่ความสัมพันธ์ ซึ่งประกอบไปด้วย 7,084 โปรตีน และ 20,405 ปฏิสัมพันธ์ จากนั้นใช้คอมพิวเตอร์ในการประมวลผลเพื่อหาความถูกต้อง พบว่ามี 4,679 โปรตีน และ 4,780 ปฏิสัมพันธ์ จากการวิเคราะห์เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ทางสถิติแสดงให้เห็นถึงการจัดการ 2 ระบบ คือ การจัดการทางด้านค่าเฉลี่ย ที่แสดงถึงความสอดคล้องของโปรตีน และการจัดการด้านระบบที่เกี่ยวข้องกับการเชื่อมต่อของโปรตีน จากการศึกษาเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ ทำให้ทราบถึงการดำเนินของวิถี ส่วนประกอบของวิถี และจากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์นี้เอง จะเป็นจุดเริ่มต้นของการศึกษาระบบทางชีววิทยาของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ ซึ่งได้แก่ มนุษย์<sup>(29)</sup>

Trey และ Roded<sup>(9)</sup> ได้ศึกษาเครือข่ายของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค โดยทำการวิเคราะห์ลักษณะของยีนส์ และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคในคน โดยได้ทำการสร้างเครือข่ายของโรคในคนขึ้น และนำมาสร้างเป็นความสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างโรค กับยีนส์ และโปรตีน ซึ่งจากเครือข่ายจะพบว่าโรคที่เกิดขึ้นนั้นมีความเชื่อมโยงกับยีนส์ และโปรตีนที่ทราบว่าเป็นสาเหตุของการเกิดโรค ซึ่งข้อดีของการสร้างเครือข่ายความสัมพันธ์นี้ ทำให้สามารถทำนายโปรตีน หรือยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคได้ เช่น พบว่ามียีนส์หนึ่งที่ไม่ทราบหน้าที่ที่แน่ชัดว่ามีหน้าที่อะไร และเป็นสาเหตุของโรคใด แต่เมื่อนำข้อมูลมาสร้างเป็นเครือข่ายความสัมพันธ์แล้ว พบว่ายีนส์นั้นมีปฏิสัมพันธ์กับโรคใดโรคหนึ่ง หรือมีความใกล้ชิดกับโรค หรือมีความใกล้ชิดกับยีนส์ที่ทำให้เกิดโรค อาจทำนายได้ว่ายีนส์นั้นน่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับโรคนั้นด้วย

Dyer และคณะ<sup>(23)</sup> ได้ทำการศึกษาการมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนคนกับเชื้อก่อโรค ทั้งไวรัส แบคทีเรีย รา และปรสิต โดยการรวบรวมปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน protein-protein interaction (PPI) ของคน และเชื้อโรคเข้าด้วยกัน โดยใช้เชื้อโรค 190 ชนิด จากฐานข้อมูล 7 แห่ง จากการรวบรวมพบว่ามีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคนกับเชื้อก่อโรค 10,477 PPI และเป็นปฏิสัมพันธ์ระหว่างคนกับไวรัส 98.3% โดยเป็นโปรตีนคนกับเชื้อ HIV 77.9% และพบว่าเชื้อก่อโรคทั้งที่เป็นไวรัส และแบคทีเรียจะเกิดปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนที่เป็น hubs (โปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนอื่นมากกว่า 2 โปรตีนขึ้นไป) และโปรตีนที่เป็น bottlenecks (โปรตีนที่เป็นศูนย์กลางของเครือข่าย) ในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ (PPI network) ของมนุษย์ นอกจากนี้ ได้ทำการแยกชุดโปรตีนคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับแบคทีเรีย และไวรัส โดยได้ทำการเพิ่มหน้าที่ของโปรตีนลงไปสำหรับการพิจารณา ได้แก่ การควบคุมวัฏจักรเซลล์ (cell cycle) การขนส่งในนิวเคลียส และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อเชื้อก่อโรคที่แตกต่างกัน ผลที่ได้จากการศึกษา คือ แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ของโปรตีนคน กับเชื้อก่อโรคที่ทำลายกระบวนการของเซลล์ และทำให้เซลล์คนติดเชื้อ

วิรุพห์<sup>(30)</sup> ได้ทำการเปรียบเทียบวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการอะพอพโทซิสระหว่างคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด โดยข้อมูลโปรตีนที่นำมาทำการศึกษามาจากฐานข้อมูล KEGG โดยใช้โปรแกรม BLASTP และ PROBCONS ในการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน เพื่อหาโปรตีนที่ตรงกันระหว่างคน กับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และสร้างเป็นแผนภาพวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

นันทกานต์<sup>(31)</sup> ได้ทำการเปรียบเทียบวิธีการส่งสัญญาณไมโทเจนแอกทิเวเตดโปรตีนไคเนส (MAPKs) และวิถีวัฏจักรเซลล์ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่ทราบรหัสจีโนมแล้วโดยเทียบรหัสสายลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนที่ตรงกับรหัสโปรตีนของคน โดยข้อมูลโปรตีนที่นำมาทำการศึกษามาจากฐานข้อมูล KEGG และทำการระบุโปรตีนที่ตรงกันระหว่างคน กับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และสร้างเป็นแผนภาพวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

ด้วยเหตุที่ข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนจากฐานข้อมูลต่างๆ มีการรวบรวมและจัดเก็บอย่างกระจัดกระจาย ไม่เป็นระบบเดียวกัน ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาต่อการศึกษาและพิจารณาเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โดยรวมทั้งหมดของคน แมลงหวี่ และไส้เดือน ดังนั้นหากมีการรวบรวมข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์จากฐานข้อมูลต่างๆ ที่ได้มีการศึกษาไว้แล้ว มาไว้เป็นระบบเดียวกัน โดยทำการรวบรวมจากฐานข้อมูลที่ได้รวบรวมการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนจาก 8 ฐานข้อมูล น่าจะทำให้ได้ข้อมูลที่มีความสมบูรณ์มากกว่าการใช้ข้อมูลจากฐานข้อมูล KEGG เพียงฐานข้อมูลเดียว

การศึกษาเกี่ยวกับวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของคนนับว่าเป็นสปีชีส์ที่มีการศึกษากันมากที่สุด และข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนค่อนข้างสมบูรณ์ แม้ว่าจะยังไม่สมบูรณ์ที่สุด นับว่าโชคดี เพราะเมื่อไม่นานมานี้ Dyer และคณะ<sup>(23)</sup> ได้ทำการศึกษาและรวบรวมเกี่ยวกับการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคนกับเชื้อก่อโรคต่างๆ ซึ่งข้อมูลในส่วนนี้นับว่าเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้เป็นอย่างมาก เนื่องจากงานวิจัยของ Dyer ได้ให้ข้อมูลรายชื่อโปรตีนคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคไว้ ซึ่งพบว่ามีจำนวนประมาณ 1,200 โปรตีน โดย Dyer ศึกษาโปรตีนทั้งหมดในคน ไม่ได้แยกว่าโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคแต่ละโปรตีนนั้นอยู่ในวิธีการส่งสัญญาณใด แต่ในงานวิจัยนี้ให้ความสนใจกับวิธีการส่งสัญญาณ 5 วิธี ได้แก่ Toll-like, Apoptosis, Cell cycle, MAPK และ JAK/STAT ซึ่งทำให้สามารถระบุโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรค และมีความเกี่ยวข้องกับวิธีการส่งสัญญาณ 5 วิธี

จากงานวิจัยที่ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับโปรตีนที่ตรงกันระหว่างสปีชีส์ ทำให้ทราบว่าโปรตีนที่ตรงกันระหว่างโปรตีนคนกับแมลงหวี่ และโปรตีนคนกับไส้เดือนจำนวนมากในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ 5 วิธี ซึ่งเป็นวิธีการส่งสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ซึ่งนับว่าเป็นวิธีที่มีความสำคัญ

มีการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนของแมลงหวี่และไส้เดือนกันมาก แต่ความรู้ด้านวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของแมลงหวี่ และไส้เดือนพบว่ายังมีน้อย เนื่องจากข้อมูลมีกระจุกกระจายอยู่ตามฐานข้อมูลต่างๆ ตามที่ได้กล่าวไว้ในเบื้องต้น และข้อมูลที่ได้ก็ไม่สมบูรณ์เมื่อเทียบกับคน ดังนั้นหากมีแบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่สามารถใช้เป็นตัวแทนในการศึกษา หรือใช้ในการทำนายกลไกต่างๆ ในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 2 สปีชีส์นี้ก็น่าจะช่วยประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายในการศึกษาได้มาก ซึ่งวิธีการศึกษา และผลที่ได้จากการศึกษาจะได้กล่าวต่อไปในบทที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

### 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.3.1 รวบรวมรายชื่อโปรตีน หรือชีวโมเลกุลในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ได้แก่ คน *Drosophila melanogaster* และ *Caenorhabditis elegans* ที่ตอบสนอง หรือมีการเปลี่ยนแปลงไป เพราะการติดเชื้อโรคชนิดใดชนิดหนึ่ง ไม่ว่าจะเป็นไวรัส แบคทีเรีย รา หรือปรสิต
- 1.3.2 รวบรวมข้อมูลของโปรตีนว่า มีข้อมูลแวดล้อมอะไรบ้าง และอยู่ในแผนผังเมตาบอลิซึมใด และสร้างตารางข้อมูลดังกล่าว
- 1.3.3 รวบรวมรายชื่อโปรตีนในคนที่ตรงกันกับโปรตีนในสิ่งมีชีวิตอื่น (orthologous proteins) ได้แก่ *Drosophila melanogaster* และ *Caenorhabditis elegans*
- 1.3.4 สร้างแบบจำลองสังเคราะห์ของเครือข่ายของชีวโมเลกุล ที่ครอบคลุมชีวโมเลกุลที่ได้รวบรวมไว้แล้วตามข้อ 1.3.1 1.3.2 และ 1.3.3

### 1.4 ประโยชน์ของงานวิจัย

การสร้างแบบจำลองโดยอาศัยการเปรียบเทียบกับโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณของคน ที่ทราบหน้าที่เรียบร้อยแล้ว จะเป็นวิธีที่ทำให้ลดระยะเวลาการทำงาน และงบประมาณลงได้ และที่สำคัญคือ สามารถทำนายกลไก หรือวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อซึ่งส่งผลให้คน และสัตว์เสียชีวิตเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีเชื้อโรคเกิดขึ้นใหม่มากมาย ทำให้ยากต่อการรักษา เพราะไม่ทราบกลไกการทำงาน และการตอบสนองของเซลล์ภายหลังจากการติดเชื้อ โดยเฉพาะการติดเชื้อในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด ซึ่งเป็นสัตว์เศรษฐกิจ หากติดเชื้อจะทำให้สูญเสียเงินเป็นพันๆ ล้านบาท ดังนั้น หากมีความเข้าใจเกี่ยวกับวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signal transduction) จะก่อให้เกิดผลดีในการรักษา

## 1.5 ขอบเขตของการวิจัย

1.5.1 รวบรวมรายชื่อโปรตีนจากวิธีการส่งสัญญาณในเซลล์ของคน 5 วิธี ได้แก่ Toll-like receptor, Apoptosis, Cell cycle, MAPK และ JAK-STAT signaling pathway

1.5.2 รวบรวมรายชื่อโปรตีนในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 2 ชนิด ได้แก่ *Drosophila melanogaster* และ *Caenorhabditis elegans* ที่ทราบรหัสจีโนมโดยสมบูรณ์แล้ว และระบุโปรตีนที่ตรงกับโปรตีนของคน

1.5.3 ระบุรายชื่อโปรตีนต่างๆ ในวิธีการส่งสัญญาณในเซลล์ของคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ที่มีข้อมูลว่ามีปฏิสัมพันธ์กับโมเลกุลจากเชื้อโรค

1.5.4 เสนอแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังจากข้อมูลที่ได้

## 1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

### 1.6.1 การส่งสัญญาณของเซลล์ (Signal transduction)

ในทางชีววิทยา Signal transduction หมายถึง กระบวนการใดๆ ที่เซลล์เปลี่ยนแปลงสัญญาณชนิดหนึ่งไปเป็นอีกชนิดหนึ่ง หรือการกระตุ้นใดๆ เพื่อทำการส่งสัญญาณไปสู่เซลล์อื่นๆ กระบวนการส่วนใหญ่ของการส่งสัญญาณ คือการที่เซลล์มีการตอบสนองทางชีวเคมีอย่างเป็นลำดับ โดยมีเอนไซม์ทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณที่ 2 (second messenger) ส่งผลให้เกิดวิธีการส่งสัญญาณ (signal transduction pathway) ด้วยเหตุนี้ทำให้การส่งสัญญาณเกิดขึ้นเร็วมาก เช่นในกรณีการไหลของไอออน เกิดขึ้นเพียงเศษหนึ่งส่วนพันของวินาที หรือการกระตุ้นของโปรตีน และไขมัน ซึ่งเป็นตัวกลางของวิถี kinase ซึ่งใช้เวลาเป็นนาที่ แต่บางกรณีอาจใช้เวลาเป็นชั่วโมง หรือเป็นวัน เช่นในกรณีการแสดงออกของยีนส์ เพื่อให้วิธีการส่งสัญญาณเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ในการส่งสัญญาณนั้นจะมีโปรตีน และโมเลกุลอื่นๆ เข้าร่วมในกระบวนการ และจะมีการเพิ่มจำนวนของโปรตีน หรือโมเลกุลจากกระบวนการกระตุ้นเริ่มแรก เป็นผลให้เกิด “signal cascade” ซึ่งเริ่มจากการกระตุ้นโมเลกุลจำนวนน้อยๆ ส่งผลให้โมเลกุลจำนวนมากเกิดการตอบสนอง กระบวนการที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า การขยายสัญญาณ “amplification of the signal”<sup>(10)</sup>

### 1.6.2 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ (Network หรือ Systems biology)

Systems biology เป็นการศึกษาที่พยายามเชื่อมโยงความสัมพันธ์ และการมีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างส่วนต่างๆ ของระบบชีววิทยา (proteins, metabolic pathways, genes, organelles, cells, และ organisms) และทำการรวบรวมข้อมูลที่ได้ ศึกษาแบบจำลองเพื่อทำความเข้าใจเกี่ยวกับการทำงานของทั้งระบบชีววิทยา<sup>(32)</sup>

### 1.6.3 Orthologous proteins

โปรตีนที่กำหนดโดยรหัสของยีนส์ของสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกัน ที่ต่างถ่ายทอดมาจากบรรพบุรุษร่วมกันในเชิงวิวัฒนาการ และเมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างโปรตีนของสิ่งมีชีวิตแล้วพบว่าลำดับของกรดอะมิโนคล้ายคลึงกัน

### 1.6.4 วิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์(Toll-like receptor signaling pathway)

เป็นวิธีการส่งสัญญาณที่มีตัวรับสัญญาณอยู่ที่ผนังเซลล์ โดยตัวรับสัญญาณทำหน้าที่ในการจดจำโครงสร้างโมเลกุลของเชื้อโรค หลังจากนั้นจะไปกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์ ซึ่งเป็นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่มีมาตั้งแต่กำเนิด และตอบสนองต่อพยาธิสภาพที่เข้าสู่ร่างกาย นำไปสู่การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่างๆ เช่น เกิด Pro-inflammatory cytokines, T-cell stimulation, antimicrobial response, apoptosis pathway และ antiviral effects เป็นต้น<sup>(12)</sup>

### 1.6.5 กระบวนการอะพอโทซิส (Apoptosis)

เป็นรูปแบบหนึ่งของการตายของเซลล์ แบบที่มีการโปรแกรมไว้แล้ว (programmed cell death) ของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับชุดของปฏิกิริยาทางชีวเคมีซึ่งทำให้เซลล์ตายอย่างมีลักษณะที่เฉพาะ หรือเป็นชุดของปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่ทำให้เซลล์มีสัญญาณวิทยาเปลี่ยนแปลงไปหลายรูปแบบ เช่น การบวมของเซลล์ (blebbing) การเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ เช่นการเหี่ยวของเซลล์ นิวเคลียสแตกเป็นชิ้นส่วน โครมาตินหนาตัวขึ้น และดีเอ็นเอแตกเป็นท่อน กระบวนการกำจัดเศษซากเซลล์ก็จะไม่ทำให้เกิดการกระตุ้นให้เนื้อเยื่อข้างเคียงเกิดความเสียหาย ซึ่งต่างจากการตายแบบการตายเฉพาะส่วนหรือเนโครซิส (necrosis)<sup>(33)</sup>

### 1.6.6 วัฏจักรเซลล์ (Cell cycle)

เป็นช่วงระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ ในขณะที่เซลล์มีการแบ่งตัว ซึ่งประกอบด้วย 3 ระยะได้แก่ Interphase, Mitotic phase และ Cytokinesis<sup>(34)</sup>

### 1.6.7 วิธีการส่งสัญญาณ MAPK (MAPK signaling pathway)

วิธีการส่งผ่านสัญญาณ MAPK เป็นวิธีที่มีความเกี่ยวข้องกับการถอดรหัส (Transcription) โดยกระบวนการเริ่มต้นจาก MAPKs ที่ถูกกระตุ้นโดยการเติมหมู่ฟอสเฟต จะเคลื่อนที่เข้าสู่นิวเคลียสเพื่อทำหน้าที่ในการเติมหมู่ฟอสเฟตให้แก่โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น transcription factors ซึ่ง ควบคุมการถอดรหัสยีนส์ที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์ เช่น c-fos, c-jun เมื่อโปรตีนถูกเติมหมู่ฟอสเฟตแล้ว จะทำให้โปรตีนเหล่านี้เปลี่ยนแปลงรูปร่างจนสามารถจับกับดีเอ็นเอ ทำให้เอนไซม์ RNA polymerase มาเกาะและเริ่มต้นกระบวนการถอดรหัส<sup>(24)</sup>

### 1.6.8 วิธีการส่งสัญญาณ JAK-STAT (JAK-STAT signaling pathway)

วิธีการส่งผ่านสัญญาณ JAK (Janus kinase)-STAT เป็นการถ่ายทอดสัญญาณจาก โพลีเปปไทด์ภายนอกโมเลกุล (extracellular polypeptide) สู่โปรตีนเป้าหมายในนิวเคลียส การส่งสัญญาณในวิธีนี้จะกระตุ้นการถอดรหัส และจะควบคุมกระบวนการของเซลล์ในหลายๆ กระบวนการ ได้แก่ ระบบภูมิคุ้มกัน การเพิ่มจำนวนเซลล์ การเปลี่ยนไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์ และ กระบวนการอะพอพโทซิส<sup>(27)</sup>

### 1.6.9 UniProt ID retrieval

เป็นการนำรายชื่อโปรตีน (Uniprot ID) ไปดึงข้อมูลปฏิสัมพันธ์ทั้งหมดที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนตัวนั้นจากชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์ที่ได้รวบรวมไว้จาก 8 ฐานข้อมูล เมื่อพบว่ามีการปฏิสัมพันธ์กันก็ดึงคู่โปรตีนคู่ นั้นมาเลย เพื่อหาโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนที่ต้องการหาการมีปฏิสัมพันธ์

### 1.6.10 Depth first search (DFS)

เป็นอัลกอริทึม (algorithm) สำหรับการค้นหาที่กำหนดทิศทางจากรูปของโครงสร้าง ต้นไม้ ที่เริ่มจากโหนดราก (Root node) ที่อยู่บนสุด แล้วเดินลงมาให้ลึกที่สุด เมื่อถึงโหนดล่างสุด (Terminal node) ให้ย้อนขึ้นมาจากจุดสูงสุดของกิ่งเดียวกันที่มีกิ่งแยก และยังไม่ได้เดินผ่าน แล้วเริ่มเดินลงจนถึงโหนดลึกสุดอีก ทำเช่นนั้นสลับไปเรื่อยจนพบโหนดที่ต้องการหา

## บทที่ 2

### วัสดุและวิธีการทดลอง

#### 2.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

##### 2.1.1 ฐานข้อมูลรายชื่อโปรตีนในคนและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

###### 2.1.1.1 *Homo sapiens*: จาก

|          |                                                                           |                   |
|----------|---------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| KEGG     | : <a href="http://www.kegg.com/">http://www.kegg.com/</a>                 | วันที่ 26/07/2009 |
| Reactome | : <a href="http://www.reactome.org/">http://www.reactome.org/</a>         | วันที่ 26/07/2009 |
| HGNC     | : <a href="http://www.genenames.org/">http://www.genenames.org/</a>       | วันที่ 03/08/2009 |
| GeneBank | : <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/</a> | วันที่ 08/08/2009 |
| iHOP     | : <a href="http://www.ihop.org/">http://www.ihop.org/</a>                 | วันที่ 29/08/2009 |

###### 2.1.1.2 *Drosophila melanogaster*: จาก <http://www.flybase.net/> วันที่ 2/08/2009

###### 2.1.1.3 *Caenorhabditis elegans*: จาก <http://www.wormbase.org/> วันที่ 2/08/2009

##### 2.1.2 ฐานข้อมูล orthologous proteins ระหว่างสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ

จาก <http://inparanoid.sbc.su.se/cgi-bin/index.cgi> วันที่ 5/08/2009

2.1.3 รายชื่อโปรตีนในวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในคน 5 วิถี ได้แก่ Toll-like receptor, Apoptosis, Cell cycle, MAPK และ JAK-STAT signaling pathway ที่ตรงกับโปรตีนในแมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) และไส้เดือน (*Caenorhabditis elegans*)

##### 2.1.4 คอมพิวเตอร์สำหรับศึกษาค้นคว้า

###### 2.1.4.1 คอมพิวเตอร์ Notebook

###### 2.1.4.2 คอมพิวเตอร์ Macbook (Apple), (OS-X 10.5.6)

###### 2.1.4.3 computational cluster (ที่ BIOTEC)

##### 2.1.5 โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้ในการสร้างภาพเครือข่ายปฏิสัมพันธ์

###### 2.1.5.1 โปรแกรม Cytoscape เวอร์ชัน 2.6.2

## 2.2 วิธีการและขั้นตอนการทดลอง

ขั้นตอนการทดลองได้ดำเนินการเป็นไปตามแผนภูมิตามขั้นตอน ดังแสดงในภาพประกอบที่ 23



ภาพประกอบ 23 ขั้นตอนการดำเนินงานในงานวิจัยนี้

### 2.2.1 รวบรวมข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน (protein-protein interaction) ในคน

งานวิจัยนี้ ได้ใช้ฐานข้อมูลที่ให้ข้อมูลเกี่ยวกับการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน 8 ฐานข้อมูล โดยวิธีการในการรวบรวมข้อมูลปฏิสัมพันธ์ ประกอบด้วย 2 วิธี ได้แก่

#### 2.2.1.1 การรวบรวมข้อมูลปฏิสัมพันธ์จากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome

การหาข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome นั้นทำได้โดยพิจารณาปฏิสัมพันธ์ตามที่ได้มีการระบุไว้ในแผนภาพของแต่ละวิถีการส่งสัญญาณจากฐานข้อมูล KEGG และทำการตรวจสอบลักษณะของปฏิสัมพันธ์จากฐานข้อมูล Reactome

#### 2.2.1.2 การรวบรวมข้อมูลปฏิสัมพันธ์จากฐานข้อมูล HPRD, Droid, MINT, BIND, IntAct และ DIP

การรวบรวมข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนจาก 6 ฐานข้อมูล ทำได้โดยดาวน์โหลดชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนทั้งหมดจากแต่ละฐานข้อมูล จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมารวมกัน ซึ่งคุณอุดร ทวีเมือง เป็นผู้ทำการรวบรวม

ภายหลังจากการรวบรวมข้อมูลปฏิสัมพันธ์จาก 8 ฐานข้อมูล ทำการคัดกรองคู่ปฏิสัมพันธ์ที่ซ้ำออก และทำการแปลรหัส (ID) ของโปรตีน เนื่องจากแต่ละฐานข้อมูลกำหนดรหัสโปรตีนตัวเดียวกัน แต่วิธีการต่างกัน จึงต้องกำหนดให้โปรตีนมีรหัสเดียวกันคือ Uniprot ID เมื่อทำการคัดกรองและแปลรหัสเรียบร้อยแล้ว พบว่าเหลือคู่ปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนทั้งสิ้น 222,588 ปฏิสัมพันธ์

### 2.2.2 รวบรวมรายชื่อโปรตีนจากแต่ละวิถีในคน และใน *Drosophila melanogaster* และ *Caenorhabditis elegans*

การรวบรวมรายชื่อโปรตีนในคน รวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome ซึ่งทั้งสองฐานข้อมูลนี้ จะกำหนดรายชื่อโปรตีนในแต่ละวิถีไว้ นำรายชื่อที่ได้จากทั้งสองฐานข้อมูลมารวมกัน แล้วคัดรายชื่อโปรตีนที่ซ้ำออก ซึ่งรายชื่อโปรตีนในแต่ละวิถีที่ได้นี้ จะนำไปใช้ในการหาข้อมูลปฏิสัมพันธ์ที่มีความเกี่ยวข้องกับโปรตีนจากชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์ที่ได้ทำการรวบรวมไว้จากข้อ 2.2.1 นอกจากนี้ยังสามารถพิจารณาโปรตีนของคนจากฐานข้อมูลอื่นๆ ได้แก่ NCBI, iHOP และ genenames เป็นต้น

สำหรับการรวบรวมรายชื่อโปรตีนจาก *D. melanogaster* และ *C. elegans* สามารถรวบรวมได้จากฐานข้อมูล flybase และ wormbase ตามลำดับ

### 2.2.3 Mapped ID เป็น UniProt ID และประมวลเข้าด้วยกัน

เนื่องจากข้อมูลของโปรตีนต่างๆ ที่ในฐานะข้อมูลตามที่ได้กล่าวมาก่อนหน้านี้ ไม่ได้ให้ชื่อมาตรฐานเดียวกัน เช่น โปรตีนตัวเดียวกันมีชื่อเรียกได้หลายแบบ บางตัวก็มีชื่ออักษรย่อหลายแบบ และมีเลขประจำตัวที่ต่างกัน ซึ่งขึ้นกับแต่ละฐานข้อมูล ทำให้ต้องมีการเปลี่ยนแปลง (convert) ข้อมูลให้มาอยู่ในระบบเดียวกันก่อนที่จะนำไปใช้ในงานวิจัย จึงตัดสินใจเปลี่ยนแปลงข้อมูลให้มาอยู่ในระบบ Uniprot ID โดยการใช้สคริปในการเปลี่ยนแปลงข้อมูล

### 2.2.4 ค้นหา (mining) โปรตีน โดยใช้วิธี UniProt ID retrieval และ Depth first search

เมื่อได้ปฏิสัมพันธ์ทั้งหมดของโปรตีนคนจากข้อ 2.2.1 และรายชื่อของโปรตีนในแต่ละวิถีจากข้อ 2.2.2 แล้ว ทำการหาปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในแต่ละวิถี จากชุดปฏิสัมพันธ์ที่ได้รับรวมไว้ โดยใช้วิธี UniProt ID retrieval และ Depth first search

### 2.2.5 สร้างภาพเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคนทั้ง 5 วิถี

เมื่อได้ข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคนในแต่ละวิถีมาแล้ว นำชุดข้อมูลที่ได้ไปสร้างเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ โดยใช้โปรแกรม Cytoscape เวอร์ชัน 2.6.2 ซึ่งโปรแกรมนี้จะทำให้สามารถพิจารณา และสังเกตเห็นภาพรวมของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ได้

### 2.2.6 Mapped protein ID ในคน ไปเป็น protein ID ของ *Drosophila melanogaster* และ *Caenorhabditis elegans*

หลังจากที่ได้รายชื่อโปรตีน และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ในแต่ละวิถีของคนแล้ว จะต้องนำโปรตีนในคนมาหาโปรตีนที่ตรงกับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งในงานวิจัยนี้ให้ความสนใจสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 2 ชนิด ได้แก่ แมลงหวี่ (*D. melanogaster*) และไส้เดือน (*C. elegans*) ซึ่งได้มีฐานข้อมูล <http://inparanoid.sbc.su.se/cgi-bin/index.cgi> ที่ทำการเปรียบเทียบปฏิสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ไว้ โดยในการทดลองนี้ ใช้ inparanoid เวอร์ชัน 7 ซึ่งเป็นข้อมูลล่าสุด ณ วันที่ 13 พฤศจิกายน พ.ศ. 2552 ในการเปรียบเทียบโปรตีนคน *D. melanogaster* และ *C. elegans*

### 2.2.7 ระบุโปรตีนในคน และ *Drosophila melanogaster* และ *Caenorhabditis elegans* ที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค จากเอกสารอ้างอิง

จากงานวิจัยของ Dyer และคณะ<sup>(23)</sup> ที่ได้รวบรวมโปรตีนในคนได้ 10,477 โปรตีน พบว่ามีโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรค 1,233 โปรตีน ภายหลังการแปลรหัสเป็น UniProt ID พบว่าเหลือโปรตีนคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคเพียง 1,215 โปรตีน แต่ในงานวิจัยของ Dyer นั้นให้ความสนใจกับโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป และได้นำโปรตีนเหล่านี้มาสร้างเป็นเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ แต่สำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ได้ให้ความสนใจกับโปรตีนทุกโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรค ไม่จำเป็นต้องเป็นโปรตีนที่ถูกโจมตีด้วยเชื้อโรคตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปเหมือนงานวิจัยของ Dyer

### 2.2.8 เสนอแผนภาพเครือข่ายของโปรตีนที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณภายในเซลล์

ภายหลังจากการได้เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของคนใน 5 วิธีแล้ว นำข้อมูลคนที่ได้มาแปลรหัสโปรตีนเป็นรหัสโปรตีนของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* และสร้างเป็นแบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของไส้เดือน และแมลงหวี่ขึ้น จากนั้นทำการระบุโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค

## บทที่ 3

### ผลของการทดลอง

#### 3.1 ข้อมูลเกี่ยวกับโปรตีนใน 5 วิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของคน

##### 3.1.1 รายชื่อโปรตีนคนใน 5 วิธีจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome

ฐานข้อมูล KEGG และ Reactome เป็นฐานข้อมูลที่ได้มีการรวบรวมวิธีเมตาบอลิซึมและวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของคน และสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นไว้เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังได้มีการแสดงรายชื่อโปรตีนในแต่ละวิธีไว้ด้วย ในการวิจัยนี้จึงได้นำรายชื่อโปรตีนจากทั้ง 2 ฐานข้อมูลมาเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษา จากการศึกษา และรวบรวมโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณ 5 วิธีของคน ได้แก่ Toll-like receptor, Apoptosis, Cell cycle, MAPK และ JAK/STAT จากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome ณ เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2552 พบว่ามีโปรตีนของคนที่เกี่ยวข้องในสองฐานข้อมูล ดังแสดงจำนวนในตารางที่ 1

ตาราง 1 จำนวนโปรตีนคนในแต่ละวิธีที่รวบรวมได้จากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome

| วิธีการส่งสัญญาณ   | จำนวนโปรตีน<br>จากฐานข้อมูล KEGG | จำนวนโปรตีนจาก<br>ฐานข้อมูล Reactome | จำนวนโปรตีนรวม |
|--------------------|----------------------------------|--------------------------------------|----------------|
| Toll-like receptor | 138                              | 41                                   | 147            |
| Apoptosis          | 123                              | 125                                  | 217            |
| Cell cycle         | 162                              | 222                                  | 320            |
| MAPK               | 374                              | 47                                   | 402            |
| JAK/STAT           | 217                              | 39                                   | 256            |

จากการรวบรวมโปรตีนจาก 2 ฐานข้อมูล (คอลัมน์ที่ 2 และ 3) พบว่ามีโปรตีนแตกต่างกันแต่ก็มีที่ซ้ำกันจำนวนหนึ่ง จึงนำรายชื่อโปรตีนในรูปของรหัสหมายเลข UniProt ID ในแต่ละวิธีมารวมกัน คัดตัวซ้ำออก จะได้จำนวนโปรตีนรวม ดังแสดงในตารางที่ 1 (คอลัมน์ที่ 4) ซึ่งเป็นโปรตีนตั้งต้นที่ใช้ในการสืบค้นในกลุ่มข้อมูลปฏิสัมพันธ์จากชุดปฏิสัมพันธ์รวมที่ได้จาก 8 ฐานข้อมูล นอกจากนี้ยังได้นำรหัสหมายเลขโปรตีนทั้ง 5 วิธีมารวมกัน คัดตัวซ้ำออก จะได้จำนวนโปรตีนรวมของทั้ง 5 วิธี ที่ได้จากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome เป็นจำนวนไม่ซ้ำทั้งสิ้น 1,081 โปรตีน ซึ่งรายชื่อโปรตีนหลักในแต่ละวิธี ได้แสดงไว้ในภาคผนวก ก

### 3.1.2 การมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน (Protein-Protein Interactions)

#### การรวบรวมข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนจาก 8 ฐานข้อมูล

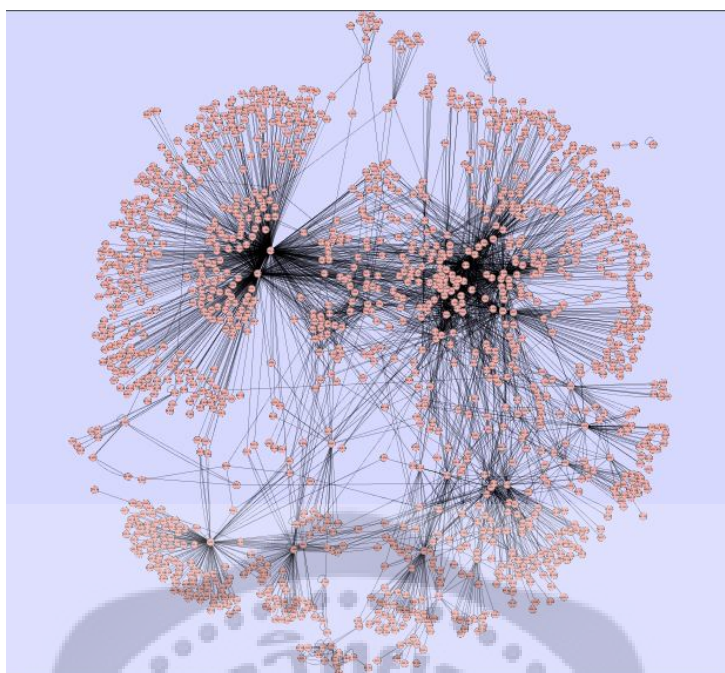
จากการศึกษาพบว่า มีฐานข้อมูลออนไลน์ที่ได้รวบรวมข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน และโมเลกุลต่างๆ ที่ค่อนข้างสมบูรณ์ 6 ฐานข้อมูล ได้แก่ BIND, DIP, Droid, HPRD, IntAct และ MINT และเมื่อรวมกับข้อมูลวิธีที่ได้มาจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome รวมเป็น 8 ฐานข้อมูล พบว่ามีข้อมูลปฏิสัมพันธ์ทั้งสิ้น 364,660 ปฏิสัมพันธ์ หลังจากคัดคู่ปฏิสัมพันธ์ซ้ำออก พบว่าเหลือคู่ปฏิสัมพันธ์ 222,588 ปฏิสัมพันธ์ คิดเป็นจำนวนโปรตีนของคน 48,106 หมายเลขโปรตีน

#### วิธีการหาปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน

วิธีที่ใช้ในการดึงข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในงานวิจัยนี้ ประกอบด้วย 2 วิธี ได้แก่

##### 1. Uniprot ID retrieval

เป็นวิธีการนำ Uniprot ID ของโปรตีนตั้งต้น (protein queries) ในแต่ละวิธี ที่ได้จากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome ไปดึงข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนตัวนั้นจาก 8 ฐานข้อมูล ซึ่งปฏิสัมพันธ์ที่ได้เป็นปฏิสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นโดยตรงระหว่างโปรตีนที่เป็นโปรตีนหลักกับโปรตีนเป้าหมาย ผลที่ได้จากการดึงข้อมูลปฏิสัมพันธ์ด้วยวิธีนี้ เมื่อนำไปสร้างเป็นแผนภาพเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ โดยโปรแกรม Cytoscape เวอร์ชัน 2.6.2 ได้ภาพดังแสดงในภาพประกอบที่ 24



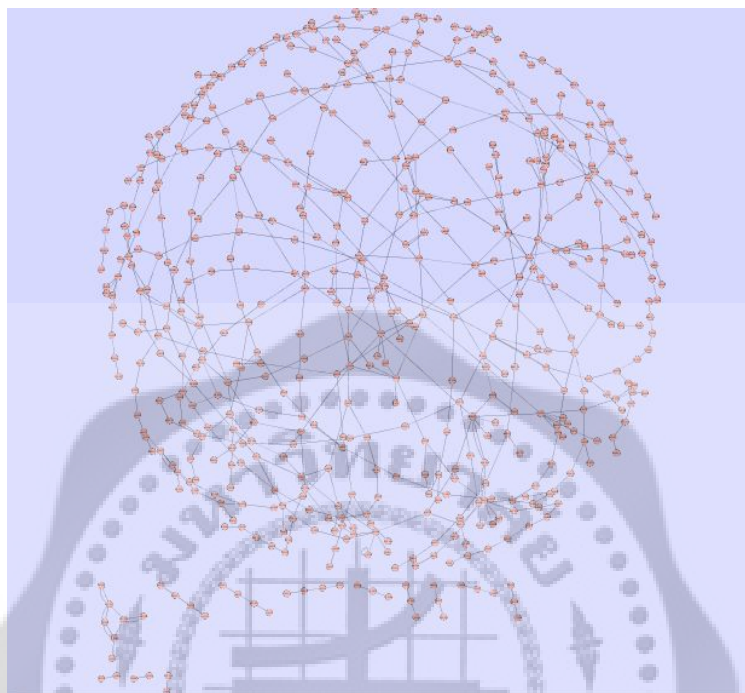
ภาพประกอบ 24 ตัวอย่างเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่สร้างจากข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ ที่ได้จากวิธี Uniprot ID retrieval ของวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์

จากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่สร้างจากข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ที่ได้จากวิธี Uniprot ID retrieval พบว่าโปรตีน หรือ node มีการจัดรูปแบบ หรือโครงสร้างโดยมีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนที่เป็นโปรตีนหลักที่ใช้เป็นชื่อในการค้นหาการมีปฏิสัมพันธ์ (protein queries) อย่างไรก็ดี ยังพบว่าบางโปรตีนที่ไม่ได้มีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนหลัก แต่มีค่าความเชื่อมโยง (connectivity หรือค่า  $k$ ) สูง ดังนั้นอาจแสดงความสัมพันธ์ได้ว่า โปรตีนที่เป็นโปรตีนศูนย์กลาง (hub) หรือโปรตีนที่สำคัญบางตัว ไม่ได้มีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับ queries term หากใช้วิธีนี้ในการหาปฏิสัมพันธ์ก็จะทำให้ไม่พบโปรตีนเหล่านี้ ดังนั้นจึงได้สืบค้นด้วยการใช้วิธี Depth First Search (DFS) algorithm ต่อไป

## 2. Depth First Search (DFS)

เป็นอัลกอริทึมที่ใช้ค้นข้อมูล โดยใช้ข้อมูลชุดเดียวกันเป็นทั้งโปรตีนตั้งต้น และโปรตีนเป้าหมาย สำหรับโปรตีนแต่ละวิธีในชุด query terms จะมีโปรตีนอื่นเป็นเป้าหมายเพื่อสืบค้นทางเดิน คิดเป็นจำนวน query terms - 1 โปรตีน ตัวอย่างเช่น โปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์มีโปรตีนตั้งต้น 147 โปรตีน จะต้องทำการสืบค้นเพื่อหาทางไปเจอโปรตีนเป้าหมายอื่นๆ อีก 146 โปรตีน จึงมีการใช้สคริป (script) ภาษา Python ที่เขียนขึ้นโดยคุณชินวัตร ลี้กิจเจริญผล เพื่อให้โปรแกรมเดินไปค้นตามข้อมูล และพยายามหาทางผ่านโครงสร้างแบบต้นไม้ของเครือข่ายโปรตีน เมื่อได้ข้อมูลปฏิสัมพันธ์ในแต่ละส่วน โปรแกรมจะทำการบันทึกในแต่ละส่วนไว้

เมื่อนำข้อมูลมารวมกัน แล้วคัดปฏิสัมพันธ์ที่ซ้ำซ้อนออก นำข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนที่ได้จากการสืบค้นด้วยอัลกอริทึม DFS นี้ มาสร้างเป็นเครือข่ายปฏิสัมพันธ์จะได้ผลดังแสดงในภาพประกอบที่ 25



ภาพประกอบ 25 ตัวอย่างภาพเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่สร้างจากข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ที่ได้จากวิธี Depth first search ของวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกลล์

จากภาพจะพบว่าลักษณะของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ มีรูปร่างลักษณะแตกต่างจากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่สร้างด้วยข้อมูลจากวิธี Uniprot ID retrieval

สาเหตุที่ลักษณะของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่ได้จาก 2 วิธีมีความแตกต่างกัน คือ ถ้าเป็นวิธี Uniprot ID retrieval รูปแบบการจัดตัวของโปรตีนจะมีลักษณะเป็นกระจุก เนื่องจากเป็นการหาปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนหลัก คือ ถ้าโปรตีนตัวใดในชุดข้อมูล 8 ฐานข้อมูลที่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนหลักนั้น ก็จะดึงข้อมูลชุดนั้นออกมาทั้งหมด แต่ถ้าเป็นวิธี Depth First Search จะเป็นการหาปฏิสัมพันธ์ หรือทุกเส้นทางที่จะนำไปสู่โปรตีนเป้าหมายผ่าน 8 ฐานข้อมูล และโปรตีนเริ่มต้น และโปรตีนเป้าหมายก็เป็นข้อมูลชุดเดียวกัน ดังนั้นลักษณะของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์จึงมีลักษณะเป็นวงกลม มีขอบเขตที่แน่นอน

### การหาข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคนในแต่ละวิถี

นำรายชื่อโปรตีนคนในแต่ละวิถีที่ได้รวบรวมไว้แล้วจากข้อ 3.1.1 ไปหาการมีปฏิสัมพันธ์จาก 8 ฐานข้อมูล โดยใช้วิธี UniProt ID retrieval และ Depth first search และจากการหาการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนทั้ง 2 วิธี ทำให้ได้ปฏิสัมพันธ์ และโปรตีนในแต่ละวิถีเพิ่มเติมจากเดิม ดังแสดงจำนวนสรุปในตารางที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

ตาราง 2 เปรียบเทียบจำนวนปฏิสัมพันธ์ (Molecular interactions, edges) ที่ได้จากการสืบค้นด้วยวิธี Uniprot ID retrieval และ Depth First Search

| วิธีการส่งสัญญาณในคน<br>/(protein queries) | Uniprot ID retrieval<br>(edges) | Depth first search<br>(edges) | รวมสองวิธี<br>(edges) |
|--------------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Toll-like receptor/(147)                   | 3,245                           | 597                           | 3,705                 |
| Apoptosis/(217)                            | 5,561                           | 754                           | 6,084                 |
| Cell cycle/(320)                           | 11,289                          | 849                           | 11,790                |
| MAPK/(402)                                 | 7,541                           | 963                           | 8,167                 |
| JAK/STAT/(256)                             | 3,779                           | 752                           | 4,332                 |
| 5 Pathways/(1,081)                         | 21,005                          | 1,600                         | 21,616                |

ตาราง 3 เปรียบเทียบจำนวนโปรตีน (node) ที่ได้จากวิธี Uniprot ID retrieval และ Depth First Search

| วิธีการส่งสัญญาณในคน<br>/(protein queries) | Uniprot ID retrieval<br>(nodes) | Depth First Search<br>(nodes) | รวมสองวิธี<br>(nodes) |
|--------------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Toll-like receptor/(147)                   | 1,424                           | 556                           | 1,696                 |
| Apoptosis/(217)                            | 2,076                           | 667                           | 2,295                 |
| Cell cycle/(320)                           | 2,577                           | 742                           | 2,795                 |
| MAPK/(402)                                 | 3,045                           | 833                           | 3,264                 |
| JAK/STAT/(256)                             | 1,838                           | 650                           | 2,103                 |
| 5 Pathways/(1,081)                         | 4,782                           | 1,369                         | 4,928                 |

จากตารางพบว่าการใช้วิธี Depth First Search จะทำให้ได้ข้อมูลโปรตีนเพิ่มเติมจากการหาข้อมูลโดยวิธี Uniprot ID retrieval เพียงวิธีเดียว แสดงให้เห็นว่า การใช้ฐานข้อมูลและวิธีการที่หลากหลายจะทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์เพิ่มเติมขึ้นมามาก ซึ่งเราได้จำกัดขอบเขตของการศึกษา โดยการใช้ข้อมูลที่อ้างอิงจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome

เมื่อรวมปฏิสัมพันธ์ และโปรตีนทั้ง 5 วิธี โดยคัดปฏิสัมพันธ์ และโปรตีนที่ซ้ำออกพบว่ามี 21,616 ปฏิสัมพันธ์ และ 4,928 โปรตีน

ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า การทำการค้นข้อมูลทำให้ได้รายชื่อของโปรตีนจำนวนมากที่มีข้อมูลระบุว่า มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนหลักๆ ในแต่ละวิธี เป็นองค์ความรู้ใหม่ที่ยังไม่มีการค้นพบมาก่อน

### 3.1.3 การพิจารณาค่าความสำคัญของโปรตีน

ในการพิจารณาระดับความสำคัญของแต่ละโปรตีนนั้น งานวิจัยนี้ได้ใช้ค่าอัลกอริทึม 2 ค่าในการพิจารณา ได้แก่ ค่า k และ surrounding mass

#### 3.1.3.1 ค่าระดับความเชื่อมโยงของ node หรือค่า k (connectivity)

โปรตีนที่เป็นฮับ หรือโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนตัวอื่นมากนั้น เป็นโปรตีนที่มีความสำคัญ จึงใช้ค่านี้ในการพิจารณาระดับความเชื่อมโยงของโปรตีนต่างๆ

การพิจารณาค่าความเชื่อมโยงของโปรตีน สามารถพิจารณาได้จากการมีปฏิสัมพันธ์โดยตรงของโปรตีนที่สนใจกับโปรตีนตัวอื่น หากโปรตีนมีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนตัวอื่นมาก ค่า k จะสูง หากโปรตีนมีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนตัวอื่นน้อย ค่า k จะต่ำ

#### 3.1.3.2 ค่า surrounding mass

จากการพิจารณาจากแผนภาพเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนพบว่า บางโปรตีนนั้น ถึงแม้ว่ามีความเชื่อมโยงกับโปรตีนตัวอื่นน้อย (k ต่ำ) แต่โปรตีนที่มันมีปฏิสัมพันธ์ด้วยนั้น เป็นโปรตีนที่เป็นฮับขนาดใหญ่ หรือเป็นโปรตีนที่มีค่า k สูง ดังนั้นโปรตีนตัวนั้นก็อาจจะมีความสำคัญเช่นเดียวกัน เช่นว่าหากโปรตีนตัวนั้นมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค อาจทำให้เซลล์เกิดความเสียหายมาก เนื่องจากมีหลายโปรตีนที่อาจได้รับผลกระทบ ดังนั้น ดร.บุรชัย สอนยานนท์ จึงได้กำหนดนิยามความสัมพันธ์ใหม่นี้ขึ้น ซึ่งก็คือค่า surrounding mass สามารถแสดงได้ด้วยสมการ

$$\text{surrounding mass} = k_i + \sum_{j=1}^n \left( \frac{k_{nij}}{2} - 1 \right)$$

เมื่อ  $k_i$  = connectivity of node i

$K_{nij}$  = connectivity of neighbor j of node i

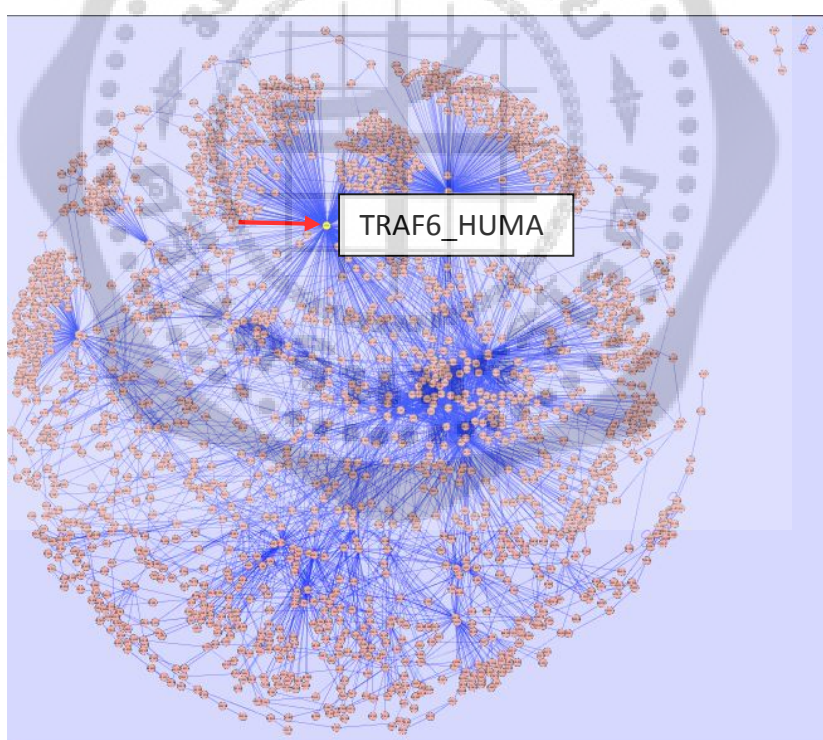
ค่า surrounding mass เป็นค่าระดับความสัมพันธ์ของโปรตีน หรือ node อีกค่าหนึ่ง ซึ่งแสดงค่าความเชื่อมโยงของโปรตีนกับโปรตีน หรือ node ที่เป็นอันดับขนาดใหญ่ คือถ้าโปรตีนมีค่า surrounding mass สูง แสดงว่า โปรตีนตัวนั้นมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนที่เป็นอันดับขนาดใหญ่ และถ้าโปรตีนมีค่า surrounding mass ต่ำ แสดงว่า โปรตีนตัวนั้นมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนที่เป็นอันดับเล็ก

### 3.1.4 แผนภาพเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคน

หลังจากได้ข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในแต่ละวิธีแล้ว นำข้อมูลปฏิสัมพันธ์ดังกล่าวมาสร้างเป็นเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ โดยใช้โปรแกรม Cytoscape เวอร์ชัน 2.6.2

#### 3.1.4.1 วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์

เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน ที่ได้จากการรวมสองวิธีการค้นหาข้อมูล ดังแสดงในภาพประกอบที่ 26



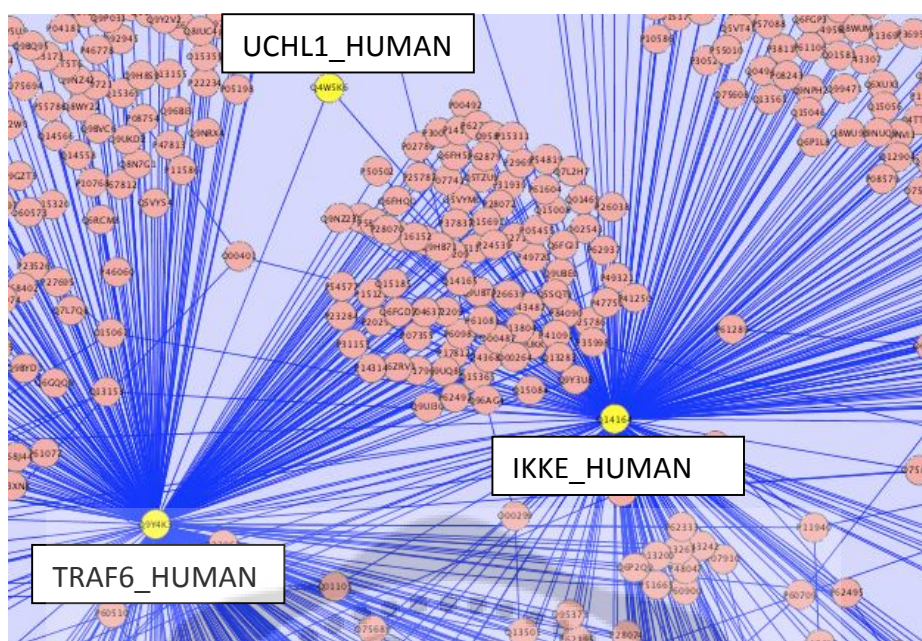
ภาพประกอบ 26 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ในคน

จากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในวิถี TLRs ของคน พบว่า TRAF6\_HUMAN เป็นฮับที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในเครือข่าย เนื่องจากมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนตัวอื่นในวิถีถึง 393 โปรตีน ( $k=393$ ) และพบว่า TRAF6\_HUMAN เชื่อมต่อกับโปรตีนที่เป็นฮับขนาดใหญ่ 5 ฮับ ได้แก่ TF65\_HUMAN, NEMO\_HUMAN, NFKB2\_HUMAN, M3K1\_HUMAN และ NFKB1\_HUMAN นอกจากฮับขนาดใหญ่ที่มีปฏิสัมพันธ์กับ TRAF6\_HUMAN โดยตรงแล้ว ยังมีโปรตีนที่เป็นฮับขนาดใหญ่ที่ไม่ได้มีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับ TRAF6\_HUMAN อีก 2 โปรตีน ได้แก่ KKE\_HUMAN และ P85A\_HUMAN ซึ่งฮับเหล่านี้มีค่า  $k > 100$  ดังแสดงในตารางที่ 4 นอกจากนี้ยังมีฮับขนาดเล็กที่มีค่า  $10 < k < 100$  จำนวน 81 โปรตีน และที่เหลือเป็นฮับที่มีค่า  $k < 10$  ตัว

ตาราง 4 ตัวอย่างโปรตีนที่มีค่า  $k$  มากกว่า 100 จากวิถีวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ในคน

| Protein Symbol | Connectivity(k) | surrounding mass |
|----------------|-----------------|------------------|
| TRAF6_HUMAN    | 393             | 1733.5           |
| IKKE_HUMAN     | 340             | 807              |
| TF65_HUMAN     | 153             | 1248.5           |
| NEMO_HUMAN     | 153             | 1165.5           |
| NFKB2_HUMAN    | 147             | 1159.5           |
| P85A_HUMAN     | 129             | 249.5            |
| M3K1_HUMAN     | 116             | 710              |
| NFKB1_HUMNA    | 102             | 1102.5           |
| UCHL1_HUMAN    | 2               | 367              |

จากตารางเป็นโปรตีนในวิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ในคนที่มีค่า  $k$  สูง นอกจากจะมีค่า  $k$  สูงแล้ว ยังมีค่า surrounding mass สูงด้วย นั่นหมายความว่าโปรตีนเหล่านี้เป็นโปรตีนที่มีความสำคัญลำดับต้นๆ เพราะหากเซลล์เกิดการติดเชื้อ และโปรตีนเหล่านี้มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรค จะก่อให้เกิดปัญหาแก่เซลล์มาก เพราะจะส่งผลกระทบต่อโปรตีนหลายตัวในเซลล์ นอกจากโปรตีนที่มีค่า  $k$  สูงแล้ว เราต้องพิจารณาโปรตีนบางชนิดที่มีค่า  $k$  ต่ำ แต่มีค่า surrounding mass สูง เช่น โปรตีน UCHL1\_HUMAN ดังแสดงในภาพประกอบที่ 27

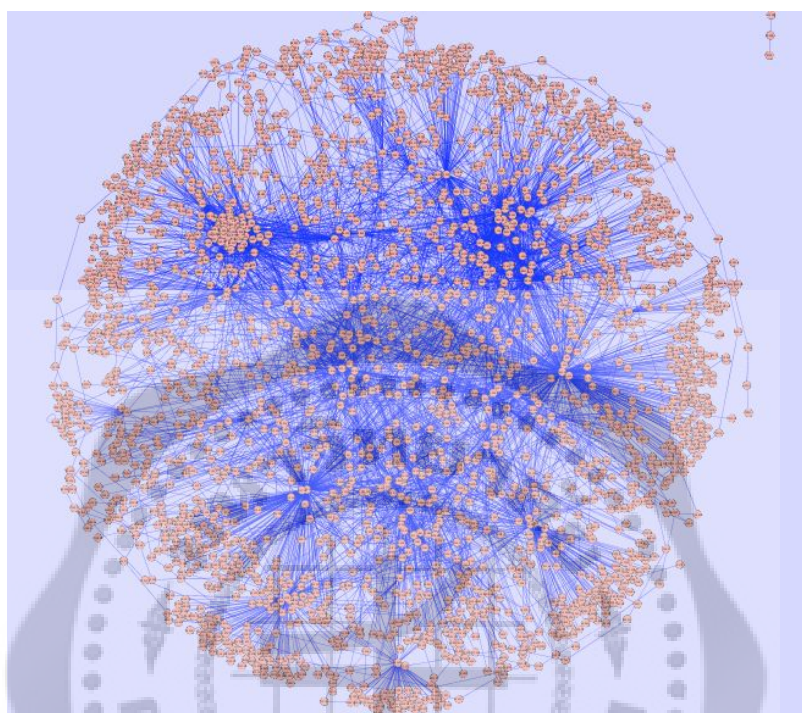


ภาพประกอบ 27 การมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน UCHL1\_HUMAN ในวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ในคน

สำหรับโปรตีน UCHL1\_HUMAN ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีค่า  $k = 2$  (คือมีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับ 2 โปรตีน) แต่มีค่า surrounding mass = 367 นั้นหมายความว่าโปรตีนที่ UCHL1\_HUMAN มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน 2 โปรตีนที่เป็นฮับขนาดใหญ่ ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากภาพประกอบที่ 27 จะเห็นว่า โปรตีน UCHL1\_HUMAN ทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างฮับใหญ่ 2 ฮับ ได้แก่ TRAF6\_HUMAN และ IKKE\_HUMAN ด้วยสาเหตุที่มันเชื่อมต่อกับฮับขนาดใหญ่ จึงทำให้มันมีค่า surrounding mass สูง และโปรตีนตัวนี้นักน่าจะเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญอีกตัวหนึ่งหากเซลล์เกิดการติดเชื้อ

### 3.1.4.2 วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการอะพอพโทซิส

เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณอะพอพโทซิสในคน ที่ได้จากการรวมสองวิธีการค้นหาข้อมูลดังแสดงในภาพประกอบที่ 28

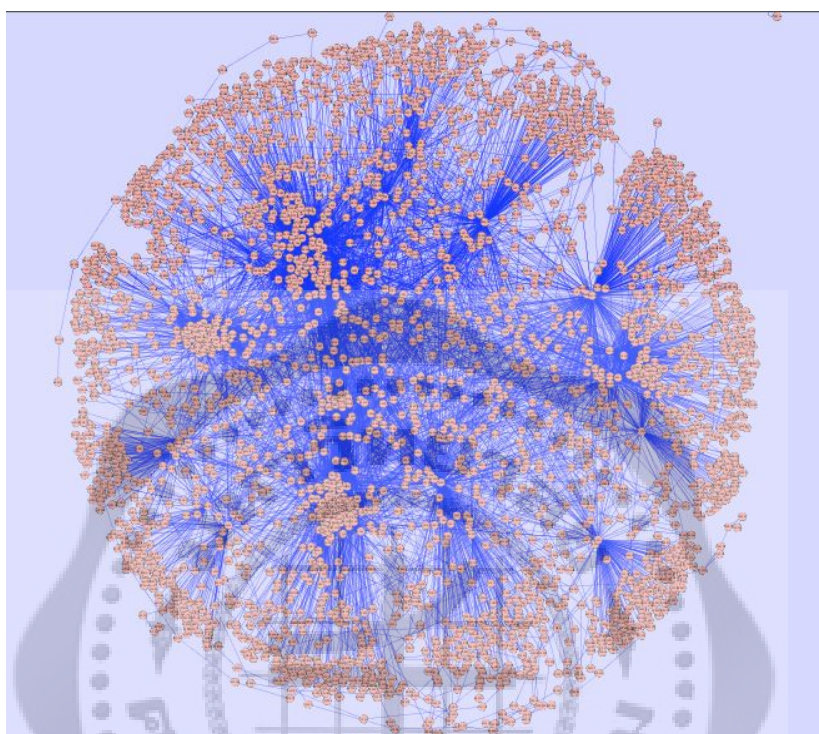


ภาพประกอบ 28 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณอะพอพโทซิสในคน

จากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณอะพอพโทซิสในคน พบว่าโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนตัวอื่นมากที่สุด คือ UBIQ\_HUMAN ( $k=229$ ) และพบว่า UBIQ\_HUMAN มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนที่เป็นฮับขนาดใหญ่ 6 โปรตีน ได้แก่ P53\_HUMAN, 1433B\_HUMAN, TF65\_HUMAN, NEMO\_HUMAN, TRAF2\_HUMAN และ NFkB1\_HUMAN นอกจากนี้ยังมีโปรตีนที่เป็นฮับขนาดใหญ่ในวิถีที่ไม่ได้มีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับ UBIQ\_HUMAN ได้แก่ P85A\_HUMAN, M3K14\_HUMAN, VIME\_HUMAN ซึ่งโปรตีนเหล่านี้ที่มี  $k > 100$

### 3.1.4.3 วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการของวัฏจักรเซลล์

เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณวัฏจักรเซลล์ในคน ที่ได้จากการรวมสองวิธีการค้นหาข้อมูล ดังแสดงในภาพประกอบที่ 29

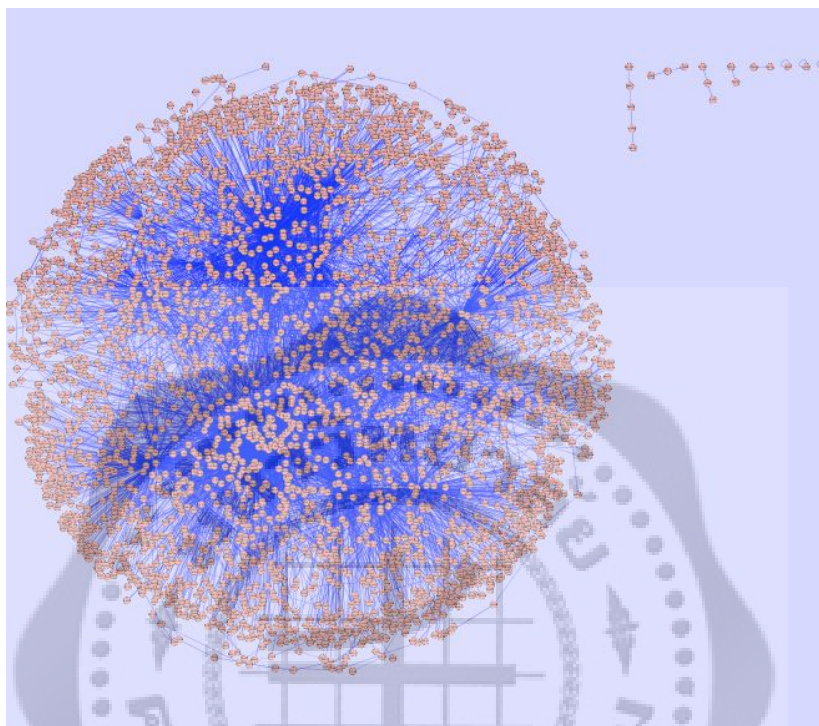


ภาพประกอบ 29 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของวัฏจักรเซลล์ในคน

จากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของวัฏจักรเซลล์ พบว่าโปรตีน 1433Z\_HUMAN เป็นโปรตีนที่มีค่า  $k$  สูงที่สุด คือ  $k = 351$  และมีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนที่เป็นฮับขนาดใหญ่ 6 โปรตีน ได้แก่ UBIQ\_HUMAN, P53\_HUMAN, ABL1\_HUMAN, NDE1\_HUMAN, XPO1\_HUMAN และ PP1G\_HUMAN นอกจากนี้ในวิธียังพบโปรตีนที่เป็นฮับขนาดใหญ่ที่มีค่า  $k > 100$  อีก 19 โปรตีน ได้แก่ 1433G\_HUMAN, 1433B\_HUMAN, PLK1\_HUMAN, RB\_HUMAN, 1433S\_HUMAN, CLAP1\_HUMAN, CDK2\_HUMAN, CDK7\_HUMAN, CDC2\_HUMAN, CDC20\_HUMAN, CCNH\_HUMAN, MAT1\_HUMAN, CENPR\_HUMAN, RS27\_HUMAN, SMAD4\_HUMAN, MAPE1\_HUMAN, AURKB\_HUMAN, MD2L1\_HUMAN และ PCNA\_HUMAN

### 3.1.4.4 วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK

เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK ในคนที่ได้จากการรวมสองวิธีการค้นหาข้อมูล ดังแสดงในภาพประกอบที่ 30

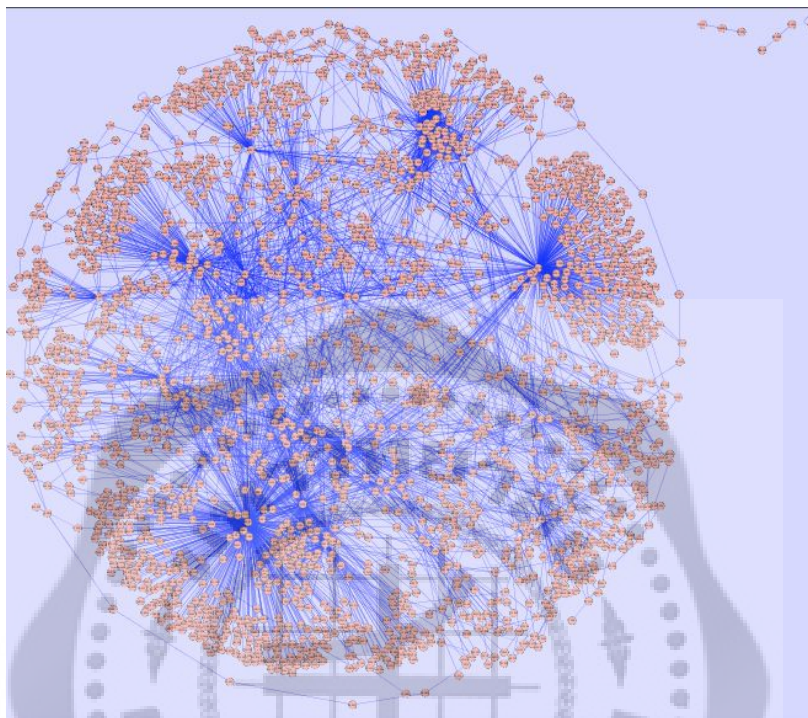


ภาพประกอบ 30 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK ในคน

จากการคำนวณหาค่า  $k$  ของโปรตีนในวิถี พบว่าโปรตีน GRB2\_HUMAN เป็นโปรตีนที่มีค่า  $k$  สูงที่สุด คือ  $k = 525$  และมีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนที่เป็นอันดับใหญ่ ได้แก่ UBIQ\_HUMAN, EGFR\_HUMAN, SRC\_HUMAN และ 1433B\_HUMAN นอกจากนี้ยังพบว่า ในวิถีมีอันดับใหญ่จำนวนมาก ได้แก่ TRAF6\_HUMAN, MYC\_HUMAN, ARRB2\_HUMAN, P53\_HUMAN, ARRB1\_HUMAN, M3K3\_HUMAN, NEMO\_HUMAN, TF65\_HUMAN, TRAF2\_HUMAN, NFKB2\_HUMAN, CRK\_HUMAN, M3K1\_HUMAN, CDC42\_HUMAN และ NFKB1\_HUMAN ซึ่งโปรตีนเหล่านี้มีค่า  $k > 100$

### 3.1.4.5 วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT

เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณ JAK/STAT ในคน ที่ได้จากการรวมสองวิธีการค้นหาข้อมูล ดังแสดงในภาพประกอบที่ 31

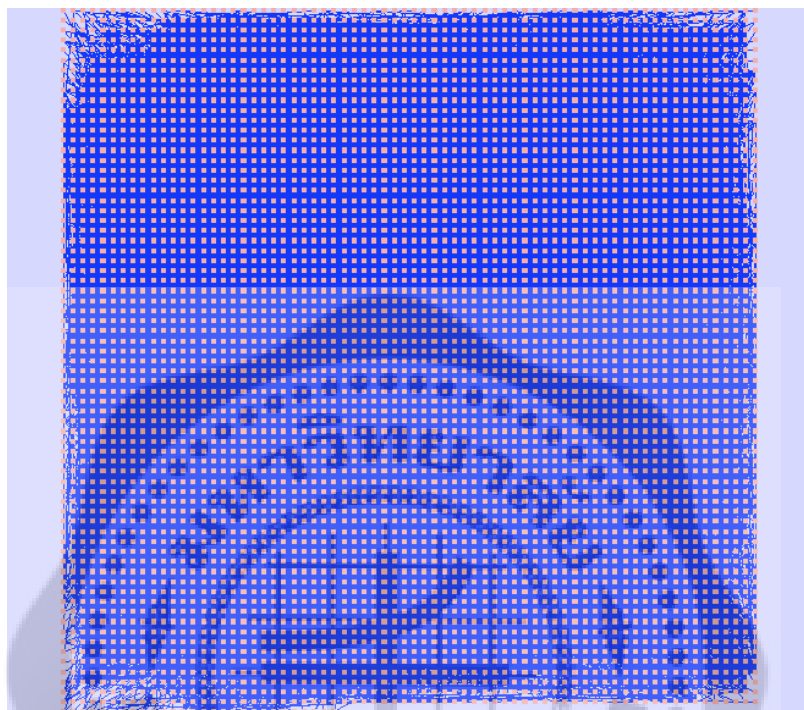


ภาพประกอบ 31 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT ในคน

จากภาพเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT ในคน พบว่ามีโปรตีน GRB2\_HUMAN เป็นอันดับขนาดใหญ่ที่สุด โดยมีค่า  $k = 526$  และมีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนที่เป็นอันดับใหญ่ ได้แก่ MTC\_HUMAN, 1433B\_HUMAN, CRK\_HUMAN และ P85A\_HUMAN จากการพิจารณาค่า  $k$  พบว่าโปรตีนในวิธีนี้ส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่เป็นอันดับเล็ก

### 3.1.4.6 วิธีการส่งสัญญาณของ 5 วิธีรวมกัน

เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณทั้ง 5 วิธีในคน ที่ได้จากการรวมสองวิธีการค้นหาข้อมูล ดังแสดงในภาพประกอบที่ 32



ภาพประกอบ 32 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ทั้ง 5 วิธีการส่งสัญญาณในคน

จากภาพพบว่า ไม่สามารถแสดงรูปเป็นเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ (Spring embedded) ได้เช่นเดียวกับวิธีการส่งสัญญาณทั้ง 5 วิธี ที่ได้แสดงก่อนหน้านี้ เนื่องจากเมื่อรวมโปรตีน และปฏิสัมพันธ์ทั้งหมดที่ได้จาก 5 วิธี พบว่ามีจำนวนโปรตีน และปฏิสัมพันธ์มากเกินไป โปรแกรม Cytoscape เวอร์ชัน 2.6.2 จึงไม่สามารถแสดงเป็นเครือข่ายได้

จากการคำนวณหาค่า  $k$  ของโปรตีนทั้งหมดใน 5 วิธี พบว่าโปรตีน GRB2\_HUMAN เป็นโปรตีนที่มีค่า  $k$  สูงที่สุด ( $k = 526$ ) และพบว่าเป็นโปรตีนที่พบในวิถีของกระบวนการ MAPK และ JAK/STAT ด้วย

### 3.1.5 โปรตีนคนใน 5 วิธีการส่งสัญญาณที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค

ในการระบุชื่อโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของทั้ง 5 วิธี พบว่ามีการตีพิมพ์งานวิจัยของ Dyer และคณะ<sup>(23)</sup> ซึ่งได้รวบรวมโปรตีนของคนทั้งหมดที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคไว้ 1,233 โปรตีน แต่เมื่อทำการแปลรหัสโปรตีนเป็น UniProt ID แล้วพบว่ามีโปรตีนซ้ำกัน จึงเหลือโปรตีนทั้งสิ้น 1,215 โปรตีน

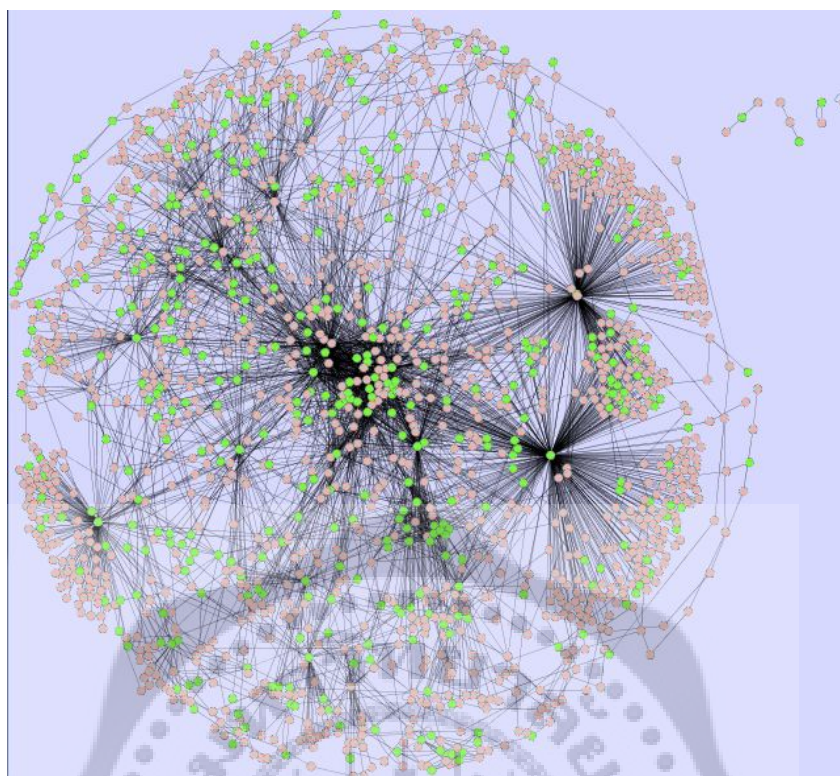
เมื่อนำรายชื่อโปรตีนคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคไปเปรียบเทียบกับโปรตีนในแต่ละวิธี ที่ได้จากข้อ 3.1.4 โดยการใช้สคริปต์ที่ได้ แสดงสรุปจำนวนไว้ในตารางที่ 5

ตาราง 5 จำนวนโปรตีนคนในแต่ละวิธีที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค เปรียบเทียบกับโปรตีนจากงานวิจัยของ Dyer และคณะ<sup>(23)</sup>

| วิธีการส่งสัญญาณในคน | จำนวนโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรค |
|----------------------|-------------------------------------------|
| Toll-like receptor   | 416                                       |
| Apoptosis            | 518                                       |
| Cell cycle           | 569                                       |
| MAPK                 | 606                                       |
| JAK/STAT             | 442                                       |
| 5Pathways            | 811                                       |

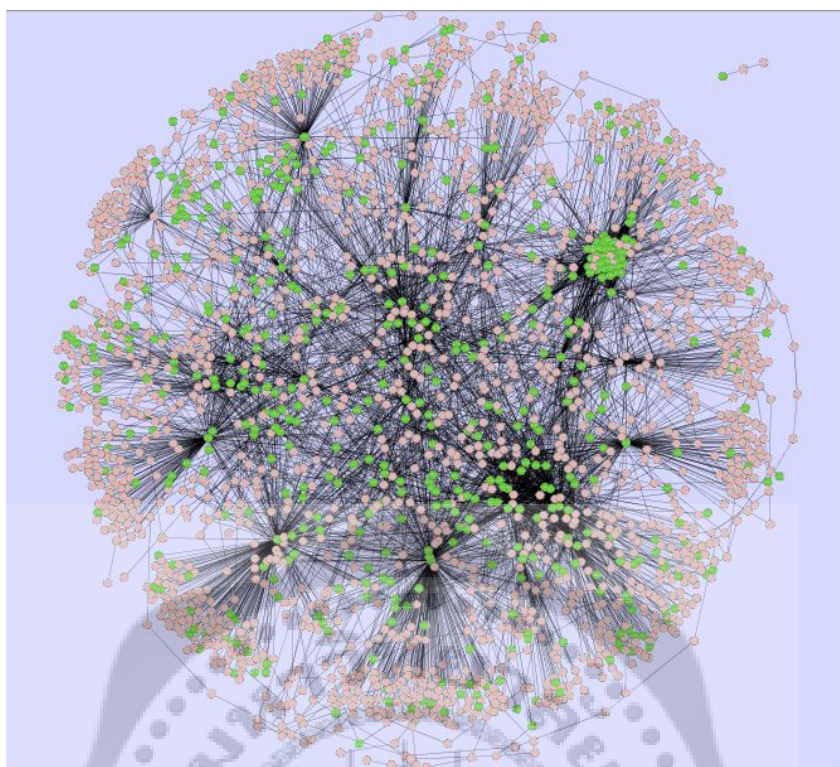
เมื่อรวมโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคทั้งหมดที่พบใน 5 วิธี พบว่ามีจำนวนที่ไม่ซ้ำทั้งสิ้น 811 โปรตีน และเมื่อคิดเป็นสัดส่วนเทียบกับโปรตีนที่ทราบว่ามีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคในคนทั้งหมด 1,215 โปรตีน คิดเป็น 66% แสดงว่า 5 วิธีที่เลือกมาศึกษามีความสำคัญกับการติดเชื้อต่างๆ

ทำการระบุโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคลงในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่ได้จากข้อ 3.1.4 โดยกำหนดให้โปรตีน (node) สีเข้ม แทนโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคในวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ กระบวนการอะพอพโทซิส วัฏจักรเซลล์ วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของคนทั้ง 5 วิธี ดังแสดงในภาพประกอบที่ 33, 34, 35, 36, 37 และ 38 ตามลำดับ



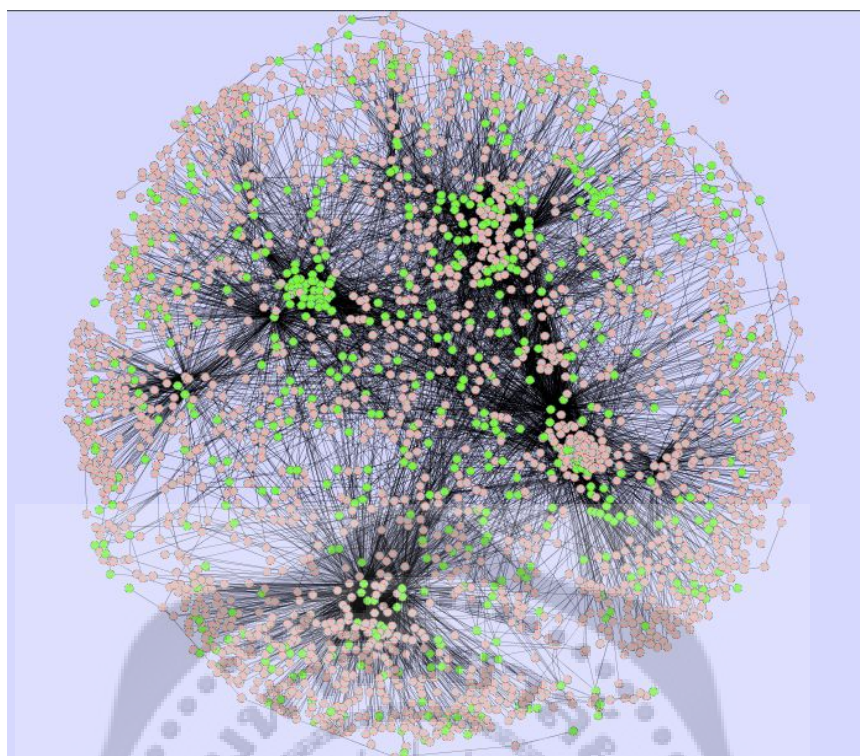
ภาพประกอบ 33 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิธีการส่งสัญญาณ จากโมเลกุลตัวรับชนิดโกลีไนคน

จากภาพจะเห็นว่า มีโปรตีนสีเขียวจำนวนมาก กระจายอยู่ทั่วบริเวณของเครือข่าย และมี 3 โปรตีนที่อยู่บริเวณนอกเครือข่าย นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนที่เป็นฮับส่วนใหญ่ มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคด้วย โดยโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรค คิดเป็น 24% ของโปรตีนทั้งหมดในวิถี และ 34% ของจำนวนโปรตีนเชื้อก่อโรคทั้งหมด



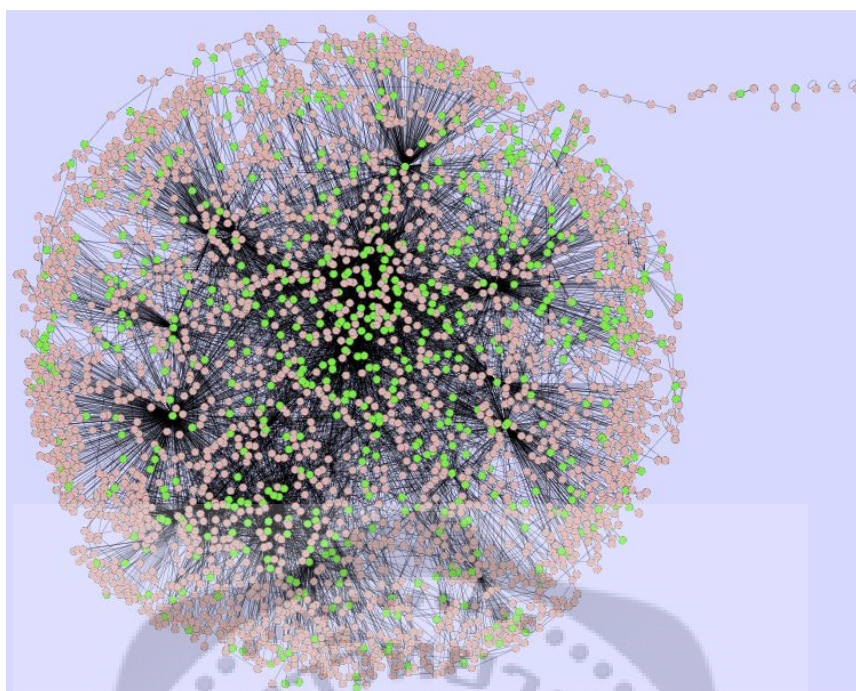
ภาพประกอบ 34 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิธีการส่งสัญญาณ ของกระบวนการอะพอพโทซิส

โปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค คิดเป็น 22% ของโปรตีนทั้งหมดในวิถี และ 42% ของจำนวนโปรตีนเชื้อก่อโรคทั้งหมด



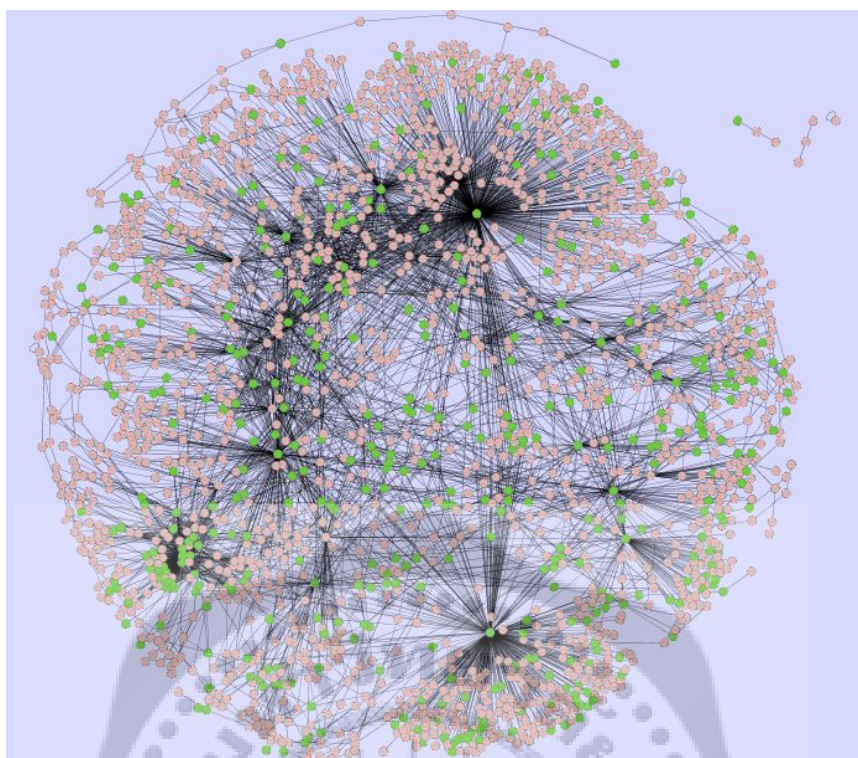
ภาพประกอบ 35 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิธีการส่งสัญญาณของวัฏจักรเซลล์

โปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค คิดเป็น 20% ของโปรตีนทั้งหมดในวิถี และ 46% ของจำนวนโปรตีนเชื้อก่อโรคทั้งหมด



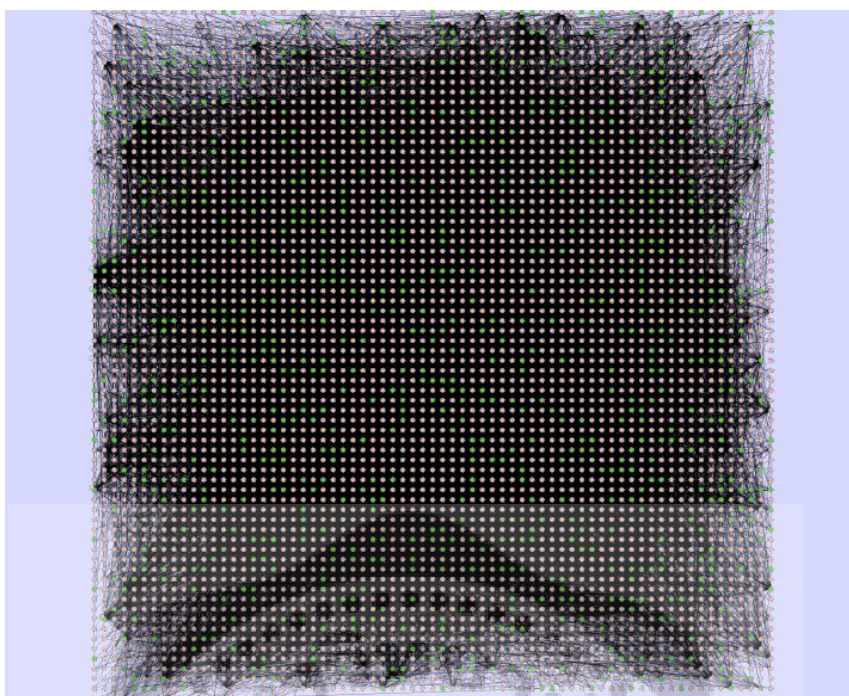
ภาพประกอบ 36 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิถีการส่งสัญญาณของกระบวนการ  
MAPK

โปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค คิดเป็น 18% ของโปรตีน  
ทั้งหมดในวิถี และ 49% ของจำนวนโปรตีนเชื้อก่อโรคทั้งหมด



ภาพประกอบ 37 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิถีการส่งสัญญาณ ของกระบวนการ JAK/STAT

โปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค คิดเป็น 21% ของโปรตีนทั้งหมดในวิถี และ 36% ของจำนวนโปรตีนเชื้อก่อโรคทั้งหมด



ภาพประกอบ 38 การมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของวิธีการส่งสัญญาณของทั้ง 5 วิธี

โปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค คิดเป็น 16% ของโปรตีนทั้งหมดในวิธี และ 66% ของจำนวนโปรตีนเชื้อก่อโรคในคนทั้งหมด

### 3.2 การทำนายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในแมลงหวี่ (*D. melanogaster*) โดยอาศัยข้อมูลจากคน 5 วิธี

เมื่อได้เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของคนแล้ว นำข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของคนที่ได้ไปสร้างแบบจำลองปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน *D. melanogaster* โดยแปลงข้อมูล ortholog โดยใช้ตารางจากฐานข้อมูล inparanoid เวอร์ชัน 7 (<http://inparanoid.sbc.su.se/cgi-bin/index.cgi>) ซึ่งได้ทำการเปรียบเทียบปฏิสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ไว้

#### 3.2.1 การทำนายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนใน *D. melanogaster* จากข้อมูลของคน

การแปลงข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคน ไปเป็นข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน *D. melanogaster* ทำให้ได้ปฏิสัมพันธ์และโปรตีนของ *D. melanogaster* ภายใต้สมมติฐานว่า มีการอนุรักษ์ปฏิสัมพันธ์ไว้ในทางวิวัฒนาการในแต่ละวิธี ดังแสดงในตารางที่ 6

ตาราง 6 จำนวนปฏิสัมพันธ์ และโปรตีนในแต่ละวิถีการส่งสัญญาณของ *D. melanogaster* ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในคน

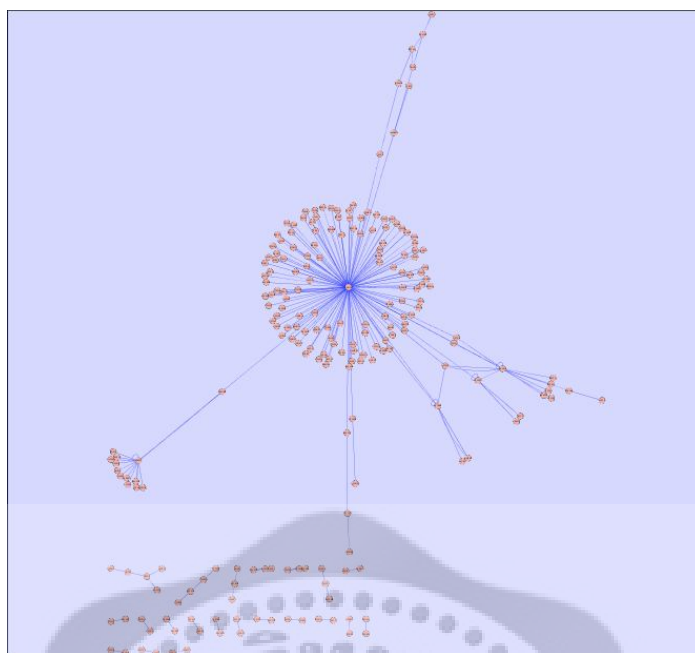
| วิถีการส่งสัญญาณใน <i>D. melanogaster</i> | จำนวนปฏิสัมพันธ์ | จำนวนโปรตีน |
|-------------------------------------------|------------------|-------------|
| Toll-like receptor                        | 216              | 218         |
| Apoptosis                                 | 478              | 239         |
| Cell cycle                                | 1,538            | 433         |
| MAPK                                      | 732              | 532         |
| JAK/STAT                                  | 393              | 343         |
| 5Pathways                                 | 2,137            | 752         |

จากตารางพบว่า จำนวนปฏิสัมพันธ์ที่ได้จากการแปลงข้อมูลปฏิสัมพันธ์จากปฏิสัมพันธ์ของคนไปเป็นปฏิสัมพันธ์ของ *D. melanogaster* มีจำนวนลดลงมาก และจำนวนโปรตีนก็ลดลงมากเช่นกัน

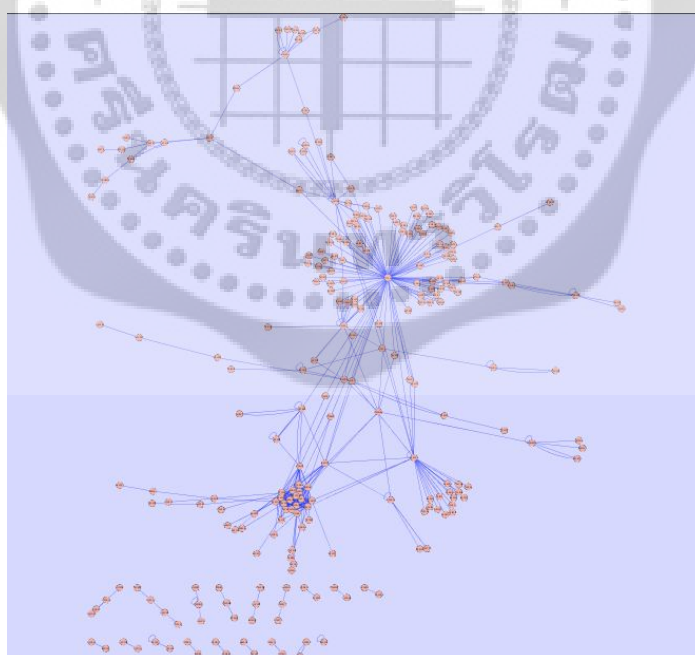
เมื่อรวมปฏิสัมพันธ์และโปรตีนทั้ง 5 วิถี คัดปฏิสัมพันธ์ และโปรตีนที่ซ้ำออก พบว่ามี 2,137 ปฏิสัมพันธ์ และ 752 โปรตีน

### 3.2.2 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์

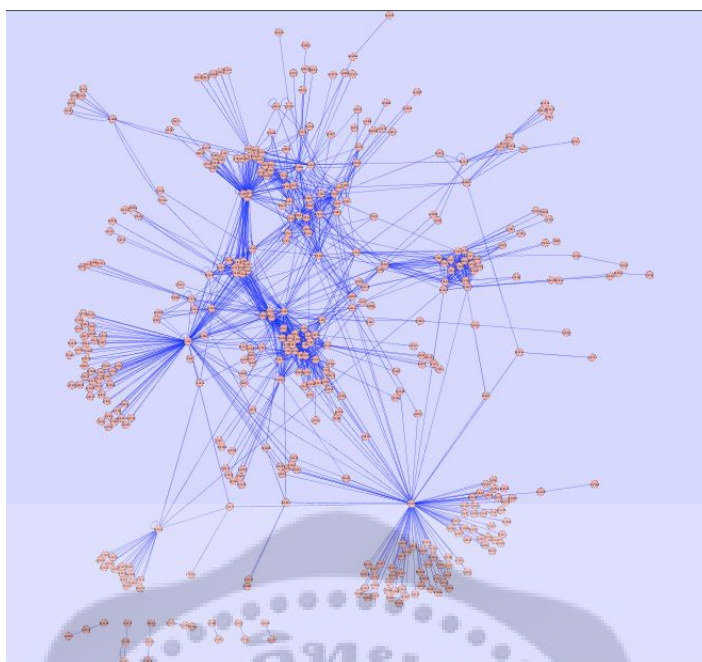
นำข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน *D. melanogaster* ที่ได้ ไปสร้างเป็นเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ โดยใช้โปรแกรม Cytoscape เวอร์ชัน 2.6.2 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของ *D. melanogaster* ในวิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ กระบวนการอะพอพโทซิส วัฏจักรเซลล์ วิถีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK วิถีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของแมลงหวี่ทั้ง 5 วิถี ดังแสดงในภาพประกอบที่ 39, 40, 41, 42, 43 และ 44 ตามลำดับ



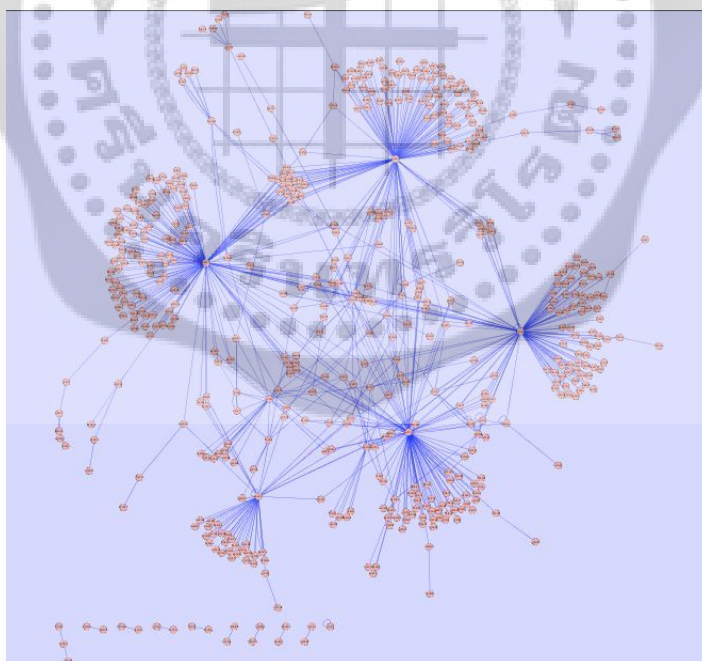
ภาพประกอบ 39 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณของ กระบวนการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ใน *D. melanogaster*



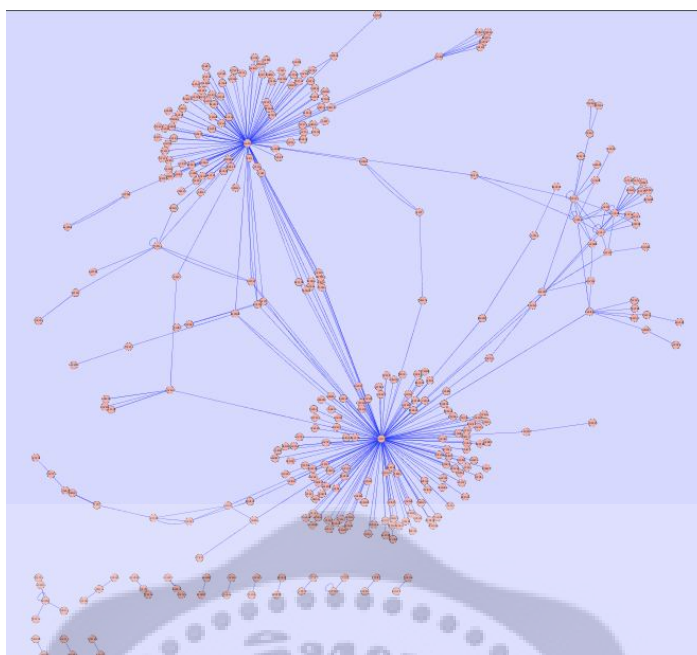
ภาพประกอบ 40 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณของ กระบวนการอะพอพโทซิสใน *D. melanogaster*



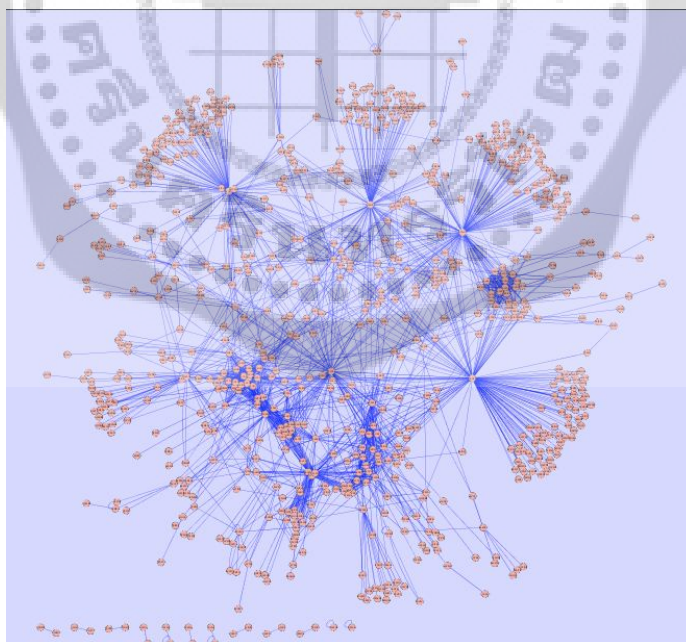
ภาพประกอบ 41 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณของ วัฏจักรเซลล์ใน *D. melanogaster*



ภาพประกอบ 42 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณของ กระบวนการ MAPK ใน *D. melanogaster*



ภาพประกอบ 43 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของ กระบวนการ JAK/STAT ใน *D. melanogaster*



ภาพประกอบ 44 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของกระบวนการทั้ง 5 วิธีการส่งสัญญาณใน *D. melanogaster*

### 3.2.3 โปรตีน *D. melanogaster* ใน 5 วิธีการส่งสัญญาณที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค

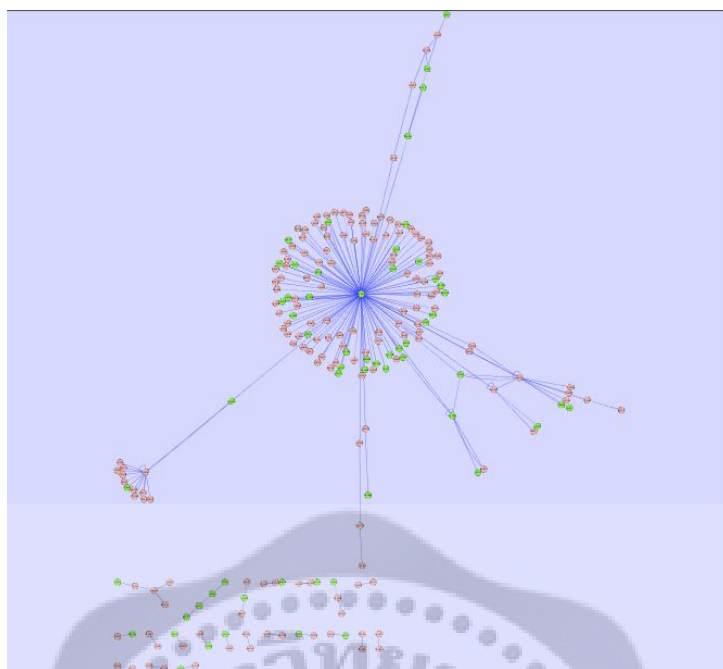
ในการระบุโปรตีนของแมลงหวี่ที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของโปรตีนทั้ง 5 วิธี โดยอ้างอิงจากงานวิจัยของ Dyer และคณะ<sup>(23)</sup> ทำโดยใช้สคริปเพื่อดึงชุดข้อมูลออกมาจากแต่ละวิธี แสดงจำนวนในตารางที่ 7

ตาราง 7 โปรตีนใน *D. melanogaster* ที่คาดว่าจะมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค

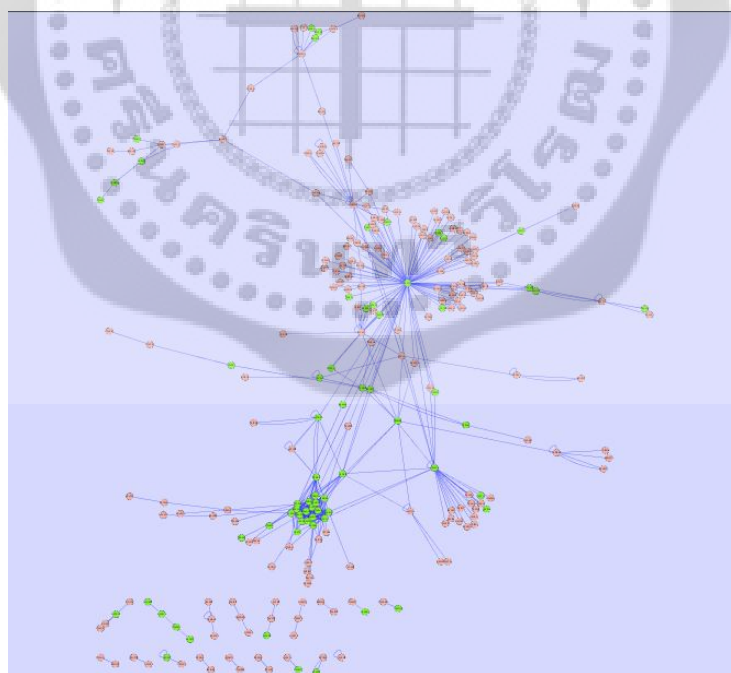
| วิธีการส่งสัญญาณของ <i>D. melanogaster</i> | จำนวนโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรค |
|--------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Toll-like receptor                         | 60                                        |
| Apoptosis                                  | 67                                        |
| Cell cycle                                 | 129                                       |
| MAPK                                       | 118                                       |
| JAK/STAT                                   | 85                                        |
| 5 Pathways                                 | 168                                       |

เมื่อรวมโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคทั้ง 5 วิธี คัดโปรตีนที่ซ้ำออก พบว่าจากโปรตีน *D. melanogaster* ทั้งหมด 752 โปรตีน มีโปรตีน 168 โปรตีน ที่คาดว่าจะมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค

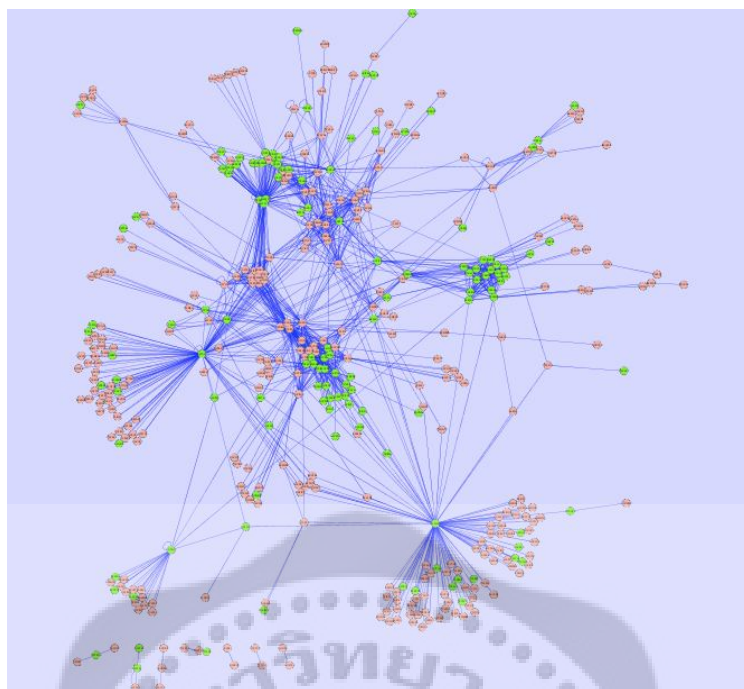
จากนั้นทำการระบุโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคลงในแบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่ได้ในข้อ 3.2.2 โดยการกำหนดให้โปรตีนสีเข้ม แทนโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคในวิธีการส่งสัญญาณทั้ง 5 วิธี ได้แก่ วิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโพลี กระบวนการอะพอพโทซิส วัฏจักรเซลล์ วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT และ วิธีการส่งสัญญาณรวมทั้ง 5 วิธี ดังแสดงในภาพประกอบที่ 45, 46, 47, 48 , 49 และ 50 ตามลำดับ



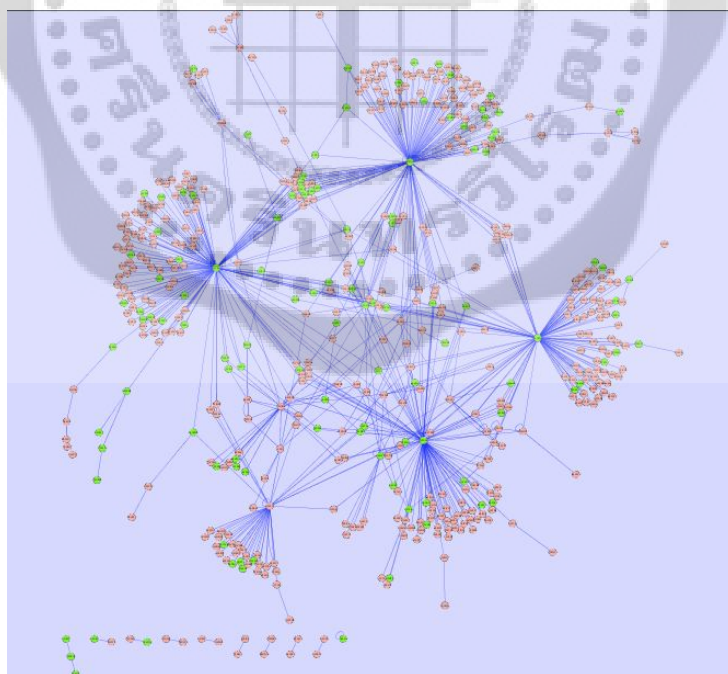
ภาพประกอบ 45 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ วิธีการส่งสัญญาณจาก  
โมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ใน *D. melanogaster*



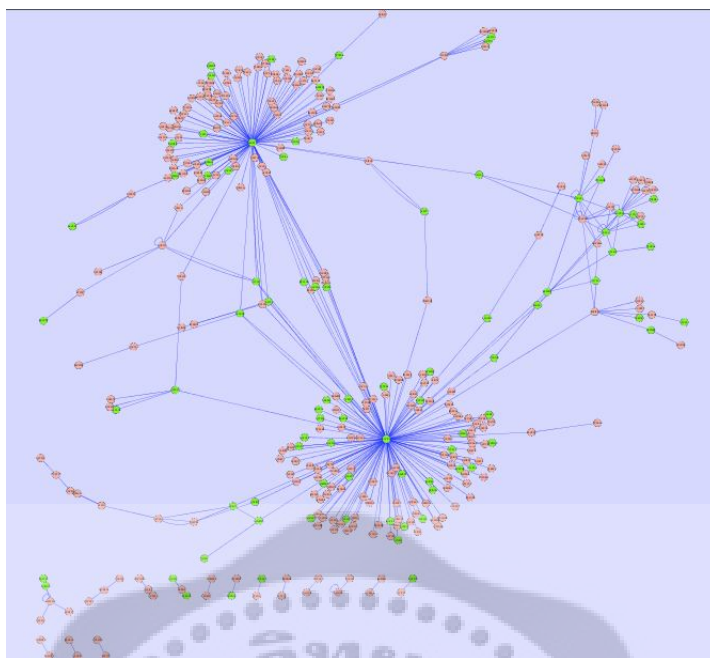
ภาพประกอบ 46 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ วิธีการส่งสัญญาณ  
อะพอพโทซิสใน *D. melanogaster*



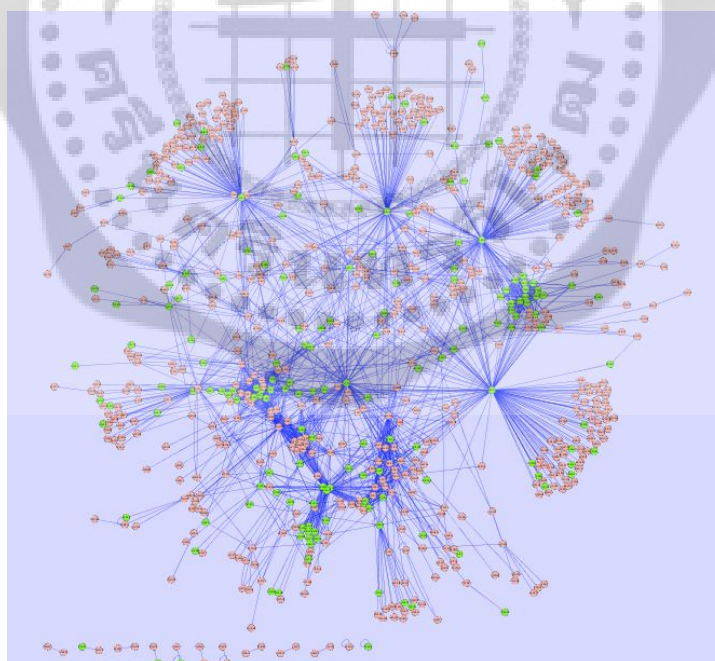
ภาพประกอบ 47 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ วิธีการส่งสัญญาณของ  
 วัฏจักรเซลล์ใน *D. melanogaster*



ภาพประกอบ 48 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ วิธีการส่งสัญญาณของ  
 กระบวนการ MAPK ใน *D. melanogaster*



ภาพประกอบ 49 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ วิธีการส่งสัญญาณของ กระบวนการ JAK/STAT ใน *D. melanogaster*



ภาพประกอบ 50 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ กระบวนการทั้ง 5 วิธีการ ส่งสัญญาณใน *D. melanogaster*

### 3.3 การทำนายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในไส้เดือน (*C. elegans*) โดยอาศัยข้อมูลจากคนใน 5 วิธี

เมื่อได้เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของคนแล้ว นำข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของคนที่ได้ไปสร้างแบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน *C. elegans* โดยแปลงข้อมูล ortholog โดยใช้ตารางจากฐานข้อมูล inparanoid เวอร์ชัน 7 (<http://inparanoid.sbc.su.se/cgi-bin/index.cgi>) ซึ่งได้ทำการเปรียบเทียบปฏิสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ไว้

#### 3.3.1 การทำนายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนใน *C. elegans*

การแปลงข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคน ไปเป็นข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน *C. elegans* ทำให้ได้ปฏิสัมพันธ์และโปรตีนของไส้เดือน ภายใต้สมมติฐานที่ว่า มีการอนุรักษ์ปฏิสัมพันธ์ไว้ในทางวิวัฒนาการในแต่ละวิถี ดังแสดงในตารางที่ 8

ตาราง 8 จำนวนปฏิสัมพันธ์ และโปรตีนในแต่ละวิถีการส่งสัญญาณของ *C. elegans* ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในคน

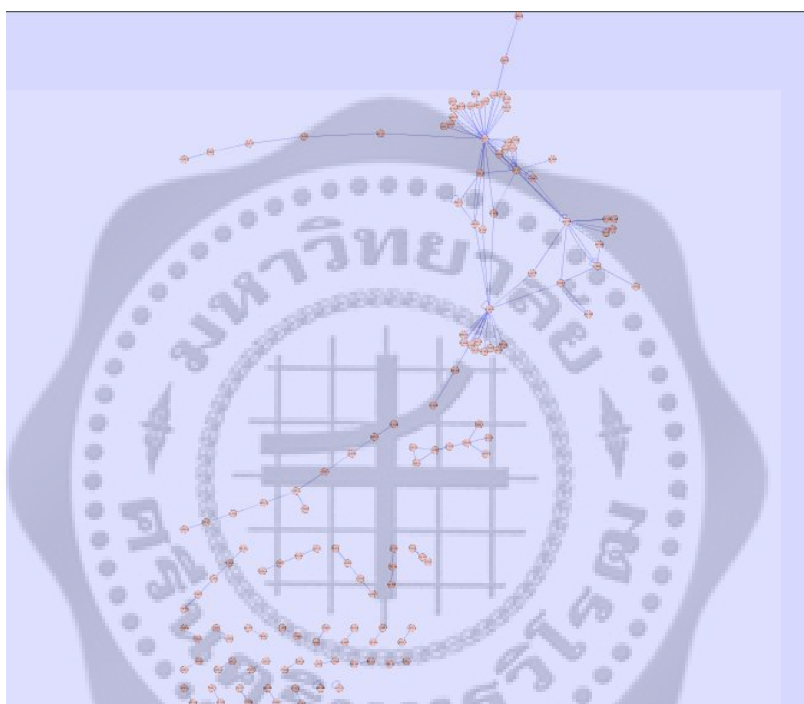
| วิถีการส่งสัญญาณ   | จำนวนปฏิสัมพันธ์ (edges) | จำนวนโปรตีน (nodes) |
|--------------------|--------------------------|---------------------|
| Toll-like receptor | 142                      | 137                 |
| Apoptosis          | 978                      | 384                 |
| Cell cycle         | 2,312                    | 600                 |
| MAPK               | 684                      | 465                 |
| JAK/STAT           | 648                      | 361                 |
| 5 Pathways         | 3,070                    | 868                 |

จากตารางพบว่า จำนวนปฏิสัมพันธ์ที่ได้จากการแปลงข้อมูลปฏิสัมพันธ์จากปฏิสัมพันธ์ของคนไปเป็นปฏิสัมพันธ์ของ *C. elegans* มีจำนวนลดลงมาก และจำนวนโปรตีนก็ลดลงเช่นกัน

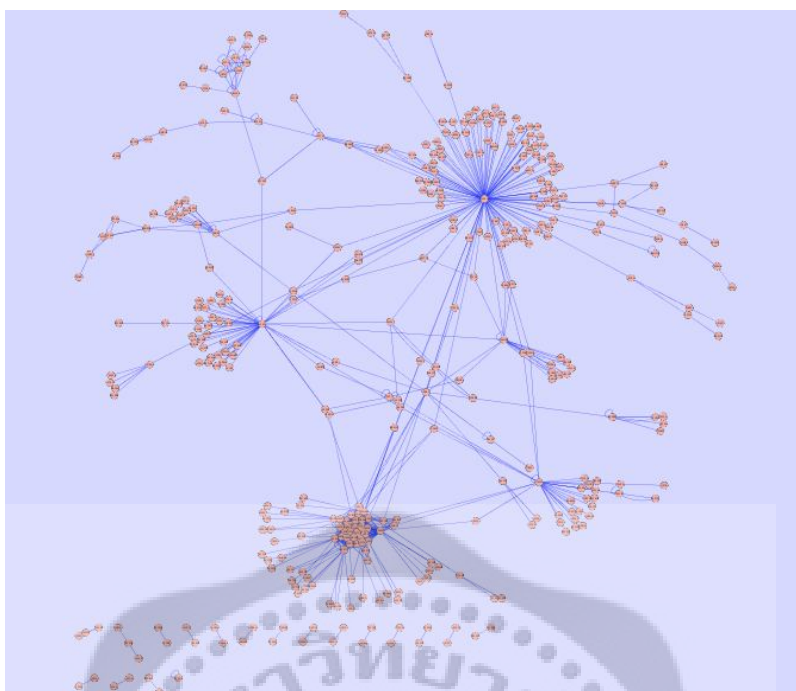
เมื่อรวมปฏิสัมพันธ์และโปรตีนทั้ง 5 วิธี คัดปฏิสัมพันธ์ และโปรตีนที่ซ้ำออก พบว่ามี 3,070 ปฏิสัมพันธ์ และ 868 โปรตีน

### 3.3.2 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์

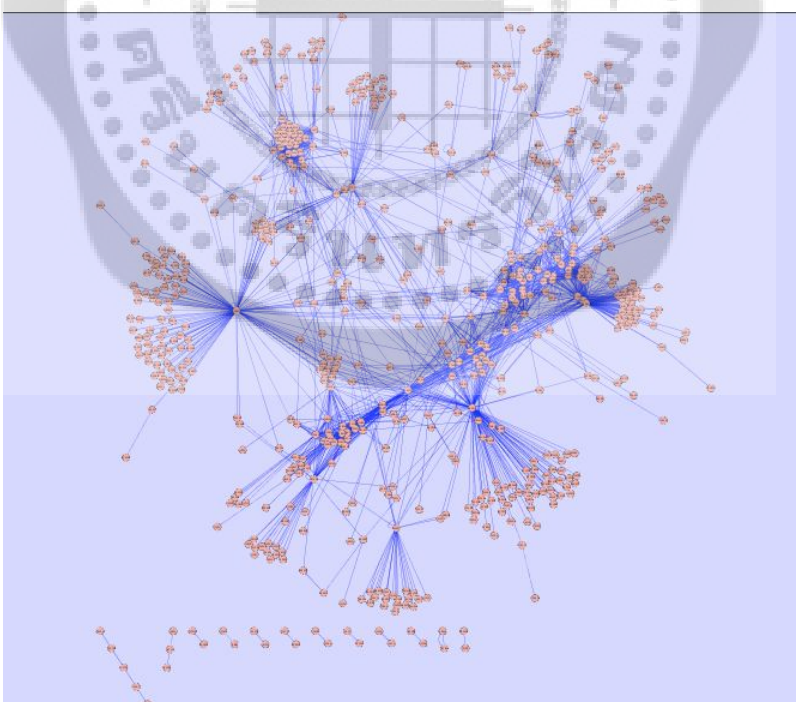
นำข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนได้ไปสร้างเป็นเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรม Cytoscape เวอร์ชัน 2.6.2 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ในแต่ละวิถี ได้แก่ วิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ กระบวนการอะพอพโทซิส วัฏจักรเซลล์ วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT และวิธีการส่งสัญญาณทั้ง 5 วิถี ดังแสดงในภาพประกอบที่ 51, 52, 53, 54, 55 และ 56 ตามลำดับ



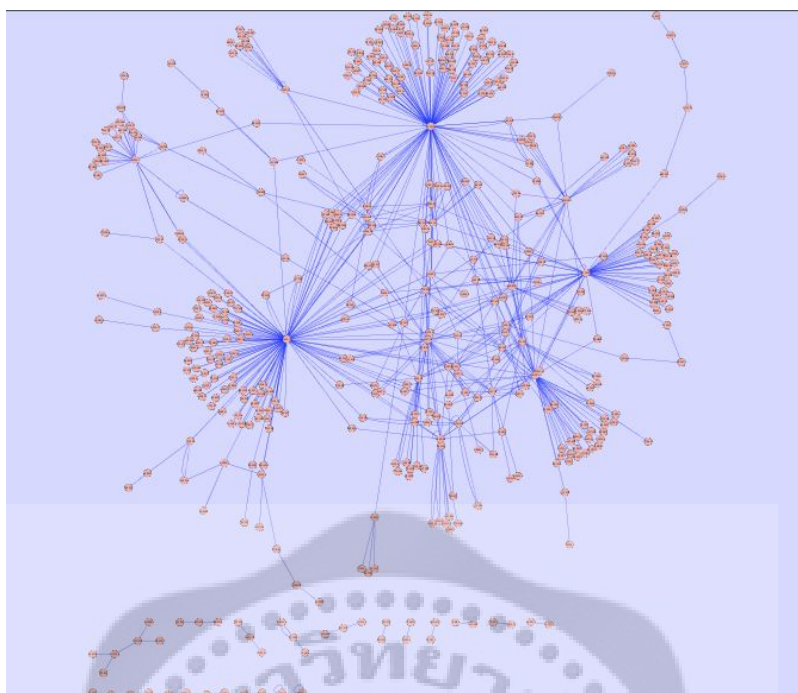
ภาพประกอบ 51 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณของ กระบวนการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ใน *C. elegans*



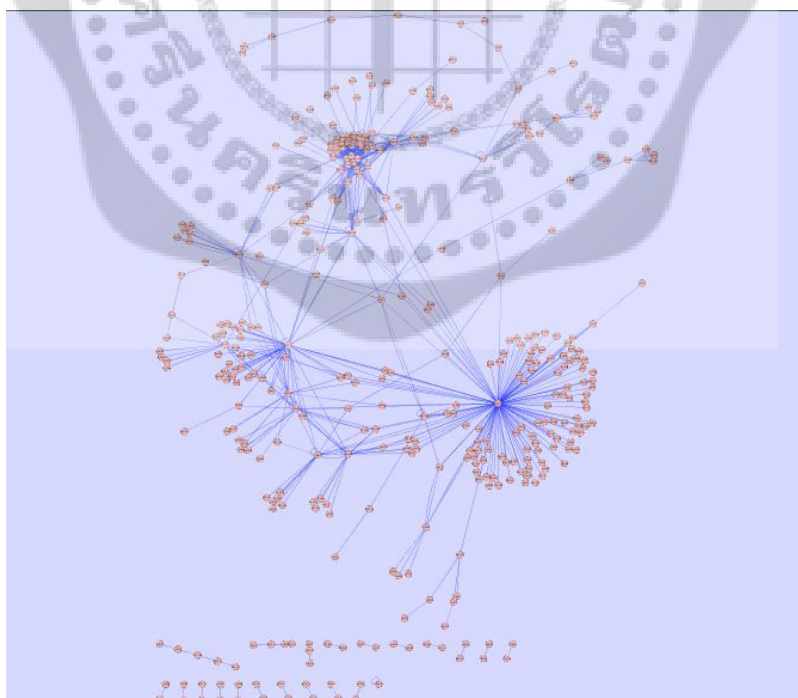
ภาพประกอบ 52 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณ ของกระบวนการ  
อะพอพโทซิสใน *C. elegans*



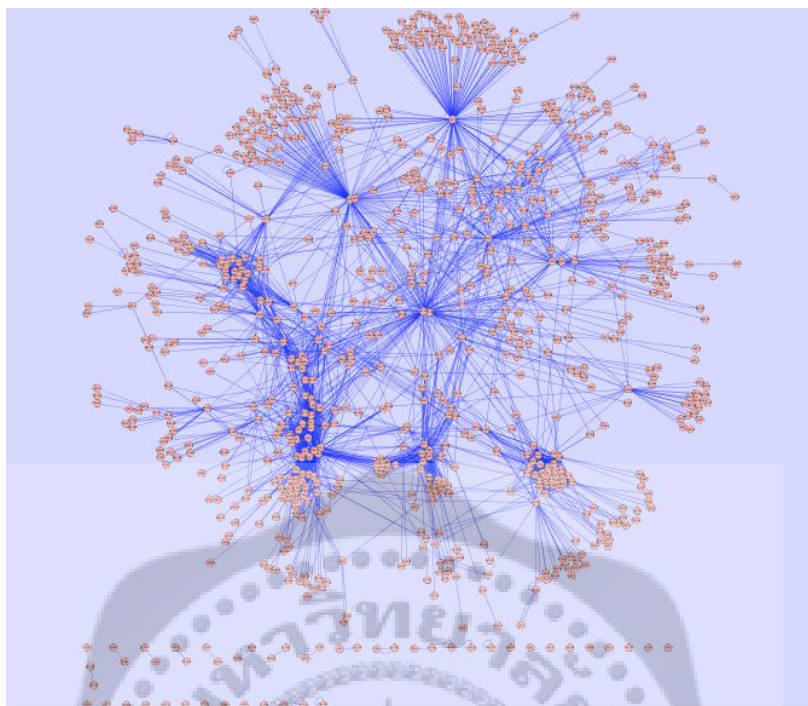
ภาพประกอบ 53 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิธีการส่งสัญญาณ ของวัฏจักรเซลล์ใน  
*C. elegans*



ภาพประกอบ 54 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณของกระบวนการ MAPK ใน *C. elegans*



ภาพประกอบ 55 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของวิถีการส่งสัญญาณของ กระบวนการ JAK/STAT ใน *C. elegans*



ภาพประกอบ 56 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของกระบวนการทั้ง 5 วิธีการส่งสัญญาณ  
ใน *C. elegans*

### 3.3.3 โปรตีน *C. elegans* ใน 5 วิธีการส่งสัญญาณที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อ ก่อโรค

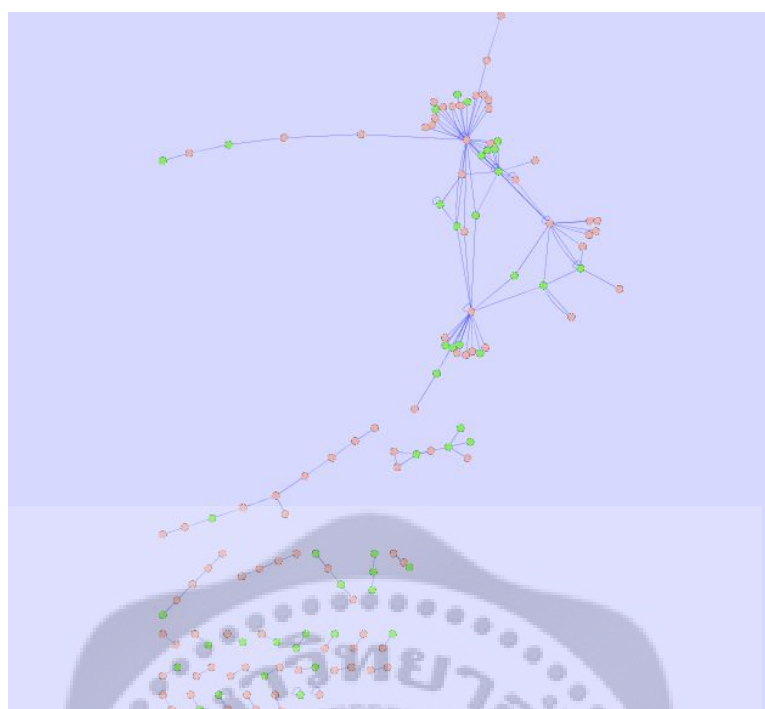
ในการระบุโปรตีนของไส้เดือนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคของโปรตีนทั้ง 5 วิธี โดย  
อ้างอิงจากงานวิจัยของ Dyer และคณะ<sup>(23)</sup> ทำโดยใช้สคริปเพื่อดึงข้อมูลออกมาจากแต่ละ  
วิธี แสดงจำนวนในตารางที่ 9

ตาราง 9 โปรตีนใน *C. elegans* ที่คาดว่าจะมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค

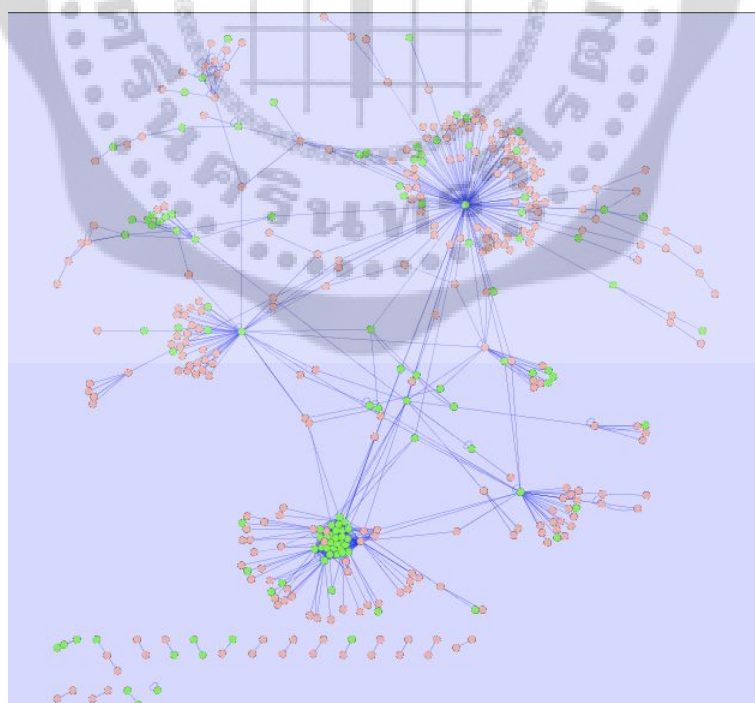
| วิธีการส่งสัญญาณของ <i>C. elegans</i> | จำนวนโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Toll-like receptor                    | 46                                                 |
| Apoptosis                             | 117                                                |
| Cell cycle                            | 176                                                |
| MAPK                                  | 107                                                |
| JAK/STAT                              | 105                                                |
| 5Pathways                             | 221                                                |

เมื่อรวมโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคทั้ง 5 วิธี คัดโปรตีนที่ซ้ำออก พบว่าจากโปรตีน *C. elegans* ทั้งหมด 868 โปรตีน มีโปรตีน 221 โปรตีนที่คาดว่าจะมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค

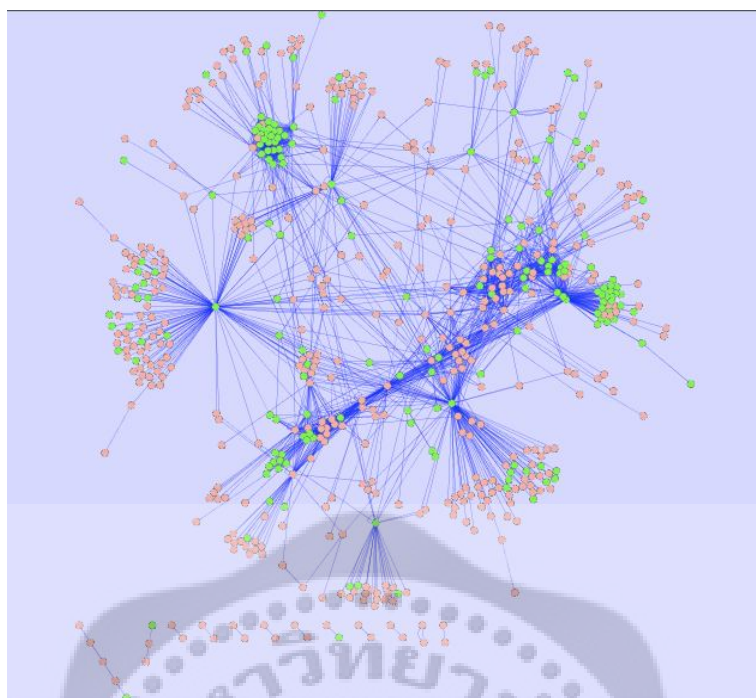
จากนั้นระบุโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคลงในแบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่ได้ในข้อ 3.3.2 โดยการกำหนดให้โปรตีนสีเข้มแทนโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคในแต่ละวิธีการส่งสัญญาณ ได้แก่ วิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ กระบวนการอะพอพโทซิส วัฏจักรเซลล์ วิธีการส่งสัญญาณ MAPK วิธีการส่งสัญญาณ JAK/STAT และวิธีการส่งสัญญาณทั้ง 5 วิธี ดังแสดงในภาพประกอบที่ 57, 58, 59, 60, 61 และ 62 ตามลำดับ



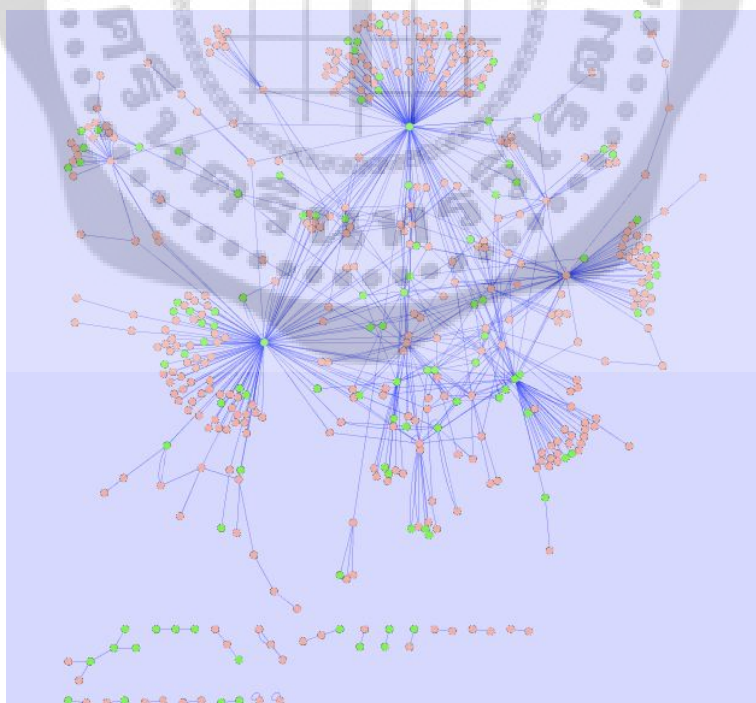
ภาพประกอบ 57 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ วิธีการส่งสัญญาณจาก  
โมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ใน *C. elegans*



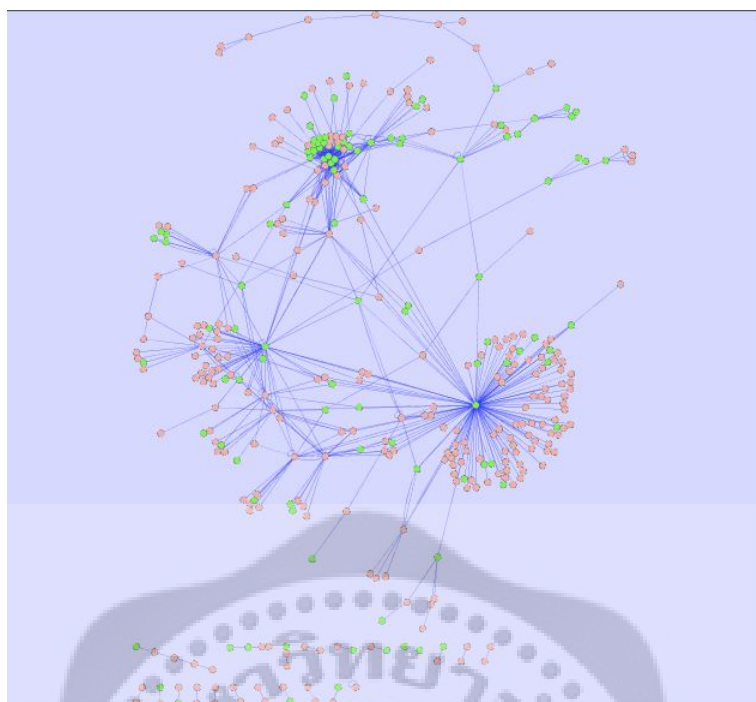
ภาพประกอบ 58 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ วิธีการส่งสัญญาณ  
อะพอพโทซิสใน *C. elegans*



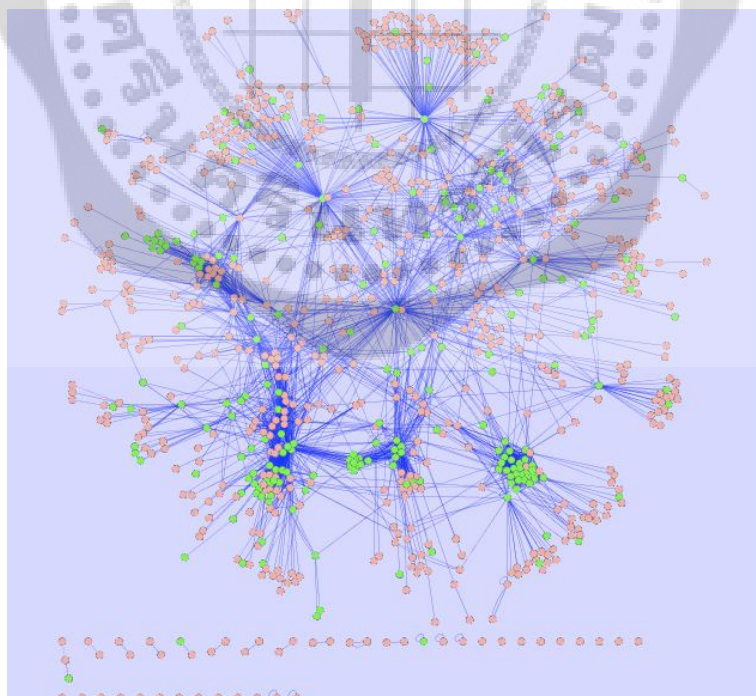
ภาพประกอบ 59 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ วิธีการส่งสัญญาณของ  
วัฏจักรเซลล์ใน *C. elegans*



ภาพประกอบ 60 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ วิธีการส่งสัญญาณของ  
กระบวนการ MAPK ใน *C. elegans*



ภาพประกอบ 61 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ วิธีการส่งสัญญาณของ กระบวนการ JAK/STAT ใน *C. elegans*



ภาพประกอบ 62 แบบจำลองการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคของ กระบวนการทั้ง 5 วิธีการ ส่งสัญญาณใน *C. elegans*

## บทที่ 4

### อภิปรายผลการทดลอง

#### 4.1 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของคน

##### 4.1.1 จำนวนโปรตีนคนที่เพิ่มขึ้นจากการรวบรวมจาก 8 ฐานข้อมูล

ผลที่ได้จากการรวบรวมปฏิสัมพันธ์จาก 8 ฐานข้อมูล พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ทั้งสิ้น 364,660 ปฏิสัมพันธ์ แต่เนื่องจากข้อมูลมาจากหลายฐานข้อมูล มีโมเลกุลขนาดเล็ก ดีเอ็นเอ และ โปรตีนจาก สปีชีส์อื่นรวมอยู่ด้วย จึงต้องมีการคัดออก และเมื่อทำการคัดปฏิสัมพันธ์ที่ซ้ำออก พบว่ามี 222,588 ปฏิสัมพันธ์ และ 48,106 โปรตีน และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างจำนวนโปรตีนที่ได้จากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome (ตารางที่ 1) กับจำนวนโปรตีนที่ได้จากการใช้วิธี Uniprot ID retrieval และ Depth first search (ตารางที่3) พบว่ามีจำนวนโปรตีนเพิ่มขึ้นมาเป็นจำนวนมาก เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนที่ได้จากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome แสดงให้เห็นว่า การรวมชุดข้อมูลจากหลายฐานข้อมูล และการใช้วิธีการเรียกข้อมูลปฏิสัมพันธ์ที่หลากหลาย ส่งผลให้ได้ข้อมูลโปรตีนใหม่เพิ่มเติมขึ้น

ในปี 2006 ได้มีงานวิจัยของ Oda และ Kitano<sup>(33)</sup> ได้ทำการรวบรวม และสร้างแผนภาพวิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ในคน โดยพบว่าวิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ประกอบด้วยโปรตีนในวิถีทั้งหมด 340 โปรตีน แต่จากการวิจัยในครั้งนี้ พบโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนในวิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคนถึง 1,696 โปรตีน

##### 4.1.2 เปรียบเทียบโปรตีนคนในแต่ละวิถีการส่งสัญญาณ

จากการค้นคว้าในฐานข้อมูลออนไลน์ โดยอาศัยฐานข้อมูล Uniprot เป็นหลักในการพิจารณาทำให้ทราบรายละเอียดบางส่วนเกี่ยวกับโปรตีน แต่บางโปรตีนในฐานข้อมูล Uniprot ไม่มีข้อมูลที่ศึกษาไว้อย่างละเอียด ทราบเพียง Uniprot ID สัญลักษณ์โปรตีน และบทบาทหน้าที่ของโปรตีนเท่านั้น โดยไม่ได้มีการระบุปฏิสัมพันธ์และวิถีทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนนั้นไว้

จากการรวบรวมรายชื่อโปรตีนในแต่ละวิถีผ่านฐานข้อมูล KEGG และ Reactome ทำให้ทราบว่าโปรตีนตัวใดอยู่ในวิถีการส่งสัญญาณใด จากนั้นนำรายชื่อโปรตีนที่ได้นี้มาใช้ในการเรียกชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์ จากชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของคนทั้งหมดที่ได้รวบรวมไว้จาก 8 ฐานข้อมูล ดังนั้นขอบเขตของโปรตีนในแต่ละวิถีจึงถูกกำหนดด้วยโปรตีนที่ได้รวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome

การใช้วิธี Uniprot ID retrieval ในการเรียกชุดข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน ทำให้ได้ข้อมูลชุดเดียวกันมาเป็นจำนวนมาก คือมีโปรตีนซ้ำกันในแต่ละวิธีเป็นจำนวนมาก เนื่องจากรายชื่อโปรตีนในแต่ละวิธีที่ใช้เป็นโปรตีนหลักในการค้นหาการมีปฏิสัมพันธ์นั้น พบว่าในบางวิธีมีโปรตีนที่ซ้ำกันอยู่ก่อนหน้านี้แล้ว แต่ความแตกต่างของปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนที่เป็นโปรตีนตัวเดียวกันนั้น เกิดขึ้นจากการใช้วิธี Depth first search ที่ใช้ร่วมกันในการหาการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน โดยวิธีนี้จะทำให้ปฏิสัมพันธ์ของแต่ละโปรตีนขึ้นอยู่กับโปรตีนในแต่ละวิธี ที่ใช้เป็นโปรตีนหลักในการเรียกชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์จากชุดปฏิสัมพันธ์จาก 8 ฐานข้อมูล

ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดคือ โปรตีน TRAF6\_HUMAN (จากภาพประกอบที่ 26) ซึ่งเป็นโปรตีนที่อยู่ในฐานข้อมูล KEGG และ Reactome มีการระบุหน้าที่ว่าอยู่ในวิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ และวิถีการส่งสัญญาณ MAPK แต่เมื่อนำข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนที่ได้จากการทดลองมาสร้างเป็นเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ พบว่านอกจากจะอยู่ใน 2 วิธีที่กล่าวมาแล้ว TRAF6\_HUMAN ยังเป็นโปรตีนที่อยู่ในกระบวนการอะพอพโทซิส วัฏจักรเซลล์ และวิถีการส่งสัญญาณ JAK/STAT ด้วย จึงอาจทำนายได้ว่าโปรตีนตัวนี้อาจมีหน้าที่รวมอยู่ในสามวิธีนี้ด้วย ซึ่งข้อมูลในส่วนที่เพิ่มขึ้นมาใหม่นี้ทำให้เห็นบทบาทของ TRAF6\_HUMAN มากขึ้น

จากการตรวจสอบการมีปฏิสัมพันธ์โดยตรงของโปรตีน TRAF6\_HUMAN ในแต่ละวิธี พบว่าโปรตีน TRAF6\_HUMAN มีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนในวิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ 392 โปรตีน กระบวนการอะพอพโทซิส 53 โปรตีน วัฏจักรเซลล์ 37 โปรตีน วิถีการส่งสัญญาณ MAPK 391 โปรตีน วิถีการส่งสัญญาณ JAK/STAT 4 โปรตีน และเมื่อรวมทั้ง 5 วิถีการส่งสัญญาณ และคัดโปรตีนที่ซ้ำออก พบว่า TRAF6\_HUMAN มีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีน 396 โปรตีน แม้ว่าการใช้รายชื่อโปรตีนที่ใช้ในการเรียกชุดข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์จะซ้ำกันในบางวิธี แต่จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า จำนวนปฏิสัมพันธ์และโปรตีนของวิถีการส่งสัญญาณในแต่ละวิธีนั้น ขึ้นอยู่กับโปรตีนแวดล้อมของชุดโปรตีนหลักที่ใช้ในการเรียกชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์

#### 4.1.3 โปรตีนคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค

ในการศึกษาโปรตีนคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคนั้น อ้างอิงจากงานวิจัยของ Dyer และคณะ<sup>(23)</sup>

จากงานวิจัยของ Dyer ซึ่งได้ระบุโปรตีนคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคไว้ 1,233 โปรตีน และเมื่อนำมาแปลให้อยู่ในรูปของรหัส Uniprot พบว่าเหลือโปรตีนคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค 1,215 โปรตีน จึงได้นำรายชื่อโปรตีนเหล่านี้มาใช้ในการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้

จากในกรณีของวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโพลี พบว่ามีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรค จากในวิธีที่มีโปรตีน 1,549 โปรตีน พบว่ามี 416 โปรตีนที่ทราบว่ามีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรค คิดเป็นหนึ่งในสามของโปรตีนที่รู้ว่ามีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคทั้งหมด ในกระบวนการอะพอพโทซิสก็เช่นเดียวกัน พบว่ามีโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรค 518 โปรตีน จาก 2,078 โปรตีน วัฏจักรเซลล์พบว่ามีโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรค 569 โปรตีน จาก 2,475 โปรตีน วิธีการส่งสัญญาณ MAPK พบว่ามีโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรค 606 โปรตีน จาก 2,862 โปรตีน วิธีการส่งสัญญาณ JAK/STAT พบว่ามีโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรค 442 โปรตีน จาก 1,847 โปรตีน และเมื่อรวมทั้ง 5 วิธีการส่งสัญญาณ ซึ่งมีโปรตีนรวมทั้งหมด 4,928 โปรตีน พบว่ามี 811 โปรตีนที่ได้มีการระบุไว้ในงานวิจัยของ Dyer ว่ามีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรค คิดเป็น 66% ของโปรตีนคนที่เป็นที่รู้จักว่ามีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรค แสดงว่าการที่ได้ทำการเลือกวิธีการส่งสัญญาณทั้ง 5 วิธีนี้มาใช้ในการวิจัยนี้ นับว่าเป็นวิธีที่ครอบคลุมวิธีการส่งสัญญาณส่วนใหญ่ที่เชื้อก่อโรคมักจะมีปฏิสัมพันธ์ด้วย และค่อนข้างมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์หากเซลล์เกิดการติดเชื้อ

จากงานวิจัยของ Dyer นั้นได้ระบุโปรตีนคน 1,233 โปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรค โดยไม่ได้ทำการระบุว่าโปรตีนเหล่านั้นอยู่ในวิธีการส่งสัญญาณใด แต่งานวิจัยนี้ได้ทำการระบุโปรตีนเชื้อก่อโรคที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนคนที่อยู่ในวิธีการส่งสัญญาณ 5 วิธีการส่งสัญญาณซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในคน ซึ่งประกอบด้วย 811 โปรตีน

#### 4.1.4 การพิจารณาโปรตีนที่สำคัญในแต่ละวิธี

จากงานวิจัยของ Dyer และคณะ<sup>(23)</sup> พบว่าโปรตีนคนที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่เป็นฮับในเครือข่าย หรือเป็นโปรตีนที่มีโปรตีนอื่นแวดล้อมอยู่มาก ดังนั้นโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนอื่นมาก ก็น่าจะเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญด้วยเช่นกัน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้พิจารณาค่าความสำคัญของโปรตีน โดยใช้ค่าความเชื่อมโยง  $k$  ในการพิจารณา

จากการพิจารณาการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนกับโปรตีนตัวอื่น หรือค่า  $k$  ทำให้เราสามารถพิจารณาความสำคัญของโปรตีนตัวนั้นได้ หากโปรตีนเป็นฮับขนาดใหญ่ หรือมีค่า  $k$  สูงมาก ก็น่าจะเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญในวิธี และนอกจากจะพิจารณาค่า  $k$  แล้ว ยังสามารถพิจารณาความสำคัญของโปรตีนได้จากค่า surrounding mass ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกความสำคัญของโปรตีนอีกค่าหนึ่ง โดยการที่โปรตีนนั้นมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนที่เป็นฮับ หรือโปรตีนที่มีค่า  $k$  สูง ถึงแม้ว่าโปรตีนจะมีค่า  $k$  ต่ำ แต่มีค่า surrounding mass สูง (จากตารางที่ 4 และภาพประกอบที่ 20) โปรตีนตัวนั้นก็น่าจะมีบทบาทที่สำคัญในเครือข่ายเช่นกัน เพราะหากโปรตีนตัวนั้นมีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรค อาจส่งผลต่อโปรตีนอีกหลายตัวที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนตัวนั้น ซึ่งอาจทำให้วิธีการส่งสัญญาณของโปรตีนในวิธีเกิดการเปลี่ยนแปลงไปได้มาก

## 4.2 แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน *D. melanogaster* และ *C. elegans* ที่ทำนายจากปฏิสัมพันธ์ของคน

### 4.2.1 จำนวนโปรตีน และปฏิสัมพันธ์ที่ได้จากการแปลรหัสจากโปรตีนคน

จากการรวบรวมโปรตีนของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* จากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome (ข้อมูล ณ วันที่ 26 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2552) ซึ่งเป็นฐานข้อมูลที่ได้มีการแสดงแผนภาพวิถีการส่งสัญญาณของคน *D. melanogaster* และ *C. elegans* และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการแปลข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของคนไปเป็นข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของ

*D. melanogaster* และ *C. elegans* โดยอ้างอิงจากฐานข้อมูล inparanoid เวอร์ชัน 7 พบว่ามีจำนวนโปรตีนของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก เมื่อเทียบกับจำนวนโปรตีนที่ได้จากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome

จากการแปลรหัสโปรตีน จากโปรตีนคนไปเป็นโปรตีนของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* พบว่าบางโปรตีนที่เป็นโปรตีนคน และมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อโรค เมื่อนำมาแปลรหัสเป็นโปรตีนของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* และนำมาสร้างเป็นแบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ พบว่าโปรตีนเหล่านั้น บางโปรตีนยังคงอยู่ อาจทำนายได้ว่าโปรตีนเหล่านั้นเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญในทางวิวัฒนาการ ที่เซลล์ยังคงทำการอนุรักษ์ไว้

สำหรับปฏิสัมพันธ์ที่ได้จากการแปลจากโปรตีนคนนั้น ภายหลังจากการตรวจสอบกับเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* ที่แท้จริง พบว่ามีทั้งปฏิสัมพันธ์ที่พบและไม่พบในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่แท้จริงของสิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิด ในส่วนของปฏิสัมพันธ์ที่ไม่พบในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่แท้จริงนั้น ถือได้ว่าเป็นข้อมูลใหม่ที่น่าสนใจ และน่าจะเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาในอนาคต

### 4.2.2 การแปลรหัสโปรตีนคนเป็นโปรตีน *D. melanogaster* และ *C. elegans*

ในการแปลรหัสโปรตีนคนไปเป็นโปรตีนของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* นั้น ผลที่ได้จากการแปลรหัสโปรตีน และปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน ถูกนำมาสร้างเป็นแบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้งสองชนิด ซึ่งผลที่ได้แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ ปฏิสัมพันธ์ที่สามารถแปลรหัสโปรตีนได้ทั้งคู่ปฏิสัมพันธ์ คือสามารถแปลรหัสได้ทั้งโปรตีนเริ่มต้นและโปรตีนเป้าหมาย และสอง คือ ปฏิสัมพันธ์ที่ไม่สามารถแปลรหัสได้ทั้งปฏิสัมพันธ์ หมายความว่าบางโปรตีน อาจจะเป็นโปรตีนเริ่มต้น หรือโปรตีนเป้าหมาย ไม่สามารถทำการแปลรหัสได้ เนื่องจากไม่พบข้อมูล ortholog ของโปรตีนคนกับโปรตีนของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* จากฐานข้อมูล inparanoid เวอร์ชัน 7 ข้อมูลแสดงวิธีการหา orthologous proteins อยู่ในภาคผนวก ง)

ในการเลือกข้อมูลที่น่ามาสร้างเป็นแบบจำลองนั้น เราเลือกเฉพาะชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์ที่สามารถแปลรหัสโปรตีนได้ทั้งคู่ปฏิสัมพันธ์ และทำการตัดชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์ที่ไม่สามารถแปลรหัสโปรตีนได้ทั้งคู่ปฏิสัมพันธ์ออก แต่ยังคงมีการเก็บข้อมูลส่วนนี้ไว้ หากในอนาคต มีการค้นพบโปรตีนใหม่ๆ และนำมาแปลรหัส หรือนำมารวมกับชุดข้อมูลที่เรามีอยู่ อาจทำให้ได้ชุดข้อมูลที่มีความสมบูรณ์มากขึ้น

#### 4.2.3 โปรตีนที่ได้จากการแปลรหัสจากโปรตีนคน ของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* ที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของคน

ปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนใน *D. melanogaster* และ *C. elegans* ที่ได้จากการแปลรหัสจากข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของคนนั้นถือเป็นข้อมูลปฏิสัมพันธ์ทางทฤษฎี และเมื่อนำข้อมูลปฏิสัมพันธ์ที่ได้นี้ มาสร้างเป็นเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน ก็จะได้แบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของ *D. melanogaster* และ *C. elegans*

การระบุโปรตีนของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* ทางทฤษฎีที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคของคนลงในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ จะทำให้สามารถทำนายโปรตีนที่มีความสำคัญในวิถีการส่งสัญญาณของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* ได้ ซึ่งโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรคเหล่านี้ ถือเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญ และเป็นโปรตีนที่เป็นเป้าหมายในการศึกษาวิจัย โดยอาจนำรายชื่อโปรตีนเหล่านี้ไปทำการทดลอง เช่น RNAi หรือวิธีอื่นที่จะช่วยในการลดการมีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรค

#### 4.3 การพิจารณาเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของคน และแบบจำลองเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของ *D. melanogaster* และ *C. elegans*

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนใน 5 วิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของคน *D. melanogaster* และ *C. elegans* ดังที่ได้กล่าวมา และพยายามหาความสำคัญของแต่ละโปรตีนในแต่ละวิถี โดยพิจารณาว่าโปรตีนใดน่าจะเป็นโปรตีนเป้าหมายสำคัญ โดยการศึกษาว่าโปรตีนตัวใดจะได้รับผลกระทบจากการติดเชื้อของเซลล์ และจากงานวิจัยนี้ พบว่ามีโปรตีนจำนวนมากซึ่งก่อนหน้านี้ไม่มีฐานข้อมูลใดระบุว่ามันทำหน้าที่เกี่ยวกับอะไร ซึ่งถ้าไม่มีการนำโปรตีนมาสร้างเป็นเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ก็จะไม่รู้ว่โปรตีนเหล่านี้ทำหน้าที่อะไร และอยู่ในวิถีการส่งสัญญาณใด เนื่องจากข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในแต่ละฐานข้อมูลมีหลากหลายมาก และมีรูปแบบที่แตกต่างกันไปในแต่ละฐานข้อมูล ดังนั้นการที่เราจัดให้ข้อมูลทั้งหมดมาอยู่ในระบบเดียวกัน และนำมาสร้างเป็นเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ ทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับโปรตีนเพิ่มเติมมากขึ้น

จากการพิจารณาโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเชื้อก่อโรค และการพิจารณาค่า  $k$  ของโปรตีนนั้น ทำให้สามารถจัดลำดับความสำคัญของโปรตีน และจัดลำดับความสำคัญของโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคในส่วนของวิธีการส่งสัญญาณทางชีววิทยา และหวังว่าโปรตีนเหล่านี้จะเป็นโปรตีนซึ่งใช้เป็นโปรตีนเป้าหมายเพื่อใช้ในการออกแบบโมเลกุลของยามาเพื่อการรักษา หรือเป็นเป้าหมายในการทำการทดลองต่อไป

หากต้องการศึกษาวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น โดยที่มีรหัสจีโนมที่ยังไม่สมบูรณ์ก็สามารถคาดการณ์ได้จากการแปลรหัสโปรตีนหรือปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคนไปเป็นโปรตีนหรือปฏิสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นๆ โดยใช้ฐานข้อมูล inparanoid ในการแปลรหัสชุดของข้อมูลโปรตีนเหล่านั้น วิธีการนี้จะทำให้ช่วยลดระยะเวลาในการทำงาน และลดรายจ่ายในการทดลองไปได้มาก

จากผลที่ได้อภิปรายมาทั้งหมดนั้น แสดงให้เห็นว่าในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ในบางปฏิสัมพันธ์นั้นยังคงมีการอนุรักษ์ไว้ พิจารณาได้จากการแปลรหัสโปรตีน หรือปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคนไปเป็นปฏิสัมพันธ์ของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* เมื่อนำปฏิสัมพันธ์ที่ได้มาตรวจสอบกับปฏิสัมพันธ์ที่แท้จริงของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้งสองชนิด พบว่ามีปฏิสัมพันธ์บางส่วนที่ตรงกัน และบางปฏิสัมพันธ์เป็นปฏิสัมพันธ์ที่ไม่พบในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ที่แท้จริงของ *D. melanogaster* และ *C. elegans* ซึ่งปฏิสัมพันธ์และโปรตีนที่ได้มาใหม่นี้จะเป็นเป้าหมายสำคัญในการศึกษา

การทำการระบุโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนจากเชื้อก่อโรคลงในแผนภาพเครือข่ายปฏิสัมพันธ์นั้นมีความสำคัญ เนื่องจากจะเป็นแนวทางในการทำการศึกษาและป้องกันหากเซลล์เกิดการติดเชื้อ และเป็นโปรตีนหลักที่จะนำมาทำการวิเคราะห์สำหรับการผลิตยาในการป้องกันการติดเชื้อของเซลล์



## บรรณานุกรม

1. Wesche-Soldato D. E, Swan R. Z, Chung Chun-Shiang and Ayala A. The Apoptotic pathway as a therapeutic target in Sepsis. *Curr Drug Targets* 2007;8(4):493–500.
2. Calvano S. E, et al. A network-based analysis of systemic inflammation in humans. *Nature* 2005;437:1-7.
3. Chen Nien-Jung, et al. Beyond tumor necrosis factor receptor:TRADD signaling in toll-like receptors. *Pnas* 2008;105(34):12429–12434.
4. Zambon R. A, Nandakumar M, Vakharia V. N, and Wu L. P. The Toll pathway is important for an antiviral response in *Drosophila*. *Pnas* 2005;102(20):7257–7262.
5. Galiana-Arnoux D, Dostert C, Schneemann A, Hoffmann J. A and Imler Jean-Luc. Essential function *in vivo* for Dicer-2 in host defense against RNA viruses in *drosophila*. *Nature immunology* 2006;7(6):590-597.
6. Nehme N. T, et al. A Model of Bacterial Intestinal Infections in *Drosophila melanogaster*. *Plospathogens* 2007;3(11):1694-1709.
7. Cokus S, et al. Modelling the network of cell cycle transcription factors in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Bmc* 2006;7(381):1-12.
8. Barabasi Albert-Laszlo and Oltvai Zoltan N. Network biology:understandaing the cell's functional organization. *Nature reviews* 2004;5:101-114.
9. Ideker T. and Sharan R. Protein networks in disease. *Genome res* 2008;18:644-652.
10. Epstein Richard J. Human Molecular Biology. 1. Edinburgh building: Cambridge university press; 2003.
11. Hertz C. J. and Modlin R. L. Role of Toll-like receptor in response to bacterial infection. *Contrib microbial* 2003;10:149-163.
12. Ferrandon D, Imler Jean-Luc, Hetru C. and Hoffmann J. A. The *Drosophila* systemic immune response: sensing and signaling during bacterial and fungal infections. *Immunol* 2007;7:862-874.
13. Akira S. and Kawai T. TLR signaling. *Cell death differ* 2006;13:816-825.
14. Akira S. Mammalian Toll-like receptor. *Curr Opin Immunol* 2003;15(1):5-11.
15. Aggawal K and Silverman N. Positive and negative regulation of the *Drosophila* immune response. *Bmb* 2008;41(4):267-277.
16. O'Neill Luke AJ. How Toll-like receptors signaling:what we know and what we don't know. *Current opinion immuno* 2006;18:3-9.

17. Tanji T. and Ip Y. Tony. Regulators of the Toll and Imd pathways in the *Drosophila* innate immune response. Trends in immuno 2005;26(4):193-198.
18. Beutler B, et al. Genetic analysis of resistance to viral infection. Immunol 2007;7:753-766.
19. Bode J. G, Brenndorfer E. D. and Haussinger D. Subversion of innate host antiviral strategies by the hepatitis C virus. Abb 2007;462:254–265.
20. Danial Nika N. and Korsmeyer Stanley J. Cell Death: Critical control points. Cell press 2004;116:205–219.
21. Leulier F, Lhocine N, Lemaitre B and Meier1 P. The *Drosophila* inhibitor of Apoptosis protein DIAP2 functions in innate immunity and is essential to resist Gram-Negative Bacterial infection. MOL. cell. boil 2006;26(21):7821–7831.
22. Mouysset J, et al. Cell cycle progression requires the CDC-48<sup>UFD-1/NPL-4</sup> complex for efficient DNA replication. Pnas 2008;105(35):12879–12884.
23. Dyer M. D, Murali T.M. and Sobral B. W. The landscape of human proteins interacting with viruses and other pathogens. Plospathogens 2007;4(2):0001-0014.
24. Dickinson Robin J. and Keyse Stephen M. Diverse physiological functions for dual – specificity MAP kinase phosphatases. Journal of Cell Science 2006;119:4607-4615.
25. Pearson G, et al. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways:regulation and physiological functions. Endocrine Reviews 2006;22(2):153–183.
26. Ewbank J. J. Signaling in the immune response. Wormbook. 2006.
27. Soebiyanto R.P, et al. Complex systems biology approach to understanding coordination of JAK-STAT signaling. Biosystems 2007;90:830–842.
28. Arbouzova Natalia I. and Zeidler Martin P. JAK/STAT signalling in *Drosophila*: insights into conserved regulatory and cellular functions. Dev 2006;133:2605-2616.
29. Giot L, et al. A protein interaction map of *Drosophila melanogaster*. Science 2003;302: 1727-1736.
30. วิรุพห์ ศรีรัตนกมล. การเปรียบเทียบวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการอะพอพอโทซิสระหว่างคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 2551.
31. นันทกานต์ เมืองฟิล. การเปรียบเทียบวิถีการส่งสัญญาณไมโทเจน-แอกทิเวเตดโปรตีนไคเนส (MAPKs) และวิถีวัฏจักรเซลล์ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่ทราบรหัสจีโนมแล้วโดยเทียบรหัสสายลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนที่ตรงกับรหัสโปรตีนของคน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 2551.
32. Zhu X., Gerstein M. and Snyder M. Getting connected: analysis and principles of biological networks. Genesdev 2007;21:1010-1024.

33. Wesche-Soldato D. E, Swan R. Z, Chung Chun-Shiang and Ayala A. The Apoptotic pathway as a therapeutic target in Sepsis. *Curr Drug Targets*; 2007. 8(4): 493–500
34. Gauthier N. P, et al. Cyclebase.org—a comprehensive multi-organism online database of cell-cycle experiments. *Nar* 2008;36:854-859.
35. Kanae Oda and Hiroaki Kitano. A comprehensive map of the toll-like receptor signaling network. *Molecular system biology*. 2006.
36. Cline Melissa S, et al. Integration of biological networks and gene expression data using Cytoscape. *Nature protocols* 2007;2(10):2366-2382.





### ภาคผนวก ก

รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิธีการส่งสัญญาณในแต่ละวิถี ที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome ณ เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2552 ที่ใช้เป็นชุดโปรตีนตั้งต้นในการสืบค้นชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์จากชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์รวมที่ได้จาก 8 ฐานข้อมูล ดังแสดงในตารางที่ 13, 14, 15, 16 และ 17 ตามลำดับ

ตาราง 10 รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์สที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome

|        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| A0N0P2 | A0N0R1 | A4D0Q6 | A4D2P1 | A4QPA9 | A8K2Q5 | A8K3Y2 | A8K4S4 | A8K6K3 | B0LPE5 |
| B0LPG1 | B2R8L6 | B2R938 | B2R9C1 | B2R9N9 | B2R9S5 | B2RCA0 | B2RDA1 | B2RE27 | B3Y640 |
| B5BTZ5 | B5M0B4 | 000206 | 000329 | 000459 | Q14625 | Q14733 | Q14920 | Q15111 | Q15264 |
| Q15455 | Q43318 | Q60595 | Q60602 | Q60603 | P01100 | P01375 | P01562 | P01566 | P01567 |
| P01568 | P01569 | P01570 | P01571 | P01574 | P01584 | P02778 | P05013 | P05014 | P05015 |
| P05231 | P05412 | P08571 | P10145 | P10147 | P10451 | P13236 | P13501 | P15336 | P17181 |
| P18428 | P19838 | P25942 | P25963 | P27986 | P28482 | P29459 | P29460 | P31749 | P31751 |
| P32881 | P33681 | P36507 | P41279 | P42081 | P42224 | P42336 | P42338 | P45983 | P45985 |
| P46734 | P48551 | P48736 | P51617 | P52564 | P53778 | P53779 | P58753 | P63000 | Q00653 |
| Q02750 | Q04206 | Q07325 | Q13114 | Q13158 | Q13233 | Q13546 | Q14164 | Q14653 | Q14790 |
| Q15399 | Q15653 | Q15750 | Q15759 | Q16539 | Q1HBJ4 | Q32MK4 | Q5FWG5 | Q5STB3 | Q5VV12 |
| Q5VV13 | Q5VV14 | Q5VWC9 | Q5VYQ1 | Q5VYQ3 | Q68D00 | Q69FE3 | Q6DJX8 | Q6FG41 | Q6FHD7 |
| Q6FI46 | Q6FIE9 | Q6RCM8 | Q75MH2 | Q7LBY6 | Q7Z7F1 | Q86XR7 | Q8IUC6 | Q8NEB9 | Q8NHX1 |
| Q8WYR1 | Q92985 | Q99570 | Q99836 | Q9BXR5 | Q9H0E2 | Q9NR96 | Q9NR97 | Q9NWZ3 | Q9NYJ8 |
| Q9NYK1 | Q9UHD2 | Q9Y243 | Q9Y2C9 | Q9Y4K3 | Q9Y6K9 | Q9Y6Y9 |        |        |        |

ตาราง 11 รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ  
อะพอพโทซิสที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome

|        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| A1A4S6 | A4D0Q6 | A4D2I9 | A6NF12 | A8ASI8 | A8K107 | A8K2I8 | A8K5M2 | A8W6Z7 | B0LPE5 |
| B2R4I1 | B2R5T5 | B2R8L6 | B2R9C1 | B2RB89 | B2RC10 | B2RDS3 | B5BUA2 | 000220 | 000231 |
| 000232 | 000233 | 000273 | 000329 | 000459 | 000487 | 014724 | 014727 | 014763 | 014798 |
| 014818 | 014920 | 015111 | 015519 | 043187 | 043242 | 043521 | 043745 | 043903 | 043930 |
| 075832 | 076075 | 094919 | P01138 | P01375 | P01583 | P01584 | P02545 | P04629 | P04637 |
| P06396 | P07305 | P07384 | P08670 | P08700 | P10114 | P10412 | P10415 | P10636 | P10644 |
| P12830 | P13861 | P14778 | P15924 | P16298 | P16401 | P16402 | P16403 | P17612 | P17655 |
| P17980 | P19438 | P19838 | P20618 | P20700 | P22612 | P22694 | P25054 | P25445 | P25786 |
| P25787 | P25788 | P25789 | P25963 | P26951 | P27986 | P28062 | P28065 | P28066 | P28070 |
| P28072 | P28074 | P30419 | P31321 | P31323 | P31749 | P31751 | P31946 | P32926 | P32927 |
| P35611 | P35998 | P40306 | P42336 | P42338 | P42574 | P43686 | P45983 | P48023 | P48454 |
| P48556 | P48736 | P49354 | P49720 | P49721 | P50591 | P51572 | P51617 | P51665 | P51813 |
| P51817 | P52294 | P55036 | P55210 | P55211 | P55212 | P55957 | P60900 | P61289 | P62191 |
| P62195 | P62333 | P62988 | P63098 | P63167 | P98170 | P99999 | Q02413 | Q02539 | Q04206 |
| Q04759 | Q05397 | Q05655 | Q06323 | Q07157 | Q07812 | Q07817 | Q08209 | Q12933 | Q13158 |
| Q13177 | Q13200 | Q13315 | Q13464 | Q13489 | Q13490 | Q13546 | Q13794 | Q13813 | Q13835 |
| Q14126 | Q14249 | Q14790 | Q14974 | Q15008 | Q15149 | Q15628 | Q16401 | Q16611 | Q16625 |
| Q2QKE4 | Q53QF9 | Q53TS6 | Q53Y70 | Q53ZZ1 | Q587I7 | Q5SR22 | Q5T6G6 | Q5T9P1 | Q5TE63 |
| Q5VTR4 | Q69FE3 | Q6FH21 | Q6FH58 | Q6IBA9 | Q6NSJ8 | Q7LBY6 | Q7Z7F1 | Q8WYR1 | Q92530 |
| Q92851 | Q92934 | Q96FJ2 | Q96LC9 | Q96LZ3 | Q99436 | Q99460 | Q99558 | Q99653 | Q99836 |
| Q9BSS6 | Q9BXH1 | Q9HAW4 | Q9NPH3 | Q9NR28 | Q9NWZ3 | Q9P289 | Q9UBN6 | Q9UDY2 | Q9UKV3 |
| Q9UL46 | Q9UNM6 | Q9Y243 | Q9Y2C4 | Q9Y616 | Q9Y6E0 | Q9Y6K9 |        |        |        |



ตาราง 13 รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการ  
MAPK ที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome

|        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| A0PJ48 | A1L3Z2 | A1L4F3 | A2RUT8 | A4D1J9 | A4D1T4 | A4D2P1 | A4QPA9 | A5YM40 | A6NF12 |
| A6NGG4 | A6NIZ1 | A6NND1 | A6NP74 | A7MCZ2 | A7MD15 | A8K0Z4 | A8K107 | A8K114 | A8K1P5 |
| A8K2G3 | A8K2I8 | A8K2Q5 | A8K3Y2 | A8K427 | A8K5I0 | A8K5I7 | A8K5M2 | A8K5M4 | A8K722 |
| A8K824 | A8K8Z5 | A8K9D9 | A8K9K3 | A8KA44 | A8KAH9 | A8KAM2 | A8MWC4 | A8W6Z7 | B0LPE5 |
| B0LPF3 | B0LPG1 | B0QY14 | B0QYE8 | B2R4E7 | B2R4N8 | B2R5T0 | B2R7H4 | B2R854 | B2R9N3 |
| B2R9S5 | B2RA89 | B2RAL9 | B2RB89 | B2RBU5 | B2RC10 | B2RCK0 | B2RCR8 | B2RE27 | B2RPH4 |
| B2RPH5 | B2ZZ85 | B3KS38 | B3KSK7 | B3KTK9 | B3KTT5 | B3KVA5 | B3KXG7 | B3KXS2 | B4DKC5 |
| B4DTV5 | B5B0C0 | B5B2N9 | B5BTZ5 | B5BU11 | B5BU22 | B5BU67 | B5BUA2 | B5M0B4 | 000305 |
| 000555 | 006359 | 014733 | 014807 | 014827 | 014920 | 015111 | 015264 | 015496 | 015520 |
| 043283 | 043318 | 043320 | 043497 | 043597 | 043609 | 043745 | 043930 | 060258 | 060733 |
| 060840 | 075293 | 075369 | 075582 | 075676 | 075886 | 076093 | 094973 | 095147 | 095180 |
| 095257 | 095382 | 095750 | 095782 | 095819 | P00533 | P00540 | P01100 | P01106 | P01111 |
| P01112 | P01116 | P01127 | P01133 | P01137 | P01138 | P01375 | P01583 | P01584 | P04049 |
| P04054 | P04085 | P04629 | P04637 | P04792 | P05129 | P05230 | P05412 | P05771 | P08107 |
| P08571 | P08620 | P09038 | P09496 | P09619 | P0C869 | P10301 | P10600 | P10636 | P10767 |
| P11142 | P11233 | P11234 | P11362 | P11487 | P11831 | P12034 | P12931 | P14555 | P14778 |
| P15056 | P15153 | P15336 | P16234 | P16298 | P16949 | P17066 | P17252 | P17612 | P18848 |
| P19419 | P19438 | P19838 | P20783 | P20936 | P21333 | P21359 | P21781 | P21802 | P22455 |
| P22607 | P22612 | P22681 | P22694 | P22736 | P23560 | P24522 | P25445 | P27361 | P27930 |
| P28324 | P28482 | P28562 | P29353 | P31371 | P31749 | P31751 | P31946 | P32121 | P34130 |
| P34931 | P35236 | P35638 | P35813 | P36507 | P36896 | P37173 | P39877 | P41279 | P42566 |
| P42574 | P45983 | P45985 | P46108 | P46109 | P46734 | P47712 | P48023 | P49137 | P49407 |
| P51452 | P51812 | P51817 | P52564 | P53041 | P53778 | P53779 | P54284 | P54652 | P54829 |
| P60763 | P60953 | P61224 | P61244 | P61328 | P62070 | P62834 | P62955 | P62988 | P62993 |
| P63000 | P63098 | P98077 | Q00610 | Q00653 | Q00975 | Q01201 | Q01668 | Q02641 | Q02750 |
| Q03113 | Q04206 | Q05923 | Q06413 | Q06432 | Q07889 | Q07890 | Q08209 | Q12851 | Q12852 |
| Q12933 | Q12967 | Q13043 | Q13115 | Q13153 | Q13163 | Q13164 | Q13177 | Q13188 | Q13202 |
| Q13233 | Q13387 | Q13698 | Q13936 | Q13972 | Q14155 | Q14315 | Q14934 | Q14964 | Q14DU3 |
| Q15256 | Q15283 | Q15418 | Q15750 | Q15759 | Q16539 | Q16584 | Q16620 | Q16644 | Q16690 |
| Q16828 | Q16829 | Q1HBA8 | Q1HBJ4 | Q4J6C2 | Q53EK9 | Q53QF9 | Q53SD7 | Q53T45 | Q53XV2 |
| Q53Y00 | Q53YD1 | Q53ZZ1 | Q542Y6 | Q587I7 | Q598Q1 | Q59F04 | Q59FL9 | Q59H42 | Q5HY55 |
| Q5R387 | Q5STB3 | Q5STK9 | Q5SY30 | Q5T9P1 | Q5TC07 | Q5TCA8 | Q5U091 | Q5U0J1 | Q5VTR4 |
| Q5VVG9 | Q5VWE5 | Q5VZ87 | Q69YP5 | Q6FG41 | Q6FGP0 | Q6FGV5 | Q6FH12 | Q6FHE7 | Q6FI36 |
| Q6FI46 | Q6IR47 | Q7L7X3 | Q7LBY6 | Q7LDG7 | Q7Z3S7 | Q7Z727 | Q7Z7F1 | Q8IV61 | Q8IVH8 |
| Q8IW41 | Q8IXL1 | Q8IZS8 | Q8NER5 | Q8NF90 | Q8NHX1 | Q8TDF6 | Q8WXS5 | Q92529 | Q92783 |
| Q92913 | Q92914 | Q92915 | Q96AQ3 | Q96B97 | Q96GA9 | Q96LZ3 | Q98077 | Q99558 | Q99653 |
| Q99683 | Q99759 | Q99956 | Q99962 | Q9BQ95 | Q9BSS6 | Q9BX93 | Q9BXT2 | Q9BY84 | Q9BZM1 |
| Q9BZM2 | Q9GZV9 | Q9H2K8 | Q9HBH9 | Q9HCT0 | Q9NP95 | Q9NSA1 | Q9NY47 | Q9NYJ8 | Q9NYL2 |
| Q9NZ20 | Q9NZK7 | Q9P0X4 | Q9UBC2 | Q9UBE8 | Q9UBI6 | Q9UBN1 | Q9UER7 | Q9UHA4 | Q9UK32 |
| Q9UNK4 | Q9UPT6 | Q9UQF2 | Q9Y243 | Q9Y2U5 | Q9Y4G8 | Q9Y4K3 | Q9Y698 | Q9Y6I3 | Q9Y6K9 |
| Q9Y6R4 | Q9Y6W6 |        |        |        |        |        |        |        |        |

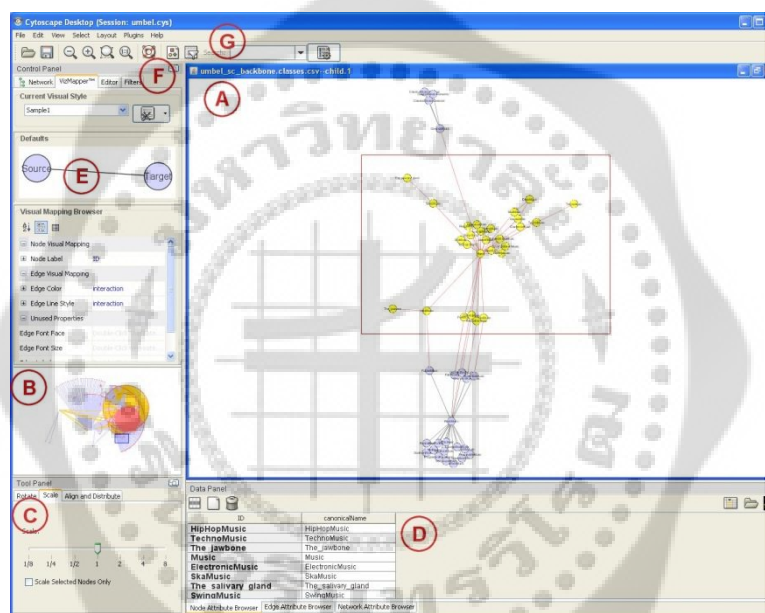
ตาราง 14 รายการหมายเลขรหัสโปรตีนคน (UniProt ID) ของวิถีการส่งสัญญาณของกระบวนการ JAK/STAT ที่ได้จากการรวบรวมจากฐานข้อมูล KEGG และ Reactome

|        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| A0N0L3 | A0N0L5 | A1L3V4 | A2BDE1 | A4D0Q6 | A4D0Y8 | A8K0H8 | A8K1D9 | A8K1Z4 | A8K2G3 |
| A8K306 | A8K3D1 | A8K3F7 | A8K531 | A8K6C2 | A8K6I0 | A8K881 | A8K8A0 | A8K9E8 | A8K9S7 |
| B0LPE5 | B0LPF3 | B0YJ99 | B1A4G6 | B1A4H5 | B1AN98 | B2R765 | B2R882 | B2R9C1 | B2RAB2 |
| B2RCA0 | B2RCG4 | B2RCW7 | B2RPJ8 | B3KNI3 | B3KQ22 | B4DL40 | B5BU88 | 000329 | 000459 |
| 014508 | 014512 | 014543 | 014744 | 014893 | 015524 | 043597 | 043609 | 043610 | 060595 |
| 060674 | 075159 | 075886 | 075925 | 075928 | 095149 | P01106 | P01111 | P01112 | P01116 |
| P01138 | P01236 | P01241 | P01242 | P01243 | P01562 | P01566 | P01567 | P01568 | P01569 |
| P01570 | P01571 | P01574 | P01579 | P01588 | P01589 | P04049 | P04141 | P04629 | P05000 |
| P05013 | P05014 | P05015 | P05112 | P05113 | P05231 | P07202 | P08700 | P08887 | P09919 |
| P10912 | P13232 | P13725 | P14678 | P14784 | P15018 | P15056 | P15248 | P15260 | P15509 |
| P16471 | P16871 | P17181 | P19235 | P20809 | P22301 | P22681 | P23458 | P24385 | P24394 |
| P26441 | P26951 | P26992 | P27361 | P27986 | P28482 | P29350 | P29459 | P29460 | P29597 |
| P30279 | P31749 | P31751 | P31785 | P31946 | P32881 | P32927 | P35225 | P36507 | P38484 |
| P40189 | P40238 | P40763 | P40933 | P41159 | P42224 | P42226 | P42229 | P42336 | P42338 |
| P42701 | P42702 | P46108 | P48357 | P48551 | P48736 | P51692 | P52298 | P52333 | P52630 |
| P54105 | P57678 | P60568 | P62304 | P62306 | P62308 | P62314 | P62316 | P62318 | P62834 |
| P62993 | P78552 | Q00978 | Q01113 | Q01344 | Q02750 | Q06124 | Q07817 | Q07889 | Q07890 |
| Q08334 | Q09161 | Q09472 | Q0GK43 | Q13007 | Q13191 | Q13261 | Q13651 | Q13905 | Q14626 |
| Q14627 | Q14765 | Q16619 | Q16637 | Q45KQ8 | Q4JHT5 | Q4LE28 | Q53SD4 | Q53Y96 | Q5G7M1 |
| Q5H9R6 | Q5JSL4 | Q5JU20 | Q5T7H7 | Q5TE63 | Q5THQ0 | Q5U050 | Q5VTX7 | Q5VV12 | Q5VV13 |
| Q5VV14 | Q5VWC9 | Q5VWK5 | Q5VYQ1 | Q5VYQ3 | Q5VZ79 | Q68D00 | Q6DJX8 | Q6FGW4 | Q6FHD7 |
| Q6FI00 | Q6FI39 | Q6NSJ8 | Q6UXL0 | Q75MH2 | Q7Z699 | Q7Z6C1 | Q86WN2 | Q8IU54 | Q8IU57 |
| Q8IZI9 | Q8IZJ0 | Q8N2W9 | Q8N6P7 | Q8TEQ6 | Q8WU20 | Q8WXD5 | Q8WXH5 | Q8WYR1 | Q92783 |
| Q969D9 | Q969J5 | Q96RS0 | Q99062 | Q99650 | Q99665 | Q9BQA1 | Q9C004 | Q9GZX6 | Q9H814 |
| Q9H840 | Q9HBE4 | Q9HBE5 | Q9NPF7 | Q9NPH9 | Q9NSE2 | Q9NYY1 | Q9P0W0 | Q9UBD9 | Q9UHD0 |
| Q9UHF4 | Q9UHI6 | Q9ULH0 | Q9ULV8 | Q9Y243 | Q9Y6X2 |        |        |        |        |

## ภาคผนวก ข

### 1 แสดงการสร้างเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรม Cytoscape<sup>(34)</sup> v.2.6.2

เป็นโปรแกรมสำหรับสร้างเครือข่ายความสัมพันธ์ (network) ของโปรตีน หรือชีวโมเลกุลอื่นๆ ซึ่งสามารถดาวน์โหลดมาใช้งานได้ฟรีจากอินเทอร์เน็ต การสร้างเครือข่ายความสัมพันธ์ของโปรแกรม Cytoscape ประกอบด้วย 2 ส่วนที่สำคัญ ได้แก่ Nodes คือโมเลกุลทางชีววิทยาที่ต้องการสร้างความสัมพันธ์ เช่น โปรตีน หรือ ยีนส์ ซึ่งจะเชื่อมต่อกัน หรือมีปฏิสัมพันธ์กันผ่าน Edges คือเส้นแสดงการมีปฏิสัมพันธ์ระหว่าง nodes ตัวอย่างเช่น การมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน (protein-protein interaction) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 63



ภาพประกอบ 63 หน้าต่างโปรแกรม Cytoscape

ที่มา <http://www.mkbergman.com/> ข้อมูลเมื่อวันที่ 29/01/09

จากภาพประกอบที่ 63 แสดงหน้าต่างของโปรแกรม Cytoscape เมื่อ (A) คือ Cytoscape Canvas เป็นบริเวณสำหรับแสดงเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของข้อมูล โดยสามารถสร้างข้อมูลความสัมพันธ์หรือดาวน์โหลดข้อมูลจากภายนอกมาใช้ได้ (B) คือ เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ทั้งหมด สามารถขยายเพื่อดูรายละเอียด หรือลดขนาดเพื่อดูภาพรวมของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ (C) คือ Tool Panel สำหรับการแก้ไขขนาดของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ (D) คือ Data Panel ซึ่งจะแสดงรายละเอียดของ node ที่ถูกเลือก (E) คือ VizMapper สำหรับการแก้ไข node และ edge ซึ่งสามารถปรับขนาด รูปร่าง และสีได้ (F) คือ Filters สำหรับเลือกพิจารณาเฉพาะส่วนที่สนใจ และทำให้มีลักษณะแตกต่างจากส่วนอื่นได้ (G) คือ Search สำหรับค้นหา node ที่สนใจที่แสดงอยู่ใน Sytoscape Canvas

## 2 แสดงตัวอย่างข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน

ข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนมีความสำคัญ เนื่องจากเป็นข้อมูลที่น่าสนใจในการสร้างเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ โดยโปรแกรม Cytoscape เวอร์ชัน 2.6.2

โดยลักษณะของข้อมูลประกอบไปด้วย 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่เป็นโปรตีนเริ่มต้น (โปรตีน A) ส่วนที่แสดงลักษณะของปฏิสัมพันธ์ จากภาพ คือ pp (protein-protein interaction) และส่วนที่เป็นโปรตีนเป้าหมาย (โปรตีน B) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 64

| Interaction |    |           |
|-------------|----|-----------|
| Protein A   |    | Protein B |
| A0D6N2      | pp | Q9Y613    |
| A0JLT2      | pp | P25963    |
| A0ZZW3      | pp | P14625    |
| A1A162      | pp | B3KQF8    |
| A1A162      | pp | P04278    |
| A1A2J2      | pp | A7HSM3    |
| A1A2M7      | pp | O75444    |
| A1A344      | pp | P30480    |
| A1A4S6      | pp | O00212    |
| A1XXK0      | pp | P27619    |
| A1YK65      | pp | A1YK86    |
| A1YK86      | pp | Q86G43    |
| A1Z6G4      | pp | O01368    |
| A1Z6I7      | pp | Q96180    |
| A1Z6M0      | pp | P25439    |
| A1Z6P0      | pp | Q9VEX1    |
| A1Z743      | pp | Q24294    |
| A1Z792      | pp | Q9VVB7    |
| A1Z7C1      | pp | A1ZA03    |
| A1Z7C4      | pp | A1Z7M5    |
| A1Z7H3      | pp | Q8IHG2    |
| A1Z7J7      | pp | Q95R66    |
| A1Z7K8      | pp | Q86PE7    |
| A1Z7M5      | pp | Q0E8V6    |
| A1Z7P9      | pp | A1Z9J4    |
| A1Z7Q8      | pp | P56538    |
| A1Z7T1      | pp | O61443    |

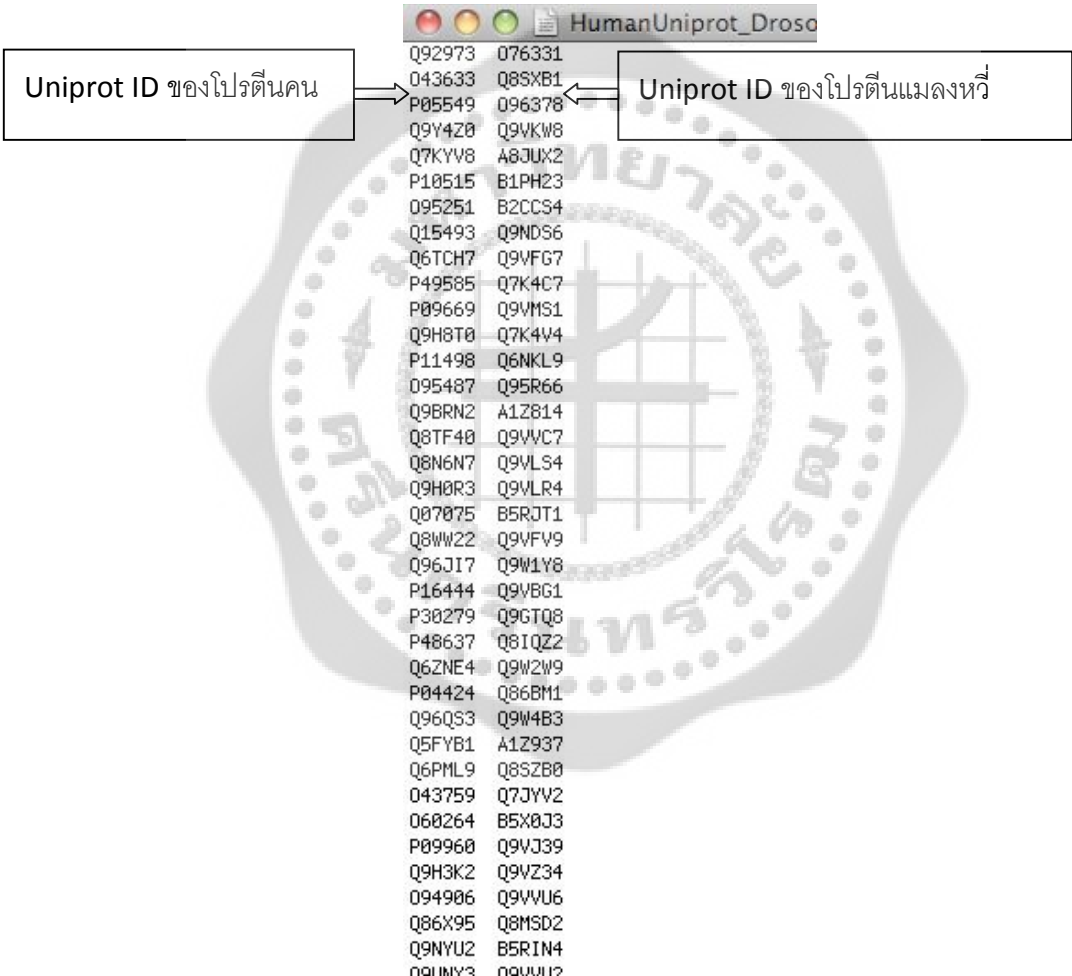
ภาพประกอบ 64 ชุดข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนสำหรับสร้างเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ในโปรแกรม Cytoscape

## ภาคผนวก ค

### การหา Orthologous proteins

#### 1 โปรตีนที่ตรงกันระหว่างสปีชีส์ อ้างอิงจากฐานข้อมูล inparanoid

ฐานข้อมูล inparanoid เป็นฐานข้อมูลที่ได้มีการรวบรวมโปรตีนที่ตรงกันระหว่างสปีชีส์ไว้ โดยในฐานข้อมูลได้ทำการระบุโปรตีนที่ตรงกันระหว่างสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆไว้ เช่น โปรตีนคนกับโปรตีนแมลงหวี่ และโปรตีนคนกับโปรตีนของไส้เดือน เป็นต้น ดังแสดงในภาพประกอบที่ 65 เป็นการแสดงตัวอย่างของโปรตีนคนที่เป็น ortholog กับโปรตีนของแมลงหวี่ โดยกำหนดเป็น Uniprot ID



| Uniprot ID ของโปรตีนคน | Uniprot ID ของโปรตีนแมลงหวี่ |
|------------------------|------------------------------|
| Q92973                 | Q76331                       |
| Q43633                 | Q8SXB1                       |
| P05549                 | Q96378                       |
| Q9Y4Z0                 | Q9VKW8                       |
| Q7KYV8                 | A8JUX2                       |
| P10515                 | B1PH23                       |
| Q95251                 | B2CCS4                       |
| Q15493                 | Q9NDS6                       |
| Q6TCH7                 | Q9VFG7                       |
| P49585                 | Q7K4C7                       |
| P09669                 | Q9VMS1                       |
| Q9H8T0                 | Q7K4V4                       |
| P11498                 | Q6NKL9                       |
| Q95487                 | Q95R66                       |
| Q9BRN2                 | A1Z814                       |
| Q8TF40                 | Q9VVC7                       |
| Q8N6N7                 | Q9VLS4                       |
| Q9H0R3                 | Q9VLR4                       |
| Q07075                 | B5RJT1                       |
| Q8WW22                 | Q9VFN9                       |
| Q96JI7                 | Q9W1Y8                       |
| P16444                 | Q9VBG1                       |
| P30279                 | Q9GTQ8                       |
| P48637                 | Q8IQZ2                       |
| Q6ZNE4                 | Q9W2W9                       |
| P04424                 | Q86BM1                       |
| Q96QS3                 | Q9W4B3                       |
| Q5FYB1                 | A1Z937                       |
| Q6PML9                 | Q8SZB0                       |
| Q43759                 | Q7JYV2                       |
| Q60264                 | B5X0J3                       |
| P09960                 | Q9VJ39                       |
| Q9H3K2                 | Q9VZ34                       |
| Q94906                 | Q9VVU6                       |
| Q86X95                 | Q8MSD2                       |
| Q9NYU2                 | B5RIN4                       |
| Q9IMV3                 | Q9VU12                       |

ภาพประกอบ 65 Uniprot ID ของโปรตีนที่ตรงกันระหว่างโปรตีนคนกับโปรตีนของแมลงหวี่

## 2 การหาปฏิสัมพันธ์ที่ตรงกันระหว่างสปีชีส์

ภายหลังการได้ชุดข้อมูลการมีปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคนแล้ว นำข้อมูลที่ได้มาทำการเปลี่ยนไปเป็นปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนแมลงหวี่ และไส้เดือน ซึ่งโปรตีนที่ตรงกันนั้นอ้างอิงจากฐานข้อมูล inparanoid และปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน ได้จากการใช้ perl script ในการเปลี่ยนปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคน ไปเป็นปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนแมลงหวี่ และไส้เดือน ผลที่ได้จากการรันสคริปต์ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 66

| Spw_DeleteNonHuman_unma |    |        | convert_Hs_to_Dm. |    |        |
|-------------------------|----|--------|-------------------|----|--------|
| 043929                  | pp | P15927 | B7FNJ7            | pp |        |
| A0JLT2                  | pp | P02545 | B7FNJ7            | pp | Q27927 |
| A0JLT2                  | pp | P25963 | Q27393            | pp | Q9VTY6 |
| A0JLT2                  | pp | Q9UKV3 | Q27393            | pp | Q27393 |
| A1A4S6                  | pp | A1A4S6 | Q27393            | pp |        |
| A1A4S6                  | pp | 000212 | Q27393            | pp |        |
| A1A4S6                  | pp | 014827 | Q27393            | pp |        |
| A2RTX5                  | pp | Q9Y478 | Q27393            | pp | 015971 |
| A4D1P6                  | pp | 095376 | Q27393            | pp | Q27927 |
| A4QPA9                  | pp | P28482 | Q27393            | pp | Q7K738 |
| A4QPA9                  | pp | P36507 | Q27393            | pp |        |
| A4QPA9                  | pp | Q1HBJ4 | Q27393            | pp | Q6NR32 |
| A5D8W4                  | pp | Q13309 | Q27393            | pp | Q96679 |
| A6NES4                  | pp | 015479 | Q27393            | pp |        |
| A6NN38                  | pp | P04637 | Q27393            | pp |        |
| A6NN38                  | pp | Q04206 | Q27393            | pp |        |
| A6NN38                  | pp | Q7Z6C1 | Q27393            | pp |        |
| A7E2V4                  | pp | P54253 | Q27393            | pp | Q9VXV3 |
| A7KAX9                  | pp | Q13588 | Q27393            | pp | Q9I7L8 |
| A7MCY6                  | pp | Q14164 | Q27393            | pp | Q8IRQ6 |
| A7MCY6                  | pp | Q9UHD2 | Q27393            | pp | Q8MRX0 |
| A8K0S3                  | pp | P05412 | Q27393            | pp | Q95R47 |
| A8K2G3                  | pp | P62070 | Q27393            | pp | Q95TK2 |
| A8K6K3                  | pp | B2RE27 | Q27393            | pp | Q18402 |
| A8K6K3                  | pp | 043318 | Q27393            | pp |        |
| A8K9K3                  | pp | B2RE27 | Q27393            | pp |        |
| A8K9K3                  | pp | 043318 | Q27393            | pp | Q8T0U6 |
| A9UHW6                  | pp | Q5RKV6 | Q9VUX7            | pp | Q9VYB1 |
| B0LPE5                  | pp | P19838 | Q8IH79            | pp | Q8IH79 |
| B0LPE5                  | pp | Q04206 | Q8IH79            | pp |        |

ภาพประกอบ 66 การเปลี่ยนปฏิสัมพันธ์ของคนไปเป็นปฏิสัมพันธ์ของแมลงหวี่

จากภาพ (ก) เป็นชุดข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนคนใน 5 วิธีการส่งสัญญาณ นำชุดข้อมูลที่ได้นี้มาทำการเปลี่ยนเป็นโปรตีนแมลงหวี่ โดยใช้ perl script จะได้ปฏิสัมพันธ์ดังภาพ (ข) จะพบว่า มีบางโปรตีนของคนสามารถเปลี่ยนไปเป็นโปรตีนของแมลงหวี่ได้ และบางโปรตีนไม่สามารถทำการเปลี่ยนได้ เนื่องจากไม่พบข้อมูลโปรตีนที่ตรงกันระหว่างโปรตีนคนกับโปรตีนของแมลงหวี่ จากฐานข้อมูล inparanoid เวอร์ชัน 7



## ประวัติย่อผู้วิจัย

|                     |                                                                                           |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| ชื่อ-นามสกุล        | นางสาวรัตนาวดี โคตรวงศ์                                                                   |
| วันเดือนปีเกิด      | 14 มกราคม พ.ศ. 2527                                                                       |
| สถานที่เกิด         | 12/7 ถ.สุริยกานต์ ต.โนนเมือง อ.เมือง จ.สุรินทร์<br>32000                                  |
| สถานที่อยู่ปัจจุบัน | 66/1 ม.8 บ้านกาเกาะ ถ.สุรินทร์-ศีขรภูมิ<br>ต.สลักได อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000              |
| ประวัติการศึกษา     |                                                                                           |
| พ.ศ. 2546           | มัธยมศึกษาปีที่ 6<br>จากโรงเรียนสิรินธร<br>อ.เมือง จ.สุรินทร์                             |
| พ.ศ. 2550           | การศึกษาระดับบัณฑิต (กศ.บ.)<br>สาขาวิชา วิทยาศาสตร์-เคมี<br>จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ |
| พ.ศ. 2553           | การศึกษามหาบัณฑิต (กศ.ม.)<br>สาขาวิชา เคมี<br>จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ               |