

การเปรียบเทียบวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และ
กระบวนการเอพอโทสิสระหว่างคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

ปริญญานิพนธ์
ของ
วิรุพห์ ศรีรัตนกมล

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
กุมภาพันธ์ 2551

การเปรียบเทียบวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และ
กระบวนการเอพอโฟโทซิสระหว่างคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

บทคัดย่อ
ของ
วิรุพห์ ศรีรัตนกมล

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
กุมภาพันธ์ 2551

วิรุพห์ ศรีรัตนกมล. (2551). การเปรียบเทียบวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอโฟฟโทลิสระหว่างคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด. ปรินูญานินพนธ์ กศ.ม (เคมี). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ คณะกรรมการควบคุม: รองศาสตราจารย์ ดร. ชารารัตน์ สุภศิริ, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุรชัย สมนยานนท์.

วิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ มีความสำคัญในการส่งสัญญาณเพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการตอบสนองต่อเชื้อโรค และสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิต ในส่วนของกระบวนการเอโฟฟโทลิสเป็นกระบวนการที่มีความสำคัญในกระบวนการก่อเกิดรูปร่างเป็นเนื้อเยื่อ และพัฒนาโครงสร้างในตัวของคนและสัตว์หลายเซลล์

งานวิจัยนี้เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ (89 โปรตีน) และกระบวนการเอโฟฟโทลิสของคน (83 โปรตีน) จากฐานข้อมูลของ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ที่มีการศึกษาหัตถ์จีโนมแล้ว ได้แก่ *Caenorhabditis briggsae*, *Caenorhabditis elegans*, *Anopheles gambiae*, *Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster* และ *Drosophila pseudoobscura* โดยใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ในการเปรียบเทียบ สำหรับผลของ E-value ที่ได้จากการใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ในการเปรียบเทียบ จะตัดค่าที่มากกว่า 10^{-4} ออก และใช้โปรตีนที่มีค่า E-value 3 อันดับสูงสุดของคนที่เปรียบเทียบกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังมาทำ Multiple sequence alignment โดยใช้โปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 และโปรแกรม ClustalQt เวอร์ชัน 1.5a และทำ Phylogenetics analysis โดยใช้โปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 เพื่อยืนยันผลการเปรียบเทียบจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13

ผลการวิจัยพบว่า มีโปรตีนจำนวน 48-51 ชนิด และ 54-61 ชนิด ของคน ที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายกับของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอโฟฟโทลิส ตามลำดับ และพบว่ามีโปรตีนจำนวน 39-41 ชนิด และ 22-29 ชนิด จากวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอโฟฟโทลิส ตามลำดับ ของคน หายไปจากสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ซึ่งสามารถนำข้อมูลที่ได้มาสรุปเป็นแผนภาพแสดงวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ในกระบวนการทั้งสองของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังอีกด้วย

A COMPARISON OF TOLL-MEDIATED AND APOPTOSIS INTRACELLULAR SIGNAL
TRANSDUCTION PATHWAYS BETWEEN HUMAN AND 6 INVERTEBRATES

AN ABSTRACT
BY
WIRUN SRIRATTANAKAMOL

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Education Degree in Chemistry
at Srinakharinwirot University
February 2008

Wirun Srirattanakamol. (2008). *A comparison of Toll-mediated and apoptosis intracellular signal transduction pathways between human and 6 invertebrates*. Master thesis, M.Ed. (Chemistry). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Assoc. Prof. Dr. Thararat Supasiri, Asst. Prof. Dr. Burachai Sonthayanon

Toll-mediated and apoptosis signal transduction pathways are important for human and animals alike. They play roles in morphogenesis and body development as well as signaling for defense responses against infectious pathogens.

We are interested in comparing these signal transduction pathways between human and a group of invertebrates whose genome sequences have already been published. We used BLASTP program (BLAST version 2.2.13) to query 83 human protein sequences from apoptosis and query 89 human protein sequences from Toll pathways with all proteins predicted from the whole genomes of *Caenorhabditis briggsae*, *Caenorhabditis elegans*, *Anopheles gambiae*, *Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster* and *Drosophila pseudoobscura* with the E-value cut off of 10^{-4} . Top 3 ranked proteins by E-values for each human protein from each invertebrate species returned from the program were then used to conduct multiple sequence alignment (MSA) by PROBCONS (version 1.1), ClustalQt (Version 1.5a) and phylogenetics analysis by PHYLIP (version 3.67).

Our result suggested the list of invertebrate proteins, 48-51 and 54-61 proteins, which are encoded by orthologous genes corresponding to Toll and apoptosis pathways of human, respectively. Moreover, 39-41 proteins were missing in invertebrates' Toll pathway and 22-29 were missing from apoptosis pathway when compared to the human based reference schemes. We then created biochemical maps comparing invertebrate versions of the two pathways with the known human pathways. Our consensus map of the two pathways should be useful for further study relevant reactions of other invertebrate species whose genome sequences are not yet available.

การเปรียบเทียบวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และ
กระบวนการเอพอโฟโทสิสระหว่างคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

ปริญญานิพนธ์
ของ
วิรุพห์ ศรีรัตนกมล

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
กุมภาพันธ์ 2551

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง

การเปรียบเทียบวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และ
กระบวนการเอพอโทสิสระหว่างคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

ของ
วิรุพห์ ศรีรัตนกมล

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญสิริ จีระเดชากุล)
วันที่.....เดือน..... พ.ศ. 2551

คณะกรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

.....ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชารัตน์ ศุภศิริ)

.....ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริธร สโมสร)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุรชัย สอนยานนท์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชารัตน์ ศุภศิริ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุรชัย สอนยานนท์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ดวงพร สุทธิพงษ์ชัย)

ประกาศขอบคุณการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาอย่างสูงจาก อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ทั้ง 2 ท่านคือ รองศาสตราจารย์ ดร. ชารัตน์ ศุภศิริ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุรชัย สมนยานนท์ ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา และข้อแก้ไขปัญหาต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในการทำปริญญานิพนธ์จนสำเร็จเป็นที่เรียบร้อย ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริธร สโมสร และรองศาสตราจารย์ ดร. ดวงพร สุทธิพงษ์ชัย ที่สละเวลาเป็นกรรมการสอบ และได้ให้คำแนะนำตลอดจนตรวจแก้ไขปริญญานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ อาจารย์ทุกท่านของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ได้ให้ความรู้ รวมทั้งแนวคิด ตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณ คุณอลิษา วิลันโท ที่สอนวิธีการใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ในการวิจัยแก่ข้าพเจ้า ขอขอบพระคุณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ที่อนุเคราะห์ทุนในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอบคุณเพื่อนร่วมรุ่น พี่ทิพย์วรรณ พี่นันทกานต์ พี่พัชรี ที่เป็นกำลังใจ คอยให้คำปรึกษา และช่วยเหลือกันตลอดมา อีกทั้งเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ภาควิชาเคมีทุกคน สำหรับน้ำใจไมตรี และความปรารถนาดีที่มีให้

ท้ายสุดนี้ ข้าพเจ้าขอโน้มรำลึกถึงพระคุณบิดามารดา ผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ให้ความรัก ความเข้าใจ ความเอาใจใส่ ความอบอุ่น และทุนการศึกษา ตลอดจนเป็นกำลังใจอันยิ่งใหญ่ของข้าพเจ้ามาโดยตลอด

วิรุพห์ ศรีรัตนกมล

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย

จาก

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
บทนำทั่วไป.....	1
เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
ระบบภูมิคุ้มกัน.....	3
กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์.....	4
กระบวนการเอโพพโทสิส.....	8
ชีวสารสนเทศศาสตร์.....	15
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	24
วัตถุประสงค์.....	29
ความสำคัญของการศึกษาวิจัย.....	29
ขอบเขตของการวิจัย.....	29
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	30
2 วัสดุ และวิธีการทดลอง	31
วัสดุ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	31
วิธีการ และขั้นตอนการทดลอง.....	32
รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของ	
กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ กระบวนการเอโพพโทสิส	
ของคน และฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด.....	34
เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนกับฐานข้อมูลโปรตีนสัตว์	
ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด โดยใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13..	38
ยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยวิธีการ Multiple sequence alignment	
โดยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1.....	39
ยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยวิธี Phylogenetic analysis	
ด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67.....	40
เสนอรายชื่อ และจำนวนของโปรตีนที่พบ และไม่พบใน	
สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด.....	41
เสนอแผนภาพแสดงวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของ	
กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโพพโทสิส	
ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด.....	42

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 ผลการทดลอง.....	43
ผลการศึกษาข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนของคน.....	43
ผลการศึกษาข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการ	
ส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุล	
ตัวรับชนิดโกล์ของคน.....	43
ผลการศึกษาลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งผ่าน	
สัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอโทสิสของคน.....	50
ผลการศึกษา และรวบรวมฐานข้อมูลโปรตีนของ	
สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด.....	57
ผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในคน	
กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด	
โดยใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13.....	58
การยืนยันผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ของโปรตีนในคน	
กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ด้วยวิธี	
Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1...	65
การยืนยันผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ของโปรตีนในคน	
กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ด้วย	
วิธี Phylogenetic analysis โดยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67.....	73
4 อภิปรายผลการทดลอง.....	79
บรรณานุกรม.....	97
ภาคผนวก.....	102
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	136

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	แสดงโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และลิแกนด์ที่จำเพาะกับโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์แต่ละชนิด.....	6
2	กลุ่มโปรแกรมย่อยของโปรแกรม BLAST.....	20
3	แสดงความหมายของสัญลักษณ์ที่ปรากฏในแผนภาพแสดง วิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุล ตัวรับชนิดโทลล์ของคน.....	45
4	แสดงโปรตีน 89 ชนิด ซึ่งเกี่ยวข้องกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน.....	46-49
5	แสดงโปรตีน 83 โปรตีนที่เกี่ยวข้องในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ ของกระบวนการเอพิโทสิสของคน.....	53-56
6	ฐานข้อมูลโปรตีนที่ใช้ในการเปรียบเทียบของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด.....	57
7	แสดงตัวอย่างของผลสรุปจากการเปรียบเทียบโปรตีนของคน (TLR1) ในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัว รับชนิดโทลล์ กับโปรตีนของ <i>Drosophila melanogaster</i> จากฐานข้อมูล โดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.1.....	59
8	ตารางแสดงความหมายของค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบโดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13.....	60
9	แสดงรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีลำดับกรดอะมิโน คล้ายคลึงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน ในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุล ตัวรับชนิดโทลล์ของคน.....	61-62
10	แสดงรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีลำดับกรดอะมิโน คล้ายคลึงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของ โปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการ เอพิโทสิสของคน.....	63-64

บัญชีตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
11 แสดงตัวอย่างของผลสรุปจากการเปรียบเทียบโปรตีนของคน (TLR1) ในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ กับโปรตีนของ <i>Drosophila melanogaster</i> คือ CG5528-PA, CG6890-PA และ CG5490-PB โดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 เพื่อพิจารณาความสอดคล้องกันกับ Phylogram จากโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67.....	73
12 แสดงผลการยืนยันการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน ในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด จากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ด้วยวิธี Phylogenetic analysis โดยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67.....	75-76
13 แสดงผลการยืนยันการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนใน วิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพิโทปของคนที่ กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด จากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ด้วยวิธี Phylogenetic analysis โดยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67.....	77-78
14 แสดงจำนวน และรายชื่อโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน ที่ไม่พบใน สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด.....	19-80
15 แสดงจำนวน และรายชื่อโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการเอพิโทปของคนที่ ไม่พบในสัตว์ไม่มี กระดูกสันหลัง 6 ชนิด.....	83-84

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 แสดงโครงสร้างของโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์บนผิวเซลล์.....	5
2 แสดงภาพรวมของการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลตัวรับที่สำคัญในการส่งสัญญาณ หลังจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ถูกกระตุ้นจากลิแกนด์.....	7
3 แสดงการส่งผ่านสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์มายัง Adapter และผลของ การส่งผ่านสัญญาณจาก Adapter.....	8
4 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างรูปร่างของเซลล์โดยกระบวนการ เอโพโทสิส และกระบวนการเนโครซิส.....	10
5 แสดงโครงสร้างของ Domain ของเอนไซม์คาสเพส ระหว่างการเกิดกระบวนการ โปรตีโอไลสิส.....	11
6 แสดงโครงสร้างตัวอย่างของ Death receptor TNF-R1.....	12
7 แสดง Extrinsic apoptosis pathways (Death receptor pathway.....	13
8 แสดง Intrinsic apoptosis pathways.....	14
9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Cell survival และ Cell death.....	14
10 แสดง PHYLIP format ของโปรตีน TLR1 ซึ่งเป็นโปรตีนในวิธีการ ส่งสัญญาณของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และ โปรตีนของ <i>Anopheles gambiae</i> (ANGP25661 ANGP29611 และANGP29576).....	17-19
11 แสดงตัวอย่าง Phylogenetic tree และองค์ประกอบของ Phylogenetic tree.....	22
12 แสดง ตัวอย่างของ Phylogenetic tree แบบ Rooted tree และ Unrooted tree.....	23
13 แสดงขั้นตอนการดำเนินงาน.....	33
14 แสดงขั้นตอนหลักของการสืบค้นข้อมูล โดยใช้เว็บไซต์ http://www.genome.jp	35-36
15 แสดงการใช้โปรแกรม Crimson editor ในการจัดรูปแบบ.....	37
16 แสดงภาพรวมของวิธีการการใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13.....	38
17 แสดงตัวอย่าง FastA format ของโปรตีนของคน (AKT1) และ โปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (ANGP19348, ANGP22036 และANGP8680).....	39-40

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
18 แสดงวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิด โทลล์ของคน จากฐานข้อมูล KEGG.....	44
19 แสดงข้อมูลของลำดับกรดอะมิโน 786 Amino acid ของโปรตีน TLR1 จากฐานข้อมูล KEGG.....	50
20 แสดงวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพิโทซิสของคน จากฐานข้อมูล KEGG.....	51
21 แสดงข้อมูลของลำดับกรดอะมิโน 277 Amino acid ของโปรตีน CASP3 จากฐานข้อมูล KEGG.....	56
22 ผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน TLR1 ในกระบวนการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน กับโปรตีนของ <i>Drosophila melanogaster</i> (CG6890-PA, CG5528-PA และ CG5490-PB) ด้วยวิธี Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS.....	68-70
23 ผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน IL1R1 ในกระบวนการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพิโทซิสของคน กับโปรตีนของ <i>Drosophila melanogaster</i> (CG16857-PA, CG7121-PA และ CG5490-PB) ด้วยวิธี Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1.....	70-72
24 แสดง Phylogram จากโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของโปรตีนของคน (TLR1) ในวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ กับโปรตีนของ <i>Drosophila melanogaster</i> คือ CG5528-PA, CG6890-PA และ CG5490-PB.....	74
25 แสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของทั้ง <i>Caenorhabditis briggsae</i> และ <i>Caenorhabditis Elegans</i>	87
26 วิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพิโทซิสของทั้ง <i>Caenorhabditis briggsae</i> และ <i>Caenorhabditis elegans</i> ...	88

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
27 แสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุล ตัวรับชนิดโทลล์ของทั้ง <i>Anopheles gambiae</i> , <i>Apis mellifera</i> , <i>Drosophila</i> <i>melanogaster</i> และ <i>Drosophila pseudoobscura</i>	90
28 แสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการ เอโอพโทลิสของทั้ง <i>Anopheles gambiae</i> , <i>Apis mellifera</i> , <i>Drosophila melanogaster</i> และ <i>Drosophila pseudoobscura</i>	91
29 แสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดเปรียบเทียบกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายใน เซลล์ของคนโดยโปรตีนที่แสดงด้วยสีแดงเป็นโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด โปรตีนที่แสดงด้วยสีเหลืองเป็นโปรตีนที่ไม่พบ ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด และโปรตีนที่แสดงสีขาวยเป็นโปรตีนของคน ที่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด.....	95
30 แสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอโอพโทลิสของสัตว์ไม่มี กระดูกสันหลัง 6 ชนิดเปรียบเทียบกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ ของคน โดยโปรตีนที่แสดงด้วยสีแดงเป็นโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มี กระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด โปรตีนที่แสดงด้วยสีเหลืองเป็นโปรตีนที่ไม่พบ ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด และโปรตีนที่แสดงสีขาวยเป็นโปรตีนของคน ที่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด.....	96
31 แสดงหน้าเว็บไซต์ดาวน์โหลดโปรแกรม BLAST จาก NCBI ที่เว็บ ftp://ftp.ncbi.nih.gov/blast/executables/release/2.2.17	103
32 แสดงหน้าเว็บไซต์ในการศึกษาข้อมูลของการใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 จาก http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Education/BLASTinfo/ information3.html	104
33 แสดงหน้าจอของเว็บไซต์ http://probcons.stanford.edu/download.html สำหรับ ดาวน์โหลดโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1.....	106
34 แสดงการดาวน์โหลดโปรแกรม PHYLIP 3.67.....	108
35 แสดงโปรแกรมทั้งหมดของ PHYLIP เวอร์ชัน 3.67.....	109

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
36 การนำลำดับกรดอะมิโนเข้ามาในโปรแกรมโดยเปิดไฟล์ resultTLR1_Toll_Dp.txt.....	110
37 แสดงการตั้งค่า output เป็น PHYLIP format.....	111
38 แสดงคำสั่ง Do Complete Alignment.....	112
39 แสดงไฟล์ผลที่ได้จากการทำ Alignment ด้วยโปรแกรม CLUSTALX เวอร์ชัน 3.67b.....	113
40 แสดงการทำงานของโปรแกรมในการจัดเรียงลำดับกรดอะมิโน.....	114
41 แสดงไฟล์ resultTLR1_Toll_Dp.phy เปิดดูโดยโปรแกรม text editor.....	115
42 แสดงไฟล์ resultTLR1_Toll_Dp.dnd เปิดด้วยโปรแกรม TreeView.....	115
43 แสดงการเตรียมไฟล์สำหรับใช้งานในโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67....	116
44 แสดงหน้าต่างที่เกิดจากโปรแกรม seqboot.exe.....	117
45 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าจำนวนชุดข้อมูล replication.....	118
46 แสดงการกำหนดค่า Random number seed ในโปรแกรม seqboot.exe.....	118
47 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า Categories model ของโปรแกรม Protdist.exe.....	119
48 แสดงหน้าจอของโปรแกรม neighbor.exe.....	119
49 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าในโปรแกรม neighbor.exe.....	120
50 แสดงข้อมูลในลักษณะรายละเอียดข้อมูลความสัมพันธ์ของโปรตีนโดยการเปิด outfile ที่ได้จากการใช้ neighbor.exe.....	121
51 แสดง Phylogenetic tree ที่เปิดโดยโปรแกรม TreeView จากโปรแกรม neighbor.exe.....	122
52 แสดงแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของ <i>Caenorhabditis briggsae</i> ...	123
53 แสดงแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของ <i>Caenorhabditis elegans</i> ...	124
54 แสดงแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของ <i>Anopheles gambiae</i> ...	125
55 แสดงแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของ <i>Apis mellifera</i>	126

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
56 แสดงแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของ <i>Drosophila melanogaster</i> ...	127
57 แสดงแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของ <i>Drosophila pseudoobscura</i> ..	128
58 แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการเอ็พโพโทสิสของ <i>Caenorhabditis briggsae</i>	129
59 แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการเอ็พโพโทสิสของ <i>Caenorhabditis elegans</i>	130
60 แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการเอ็พโพโทสิสของ <i>Anopheles gambiae</i>	131
61 แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการเอ็พโพโทสิสของ <i>Apis mellifera</i>	132
62 แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการเอ็พโพโทสิสของ <i>Drosophila melanogaster</i>	133
63 แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ กระบวนการเอ็พโพโทสิสของ <i>Drosophila pseudoobscura</i>	134
64 แสดงแผนภาพแสดงสัญลักษณ์ และความหมายที่ปรากฏภายใน แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของทั้งสองกระบวนการ.....	135

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำทั่วไป

สัตว์ชั้นสูงหลายเซลล์ (Metazoans) มีระบบภูมิคุ้มกันทำหน้าที่กำจัดสิ่งแปลกปลอม ที่เข้าสู่ภายในร่างกาย เช่น เชื้อรา ปาราสิต แบคทีเรีย ไวรัส และสารพิษบางชนิด เป็นต้น สัตว์ชนิดที่มีช่วงชีวิตยาวนานหลายปีระบบภูมิคุ้มกันมีส่วนช่วยในการอยู่รอดของสัตว์จากการติดเชื้อ ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเช่นคน ระบบภูมิคุ้มกันประกอบด้วยการทำงานร่วมกันของ 3 ส่วนใหญ่ๆ คือ ระบบสร้างแอนติบอดีจากเซลล์ที่มาจากเม็ดเลือดขาวชนิดบี-เซลล์ (B-cell) และระบบป้องกันด้วยเซลล์โดยเม็ดเลือดขาวชนิดที-เซลล์ (T-cell) รวมถึงส่วนที่เป็นโปรตีนต่างๆ ทั้งที่อยู่บนผิวเซลล์และลอยอยู่นอกเซลล์ ซึ่งมีหน้าที่ช่วยจับสิ่งแปลกปลอม และบอกความแตกต่างของแต่ละเซลล์ การทำงานร่วมกันดังกล่าวจึงทำให้ร่างกายสามารถกำจัดเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมได้มากมายหลายชนิดอย่างจำเพาะเจาะจง (Specific) ^(1,2)

ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Invertebrates) ที่มีวิวัฒนาการมากกว่า 500 ล้านปี และเกิดขึ้นมาก่อนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เชื่อว่าไม่มีระบบภูมิคุ้มกันที่ซับซ้อน หรือจำเพาะเหมือนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เพราะหลายๆชนิดช่วงชีวิตไม่ยาวมาก และสามารถสืบพันธุ์ได้ ระบบป้องกันหลักจึงไม่มีระบบแอนติบอดีอย่างในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่กลไกการตอบสนองภายในเซลล์ของระบบป้องกันในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมน่าจะไม่แตกต่างกันมาก ⁽³⁾

วิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ (Toll-mediated intracellular signal transduction pathway) มีโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ (Toll-mediated receptor หรือ Toll-like receptor) เป็นองค์ประกอบสำคัญต่อการตรวจจับโมเลกุลบนเชื้อโรค (pathogen) ซึ่งองค์ประกอบดังกล่าวจะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการตอบสนองต่อต้านเชื้อโรค โมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ถือเป็นด่านแรกของการป้องกันเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน โมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ทำให้เซลล์ภูมิคุ้มกันเหล่านี้จำแนกได้ว่าสิ่งใดเป็นเชื้อโรค และสิ่งใดเป็นตัวของมันเอง ⁽⁴⁾

จากการศึกษาในคน พบว่าโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ มีความสามารถในการจดจำที่จำเพาะกับส่วนประกอบของเชื้อโรค (Microbial component) หนึ่งๆ โดยตัวมันเองจะทำหน้าที่เป็น Pattern-Recognition Receptors (PRRs) คอยจดจำโครงสร้างของเชื้อโรค ที่เรียกว่า Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญสำหรับการอยู่รอดของเชื้อโรค และไม่มีการเปลี่ยนแปลง ตัวอย่างของ PAMPs เช่น Lipopolysaccharides (LPS), flagellin, unmethylated CpG dinucleotide และ dsDNA ^(5,6) เมื่อเกิดการสัมผัสกันระหว่าง PAMPs บนเชื้อโรคกับโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ที่ทำหน้าที่เป็น PRRs บนผิวเซลล์ ทำให้เกิดกระบวนการส่งผ่าน

สัญญาณภายในเซลล์ (signal transduction) เป็นทอดๆ ไปยังตัวรับอื่นๆ ภายในเซลล์ เช่น NFkB, JNK/p38, NF/IL6 และ IRF ฯลฯ เพื่อกระตุ้นการทำงานให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ เช่น การเกิด Pro-inflammatory cytokines, T cell stimulation, antimicrobial response, apoptosis pathway, antiviral effects ฯลฯ ดังนั้นการส่งผ่านสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์จึงเป็นการกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย⁽⁷⁾

กระบวนการเอโพโทสิส (Apoptosis หรือ programmed cell death) เป็นอีกหนึ่งขั้นตอนสำคัญในระบบภูมิคุ้มกัน และมีหน้าที่ในการกลายของเซลล์ (Differentiation) หรือการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Proliferation) กระบวนการเอโพโทสิสควบคุมการจัดเซลล์ที่ไม่เป็นประโยชน์ และเซลล์ที่เป็นอันตรายในเนื้อเยื่อที่เจริญเต็มที่ กระบวนการเอโพโทสิสมีลักษณะที่สำคัญ 2 ลักษณะ คือ ลักษณะทางด้านโครงสร้างรูปร่าง (Morphological characteristics) และลักษณะทางชีวเคมี (Biological characteristics)⁽⁸⁾

ลักษณะทางด้านโครงสร้างรูปร่างของเซลล์ในกระบวนการเอโพโทสิส คือ มีการหดตัวของเซลล์ทั้งนิวเคลียส และไซโตซอล การสูญเสียลักษณะของไมโครวิลไล และเกิดการแตกตัวออกเป็น Apoptotic bodies หรือ Fragmented bodies จากนั้นจะถูกกินโดย Macrophages จึงไม่เกิดการอักเสบกับเซลล์ข้างเคียง ลักษณะดังกล่าวทำให้กระบวนการเอโพโทสิส แตกต่างจากกระบวนการ Necrosis สำหรับลักษณะสำคัญทางด้านชีวเคมีของกระบวนการเอโพโทสิสจำเป็นต้องอาศัยการทำงานของยีนส์หลายยีนส์⁽⁹⁾

จากความสำคัญของวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโพโทสิส จึงเป็นที่มาของความสนใจในงานวิจัยนี้ว่าในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีวิวัฒนาการมากกว่า 500 ล้านปีซึ่งเมื่อเทียบกับวิวัฒนาการของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีวิวัฒนาการประมาณ 10-20 ล้านปี ในเรื่องวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโพโทสิส ของทั้งสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีความเหมือนและแตกต่างกันอย่างไร

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนจำนวน 172 ชนิดของคน จากฐานข้อมูลของ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG: www.genome.jp) ในวิถีทางชีวเคมีของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ (89 โปรตีน) และกระบวนการเอโพโทสิส (83 โปรตีน) กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ที่มีการศึกษาหาลำดับแล้ว ได้แก่ *Caenorhabditis elegans*, *Caenorhabditis briggsae*, *Drosophila melanogaster*, *Drosophila pseudoobscura*, *Anopheles gambiae* และ *Apis mellifera* โดยใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ในการเปรียบเทียบ สำหรับผลของ E value ที่ได้จากการใช้โปรแกรม BLASTP ในการเปรียบเทียบ จะตัดค่าที่มากกว่า 10^{-4} ออก และใช้โปรตีนที่มีค่า E value 3 อันดับสูงสุดของคนที่เปรียบเทียบกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังมาทำ Multiple sequence alignment โดยใช้โปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 และทำ Phylogenetic analysis ด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 เพื่อเป็นการยืนยันผลการเปรียบเทียบจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13

1.2 เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 ระบบภูมิคุ้มกัน

1.2.1.1 ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่ ระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาตั้งแต่กำเนิด (Innate immunity) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่มีการทำงานแบบไม่จำเพาะ ป้องกัน และกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกจากร่างกายด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ ⁽¹⁰⁾

1.2.1.1.1 ผิวหนัง เยื่อเมือกต่างๆ ที่บุผิวหน้าของทางเดินอาหาร Cilia ตามทางเดินหายใจ นอกจากนี้ยังรวมถึงเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร ภาวะเป็นกรดในกระเพาะอาหาร เป็นต้น

1.2.1.1.2 Phagocytosis เป็นกระบวนการกิน และทำลายเซลล์เชื้อโรคต่างๆ โดยเซลล์ Phagocytes

1.2.1.1.3 Natural killer cell (NK cell) เป็นเซลล์ที่มีบทบาทในการทำลายเซลล์มะเร็งต่างๆ

1.2.1.1.4 ระบบ Complement เป็นกลุ่มของโปรตีนในซีรัม ทำหน้าที่ร่วมในการทำลายเชื้อโรคต่างๆ

ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอีกชนิดหนึ่ง คือ ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Acquired immunity) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่ถูกกระตุ้นให้เกิดขึ้นโดยแอนติเจน มีการทำงานแบบจำเพาะ (Specific) คือจะทำงานต่อต้านและทำลายเชื้อโรคหรือแอนติเจนที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดขึ้นเท่านั้น ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ ⁽¹¹⁾

- Humoral mediated immunity (HMI) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่ทำงานโดยอาศัยแอนติบอดี ซึ่งถูกกระตุ้นให้เกิดขึ้นโดยแอนติเจน

- Cell-mediated immunity (CMI) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่ทำงานโดยอาศัยเซลล์หลายชนิดมาทำงานร่วมกัน CMI เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่มีบทบาทสำคัญมากในการต่อต้านเชื้อโรคจำพวก Intracellular microorganism และมะเร็ง

1.2.1.2 ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

สิ่งมีชีวิตไม่มีกระดูกสันหลัง (Invertebrates) มีระบบภูมิคุ้มกันหนึ่งที่สำคัญต่อการป้องกันความเสียหายและการติดเชื้อลำดับแรกโดยเฉพาะพวก Arthropod คือ โครงสร้างภายนอก (Exoskeleton) ซึ่งเป็นระบบภูมิคุ้มกันทางกายภาพ (Physical barriers) ด้านแรก แต่ก็ยังมีโอกาสที่จะติดเชื้อค่อนข้างง่ายในช่วงระหว่างการลอกคราบก่อนผิวชั้นนอก (Cuticle) ใหม่จะแข็ง จึงมีการเสริมการป้องกันทางเคมี (Chemical barriers) โดยการสร้างสารที่มีคุณสมบัติต่อต้านเชื้อโรค เช่น ในแมงดาทะเลจะมีการหลั่งสารไกลโคโปรตีนผ่านช่องในกระดองเพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อ ภูมิคุ้มกันของสัตว์ที่มีร่างกายอ่อนนุ่มในกลุ่ม Coelenterates, annelids, molluscus และ

protochordates จะใช้เมือก (Mucus) ห่อหุ้มร่างกาย ซึ่งระบบดังกล่าวถือเป็นด่านแรกของการป้องกันของสัตว์ในกลุ่มนี้ ที่จะดักจับอนุภาค แบคทีเรีย และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กอื่นๆไว้ นอกจากนี้ระบบที่ได้อีกด้วย ยังมีสารที่โมเลกุลสามารถละลายน้ำ เช่น เลคติน (Lectins) ไลซิน (Lysins) Protease inhibitor และ สารพวก Antimicrobial จะถูกหลั่งออกมาที่เมือก เพื่อทำหน้าที่ฆ่าหรือดักจับสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก⁽¹²⁾

ระบบภูมิคุ้มกันในแมลงที่สำคัญประกอบด้วย ระบบภูมิคุ้มกันชนิดผ่านสารน้ำ (Humoral immune response) และภูมิคุ้มกันชนิดผ่านเซลล์ (Cellular immune response) ระบบภูมิคุ้มกันชนิดผ่านสารน้ำโดยฮีโมไซต์ (Haemocyte) และ fat body จะสร้างเปปไทด์ที่สามารถยับยั้งเชื้อโรคได้แก่ ดีเฟนซิน (Defensin), ซีโครพิน (Cecropin), ทรานสเฟอริน (Transferrin) เป็นต้น และปล่อยเข้ามาอยู่ในระบบหมุนเวียนเลือดของแมลงซึ่งเป็นระบบเปิด ซึ่งประกอบด้วยเลือดที่เรียกว่า ฮีโมลิมฟ์ (Haemolymph) สำหรับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดผ่านเซลล์มีฮีโมไซต์ (Haemocyte) ทำหน้าที่ในการกลืนกินของเซลล์ และเกี่ยวข้องกับการเกิดกระบวนการสร้างสารเมลานิน (Melanin) มาหุ้มสิ่งแปลกปลอมที่เรียกว่า Melanotic encapsulation⁽¹³⁾

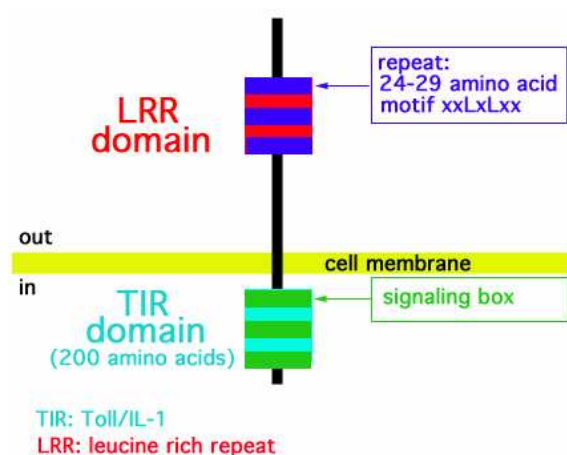
ตัวอย่างการศึกษากระบวนการภูมิคุ้มกันในแมลง เช่น การศึกษาฮีโมไซต์ในแมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) พบว่ามีเซลล์ที่เกี่ยวข้อง 4 ชนิด ได้แก่ เซลล์หลั่ง (Secretory cell) พลาสมาโตไซต์ (Plasmotocyte) ลาเมลโลไซต์ (Lamellocyte) และคริสตัลเซลล์ (Crystal cells) โดยเซลล์หลั่งมีหน้าที่สร้างเปปไทด์ที่สามารถยับยั้งเชื้อโรค พลาสมาโตไซต์ทำหน้าที่จับกินสิ่งแปลกปลอม ลาเมลโลไซต์เกี่ยวข้องกับการที่เซลล์จะเข้าไปหุ้มสิ่งแปลกปลอม ขณะที่คริสตัลเซลล์เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเมลานินมาหุ้มห่อสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดใหญ่ซึ่งไม่สามารถถูกจับกินได้⁽¹⁴⁾

1.2.2 กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์

วิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ได้เริ่มศึกษาในแมลงหวี่ (*Drosophila*) โดยวิธีดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการแบ่งแยกกันของส่วนหลัง (Dorsal) กับช่องท้อง (Ventral) หรือปรากฏการณ์ Dorsoventral polarity ของแมลงหวี่ในระยะของการเจริญเติบโตเป็นเอ็มบริโอ (Embryo) และพบว่าวิธีดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบที่มีมาตั้งแต่กำเนิดต่อการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ในแมลงหวี่อีกด้วย⁽¹⁵⁾

ได้มีการศึกษาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยเฉพาะคนพบว่า วิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ โมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ (Toll-mediated receptor family) สามารถแบ่งได้เป็น 10 ชนิด และเป็นสมาชิกของตัวรับ Interleukin-1 receptors หรือ IL-1Rs ซึ่งมีความสำคัญใน Cytoplasm โดยโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์จะมีกรดอะมิโนประมาณ 200 เรซิดิวส์เหมือน IL-1R⁽¹⁶⁾

โครงสร้างของโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ประกอบด้วย LRR domain (Leucine-rich repeat domain) อยู่ภายนอกเซลล์ และ TIR domain (Toll/IL-1R domain) อยู่ในเซลล์ ซึ่ง TIR domain ประกอบด้วย ชุดของกรดอะมิโน 3 ชุดที่มีความสำคัญต่อการส่งสัญญาณ สำหรับ LRR domain เป็นบริเวณที่เกิดจากการแบ่งจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ ประกอบด้วยจำนวนกรดอะมิโนที่ซ้ำ โดยแต่ละความยาวจะซ้ำ 24-29 เรซิดิวส์ ซึ่งมีรูปแบบเป็น xxLxLxx และโครงสร้างของสายพอลิเพปไทด์ใน LRR นั้นประกอบด้วยแผ่น β และเกลียว α เชื่อมต่อกันเป็นวงคล้ายรูปเกือกม้า สำหรับหน้าที่ของ LRR เกี่ยวข้องกับการจดจำเชื้อโรคต่างๆ โครงสร้างของโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์บนผิวเซลล์แสดงดังภาพประกอบ 1 ^(16,17)



ภาพประกอบ 1 แสดงโครงสร้างของโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์บนผิวเซลล์ ⁽¹⁶⁾

โมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์มีลิแกนด์ (Ligand) ที่จำเพาะเจาะจง หรือมีความสามารถในการจดจำที่จำเพาะกับเชื้อโรคแต่ละชนิด เช่น Toll-like receptor 4 (TLR4) มีความจำเพาะต่อ Lipopolysaccharides แต่ในทางตรงข้าม Toll-like receptor 3 (TLR3) ไม่มีความจำเพาะต่อ Lipopolysaccharides แต่ Toll-like receptor 3 มีความจำเพาะต่อ dsRNA สำหรับโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และลิแกนด์ที่จำเพาะกับโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์แต่ละชนิดแสดงดังตาราง 1 ^(5,6)

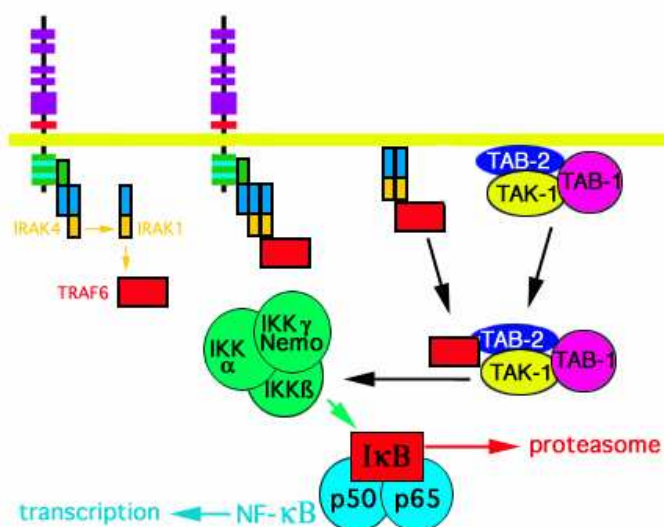
ตาราง 1 แสดงโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และลิแกนด์ที่จำเพาะกับโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์แต่ละชนิด ^(5,6)

โมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	ลิแกนด์ที่จำเพาะ
TLR2+TLR1	Diacyl lipopeptides
TLR2+TLR6	Triacyl lipopeptides
TLR3	dsRNA
TLR4	LPS
TLR5	Flagellin
TLR7	Imidazoquinoline
TLR9	CpG DNA

การส่งสัญญาณของโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์เมื่อได้รับการกระตุ้นจากโมเลกุลที่จำเพาะจากภายนอกเซลล์แล้ว โมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์จะส่งสัญญาณผ่านตัวรับภายในเซลล์ และส่งสัญญาณต่อไปยังตัวรับต่างๆ โดยตัวรับที่สำคัญ ได้แก่ Adaptor molecule MyD88 (MyD88), IL-1RI-associated protein kinase (IRAK1), transforming growth factor (TGF)- β -activated kinase (TAK1), TAK1-binding protein 1 (TAB1), TAK1-binding protein 2 (TAB2) และ tumor necrosis factor receptor associated factor 6 (TRAF6) เป็นต้น ⁽¹⁸⁾

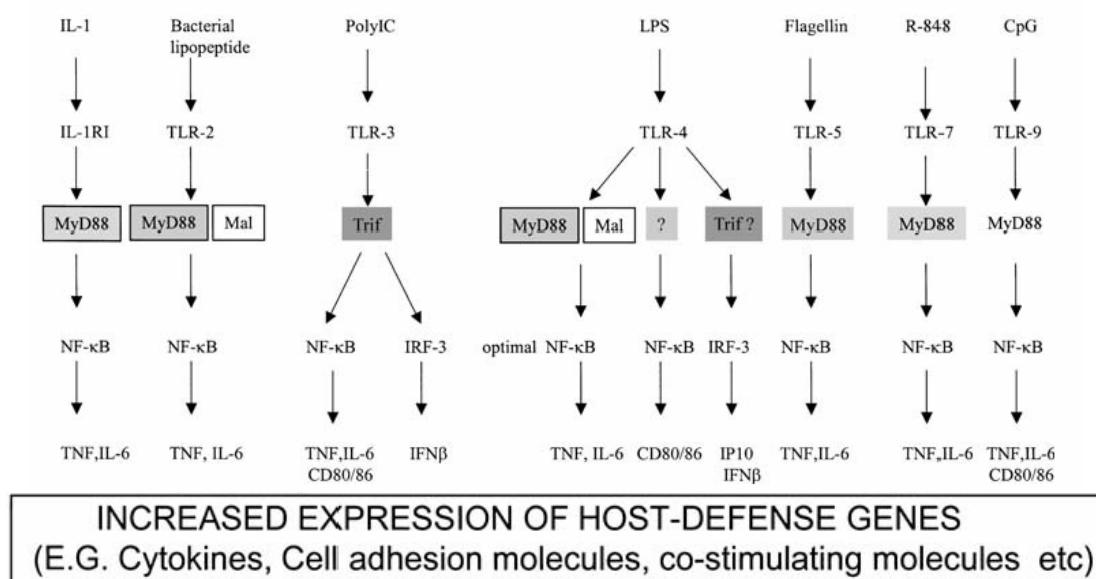
เมื่อโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ถูกกระตุ้นจะทำให้เกิดการส่งสัญญาณให้ MyD88 เกิดเป็นตัวรับเชิงซ้อน (Receptor complex) จากนั้นจะเกิดการรวมตัวกับ IL-1RI-associated protein kinase IRAK4 และ IRAK1 ระหว่างเกิดการรวมตัวจะเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของสารเชิงซ้อนนี้ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างดังกล่าวจะทำให้ IRAK4 มีความว่องไว และกระตุ้นให้เกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตอย่างมาก (Hyperphosphorylation) ใน IRAK1 การเติมหมู่ฟอสเฟตดังกล่าวจะทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารเชิงซ้อนกับ TRAF6 กลายเป็นสารเชิงซ้อน IRAK4-IRAK1-TRAF6 ซึ่งการรวมตัวกันดังกล่าวระหว่าง MyD88, IRAK4, IRAK1 และ TRAF6 หลังจากการกระตุ้นผ่านโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ทำให้เกิดการปลดปล่อย IRAK4-IRAK1-TRAF6 ออกจากตัวรับเชิงซ้อน MyD88 หลังจากนั้นสารเชิงซ้อน IRAK4-IRAK1-TRAF6 จะเกิดปฏิกิริยาที่เยื่อหุ้มเซลล์กับสารเชิงซ้อนอื่นที่ประกอบด้วย TAK1, TAB1 และ TAB2 ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวกับสารเชิงซ้อน (TAK1-TAB1-TAB2) ที่ผิวเซลล์จะชักนำให้เกิดปฏิกิริยาการเติมหมู่ฟอสเฟตที่ TAB2 และ TAK1 หลังจากนั้นจะเกิดการโยกย้ายของ TRAF6 และ TAB1 จากเยื่อหุ้มเซลล์มายังไซโตพลาสซึม จากนั้น TRAF6 จะจับกับ TAB2 ระหว่างนั้น TAK1 จากสารเชิงซ้อน (TRAF2-TAB2-TAK1-TAB1) จะถูกกระตุ้นในไซโตพลาสซึมและทำให้เกิดการกระตุ้น IKKs ที่ไม่ว่องไว ในไซโตพลาสซึมให้ว่องไว และทำให้เกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตใน IKB กับการทำลาย IKB ผลจากกระบวนการดังกล่าวเป็นผลทำให้เกิดการปล่อย

NF- κ B ซึ่งควบคุมการ transcription ของยีนส์ที่จำเพาะต่อเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆที่มีส่วนร่วมกับการอักเสบ และการกระตุ้นของ TAK1 ยังส่งผลให้เกิดการกระตุ้น Mitogen activated protein kinase (MAP kinase) และ c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK) ได้อีกด้วย^(19,20) ภาพรวมของการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลตัวรับที่สำคัญในการส่งสัญญาณหลังจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ถูกกระตุ้นจากลิแกนด์ แสดงดังภาพประกอบ 2



ภาพประกอบ 2 แสดงภาพรวมของการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลตัวรับที่สำคัญในการส่งสัญญาณ หลังจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ถูกกระตุ้นจากลิแกนด์⁽¹⁸⁾

ดังนั้นสามารถสรุปเส้นทางของการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ไปยังโมเลกุลตัวรับต่างๆได้ดังภาพประกอบ 3



ภาพประกอบ 3 แสดงการส่งผ่านสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์มายัง Adapter และผลของการส่งผ่านสัญญาณจาก Adapter⁽²¹⁾

การกระตุ้นจากโมเลกุลลิแกนดภายนอกเซลล์ (Diacyl lipopeptides, triacyl lipopeptides, dsRNA, LPS, flagellin, imidazoquinoline และ CpG DNA ฯลฯ) กับโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ที่ผิวเซลล์ จะทำให้เกิดการส่งสัญญาณไปยังโมเลกุลตัวรับหลายตัวเป็นทอดๆในลักษณะของวิธีการส่งสัญญาณต่อไป ซึ่งผลของการส่งสัญญาณนั้นสามารถทำให้เกิดผลต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เช่น Proinflammatory effects, chemotactic effects, การกระตุ้น T-cell เป็นต้น⁽⁷⁾

1.2.3 กระบวนการเอโพโทสิส

กระบวนการเอโพโทสิสหรือโปรแกรมการตายของเซลล์ เป็นปรากฏการณ์การตายของเซลล์ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติในขณะที่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตมีการพัฒนาการจากตัวอ่อนเป็นตัวเต็มวัย เช่น การพัฒนาของลูกอ๊อดไปเป็นกบ จะเกิดกระบวนการเอโพโทสิสขึ้นกับพังพืดระหว่างนิ้ว หรือการก่อรูปแบบของนิ้วมือ และนิ้วเท้าของทารกในครรภ์ เป็นต้น⁽⁸⁾

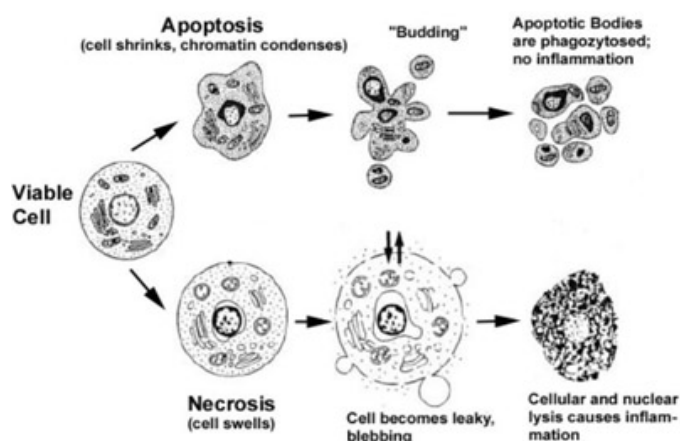
คำจำกัดความของกระบวนการเอโพโทสิสเริ่มมีมาตั้งแต่สมัยกรีกโดยหมายถึง การลดลงหรือน้อยลง (Falling off หรือ Dropping) และในปี 1964 ได้มีการเสนอเกี่ยวกับการตายของเซลล์ว่าเกิดขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโต มีลำดับของการเกิด และเกิดขึ้นโดยบังเอิญตามธรรมชาติ หลังจากนั้น ในปี 1972 ได้มีการตีพิมพ์เอกสารเกี่ยวกับกระบวนการเอโพโทสิส โดย Kerr, Wyllie และ Currie โดยอธิบายเกี่ยวกับลักษณะกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างรูปร่างที่เกิดจากการที่เซลล์ทำลายตัวเอง และในปี 1974 Brenner ได้ศึกษาอย่างจริงจังในไส้เดือนตัวกลม

Caenorhabditis elegans ซึ่งการศึกษาดังกล่าวได้รับการขนานนามว่าเป็น ต้นแบบของการศึกษาเรื่องกระบวนการเอโพโทสิส (Model of apoptosis process) เป็นต้น^(22,23)

สำหรับในคน กระบวนการเอโพโทสิสเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์ และการเพิ่มจำนวนเซลล์ของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ โดยที่ปรากฏการณ์ดังกล่าวจะทำให้เซลล์ที่ไม่จำเป็น และเซลล์ที่เป็นอันตราย กระบวนการเอโพโทสิสที่ผิดปกติจะสามารถทำให้เกิดโรคหลายชนิด เช่น การเกิดกระบวนการเอโพโทสิสที่มากเกินไปทำให้เกิด Neurodegenerative disorder, AIDS, Ischaemic ฯลฯ⁽²⁴⁾

สาเหตุที่เซลล์ตายมาจาก 2 สาเหตุสำคัญ คือ กระบวนการเอโพโทสิส และกระบวนการเนโครสิส (Necrosis) โดยกระบวนการเอโพโทสิสมีลักษณะที่เฉพาะ 2 ลักษณะ คือ ลักษณะทางโครงสร้างรูปร่าง และ ลักษณะทางชีวเคมี สำหรับลักษณะเฉพาะทางโครงสร้างรูปร่างของปรากฏการณ์เอโพโทสิส ได้แก่ นิวเคลียสบางส่วนหลุดไปเป็น Micronuclei (Chromatin condensation) ดีเอ็นเอแตกหักเป็นท่อนๆ ขนาด 180-200 bp (DNA fragmentation) ขนาดของเซลล์หดเล็กลง เยื่อหุ้มเซลล์ผิดปกติ และปริแตกเป็นชิ้นๆ เกิด Apoptotic bodies และ Apoptotic bodies ถูกจับกินโดย Macrophage เป็นต้น ในส่วนของลักษณะเฉพาะทางชีวเคมีของกระบวนการเอโพโทสิส จะเกิดการทำลาย Chromatin โดยการกระตุ้นของ Proteolysis enzyme ซึ่งจะทำให้ขนาดจากเริ่มต้นที่ 50-300 Kb เหลือขนาดเพียง 200 bp เป็น Monomers และ polymers⁽²⁵⁾

เมื่อเปรียบเทียบสาเหตุการตายที่สำคัญทั้งสองของเซลล์ คือ กระบวนการเอโพโทสิส และกระบวนการเนโครสิส พบว่าทั้งสองมีลักษณะที่แตกต่างกันในหลายส่วน โดยที่ปรากฏการณ์เนโครสิสเกิดจากการที่เซลล์ถูกกระทบกระเทือนแล้วทำให้เซลล์เกิดบาดเจ็บ ซึ่งสาเหตุดังกล่าวทำให้เซลล์โป่ง พอง สลาย และปล่อยองค์ประกอบต่างๆในไซโตพลาซึมออกสู่เซลล์ข้างเคียง กระบวนการดังกล่าวจะทำให้เซลล์ที่อยู่รอบข้างเซลล์ที่เกิดกระบวนการเนโครสิส เกิดความเสียหาย และนำไปสู่การอักเสบของเนื้อเยื่อได้⁽²⁶⁾ สรุปลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างรูปร่างของเซลล์โดยกระบวนการเอโพโทสิส และกระบวนการเนโครสิส แสดงดังภาพประกอบ 4



ภาพประกอบ 4 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างรูปร่างของเซลล์โดยกระบวนการ
เอพอโทสิส และกระบวนการเนโครสิส ⁽²⁵⁾

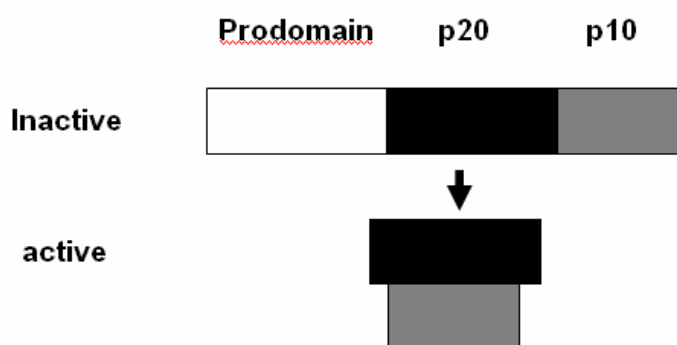
การกระตุ้นให้เกิดกระบวนการเอพอโทสิสสามารถกระตุ้นได้จากทั้งภายนอกเซลล์ เช่น การกระตุ้นจากลิแกนด์ของตัวรับที่ผิวของเซลล์ การฉายรังสี หรือสารเคมีที่มีพิษต่อเซลล์ และภายในเซลล์ เช่น การส่งสัญญาณให้เซลล์ตาย (Death signal) หรือความเสียหายของ DNA เป็นต้น ⁽²⁶⁾

กระบวนการเอพอโทสิสของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนหลายตัว (Proteolytic enzyme) ที่เกี่ยวข้อง เอนไซม์เหล่านี้เรียกว่า คาสเพส (Caspases หรือ Cysteine-dependent aspartate-specific protease) ซึ่งมี Cysteine อยู่ในตำแหน่ง Active site และเข้าไปย่อยแยกโปรตีนเป้าหมายตรงตำแหน่งเฉพาะคือ ตำแหน่งที่มีกรดอะมิโนเอสพาร์เตท

เอนไซม์คาสเพส ปกติจะอยู่ในรูปไม่ทำงาน (Inactive) ในไซโทพลาซึม ซึ่งไม่พร้อมจะทำหน้าที่ แต่จะเปลี่ยนเป็น Active form เมื่อจับตัวรวมกันเป็น Heterodimer ซึ่งรูปแบบดังกล่าวสามารถถูกเอนไซม์คาสเพสตัวอื่น ตัวมันเอง หรืออาจเป็นเอนไซม์ชนิดอื่น กระตุ้นให้พร้อมทำหน้าที่ได้ต่อไป

สำหรับโครงสร้างของคาสเพสจะประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ Prodomain, large subunit และ small subunit เมื่อ Procaspases ถูกกระตุ้นจะทำให้บริเวณของ large subunit และ small subunit ถูกปลดปล่อยจากโปรเอนไซม์ โดยการแตกส่วนของ Asp-X ระหว่าง Prodomain และ large subunit

ในขณะเดียวกัน Large subunit และ small subunit ก็จะถูกแยกออกจากกันที่ตำแหน่ง Asp-X ระหว่าง domain ทั้งสอง ซึ่งเป็นผลให้เกิดเอนไซม์คาสเพสในรูปพร้อมทำงานดังภาพประกอบ 5



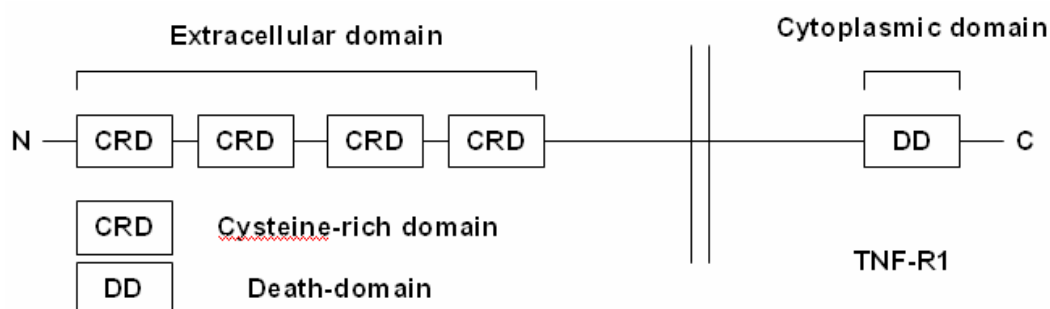
ภาพประกอบ 5 แสดงโครงสร้างของ Domain ของเอนไซม์คาสเพส ระหว่างการเกิดกระบวนการโปรตีโอไลซิส⁽²⁷⁾

เอนไซม์คาสเพสในกระบวนการเอพอโทสิสแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Initiator caspases และกลุ่ม Executioner caspases โดยที่ Initiator caspases มีส่วน Prodomain ยาว สามารถกระตุ้นด้วยตัวเองด้วยการรวมกลุ่มของตัวเอง Initiator caspases ประกอบด้วย Procaspase -2, -8, -9, -10 แต่ในกลุ่ม Executioner caspases มีส่วนของ Prodomain สั้น ถูกกระตุ้นได้ต้องได้รับการกระตุ้นจาก Initiator caspases ซึ่งเอนไซม์คาสเพสในกลุ่ม Executioner caspases ประกอบด้วย Procaspase -3, -6, -7 เป็นต้น

กระบวนการเอพอโทสิสของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมประกอบด้วยกระบวนการสำคัญ 2 ส่วน ได้แก่ การกระตุ้นคาสเพส (Activation of caspases) และ การควบคุมการกระตุ้นคาสเพส (Control of caspase activation)

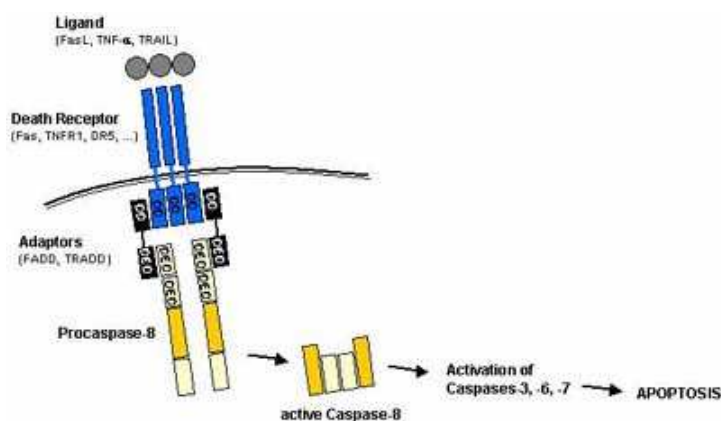
การกระตุ้นคาสเพสเป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการสลายของโปรตีนเป้าหมายที่จำเพาะ (Specific target proteins) ซึ่งส่วนใหญ่ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างรูปร่างนั้นจะมีสาเหตุมาจากคาสเพส โดยที่การกระตุ้นคาสเพสเป็นผลมาจากขั้นตอนย่อย 2 ขั้นตอน คือ Extrinsic apoptosis pathway และ intrinsic apoptosis pathway^(27, 28, 30)

ในกระบวนการกระตุ้นคาสเพสจาก Extrinsic apoptosis pathway (Death receptor pathway) เป็นการกระตุ้นด้วยการส่งผ่านสัญญาณจากภายนอกโดยผ่านตัวรับ ซึ่งตัวรับดังกล่าวเรียกว่า Death receptor สำหรับ Death receptor เป็นสมาชิกของกลุ่ม Tumor necrosis factor receptor (TNFR) มีโครงสร้างที่ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของ Extracellular domain และ ส่วนของ Cytoplasmic domain ดังภาพประกอบ 6



ภาพประกอบ 6 แสดงโครงสร้างตัวอย่างของ Death receptor TNF-R1 ⁽²⁸⁾

Death receptor ในกระบวนการกระตุ้นคาสเพสจาก Extrinsic pathway ประกอบด้วย TNFR-1, Fas/CD95, TRAIL-R1/DR-4 และ TRAIL-R2/DR-5 โดยลิแกนด์จากนอกเซลล์ เช่น FasL หรือ TNF- α จะจับกับตัวรับที่ผิวของเซลล์ (Cell surface receptor) ทำให้เกิด Trimerization ของตัวรับที่ผิวเซลล์ และทำให้เกิดการกระตุ้นของ Death receptor จากนั้นการส่งสัญญาณจากการกระตุ้นของลิแกนด์ที่ Death receptor ดังกล่าวจะส่งผ่านสัญญาณต่อโดยวิธีการส่งสัญญาณในไซโตพลาซึม ซึ่งในวิธีดังกล่าวจะประกอบด้วยลำดับการอนุรักษ์ (Conserved sequence) ใน death domain และมีส่วนของ Adapter molecule เช่น Fas-Associated Death domain (FADD) หรือ TRADD ในกระบวนการส่งสัญญาณ Death domains จะรับสัญญาณจาก Death receptor ที่ถูกกระตุ้นด้วยลิแกนด์ ซึ่งรูปแบบการส่งสัญญาณดังกล่าวเรียกว่า Death including signaling complex (DISC) และใน Death domain ของ FADD ยังประกอบด้วย Death effector domain (DED) ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากันระหว่าง Death domain กับ Death effector domain ของ FADD (DED-DED interaction) จากนั้นโปรคาสเพสที่โดดเดี่ยวจะเข้าสู่ Death including signaling complex และจะถูกกระตุ้นให้เปลี่ยนเป็นคาสเพสที่ว่องไว (Active caspase) โดยกระบวนการ Autoproteolytic จากนั้นจะเริ่มกระบวนการส่งผ่านสัญญาณแบบ Cascade ทำให้เกิดกระบวนการเอโพโทสิส (27,28) ภาพรวมของ Extrinsic apoptosis pathways แสดงดังภาพประกอบ 7



ภาพประกอบ 7 แสดง Extrinsic apoptosis pathways (Death receptor pathway) ⁽²⁹⁾

การกระตุ้นคาสเพสอีกลักษณะหนึ่งคือการกระตุ้นจากด้านในของเซลล์ หรือ Intrinsic apoptosis pathway (Mitochondrial pathway) เป็นกระบวนการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการเอโพอโทซิสจากในเซลล์ โดยที่ไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) มีบทบาทสำคัญในการส่งผ่านสัญญาณ กล่าวคือ ไมโทคอนเดรียจะเป็นตัวที่รวม (Integration) และแพร่สัญญาณ (Propagation) ของ Death signal จากภายในของเซลล์ เช่น ความเสียหายของดีเอ็นเอ ความเครียดเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative stress) รวมทั้งสารเคมี ด้วย

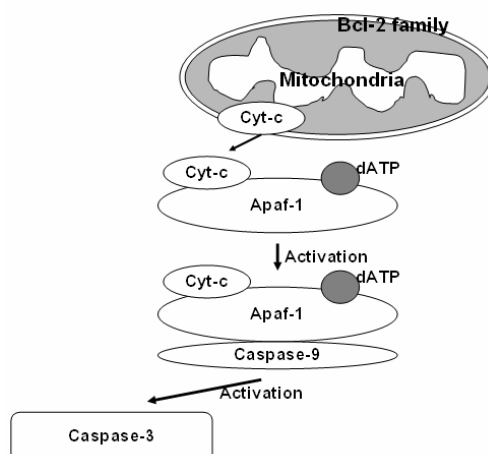
ส่วนใหญ่กระบวนการเอโพอโทซิสโดยการกระตุ้นจากไมโทคอนเดรียจะถูกชักนำโดยการปล่อย Apoptogenic factors ออกจากไมโทคอนเดรีย เช่น Cytochrome C โดยที่ Cytochrome C จะกระตุ้นให้เกิด Apoptosome การส่งผ่านสัญญาณเป็นทอดๆของคาสเพส (Caspase cascade) Apoptosis-inducing factor (AIF) และ Smac/Diablo ซึ่งการข้ามผ่านของ Apoptogenic factors ออกจากไมโทคอนเดรียเป็นสิ่งสำคัญในการเริ่มต้นของปรากฏการณ์เอโพอโทซิส ในการข้ามผ่านของ Apoptogenic factors นั้นจะมีโปรตีนชนิดหนึ่งคือ Bcl-2 family เป็นตัวควบคุมการข้ามผ่านออกสู่ภายนอกไมโทคอนเดรีย

สำหรับ Bcl-2 family ที่ควบคุมการข้ามออก Apoptogenic factors ประกอบด้วย Large group of anti-apoptotic ซึ่งแสดงออกเมื่อต้องการป้องกันไม่ให้เกิดกระบวนการเอโพอโทซิส และ Large of pro-apoptotic โดยแสดงออกเมื่อต้องการให้เกิดกระบวนการเอโพอโทซิส ความสมดุลของทั้งสององค์ประกอบของ Bcl-2 family members จะเป็นตัวสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเกิดกระบวนการเอโพอโทซิสขึ้นในเซลล์

การระงับ (Suppression) ไม่ให้เกิดกระบวนการเอโพอโทซิสโดย Anti-apoptotic member หรือ การกระตุ้นให้เกิดกระบวนการเอโพอโทซิสโดย Pro-apoptotic member ของ Bcl-2 family จะทำให้เกิดการปรับเปลี่ยนเยื่อเลือกผ่านของไมโทคอนเดรีย ซึ่งส่งผลให้เกิดการปล่อย Cythchrome C ในไซโทซอล (Cytosol) โดย Cythchrome C ที่ปล่อยออกมาจากไมโทคอนเดรียจะผูกติดกับโปรตีน Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1), procaspase-9 และ ATP ในรูปของ

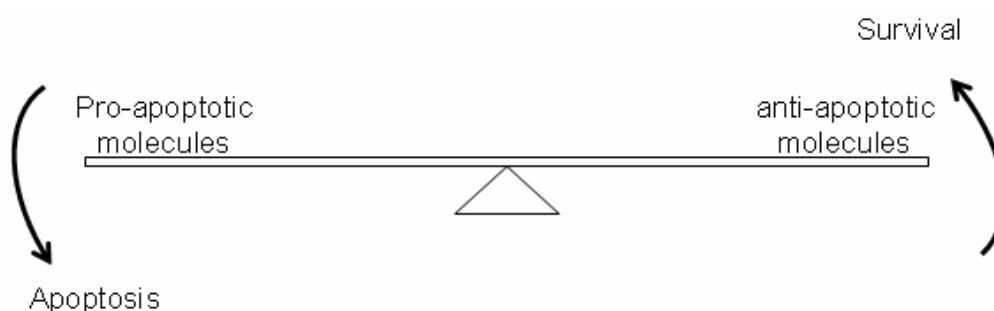
โปรตีนเชิงซ้อน เรียกว่า Apoptosome

ในกรณีนี้ การเกิด Dimerization ของโปรคาสเพส 9 ที่ Apaf-1 เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดคาสเพส 9 ซึ่งเป็น Initiator caspases ที่สามารถกระตุ้นให้เกิด Proteolytic กับ Effector procaspase-3, -6 และ -7 การกระตุ้นดังกล่าวจะทำให้เกิด Effector caspase-3, -6 และ -7 ซึ่งทำให้เกิดการส่งสัญญาณ และทำให้เกิดกระบวนการเอโพโทซิสขึ้น⁽³⁰⁾ ดังภาพประกอบ 8



ภาพประกอบ 8 แสดง Intrinsic apoptosis pathways⁽²⁹⁾

สำหรับที่กล่าวมาข้างต้นเกี่ยวกับขั้นตอนของการกระตุ้นคาสเพส ซึ่งเป็นกระบวนการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการเอโพโทซิส ยังมีอีกกระบวนการหนึ่งที่เป็นกระบวนการที่ควบคุมการเกิดปรากฏการณ์เอโพโทซิส กล่าวโดยสรุปสำหรับขั้นตอนนี้มีโปรตีนในกลุ่ม Bcl-2 family เป็นตัวควบคุมการเกิดกระบวนการเอโพโทซิส⁽³⁰⁾ ดังภาพประกอบ 9



ภาพประกอบ 9 แสดงความสมดุลระหว่าง Cell survival และ Cell death⁽²⁹⁾

1.2.4 ชีวสารสนเทศศาสตร์

ชีวสารสนเทศศาสตร์ หรือ Bioinformatics เป็นศาสตร์ที่ว่าด้วยการนำข้อมูลทางชีววิทยา มาใช้อย่างเป็นระบบ รวมทั้งการจัดเก็บ การพัฒนาโปรแกรมประยุกต์แบบต่างๆ สำหรับ เปรียบเทียบ วิเคราะห์ ตำนวน และประเมินผลข้อมูลที่ได้จากการสืบค้นจากคอมพิวเตอร์ระดับ องค์การหรือระหว่างองค์การ ทั้งใน และต่างประเทศ ผ่านเครือข่ายสารสนเทศต่างๆ ชีวสารสนเทศ ศาสตร์ได้ถูกใช้ในการหาคำตอบหรือตอบคำถามทางด้านวิทยาศาสตร์ชีวภาพในหลายรูปแบบ ซึ่ง เดิมทำได้ยากหรือไม่อาจทำได้เลย ชีวสารสนเทศศาสตร์จึงเป็นเครื่องมือที่ปรับเปลี่ยนรูปแบบหลัก ของการค้นคว้าวิจัย จากแบบดั้งเดิม ซึ่งใช้เวลาส่วนใหญ่ในห้องปฏิบัติการแต่อย่างเดียว มาเป็นการ ผสมผสานกับการสืบค้น วิเคราะห์ หรือแม้กระทั่งทำการทดลองบนเครื่องคอมพิวเตอร์โดยการ จำลอง (Simulation) โดยใช้ข้อมูลเป็นวัตถุดิบ จากนั้นจึงกลับมาวิจัยในห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยัน ผลลัพธ์ที่ได้จากการประเมินหรือ วิเคราะห์ผลจากข้อมูลเหล่านั้น อันเป็นการประหยัดทั้งเวลาและ งบประมาณการวิจัย⁽³¹⁾

1.2.4.1 รูปแบบของแฟ้มข้อมูลลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโน (Sequence format)

การวิเคราะห์ลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ และลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนนั้น โดยใช้โปรแกรมต่างๆ ขึ้นกับวัตถุประสงค์ในการวิเคราะห์ แต่เนื่องจากโปรแกรมมีความต้องการ รูปแบบไฟล์ข้อมูลแตกต่างกันไป ดังนั้นรูปแบบแฟ้มข้อมูลจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเตรียมข้อมูล สำหรับการวิเคราะห์ เพื่อให้ใช้โปรแกรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในชีวสารสนเทศศาสตร์มีรูปแบบ แฟ้มข้อมูลจำนวนมากหลายรูปแบบ (Format) แต่สำหรับในงานวิจัยนี้ใช้รูปแบบแฟ้มข้อมูลของ ลำดับกรดอะมิโน 2 แบบ คือ

1.2.4.1.1 FastA sequence format

ในการวิจัยนี้ได้ใช้รูปแบบไฟล์แบบ FastA sequence format สำหรับ เตรียมข้อมูลในการวิเคราะห์โดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์เป็นหลัก โดยใช้รูปแบบแฟ้มข้อมูลดังกล่าว ในโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 และโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 ซึ่ง FastA sequence format ประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก ส่วนแรกเป็นคำอธิบายซึ่งเริ่มต้นด้วยเครื่องหมาย ">" ตามด้วยชื่อ หรือแหล่งที่มาของข้อมูล ส่วนที่ 2 เป็นข้อมูลลำดับเบสนิวคลีโอไทด์หรือกรดอะมิโน ส่วนที่ 3 เป็นเครื่องหมาย "*" แสดงถึงจุดสิ้นสุดของข้อมูล โดยส่วนนี้จะมีหรือไม่ก็ได้ เครื่องหมาย "*" อาจจำเป็นต้องใช้ในบางโปรแกรม FASTA sequence format เป็นรูปแบบที่ถูกใช้มากที่สุดในการ วิเคราะห์ เนื่องจาก FastA sequence format ใช้งานง่าย โดยเพียงทำการคัดลอกข้อมูลทั้งหมด หรือส่วนใดส่วนหนึ่งไปยังหน้าต่างของโปรแกรม⁽³²⁾

ตัวอย่าง FastA sequence format ของ โปรตีน LBP, LY96 และ TLR1 ซึ่งเป็นโปรตีนใน วิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์

```

>LBP
MGALARALPSILLALLLTSTPEALGANPGLVARITDKGLQYAAQEGLLALQSELLRITLP
DFTGDLRIPHVGRGRYEFHSLNIHSCCELLHSALRPVPGQLSLSISDSSIRVQGRWKVRK
SFFKLQGSFDVSVKGISISVNLLLGSESSGRPTVTASSCSDIADVEVDMSGDLGWLLNL
FHNQIESKFQKVLESRICEMIQKSVSSDLQPYLQTLPTTEIDSFADIDYSLVEAPRATA
QMLEVMFKGEIFHRNHRSPVTLAAVMSLPEEHNMVYFAISDYVFNTASLVYHEEGYLN
FSITDDMIPPSNIRLTTSKFRPFVPRLARLYPNMNELEQGSVPSAPLLNFSPGNLSVDP
YMEIDAFVLLPSSSKEPVFRLSVATNVSATLTFNTSKITGFLKPGKVVELKESKVGFLFN
AELLEALLNYYILNTFYKPFNDKLAEGFPLPLLKRVQLYDLGLQIHKDFLFLGANVQYMR
V
>LY96
MLPFLFFSTLFSSIFTEAQKQYWVCNSSDASISYTYCDKMQYPISINVNPCIELKGSKGL
LHIFYIPRRDLKQLYFNLYITVNTMNLPRKKEVICRGSDDDYSFCRALKGETVNTTISFS
FKGIKFSKGKYKCVVEAISGSPEEMLFCLEFVILHQPNNSN
>IFNB1
MTNKCLLQIALLLCFSTTALSMSYNLLGLFQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNF
IPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLK
TVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRIHLHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINR
LTGYLRN
>TLR1
MTSIFHFAIIFMLILQIRIQLSESEFLVDRSKNGLIHVPKDLSQKTTILNISQNYISEL
WTSDILSLSKLRILIIISHNRIQYLDISVFKFNQELEYLDLSHNKLVKISCHPTVNLKHL
LSFNAFDALPICKEFGNMSQLKFLGLSTTHLEKSSVLPPIAHLNISKVLLVLGETYGEKED
PEGLQDFNTESLHIVFPTNKEFHFDVSVKTVANLELSNIKCVLEDNKCSYFLSILAKL
QTNPKLSNLTNNIETTWSNFIRILQLVWHTTVWYFSISNVKLQGGQLDFRDFDYSGTSLK
ALSIHQVVSDFVFGFPQSYIYEIFSNMNIKNFTVSGTRMVHMLCPSKISPFLHLDIFSNNLL
TDTVFENCGLHTELETILQMNQLKELSKIAEMTTQMKSLLQQLDISQNSVSDEKKGDSCS
WTKSLLSLNMSSNILTDTIFRCLPPRIKVLDLHSNLIKSIKQVVKLEALQELNVAFNSL
TDLPGCGSFSSLSVLIIIDHNSVSHPSADFFQSCQKMRSIKAGDNPFQCTCELGEFVKNI
QVSSEVLEGWPDYSYKCDYPESYRGTLTKDFHMSSELSCNITLLIVTIVATMLVLAFTVTS
CSYLDLPWYLRMVCQWTQTRRRARNIPLEELQRNLQFHAFISYSGHDSFWVKNELLPNLE
KEGMQICLHERNFVPGKSIVENIITCIEKSYKSIFFVLSPNFVQSEWCHYELYFAHNNLFH
EGSNSLILILLEPIPQYSIPSSYHKLKSLMARRTYLEWPKEKSKRGLFWANLRAAINIKL
TEQAKK

```

1.2.4.1.2 PHYLIP format

ในการวิจัยนี้ใช้ PHYLIP format สำหรับเป็นรูปแบบของข้อมูลในการวิเคราะห์ โปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 ซึ่งเป็นโปรแกรมที่วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดในแง่การวิวัฒนาการ โดยการเปรียบเทียบความใกล้เคียงของลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอ หรือ ลำดับกรดอะมิโนบนสายโปรตีน สำหรับลักษณะของ PHYLIP format มีดังต่อไปนี้⁽³³⁾

1. ส่วนที่แสดงจำนวนสายลำดับเบสของสายดีเอ็นเอ หรือจำนวนสายลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน และจำนวนเบสของสายดีเอ็นเอ หรือจำนวนกรดอะมิโนของโปรตีน ที่ต้องการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

2. ชื่อของ ดีเอ็นเอ หรือโปรตีน ต้องมีจำนวนตัวอักษรของชื่อไม่เกิน 10 ตัวอักษร

3. ช่องว่างใช้สัญลักษณ์แทนด้วย “ - ”

4. ในส่วนข้อมูลที่สูญหาย หรือ No match ของเบสของสายดีเอ็นเอ หรือกรดอะมิโนของโปรตีน (No sequence) ใช้สัญลักษณ์ “?” ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในตอนจบของข้อมูล

5. ในส่วนข้อมูลเบสของสายดีเอ็นเอ หรือข้อมูลกรดอะมิโนของโปรตีน (Alignment blocks) จะมีช่องว่างคั่นระหว่างข้อมูลดังกล่าว ซึ่งอยู่ทุกๆ Alignment block โดยในแต่ละ Alignment block ต้องมีจำนวนของข้อมูลเบส หรือกรดอะมิโนไม่เกิน 10 ชนิดของเบส หรือกรดอะมิโน

สำหรับตัวอย่างของ PHYLIP format แสดงดังภาพประกอบ 10 แสดง PHYLIP format ของโปรตีน TLR1 ซึ่งเป็นโปรตีนในวิถีการส่งสัญญาณของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ และ โปรตีนของ *Anopheles gambiae* (ANGP25661 ANGP29611 และANGP29576)

```

      4      1300
ANGP25661 MRPSPALLTV LFGTIFGVFG ASLSKSLVSQ APDECRWDGY TEDDLTLLCR
ANGP29611 -----
ANGP29576 -----
TLR1      -----

      LRTINSELEN TNFSVLHPEN TVRLRLQCND GLFFQSSLSP GSFQQLTKLH
      -----
      -----
      -----

      ALSIEYCKIA NLSEGSFQGL KQLVNLTIRT HNTDWSSISL DIAPQVFTSE
      -----
      -----
      -----

      LAKLQRLDLS QNMWVSVPDG FICPLARLSY INLTQNRLRD LSVFHFASL
      -----
      -----
      -----

      STRLSKKCGS SIVTLDLSHN TIDNLPPAIF SGLGKLTDLR LQSNGLNYIA
      -----
      -----
      -----

      DRAFEGLVSL SRLELSLNRL TNLPPELFSE AKHIKEIYLQ NNSLNVLAPG
      -----
      -----
      -----

      IFSDLKQLLV LDLSNNEITS EWINPATPGV VQAHPTRSFK QQNNEARAHD
      -----
      -----
      -----

      LPRSDQRAGV ALRKTSSKAS AKTFLGLGAL HTVILSNRL CTVDHFTFSG
      -----
      -----
      -----

      LNSLALLSLD YNRISRIDRQ ALRNHSALQE LHLNGNKLLQ VPDALYDVPL
      -----
      -----
      -----MTSI FHFAIIFMLI

```

```

LRTL DLGENH ISNIDNASFR HMAHLYGLRL TENNIEIIRR GTFEAMKSLH
-----
LQIRIQLSEE SEFLVDRSKN GLIHVPKDLS QKTTILNISQ NYISELWTSO
-----
ILNLSQNRLK TVEQASFDNN -TKLQAIRLD GNYLTDIAGL FTKLPNLLWL
-----
ILSLSKLRIL IISHNRIQYL DISVFKFNQE LEYLDLSHNK LVKISCHPTV
-----
NISDNHLEVF DYALIPTGLQ WLDIHANKIT ELGNYFEIES QLALSTIDAS
-----
NLKHLDSL FN AFDALPICKE FGNMSQLKFL GLSTTHLEKS SVLPPIAHLNI
-----
SNQLTEITGS AIPNSVELLY LNDNLISKVQ SYTFFKKPNL TRVDLFGNKI
-----
SKVLLVLGET YGEKEDPEGL -MRNCSLRTL PEAFFRNVNL EYLFLSHNRI
-----
TTLDPNALRI SAVPDDRPLP EFYIGGNPYQ CDCNLNLWLQK SNIDSRTQPR
-----
TTLPAEIFYP LRSLLHLDLS NMDTRRTGEE RIENPFMKLI AGVD-LHQDI
NLELSNIKCV LEDNKCSYFL SILAKLQTNP KLSNLTNNI ETTWNSFIRI
-----
LMDLDSIYCK LLYNRGRITYV PLVEALPNQF LCKYDTHCFA LCHCCDFYAC
-----
FFPLISLVFL DLSNTRLEYQ AFIALRSVQR RVQYVSYCNI GLPAIVDYLF
LQLVWHHTVW YFSISNVKLQ GQLDFRDFDY SGTSLKALSI HQVVSDFVGF
-----
DCKMECPKQC TCYHDQSWSS NVVDCSRAGY DDRLPDQIPM DSTQIYLDGN
-----
VS-KKIA--M ---LDISYNV GVAQSLHSAS FTLLADSLEV L----YFKDS
PQSYIYEIFS N-MNIKNFTV SGTRMVHMLC PSKISPFLHL DFSNNLLTDT
-----
NFRSLSSHAF LGRKRLKILF LNGSNVETVS NRTFYGLKEL EILQLDHNLL
-----
MVQQLN--WL VPLQRLRVLN LRGNILRMLQ RESFANLTNL EQLDLSYNYI
VFENCG---H LTELETLILQ MNQLKELSKI AEMTTQMKS L QQLDISQNSV
-----
TALNGFEFEG LDSLKELFLQ YNRIASIANH TFDHLHGLKI LRLDHNRLVE
-----
SAWNQQILTT TTALQSVNLR NNSIVILTTD MLYDFSRLSA MGLGGNTIQC
SYD-EKKGDC SWTKSLLSLN MSSNILTDTI FRCLPPRIKV LDLHSNKIKS
-----
FNVWLLPKQL NDIRLAFNAW SCECDYVTRF QEYLKTYDFV RDRHKIRCAS
LPGDSLPEQL ELLDVSG--- -----NQ-L TEVDAAFIK LNHTALRNI
SCNYVKFLRN ILHNRTD--- -----VAGAY TISAEPLIVG RRGSGTISNK
IPKQVVKLEA LQELNVAFN- SLTDLPGCGS FSSLSVLIID HNSVSHPSAD
-----
YVSSNATIAP ATQ---PADA SQASPAEEPL PDGAGTGDFL VYYDNSSTLC
LS-AN-----PWDC HCENPLLAFA VDNAAR---I TGY---STLQC
LSLQHVQLFD YE----ESEC LCMNFTSNQK LDPLELQDCM IPE---DELIN
FFQSCQKMRS IKAGDNPFQC TCELGFEVKN IDQVSSEVLE GWP--DSYKC
-----
TGAIPLE NVI NGNLT SRKTI LSPQPIEGYI PLLVTGLFGF SLVIILT LVL
SDGQPIN--- SATLN--DLC AWPTTLKFYI SAAVSLVLAA CLLAIWLYMK
-SDIPEE--- GEDEPAHAKN HTLVYILVSV AVSFLILTGV GLFYWFHFK
DYPESYR--- GTLLKDFHMS ELSCNITLLI VTIVATMLVL AVTVTSLCSY

```

```

FVFRQEMRVW FHSKFGVRLF YRNADIDKNE RDKLFDAFIS YSSKDEAFVA
YSL--EIKVW LFKHNLLQWL VTEEQIDMDK R---YDAFIS YSHKDEEFVT
YFFKIMKNSA VLSFFNDEKL YLDKSGLLKE ADFHYDVFVS YSNADRSWVL
LDLP-WYLRM VCQWTQTRRR ARNIPLEELQ RNLQFHAFIS YSGHDSFWVK

EELAPMLENE DPSYKLCLHY RDFPVGAYIA DNILQAVES RRTIMVLSEN
DQLLPRLSE ELNFKICWHV RDFMPGEMIA TQITKAVES RRTIIILSLN
DHLLPNMEG- VSQINLCLHE RDFEVGYGIL ENIISCMDRS RCLMLIVSES
NELLPNLEK- -EGMQICLHE RNFVPGKSIV ENIITCIEKS YKSIFVLSPN

FIKSEWCRFE FKSAHHQVLR DRRRRLIVIL LGEVPQKD-- -LDPDIRLYL
YLESVWGQME FNTAYLQSLE DKRNRVIPII YQDIGDIDQ- -LDPELRAYL
FLLSHWCQFE MHLAQHRLLE TRRDELILVL LEDIPRRK-- -CPKTLSYLL
FVQSEWCHYE LYFAHHNLFH EGSNSLILIL LEPIPQYSIP SSYHKLKSLM

KTNTYLQWGD KLFWEKLRFA LPDVPNNQRR QHQPNI SLTH SNVRNSYQLT
KTNTYVRWDD PWFWDKLHYA MPHKRRPKGV QATDNMRMAS VDKLNLLKAP
KTKTYIKWPT KSVHEQALFW KRLHKTLTTS KA-----
ARRTYLEWPK EKSKRGLFWA NLRAAINIKL TEQAKK----

RVAPSNRTNN QLTAQHQPDP- RGPQGRSTDY HATQQPLPLP GLASE-----
AIMTPASSET TPPVEHAKEG IAHDGPLGCV GDPSKPSTMP PFIISNGMSN
-----
-----
-----

```

ภาพประกอบ 10 แสดง PHYLIP format ของโปรตีน TLR1 ซึ่งเป็นโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณของ กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ และ โปรตีนของ *Anopheles gambiae* (ANGP25661 ANGP29611 และANGP29576)

1.2.4.2 โปรแกรม BLASTP

โปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) ของ NCBI เป็นกลุ่ม ของโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับค้นหาโดยการเปรียบเทียบความเหมือน (Identity) หรือ ความ คล้ายคลึง (Similarity) ของลำดับรหัสนิวคลีโอไทด์ในดีเอ็นเอ หรือลำดับของกรดอะมิโนในโปรตีน ที่ เราสนใจ กับข้อมูลรหัสฐานข้อมูล (Homology หรือ Similarity search) ⁽³⁴⁾

โปรแกรม BLAST เป็นโปรแกรมที่ทำงาน และแสดงผลได้ค่อนข้างเร็ว ประกอบด้วย โปรแกรม 5 โปรแกรม ⁽³⁵⁾ คือ

1.2.4.2.1. BLASTN เป็นโปรแกรมสำหรับเปรียบเทียบลำดับเบสบนสายดี เอ็นเอ กับลำดับเบสของดีเอ็นเอ ที่อยู่ในฐานข้อมูล

1.2.4.2.2. BLASTP เป็นโปรแกรมสำหรับเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ของพอลิเปปไทด์ กับลำดับกรดอะมิโนของพอลิเปปไทด์ที่อยู่ในฐานข้อมูล

1.2.4.2.3. BLASTX เป็นโปรแกรมสำหรับเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนทั้ง 6 Reading frame ที่ได้จากการแปลรหัสลำดับเบสของสายดีเอ็นเอ ที่สนใจ (จากลำดับเบสของดีเอ็นเอ ทั้ง 2 สาย) โดยเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของพอลิเปปไทด์ที่อยู่ในฐานข้อมูล

1.2.4.2.4. TBLASTN เป็นโปรแกรมสำหรับเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของพอลิเปปไทด์กับลำดับกรดอะมิโนทั้ง 6 Reading frames ที่ได้จากการแปลรหัสลำดับเบสของสายดีเอ็นเอ ที่อยู่ในฐานข้อมูล

1.2.4.2.5. TBLASTX เป็นโปรแกรมสำหรับเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนทั้ง 6 Reading frames ที่ได้จากการแปลรหัสลำดับเบสของสายดีเอ็นเอ ที่น่าสนใจ (จากลำดับเบสของดีเอ็นเอ ทั้ง 2 สาย) โดยเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนทั้ง 6 Reading frames ที่ได้จากการแปลรหัสลำดับเบสของสายดีเอ็นเอ ที่อยู่ในฐานข้อมูล ซึ่งสามารถสรุปข้อมูลข้างต้นได้ดังตาราง 2

ตาราง 2 กลุ่มโปรแกรมย่อยของโปรแกรม BLAST ⁽³⁴⁾

โปรแกรม	ชนิดสายลำดับที่ต้องการตรวจสอบ	ชนิดฐานข้อมูลที่ใช้เปรียบเทียบ
Blastn	นิวคลีโอไทด์	นิวคลีโอไทด์
Blastp	เพปไทด์	โปรตีน
Blastx	นิวคลีโอไทด์	โปรตีน
Tblastn	เพปไทด์	นิวคลีโอไทด์
Tblastx	นิวคลีโอไทด์	นิวคลีโอไทด์

1.2.4.3 วิธีการทำ Sequence alignment

วิธีการทำ Sequence alignment หรือการเปรียบเทียบความเหมือนระหว่างกลุ่มของสายดีเอ็นเอ และโปรตีน เป็นกระบวนการในการเปรียบเทียบลำดับเบส หรือลำดับกรดอะมิโน 2 ชุด หรือมากกว่า โดยการตรวจหาลักษณะที่เหมือนกันในลำดับเบส หรือลำดับกรดอะมิโนนั้นๆ เพื่อประโยชน์ในการออกแบบ Primer ในปฏิกิริยา PCR ผลลัพธ์จากการทำ Sequence alignment นำไปสู่การทำนายลักษณะโครงสร้างทางทุติยภูมิ ตติยภูมิของดีเอ็นเอ หรือโปรตีนได้ นอกจากนี้ ผลลัพธ์ทางการทำนายโครงสร้างดังกล่าวยังสามารถนำมาใช้แบ่งกลุ่มโปรตีน และศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตได้อีกด้วย ⁽³⁶⁾

การเปรียบเทียบ Sequence alignment แบ่งออกได้เป็น 2 วิธี (37)

1. Pairwise Sequence alignment เป็นการเปรียบเทียบความเหมือนระหว่างสายดีเอ็นเอ หรือโปรตีน 2 สาย โดยสายลำดับทั้ง 2 สายจะถูกเติมช่องว่างแทรกเข้าไปเพื่อให้สายลำดับทั้งสองมีความยาวเท่ากัน แล้วจึงแสดงค่าความเหมือนกันที่สูงที่สุด โดยเทียบทีละตัวอักษร ซึ่งตัวอย่างโปรแกรม และเว็บไซต์ที่ให้บริการ ได้แก่

- ALIGN: <http://www2.igh.cnrs.fr/bin/align-guess.cgi>
- LFASTA: <http://pbil.univ-lyon1.fr/lfasta.html>
- SIM: <http://us.expasy.org/tools/sim-prot.html>
- DIALIGN: <http://www.genomatix.de/cgi-bin/dialign/dialign.pl>
- BSM: <http://www.cbi.cnptia.embrapa.br/SMS/bbnet/wbi/>

2. Multiple sequence alignment เป็นการเปรียบเทียบความเหมือนระหว่างสายดีเอ็นเอ หรือโปรตีนหลายสายในคราวเดียวกัน โดยการจัดเรียงเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ซึ่งแต่ละแถวจะประกอบด้วยสายลำดับ 1 เส้นที่อาจมีช่องว่างแทรกอยู่ และมีการเน้นตำแหน่งที่เหมือนกัน (Similarity) หรือมีการอนุรักษ์ การเปรียบเทียบสายลำดับพร้อมกันหลายเส้นอย่างเหมาะสมจะต้องให้ค่าคะแนนที่เหมาะสม หมายถึงระดับความเหมือนกันที่มากที่สุด หรือมีการสูญเสียต่ำที่สุด

สำหรับโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้ทำ Multiple sequence alignment มีหลายโปรแกรม โดยโปรแกรมที่นำมาใช้ในการทำ Multiple sequence alignment เพื่อยืนยันผลการเปรียบเทียบจากการใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ในงานวิจัยครั้งนี้คือ โปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 ซึ่งเป็นโปรแกรม Open source สำหรับการทำให้ Sequence alignment โดยเปรียบเทียบความเหมือนระหว่างลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนหลายสายในครั้งเดียว ⁽⁵⁶⁾

1.2.4.4 Phylogenetic analysis

เป็นวิธีการที่มีความสำคัญในการจัดจำแนกกลุ่ม และศึกษาถึงความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดในแง่การวิวัฒนาการ (จุดกำเนิด) โดยการเปรียบเทียบความใกล้เคียงของลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอ หรือ ลำดับกรดอะมิโนบนสายโปรตีนแล้วแสดงโดยใช้แผนภาพ Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่หาความสัมพันธ์ ⁽³⁸⁾

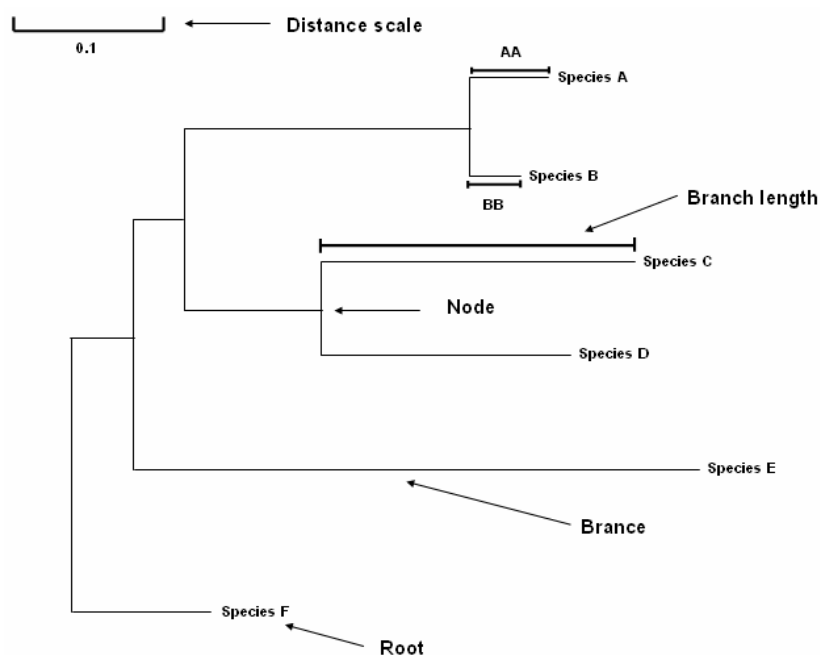
สำหรับ Phylogenetic tree ประกอบด้วย ⁽³⁹⁾

1. ปม (Node): เป็นส่วนที่แสดงถึงสิ่งที่ต้องทำการศึกษา หรือหน่วยทางอนุกรมวิธาน (Taxonomic unit) เช่น สปีชีส์ ประชากร หรือสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด
2. กิ่ง (Branch): ส่วนที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่าง Taxonomic unit ในลักษณะของบรรพบุรุษ และลูกหลาน โดยที่กิ่งหนึ่งกิ่งต่อเชื่อมระหว่างปมสองปมเท่านั้น
3. ระยะห่างระหว่าง Species A กับ Species B เท่ากับ AA + BB
4. Branch length: จำนวนของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนกิ่งนั้นๆ

5. Root: บรรพบุรุษร่วม (Common ancestor) ของสิ่งมีชีวิตบน Phylogenetic tree และบอกถึงเส้นทางจากปมที่เป็นบรรพบุรุษนั้นไปสู่ปมอื่นๆ ที่เป็นรุ่นลูก รุ่นหลาน

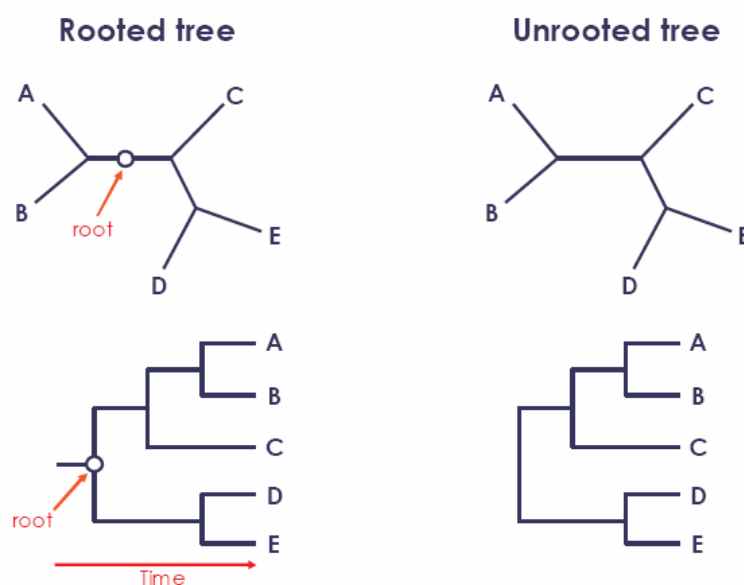
6. Distance scale: อัตราที่แสดงให้เห็นจำนวนของความแตกต่างระหว่าง Sequences ตัวอย่างเช่น 0.1 หมายถึง มีความแตกต่างระหว่าง Sequence อยู่ 10 เปอร์เซ็นต์

สำหรับตัวอย่าง Phylogenetic tree ดังภาพประกอบ 11 แสดงตัวอย่าง Phylogenetic tree และองค์ประกอบของ Phylogenetic tree



ภาพประกอบ 11 แสดงตัวอย่าง Phylogenetic tree และองค์ประกอบของ Phylogenetic tree ⁽⁵⁷⁾

รูปแบบการการแบ่งกิ่งของ Phylogenetic tree เรียกว่า Topology โดยสามารถแบ่งรูปแบบของ Phylogenetic tree ได้เป็น 2 ชนิด คือ Rooted tree จะมีกิ่งที่แสดงบรรพบุรุษร่วมของสิ่งมีชีวิตทั้งหมด และ Unrooted tree จะแสดงความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตทั้งหมด โดยไม่ระบุตำแหน่งของบรรพบุรุษร่วม ซึ่งตัวอย่างของ Phylogenetic tree แบบ Rooted tree และ Unrooted tree แสดงดังภาพประกอบ 12



ภาพประกอบ 12 แสดงตัวอย่างของ Phylogenetic tree แบบ Rooted tree และ Unrooted tree ^(39, 57)

สำหรับโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้ในการทำ Phylogenetic analysis เพื่อยืนยันผลการเปรียบเทียบจากการใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ในงานวิจัยครั้งนี้คือ โปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 ซึ่งเป็นโปรแกรม Open source สำหรับการทำให้ Phylogenetic tree โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ในแง่วิวัฒนาการระหว่างโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกลด์ และกระบวนการเอพิโทปของคณ กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดจาก Phylogram ที่ได้จากโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 เพื่อยืนยันผลการเปรียบเทียบข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.1.13 และ ผลการยืนยันการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1

1.2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ และกระบวนการเอโพฟโทสิสในหลายประเด็น ได้แก่

Aliprantis A.O. และคณะ ได้ศึกษาเกี่ยวกับวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการเอโพฟโทสิสที่ถูกกระตุ้นโดยโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ ชนิดที่ 2 (Toll-like receptor-2) ในคน โดยในระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาตั้งแต่กำเนิดมีการใช้กลุ่มของโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์เป็นตัวส่งสัญญาณในการป้องกัน โดยเฉพาะใน Toll-like receptor 2 เมื่อถูกกระตุ้นจาก Bacterial lipoproteins ซึ่งจะทำให้เกิดการส่งสัญญาณต่อไปยัง MyD88, FADD และ คาสเพส 8 ตามลำดับ ซึ่งจากคาสเพส 8 สามารถกระตุ้นให้เกิดวิธีการส่งสัญญาณภายในกระบวนการเอโพฟโทสิสได้⁽⁴⁰⁾

Irving P. และคณะ ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของการทำงานของยีนทั้งระบบ (Genome-wide) ในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของ *Drosophila* (*Cinnabar brow flies*) ต่อการติดเชื้อของแบคทีเรียและเชื้อรา ซึ่งได้แก่ Gram-positive bacteria (*Micrococcus luteus*), Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*) และ Fungi (*Beauveria bassiana*) โดยใช้ Oligonucleotide DNA microarrays ในการศึกษา ซึ่งจากการศึกษาพบว่า

1. มียีนของ Immune defense ที่ถูกสร้างขึ้นจากการติดเชื้อโดยแบคทีเรีย และเชื้อรา
2. พบจำนวนของยีน Immune-induced ที่ไม่เคยพบมาก่อนในปริมาณที่มีนัยสำคัญ
3. ยีนที่พบประกอบด้วย *corin*-, *Stubble*-, *easter*-, *snake*- และ *masquerade*-like genes ซึ่ง *corin*- และ *Stubble*-like genes เป็น Type II transmembrane domain ส่วน *easter*- และ *snake*-like genes มีบทบาทใน Toll pathway และ *masquerade*-like genes เกี่ยวข้องกับ Enzyme regulation⁽⁴¹⁾

Gregorio E. D. และคณะ ได้จำแนกลักษณะของ Toll และ Imd pathway (Immune deficiency signal pathway) ของ *Drosophila* ในแง่การควบคุมยีนต่างๆ จากภาวะของการติดเชื้อโดย

1. เปรียบเทียบความไว (Susceptibility) ของแมลงหวี่ซึ่งนำไปกลายพันธุ์ ซึ่งมีผลกระทบต่อ การส่งต่อของสัญญาณภายในกระบวนการ Toll และ Imd กับการติดเชื้อจากแบคทีเรีย และเชื้อรา หลายชนิด โดยพิจารณาจาก Survival test

2. วิเคราะห์การแสดงออกของ AMP genes ในการกลายพันธุ์ของแมลงหวี่แต่ละชนิด โดย Northern blots

3. ใช้ Oligonucleotide microarrays ในการติดตามผลของการกลายพันธุ์ที่มีต่อ Toll และ Imd pathway ที่เกิดจากการบาดเจ็บใน *Drosophila*

จากการศึกษาพบว่าทั้ง Toll และ Imd pathway เป็นตัวควบคุมสำคัญของการตอบสนองใน *Drosophila*⁽⁴²⁾

Roach J. C. และคณะ หาคความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการระหว่าง TLR genes sequence ของ Tiger blowfish (*Takifugu rubripes*) กับ TLR genes ของ Vertebrate ที่ได้มีการศึกษาไว้สมบูรณ์แล้ว เช่น กบ (*Xenopus tropicalis*) ไก่ (*Gallus gallus*) โดยใช้โปรแกรม PHYLIP package ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การจดจำของ TLR (TLR recognition) ต่อ PAMP (Pathogen-associated molecular patterns) รวมถึง ลำดับของจีโนมที่มีการกำหนดหน้าที่ (Coding sequence) และวิถีการส่งสัญญาณ (Signaling pathway) ที่เริ่มต้นโดย TLR มีการอนุรักษ์ไว้ใน Vertebrate ทุกชนิด ดังนั้น TLRs จึงเป็นตัวอย่างของวิวัฒนาการที่อนุรักษ์ในหลายๆระบบของระบบทางชีวภาพ เช่น ยีน โปรตีน และเครือข่ายของโปรตีน⁽⁴³⁾

Yang L. และคณะ ได้ศึกษาเกี่ยวกับ Toll-like receptor ในกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) โดยการโคลนนิ่ง cDNA ของ Toll-like receptor จากกุ้งขาว (IToll) ที่มีขนาด 926 residues กับ Putative signal peptide จำนวน 19 residues ซึ่งโปรตีนที่ได้ประกอบด้วยลักษณะทางโครงสร้างและหน้าที่ที่ยังคงแบบของ Toll-like receptor โดยมี Extracellular domain ประกอบด้วย 16 Leucine-rich repeats (PRRs) ซึ่งขนานข้างด้วย Cysteine-rich motifs และในส่วน Intracellular domain เป็นส่วนของ Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain ซึ่งจากการทดสอบพบว่าในส่วนของ IToll/interleukin-1 receptor (TIR) domain มีความคล้ายคลึงกับ *Apis mellifer* Toll และ *Drosophila melanogaster* Toll ถึง 59.9% และ 54.3% ตามลำดับ เมื่อทดสอบด้วยวิธี RT-PCR analysis (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) พบว่า IToll จะแสดงออกใน Hemocyte เหงือก หัวใจ สมอ ลำไส้ กระเพาะ และกล้ามเนื้อ ส่วนที่พบการแสดงออกของ IToll น้อยมาก ได้แก่ ก้านตา และ Hepatopancreas สำหรับการจำแนกชนิดของ IToll สามารถช่วยอธิบายถึง Toll pathway ในระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาตั้งแต่กำเนิดในกุ้งได้⁽⁴⁴⁾

Purcell M. K. และคณะ ได้ศึกษาเกี่ยวกับการอนุรักษ์ของวิถีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ใน teleost fish ด้วยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์กันเชิงวิวัฒนาการ (Molecular phylogenetic analysis) ของ Key component (MYD88, TIRAP, TRIF, TRAF, IRF3 และ IRF7) ใน TLR-signaling pathway ของ teleost fish โดยผลการศึกษาพบว่า มีการอนุรักษ์ของ TLR-signaling pathway molecule ใน Vertebrate ซึ่งให้เห็นว่า TLR-signaling pathway molecule เป็น Basic program ของยีนที่ควบคุม TLR-signaling pathway ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา Leukocyte ของ Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ที่ถูกกระตุ้นโดย known mammalian TLR agonists ที่ประกอบด้วย Diacylated and triacylated forms of lipoprotein, flagellin, two forms of LPS, synthetic double-stranded RNA, and two imidazoquinoline compounds ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวพบว่า ผลการตอบสนองของ Leukocyte ในหลอดทดลอง ต่อตัวกระตุ้นดังกล่าว สอดคล้องกับการตอบสนองใน Mammalian จึงสามารถสรุปได้ว่าการอนุรักษ์ทั้ง TLR recognition และ Signaling function ระหว่างเกิดการวิวัฒนาการของ Vertebrate⁽⁴⁵⁾

Zambon R. A. และคณะ ได้ศึกษาเกี่ยวกับการตอบสนองต่อเชื้อไวรัสของกระบวนการ Toll pathway ใน *Drosophila* โดยการพัฒนาวิธีการ *in vivo Drosophila* X virus-based screening system สำหรับแยกแยะความว่องไวในการติดเชื้อไวรัส ด้วยการวัด DXV's anoxia-induced death pathology เพื่อคัดเลือกแมลงหวี่ ซึ่งจากการทดลองพบว่า Toll pathway เป็นส่วนหนึ่งในการต่อต้านไวรัสของ *Drosophila* โดยถ้าใน Toll pathway อยู่ในสภาพ Inactive จะกระตุ้นให้เกิดการเริ่มของ anoxia induced death ในการติดเชื้อของแมลงหวี่ ซึ่งจากการศึกษาพบว่า Toll pathway มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง DXV replication ใน *Drosophila* และผลการทดลองได้แสดงถึงความสมบูรณ์ของการใช้พันธุศาสตร์ในการจำแนกยีน และวิธีที่ใช้ในการป้องกันไวรัสใน *Drosophila* อีกด้วย ⁽⁴⁶⁾

Honda K. และคณะ ได้ศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของ Transductional-transcriptional processor complex ที่เกี่ยวข้องกับ MyD88 และ IRF-7 ในการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิด โทลล์ (Toll-like receptor signaling) ในหนู โดยผลการศึกษา และข้อมูลอ้างอิงพบว่า Transcription ของ IRF-7 จะมีปฏิสัมพันธ์กับ MyD88, IRAK4 และ TRAF6 เป็นแบบเชิงซ้อนใน Cytoplasm ซึ่งลักษณะเชิงซ้อนดังกล่าวเป็นสิ่งที่แสดงให้เห็นถึงการเชื่อมต่อกันระหว่างการส่งสัญญาณของ Adaptor และ effector kinase molecule กับการ Transcription factor ที่ควบคุมการแสดงออกของสัญญาณที่ส่งออกนอกเซลล์ จากที่กล่าวข้างต้นแสดงว่า Molecular complex อาจจะมีหน้าที่ Transductional-transcriptional processor ใน Cytoplasm ⁽⁴⁷⁾

Bunchaleamchai A. ได้ศึกษาการแยก และวิเคราะห์ยีนที่ควบคุมกระบวนการเอโพพโทสิส ใน Lymphatic filarial nematode หรือ พยาธิโรคเท้าช้าง (*Brugia malayi*) โดยการใช้ยีนของ *Caenorhabditis elegans* เป็นต้นแบบ เพื่อแยกยีนของกระบวนการเอโพพโทสิสจากพยาธิ *B. malayi* ด้วยเทคนิค PCR และเทคนิค Open Reading Frame เพื่อวิเคราะห์บริเวณที่มีรหัสสำหรับการสร้างโปรตีน ซึ่งผลการศึกษาพบว่า ส่วนของยีนที่ได้มาจากดีเอ็นเอของ *B. malayi* มีความเหมือนกับยีนของกระบวนการเอโพพโทสิสใน *C. elegans* ประมาณ 50% ⁽²⁵⁾

Phudendaen C. ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการเกิดเอโพพโทสิส และโปรตีนที่เกี่ยวข้องในมะเร็งท่อน้ำดี และเนื้อเยื่อตับปกติ พร้อมทั้งวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่าง apoptotic index (AI) และการแสดงออกของ p53, Fas, Bcl-2, Ki-67 histology type และอัตราการรอดชีวิต ซึ่งจากการศึกษาพบว่าโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกระบวนการเอโพพโทสิส ทั้งกลุ่มที่มีการแสดงออก และไม่มีการแสดงออกในมะเร็งท่อน้ำดีมีอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานด้านการเกิดกระบวนการเอโพพโทสิสในมะเร็งท่อน้ำดี เพื่อประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป ⁽⁴⁸⁾

Prangsaengtong O. ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเหนี่ยวนำให้เซลล์ตายแบบเอโพพโทสิส โดยไม่ต้องอาศัยเอนไซม์ Caspase-3 โดย Flavone VR-3623 ในเซลล์มะเร็งเต้านมคน โดยศึกษา กลไกของสาร VR-3623 ที่มีผลต่อการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเต้านมของคน (MCF-7) ซึ่งจากการศึกษาพบว่า

1. เซลล์มะเร็งเต้านมที่ได้รับสารวอร์-3623 ที่ 4 ความเข้มข้น คือ 0.8, 2, 4 และ 8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลานาน 3-72 ชั่วโมง มีเซลล์ MCF-7 ถูกชักนำให้ตายแบบเอโพพโทสิสมากขึ้น ตามความเข้มข้น และ ระยะเวลาของการทำการทดลอง

2. การทำ Western blot พบชิ้นส่วนของ PARP ที่ถูกย่อยขนาด 85 kDa ในช่วงเวลา 24-72 ชั่วโมง ซึ่งบ่งชี้ถึงการเกิดเอโพพโทสิสเนื่องมาจากเอนไซม์แคสเพสในช่วงเวลาดังกล่าว

3. การใส่ตัวยับยั้งเอนไซม์แคสเพสชนิดรวม (Z-VAD-FMK) เป็นการศึกษาความเกี่ยวข้องของ Caspase กับการทำให้เกิดการตายของเซลล์โดยสารวอร์-3623

จากข้อมูลทั้งหมดข้างต้นสรุปได้ว่าสารวอร์-3623 ยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งเต้านมของคน (MCF-7) โดยเหนี่ยวนำให้เซลล์ตายแบบเอโพพโทสิสโดยผ่าน Caspase-7 นอกจากนี้ Caspase -3 ไม่ใช่ปัจจัยที่สำคัญที่สารฟลาโวนตัวนี้ใช้ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบเอโพพโทสิสในเซลล์มะเร็งเต้านมคน ⁽⁴⁹⁾

Kunwittaya S. ได้ศึกษากระบวนการเอโพพโทสิสของเซลล์เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนใน β -thalassemic patients โดยศึกษาถึงกระบวนการเอโพพโทสิสของ Nucleated red blood cell (NRBCs) และ Peripheral blood mononuclear cell (PBMCs) ของผู้ป่วย β -thalassemic และศึกษาผลของพลาสมาผู้ป่วยต่อการเกิดกระบวนการเอโพพโทสิส ซึ่งจากการศึกษาพบว่า กระบวนการเอโพพโทสิสของ NRBCs เป็นกลไกอย่างหนึ่งในการเหนี่ยวนำให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอของ NRBCs ทำให้เกิดการสร้างเม็ดเลือดแดงที่ไม่มีประสิทธิภาพ และเกิดภาวะโลหิตจางเรื้อรัง ซึ่ง Oxidative stress ของสารอนุมูลอิสระของออกซิเจน และเหล็กไอออนในพลาสมาอาจจะมีส่วนสำคัญในการเกิดกระบวนการเอโพพโทสิส ⁽⁵⁰⁾

นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้นำความรู้ทางโปรแกรมชีวสารสนเทศศาสตร์มาประยุกต์ใช้กับเรื่องที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้ เช่น Grun D. และคณะ ศึกษาเรื่องของการทำนายเกี่ยวกับ MicroRNA ซึ่งเป็น non-coding genes ควบคุมการสร้างโปรตีน โดยใช้ Algorithm PicTar (<http://pictar.bio.nyu.edu>.) ในการทำนาย และเปรียบเทียบสิ่งมีชีวิตข้ามชนิด (Cross-species comparisons to predict) ระหว่าง แมลงหวี่ 7 ชนิด (ได้แก่ *Drosophila melanogaster*, *Drosophila yakuba*, *Drosophila erecta*, *Drosophila ananassae*, *Drosophila pseudoobscura*, *Drosophila mojavensis* และ *Drosophila virilis*) กับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (*Homo sapien*) พบว่า มียีนที่ควบคุมการผลิต MicroRNA ของแมลงหวี่ทั้ง 7 ชนิดปรากฏทั้งในแมลงหวี่ และมนุษย์ ⁽⁵¹⁾

Balakrishnan R. และคณะ ศึกษาลำดับจีโนมของยีสต์ *Saccharomyces* โดยใช้โปรแกรม BLASTP และได้ทำนายจีโนมของยีสต์เปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ เช่น *A. gossypii*, *H. sapiens*, *A. thaliana*, *D. melanogaster* และ *C. elegans* ทำให้ทราบถึงความคล้ายคลึงกัน และวิวัฒนาการที่แตกต่างกันของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด⁽⁵²⁾

Leeb T. และ Muller M. ศึกษาการเปรียบเทียบลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอของ ICAM gene (Intercellular adhesion molecule gene) ของคน หนู mouse และหนู โดยใช้โปรแกรม BLAST ในการจำแนกส่วนที่เป็น Homologous sequence ของสัตว์ทั้ง 4 ชนิด สำหรับ ICAM genes เป็นกลุ่มยีนที่พบบนโครโมโซมของคนที่ตำแหน่ง 19p13.2 และเป็นกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน เช่น การตอบสนองของ T cell หรือการจดจำของเซลล์ (Cell-cell recognition) เป็นต้น สำหรับผลสรุปของการวิจัยนี้พบว่า genomic sequences ของ ICAM genes ในสัตว์ทั้ง 4 ชนิด มีการอนุรักษ์ หรือคงไว้ของลำดับเบสบนดีเอ็นเอของยีนที่แสดงออกเป็นค่าที่สูง และไม่มีการเปลี่ยนแปลง⁽⁵³⁾

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน 172 ชนิดในวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโพพโทสิสระหว่างของคน กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ได้แก่ *Caenorhabditis elegans*, *Caenorhabditis briggsae*, *Drosophila melanogaster*, *Drosophila pseudoobscura*, *Anopheles gambiae* และ *Apis mellifera*

1.3.2 ยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยวิธี Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1

1.3.3 ยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยวิธี Phylogenetic analysis ด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

1.4 ความสำคัญของการศึกษาวิจัย

การเปรียบเทียบกรดอะมิโนของโปรตีนในคน กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด เป็นการเปรียบเทียบเพื่อเสนอรายชื่อของโปรตีนที่พบ และไม่พบในสิ่งมีชีวิตไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ข้อมูลดังกล่าวนำไปสู่การเสนอแผนภาพ (Consensus maps) แสดงวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโพพโทสิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งเป็นแนวทางของการศึกษาในเชิงของ Cross annotation data ยืนยันข้ามชนิดของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน 172 ชนิดในวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโพพโทสิสระหว่างของคน กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ได้แก่ *Caenorhabditis elegans*, *Caenorhabditis briggsae*, *Drosophila melanogaster*, *Drosophila pseudoobscura*, *Anopheles gambiae* และ *Apis mellifera*

1.4.2 เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน 172 ชนิดในวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโพพโทสิสระหว่างของคน กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด โดยใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13

1.4.3 ยืนยันผลการเปรียบเทียบจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ด้วยวิธี Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1

1.4.4 ยืนยันผลการเปรียบเทียบจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ด้วยวิธี Phylogenetic analysis ด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

1.4.5 นำผลการเปรียบเทียบจากทั้งข้อ 2 และ 3 สรุปรายชื่อโปรตีนที่พบ และไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด

1.4.6 นำผลสรุปจากข้อ 1.4.5 เสนอแผนภาพแสดงวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอพอพโทสิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.6.1 การส่งสัญญาณภายในเซลล์ หมายถึง กระบวนการของการตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่เกิดขึ้นภายนอกเซลล์โดยใช้ลิแกนด์ การส่งสัญญาณระหว่างตัวรับ แล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ โดยอาศัยตัวกลางที่เป็น Receptors, Effectors และ Messengers หลายๆชนิด ที่พบอยู่บริเวณผิวเซลล์ และภายในเซลล์เป็นตัวส่งสัญญาณผ่านกันเป็นทอดๆ เพื่อกระตุ้นการทำงานของสารชีวโมเลกุลเป้าหมาย ผลจากการส่งสัญญาณทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น การแบ่งตัว หรือการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเซลล์

1.6.2 กระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ หมายถึง กระบวนการส่งผ่านสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ ไปยังตัวรับอื่นๆ ในเซลล์เพื่อตอบสนองต่อพยาธิสภาพที่เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งนำไปสู่การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่างๆ เช่น เกิด Pro-inflammatory cytokines, T cell stimulation, antimicrobial response, apoptosis pathway, antiviral effects เป็นต้น

1.6.3 กระบวนการเอพอพโทสิส หมายถึง ปรากฏการณ์การตายของเซลล์ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ ซึ่งเกิดจากการที่ยีนส์ที่ควบคุมโปรแกรมการตายถูกกระตุ้นให้ทำงาน จาก สารเคมี รังสี ความร้อน เชื้อโรคต่างๆ เป็นต้น

บทที่ 2

วัสดุ และวิธีการทดลอง

2.1 วัสดุ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

2.1.1 ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกลีของคณ จำนวน 89 โปรตีน และจากกระบวนการเอพอพโทสิสของคณ จำนวน 83 โปรตีน

2.1.2 ฐานข้อมูลรหัสลำดับของกรดอะมิโนในโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ได้แก่

2.1.2.1 *Caenorhabditis elegans*: จาก <http://www.wormbase.org/>; (Release wormpep 150, วันที่ 20/10/05) จำนวน 22,858 ชนิด

2.1.2.2 *Caenorhabditis briggsae*: จาก <http://www.wormbase.org/> จำนวน 19,334 ชนิด

2.1.2.3 *Drosophila melanogaster*: จาก <http://www.flybase.net/> (Release 4.2.1) จำนวน 19,178 ชนิด

2.1.2.4 *Drosophila pseudoobscura*: จาก <http://www.flybase.net/> (Release 2.0, วันที่ 11/11/2005) จำนวน 9,871 ชนิด

2.1.2.5 *Anopheles gambiae*: จาก www.ensembl.org; (Ensemble V36 – Dec.2005) จาก จำนวน 15,802 ชนิด

2.1.2.6 *Apis mellifera*: จาก www.ensembl.org (Ensemble V36 – Dec.2005) จำนวน 27,755 ชนิด

2.1.3 คอมพิวเตอร์ที่ใช้ในการทำวิจัย

2.1.3.1 ระบบปฏิบัติการ WindowXP Professional Version 2002 Service Pack2, Inter(R) Celeron(R) M processor 1.50 GHz และ 504 MB of RAM

2.1.3.2 ระบบปฏิบัติการ OS-X 10.4.11, 2 GB of RAM

2.1.4 โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

2.1.4.1 โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

2.1.4.2 โปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1

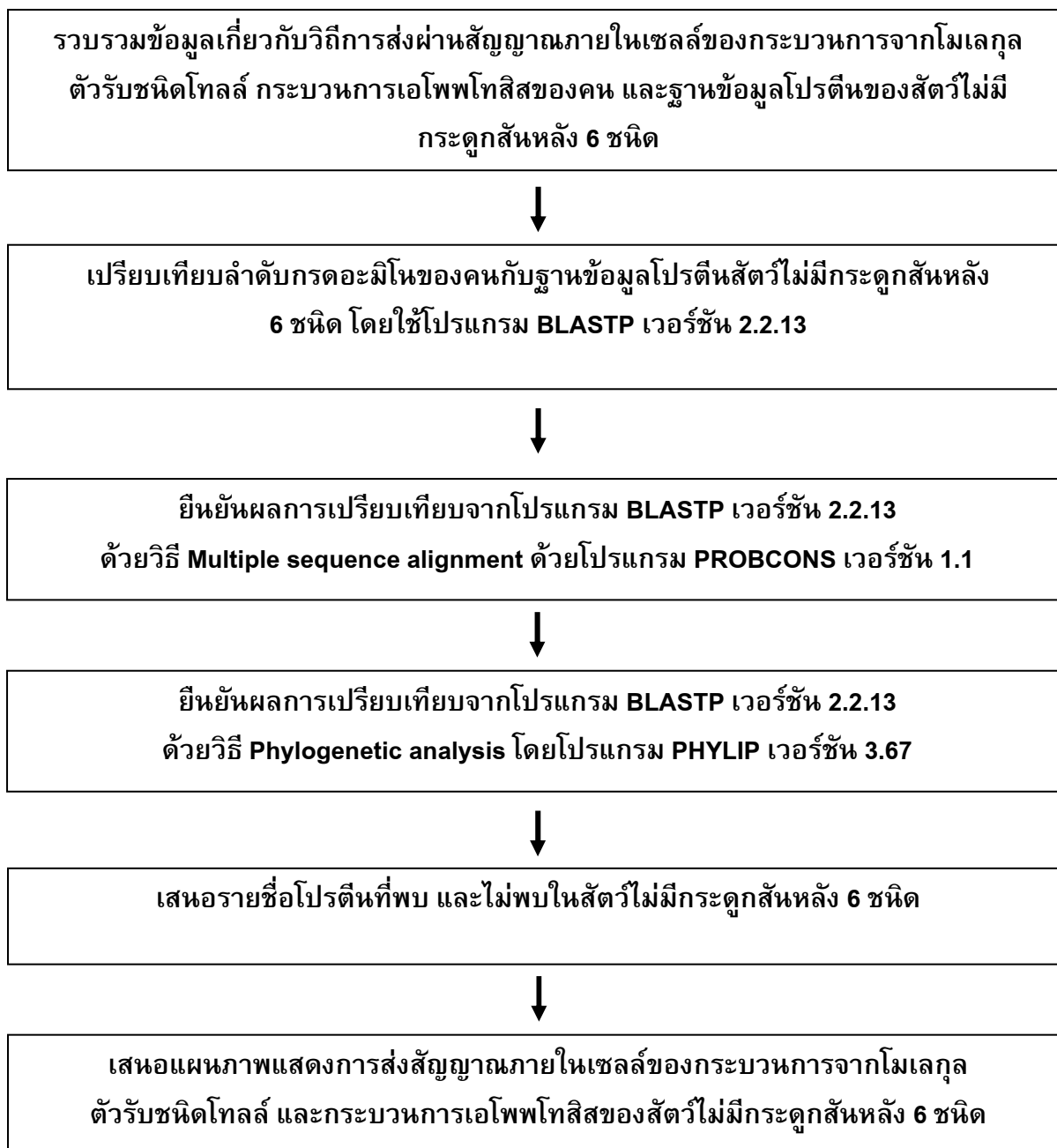
2.1.4.3 โปรแกรม ClustalX เวอร์ชัน 1.64b

2.1.4.4 โปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

2.1.4.5 โปรแกรม TreeView32 เวอร์ชัน 1.6.6

2.2 วิธีการ และขั้นตอนการทดลอง

การทดลองประกอบด้วย การรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ กระบวนการเอพิโทปโทลิสของคน และรวบรวมฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด เพื่อเตรียมข้อมูลสำหรับการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 โดยเมื่อเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 แล้ว จะยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยวิธี Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 และยืนยันผลการเปรียบเทียบอีกครั้งด้วยวิธี Phylogenetic analysis ด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 เพื่อนำผลที่ได้ไปเสนอรายชื่อโปรตีนที่พบ และไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ซึ่งท้ายที่สุดจะนำไปสู่การเสนอแผนภาพแสดงการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพิโทลิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ต่อไป ภาพรวมของขั้นตอนการดำเนินงาน แสดงดังภาพประกอบ 13



ภาพประกอบ 13 แสดงขั้นตอนการดำเนินงาน

2.2.1 รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ กระบวนการเอพอพโทซิสของคน และฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

เป็นการเตรียมข้อมูลที่เกี่ยวข้อง เช่น โปรตีนที่เกี่ยวข้อง และลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนที่เกี่ยวข้องในวิธีการส่งผ่านสัญญาณของกระบวนการทั้งสอง เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับการเปรียบเทียบกับโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 โดยสามารถรวบรวมข้อมูลต่างๆ ได้จากเว็บไซต์ฐานข้อมูลของ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes หรือ เว็บไซต์ <http://www.genome.jp> เป็นหลัก ซึ่งข้อมูลสำคัญที่รวบรวมสำหรับการเปรียบเทียบกับโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ได้แก่

- ชื่อ และจำนวนของโปรตีนที่เกี่ยวข้องในวิธีการส่งผ่านสัญญาณของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอพโทซิส
 - ข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนที่เกี่ยวข้องในวิธีการส่งผ่านสัญญาณของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอพโทซิส
- ขั้นตอนเพื่อให้ได้ข้อมูลสำคัญที่กล่าวข้างต้นมีดังต่อไปนี้

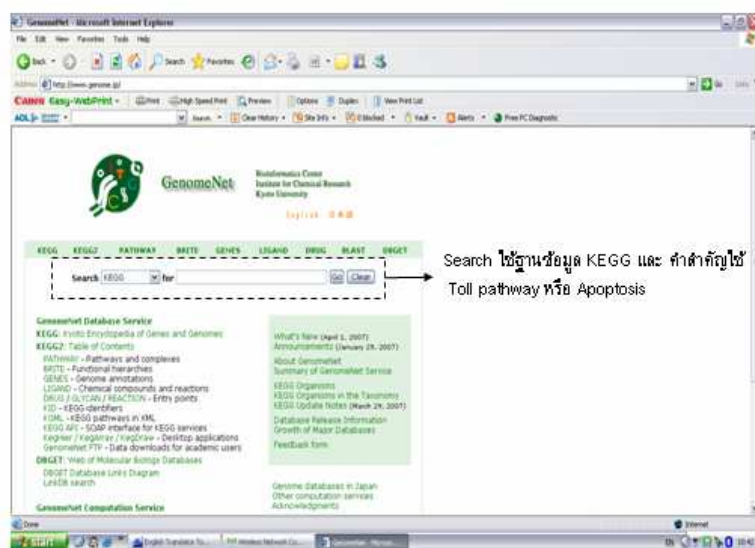
2.2.1.1 จากหน้าแรกของเว็บไซต์ <http://www.genome.jp> มีส่วนของ Search เพื่อเลือกฐานข้อมูลที่สนใจ และมีช่องพิมพ์คำสำคัญที่ต้องการสืบค้น ในที่นี้เลือกฐานข้อมูล KEGG และใช้คำสำคัญ Toll pathway หรือ Apoptosis pathway จากนั้นคลิกที่ Go จะเข้าสู่หน้าต่างถัดไป ซึ่งเป็นผลของการสืบค้นของเว็บไซต์ที่แสดงข้อมูลทั้งหมดเกี่ยวกับคำสำคัญ ในที่นี้ใช้คำสำคัญ Apoptosis pathway

2.2.1.2 จากนั้นเลือกข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับคำสำคัญนั้น ซึ่งจะเข้าสู่รายละเอียดต่างๆ กล่าวคือ เมื่อเลือกหัวข้อ path: has04210 Apoptosis – Homo sapiens (human) จะปรากฏแผนภาพแสดงวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิส โดยจากแผนภาพนี้สามารถเข้าสู่รายละเอียดต่างๆ ของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณดังกล่าวได้

2.2.1.3 เลือกคลิกที่ รายชื่อของโปรตีนที่ปรากฏภายในแผนภาพ ซึ่งจะปรากฏรายละเอียดข้อมูลต่างๆ เช่น ชื่อของโปรตีน รหัสของโปรตีน หมายเลขของโปรตีน รหัสลำดับกรดอะมิโน รหัสลำดับเบส ฯลฯ ที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนภายในวิธีการส่งผ่านสัญญาณ

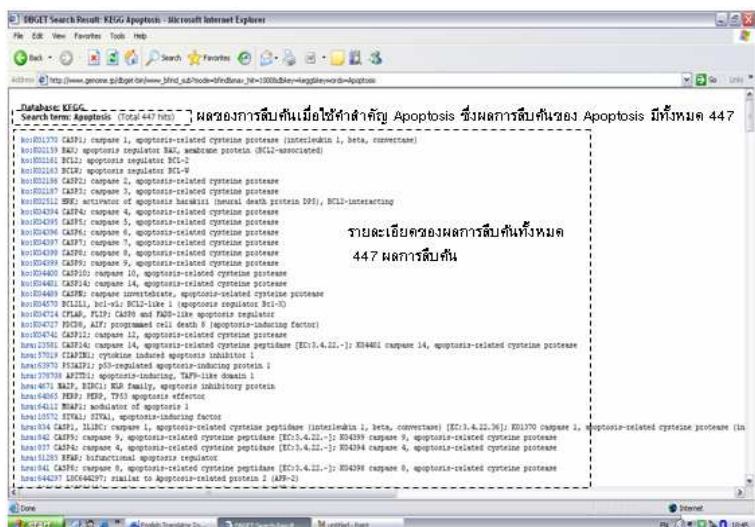
ภาพวิธีการสืบค้น แสดงดังภาพประกอบ 14 แสดงขั้นตอนหลักของการสืบค้นข้อมูล โดยใช้เว็บไซต์ <http://www.genome.jp>

หมายเหตุ การสืบค้นโดยใช้คำสำคัญ Toll pathway ใช้ขั้นตอน คล้ายกับการใช้คำสำคัญ Apoptosis pathway



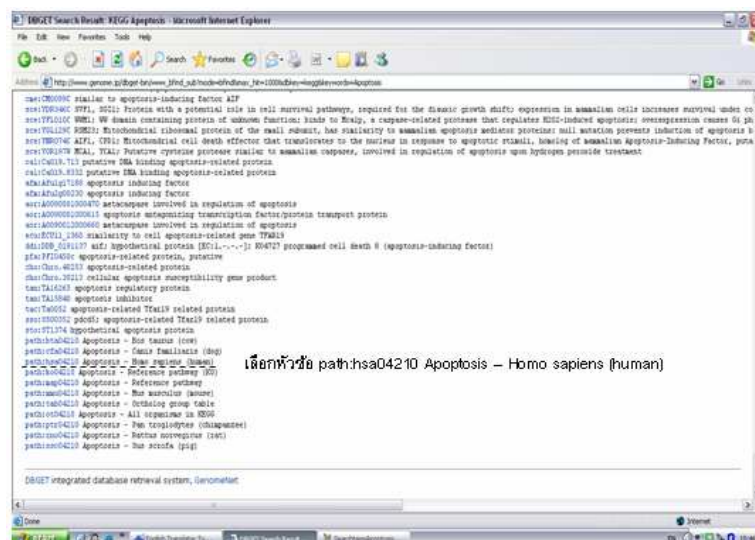
ขั้นตอนที่ 1

ส่วนของ Search ที่ใช้ในการเลือกฐานข้อมูลที่สนใจ และมีช่องพิมพ์คำสำคัญที่ต้องการสืบค้น



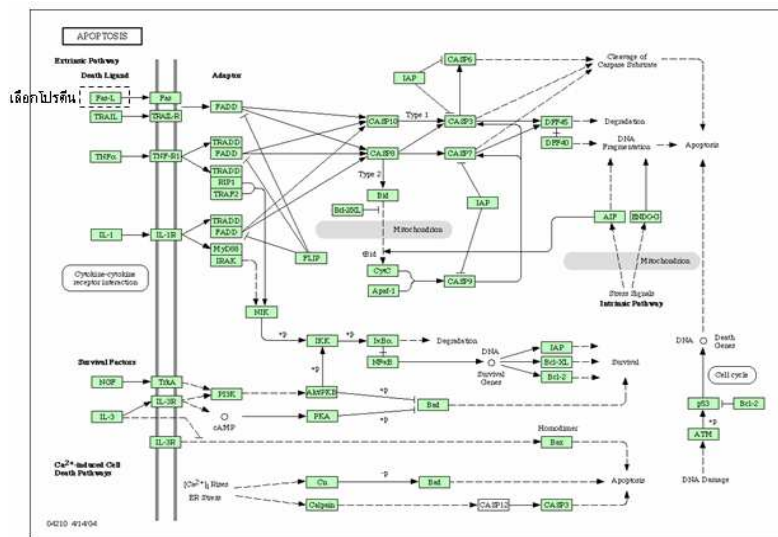
ขั้นตอนที่ 2

ผลของการสืบค้นของเว็บไซต์ที่แสดงข้อมูลทั้งหมดเกี่ยวกับคำสำคัญ



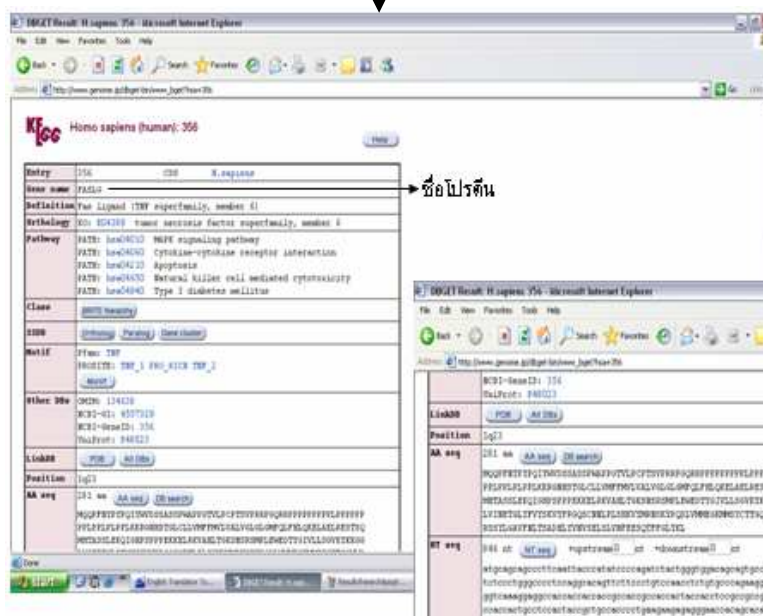
ขั้นตอนที่ 3

เลือกข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับคำสำคัญนั้น

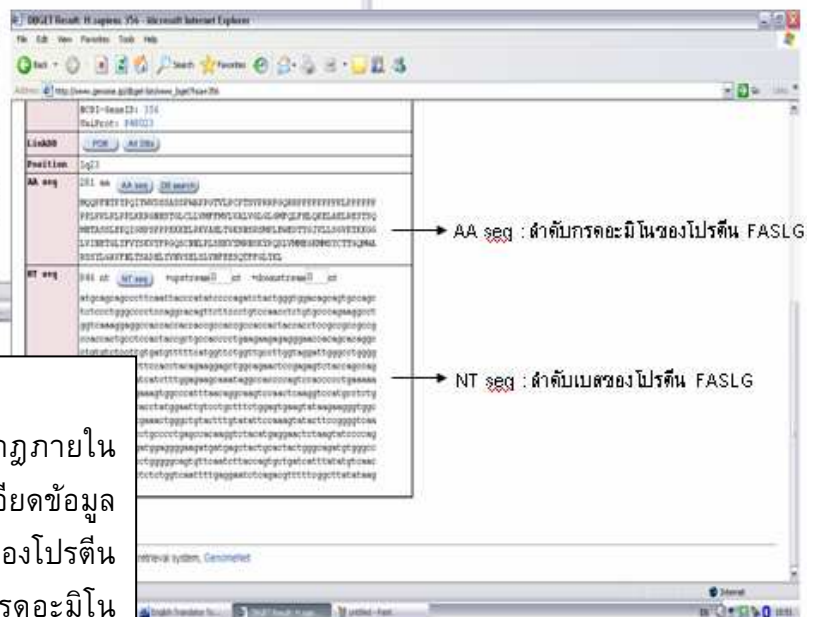


ขั้นตอนที่ 4

แผนภาพแสดงวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการที่สนใจ



ชื่อโปรตีน



AA seq : ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน FASLG

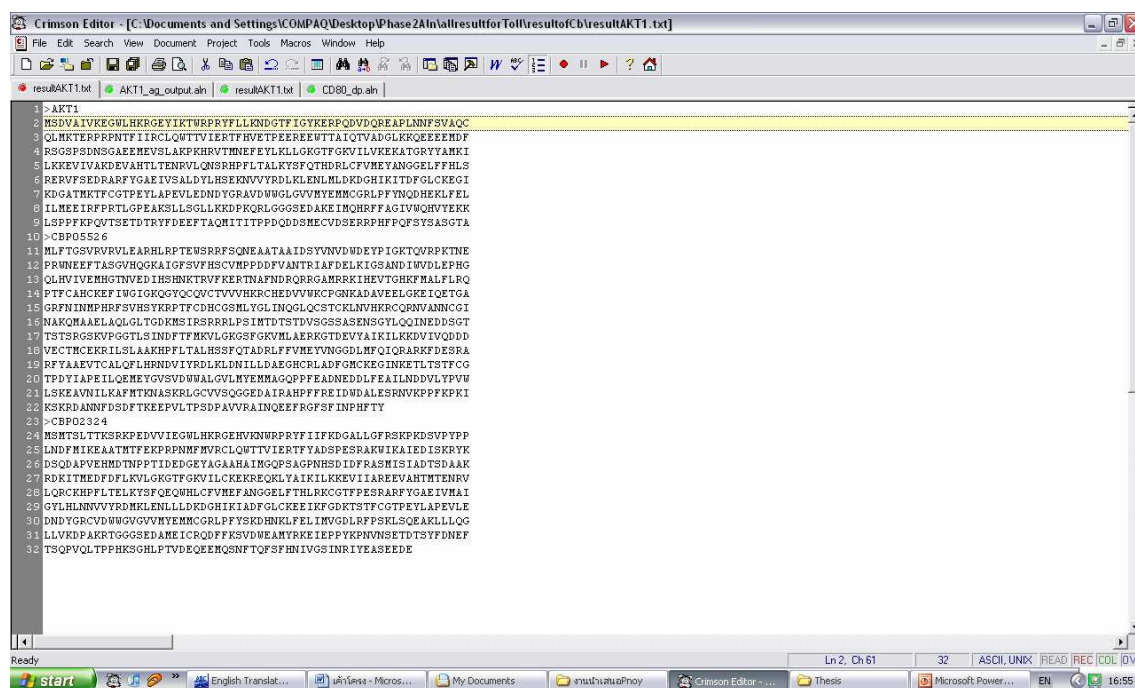
NT seq : ลำดับเบสของโปรตีน FASLG

ขั้นตอนที่ 5

เลือกรายชื่อของโปรตีนที่ปรากฏภายในแผนภาพ ซึ่งจะปรากฏรายละเอียดข้อมูลต่างๆ เช่น ชื่อของโปรตีน รหัสของโปรตีน หน้าที่ของโปรตีน รหัสลำดับกรดอะมิโน รหัสลำดับเบส ฯลฯ ที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนภายในวิถีการส่งผ่านสัญญาณ

ภาพประกอบ 14 แสดงขั้นตอนหลักของการสืบค้นข้อมูล โดยใช้เว็บไซต์ <http://www.genome.jp>

2.2.1.4 เตรียมลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนตัวรับต่างๆ ในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอพอโทซิสของเซลล์ โดยเตรียมข้อมูลของลำดับกรดอะมิโนของวิถีทั้งสองกระบวนการให้อยู่ในรูปแบบของ FastA format โดยใช้โปรแกรม Crimson editor ในการจัดรูปแบบทั้งหมด ตัวอย่างของการใช้โปรแกรม Crimson editor ในการจัดรูปแบบแสดงดังภาพประกอบ 15



ภาพประกอบ 15 แสดงการใช้โปรแกรม Crimson editor ในการจัดรูปแบบ

2.2.1.5 การรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด รวบรวมข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด จากเว็บไซต์ฐานข้อมูลของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ดังนี้

2.2.1.5.1 *Caenorhabditis elegans*: <http://www.wormbase.org/>; Release wormpep 150, date 20/10/05

2.2.1.5.2 *Caenorhabditis briggsae*: <http://www.wormbase.org/>

2.2.1.5.3 *Drosophila melanogaster*: <http://www.flybase.net/>; Release 4.2.1

2.2.1.5.4 *Drosophila pseudoobscura*: <http://www.flybase.net/>; Release 2.0, dated 11/11/2005

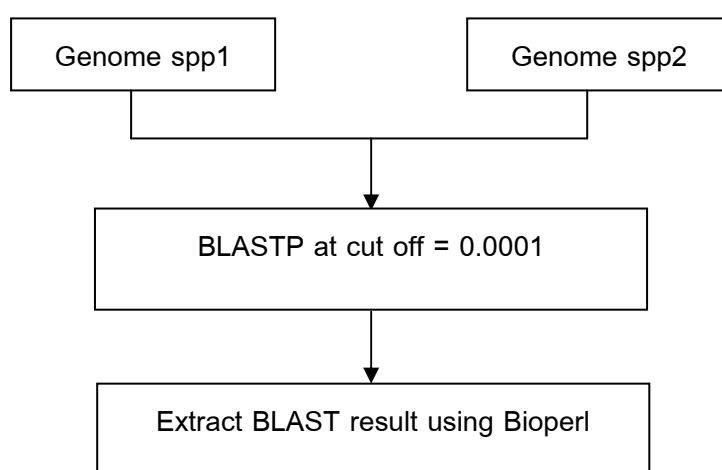
2.2.1.5.5 *Anopheles gambiae*: www.ensembl.org; Ensembl V36 – Dec.2005

2.2.1.5.6 *Apis mellifera*: www.ensembl.org: Ensembl V36 –Dec.2005

ซึ่งเว็บไซต์ฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิดข้างต้น เป็นข้อมูลสำคัญสำหรับเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอพโทสิสของคน โดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ในขั้นตอนต่อไป

2.2.2 เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนกับฐานข้อมูลโปรตีนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด โดยใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13

โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 เป็นโปรแกรมที่ใช้วิธีการ Local pairwise alignment หาความสัมพันธ์ระหว่างลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนองค์ประกอบในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอพโทสิสของคน กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ที่รวบรวมได้ในขั้นตอนที่ 3.3.5 โดยในการเปรียบเทียบมีการกำหนดตัวแปรในการดำเนินการของโปรแกรม คือ ตัดผลการเปรียบเทียบที่มีค่า E-value เท่ากับและมากกว่า 10^{-4} ทั้ง ซึ่งเมื่อได้ผลการเปรียบเทียบ หรือ raw data จะสกัดผลการเปรียบเทียบออกมาเฉพาะส่วนของ ชื่อโปรตีนในกระบวนการที่สนใจของคน ชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่เปรียบเทียบกับโปรตีนของคน และค่า e-value เพื่อพิจารณาความคล้ายคลึงกันของลำดับกรดอะมิโนของคน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด หลังจากนั้นจะสรุปผลการเปรียบเทียบกรดอะมิโนของโปรตีนในคน และลำดับกรดอะมิโนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ที่มีความคล้ายคลึงมากที่สุด เพื่อสรุปเป็นตารางต่อไป โดยภาพภาพรวมของวิธีการใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 แสดงดังภาพประกอบ 16



ภาพประกอบ 16 แสดงภาพรวมของวิธีการการใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ⁽⁵⁵⁾

หมายเหตุ

1. Genome spp1 แทน ข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของคนในรูป FastA format
2. Genome spp2 แทน ฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

ขั้นตอนนี้ดำเนินการบนเครื่อง Sun V880 Server ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรม และเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และวิธีการใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 จะแสดงในภาคผนวก

2.2.3 ยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยวิธีการ Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1

การยืนยันความถูกต้องของการเปรียบเทียบจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ด้วยโปรแกรม PROBCONS มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.2.3.1 นำข้อมูลที่ได้จากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ที่สกัดเอาเฉพาะ ส่วนข้อมูลลำดับกรดอะมิโนที่มีค่า E-value ดีที่สุด (ค่า E-value ต่ำสุด) สามอันดับแรกของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง มาจัดในรูปของ FastA ซึ่งประกอบด้วยลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนของคน และลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีค่า E-value ดีที่สุด เป็น Input ของโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 ดังภาพประกอบ 17 แสดงตัวอย่าง FastA format ของโปรตีนของคน AKT1 และโปรตีนของ *Anopheles gambiae* ได้แก่ ANGP19348, ANGP22036 และ ANGP8680 ที่มี E-value ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนของคน

>AKT1 (ชื่อโปรตีนของคน)

```
MSDVAIVKEGWLHKRGEYIKTWPRPYFLLKNDGTFIGYKERPQDQDQREAPLNNFSVAQC
QLMKTERPRPNTFIIRCLQWTTVIERTFHVETPEEREETTAIQTVADGLKKQEEEEEMDF
RSGSPSDNSGAEMEVS LAKPKHRVTMNEFEYLKLLGKGTFGKVILVKEKATGRYYAMKI
LKKEVIVAKDEVAHTLTENRVLQNSRHPFLTALKYSFQTHDRLCFVMEYANGGELFFHLS
RERVFSEDRARFYGAIEVSALDYHSEKNVVYRDLKLENMLDKDGHKIDTFGLCKEGI
KDGATMKTFCGTPEYLAPEVLEDNDYGRAVDWwGLGVVYEMMCGRLPFYNDHEKLFEL
ILMEEIRFPRTLGPESKLLSGLLKKDPKQRLGGGSEDAKEIMQHRFFAGIVWQHVEKK
LSPPFKPQVTSETDTRYFDEEFTAQMITITPPDQDDSMCEVDSERRPHFPQFSYSASGTA
```

>ANGP19348 (ชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง: *Anopheles gambiae*)

```
pep:novel chromosome:M0Z2a:2R:16629994:16635565:1 gene:
ENSANGG00000016859 transcript:ENSANGT000000019348
MSISSADSAMVAGSSSSSGSGIGCSTIVKEGWLYKRGEHIKTWRSRYFILKSDGTLEGYKI
RPDPQVPTEPSNKFTRVDCQIMSIDRPRPFTFIIRGLQWTTVIERMFHVEDENDRKDWVE
AIRSVANKLNEEEEVYQATLPNQAAADDCEMGSIAEDELVNEKPVYGTATDKVSGKRKVTL
ENFEFLKVLGKGTFGKVILCREKTSSKLYAIKILKKDVIIQKDEVAHTMAESRVLKTTNH
PFLISLKYSFQTVDRLCFVMQYVNGGELFFHLSRERIFPEDRTRFYAAEIIISALGYLHSH
GIIYRDLKLENLLLDKDGHIKIDFGLCKEDITYGRITTKTCGTPEYLAPEVLEDNDYGH
AVDWwGTGVVYEMICGRLPFYNRDHDILFTLILMEEVKFPRNISPNSRLLSGLLVKNP
KQRLGGGPDDAKEIMAHPPFFASINWTDLVQKRITPPFKPQVTSDDTDTRYFDREFTGESVE
LTPSDSNGPLGAIQEEPHFSEFSYQDMASTMNTPSYMNHSHNFHPMQ
```

>ANGP22036 (ชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง: *Anopheles gambiae*)

```
pep:novel chromosome:M0Z2a:2R:26644360:26657277:1 gene:
ENSANGG000000019547 transcript:ENSANGT000000022036
FIMFTGTLRLLKCEAIGLRPTDFQTRHTMTFGRLGDQLIDPYVVSIDVDEKFIIDRSTTKPR
```

TFDPVWNESFIHEVENANVLGMTIFHEGPITDVVFVANTTIAFDDLVTRENESEQQDFWVDL
EPQGRHLHVKIDLRWTQDANNVASQNSCRRRAVVKDQPF LNRRRGAMRRRVHQNNGHKFMAT
FLRQPTFCSHCREFIWGLGKQGYQCQVCTCVVHKRCHSSVVTCKPKKKDEVKVKFEQCPQ
RFNVNMPHRFSVHSFKRLTFCDHCGSLLYGIIRQGLKCEVCSMNIHRRCEGNVANNCGIN
TKQLAELLNEMGITMDKTPPRRSKVGEVRCIKMQHSLLMLTYFSFICNQYSNQTTSDNLS
MSERSDDTSSLDLSTKSGAEGELAGHSSKAGGPTMGMLVNLGTDDDG NARPMPGKVFLN
DFNFIKVLGKGSFGKVM LAEKKGTDEVYAIKVLKKDVILQDDVDCTMTEKRILALAAKH
PFLTALHSCFQTPDRLFFVMEYVNGGDLMFQIQRRARFDEPRAAFYAAEVTALQLHRN
GVIYRDLKLDNILLDAEGHCKLADFGMCKEGITGDNLSTFCGTPDYIAPEILQELDYG
SVDW WALGVLMYEMMAGQPPFEADNEDDLFEAILRDDVLYPVWLSREAVSILKGFMTKNA
AKRLGCTDGENQIRSHPPFKDMDWEALEQRKVRPPFRPRVRSARDALNFDTEFTKEDPVL
TPVPNDIIRCINQDEFAGFSFTNPEFGPERKIV

>**ANGP8680** (ชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง: *Anopheles gambiae*)

pep:novel chromosome:M0Z2a:3L:35226050:35233005:-1 gene:

ENSANGG00000012848 transcript:ENSANGT000000008680

SIYRRGARRWRKLYRINGHIFQAKRFNRKAFCACHDRIWGLGRQGFKCIQCKLLVHKKC
HKLGNKPCSNEHVEPVFKERDVSMTCFAPLDYPSELHSGDGDQVPVEVNDNVEETLEPV
TQRQYSLNDFELIRVIGRGSYAKVLMVELKKTRRIYAMKVIKKALVTDDIDWVQTEKH
VFETASNHPFLVLHSCFQTPSRLFFVIEFVIRGGDLMFHMQRQRRLPEEHARFYAAEISL
ALNFLHEKGIYRDLKLDNVLLDHEGHIKLTIDYGMCKEGIRPGDTTSTFCGTPNYIAPEI
LRGEDYGFSDW WALGVLLYEMLAGRSPFDIAGASENPDQNTEDYLFQVILEKTIRIPRS
LSVKAASVLKGF LNKNPADRLG CNRDSAF L DIMNHSFFKSIDWEMLEQKQITPPFRPRLD
SDRDLANFPPEFTDEPVHLTPDDDRVIDKIDQSEFEGFEYVNP LLMSLEDCV

ภาพประกอบ 17 แสดงตัวอย่าง FastA format ของโปรตีนของคน (AKT1) และโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (ANGP19348, ANGP22036 และANGP8680)

2.2.3.2 ขั้นตอนในการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 จะใช้โปรแกรมดังกล่าวบนเครื่องคอมพิวเตอร์ Macbook ซึ่งขั้นตอนในการใช้โปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 แสดงในภาคผนวก

2.2.4 ยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยวิธี Phylogenetic analysis ด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

การยืนยันความถูกต้องของการเปรียบเทียบจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ด้วยวิธี Phylogenetic analysis โดยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 มีขั้นตอนหลัก 4 ขั้นตอนดังนี้

2.2.4.1. ขั้นตอนการจัดเรียงลำดับ (Alignment) ของข้อมูลทั้งหมด (ดีเอ็นเอ หรือ โปรตีน) ในรูปของ PHYLIP format ด้วยโปรแกรมอื่น เช่น ClutalW หรือ ClustalX เป็นต้น ซึ่งการจัดเรียงดังกล่าวเป็นการสร้างแบบจำลองข้อมูล (Data model) และเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของชุดข้อมูลเพื่อพร้อมเข้าสู่ Substitution model⁽⁵⁴⁾

2.2.4.2. ขั้นตอนเลือกแบบจำลองของการแทนที่ Substitution model เพื่อพิจารณาถึงความผันแปรของลำดับ

2.2.4.3. ขั้นตอนของ Tree construction โดยอาศัย Application ของโปรแกรม PHYLIP

2.2.4.4. ขั้นตอนของ Tree evaluation เป็นขั้นตอนสุดท้ายในการปรับแต่ง Phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม Tree viewer/editor เช่น โปรแกรม TreeView 32

ซึ่งสังเกตว่าในการสร้าง Phylogenetic tree ให้สมบูรณ์แบบ ในขั้นตอนที่ 1 และ ขั้นตอน ที่ 4 จำเป็นต้องอาศัยโปรแกรมอื่นๆ มาทำหน้าที่ดังกล่าว โดยโปรแกรมที่ใช้เพิ่มเติมในขั้นตอนของ Phylogenetic analysis ด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 ในงานวิจัยนี้ ได้แก่

- โปรแกรม ClustalX เป็นโปรแกรมที่ใช้ในการจัดเรียงลำดับข้อมูลเริ่มต้น กล่าวคือจัดข้อมูล ลำดับกรดอะมิโนในรูป FastA ให้เป็นข้อมูลในรูปแบบ PHYLIP โดยโปรแกรม ClustalX ที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นโปรแกรม ClustalX เวอร์ชัน 1.64b ซึ่งสามารถทำงานบนระบบปฏิบัติการ Windows และสามารถเป็นโปรแกรม Open source สามารถดาวน์โหลดได้ที่ <http://www-igbmc-ustrasbg.fr/BioInfo/ClustalX/Top/html>

- โปรแกรม TreeView32 เป็นโปรแกรม Tree viewer/editor และเป็นโปรแกรม Open source สามารถดาวน์โหลดได้ที่ <http://taxonomy.zoology.gla.uk/rod/treeview.html>

โดยในการยืนยันผลการเปรียบเทียบ จะพิจารณาค่า E-value ที่ได้จากการเปรียบเทียบ ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ของคน กับสัตว์ไม่มีกระดูก สันหลัง 6 ชนิด และพิจารณา Phylogram ที่ได้จากโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 ว่ามีความ สอดคล้องกันหรือไม่ จากนั้นสรุปข้อมูลความสอดคล้องกันของทั้งสองโปรแกรมต่อไป

วิธีการใช้โปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 จะแสดงในภาคผนวก

2.2.5 เสนอรายชื่อ และจำนวนของโปรตีนที่พบ และไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

นำผลที่สกัดได้จากการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ผลการ ยืนยันการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 และผลการยืนยันด้วยวิธี Phylogenetic analysis โดยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 สรุปเป็นรายละเอียดดังนี้

2.2.5.1. รายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ที่มีลำดับกรดอะมิโน คล้ายกับ ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิด โทลล์ของคน และรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่มีลำดับกรดอะมิโนไม่พบข้อมูล ในการเปรียบเทียบ

2.2.5.2. รายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ที่มีลำดับกรดอะมิโน คล้ายกับ ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการกระบวนการเอพอพโท ลิสของคน และรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่มีลำดับกรดอะมิโนไม่พบข้อมูลใน การเปรียบเทียบ

2.2.5.3. ตารางแสดงจำนวนโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายกับ ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน และรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่มีลำดับกรดอะมิโนไม่พบข้อมูลในการเปรียบเทียบ

2.2.5.4. ตารางแสดงจำนวนโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายกับ ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการกระบวนการเอโอพโทสิสของคน และรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่มีลำดับกรดอะมิโนไม่พบข้อมูลในการเปรียบเทียบ

2.2.6 เสนอแผนภาพแสดงวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโอพโทสิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

นำข้อมูลจากข้อ 3.8 และชุดรายการอ้างอิงในคน (Human based reference schemes) สรุปรูปเป็นแผนภาพแสดงวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโอพโทสิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ซึ่งแผนภาพที่เสนอประกอบด้วยส่วนประกอบ 3 ส่วน ได้แก่

2.2.6.1 รายชื่อโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโอพโทสิสของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด

2.2.6.2 รายชื่อโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโอพโทสิสของคนที่ไม่พบในบางชนิดของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

2.2.6.3 รายชื่อโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอโอพโทสิสของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ผลการศึกษาข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนของคน

3.1.1 ผลการศึกษาข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน

ในการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน จากฐานข้อมูล KEGG พบว่า

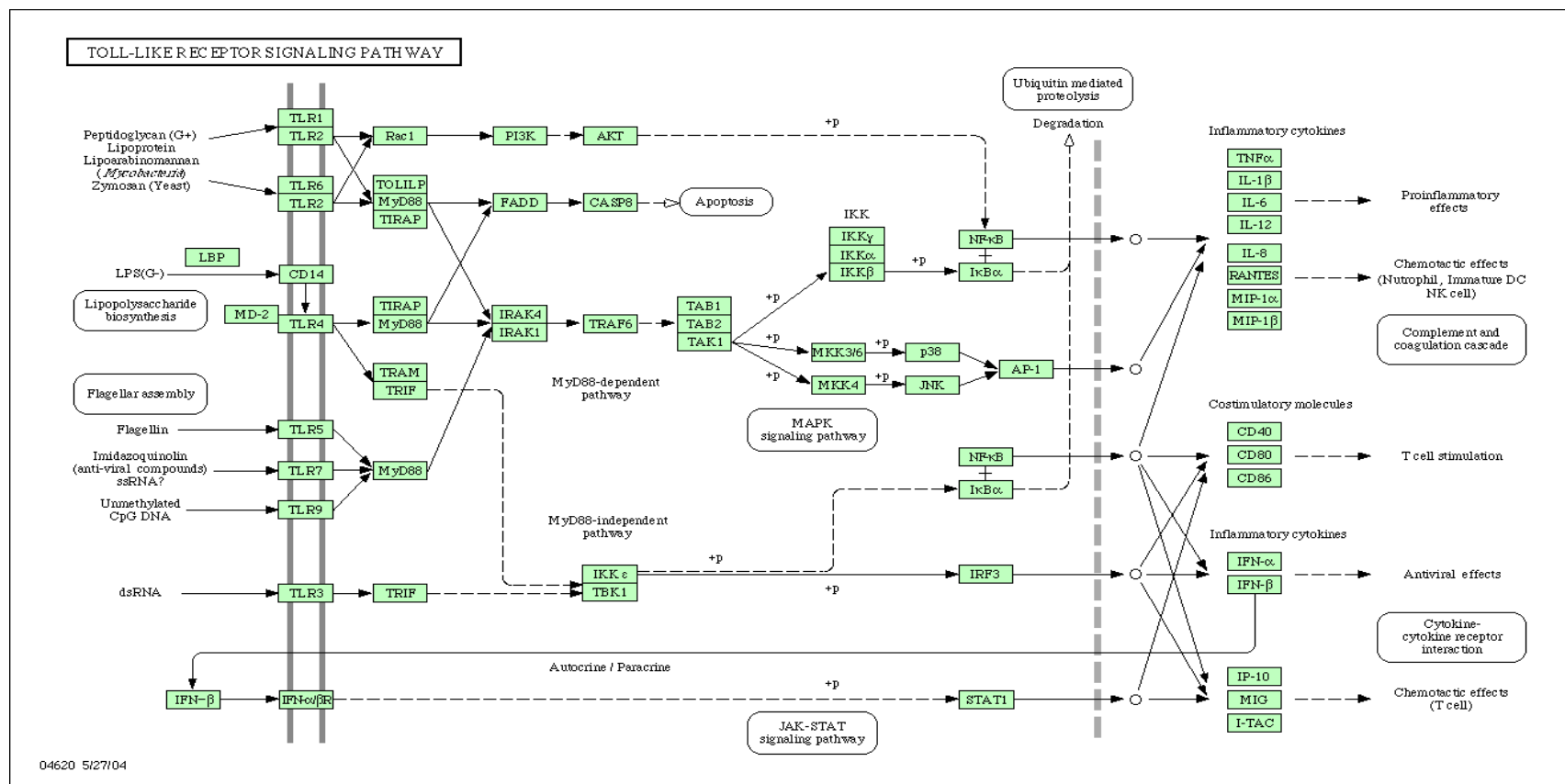
3.1.1.1 มีการแสดงภาพของวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน โดยในแผนภาพปรากฏกลุ่มของโปรตีนหลายกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ ซึ่งในแต่ละกลุ่มของโปรตีนภายในกระบวนการมีการแสดงบทบาท หน้าที่ แตกต่างออกไปตามกลุ่มของโปรตีน เช่น

3.1.1.1.1 กลุ่มของโปรตีนตัวรับบนเยื่อเซลล์ เช่น โมเลกุลตัวรับที่คล้ายโทลล์ (Toll-like receptor)

3.1.1.1.2 กลุ่มของโปรตีนตัวกลางที่ส่งสัญญาณภายในเซลล์ต่อจากโปรตีนตัวรับบนเยื่อเซลล์ เช่น MyD88, TRAM, Rac1 และ TRIF ฯลฯ

3.1.1.1.3 กลุ่มของโปรตีนที่เป็นผลผลิตจากการส่งสัญญาณโดยมักเป็นโปรตีนสำหรับส่งสัญญาณไปยังโมเลกุลตัวรับบนเยื่อเซลล์ของเซลล์ข้างเคียง เช่น Inflammatory cytokines และ Co-stimulatory molecules กลุ่มโปรตีนที่กระตุ้นให้เกิดกระบวนการเอพอพโทสิส เป็นต้น

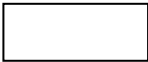
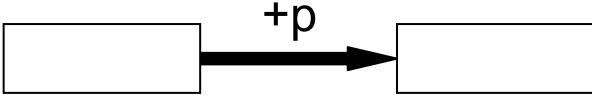
แผนภาพวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน ที่ได้จากฐานข้อมูล KEGG แสดงดังภาพประกอบ 18



ภาพประกอบ 18 แสดงวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน จากฐานข้อมูล KEGG ⁽⁵⁴⁾

สำหรับแผนภาพแสดงวิธีดังกล่าวมีสัญลักษณ์ที่แสดงปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างโปรตีนภายในกระบวนการส่งสัญญาณภายในเซลล์ ซึ่งสามารถสรุปสัญลักษณ์ต่างๆ ที่ปรากฏในแผนภาพได้ดังตาราง 3

ตาราง 3 แสดงความหมายของสัญลักษณ์ที่ปรากฏในแผนภาพแสดงวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน⁽⁵⁴⁾

Symbol	Explanation
	โปรตีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ
	โมเลกุลอื่นๆที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ ส่วนใหญ่เป็นไอออน ชีวโมเลกุลขนาดเล็ก หรือ มหโมเลกุล เช่น DNA
	ปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนในกระบวนการ
	ปฏิสัมพันธ์เชื่อมโยงไปยังกระบวนการอื่น
	การกระตุ้นระหว่างโปรตีนในกระบวนการ
	การเกิดกระบวนการ Phosphorylation ระหว่างโปรตีนในกระบวนการ
	การเกิดปรากฏการณ์โดยอ้อม (Indirect effect) ของโปรตีนในกระบวนการ
	กระตุ้นให้เกิด Expression ของยีน

3.1.1.2 มีโปรตีนของคนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการจำนวน 89 โปรตีน โดยมีหน้าที่แตกต่างกันไปตามกลุ่มของโปรตีน เช่นโปรตีน TLR 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 9 เป็นโปรตีนตัวรับที่ผิวเซลล์ หรือ RAC1, TOLLIP, MYD88, TIRAP, TICAM2 และ TICAM1 เป็นโปรตีนในกลุ่ม Adapters รับสัญญาณจากโปรตีนตัวรับที่ผิวเซลล์ ฯลฯ ซึ่งส่วนใหญ่โปรตีนที่ปรากฏในแผนภาพจะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการทำงานในระบบภูมิคุ้มกัน เช่น Proinflammatory effects, Chemotactic effects (กระตุ้นการทำงานของ Neutrophil, NK cell), T cell stimulation, Antiviral effects ฯลฯ

จากการศึกษาข้างต้นสามารถเสนอชื่อโปรตีน 89 โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน ดังตาราง 4

ตาราง 4 แสดงโปรตีน 89 ชนิด ซึ่งเกี่ยวข้องกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน ⁽⁵⁴⁾

Human protein's abbreviated name	Full name
AKT3	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 3 (protein kinase B, gamma)
AKT2	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2
AKT1	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1
FOS	v-fos FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog
JUN	jun oncogene
CASP8	caspase 8, apoptosis-related cysteine peptidase
CD14	CD14 molecule
CD40	CD40 molecule, TNF receptor superfamily member 5
CD80	CD80 molecule
CD86	CD86 molecule
FADD	Fas (TNFRSF6)-associated via death domain
IFNA1	interferon, alpha 1
IFNA2	interferon, alpha 2
IFNA4	interferon, alpha 4
IFNA5	interferon, alpha 5
IFNA6	interferon, alpha 6
IFNA7	interferon, alpha 7
IFNA8	interferon, alpha 8

ตาราง 4 (ต่อ)

Human protein's abbreviated name	Full name
IFNA10	interferon, alpha 10
IFNA13	interferon, alpha 13
IFNA14	interferon, alpha 14
IFNA16	interferon, alpha 16
IFNA17	interferon, alpha 17
IFNA21	interferon, alpha 21
IFNAR1	interferon (alpha, beta and omega) receptor 1
IFNAR2	interferon (alpha, beta and omega) receptor 2
IFNB1	interferon, beta 1, fibroblast
NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha
CHUK	conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase
IKBKB	inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase beta
IKBKE	inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase epsilon
IKBKG, IP2, IP1	inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase gamma
IL1B	interleukin 1, beta
IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)
IL8	interleukin 8
IL12A	interleukin 12A (natural killer cell stimulatory factor 1, cytotoxic lymphocyte maturation factor 1, p35)
IL12B	interleukin 12B (natural killer cell stimulatory factor 2, cytotoxic lymphocyte maturation factor 2, p40)
CXCL10	chemokine (C-X-C motif) ligand 10
IRAK1	interleukin-1 receptor-associated kinase 1
IRAK4	interleukin-1 receptor-associated kinase 4
IRF3	interferon regulatory factor 3
CXCL11	chemokine (C-X-C motif) ligand 11
MAPK8	mitogen-activated protein kinase 8

ตาราง 4 (ต่อ)

Human protein's abbreviated name	Full name
MAPK9	mitogen-activated protein kinase 9
MAPK10	mitogen-activated protein kinase 10
LBP	lipopolysaccharide binding protein
LY96	Lymphocyte antigen 96
CXCL9	chemokine (C-X-C motif) ligand 9
CCL3, SCYA3	chemokine (C-C motif) ligand 3
CCL4	chemokine (C-C motif) ligand 4
MAP2K3	mitogen-activated protein kinase kinase 3
MAP2K6	mitogen-activated protein kinase kinase 6
MAP2K4	mitogen-activated protein kinase kinase 4
MYD88	myeloid differentiation primary response gene (88)
NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1 (p105)
NFKB2	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 2 (p49/p100)
MAPK14	mitogen-activated protein kinase 14
MAPK11	mitogen-activated protein kinase 11
MAPK13	mitogen-activated protein kinase 13
MAPK12	mitogen-activated protein kinase 12
PIK3R5	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 5
PIK3CA	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, alpha polypeptide
PIK3CB	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, beta polypeptide
PIK3CD	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, delta polypeptide
PIK3CG	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, gamma polypeptide
PIK3R1	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 1 (p85 alpha)
PIK3R2	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 2 (p85 beta)
PIK3R3	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 3 (p55, gamma)
RAC1	ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (rho family, small GTP binding protein Rac1)
CCL5	chemokine (C-C motif) ligand 5

ตาราง 4 (ต่อ)

Human protein's abbreviated name	Full name
STAT1	signal transducer and activator of transcription 1
MAP3K7IP1	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 interacting protein 1
MAP3K7IP2	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 interacting protein 2
MAP3K7, TAK1	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7
TBK1	TANK-binding kinase 1
TIRAP	toll-interleukin 1 receptor (TIR) domain containing adaptor protein
TLR1	toll-like receptor 1
TLR2	toll-like receptor 2
TLR3	toll-like receptor 3
TLR4	toll-like receptor 4
TLR5	toll-like receptor 5
TLR6	toll-like receptor 6
TLR7	toll-like receptor 7
TLR9	toll-like receptor 9
TNF, TNFA	tumor necrosis factor (TNF superfamily, member 2)
TOLLIP	toll interacting protein
TRAF6	TNF receptor-associated factor 6
TICAM2	toll-like receptor adaptor molecule 2
TICAM1	toll-like receptor adaptor molecule 1

3.1.1.3 มีข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน 89 โปรตีนข้างต้นในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน ซึ่งเป็นข้อมูลเริ่มต้น (Input) สำหรับการเปรียบเทียบกับรหัสโปรตีนจากฐานข้อมูลของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 เช่น โปรตีน TLR1 ข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของ TLR1 จากข้อมูลโดยฐานข้อมูล KEGG พบว่ามีความยาวของกรดอะมิโนทั้งหมด 786 Amino acid และข้อมูลของลำดับกรดอะมิโน 786 amino acid แสดงดังภาพประกอบ 19

```
>TLR1
MTSIFHFAIIFMLILQIRIQLSESEFLVDRSKNGLIHVPKDLSQKTTILNISQNYISEL
WTSIDILSLSKRLILIISHNRIQYLDISVFKNQELEYLDLSHNKLVKISCHPTVNLKHLD
LSFNAFDALPICKEFGNMSQLKFLGLSTTHLEKSSVLPPIAHLNISKVLLVLGETYGEKED
PEGLQDFNTESLHIVFPTNKEFHFIIDVSVKTVANLELSNICKVLEDNKCSYFLSILAKL
QTNPKLSNLTNNIETTWNSEFIRILQLVWHTTVWYFSISNVKLQGGQLDFRDFDYSGTSLK
ALSIHQVVDVDFGFPQSYIYEIIFSNMNIKNFTVSGTRMVHMLCPSKISPFLHLDIFSNNLL
TDTVFENCGHLTELETILQMNQLKELSKIAEMTTQMKSLLQQLDISQNSVSYDEKKGDCS
WTKSLLSLNMSSNILTDITFRCLPPRIKVLDLHSNKIKSIPKQVVKLEALQELNVAFNSL
TDLPGCGSFSSLSVLIIDHNSVSHPSADFFQSCQKMRSIKAGDNPQCTCELGEFVKNID
QVSSEVLEGWPDYSYKCDYPESYRGTLKDFHMSSELSCNITLLIVTIVATMLVLAVTVTSL
CSYLDLPWYLRMVCQWTQTRRRARNIPLEELQRNLQFHAFISYSGHDSFWKNELLPNLE
KEGMQICLHERNFVPGKSIVENIITCIEKSYKSIFVLSPNFVQSEWCHYELYFAHHNLFH
EGNSLILILLEPIPQYSIPSSYHKLKSLMARRTYLEWPKEKSKRGLFWANLRAAINIKL
TEQAKK
```

ภาพประกอบ 19 แสดงข้อมูลของลำดับกรดอะมิโน 786 Amino acid ของโปรตีน TLR1 จาก
ฐานข้อมูล KEGG ในรูปแบบ FastA

3.1.2 ผลการศึกษาลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายใน เซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิสของคน

จากฐานข้อมูล KEGG พบว่า

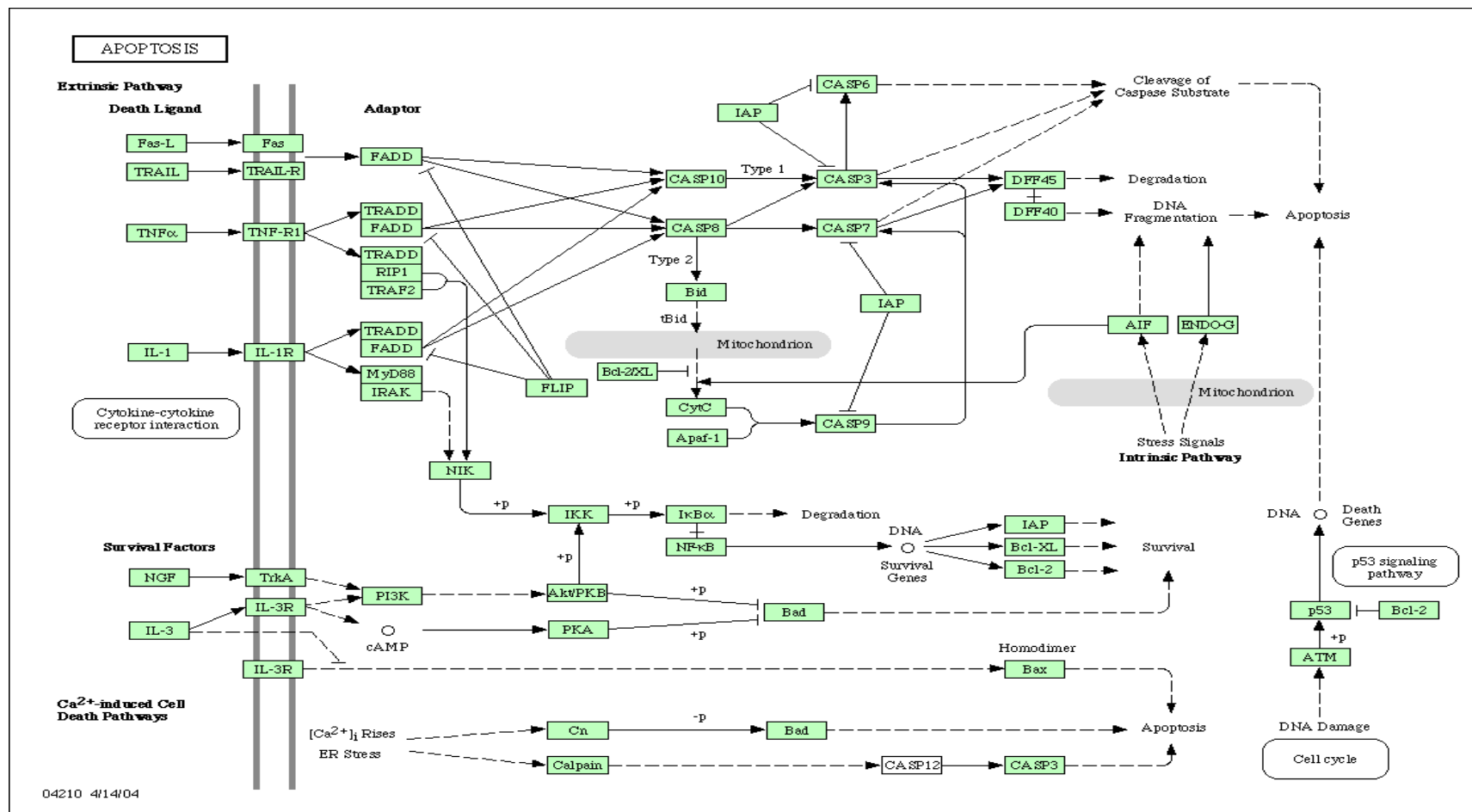
3.1.2.1 มีการแสดงแผนภาพวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการ
เอพอพโทซิสของคน ซึ่งปรากฏกลุ่มของโปรตีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ เช่น

- โปรตีนในกลุ่ม คาสเพส ซึ่งเป็นโปรตีนกลุ่ม Cystein-rich aspartate proteins ที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงสรีรวิทยาของเซลล์ในกระบวนการเอพอพโทซิส ได้แก่ CASP3, 6, 7 ฯลฯ

- โปรตีนในกลุ่มที่ควบคุมการเกิดกระบวนการเอพอพโทซิส ได้แก่ BCL2, BAX ฯลฯ

- โปรตีนในกลุ่มตัวรับที่ผิวเซลล์ที่จำเพาะต่อลิแกนด์ที่มากกระตุ้นให้เกิด
หรือยับยั้งกระบวนการเอพอพโทซิส ได้แก่ Fas-L, TRAIL, TNF α ฯลฯ

แผนภาพแสดงวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิสของคน ที่
ได้จากฐานข้อมูล KEGG ดังภาพประกอบ 20



ภาพประกอบ 20 แสดงวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิสของคน จากฐานข้อมูล KEGG ⁽⁵⁴⁾

3.1.2.2 ในแผนภาพมีสัญลักษณ์ต่างๆ ที่แสดงปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างโปรตีนภายในกระบวนการส่งสัญญาณภายในเซลล์เช่นเดียวกับกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกลล์

3.1.2.3 มีโปรตีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเอพอพโทสิสจำนวน 83 โปรตีน โดยหน้าที่ของโปรตีนที่รวบรวมได้ จะมีหน้าที่แตกต่างกัน เช่น FASLG, TNFSF10, TNF, IL1A, IL1B เป็นโปรตีนที่มีหน้าที่เป็น Death Ligand (กระตุ้นให้เกิดกระบวนการเอพอพโทสิส) หรือ NGFB และ IL3 เป็นโปรตีนที่มีหน้าที่ Survival Factors (กระตุ้นไม่ให้เกิดกระบวนการเอพอพโทสิส) ฯลฯ

ซึ่งจากการศึกษาสามารถเสนอชื่อโปรตีน 83 โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิสของคน ดังตาราง 5

ตาราง 5 แสดงโปรตีน 83 โปรตีนที่เกี่ยวข้องในวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการ
เอพอพโทสิสของคน⁽⁵³⁾

Human protein's abbreviated name	Full name
FASLG	Fas ligand
TNFSF10	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10
TNF, TNFA	tumor necrosis factor
IL1A	interleukin 1, alpha
IL1B	interleukin 1, beta
NGFB	nerve growth factor, beta polypeptide
IL3	interleukin 3
FAS	Fas (TNF receptor superfamily, member 6)
TNFRSF10D	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10d, decoy with truncated death domain
TNFRSF10C	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10c, decoy without an intracellular domain
TNFRSF10B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10b
TNFRSF10A	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10a
TNFRSF1A	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1A
IL1R1	interleukin 1 receptor, type I
IL1RAP	interleukin 1 receptor accessory protein
NTRK1	neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 1
CSF2RB	colony stimulating factor 2 receptor, beta, low-affinity (granulocyte-macrophage)
IL3RA	interleukin 3 receptor, alpha (low affinity)
FADD	Fas (TNFRSF6)-associated via death domain
TRADD	TNFRSF1A-associated via death domain
RIPK1	receptor (TNFRSF)-interacting serine-threonine kinase 1
TRAF2	TNF receptor-associated factor 2
MYD88	myeloid differentiation primary response gene (88)
IRAK	interleukin-1 receptor-associated kinase 3
IRAK1	interleukin-1 receptor-associated kinase 1

ตาราง 5 (ต่อ)

Human protein's abbreviated name	Full name
IRAK2	interleukin-1 receptor-associated kinase 2
IRAK4	interleukin-1 receptor-associated kinase 4
PIK3R5	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 5, p101
PIK3CA	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, alpha polypeptide
PIK3CB	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, beta polypeptide
PIK3CD	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, delta polypeptide
PIK3CG	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, gamma polypeptide
PIK3R1	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 1 (p85 alpha)
PIK3R3	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 3 (p55, gamma)
PIK3R2	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 2 (p85 beta)
MAP3K14	mitogen-activated protein kinase 14
CFLAR	CASP8 and FADD-like apoptosis regulator
CHUK	conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase
IKBKB	inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase beta
IKBKG, IP2, IP1	inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase beta
AKT1	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1
AKT2	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2
AKT3	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 3 (protein kinase B, gamma)
PRKAR1A	protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type I, alpha (tissue specific extinguisher 1)
PRKAR1B	protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type I, beta
PRKAR2A	protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type II, alpha
PRKAR2B	protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type II, beta
PRKACA	protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, alpha
PRKACB	protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, beta
PRKACG	protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, gamma

ตาราง 5 (ต่อ)

Human protein's abbreviated name	Full name
CHP	calcium binding protein P22
PPP3CA, CALN, CALNA	protein phosphatase 3 (formerly 2B), catalytic subunit, alpha isoform
PPP3CB, CALNB	protein phosphatase 3 (formerly 2B), catalytic subunit, beta isoform
PPP3CC	protein phosphatase 3 (formerly 2B), catalytic subunit, gamma isoform
PPP3R1	protein phosphatase 3 (formerly 2B), regulatory subunit B, alpha isoform
PPP3R2	protein phosphatase 3 (formerly 2B), regulatory subunit B, beta isoform
CAPN1	calpain 1
CAPN2	calpain 2
BCL2	B-cell CLL/lymphoma 2
BCL2L1	BCL2-like 1
CASP10	caspase 10, apoptosis-related cysteine peptidase
CASP8	caspase 8, apoptosis-related cysteine peptidase
BID	BH3 interacting domain death agonist
CYCS	cytochrome c, somatic
APAF1	apoptotic peptidase activating factor 1
NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha
NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1 (p105)
NFKB2	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 2 (p49/p100)
CASP6	caspase 6, apoptosis-related cysteine peptidase
CASP3	caspase 3, apoptosis-related cysteine peptidase
CASP7	caspase 7, apoptosis-related cysteine peptidase
BIRC2	baculoviral IAP repeat-containing 2
BIRC3	baculoviral IAP repeat-containing 3
BIRC4	baculoviral IAP repeat-containing 4
CASP9	caspase 9, apoptosis-related cysteine peptidase

ตาราง 5 (ต่อ)

Human protein's abbreviated name	Full name
BAD	BCL2-antagonist of cell death
BAX	BCL2-associated X protein
DFFB	DNA fragmentation factor, 40kDa, beta polypeptide (caspase-activated Dnase)
DFFA	DNA fragmentation factor, 45kDa, alpha polypeptide
AIFM1	apoptosis-inducing factor, mitochondrion-associated, 1
ENDO G	endonuclease G
TP53	tumor protein p53 (Li-Fraumeni syndrome)
ATM, ATA, ATDC, ATC, ATD	ataxia telangiectasia mutated (includes complementation groups A, C and D)

3.1.2.4 มีข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน 83 โปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิสของคน ซึ่งเป็นข้อมูลเริ่มต้น (Input) สำหรับการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 เช่น โปรตีน CASP3 ข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของ CASP3 จากการศึกษา และรวบรวมข้อมูลโดยฐานข้อมูล KEGG พบว่ามีความยาวของกรดอะมิโนทั้งหมด 277 Amino acid และข้อมูลของลำดับกรดอะมิโน 277 amino acid แสดงดังภาพประกอบ 21

```
>CASP3
MENTENSVDSKSIKNLEPKIIHGSESMDSGISLDNSYKMDYPEMGLCIIINNKNFHKSTG
MTSRSGTDVDAANLRETFRNLYEVRNKNDLTREEIVELMRDVSKEDHSKRSSFVCVLLS
HGEEGIIFGTNGPVDLKKITNFFRGDRCSLTGKPKLFIIQACRGTELDGCIETDSGVDD
DMACHKIPVEADFLYAYSTAPGYYSWRNSKDGSWFIQSLCAMLKQYADKLEFMHILTRVN
RKVATEFESFSFDFHAKKQIPCIIVSMLTKELYFYH
```

ภาพประกอบ 21 แสดงข้อมูลของลำดับกรดอะมิโน 277 Amino acid ของโปรตีน CASP3 จากฐานข้อมูล KEGG ในรูปแบบ FastA

3.2 ผลการศึกษา และรวบรวมฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

จากการศึกษา และรวบรวมข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด จากเว็บไซต์ต่าง ๆ พบว่า มีเว็บไซต์จำนวน 3 เว็บไซต์ ได้แก่ <http://www.wormbase.org/>, <http://www.flybase.net/> และ <http://www.ensembl.org> ที่เป็นฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง โดยในแต่ละเว็บไซต์จะมีข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในแต่ละชนิด เช่น <http://www.wormbase.org/> เวอร์ชัน wormpep 150, 20/10/05 เป็นเว็บไซต์ฐานข้อมูลของ *Caenorhabditis elegans* ซึ่งมีจำนวนโปรตีน 22,858 ชนิด และเป็นเว็บไซต์ฐานข้อมูลของ *Caenorhabditis briggsae* เวอร์ชัน wormpep 150, 20/10/05 ซึ่งมีจำนวนโปรตีน 19,334 ชนิด ตามลำดับ สำหรับข้อมูลของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น แสดงดังตาราง 6

ตาราง 6 ฐานข้อมูลโปรตีนที่ใช้ในการเปรียบเทียบของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

Invertebrate species	Databases	Version of database	Amount of protein in database
<i>Caenorhabditis elegans</i>	http://www.wormbase.org/	Release wormpep 150, 20/10/05	22,858
<i>Caenorhabditis briggsae</i>	http://www.wormbase.org/	Release wormpep 150, 20/10/05	19,334
<i>Drosophila melanogaster</i>	http://www.flybase.net/	Release 4.2.1	19,178
<i>Drosophila pseudoobscura</i>	http://www.flybase.net/	Release 2.0, 11/11/2005	9,871
<i>Anopheles gambiae</i>	www.ensembl.org	Ensemble V36 – Dec.2005	15,802
<i>Apis mellifera</i>	www.ensembl.org	Ensemble V36 – Dec.2005	27,755

จากตาราง 6 สามารถนำฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด จากเว็บไซต์ทั้ง 3 เว็บไซต์ เปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอพอโทสิสของคน ด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ได้

3.3 ผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในคน กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด โดยใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13

ขั้นตอนในการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนของคน กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด เริ่มต้นโดยนำข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคนจำนวน 89 โปรตีน และจากกระบวนการเอโฟฟโทลีสของคนจำนวน 83 โปรตีน มาจัดเก็บข้อมูลในรูปของ FastA ดังตัวอย่าง แสดงการจัดเก็บข้อมูลในรูปแบบของ FastA ของโปรตีน LBP, LY96 และ TLR1 ซึ่งเป็นโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน

>LBP

```
MGALARALPSILLALLLTSTPEALGANPGLVARITDKGLQYAAQEGLLALQSELLRITLP
DFTGDLRIPHVGRGRYEFHSLNIHSCCELLHSALRPVPGQGLSLSISDSSIRVQGRWKVRK
SFFKLQGSFVSVKGISISVNLLGSESSGRPTVTASSCSDIADVEVDMSGDLGWLNL
FHNQIESKFQKVLSERICEMIQKSVSSDLQPYLQTLPTTEIDSFADIDYSLVEAPRATA
QMLEVMFKGEIFHRNHRSPVTLAAVMSLP EEHNKMVYFAISDYVFNTASLVYHEEGYLN
FSITDDMIPPDNSIRLTTKSFPRFPVRLARLYPNMNLQGSVPSAPLLNFSPGNLSVDP
YMEIDAFVLLPSSSKEPVFRLSVATNVSATLTFNTSKITGFLKPGKVKVELKESKVGLFN
AELLEALLNYYILNTFYKFNKLAEGFPLPLLRVQLYDLGLQHKDFLFLGANVQYMR
V
```

>LY96

```
MLPFLFFSTLFSSIFTEAQKQYWCNSSDASISYTYCDKMQYPISINVNPCIELKGSKGL
LHIFYIPRRDLKQLYFNLYITVNTMNLPRKKEVICRGSDDDYSFCRALKGETVNTTISFS
FKGIKFSKGKYKCVVEAISGSPEEMLFCLEFVILHQPNSN
```

>IFNB1

```
MTNKCLLQIALLLCFSTTALSMSYNLLGLFQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFD
IPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLK
TVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINR
LTGYLRN
```

>TLR1

```
MTSIFHFAIIFMLILQIRIQLSESEFLVDRSKNGLIHVPKDLQKTTILNISQNYISEL
WTSDILSLSKLRILIIISHNRIQYLDISVFKNQELEYLDLSHNKLVKISCHPTVNLKHL
LSFNAFDALPICKEFGNMSQLKFLGLSTTHLEKSSVLP IAHNLISKVLLVLGETYGEKED
PEGLQDFNTESLHIVFPTNKEFHFI LDVSVKTVANLELSNIKCVLEDNKCSYFLSILAKL
QTNPKLSNLTNNIETTWNFSIRILQLVWHTTVWYFISINVKLQGGQLDFRDFDYSGTSLK
ALSIHQVSDVDFGFPQSYIYEIFSNMNIKNFTVSGTRMVHMLCPSKISPFHLDFSNLL
TDTVFENCGLHTELETILQMNQLKELSKIAEMTTQMKSLLQQLDISQNSVSYDEKKGD
WTKSLLSLNMSSNILTDTIFRCLPPRIKVLDLHSNKIKSIPKQVVKLEALQELNVAFNSL
TDLPGCGSFSSLSVLIIDHNSVSHPSADFFQSCQKMRSIKAGDNPFQCTCELGEFVKNI
QVSSEVLEGWPDYSYKCDYPESYRGTLTKDFHMSLSCNITLLIVTIVATMLVLAVTVTSL
CSYLDLPWYLRMVCQWTQTRRRARNIPLEELQRNLQFHAFISYSGHDSFWVKNELLPNLE
KEGMQICLHERNFVPGKSIVENIITCIEKSYKSIFVLSPNFVQSEWCHYELYFAHHNLFH
EGNSLILILLEPIQYSIPSSYHKLKSLMARRTYLEWPKEKSKRGLFWANLRAAINIKL
TEQAKK
```

จากนั้นนำข้อมูลที่จัดในรูปแบบ FastA ของทั้งสองกระบวนการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด โดยใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ซึ่งผลของการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 แสดงดังตาราง 7 แสดงตัวอย่างของ

ผลสรุปจากการเปรียบเทียบโปรตีนของคน (TLR1) ในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* เช่น CG5528-PA, CG6890-PA, CG5490-PB, CG5490-PA เป็นต้น

ตาราง 7 แสดงตัวอย่างของผลสรุปจากการเปรียบเทียบโปรตีนของคน (TLR1) ในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* จากฐานข้อมูล โดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13

Human protein	<i>Drosophila melanogaster</i> proteins	E-value	Length of sequences	Percent identity	Score (bits)
TLR1	CG5528-PA	1.00E-30	828	42.65734	131
TLR1	CG6890-PA	5.00E-24	143	21.8599	109
TLR1	CG5490-PB	6.00E-21	341	25.80645	99.8
TLR1	CG5490-PA	6.00E-21	341	25.80645	99.8
TLR1	CG7250-PA	2.00E-14	351	24.78632	77.8
TLR1	CG7121-PA	3.00E-14	362	23.20442	77.4
TLR1	CG9431-PA	9.00E-11	391	23.52941	65.9
TLR1	CG8561-PA	3.00E-10	532	22.93233	63.9
TLR1	CG1149-PA	4.00E-09	238	23.94958	60.5
TLR1	CG18241-PA	2.00E-06	130	25.38462	51.2
TLR1	CG10255-PA	4.00E-06	166	27.10843	50.4
TLR1	CG7896-PA	5.00E-06	342	22.51462	50.1
TLR1	CG8355-PC	5.00E-06	135	22.96296	50.1
TLR1	CG8355-PB	5.00E-06	135	22.96296	50.1
TLR1	CG8355-PA	5.00E-06	135	22.96296	50.1
TLR1	CG9611-PA	2.00E-05	175	26.28571	48.1
TLR1	CG9611-PB	2.00E-05	175	26.28571	48.1
TLR1	CG5819-PB	2.00E-05	496	22.58065	48.1

จากผลการเปรียบเทียบระหว่างโปรตีน TLR1 กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* พบว่าค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบโดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 หลายค่า ได้แก่ E-value, Length of sequences, Percent identity และ Score (bits) ซึ่งเป็นค่าที่สามารถนำไปวิเคราะห์ถึงระดับความเหมือน หรือคล้ายกันของการเปรียบเทียบกันระหว่างข้อมูลกรดอะมิโนของโปรตีนในกระบวนการทั้งสองของคน กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด โดยคำอธิบายของค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบโดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 สามารถสรุปได้ดังตาราง 8

ตาราง 8 ตารางแสดงความหมายของค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบโดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 (34)

ค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบโดย โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13	คำอธิบาย
E-value	ค่านัยทางสถิติของการเปรียบเทียบด้วยวิธี Pairwise alignment โดยถ้าค่า E-value มีค่าน้อย ถือว่าค่า E-value แสดงถึงการมีนัยทางสถิติ หรือมีความคล้ายกันมาก
Length of sequences	ความยาว หรือจำนวนของกรดอะมิโนในโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่เปรียบเทียบ กับข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของคน
Percent identity	เปอร์เซ็นต์เอกลักษณ์ หรือเปอร์เซ็นต์กรดอะมิโนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่เหมือนกับกรดอะมิโนของคน ซึ่งเทียบกับกรดอะมิโนทั้งหมดของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง
Score (bits)	ปริมาณที่เกิดจากการประมวลผลตำแหน่งของกรดอะมิโน และช่องว่าง โดยถ้าค่าของ Score (bits) สูงแสดงว่าในการเปรียบเทียบระหว่างลำดับกรดอะมิโนสองเส้นมีความคล้ายกันมาก

การวิเคราะห์ผลการเปรียบเทียบโดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 เพื่อนำไปสู่การสรุปผลการเปรียบเทียบ มีหลักพิจารณาดังนี้

1. พิจารณาค่า E-value เป็นสำคัญ กล่าวคือใช้ค่า E-value ในการวิเคราะห์ระดับความเหมือน หรือความคล้ายกันระหว่างกรดอะมิโนของโปรตีนในกระบวนการทั้งสองของคน กับข้อมูลกรดอะมิโนของโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

2. ผลของ E-value ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 จะตัดค่า E-value ที่มีค่าเท่ากับ และมากกว่า 10^{-4} ทิ้ง เพื่อความสะดวกในการวิเคราะห์ เนื่องจากข้อมูลที่ได้มีจำนวนมาก

3. ในการพิจารณาค่า E-value เพื่อการสรุปผลการเปรียบเทียบจะพิจารณาค่า E-value ที่มีค่าต่ำที่สุด (มีความเหมือน หรือคล้ายมากที่สุด) ของการเปรียบเทียบในแต่ละครั้งหนึ่งค่า ซึ่งในการพิจารณาดังกล่าวนำไปสู่การสรุปรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายคลึงกับคนมากที่สุด

ซึ่งจากการพิจารณาผลเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอโทลิซิสของคน กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด โดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 สามารถสรุปผลการเปรียบเทียบได้ดังตาราง 9 และตาราง 10

ตาราง 9 แสดงรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายคลึงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน

Human Toll-mediated proteins name	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
AKT3	CBP02324	C12D8.10b	ENSANGP00000019348	ENSAPMP00000010132	CG4006-PC	GA17848-PA
AKT2	CBP02324	C12D8.10b	ENSANGP00000019348	ENSAPMP00000010132	CG4006-PC	GA17848-PA
AKT1	CBP02324	C12D8.10b	ENSANGP00000019348	ENSAPMP00000010132	CG4006-PC	GA17848-PA
FOS	No match	No match	ENSANGP00000014048	No match	CG33956-PE	GA13774-PA
JUN	CBP14528	T24H10.7c	ENSANGP00000020405	ENSAPMP00000026493	CG2275-PA	GA15338-PA
CASP8	CBP20994	C48D1.2	ENSANGP00000010319	ENSAPMP00000034579	CG7788-PA	GA20588-PA
CD14	No match	No match	No match	No match	No match	GA18727-PA
CD40	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CD80	CBP10584	No match	No match	No match	CG33103-PB	GA17283-PA
CD86	No match	No match	ENSANGP00000012373	ENSAPMP00000010893	CG32600-PA	GA11692-PA
FADD	CBP08227	No match	No match	No match	CG12297-PA	GA11540-PA
IFNA1	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA2	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA4	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA5	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA6	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA7	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA8	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA10	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA13	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA14	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA16	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA17	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA21	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNAR1	CBP00623	C09D8.1b และ C09D8.1a	No match	No match	No match	No match
IFNAR2	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNB1	No match	No match	No match	No match	No match	No match
NFKBIA	CBP08227	B0350.2g	ENSANGP00000010014	ENSAPMP00000033636	CG5848-PC	GA19176-PA
CHUK	CBP01266	B0496.3b	ENSANGP00000016752	ENSAPMP00000016355	CG4201-PA	GA18025-PA
IKKB	CBP00612	Y38F1A.10	ENSANGP00000016752	ENSAPMP00000003533	CG4201-PA	GA18025-PA
IKBKE	CBP02053	K07A9.2	ENSANGP00000020964	ENSAPMP00000016355	CG2615-PB	GA15402-PA
IKBK, IP2, IP1	CBP03287	F35D11.11d	ENSANGP00000018440	ENSAPMP00000006990	CG6450-PC	GA22026-PA

ตาราง 9 (ต่อ)

Human Toll-mediated proteins name	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
IL1B	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL6	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL8	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL12A	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL12B	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CXCL10	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IRAK1	CBP20987	K09B11.1	ENSANGP00000010886	ENSAPMP00000022922	CG5974-PA	GA19272-PA
IRAK4	CBP20987	K09B11.1	ENSANGP00000010886	ENSAPMP00000024057	CG5974-PA	GA19272-PA
IRF3	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CXCL11	No match	No match	No match	No match	No match	No match
MAPK8	CBP01561	B0478.1b	ENSANGP00000017000	ENSAPMP00000020918	CG5680-PB	GA18909-PA
MAPK9	CBP01561	B0478.1b	ENSANGP00000017000	ENSAPMP00000020918	CG5680-PB	GA20320-PA
MAPK10	CBP01561	B0478.1b	ENSANGP00000017000	ENSAPMP00000020918	CG5680-PB	GA18909-PA
LBP	CBP18353	T19C3.5	No match	No match	No match	No match
LY96	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CXCL9	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CCL3, SCYA3	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CCL4	No match	No match	No match	No match	No match	No match
MAP2K3	CBP10341	R03G5.2	ENSANGP00000015596	ENSAPMP00000007414	CG12244-PA	GA11504-PA
MAP2K6	CBP10341	R03G5.2	ENSANGP00000015596	ENSAPMP00000007415	CG12244-PA	GA11504-PA
MAP2K4	CBP00513	F42G10.2	ENSANGP00000018682	ENSAPMP00000007414	CG9738-PA	GA21998-PA
MYD88	No match	No match	ENSANGP00000015749	ENSAPMP00000017610	CG2078-PA	GA15226-PA
NFKB1	CBP08227	B0350.2g	ENSANGP00000011101	ENSAPMP00000011860	CG6667-PA	GA19765-PA
NFKB2	CBP08227	B0350.2g	ENSANGP00000011101	ENSAPMP00000011860	CG6667-PA	GA19765-PA
MAPK14	CBP00415	B0218.3	ENSANGP00000014018	ENSAPMP00000029824	CG7393-PA	GA20320-PA
MAPK11	CBP00415	B0218.3	ENSANGP00000014018	ENSAPMP00000029824	CG7393-PA	GA20320-PA
MAPK13	CBP00415	B0218.3	ENSANGP00000014018	ENSAPMP00000029824	CG7393-PA	GA20320-PA
MAPK12	CBP00415	B0218.3	ENSANGP00000014018	ENSAPMP00000029824	CG7393-PA	GA20320-PA
PIK3R5	No match	No match	No match	No match	No match	No match
PIK3CA	CBP14469	B0334.8	ENSANGP00000020426	ENSAPMP00000019322	CG4141-PB	GA17984-PA
PIK3CB	CBP14469	B0334.8	ENSANGP00000020426	ENSAPMP00000010543	CG4141-PB	GA17984-PA
PIK3CD	CBP14469	B0334.8	ENSANGP00000020426	ENSAPMP00000026753	CG4141-PB	GA17984-PA
PIK3CG	CBP14469	B0334.8	ENSANGP00000020426	ENSAPMP00000026753	CG4141-PB	GA17984-PA
PIK3R1	CBP02618	Y110A7A	ENSANGP00000017664	ENSAPMP00000015612	CG2699-PA	GA15435-PA
PIK3R2	CBP02618	Y110A7A.10	ENSANGP00000017664	ENSAPMP00000015613	CG2699-PA	GA15435-PA
PIK3R3	CBP02618	Y110A7A.10	ENSANGP00000017664	ENSAPMP00000015612	CG2699-PA	GA15435-PA
RAC1	CBP09230	C09G12.8b	ENSANGP00000014228	ENSAPMP00000009484	CG2248-PA	GA15321-PA
CCL5	No match	No match	No match	No match	No match	No match
STAT1	CBP03337	Y51H4A.17	ENSANGP00000008156	ENSAPMP00000005800	CG4257-PF	No match
MAP3K7IP1	CBP07679	C44H4.5	ENSANGP00000011051	ENSAPMP00000017382	CG17746-PA	GA15122-PA
MAP3K7IP2	No match	No match	No match	No match	No match	No match
MAP3K7, TAK1	CBP18714	Y105C5A.24	ENSANGP00000010888	ENSAPMP00000024926	CG18492-PA	GA14958-PA
TBK1	CBP02053	Y60A3A.1	ENSANGP00000020964	ENSAPMP00000016355	CG2615-PB	GA15402-PA
TIRAP	No match	No match	No match	No match	No match	GA19932-PA
TLR1	CBP00712	C56E6.6	ENSANGP00000029576	ENSAPMP00000013907	CG5528-PA	GA18952-PA
TLR2	CBP01065	Y71F9B.8	ENSANGP00000025661	ENSAPMP00000026671	CG6890-PA	GA19932-PA
TLR3	CBP00712	C56E6.6	ENSANGP00000015265	ENSAPMP00000024226	CG5195-PA	GA18003-PA
TLR4	CBP00712	C56E6.6	ENSANGP00000025661	ENSAPMP00000013907	CG7121-PA	GA19932-PA
TLR5	CBP00712	C56E6.6	ENSANGP00000017229	ENSAPMP00000013910	CG4168-PA	GA19831-PA
TLR6	CBP04719	C56E6.6	ENSANGP00000029576	ENSAPMP00000026671	CG6890-PA	GA18952-PA
TLR7	CBP00712	C56E6.6	ENSANGP00000019508	ENSAPMP00000027588	CG7896-PA	GA20668-PA
TLR9	CBP00712	C56E6.6	ENSANGP00000015265	ENSAPMP00000014162	CG7896-PA	GA20668-PA
TNF, TNFA	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TOLLIP	CBP06247	F25H2.1	ENSANGP00000027130	ENSAPMP00000020569	No match	No match
TRAF6	CBP11708	F45G2.6	ENSANGP00000017658	ENSAPMP00000015862	CG10961-PA	GA10670-PA
TICAM2	No match	No match	ENSANGP00000025661	No match	No match	No match
TICAM1	No match	No match	No match	No match	No match	No match

ตาราง 10 แสดงรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายคลึงมากที่สุด
เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของ
กระบวนการเอพอพโทสิสของคน

Human apoptosis proteins name	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
FASLG	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFSF10	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNF, TNFA	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL1A	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL1B	No match	No match	No match	No match	No match	No match
NGFB	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL3	No match	No match	No match	No match	No match	No match
FAS	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFRSF10D	No match	No match	No match	ENSAPMP00000019163	No match	GA19372-PA
TNFRSF10C	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFRSF10B	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFRSF10A	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFRSF1A	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL1R1	CBP10276	W06H8.8g	ENSANGP00000016889	ENSAPMP00000026671	CG7121-PA	GA20117-PA
IL1RAP	CBP18615	No match	ENSANGP00000016889	ENSAPMP00000026671	CG5490-PB	GA18922-PA
NTRK1	CBP04741	C01G6.8c	ENSANGP00000020604	ENSAPMP00000000549	CG4926-PA	GA17849-PA
CSF2RB	No match	No match	No match	ENSAPMP00000035067	CG8581-PB	No match
IL3RA	No match	No match	No match	No match	No match	No match
FADD	CBP08227	No match	No match	No match	CG12297-PA	GA11540-PA
TRADD	No match	No match	No match	No match	No match	No match
RIPK1	CBP02144	Y48G1C.2	ENSANGP000000004762	ENSAPMP000000031288	CG31421-PA	GA17894-PA
TRAF2	CBP11708	F45G2.6	ENSANGP00000024649	ENSAPMP00000015862	CG3048-PB	GA15869-PA
MYD88	No match	No match	ENSANGP00000015749	ENSAPMP00000017610	CG2078-PA	GA15226-PA
IRAK3	CBP20987	K09B11.1	ENSANGP00000010886	ENSAPMP00000028924	CG5974-PA	GA19272-PA
IRAK1	CBP20987	K09B11.1	ENSANGP00000010886	ENSAPMP00000022922	CG5974-PA	GA19272-PA
IRAK2	CBP20987	K09B11.1	ENSANGP00000010886	ENSAPMP00000024057	CG5974-PA	GA19272-PA
IRAK4	CBP20987	K09B11.1	ENSANGP00000010886	ENSAPMP00000024057	CG5974-PA	GA19272-PA
PIK3R5	No match	No match	No match	No match	No match	No match
PIK3CA	CBP14469	B0334.8	ENSANGP00000020426	ENSAPMP00000019322	CG4141-PB	GA17984-PA
PIK3CB	CBP14469	B0334.8	ENSANGP00000020426	ENSAPMP00000010543	CG4141-PB	GA17984-PA
PIK3CD	CBP14469	B0334.8	ENSANGP00000020426	ENSAPMP000000026753	CG4141-PB	GA17984-PA
PIK3CG	CBP14469	B0334.8	ENSANGP00000020426	ENSAPMP000000026753	CG4141-PB	GA17984-PA
PIK3R1	CBP02618	Y110A7A.10	ENSANGP000000017664	ENSAPMP00000015612	CG2699-PA	GA15435-PA
PIK3R3	CBP02618	Y110A7A.10	ENSANGP00000017664	ENSAPMP00000015612	CG2699-PA	GA15435-PA
PIK3R2	CBP02618	Y110A7A.10	ENSANGP00000017664	ENSAPMP00000015613	CG2699-PA	GA15435-PA
MAP3K14	CBP04455	T19A5.2c	ENSANGP00000018180	ENSAPMP00000008496	CG7717-PB	GA20540-PA
CFLAR	No match	C48D1.2	ENSANGP00000015118	ENSAPMP00000034579	CG14902-PA	GA18828-PA
CHUK	CBP01266	B0496.3b	ENSANGP00000016752	ENSAPMP00000016355	CG4201-PA	GA18025-PA
IKBKB	CBP00612	Y38F1A.10	ENSANGP00000016752	ENSAPMP00000003533	CG4201-PA	GA18025-PA
IKBKG, IP2, IP1	CBP03287	F35D11.11d	ENSANGP00000018440	ENSAPMP00000006990	CG6450-PC	GA22026-PA
AKT1	CBP02324	C12D8.10b	ENSANGP00000019348	ENSAPMP00000010132	CG4006-PC	GA17848-PA
AKT2	CBP02324	C12D8.10b	ENSANGP00000019348	ENSAPMP00000010132	CG4006-PC	GA17848-PA
AKT3	CBP02324	C12D8.10b	ENSANGP00000019348	ENSAPMP00000010132	CG4006-PC	GA17848-PA
PRKAR1A	CBP03598	R07E4.6a	ENSANGP00000014053	ENSAPMP00000017491	CG3263-PA	GA17030-PA
PRKAR1B	CBP03598	R07E4.6a	ENSANGP00000014053	ENSAPMP00000017491	CG3263-PA	GA17030-PA
PRKAR2A	CBP03598	R07E4.6a	ENSANGP00000022232	ENSAPMP00000029947	CG15862-PB	GA13988-PA
PRKAR2B	CBP03598	R07E4.6b	ENSANGP00000022232	ENSAPMP00000029947	CG15862-PB	GA13988-PA
PRKACA	CBP04602	ZK909.2f	ENSANGP00000016916	ENSAPMP00000018561	CG4379-PA	GA18145-PA
PRKACB	CBP04602	ZK909.2f	ENSANGP00000016916	ENSAPMP00000018561	CG4379-PA	GA18145-PA
PRKACG	CBP04602	ZK909.2a	ENSANGP00000016916	ENSAPMP00000030266	CG4379-PA	GA18145-PA
CHP	CBP02311	ZK856.8	ENSANGP00000013323	ENSAPMP00000030334	CG2185-PA	GA18033-PA
PPP3CA, CALN, CALNA	CBP02044	C02F4.2a	ENSANGP00000022906	ENSAPMP00000014333	CG9819-PA	GA22069-PA

ตาราง 10 (ต่อ)

Human apoptosis proteins name	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
PPP3CB, CALNB	CBP02044	C02F4.2a	ENSANGP00000022906	ENSAPMP00000014333	CG9819-PA	GA22069-PA
PPP3CC	CBP02044	C02F4.2a	ENSANGP00000022906	ENSAPMP00000014333	CG9842-PA	GA22069-PA
PPP3R1	CBP24418	F55C10.1	ENSANGP00000024230	ENSAPMP00000023121	CG11217-PA	GA18033-PA
PPP3R2	CBP24418	F55C10.1	ENSANGP00000024230	ENSAPMP00000023121	CG11217-PA	GA18033-PA
CAPN1	CBP05450	C06G4.2b	ENSANGP00000016570	ENSAPMP00000035920	CG8107-PA	GA20829-PA
CAPN2	CBP05450	C06G4.2b	ENSANGP00000016570	ENSAPMP00000030317	CG8107-PA	GA20829-PA
BCL2	No match	No match	ENSANGP00000015933	ENSAPMP00000013524	CG33134-PA	GA17309-PA
BCL2L1	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CASP10	CBP20994	C48D1.2	ENSANGP00000010319	ENSAPMP00000034579	CG5370-PA	GA18828-PA
CASP8	CBP20994	C48D1.2	ENSANGP00000010319	ENSAPMP00000034579	CG7788-PA	GA20588-PA
BID	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CYCS	CBP08026	E04A4.7	ENSANGP00000020091	ENSAPMP00000005757	CG17903-PA	GA14714-PA
APAF1	CBP00384	Y45F10B.10	ENSANGP00000021164	ENSAPMP00000017924	CG17437-PA	GA14510-PA
NFKB1	CBP08227	B0350.2g	ENSANGP00000010014	ENSAPMP00000033636	CG5848-PC	GA19176-PA
NFKB1	CBP08227	B0350.2g	ENSANGP00000011101	ENSAPMP00000011860	CG6667-PA	GA19765-PA
NFKB2	CBP08227	B0350.2g	ENSANGP00000011101	ENSAPMP00000011860	CG6667-PA	GA19765-PA
CASP6	CBP20994	C48D1.2	ENSANGP00000010319	ENSAPMP00000034579	CG7788-PA	GA20588-PA
CASP3	CBP20994	C48D1.2	ENSANGP00000010319	ENSAPMP00000034579	CG7788-PA	GA20588-PA
CASP7	CBP20994	C48D1.2	ENSANGP00000010319	ENSAPMP00000034579	CG7788-PA	GA18828-PA
BIRC2	CBP22108	K11D12.9	ENSANGP00000016568	ENSAPMP00000025386	CG8293-PB	GA20963-PA
BIRC3	CBP22108	K11D12.9	ENSANGP00000016568	ENSAPMP00000013496	CG8293-PB	GA20963-PA
BIRC4	CBP22108	K11D12.9	ENSANGP00000016568	ENSAPMP00000025386	CG8293-PB	GA20963-PA
CASP9	CBP20994	C48D1.2	ENSANGP00000010319	ENSAPMP00000034579	CG5370-PA	GA20588-PA
BAD	No match	No match	No match	No match	No match	No match
BAX	No match	No match	ENSANGP00000015394	ENSAPMP00000001501	No match	No match
DFFB	No match	No match	No match	No match	No match	No match
DFFA	CBP08991	No match	ENSANGP00000016940	ENSAPMP00000018628	CG8357-PA	GA15166-PA
AIFM1	No match	No match	No match	No match	No match	No match
ENDOG	CBP01016	C41D11.8	ENSANGP00000018575	ENSAPMP00000030013	CG8862-PA	GA21375-PA
TP53	No match	No match	ENSANGP00000014785	No match	CG33336-PB	No match
ATM, ATA, ATDC, ATC, ATD	CBP05253	Y48G1BL.2	ENSANGP00000025430	ENSAPMP00000005964	CG6535-PA	GA19668-PA

หมายเหตุ

1. Invertebrates abbreviation's name แสดงรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่มีผลการเปรียบเทียบกับโปรตีนของคน ด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.1.13 ได้ E-value ต่ำที่สุด

2. Human Toll-mediated and Human apoptosis proteins name แสดงรายชื่อโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ และกระบวนการเอโพโทสิสของคน

3. "No match" แสดงผลการเปรียบเทียบกับโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.1.13 ระหว่างลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนของคน ที่ไม่เหมือนกับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังแต่ละชนิด

3.4 การยืนยันผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ของโปรตีนในคน กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ด้วยวิธี **Multiple sequence alignment** โดยโปรแกรม **PROBCONS** เวอร์ชัน 1.1

ในการยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 เป็นการเปรียบเทียบเพื่อยืนยันผลของการเปรียบเทียบจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ซึ่งจำเป็นต้องสกัดเอาข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของคน และลำดับกรดอะมิโนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 3 อันดับแรกที่มีค่า E-value ดีที่สุด (ต่ำที่สุด 3 อันดับแรก) มาจัดข้อมูลในรูปแบบของ FastA เพื่อเป็นข้อมูลเริ่มต้นของการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PROBCONS ต่อไป

ตัวอย่าง FastA format ของลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน TLR1 ของคน กับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน 3 อันดับของ *Drosophila melanogaster* ซึ่งได้แก่ CG6890-PA, CG5528-PA และ CG5490-PB

```
>TLR1
MTSIFHFAIIFMLILQIRIQLSESEFLVDRSKNGLIHVPKDL SQKTTILNISQNYISEL
WTSDILSLSKLRILIIISHNRIQYLDISVFKFNQELEYLDLSHNKLVKISCHPTVNLKHL
LSFNAFDALPICKEFGNMSQLKFLGLSTTHLEKSSVLPPIAHLNISKVLLVLGETYGEKE
PEGLQDFNTESLHIVFPTNKEFHFIIDVSVKTVANLELSNIKCVLEDNKCSYFLSILAKL
QTNPKLSNLTNNIETTWSNFIRILQLVWHTTVWYFSISNVKLQGLDFRDFDYSGTSLK
ALSIHQVVDVFGFPQSYIYEIIFSNMNIKNFTVSGTRMVHMLCPSKISPFLHLDFSNNLL
TDTVFENCGHLTELETILQMNQLKELSKIAEMTTQMKSLQQLDISQNSVSYDEKKGDCS
WTKSLLSLNMSSNILTDTIFRCLPPRIKVLDLHSNKIKSIPKQVVKLEALQELNVAFNSL
TDLPGCGSFSSLSVLIIDHNSVSHPSADFFQSCQKMRISKAGDNPFFQCTCELGEFVKNI
DQVSSEVLEGWPDSYKCDYPESYRGTLTKDFHMSSELSCNITLLIVTIVATMLVLAVTVTSL
CSYLDLPWYLRMVCQWTQTRRRARNIPLEELQRNLQFHAFISYSGHDSFWVKNE LLPNLE
KEGMQICLHERNFVPGKSIVENIITCIEKSYKSIFVLSPNFVQSEWCHYELYFAHHNLFH
EGSNSLILILLEPIQYSIPSSYHKLKSLMARRTYLEWPKEKSKRGLFWANLRAAINIKL
TEQAKK
>CG6890-PA type=protein; loc=3L:15201380..15205417; ID=CG6890-PA;
name=Tollo-PA;
db_xref=FlyBase:FBpp0075360, GB_protein:AAF49650.1, FlyBase:FBgn0029114, G
dflly:CG6890-PA; release=r4.2.1; species=dmel; len=1346
MLATTHMLYVLIATCVIPIFGAALSKTVLYQAPDECRWSGGGEHDITLVCHLRTINSELE
NTNFSVIQPQNTVRLRLCNDALFFQSSLSPDSFRSLVELRDLTIEYCKLGNLTDGSFRG
LQELRNLTIRTHNGDWSTMSLEMASNSFVEFRQLERLDLSLNNIWLIPDGMVCPLKSLQH
LNASYNKIQDISNFYFSASLSSRKARVCGSTLQSLDLSANKMVSLPTAMLSALGRLTHLN
MAKNMSMSFLADRAFEGLLSLRVVDLSANRLTSLPPELFAETKQLQEIYLRNNSINVLAPG
IFGELAELLVLDLASNELNSQWINAATFVGLKRLMMLDLSANKISRLEAHIFRPLASLQI
LKLEDNYIDQLPGGIFADLTNLHTLILSRNRISVIEQRTLQGLKNLLVLSLDFNRISRMD
QRSLVNCSQLQDLHLNDNKLQAVPEALAHVQLLKTLDVGENMISQIENTSITQLESYGL
RMTENSLTHIRRGVDFRMSQLILNLSQNKLSIEAGSLQRNSQLQAIRLDGNQLKSIAG
LFTELPNLVWLNISGNRLEKFDYSHIPIGLQWLDVRANRITQLGNYFEIESELSLSTFDA
SYNLLTEITASSIPNSVEVLYLNDNQISKIOPYTFFKKPNLTRVDLVRNRLTTLEPNALR
LSPIAEDREIPEFYIGHNAYECDNLDWLQKVNRESRTQPQLMDLDQIHCRLAYARGSSH
VSLIEAKSDDFLCKYASHCFALCHCCDFQACDCKMECPDRCSYHDQSWTSNVVDCSRAS
YEQTLPSHIPMDSTQLYLDGNNFRELQSHAFIGRKRLKVLHLNHSRIEVLHNRTFYGLLE
LEVQLQSNQLKALNGNEFQGLDNLQELYLQHNAIATIDTLTFTHLYHLKILRLDHNAIT
SFAVWNFLPSYLNELRLASNPWTCSEFIDKLRDYINRHEYVVDKLMKCDVISGNSTQQ
MVIYPGSGEPASLPVVQCSQTLPLGLDNNFNAYEQAGGENASNATSTKMILNQPPKLDYI
PILVAILTAFIFVMICISLVFIFRQEMRVWCHSRFGVRLFYNAQKDVKNEREKLFDAFV
```

SYSSKDELFVNEELAPMLEMGEHRYKLCCLHQRDFPVGGYLPETIVQAIDSSRRTIMVVSE
 NFIKSEWCRFEFKSAHQSVLRDRRRRLIVIVLGEVPQKELDPDLRLYLKNTNTYLQWGDKL
 FWQKLRFALPDVSSSQRSNVAGQSCHVPINHASYYYYHHHVHQQAMPLPHSVHHHQQQFML
 PPPPQQPGSFRRQPSLHQQQQQQQQIRGNNTTQQQQQQQAALLMGGGSVGGPAPQMIPL
 AGGIQQQSLPLPPNQPTPASRNLMH
 >CG5528-PA type=protein;
 loc=3L:complement(20295884..20296088,20296150..20296277,20296348..202979
 66,20298182..20298403,20298507..20298737,20299465..20299759); ID=CG5528-
 PA; name=Toll-9-PA;
 db_xref=FlyBase:FBpp0077898,GB_protein:AAF51581.1,FlyBase:FBgn0036978,Ga
 dfly:CG5528-PA; release=r4.2.1; species=dmel; len=900
 MCPKYIWDVIVLVCLFLGNVREAYTEFSIQDGLIIEPDSATTSSEEAEVSKERTDLKSL
 MLKYESDDGNSCLLDLIKDEVIWWQFPNGTLRDSTKKYAHKLYLDLSHGNLKDDSDLFRE
 AKLSRKVTIWRTEVFSAAFNTLTAAFPRTLYSMRESLKLLSLRGNNAELIPDAEDFARF
 VNESRLEASNSVPHHCELLLHNTTDLYDRECYLYFNNNTNMGQSITTGRNYTNFIKVLK
 DRFDQHGSSSQSIAWATFPKMPRLVELDISNCSIEYVSKEAFRNVSNLRRLFMSDNKIMT
 ISHDTFYVYVQGVQYLDLSFTNFLTYSYQLQLPTLEMALSLIYGLKIQNVFKYLPETIYL
 DLSHSMKTRNSAVAFHLGDKLKLFLSLCYTAIPMVSSSTIFKNTVLEGLDLSGNPYLSYNI
 IDDAFDGIANTLKLYFERSNIKDLEWSKSLKNLQVLGLAGNNINALTPAMFQSLESLEI
 LDLSNHHVGNWYRSFAHNNNSALRVNLNRSNTINMLSNEMLKDFERLDYLSLGDNDLFCDC
 HLRAVVEVAAAANNKDADCSYRLLNYSQNAVGEEVISLAESLIIDRKLWQSRYPWLQRSY
 SNIREFNANHHIILRFSSSEDYMAKCSAAQPYHLGDLGDLTLKFQLLDYEASQYYCFN
 NTDQLQVDELNCQIRMSDLAEELHHVTNTVIAVMGSLVGACILGFIYILKRWHIHHYYS
 SLKSAALLSSASKESVNKFTNISQRDPSAVYDIFISYCQNDRTWVLNELLNPNVEETGDVS
 ICLHERDFQIGVTILDNIISCMDSYSLMLIISSKFLLSHWCQFEMYLAQHRIFEVSKEH
 LILVFLEDIPRRKRPKTLQYLMGVKTYIKWPTAKEDRKLFWKRLKRSLEVIGINSREISV
 >CG5490-PB type=protein;
 loc=3R:join(22663459..22664678,22664796..22666866); ID=CG5490-PB;
 name=Tl-PB;
 db_xref=FlyBase:FBpp0084431,GB_protein:AAN14086.1,FlyBase:FBgn0003717,Ga
 dfly:CG5490-PB; release=r4.2.1; species=dmel; len=1097
 MSRLKAASELALLVILQLLQWPGSEASFGRDACSEMSIDGLCQCAPIMSEYEIICPANA
 ENPTFRLTIQPKDYVQIMCNLTDTTDYQQLPKKLRIGEVDRVQMRRRCMLPGHTPIASILD
 YLGIVSPTTLIFESDNLGMNITRQHLDRLHGLKRFRFTTRRLTHIPANLLTDMRNLHLE
 LRANIEEMPSHLFDDLENLESIEFGSNKLRQMPPRGIFGKMPKLKQLNLWSNQLHNLTKHD
 FEGATSVLGIDIHDNGIEQLPHDVFAHLTNVTDINLSANLFRSLPQGLFDHKNHLNEVRL
 MNNRVPLATLPSRLFANQPELQILRLRAELQSLPGDLFEHSTQITNISLGDNLKLTLPAT
 LLEHQVNLLSLDLSNNRLTHLPDSLFAHTTNLTDLRLLEDNLLTGISGDIFFSNLGNLVTLV
 MSRNRLRTIDSRAVSTNGLRHLHLDHNDIDLQQPLLDIMLQTQINSPFGYMHGLLTLNL
 RNNSIIFVYNDWKNTMLQLRELDLSYNNISSLGIEDLAFLSQNRLHVNMTNHNKIRRIALP
 EDVHLGEGYNNNLVHVDLNDNPLVCDCTILWFIQLVRGVHQPQYSRQFKLRTDRLVCSQP
 NVLEGTPVRQIEPQTLICPLDFSDDPREKRCPRGCNCHVRTYDKALVINCHSGNLTHVPR
 LPNLHKNMQLMELHLENNTLLRLPSANTPGYESVTSLLHLAGNNLTSIDVDQLPTNLTHLD
 ISWNHLQMLNATVLGFLNRTMKWRSVKLSGNPVMCDCTAKPLLLFTQDNFERIGDRNEMM
 CVNAEMPTRMVELSTNDICPAEKGVFIALAVVIALTGLLAGFTAALYYKFQTEIKIWL
 YAHNLLLWFVTEEDLDKDKKFDAFISYSHKDQSFIEDYLVLPQLEHGPQKFQLCVHERDWLVG
 GHIPENIMRSVADSRRTIIVLSQNFIKSEWARLEFRAAHSALNEGRSRIIVIIYSIDIGD
 VEKLDEELKAYLKMNITYLKWGPWFWDKLRFPALPHRRPVGNIGNGALIKTALKGSTDDKL
 ELIKPSPVTPPLTTTPAEATKNPLVAQLNGVTPHQAIMIANGKNGLTNLYTPNGKSHGNG
 HINGAFIINTNAKQSDV

การเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 เป็นการเปรียบเทียบความคล้ายคลึงของลำดับกรดอะมิโนหลายๆ เส้นในคราวเดียวกัน (สายลำดับกรดอะมิโนโปรตีนคน 1 เส้น กับลำดับกรดอะมิโนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 3 เส้น) ซึ่งผลการเปรียบเทียบที่ได้จากโปรแกรมดังกล่าวแสดงออกใน 4 ลักษณะ คือ

3.4.1 “*” แสดงว่ากรดอะมิโนในตำแหน่งที่เปรียบเทียบกันเหมือนกันทุกเส้น เช่น การเปรียบเทียบของโปรตีน TLR1 กับ โปรตีน CG6890-PA, CG5528-PA และ CG5490-PB ของ *Drosophila melanogaster*

TLR1	MTSIFHF	AIIFML	LILQIRI	--Q----	-----L-----	-----SEES	EFLVDR	SKNGL	--
CG6890-PA	MLATTH	MLYVLI	ATCVIPI	--F----	-----GAAL	SKTVLY	QAPDEC	RWSGGG	EHDI----
CG5528-PA	MCPKYI	WDVIVL	VCLFLGN	--V----	-----R-----	-----EAYT	EFSI---	QDGL--	----
CG5490-PB	MSRLKA	ASELAL	LVIIQL	LLQWP	GSEASFGR	-----DAC	SEMSI---	DGLCQ	----
	*	:	:	:	*	:	:	:	*

3.4.2 “:” แสดงว่ากรดอะมิโนในตำแหน่งที่เปรียบเทียบกันไม่เหมือนกันหนึ่งเส้น ส่วนเส้นที่เหลือเหมือนกัน เช่น การเปรียบเทียบของโปรตีน TLR1 กับ โปรตีน CG6890-PA, CG5528-PA และ CG5490-PB ของ *Drosophila melanogaster*

TLR1	MTSIFHF	AIIFML	LILQIRI	--Q----	-----L-----	-----SEES	EFLVDR	SKNGL	--
CG6890-PA	MLATTH	MLYVLI	ATCVIPI	--F----	-----GAAL	SKTVLY	QAPDEC	RWSGGG	EHDI----
CG5528-PA	MCPKYI	WDVIVL	VCLFLGN	--V----	-----R-----	-----EAYT	EFSI---	QDGL--	----
CG5490-PB	MSRLKA	ASELAL	LVIIQL	LLQWP	GSEASFGR	-----DAC	SEMSI---	DGLCQ	----
	*	:	:	:	*	:	:	:	*

3.4.3 “.” แสดงว่ากรดอะมิโนในตำแหน่งที่เปรียบเทียบกันมีความเหมือนกันน้อยมาก กล่าวคืออาจเหมือนกันเพียงตำแหน่งเดียว เช่น การเปรียบเทียบของโปรตีน TLR1 กับ โปรตีน CG6890-PA, CG5528-PA และ CG5490-PB ของ *Drosophila melanogaster*

TLR1	MTSIFHF	AIIFML	LILQIRI	--Q----	-----L-----	-----SEES	EFLVDR	SKNGL	--
CG6890-PA	MLATTH	MLYVLI	ATCVIPI	--F----	-----GAAL	SKTVLY	QAPDEC	RWSGGG	EHDI----
CG5528-PA	MCPKYI	WDVIVL	VCLFLGN	--V----	-----R-----	-----EAYT	EFSI---	QDGL--	----
CG5490-PB	MSRLKA	ASELAL	LVIIQL	LLQWP	GSEASFGR	-----DAC	SEMSI---	DGLCQ	----
	*	:	:	:	*	:	:	:	*

3.4.4 ในกรณีเป็นช่องว่าง แสดงว่า กรดอะมิโนในตำแหน่งที่เปรียบเทียบกันไม่มีความเหมือนกันในตำแหน่งที่เปรียบเทียบ

ผลของการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PROBCONS จะได้ข้อมูลออกเป็นจำนวนมาก ดังนั้นในการนำเสนอผลการทดลองในขั้นตอนนี้จะนำเสนอเพียงตัวอย่างบางส่วนของการเปรียบเทียบข้อมูลกรดอะมิโนด้วยวิธี Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS ดังภาพประกอบ 22 แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน TLR1 ในกระบวนการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* (CG6890-PA, CG5528-PA และ CG5490-PB)

PROBCONS version 1.1 multiple sequence alignment

```

TLR1      MTSIFHFHAIIFMLILQIRI-Q-----L-----SEESEFLVDRSKNGL-
CG6890-PA MLATTHMLYVLIATCVIPI-F---GAALSKTVLYQAPDECRWSGGGEHDI----TLVCH
CG5528-PA MCPKYIWDVIVLVCLFLGN-V-----R-----EAYTEFSI---QDGL-
CG5490-PB MSRLKAASELALLVILQLLQWPGEASFGR-----DACSEMSI----DGLCQ
*          : : : *:: . * : : *::

TLR1      -----IHVPKDLSQ-----
CG6890-PA LRTINSELE-----NTNFS-VIQPQNTVRLRLECNDALFFQSSLSPDSFRSLVELRD
CG5528-PA -----IIEPDSATTSSEE-----EE
CG5490-PB CAPIMSEYEIICPANAENPTFRLTIQPKDYVQIMCNLTDTTDYQQ-LPKKLR-IGEVDR
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

TLR1      -----KTTILNISQNYISELWTSILSLS-----KLRILIISHN
CG6890-PA LTIEYCKLGNLTDGSGFRGLQELRNLTIRTHNGDWSTMSLEMASNSFVEFRQLERLDLSLN
CG5528-PA VSKE-----RTDLKSLMLKYESDDGNSCLLDLI-----KDEVIWWQFP
CG5490-PB VQMRRCMLPGHTPIA-SILDYLGIVSPTTLIFESDNLGMNITRQHLDRLHGLKRFRFTTR
: . * * . * : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :

TLR1      RIQYLDISVFKFNQELEYLDLSHNKLV-----KIS-CHPTV---NLKHLDSLNAF
CG6890-PA NIWLIPDGMVCPLKSLQHLNASYNKIQDISNFYFSASLSSRKARVCGSTLQSLDLSANKM
CG5528-PA NGT-LRDSTKKYAHKL-YLDLSHGNLKDDSDLFREAKLS-RKVTIWR-TEVFSAAFNTL
CG5490-PB RLTHIPANLLTDMRNLSHLELRAN-IEEMPSHLFD-----DLE---NLESIEFGSNKL
. : . : : * : * : : : : . : * : * : : : : : : : * :

TLR1      DALPICKEFGNMSQLKFLGLSTTHLEK-----
CG6890-PA VSLPTA-MLSALGRLTHLNMAKNSMSFLADRAFEGLLSLRVVDLSANRLTSLPPEL----
CG5528-PA TAAPFRTLISMRESLKLLSLR-----GNNFAELIPDAEDFA
CG5490-PB RQMPRG-IFGKMPKLKQLNLWSNQLHNLTKHDFEGATSVLGIDIHDNGIEQLPHDV----
* . . . * . * : : : * : : * * * * : : * : * : * :

TLR1      -----SSVLPI-----AHL-NI-SKVLLVLGETYGEKE----DPEGLQDFNT
CG6890-PA -----F-----AETKQL-QEIYLR---NNSINV----LAPGIFGELA
CG5528-PA RFVNESRLEASNSVPHHCELLLHNTTDLYDRECYLY-FNNNTNMGQSITTGRNYTNFI
CG5490-PB -----F-----AHLTNV-TDINLS---ANLFRS-----LPQGLFDHNK
* . : * : : : : * : : : : :

TLR1      ESLHIVFPTNKE----FHFILDVSVKTVANL-----ELSNIKCVLEDNKC-SYFLSILAK
CG6890-PA ELLVLDLASNELNSQWINAATFVGLKRLMLDLSDANKISRLEAHIFRPLASLQILKLEDN
CG5528-PA KVLKDRFDQHGSSSQSIAWATFPKMPRLVELDISNCSIEYVSKEAFRN-----
CG5490-PB HLNEVRLMNNRV-----PLATLPSRLFANQPELQILRLRAE
. : : * * : : : * * * : : : : : * : : :

TLR1      -LQTNPKLSNLT-LNNIETTWSNFIRILQLVWHTTVWYFSISNVKLQGQLDFRDFDYSG
CG6890-PA YIDQLPGG-IFADLTNLHTLILSRNRISV-IEQRTLQGL-KNLLV-LSLDFNRISRMD
CG5528-PA -----VSNLRRLFMSDNKIMT-ISHDTFYVY-QGVQY-LDLSFTNFLTYS
CG5490-PB -LQSLPGD-LFEH-----
: : * : : : * : * : : * : : : : * * : :

TLR1      TSLKALSIHQVSDVFGFP-QSYIYEIF-----SNMNIKNFTVSGTRMVHMLC-PSKI
CG6890-PA -QRSLVN---CSQLQDLHLNDNKLQAVPEALA-HVQLLKTLDVGENMISQIENTSITQL
CG5528-PA YQLQLPTLEMALSLIYGLKIQQNVFKYLP-----ELIYLDLSHSHKMTNRSAAFAHL
CG5490-PB -----STQITNISLGDNLLKTLPATLLEHQVNLLSLDLSNNRLTHLPDSLFAHT
. . . : : : : : * : * : : : : : : : : : : : : : : :

TLR1      SPFLHLDFSNNLLTDTVFENCGLHTELETILQMNQLKELSKIAEMTT-----
CG6890-PA ESLYGLRMTENSLTHIRRGVFDRMSSLQILNLSQNKLSIEAGSLQRNSQLQAIRLDGNQ
CG5528-PA -----GDK
CG5490-PB TNLTDLRLEDNLLTGISGDI FSNLGNLVTLMVSRNRLRTIDSRAFVSTNGLRHLHLDHND
: * : : * * . : . * * : . * : : : : : * : : * * :

TLR1      -----QMKS
CG6890-PA LKSIAGLFTLPNLVWLNISGNRLEKFDYSHIPIGLQWLDVRANRITQLGNFYFIESELS
CG5528-PA LKFLSLCYTAIPMVSSSTIFKNTVLEGLDLSGNPY-----
CG5490-PB IDLQQPLD-----IMLQTQINSPFGYMH---GLLTLNLRNNSIIFVYNDWK-NTMLQ
: . : : * : : : . : . * * * * : * : : : .

TLR1      LQQLDISQNSVSYDEK-----KG-----

```

CG6890-PA LSTFDASYNLLTEITASSIPNSVEVLYLNDNQISKIQPYTFFKKPNLTRVDLVRNRLT-T
CG5528-PA -----LSYNIIDDA-FDGIANTLKYLYFERSNIK-----
CG5490-PB LRELDLSYNNISSLGY-----ED-----L-----AFLSQNRLHVN
* : * * * : . . * . * : : * * : : . * : * * *

TLR1
CG6890-PA LEPNALRLSPIAEDREIPEFY-----IGHNAYECDCLNDWLQKVNRES----RTQPQ
CG5528-PA -----
CG5490-PB MTHNKIRRIALPEDVHLGEGYNNNLVHVDLNDNPLVCDCTILWFIQLVRGVHKPQYSRQF
: * : * . . : * * . : * * . : * * . : * * . : * * . : *

TLR1
CG6890-PA LMDLDQIHCRLAYARGSSHVSLIEAKSDDFLCKYASHCFALCHCCDFQACDCKMECPDRC
CG5528-PA -----
CG5490-PB KLRTDRLVCSQPNVLEGTPVRQIEPQT-----LICPLDFSDDPRERKCPRG
: * : * . . : * * . : * * . : * * . : * * . : * * . : *

TLR1
CG6890-PA -----DCSWTKSLLSL-----
CG5528-PA SCYHDQSWTSNVVDCSRASYEQTLPSHIPMDSTQLYLDGNNFRELQSHAFIGRKRLKVLH
CG5490-PB -----DLEWSKSLKNL-----
NCHVRTYDKALVINCHSGNLT-----HVP-----RLPNLH
* : * . . : * * . : * * . : * * . : * * . : * * . : *

TLR1
CG6890-PA -NMSS-NILTDITFRCLPPRIKVLDLHSNKKIKSIPK-QVVKLEALQELNVAFNSLTDLPG
CG5528-PA LNHSRIEVLHNRTFYGLL-ELEVLQLQSNQLKALNGNEFQGLDNLQELYLQHNAIATIDT
CG5490-PB -----QVLGLAGNNINALTPAMFQSLESLEILDLSNHHVGNWYR
KN-----M-QLMELHLENNTLLRLPSANTPGYESVTSLHLAGNNLTSIDV
* * : * : * * . : * * . * : : : * : * : *

TLR1
CG6890-PA -C-GSFSSLSVLIIDHNSVSHPSA-DFFQSCQKMRSIKAGDNPFQCTCELGEFVK----
CG5528-PA LTF-THLYHLKILRLDHNAITSFAVWNFLPSY-LNELRLASNPTWCSEFIDKLR----
CG5490-PB SAF-HNNSALRVNLRSNTINMLSN-EMLKDFERLDYLSLGDNDFICDCHLRVAVEVAAA
DQLPTNLTHLDI-SWNHLQMLNATVLGFLNRTMKWRSVKLSGNPVMCDCTAKPLLL----
* : * : : : : : : * : * * : *

TLR1
CG6890-PA -----NID
CG5528-PA -----DYINRHEYVVDKL
CG5490-PB NNKDADCSYRLLNYSQNAVGEVVISLAESLIIDRKLWQSRYPWLQRSYSNIREFNRAH
-----FTQDNFERIGDRN
: *

TLR1
CG6890-PA QVSSEVLEGWPDSYKCDYPESYRGTLTKDF-----HMS
CG5528-PA KMKCDVISGNSTQQMVIYPGSGEPASLPVVQCSQTLPLGLDN-----NFNYAEQAGGE
CG5490-PB IIK---LRFSSDYMAKCSAAQPYHLGDLTDLKQFLLDYEASQYYCFNNTDQLQVD
EMMCVN-AEMP-----T-----RMV
: . : . . : . * : . * * : * : * * : *

TLR1
CG6890-PA E----LSCNITL-----LIVTIVATMLVLA-VTVTSLCSYLDLPWYLRMVCQWTQ
CG5528-PA NASNATSTKMIL-NQPPKLDYIP-ILVAILTAFIFVMICISLVFIF-RQEMR---VWCH
CG5490-PB E----LNCQIRMSDLAEELHHVTNTVIAVMGSLVGACILGFIIYK-RWHIH---YYYS
E----LSTNDIC--PAEKGVFIA-LAVVIALTGLLAGFTAALYYKF-QTEIK---IWLY
: . : : . : : : : : : : : *

TLR1
CG6890-PA TRRRARN-I-----PLEELQRNLQFHAFISYSGHDSFWKNELLPNLEKE-GM
CG5528-PA SRFGVRLFYNAQK-----DVDKNEREKLFDAFVSYSKDEL FVNEELAPMLEMGEHRY
CG5490-PB SLKSAALLSSASKESVNKFTNISQRDPSAVYDIFISYQNDRTWVLNELLPNVEETG-DV
AHN-LLLWFV-----TEEDLDKDKKFDAFISYSHKDQSFIEDYLPQLEHGPQKF
: * * . . : . : * * . * : : * * : *

TLR1
CG6890-PA QICLHERNFVPGKSIVENIITCIEKSYKSIFVLSPNFVQSEWCHYELYFAHNNLFHEGSN
CG5528-PA KLCLHQRFDPVGGYLPETIVQAIDSSRRTIMVSENFIKSEWCRFEFKSAHQSVLRDRRR
CG5490-PB SICLHERDFQIGVTILDNIISCMDRSYSMLIISSEKFLLSHWCFEMYLAQHRIFEVSKE
QLCVHERDWLVGGHIPENIMRSVADSRRTIIVLSQNFIKSEWARLEFRAAHRALSNEGRS
: * * : * : * : * : * : * : * : *

TLR1
CG6890-PA SLILILLEPIQY-SIPSSYHKLKSLMARTTYLEWPKEKSKRGLFWANLRAAINIK----
CG5528-PA RLIVIVLGEVPQK-ELDP---DLRLYLKNTNTYLQWGD-----KLFWQKLRFALPDVSSSQ
CG5490-PB HLILVFLEDIPRR-KRPK---TLQYLMVDKTYIKWPTAKEDRKLFWKRLKRSLEVI----
RIIVIIYSIDIGDVEKLDE---ELKAYLKMNTYLKWGD-----PWFWDKLRFALPHRRPV-
: * : : : * : : * * : * : * : *

TLR1

```

CG6890-PA  RSNVAGQSCHVPINHASYYYYHHVHQQAMPLPHSVHHHQQQFMLPPPPQQPGSFRRQPSL
CG5528-PA  -----
CG5490-PB  -GNIG---NGALIKTALKGSTDDKLELIKPS-----VTPPLTTPPAEATKNPLV
          .*: . . *: * . . : * * : ** . *.. :*:
TLR1
CG6890-PA  HQQQQQQQQIRGNNTTQQQQQQAALLMGGGSVGGPAP-QMIPLAGGIQQSLPLPPNQ
CG5528-PA  -----
CG5490-PB  AQLN-----GVTPHQAIMIANGKNGLTNLYTPNG
          * : * : * * * : * * : : . **
TLR1
CG6890-PA  QP-----TPASRNLHM
CG5528-PA  -----GINSREISV
CG5490-PB  KSHGNHNGHNGAFIINTNAKQSDV
          :. :.:

```

ภาพประกอบ 22 ผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน TLR1 ในกระบวนการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* (CG6890-PA, CG5528-PA และ CG5490-PB) ด้วยวิธี Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS

และภาพประกอบ 23 แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน IL1R1 ในกระบวนการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพิโทซิสของคน กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* (CG16857-PA, CG7121-P และ CG5490-PB)

PROBCONS version 1.1 multiple sequence alignment

```

IL1R1      MKVLL-----RLICFIALL---I-SSLEADKCKERE-----
CG16857-PA MPAKRS-----RTFRQSGSALLALLAIILLM---NISCTSAARDHRRQTNLEAKVGS
CG7121-PA  MLTYLPVWVLFALLVLRSATGQIIPPTFCLGL---SPQCTCAAE-----
CG5490-PB  MSRLKA-----ASELALLVILQLLQWPGSEASFGRDACSEMSIDGLCQC
          * . . :*: . . : * : : . :. * : :. :.
IL1R1      -----EKIILVSSANEIDVR
CG16857-PA HVVFNCY-IDFPFDAPIP-YLVHWTCKDNKKIFTWYEQETSTSEL-----
CG7121-PA  ---GNVVRFHCPDEY---AMLLEV-SEPGASLYMSYYASTELQWLPR-FNISSLVKIEFD
CG5490-PB  APIMSEYEIICPANAENPTFRLTIQPKDYVQIMCNLTDTTDYQLPKKLRIGEVDRVQMR
          : . .: * : *:: * .: .: * . * : : . . :. :.
IL1R1      PCPLNPNEHK-----GTITWYKDDSKT-----PVSTEQ
CG16857-PA -----F
CG7121-PA  AYIFWPEKFLSDLLKTLGVQTVKTIIFRDRTLETVVTRDVLNSGNGYMETSQPENITTWH
CG5490-PB  RCMLPGHTPIASILDYLGIVSPTTLIFESDNLGM-----NITRQH
          : . . :*: ** : : * : : . :. :.
IL1R1      ASRIHQHKEK-----
CG16857-PA NGRHLHVEN-----HPEFG-----RASVNLTAIRESDQGWYHCQVSFNR
CG7121-PA  FGSVPGLKKFKFFSH-VPELQESIFHGFDTLRDLHLSVNVTT-----LPGN
CG5490-PB  LDRLHGLKRFRFTTTRLTHIPANLLTDMRNLSHLELRANIEE-----MPSH
          . : .: * :. :. :. :. * . * . *: :*..
IL1R1      -----
CG16857-PA SPSVRNNGTAYHLAVQGGSLIRIP-PV---NQTIREGQTA-FFHCV-----
CG7121-PA  MLST-VNGTLKTLTIESPGIVSFGNPLLRELQQLRNLSLA-LIHPF-----
CG5490-PB  LFDD-LE-NLESIEFGSNKLRQMPRGIFGKMPKLKQLNLWSNQLHNLTKHDFEGATSVLG
          . :*. : . . : : . :. : : : * .
IL1R1      -----LW-----

```

```

CG16857-PA ---MKHPE-NSQASWYKDGVLLQEVQDLVRRFYMGPDG-SLS-----
CG7121-PA ---HERDK-QLQPHFFGSMTNLEEVRLA-----SA-TSS-----
CG5490-PB IDIHDNGIEQLPHDVF AHLTNVTDINLS-----ANLFRSLPQGLFDHNKHLNEVRLM
      . . . . .
IL1R1 -----FVPAKVEDSGHYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYNAQAIFKQKLPV
CG16857-PA -----IDPTMMSDLGEYECKVRNSDGELQTAKAFLNIQYKAKVIYAPPEVF---LPY
CG7121-PA -----VNRSFMFKGTNKLQLIKMNGNDDL-----MELPGEIF---LDQ
CG5490-PB NNRVPLATLPSRLFANQPELQILRLR-AEL-----QSLPGDLF---EHS
      . . . . . * : : : : : *
IL1R1 AGDGGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCKPLLLDNIHFSGVK---DRLIVMNVAEKH
CG16857-PA GQPAVLDCHE-----RANPPLKLNLRWEKD-GLLFDSYNVPGVFYKMGSLFFAKVDENH
CG7121-PA VNLKTLDLSC-----NAIVTLHED-----VFKGLGNLTLLDL----
CG5490-PB TQITNISLGD-----NLLKTLPAT-----LLEHQVNLLSLDL----
      : . * : * * * : : : * : *
IL1R1 RGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEV-DLGSQIQLICN
CG16857-PA AGSYTCT-PYNDLGTDP-SPVISVIVL-----RPPIFSVTPKAIYIQLGEAAELPCE
CG7121-PA -----SKNRLTNLSSTIFAPLTS LN-VLRLNKNLSLTA
CG5490-PB -----SNNRLTHLPDSLFAHTTNLT-DLRLEDNLLTG
      * . * * . * . * : * : * : * : * : * : * : *
IL1R1 VTGQL-S---D-----
CG16857-PA AIDRD-GNNRPS-----
CG7121-PA MSPSVFQ---DVVSLNYIEMVN-----TQ-----
CG5490-PB ISGDIFS---NLGNLVTLVMSRNLRTIDSRAVSTNGLRHLHLDHNDIDLQQPLLDIM
      * . : . * : * . : :
IL1R1 -----IAYWKWNGSVI-----DEDDPVL
CG16857-PA -----IIWGRKDGQ-----PL
CG7121-PA -----
CG5490-PB LQTQINSPFGYMHGLLTNLNRNNSIIFVYNDWKNTMLQLRELDLSYNNISSLGYEDLAFL
      : : . : : ** . *
IL1R1 GEDYYSVENPANKRR-----
CG16857-PA PADRFSLSG-----
CG7121-PA -----
CG5490-PB SQNRLHVNMTNHNKIRRIALPEDVHLGEGYNNNLVHVDLNDNPLVCDCTILWFIQLVRGVH
      : : . * *
IL1R1 -----STLITVLNISEIESR-----
CG16857-PA -----GNLTITGLVEGDRG-----
CG7121-PA --FYGATLLMNYEAVVCTNDEACQ-----Y-KSAEWQCDPRCICWV
CG5490-PB KPQYSRQFKLRTDRLVCSQPNVLEGTVPVRQIEPQTLICPLDFSD-DPRERKCPRGCNCHV
      * . : : : : * : : : : * : * * *
IL1R1 -----
CG16857-PA -----
CG7121-PA QRSVGS LIVDCRGTSLEELPDLPT-TLLSTVLKVGNNSLTSLPTVSEHSGYANVSGLF
CG5490-PB RTYDKALVINCHSGNLTHVPRLPNLHKNMQLMELHLENNTLLRLPSAN-TPGYESVTS LH
      : : : : * . * : * * . : : * : * * : * : *
IL1R1 -----FYKHPFTCFA
CG16857-PA -----IYE-----CSA
CG7121-PA LSDNNLTSLGSGDQLPDNLTHLDVRGNQIQSLSDFFLLFQEPNNTMTLSLSGNPITCGC
CG5490-PB LAGNNLT SID-VDQLPTNLTHLDISWNHLQMLNATVLGFLNRTMKWRSVKLSGNP WMCDC
      * : . * * * : . * * * * : * : * * . : : : : * * .
IL1R1 KNTHGIDAAYIQ-LIYPVTNFQKH-----MI-----GICVTL
CG16857-PA TNEAATITAEAEELMIENIAPRAPH-----NL-----TANSTE
CG7121-PA E-----SLSL-LFFVRTNPQRVRDIADIVCTKQKKSF-QQMEAFELCPSY-VLLIS
CG5490-PB T-----AKPL-LLFTQDNFERIGDRNEMMCVNAEMPTRMVELSTNDICPAEKGVFIAL
      * . : : : : * : : : : : : : * :
IL1R1 T-----VIIVC-SVFIYKIFKIDIVLWYRD-S-CYDFLP IKAS-----DG
CG16857-PA T-----CITIR-WQPGYLRPNLEYTVWYRL-MEAP EWRTLRLVDKKVMEATVQHLQPG
CG7121-PA CVVGG-LVIVICLLTVFYLMFQQELKIWLYNNNL-CLWWVSEEELD-----KD
CG5490-PB AVVIALTG LLAGFTAALYYKFQTEIKIWL YAHNL-LLWFVTEEDLD-----KD
      * * . * : : : * : : : * : : . *
IL1R1 KTYDAYILYPKTVGEGSTSDCDIFVF-KVLPEVLEKQCGYKLFYIGRDDYVGEDIVEVIN

```

```

CG16857-PA  KEYEFMVLSQDKYGDGMFSK-QFRF-QTLPSPIRA-----DDFDAQQLQHDLG
CG7121-PA    KTYDAFISYSH-----KDEE-LIS-KLLPKLES GPHPFRLCLHWRDVLVGDCIPEQIV
CG5490-PB    KKFD AFISYSH-----KDQS-FIEDYLV PQLEHGPQKFQLCVHERDWLVGGHIPENIM
*  ::  :  .  .  .  *:*  .  .  .  :  *  .  .  .  :  *  ::  **  .  .  :
IL1R1        ENVKKSRRLLIILVRETSGFSWLGGSSEEQIAMYNALVQDGIKVVLLLELEKIQDYEKMP
CG16857-PA  QV-----TAPAGGL-----GAPW
CG7121-PA    RTVDDSKRVIIIVLSQHFIDSVWA-RMEFRIAYQATLQDKRKRIIIILYRELEHMNGIDS
CG5490-PB    RSVADSRRTIIVLSQNFIFKSEWA-RLEFRAAHRSALENGRSRIIVIIYSDIGDVEKLDE
.  *  .  *:*  **:*  :  .  .  .  *  :  *  :  *  :  :  :  :  .  .  :
IL1R1        SIKFIKQKHGA-IRWSGDF-TQGPQSAKTRFWKNVRYHMPVQRRSPS-----
CG16857-PA  NLTAISNQQGWLLHWEHPVQGLEGLRLYAVRWWKEPEHFLIGHAETFD---NYYQLRHLK
CG7121-PA    ELRAYLKLNTY-LKWGD-----PLFWSKLYYAMPHNRRVLK-----
CG5490-PB    ELKAYLKMNTY-LKWGD-----PWFWDKLRFALPHRRPVGNIGNGALIKTALK
.:  :  :  :  :  *  .  :  *  :  :  *  :  .  :  .  .  .  .  .  .  **
IL1R1        ----SKHQLLSPA-----TKEK-----
CG16857-PA  EDTLFKVQVLAVG-----TETQQSVPSHELLIDVPSQRKVRALIIGSSVGVI
CG7121-PA    -----
CG5490-PB    GSTDDKLELIKPSPTPLTPPAEATKNP-----LVAQLN
.  *  *  :  :  .  .  .  *  :  .  .  .  :
IL1R1        -----LQRE-----AHVPLG
CG16857-PA  FLLCALCAFLYVKRSCLRHLFAKDSSASEDEDTAESGDCDSDEQDQRDRDSIKIRQST
CG7121-PA    -----GQKK-----HAGPLI
CG5490-PB    GVTPHQAIMIANGKNGLTNLTYTPNGKS-----HGNGHINGAFIINTN----AKQSDV
:  .  :  :  .  *  :  *  :  :  :  .  *  .  .  :  .

```

ภาพประกอบ 23 ผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน IL1R1 ในกระบวนการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพิโทซิสของคน กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* (CG16857-PA, CG7121-PA และ CG5490-PB) ด้วยวิธี Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1

การยืนยันผลการเปรียบเทียบจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ด้วยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 เป็นการดูแนวโน้มความเหมือนของการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนในแต่ละตำแหน่งของข้อมูลสายโปรตีนที่เปรียบเทียบกันหลายเส้นเท่านั้น ซึ่งผลการเปรียบเทียบดังกล่าวไม่ได้บอกถึงระดับความเหมือนออกเป็นตัวเลขทางสถิติเหมือนในโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอื่นเพิ่มเติม โดยในขั้นตอนต่อไปจะใช้ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Phylogenetic analysis ด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 ซึ่งพิจารณา Phylogram ที่ได้จากการวิเคราะห์เป็นข้อมูลเพิ่มเติม เพื่อยืนยันผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในคน กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ต่อไป

3.5 การยืนยันผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ของโปรตีนในคน กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ด้วยวิธี **Phylogenetic analysis** โดยโปรแกรม **PHYLP** เวอร์ชัน 3.67

เป็นการพิจารณาความสอดคล้องกันของผลที่ได้จากการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในคน กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดโดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 กับ Phylogram จากโปรแกรม PHYLP เวอร์ชัน 3.67 ซึ่งความสอดคล้องของทั้งสองโปรแกรมดังกล่าวมีหลักพิจารณาดังนี้

3.5.1. ผลที่ได้จากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ที่พิจารณามีค่า E-value น้อยแสดงว่าการเปรียบเทียบมีความคล้ายกันมาก ดังตาราง 11

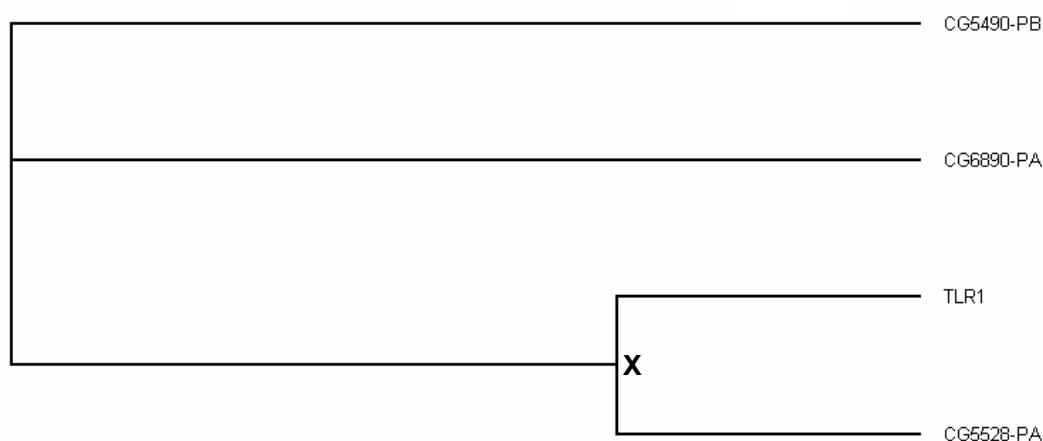
ตาราง 11 แสดงตัวอย่างของผลสรุปจากการเปรียบเทียบโปรตีนของคน (TLR1) ในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* คือ CG5528-PA, CG6890-PA และ CG5490-PB โดยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 เพื่อพิจารณาความสอดคล้องกันกับ Phylogram จากโปรแกรม PHYLP เวอร์ชัน 3.67

Human protein	<i>Drosophila melanogaster</i> proteins	E-value	Length of sequences	Percent identity	Score (bits)
TLR1	CG5528-PA	1.00E-30	828	42.65734	131
TLR1	CG6890-PA	5.00E-24	143	21.8599	109
TLR1	CG5490-PB	6.00E-21	341	25.80645	99.8

จากตาราง 11 พบว่าโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* คือโปรตีน CG5528-PA มีความคล้ายกันกับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน TLR1 มากที่สุด เพราะมีค่า E-value น้อยที่สุด (1.00E-30) เมื่อเทียบกับโปรตีน CG6890-PA และ CG5490-PB ซึ่งมีค่า E-value เป็น 5.00E-24 และ 6.00E-21 ตามลำดับ

3.5.2. ผลจาก Phylogram ของโปรแกรม PHYLP เวอร์ชัน 3.67 แสดงความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการของโปรตีนของคน กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง โดยโปรตีนที่มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน พิจารณาจากกิ่งของโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีปมเชื่อมต่อกับกิ่งของโปรตีนของคน โดยปมที่เชื่อมต่อกิ่งทั้งสองกิ่งดังกล่าวเป็นส่วนที่แสดงบรรพบุรุษ

ร่วมของทั้งสองโปรตีน และโปรตีนที่มีบรรพบุรุษร่วมกัน (โปรตีนที่มีปมร่วมกัน) จะเป็นโปรตีนกลุ่มพี่กลุ่มน้อง (Sister groups) กัน ซึ่งแสดงถึงความใกล้เคียงกันของวิวัฒนาการของโปรตีนทั้งสอง ตัวอย่างดังภาพประกอบ 24 แสดง Phylogram จากโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของโปรตีนของคน กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster*



ภาพประกอบ 24 แสดง Phylogram จากโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของโปรตีนของคน (TLR1) ในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* คือ CG5528-PA, CG6890-PA และ CG5490-PB

จากภาพประกอบ 24 พบว่ากิ่งของโปรตีน TLR1 และโปรตีน CG5528-PA มีปมที่ตำแหน่ง X เชื่อมต่อระหว่างทั้งสองกิ่ง โดยปมดังกล่าวเป็นตำแหน่งที่แสดงถึงบรรพบุรุษร่วมกันของโปรตีน TLR1 และโปรตีน CG5528-PA (เมื่อเทียบกับโปรตีนที่นำมาหาความสัมพันธ์) ซึ่งจากการพิจารณากิ่งของโปรตีนทั้งสองจาก Phylogram พบว่าโปรตีนทั้งสองเป็นโปรตีนกลุ่มพี่กลุ่มน้องกัน หรือเป็นโปรตีนที่มีความใกล้เคียงกันในแง่วิวัฒนาการ

จากการยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยวิธี Phylogenetic analysis โดยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 สามารถใช้หลักพิจารณาในข้อที่ 1 และข้อ 2 ในการพิจารณาเพื่อสรุปเป็นตารางแสดงผลยืนยันการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอโทสิสของคน กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด จากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ด้วยวิธี Phylogenetic analysis โดยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 แสดงดังตาราง 12 และ ตาราง 13

ตาราง 12 แสดงผลการยืนยันการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิถีการส่งผ่าน
สัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน กับโปรตีนของสัตว์
ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด จากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ด้วยวิธี Phylogenetic
analysis โดยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

Human Toll-mediated proteins name	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
AKT3	✓	F28H6.1a	✓	✓	✓	✓
AKT2	✓	F28H6.1a	✓	✓	✓	✓
AKT1	✓	F28H6.1a	✓	✓	✓	✓
FOS	-	-	✓	-	✓	✓
JUN	CBP06714	✓	✓	ENSAPMP00000018607	✓	GA13774-PA
CASP8	✓	✓	ENSANGP00000021365	✓	CG14902-PA	GA13340-PA
CD14	-	-	-	-	-	✓
CD40	-	-	-	-	-	-
CD80	✓	-	-	-	✓	✓
CD86	-	-	ENSANGP00000013862	✓	✓	✓
FADD	✓	-	-	-	✓	✓
IFNA1	-	-	-	-	-	-
IFNA2	-	-	-	-	-	-
IFNA4	-	-	-	-	-	-
IFNA5	-	-	-	-	-	-
IFNA6	-	-	-	-	-	-
IFNA7	-	-	-	-	-	-
IFNA8	-	-	-	-	-	-
IFNA10	-	-	-	-	-	-
IFNA13	-	-	-	-	-	-
IFNA14	-	-	-	-	-	-
IFNA16	-	-	-	-	-	-
IFNA17	-	-	-	-	-	-
IFNA21	-	-	-	-	-	-
IFNAR1	✓	✓	-	-	-	-
IFNAR2	-	-	-	-	-	-
IFNB1	-	-	-	-	-	-
NFKBIA	CBP01890	B0350.2f	✓	ENSAPMP00000006012	✓	GA19171-PA
CHUK	CBP00612	F49C5.4	✓	✓	✓	✓
IKBKB	CBP01266	✓	✓	ENSAPMP00000016355	✓	✓
IKBKE	✓	✓	ENSANGP00000019651	✓	CG4201-PA	✓
IKBKG, IP2, IP1	CBP06204	F35D11.11c	✓	ENSAPMP00000032688	CG9774-PA	✓
IL1B	-	-	-	-	-	-
IL6	-	-	-	-	-	-
IL8	-	-	-	-	-	-
IL12A	-	-	-	-	-	-
IL12B	-	-	-	-	-	-
CXCL10	-	-	-	-	-	-
IRAK1	✓	✓	ENSANGP00000010749	ENSAPMP00000026765	✓	✓
IRAK4	CBP17589	✓	✓	✓	CG8789-PC	✓
IRF3	-	-	-	-	-	-
CXCL11	-	-	-	-	-	-
MAPK8	✓	T07A9.3	✓	ENSAPMP00000029824	✓	GA17089-PA
MAPK9	✓	T07A9.3	✓	ENSAPMP00000029824	✓	GA17089-PA
MAPK10	✓	T07A9.3	✓	ENSAPMP00000029824	✓	GA17089-PA
LBP	CBP00922	✓	-	-	-	-
LY96	-	-	-	-	-	-
CXCL9	-	-	-	-	-	-
CCL3, SCYA3	-	-	-	-	-	-
CCL4	-	-	-	-	-	-
MAP2K3	✓	✓	✓	ENSAPMP00000014764	✓	✓
MAP2K6	✓	✓	✓	ENSAPMP00000014764	✓	GA13960-PA
MAP2K4	CBP10341	R03G5.2	✓	ENSAPMP00000014764	CG4353-PC	✓
MYD88	-	-	✓	✓	✓	✓

ตาราง 12 (ต่อ)

Human Toll-mediated proteins name	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
NFKB1	✓	✓	ENSANGP00000010014	ENSAPMP00000002179	✓	✓
NFKB2	CBP03314	✓	ENSANGP00000010014	ENSAPMP00000002179	✓	GA11317-PA
MAPK14	CBP24154	✓	ENSANGP00000017000	✓	✓	GA17089-PA
MAPK11	CBP24154	✓	✓	✓	✓	GA17089-PA
MAPK13	CBP01561	✓	✓	✓	✓	GA17089-PA
MAPK12	CBP01561	✓	ENSANGP00000017000	✓	✓	GA17089-PA
PIK3R5	-	-	-	-	-	-
PIK3CA	✓	✓	✓	✓	CG11621-PC	✓
PIK3CB	✓	✓	✓	ENSAPMP00000019322	CG11621-PC	✓
PIK3CD	✓	✓	✓	ENSAPMP00000019322	CG11621-PC	✓
PIK3CG	✓	✓	✓	ENSAPMP00000010544	CG11621-PC	✓
PIK3R1	✓	✓	ENSANGP00000013117	✓	✓	✓
PIK3R2	CBP10173	✓	✓	✓	✓	✓
PIK3R3	CBP10173	✓	ENSANGP00000014190	ENSAPMP00000015613	✓	✓
RAC1	CBP04155	✓	✓	✓	✓	✓
CCL5	-	-	-	-	-	-
STAT1	✓	✓	ENSANGP00000022856	✓	CG4257-PG	-
MAP3K7IP1	✓	✓	✓	✓	CG10417-PA	✓
MAP3K7IP2	-	-	-	-	-	-
MAP3K7, TAK1	✓	✓	✓	✓	CG10417-PA	✓
TBK1	✓	K07A9.2	✓	✓	CG4201-PA	✓
TIRAP	-	-	-	-	-	✓
TLR1	CBP18964	K09C8.5	✓	✓	✓	✓
TLR2	CBP14163	✓	ENSANGP00000022945	✓	CG5528-PA	GA18952-PA
TLR3	CBP15945	Y71F9B.8	ENSANGP00000019508	ENSAPMP00000014173	CG4168-PA	GA18003-PA
TLR4	✓	✓	ENSANGP00000029576	✓	CG6890-PA	GA18952-PA
TLR5	✓	✓	✓	ENSAPMP00000014478	✓	GA18003-PA
TLR6	CBP05284	F43C1.1	✓	✓	✓	✓
TLR7	CBP01065	✓	ENSANGP00000029296	ENSAPMP00000013841	CG5195-PA	✓
TLR9	CBP01065	✓	ENSANGP00000006849	ENSAPMP00000014166	CG5195-PA	GA19932-PA
TNF, TNFA	-	-	-	-	-	-
TOLLIP	✓	✓	✓	✓	-	-
TRAF6	✓	Y110A7A.2	ENSANGP00000015141	✓	✓	GA21478-PA
TICAM2	-	-	✓	-	-	-
TICAM1	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ

1. เครื่องหมายถูก (✓) แสดงโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่ Phylogram สอดคล้องกับผลการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13
2. รายชื่อโปรตีนที่แสดงในตาราง แสดงรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่ Phylogram ไม่สอดคล้องกับผลการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13
3. เครื่องหมาย “-” แสดงการไม่ปรากฏข้อมูลทั้งในกระบวนการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 และการยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

ตาราง 13 แสดงผลการยืนยันการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิถีการส่งผ่าน
สัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอโทสิสของมนุษย์ กับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสัน
หลัง 6 ชนิด จากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ด้วยวิธี Phylogenetic analysis โดย
โปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

Human apoptosis proteins name	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
FASLG	-	-	-	-	-	-
TNFSF10	-	-	-	-	-	-
TNF, TNFA	-	-	-	-	-	-
IL1A	-	-	-	-	-	-
IL1B	-	-	-	-	-	-
NGFB	-	-	-	-	-	-
IL3	-	-	-	-	-	-
FAS	-	-	-	-	-	-
TNFRSF10D	-	-	-	✓	-	✓
TNFRSF10C	-	-	-	-	-	-
TNFRSF10B	-	-	-	-	-	-
TNFRSF10A	-	-	-	-	-	-
TNFRSF1A	-	-	-	-	-	-
IL1R1	CBP02425	✓	ENSANGP00000029611	✓	CG16857-PA	GA21443-PA
IL1RAP	✓	-	ENSANGP00000008963	✓	CG7250-PA	GA20210-PA
NTRK1	✓	✓	ENSANGP00000007679	ENSAPMP00000029679	CG8250-PA	GA20930-PA
CSF2RB	-	-	-	ENSAPMP00000032178	✓	-
IL3RA	-	-	-	-	-	-
FADD	✓	-	-	-	✓	✓
TRADD	-	-	-	-	-	-
RIPK1	CBP17544	✓	ENSANGP00000006391	✓	✓	✓
TRAF2	✓	Y110A7A.2	ENSANGP00000017658	✓	CG4394-PA	GA10670-PA
MYD88	-	-	✓	✓	✓	✓
IRAK3	✓	✓	ENSAPMP00000010749	✓	✓	✓
IRAK1	✓	✓	ENSANGP00000010749	ENSAPMP00000026765	✓	✓
IRAK2	✓	✓	✓	✓	✓	✓
IRAK4	CBP17589	✓	✓	✓	CG8789-PC	✓
PIK3R5	-	-	-	-	-	-
PIK3CA	✓	✓	✓	✓	CG11621-PC	✓
PIK3CB	✓	✓	✓	ENSAPMP00000019322	CG11621-PC	✓
PIK3CD	✓	✓	✓	ENSAPMP00000019322	CG11621-PC	✓
PIK3CG	✓	✓	✓	ENSAPMP00000010544	CG11621-PC	✓
PIK3R1	✓	✓	ENSANGP00000013117	✓	✓	✓
PIK3R3	CBP10173	✓	ENSANGP00000014190	ENSAPMP00000015613	✓	✓
PIK3R2	CBP10173	✓	✓	✓	✓	✓
MAP3K14	✓	T19A5.2cb	✓	✓	CG5169-PA	GA18707-PA
CFLAR	-	-	✓	✓	✓	GA13340-PA
CHUK	CBP00612	F49C5.4	✓	✓	✓	✓
IKBKB	CBP01266	✓	✓	ENSAPMP00000016355	✓	✓
IKBKG, IP2, IP1	CBP06204	F35D11.11c	✓	ENSAPMP00000032688	CG9774-PA	✓
AKT3	✓	F28H6.1a	✓	✓	✓	✓
AKT2	✓	F28H6.1a	✓	✓	✓	✓
AKT1	✓	F28H6.1a	✓	✓	✓	✓
PRKAR1A	✓	F55A8.2e	✓	ENSAPMP00000029947	CG3263-PJ	✓
PRKAR1B	✓	F55A8.2e	✓	ENSAPMP00000031558	CG3263-PB	✓
PRKAR2A	✓	F55A8.2e	ENSANGP00000014053	ENSAPMP00000025591	CG15862-PC	✓
PRKAR2B	✓	F55A8.2e	ENSANGP00000014053	ENSAPMP00000025591	CG15862-PA	✓
PRKACA	✓	ZK909.2h	✓	✓	✓	✓
PRKACB	✓	ZK909.2g	✓	ENSAPMP00000027450	CG4379-PC	✓
PRKACG	✓	ZK909.2h	✓	ENSAPMP00000027450	✓	✓
CHP	CBP16736	Y71H2AL.1	✓	✓	✓	GA17158-PA
PPP3CA, CALN,	CBP02044	Y49E10.3a	✓	ENSAPMP00000014330	CG9842-PA	✓
CALNA						
PPP3CB, CALNB	✓	Y49E10.3a	✓	✓	CG9842-PA	✓

ตาราง 13 (ต่อ)

Human Toll-mediated proteins	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
PPP3CC	✓	Y49E10.3a	✓	ENSAPMP00000014330	✓	✓
PPP3R1	✓	✓	ENSANGP00000027082	✓	CG2185-PA	✓
PPP3R2	✓	✓	ENSANGP00000013463	✓	CG2185-PA	✓
CAPN1	✓	C06G4.2a	✓	✓	✓	GA17616-PA
CAPN2	✓	✓	✓	ENSAPMP00000035920	✓	✓
BCL2	-	-	ENSANGP00000015394	✓	CG8238-PA	GA20921-PA
BCL2L1	-	-	-	-	-	-
CASP10	✓	✓	✓	✓	CG14902-PA	GA13340-PA
CASP8	✓	✓	ENSANGP000000021365	✓	CG14902-PA	GA13340-PA
BID	-	-	-	-	-	-
CYCS	CBP06075	✓	✓	✓	✓	✓
APAF1	CBP05016	C14B1.4	✓	✓	CG17437-PA	GA17451-PA
NFKBIA	CBP01890	B0350.2f	✓	ENSAPMP00000006012	✓	GA19171-PA
NFKB1	✓	✓	ENSANGP00000010014	ENSAPMP00000002179	✓	✓
NFKB2	CBP03314	✓	ENSANGP00000010014	ENSAPMP00000002179	✓	GA11317-PA
CASP6	✓	✓	ENSANGP000000021367	✓	CG14902-PA	GA13340-PA
CASP3	✓	✓	✓	✓	CG14902-PA	GA13340-PA
CASP7	✓	✓	✓	✓	CG14902-PA	GA13340-PA
BIRC2	✓	✓	ENSANGP000000009540	ENSAPMP00000013496	CG12284-PB	GA11532-PA
BIRC3	✓	✓	ENSANGP000000009540	✓	CG12284-PB	✓
BIRC4	✓	✓	ENSANGP000000017960	ENSAPMP00000013496	CG12284-PB	✓
CASP9	✓	✓	✓	✓	CG14902-PA	GA13340-PA
BAD	-	-	-	-	-	-
BAX	-	-	ENSANGP000000015933	✓	-	-
DFFB	-	-	-	-	-	-
DFFA	✓	-	ENSANGP000000013838	ENSAPMP000000014362	CG1975-PA	✓
AIFM1	-	-	-	-	-	-
ENDOG	✓	✓	✓	✓	✓	GA12733-PA
TP53	-	-	ENSANGP000000013376	-	CG33336-PA	-
ATM, ATA, ATDC, ATC, ATD	CBP17577	✓	✓	✓	✓	✓

หมายเหตุ

1. เครื่องหมายถูก (✓) แสดงโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่ Phylogram สอดคล้องกับการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13
2. รายชื่อโปรตีนที่แสดงในตาราง แสดงรายชื่อโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่ Phylogram ไม่สอดคล้องกับการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13
3. เครื่องหมาย “-” แสดงการไม่ปรากฏข้อมูลทั้งในกระบวนการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 และการยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

จากตาราง 12 และ 13 ผลการยืนยันการเปรียบเทียบด้วยวิธี Phylogenetic analysis โดยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 พบว่าในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์มีเปอร์เซ็นต์ความสอดคล้องกันของผลการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 กับผลจาก Phylogram อยู่ระหว่าง 75% ถึง 83% และกระบวนการเอพอพิโทลล์มีเปอร์เซ็นต์ความสอดคล้องกันของผลดังกล่าว อยู่ระหว่าง 61% ถึง 82%

บทที่ 4

อภิปรายผลการทดลอง

การพิจารณาผลจากการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอพโทสิสของคน กับฐานข้อมูลโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 การยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 และการยืนยันผลการเปรียบเทียบด้วยการหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 พบว่ามีโปรตีนของคนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการดังกล่าวหลายโปรตีนที่ไม่มีความคล้ายคลึง หรือไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด โดยสามารถสรุปจำนวนโปรตีน และรายชื่อโปรตีนของคนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ได้ดังตาราง 14

ตาราง 14 แสดงจำนวน และรายชื่อโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

Human Toll-mediated proteins	Invertebrates abbreviation's name					
name	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
IFNA1	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA2	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA4	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA5	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA6	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA7	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA8	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA10	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA13	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA14	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA16	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA17	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNA21	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNAR2	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IFNB1	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL1B	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL6	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL8	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL12A	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL12B	No match	No match	No match	No match	No match	No match
	No match	No match	No match	No match	No match	No match

ตาราง 14 (ต่อ)

Human Toll-mediated proteins	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
CXCL10	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IRF3	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CXCL11	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CD40	No match	No match	No match	No match	No match	No match
LY96	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CXCL9	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CCL3, SCYA3	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CCL4	No match	No match	No match	No match	No match	No match
PIK3R5	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CCL5	No match	No match	No match	No match	No match	No match
MAP3K7IP2	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNF, TNFA	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TICAM1	No match	No match	No match	No match	No match	No match
CD14	No match	No match	No match	No match	No match	
TIRAP	No match	No match	No match	No match	No match	
TICAM2	No match	No match		No match	No match	No match
IFNAR1			No match	No match	No match	No match
LBP			No match	No match	No match	No match
CD80		No match	No match	No match		
FADD		No match	No match	No match		
FOS	No match	No match		No match		
CD86	No match	No match				
MYD88	No match	No match				
TOLLIP					No match	No match
STAT1						No match
Number of missing proteins from Toll-mediated	39	41	39	40	39	38
Number of proteins present in Toll-mediated	50	48	50	49	50	51

หมายเหตุ

“No match” แสดงผลการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.1.13 ระหว่างลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนของคน ที่ไม่เหมือนกับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังแต่ละชนิด

จากตาราง 14 พบว่ามีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด และไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด ซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้

4.1. มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของคน จำนวน 33 โปรตีน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด โดยโปรตีนของคนทั้ง 33 โปรตีน ได้แก่ IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA13, IFNA14, IFNA16, IFNA17, IFNA21, IFNAR2, IFNB1, IL1B, IL6, IL8, IL12A, IL12B, CXCL10, IRF3, CXCL11, CD40, LY96, CXCL9, CCL3, CCL4, PIK3R5, CCL5, MAP3K7IP2, TNF และ TICAM1

โดยโปรตีนทั้งหมด 33 โปรตีน สามารถแบ่งเป็นกลุ่มตามชนิดของโปรตีน ได้แก่

4.1.1. โปรตีนในกลุ่ม Cytokine ซึ่งเป็นสารคัดหลั่งต่างๆที่สร้าง และหลั่งโดยเซลล์ของร่างกาย มีบทบาทในภูมิคุ้มกันทั้ง Non-specific immunity และ Specific immunity (51) สำหรับประเภทของโปรตีนในกลุ่ม Cytokine ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ได้แก่

4.1.1.1 กลุ่มโปรตีน Cytokine ประเภท Interferon ที่มีฤทธิ์ขัดขวางการเพิ่มจำนวนของไวรัส (51) ซึ่งโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA13, IFNA14, IFNA16, IFNA17, IFNA21, IFNAR2, IFNB1 และ IRF3 เป็นต้น

4.1.1.2 กลุ่มโปรตีน Cytokine ประเภท Interleukin มีบทบาทใน Specific immunity และเกี่ยวกับการสร้างเลือดหรือ Hematopoiesis (51) โดยโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ IL1B, IL6, IL8, IL12A และ IL12B เป็นต้น

4.1.1.3 กลุ่มโปรตีน Cytokine ประเภท Chemokine เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ Macrophage Inflammatory Proteins (52) ซึ่งโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ CXCL9, CXCL10, CXCL11, CCL4 และ CCL5 เป็นต้น

4.1.1.4 กลุ่มโปรตีน Cytokine ประเภท Tumor necrosis factor เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับหน้าที่หลายอย่าง เช่น ส่งเสริม Inflammatory response กระตุ้นเซลล์ต่างๆให้หลั่ง IL-1, IL-6, IL-8 และ TNF เอง (51) โดยโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ TNF

4.1.2. โปรตีนในกลุ่ม Costimulatory molecules มีบทบาทในการกระตุ้นให้เกิดการทำงานของ T-cell ซึ่งโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิดในกลุ่มนี้ ได้แก่ CD40

4.1.3. โปรตีนในกลุ่มเอนไซม์ Phosphoinositide 3-kinases มีบทบาทในการเติมหมู่ฟอสเฟตในตำแหน่งที่ 3 ของ Hydroxyl group ใน Inositol ring ของ Phosphatidylinositol (53) สำหรับโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ PIK3R5

4.1.4. โปรตีนในกลุ่ม Extracellular adaptor เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการกระตุ้นให้เกิดการจับกันระหว่าง TLR 4 กับ LPS (Lipopolysaccharides) (51) สำหรับโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ LY96 หรือ MD-2

4.1.5. โปรตีนในกลุ่ม Mitogen-activated protein kinase เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของเซลล์ในหน้าที่หลักต่างๆ ได้แก่ การกลายชนิดของเซลล์ การเพิ่มจำนวนเซลล์ และการตายของเซลล์ (54) สำหรับโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ MAP3K7IP2

4.1.6. โปรตีนในกลุ่ม Toll-like receptor adaptor molecule เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่รับสัญญาณจาก Toll-like receptor เพื่อส่งสัญญาณให้กับโมเลกุลตัวรับต่างๆ ภายในไซโตพลาซึมต่อไป โดยโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ TICAM1

4.2. มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 5 ชนิด ยกเว้น *Drosophila pseudoobscura* จำนวน 2 โปรตีน คือ CD14 และ TIRAP

4.3. มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 5 ชนิด ยกเว้น *Anopheles gambiae* จำนวน 1 โปรตีน คือ TICAM 2

4.4. มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 4 ชนิด ยกเว้น *Caenorhabditis briggsae* และ *Caenorhabditis elegans* จำนวน 2 โปรตีน คือ IFNAR2 และ LBP

4.5. มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 3 ชนิด ยกเว้น *Caenorhabditis briggsae*, *Drosophila melanogaster* และ *Drosophila pseudoobscura* จำนวน 2 โปรตีน คือ CD80 และ FADD

4.6. มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 2 ชนิด ยกเว้น *Caenorhabditis briggsae*, *Caenorhabditis elegans*, *Anopheles gambiae* และ *Apis mellifera* จำนวน 1 โปรตีน คือ TOLLIP

4.7. มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 1 ชนิด ยกเว้น *Caenorhabditis briggsae*, *Caenorhabditis elegans*, *Anopheles gambiae*, *Apis mellifera* และ *Drosophila melanogaster* จำนวน 1 โปรตีน คือ STAT1

4.8. มีโปรตีนของคนจำนวน 48-51 ชนิด ที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายกับของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และพบว่าโปรตีนของคนจำนวน 39-41 ชนิด ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด หายไปเมื่อเทียบจากชุดรายการอ้างอิงในคน

สำหรับวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิสของคน สามารถสรุปจำนวนโปรตีน และรายชื่อโปรตีนของคนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิส ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ได้ดังตาราง 15

ตาราง 15 แสดงจำนวน และรายชื่อโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิสของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

Human apoptosis proteins name	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
FASLG	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFSF10	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNF, TNFA	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL1A	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL1B	No match	No match	No match	No match	No match	No match
NGFB	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL3	No match	No match	No match	No match	No match	No match
FAS	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFRSF10C	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFRSF10B	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFRSF10A	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFRSF1A	No match	No match	No match	No match	No match	No match
IL3RA	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TRADD	No match	No match	No match	No match	No match	No match
PIK3R5	No match	No match	No match	No match	No match	No match
BCL2L1	No match	No match	No match	No match	No match	No match
BID	No match	No match	No match	No match	No match	No match
BAD	No match	No match	No match	No match	No match	No match
DFFB	No match	No match	No match	No match	No match	No match
AIFM1	No match	No match	No match	No match	No match	No match
TNFRSF10D	No match	No match	No match		No match	
CSF2RB	No match	No match	No match			No match
TP53	No match	No match		No match		No match
BAX	No match	No match			No match	No match
FADD		No match	No match	No match		
MYD88	No match	No match				
BCL2	No match	No match				
IL1RAP		No match				
DFFA		No match				

ตาราง 15 (ต่อ)

Human apoptosis proteins name	Invertebrates abbreviation's name					
	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
CFLAR	No match					
Number of missing proteins from apoptosis	27	29	27	29	22	23
Number of proteins present in apoptosis	56	54	56	54	61	60

หมายเหตุ

“No match” แสดงผลการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.1.13 ระหว่างลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนของคน ที่ไม่เหมือนกับโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังแต่ละชนิด

จากตาราง 15 พบว่ามีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิสของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด และไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด ซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้

4.9. มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิสของคน จำนวน 20 โปรตีน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด โดยโปรตีนของคนทั้ง 20 โปรตีน ได้แก่ FASLG, TNFSF10, TNF, IL1A, IL1B, NGFB, IL3, FAS, TNFRSF10C, TNFRSF10B, TNFRSF10A, TNFRSF1A, IL3RA, TRADD, PIK3R5, BCL2L1, BID, BAD, DFFB และ AIFM1

โดยโปรตีนทั้งหมด 20 โปรตีน สามารถแบ่งเป็นกลุ่มตามชนิดของโปรตีน ได้แก่

4.9.1 โปรตีนในกลุ่ม Cytokine ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ได้แก่

4.9.1.1 กลุ่มโปรตีน Cytokine ประเภท Interleukin (52) โปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ IL1A, IL1B, IL3 และ IL3RA เป็นต้น

4.9.1.2 กลุ่มโปรตีน Cytokine ประเภท Tumor necrosis factor โดยโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ TNFSF10, TNFRSF10C, TNFRSF10B, TNFRSF10A, TNF, FAS และ TRADD

4.9.2 โปรตีนในกลุ่ม B-cell CLL/lymphoma 2 ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ BCL2L1 และ BAD

4.9.3 โปรตีนในกลุ่มเอนไซม์ Phosphoinositide 3-kinases ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ PIK3R5

4.9.4 โปรตีนในกลุ่ม Nerve growth factor ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ NGFB

4.9.5 โปรตีนในกลุ่ม Apoptosis-inducing factor ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ AIFM1

4.9.6 โปรตีนในกลุ่ม DNA fragmentation factor ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ DFFB

4.9.7 โปรตีนในกลุ่ม BH₃ interacting domain death agonist ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ BID

4.9.8 โปรตีนที่เป็น FAS ligand ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ในกลุ่มนี้ ได้แก่ FAS

4.10 มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิสของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 4 ชนิด ยกเว้น *Apis mellifera* และ *Drosophila pseudoobscura* จำนวน 1 โปรตีน คือ TNFRSF10D

4.11 มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิสของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 4 ชนิด ยกเว้น *Apis mellifera* และ *Drosophila melanogaster* จำนวน 1 โปรตีน คือ CSF2RB

4.12 มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิสของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 4 ชนิด ยกเว้น *Anopheles gambiae* และ *Drosophila melanogaster* จำนวน 1 โปรตีน คือ TP53

4.13 มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิสของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 4 ชนิด ยกเว้น *Anopheles gambiae* และ *Apis mellifera* จำนวน 1 โปรตีน คือ BAX

4.14 มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิสของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 3 ชนิด ยกเว้น *Caenorhabditis briggsae*, *Drosophila melanogaster* และ *Drosophila pseudoobscura* จำนวน 1 โปรตีน คือ FADD

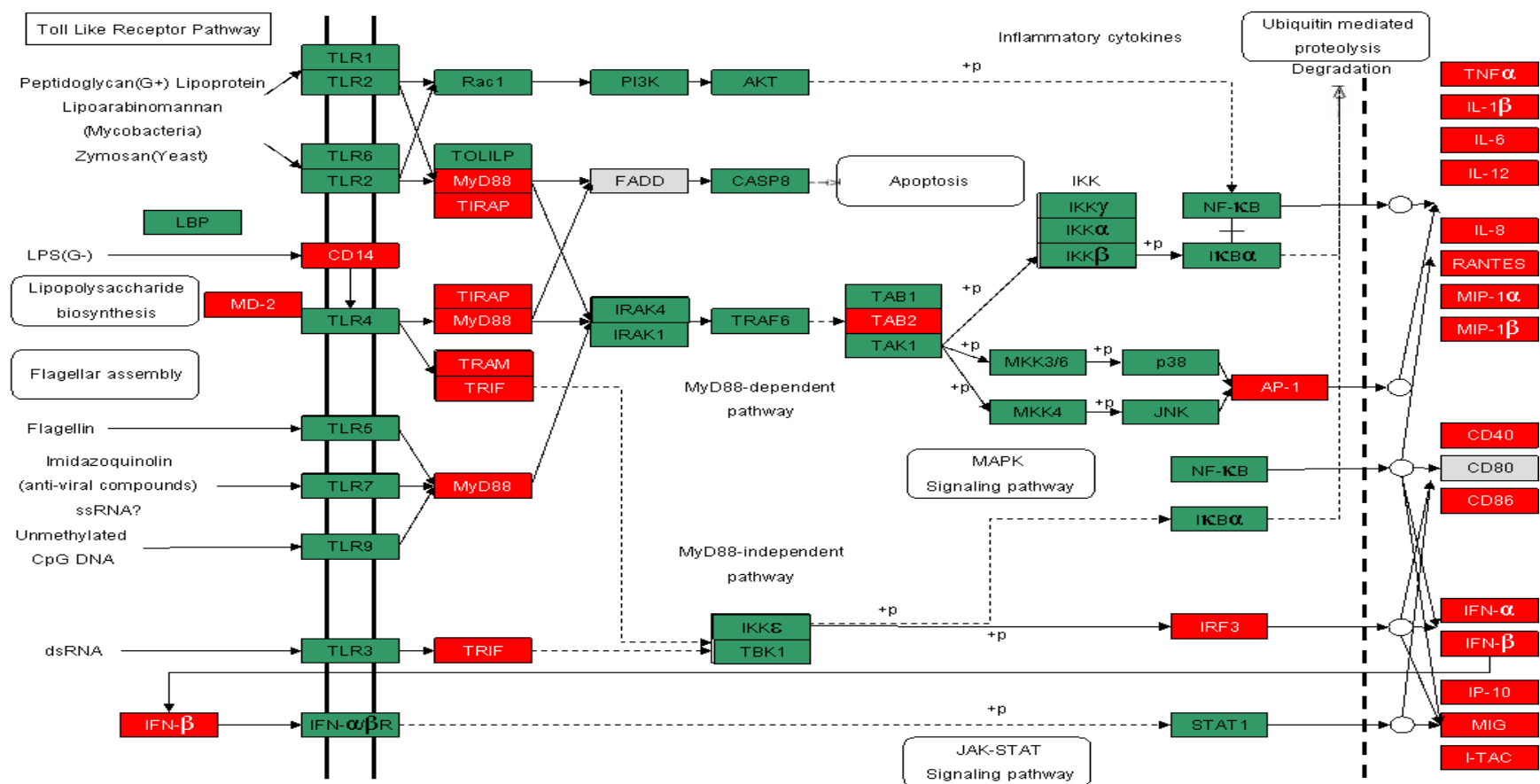
4.15 มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิสของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 2 ชนิด ยกเว้น *Anopheles gambiae*, *Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster* และ *Drosophila pseudoobscura* จำนวน 2 โปรตีน คือ MyD88 และ BCL2

4.16 มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทซิสของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 1 ชนิด ยกเว้น *Caenorhabditis elegans*, *Anopheles gambiae*, *Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster* และ *Drosophila pseudoobscura* จำนวน 1 โปรตีน คือ CFLAR

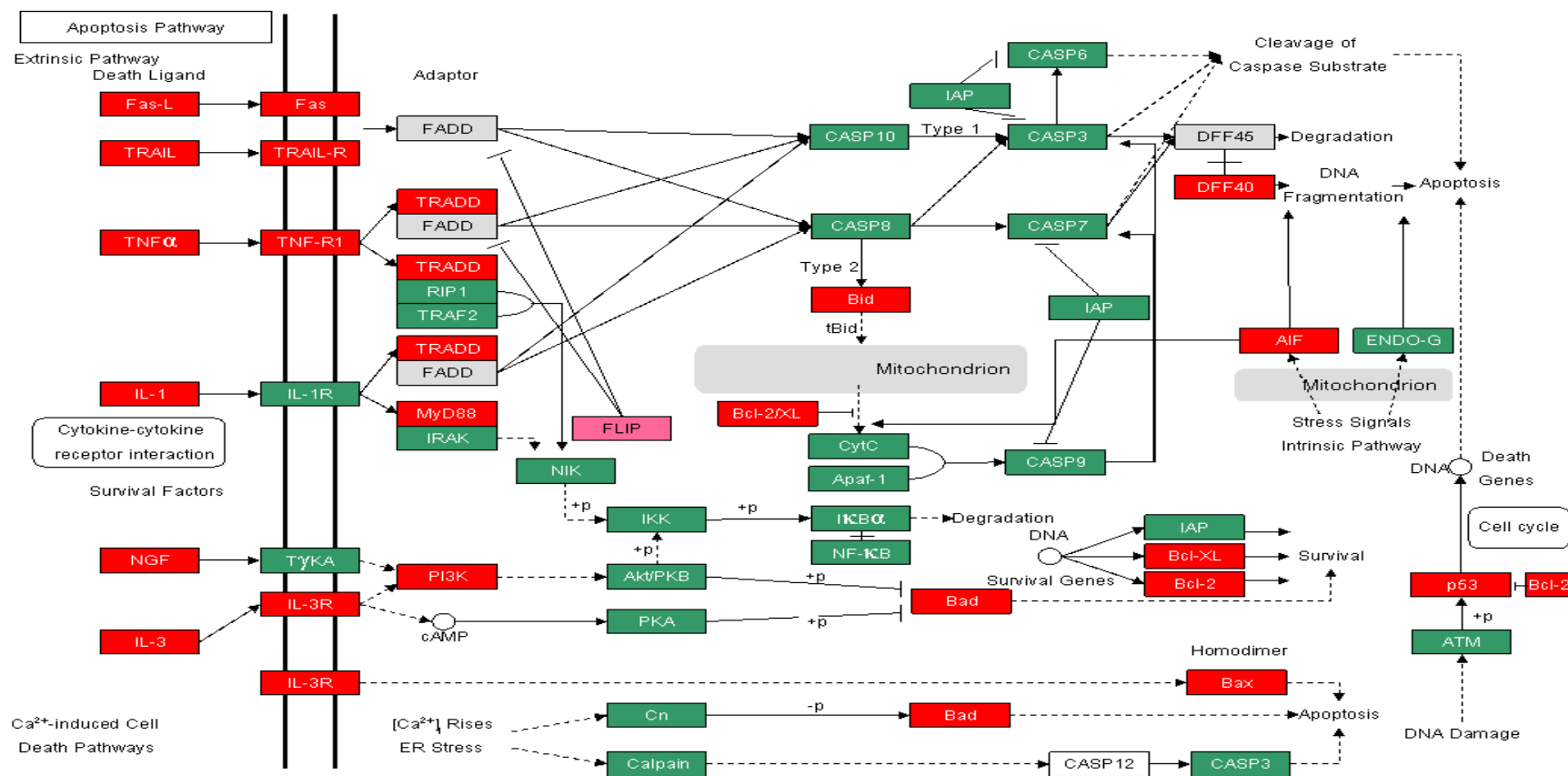
4.17 มีโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิสของคน ที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 1 ชนิด ยกเว้น *Caenorhabditis briggsae*, *Anopheles gambiae*, *Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster* และ *Drosophila pseudoobscura* จำนวน 2 โปรตีน คือ IL1RAP และ DFFA

4.18 มีโปรตีนจำนวน 54-61 ชนิด ของคน ที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายกับของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิส และพบว่ามีโปรตีนจำนวน 22-29 ชนิด ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด หายไปเมื่อเทียบจากชุดรายการอ้างอิงในคนจากวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิส

เพื่อทำความเข้าใจในการอนุรักษ์ไว้ซึ่งวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโวลล์ และกระบวนการเอพอพโทสิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในกลุ่มหนอนจึงได้นำโปรตีนที่พบ และไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่เปรียบเทียบกับโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ดังกล่าว ไปเขียนแผนภาพเพื่อแสดงโปรตีนที่พบ และไม่พบในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโวลล์ และกระบวนการเอพอพโทสิสของทั้ง *Caenorhabditis briggsae* และ *Caenorhabditis elegans* ที่อ้างอิงแผนภาพจากฐานข้อมูล KEGG ซึ่งแสดงดังภาพประกอบ 25 และ 26



ภาพประกอบ 25 แสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของทั้ง *Caenorhabditis briggsae* และ *Caenorhabditis elegans*



ภาพประกอบ 26 แสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอโทสิสของทั้ง *Caenorhabditis briggsae* และ *Caenorhabditis elegans*

หมายเหตุ

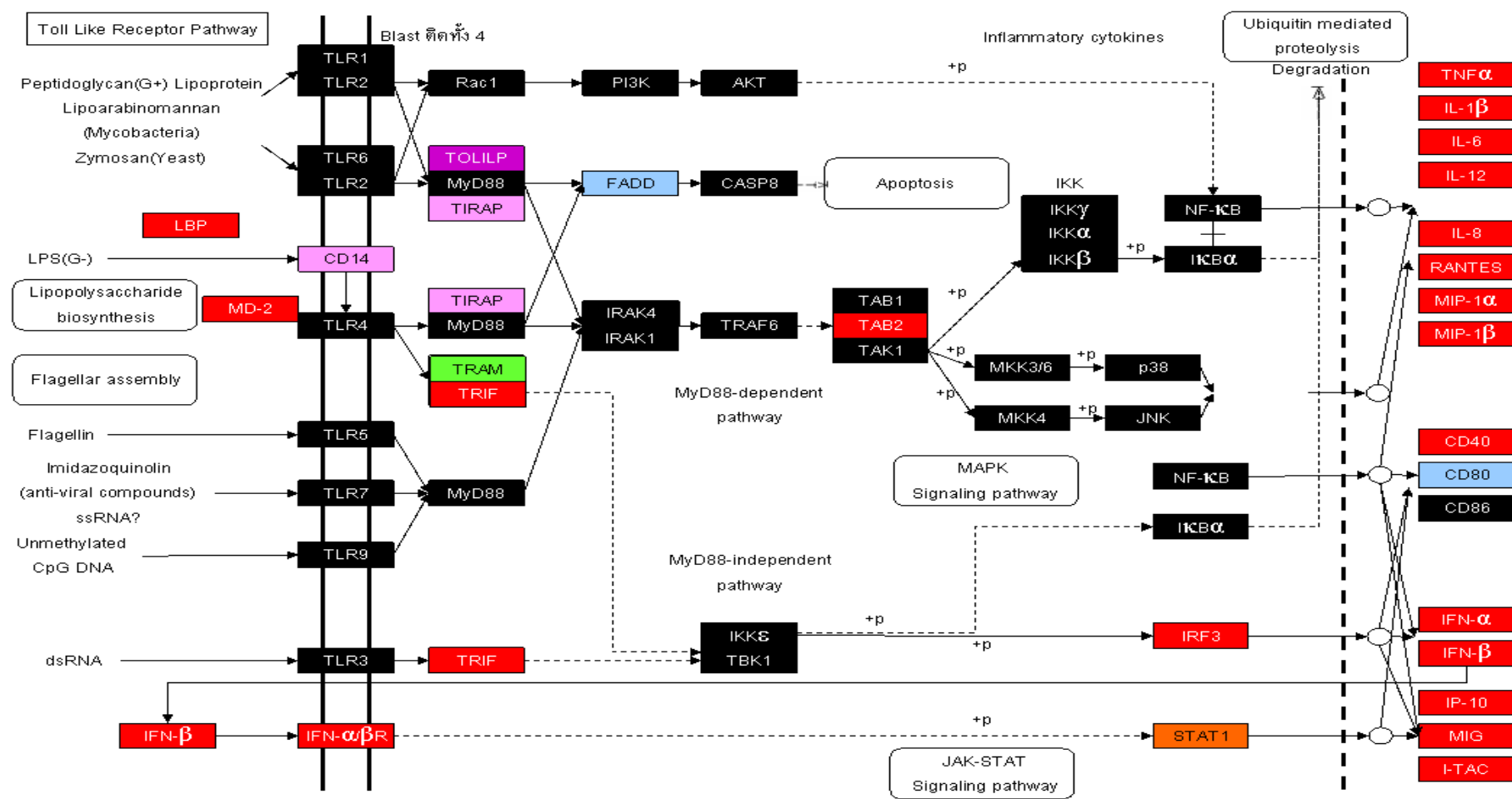
รายชื่อโปรตีนที่แสดงในภาพประกอบทั้งสองอ้างอิงจากรายชื่อโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอโทสิสของคน

-  แสดง โปรตีนของคนที่พบใน *Caenorhabditis briggsae* และ *Caenorhabditis elegans*
-  แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน *Caenorhabditis briggsae* และ *Caenorhabditis elegans*
-  แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน *Caenorhabditis briggsae*
-  แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน *Caenorhabditis elegans*

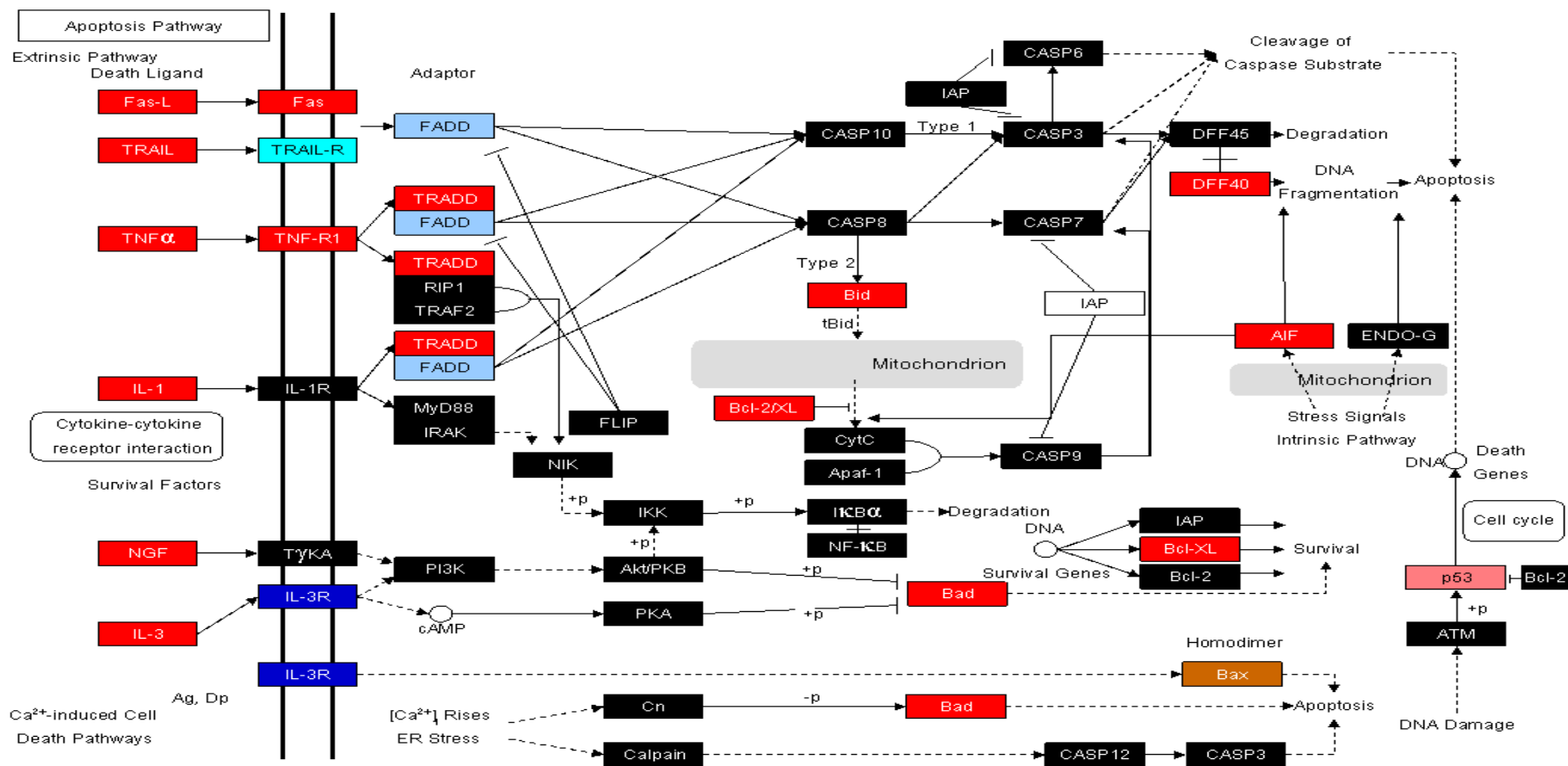
จากภาพประกอบ 25 แสดงโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของ *Caenorhabditis briggsae* และ *Caenorhabditis elegans* พบว่า มีโปรตีนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้งสองชนิด ได้แก่ IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA13, IFNA14, IFNA16, IFNA17, IFNA21, IFNAR2, IFNB1, IL1B, IL6, IL8, IL12A, IL12B, CXCL10, IRF3, CXCL11, CD40, LY96, CXCL9, CCL3, CCL4, PIK3R5, CCL5, MAP3K7IP2, TNF, TICAM1, TICAM2, FOS, CD86 และ MyD88 ซึ่งโปรตีนส่วนใหญ่ที่ไม่พบเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ยังมีบางโปรตีนที่พบเฉพาะ *Caenorhabditis elegans* ได้แก่ CD80 และ FADD

จากภาพประกอบ 26 แสดงโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอโทสิสของ *Caenorhabditis briggsae* และ *Caenorhabditis elegans* พบว่า มีโปรตีนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้งสองชนิด ได้แก่ FASLG, TNFSF10, TNF, IL1A, IL1B, NGFB, IL3, FAS, TNFRSF10C, TNFRSF10B, TNFRSF10A, TNFRSF1A, IL3RA, TRADD, PIK3R5, BCL2L1, BID, BAD, DFFB, AIFM1, TP53, BAX, MyD88 และ BCL2 ซึ่งส่วนใหญ่เป็นโปรตีนในกลุ่ม Cytokine ประเภท Interleukin และ Tumor necrosis factor เป็นต้น

สำหรับการวิเคราะห์โปรตีนที่มีการอนุรักษ์ไว้ในกลุ่มของแมลง มีวิธีวิเคราะห์คล้ายกับวิธีการวิเคราะห์ในกลุ่มของหนอน ซึ่งสามารถเขียนแผนภาพเพื่อแสดงโปรตีนที่พบ และไม่พบในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอโทสิสของทั้ง *Anopheles gambiae*, *Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster* และ *Drosophila pseudoobscura* ที่อ้างอิงแผนภาพจากฐานข้อมูล KEGG ซึ่งแสดงดังภาพประกอบ 27 และ 28



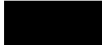
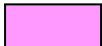
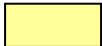
ภาพประกอบ 27 แสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของทั้ง *Anopheles gambiae* *Apis mellifera* *Drosophila melanogaster* และ *Drosophila pseudoobscura*



ภาพประกอบ 28 แสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิสของทั้ง *Anopheles gambiae* *Apis mellifera* *Drosophila melanogaster* และ *Drosophila pseudoobscura*

หมายเหตุ

รายชื่อโปรตีนที่แสดงในภาพประกอบทั้งสองอ้างอิงจากรายชื่อโปรตีนในวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอโทสิสของคน

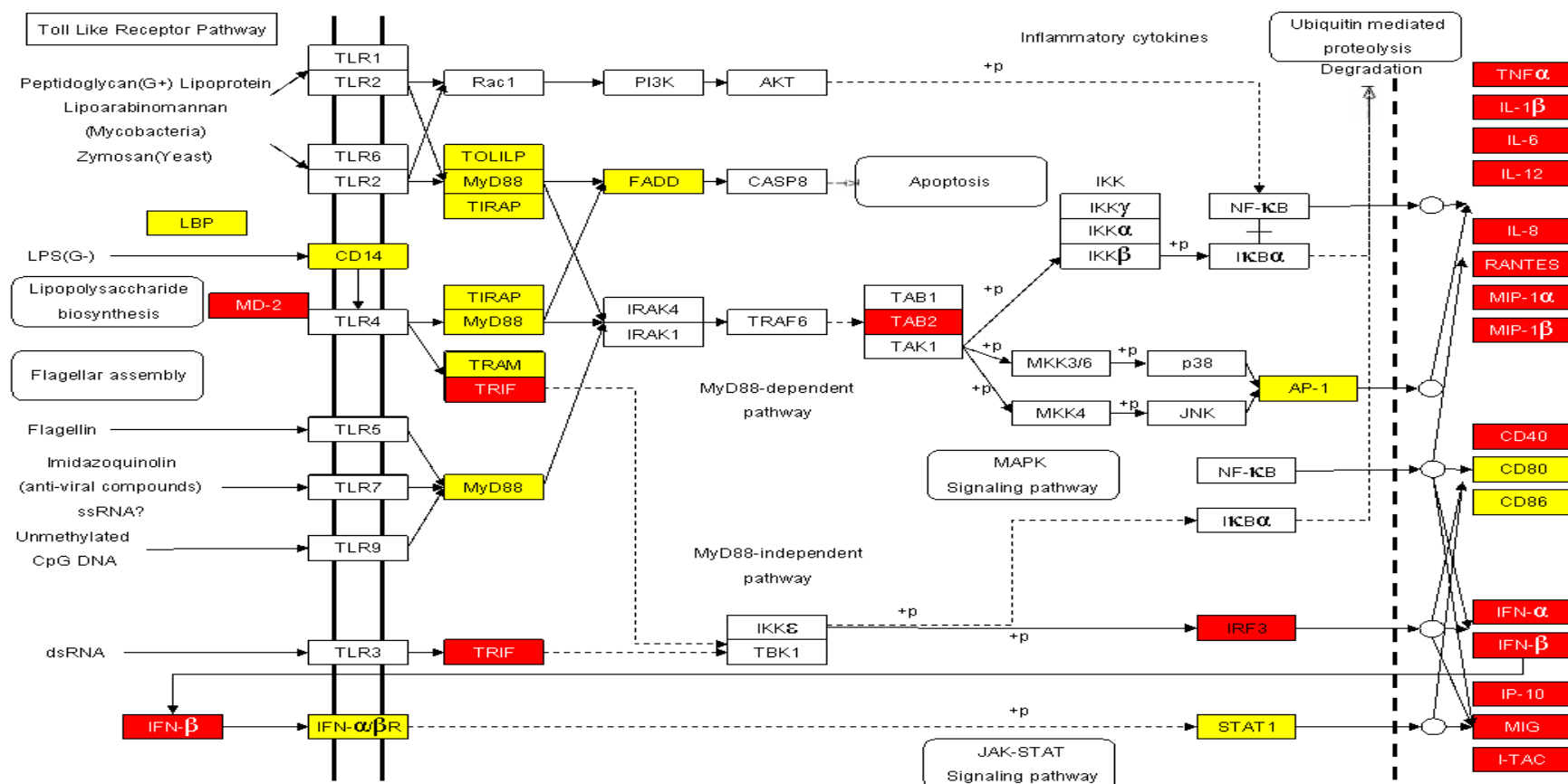
	แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน <i>Anopheles gambiae</i> , <i>Apis mellifera</i> , <i>Drosophila melanogaster</i> และ <i>Drosophila pseudoobscura</i>
	แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน <i>Anopheles gambiae</i> , <i>Apis mellifera</i> , <i>Drosophila melanogaster</i> และ <i>Drosophila pseudoobscura</i>
	แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน <i>Anopheles gambiae</i> , <i>Apis mellifera</i> และ <i>Drosophila melanogaster</i>
	แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน <i>Apis mellifera</i> , <i>Drosophila melanogaster</i> และ <i>Drosophila pseudoobscura</i>
	แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน <i>Drosophila melanogaster</i> และ <i>Drosophila pseudoobscura</i>
	แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน <i>Apis mellifera</i>
	แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน <i>Drosophila pseudoobscura</i>
	แสดง โปรตีนของคนที่ไม่พบใน <i>Apis mellifera</i> และ <i>Anopheles gambiae</i>

จากภาพประกอบ 27 และ 28 แสดงโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอโทสิสของ *Anopheles gambiae*, *Apis mellifera*, *Drosophila melanogaster* และ *Drosophila pseudoobscura* พบว่า มีโปรตีนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 4 ชนิด โปรตีนโดยส่วนใหญ่มีความแนวโน้มของการไม่พบโปรตีนของคนในวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการทั้งสอง คล้ายกับโปรตีนที่ไม่พบในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของ *Caenorhabditis briggsae* และ *Caenorhabditis elegans* โดยโปรตีนที่ไม่พบส่วนใหญ่ในวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในกลุ่มแมลงทั้ง 4 ชนิด เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เช่น Cytokines, chemokines, adaptor protein ในวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ เป็นต้น และโปรตีนที่ไม่พบส่วนใหญ่ในกระบวนการเอพอโทสิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในกลุ่มแมลงทั้ง 4 ชนิด เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ ลิแกนด์ที่กระตุ้นให้เกิดกระบวนการเอพอโทสิส โปรตีนตัวรับที่เยื่อเซลล์ Adaptor protein ในกระบวนการเอพอโทสิส เป็นต้น

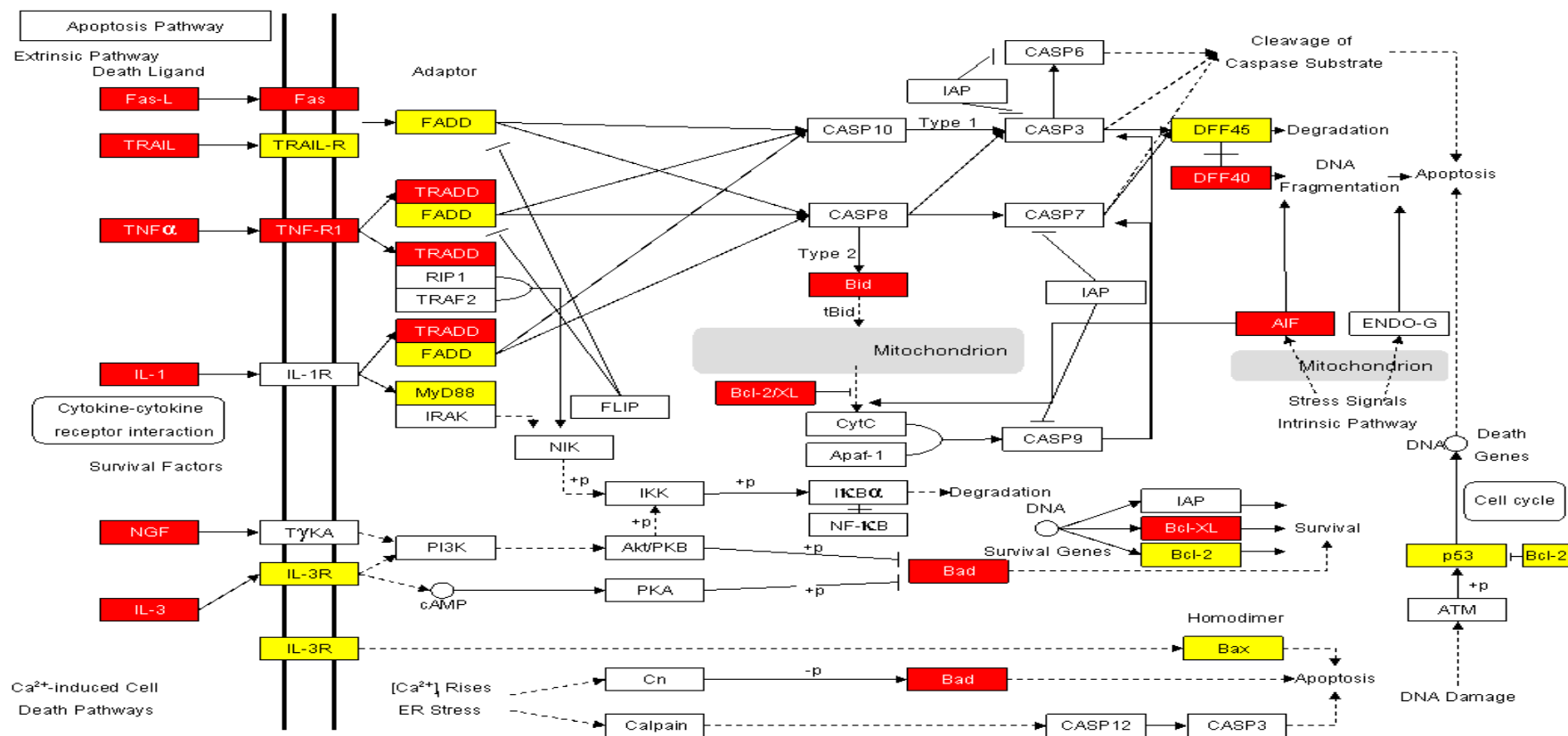
ผลสรุปข้างต้นเป็นการสรุปที่เกิดการวิเคราะห์ผลจากการใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ในการวิเคราะห์เพียงอย่างเดียว เพื่อให้สรุปผลมีความน่าเชื่อถือจึงใช้โปรแกรมอื่นในการวิเคราะห์เพิ่มเติม โดยการนำลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ที่มีค่า E-value ที่ดีที่สุด 3 ลำดับแรกจากผลของโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ไปเปรียบเทียบกับวิธี Multiple sequence alignment โดยโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 ซึ่งจากการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรกดังกล่าว ผลการเปรียบเทียบของโปรตีนที่ออกมาไม่สามารถบอกความชัดเจนในการเปรียบเทียบได้ กล่าวคือ เป็นการยากที่จะพิจารณาว่าโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดใดมีความคล้ายคลึงกับโปรตีนของคนมากที่สุด จึงใช้วิธีการทาง Phylogenetics analysis ด้วยโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 ในการพิจารณาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดย Phylogram (ใช้โปรแกรม ClustalQt เวอร์ชัน 1.5a เป็นโปรแกรมในการสร้าง input file แก่โปรแกรม PHYLIP) ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่าผลจากโปรแกรกดังกล่าวสามารถบอกความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการที่สอดคล้องกับผลการเปรียบเทียบจากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ของทั้งสองวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอโอพโทสิส ได้ 75% ถึง 80% และ 61% ถึง 82% ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.1.13 พบว่าโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังส่วนใหญ่มีลำดับกรดอะมิโนในโปรตีนคล้ายกับโปรตีนในวิธีการส่งสัญญาณจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอโอพโทสิสของคน ซึ่งแสดงว่าในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดที่ศึกษามีการอนุรักษ์วิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของทั้งสองกระบวนการไว้ และได้รับการถ่ายทอดมาจากบรรพบุรุษร่วมกัน แต่มีแนวทางของวิวัฒนาการที่ต่างกัน สำหรับโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด และไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด โปรตีนหลายตัวเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองในระบบภูมิคุ้มกัน Adaptor protein ภายในกระบวนการทั้งสอง และโปรตีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเอโอพโทสิส ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น คน มีวิวัฒนาการของกลไกภูมิคุ้มกันสูงกว่าสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่ส่วนใหญ่มีวงจรชีวิตสั้น และเนื่องจากเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีการแยกเป็นชนิดย่อยๆ จำนวนมากที่ทำงานแตกต่างกัน ซึ่งถูกกีดกันในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน จึงทำให้แนวทางของวิวัฒนาการของเซลล์ต่างกัน โปรตีนที่ไม่พบดังที่กล่าวข้างต้นอาจไม่มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง หรือมีการสร้างโปรตีนชนิดอื่นที่มีลำดับกรดอะมิโนที่ไม่ตรงกับลำดับกรดอะมิโนในโปรตีนของคนขึ้นมาแทน ดังนั้นการนำโปรตีนที่พบ และไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังไปเขียนแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณของกระบวนการของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน พบว่าโปรตีนที่พบ และไม่พบส่วนใหญ่เป็นโปรตีนชนิดเดียวกัน

จากที่กล่าวมาจะเห็นว่า วิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอพอโทสิสมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต และทำงานเกี่ยวข้องกัน จึงนำผลที่ได้จากการเปรียบเทียบจำลองแผนภาพวิถีทั้งสองของคนกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง โดยใช้แผนภาพจากฐานข้อมูล KEGG เป็นต้นแบบ สรุปเป็นแผนภาพแสดงวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอพอโทสิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ดังภาพประกอบ 24 และ ภาพประกอบ 25 แสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโกล์ และกระบวนการเอพอโทสิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด ความสอดคล้องกันของโปรตีนที่ได้ระหว่างข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนคน กับฐานข้อมูลลำดับกรดอะมิโนโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด ทำให้สามารถคาดการณ์เกี่ยวกับการคงอยู่ของปฏิกิริยาที่สำคัญในเซลล์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น ที่ยังไม่มีการศึกษาห้สัจโนม



ภาพประกอบ 29 แสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดเปรียบเทียบกับวิธีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของคน โดยโปรตีนที่แสดงด้วยสีแดงเป็นโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด โปรตีนที่แสดงด้วยสีเหลืองเป็นโปรตีนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด และโปรตีนที่แสดงสีขาวเป็นโปรตีนของคนที่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด



ภาพประกอบ 30 แสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิดเปรียบเทียบกับวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของคน โดยโปรตีนที่แสดงด้วยสีแดงเป็นโปรตีนของคนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด โปรตีนที่แสดงด้วยสีเหลืองเป็นโปรตีนที่ไม่พบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด และโปรตีนที่แสดงสีขาเป็นโปรตีนของคนพบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 6 ชนิด

หมายเหตุ

โดยที่รายชื่อโปรตีนที่แสดงในภาพประกอบทั้งสองอ้างอิงจากรายชื่อโปรตีนในวิถีการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดโทลล์ และกระบวนการเอพอพโทสิสของคน

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

1. Pier GB, Lyczak JB, Wetzler LM. Immunology, Infection and Immunity. Washington DC: ASM Press; 2004
2. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchil MJ. Immuno Biology the immune system in health and disease. 6th ed. New York: Garland Science Publishing; 2005. p.1-34.
3. Roach JC, Glusman G, Rowen L, Kaur A, Purcell MK, Smith KD, et al. The evolution of vertebrate Toll-like receptors. PNAS 2005;102:9577-9582.
4. Hertz CJ, Modlin RL. Role of Toll-like receptor in response to bacterial infection. Contrib Microbiol 2003;10:149-63.
5. Akira S, Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. Immunol Lett. 2003;85:85-95.
6. Barton, GM, Medzhitov R. Toll-like receptors and their ligands. Curr Top Microbiol Immunol, 2002;270:81-92.
7. Akira, S. Mammalian Toll-like receptors. Curr Opin Immunol 2003;15(1):5-11.
8. Zhang A, Wu Y, Lai HW.L., Yew DT. Apoptosis-A brief review. Neuro embryology 2004-05;3:47-59
9. Leu JH, Wang HC, Kou GH, Lo CF. *Penaeus monodon* caspase is targeted by a white spot syndrome virus anti-apoptosis protein. Developmental and Comparative Immunology 2007:1-11
10. Beutler B. Innate immunity: an overview. Molecular Immunology 2004;40:845-859.
11. สิทธิ สงค์ศิริ. The immune system. Retrieved June 10, 2007, from URL: <http://www.ams.cmu.ac.th/depts/clinimn/311-chapter1.pdf>.
12. Beck G, Habicht GS. Immunity and the invertebrates. Scientific American. 1996: 60-66.
13. Christophides GK, Zdobnov E, Mury CB, Birney E, Blandin S, Blass C, et al. Immunity-Related Gene and Families in *Anopheles gambiae*. SCIENCE 2002;298:159-165.
14. Zheng L, Zhang L, Lin H, McIntosh MT, Malacrida AR. Toll-like receptor in invertebrate innate immunity. ISJ 2005;2:105-113.

15. Roth S. The origin of dorsovental polarity in *Drosophila*. Phil.Trans.R.Soc.Lond.B. 2003;358:1317-1329.
16. Rich T. Toll and toll-like receptor: an immunologic perspective. New York: Kluwer Academic/Plenum; 2005.
17. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. Cell 2006;124:783-801.
18. Neil LAJ. The role of MyD88-like adapters in Toll-like receptor signal transduction. Biochem Soc Trans. 2003;31(3):643-7.
19. Fitzgerald, KA., et al., Mal (MyD88-adaptor-like) is required for Toll-like receptor-4 signal transduction. Nature, 2001;413(6851):78-83.
20. Horng T, Medzhitov R. *Drosophila* MyD88 is an adapter in the Toll signaling pathway. Proc Natl Acad Sci 2001;98(22):12654-8.
21. Kawai T, Akira S. TLR signaling. Cell Death Differ 2006;13(5):816-25.
22. รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย การตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน Apoptosis in the immune system. เชียงใหม่: โรงพิมพ์ดาวคอมพิวกราฟิค; 2006.
23. Bunchaleamchai A. Isolation and analysis of an apoptotic gene in lymphatic filarial nematode [Dissertation M.S. Molecular Biology]. Bangkok: Srinakharinwirot Univ.; 2006.
24. Grimm S. Genetics of Apoptosis. Martinsried: Bios Scientific Publishers Ltd; 2003.
25. Yin XM, Dong Z. Essential of Apoptosis A Guide for Basic and Clinical Research. Totowa, N.J : Humana Press; 2003.
26. Van Cs, Van DBW. Morphological and biochemical aspects of apoptosis, oncosis and necrosis. Anat Histol Embryol 2002;3(4):214-23.
27. Ma Y, Temkin V, Liu H, Pope RM. NF-kB protects macrophages from Lipopolysaccharide-induced Cell death. Journal of biological chemistry 2005;280(51):41827-41834.
28. Basic concept in apoptosis signaling. Retrieved June 15, 2007, from URL: <http://www.sfb021.at/villunger/general.html>.
29. Bcl-2 and related family proteins are key regulators of apoptosis. Retrieved February 10, 2007, from URL: http://www.life.uiuc.edu/z-huang/project/bcl2/bcl_5.html
30. Intrinsic apoptosis pathways. Retrieved September 9, 2007, from URL: <http://www.hokudai.ac.jp/veteri/organization/radbiol/apoptosis.gif>.

31. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. เรียนรู้โปรแกรมชีวสารสนเทศด้วยตนเอง. กรุงเทพฯ: งานนิเทศสัมพันธ์; 2004.
32. Mount DW. Bioinformatics Sequence and Genome Analysis. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
33. Tuimala J. A primer to phylogenetic analysis using Phylip package. 4th ed.: CSC;2005
34. Korf I, Yandell M, Bedell J. An Essential Guide to the Basic Local Alignment Search Tool: BLAST. Sebastopol: O'Reilly and Associates Inc; 2003
35. BLAST for beginners. Retrieved September 9, 2007, from URL:
<http://www.geospiza.com/outreach/BLAST/>.
36. Do CB, Mahabhashyam MSP, Brudno M, Batzoglou S. ProbCons: Probabilistic consistency-based multiple sequence alignment. Genome research 2005;15:330-340.
37. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. ชีวสารสนเทศศาสตร์ Bioinformatics. กรุงเทพฯ: งานนิเทศสัมพันธ์; 2000.
38. Phylogenetics. Retrieved September 9, 2007, from URL:
<http://user.urgent.be/~avierstr/principles/phylogeny.html>
39. Molecular Phylogenetics. Retrieved September 9, 2007, from URL:
<http://www.ncbi.nih.gov/About/primer/phylo.html>.
40. Aliprantis AO, Yang RB, Weiss DS, Godowski P, Zychlinsky A. The apoptosis signaling pathway activated by Toll-like receptor-2. The EMBO Journal 2000;19(13):3325-3336
41. Irving P, Troxler L, Heuer ST, Belvin M, Kopczynski C, Reichhart JM, et al. A genome-wide analysis of immune responses in *Drosophila*. PNAS 2001;:
42. Gregorio ED, Spellman TP, Tzou P, Rubin GM, Lemaitre B. The Toll and Imd pathways are the major regulators of the immune response in *Drosophila*. The EMBO Journal 2002;21:2568–2579
43. Yang LS, Yin ZX, Liao JX, Huang XD, Guo CJ, Weng SP, et al. A Toll receptor in shrimp. Molecular Immunology 2007;[44\(8\)](#):1999-2008
44. Purcell MK, Smith KD, Hood L, Winton JR, Roach JC. Conservation of Toll-Like Receptor Signaling Pathways in Teleost Fish. Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics 2006;1(1):77–88.)
45. Zamboni RA, Nandakumar M, Vakharia VN, Wu LP. The Toll pathway is important for an antiviral response in *Drosophila*. PNAS 2005;12(20):7257-7262

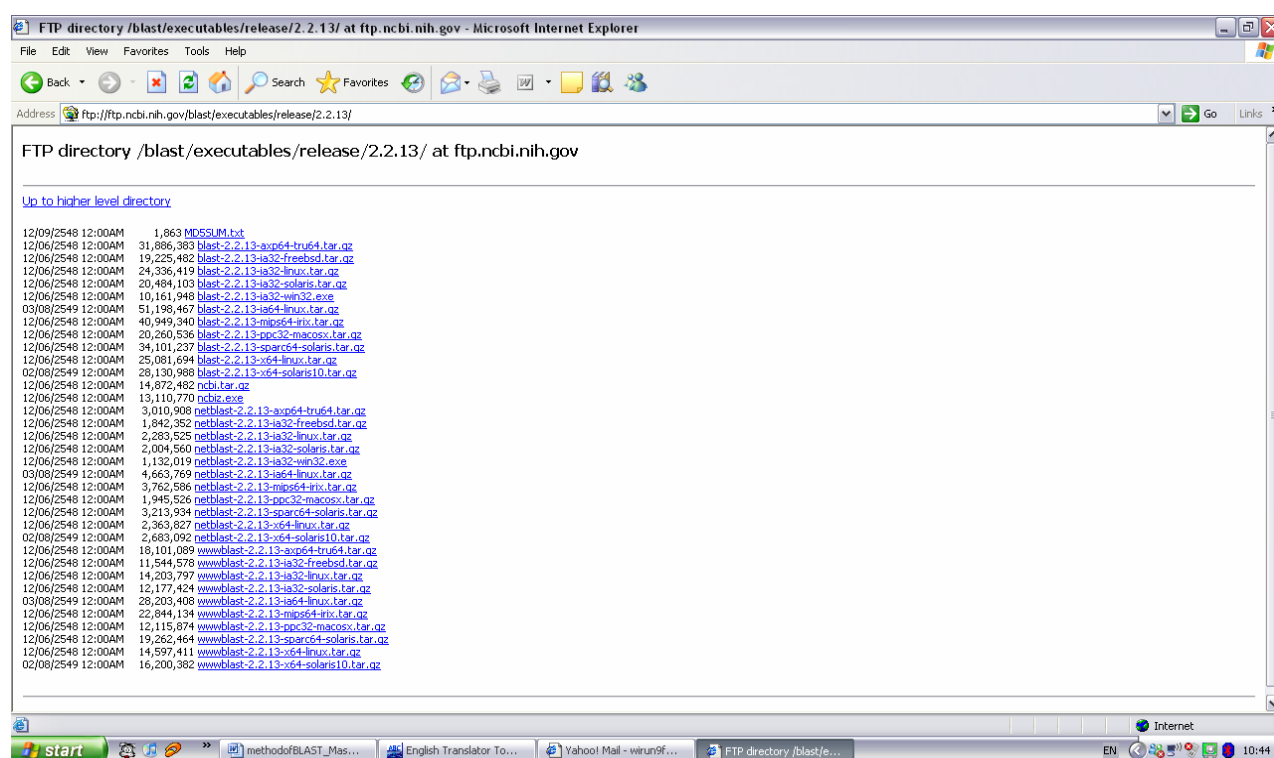
46. Honda K, Yanai H, Mizutani Y, Negishi H, Shimada N, Suzuki N, Yusuke, et al.
Role of transductional-transcriptional processor complex involving MyD88 and
IRF-7 in Toll-like receptor signaling. PNAS 2004;101(43):15416-15421.
47. Phudendaen C. Apoptosis and related protein in normal human liver and
Cholangiocarcinoma [Dissertation M.S. Anatomy]. Khon Kaen: Khon Kaen Univ.;
2001.
48. Prangsaengtong O. Induction of Apoptosis in the absence of caspase-3 by the flavone
VR-3623 in human breast cancer cell line [Dissertation M.S. Physiology]. Bangkok:
Mahidol Univ.; 2001.
49. Kunwittaya S. Apoptosis of Immune Red Blood Cells in β -thalassemic patients
[Dissertation M.S. Molecular Technology]. Chiang Mai: Chiang Mai Univ.; 2006.
50. Grun, A., Wang, Y.L., et al. MicroRNA target predictions across seven
Drosophila species and comparison to mammalian targets. Plos Comp Biol.
1(1):51-66
51. หทัยชนก แสงศิลป์มณี. เอกสารขั้นตอนวิธีการแบบขนานของโปรแกรม BLAST. หน้า 1
52. Leep T, Muller M. Comparative human–mouse–rat sequence analysis of the
ICAM gene cluster on HAS 19p13.2 and a 185-kb porcine region from SSC 2q.
Gene 2007;343:239-244
53. Kanehisa M, Goto S, Hattori M, Aoki-Kinoshita KF, Itoh M, Kawashima S, Katayama T,
Araki M, Hirakawa M. From genomics to chemical genomics: new developments in
KEGG. Nucleic Acids Research 2006;34:D354-D357.
54. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The ClustalX
windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by
quality analysis tools. Nucleic Acids Research 1997;25:4876-4882.
55. Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Miller W, Lipman DJ. Gapped BLAST
and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic
Acids Res, 1997;25:3389-3402
56. Do CB, Mahabhashyam MSP, Brudno M, Batzoglou S. ProbCons: Probabilistic
consistency-based multiple sequence alignment. Genome Research, 2005:15330-
340
57. Felsenstein J. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood
approach. Journal of Molecular Evolution, 1981;17:368-376.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การใช้โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13 ในการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ของคณกับฐานข้อมูลโปรตีนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด

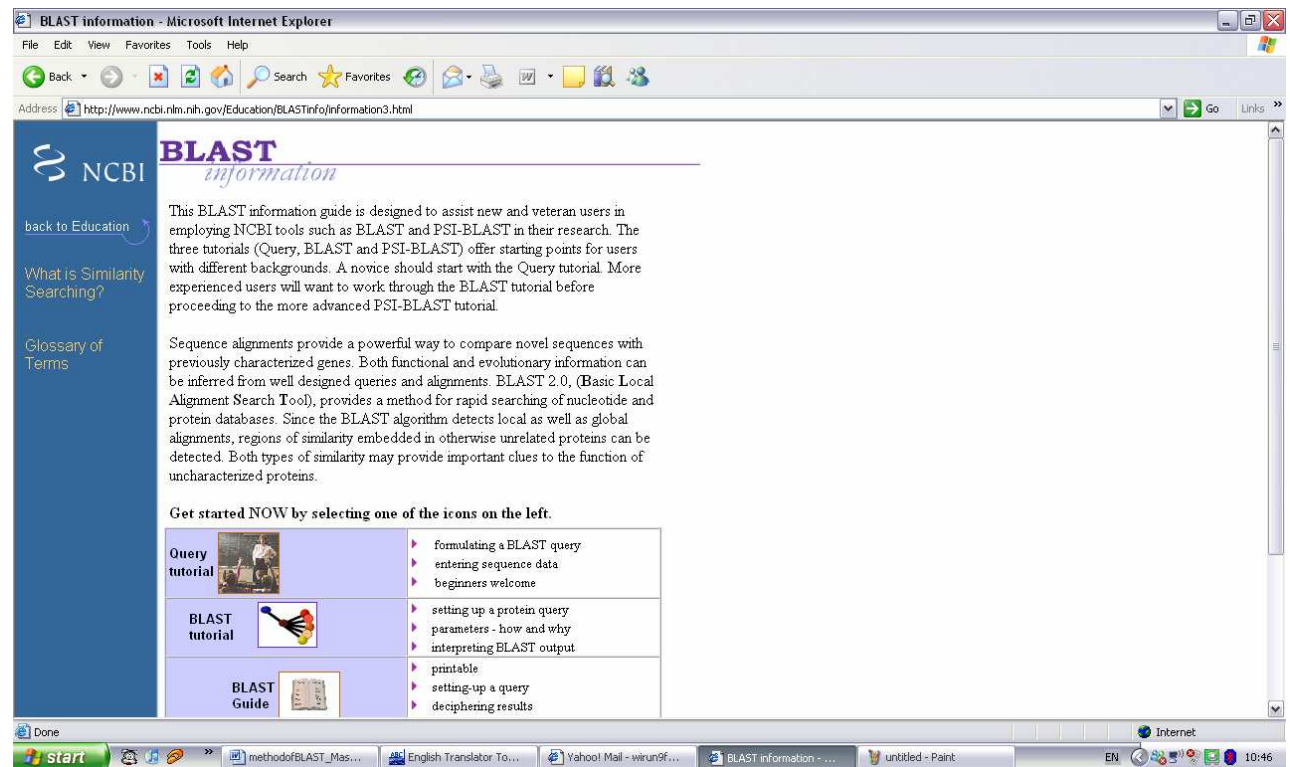
1. เนื่องจากจะทำการติดตั้งเครื่องมือในลักษณะของ standalone ดังนั้น ต้องทำการดาวน์โหลดโปรแกรม BLAST จาก NCBI ที่เว็บ <ftp://ftp.ncbi.nih.gov/blast/executables/release/2.2.17/> ดังภาพประกอบ 31



ภาพประกอบ 31 แสดงหน้าเว็บไซต์ดาวน์โหลดโปรแกรม BLAST จาก NCBI ที่เว็บ <ftp://ftp.ncbi.nih.gov/blast/executables/release/2.2.17/>

และ สามารถดูรายละเอียดข้อมูลได้ที่

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Education/BLASTinfo/information3.html> ดังภาพประกอบ 32 เพื่อ
ทำความเข้าใจในการใช้โปรแกรม BLAST มากขึ้น



ภาพประกอบ 32 แสดงหน้าเว็บไซต์ในการศึกษาข้อมูลของการใช้โปรแกรม BLAST เวอร์ชัน

2.2.13 จาก <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Education/BLASTinfo/information3.html>

2. เลือกเวอร์ชันที่สามารถติดตั้งได้กับระบบบนเครื่องคอมพิวเตอร์นั้นๆ
3. ทำการแตกไฟล์ ซึ่งทำให้ได้โฟลเดอร์ต่างๆ เช่น bin, data, doc folder เป็นต้น
4. ทำการสร้างโฟลเดอร์ใหม่ภายในโฟลเดอร์ bin และ input file ทั้งหมดที่ใช้งานให้ไปวางอยู่ในที่เดียวกันนี้
5. ทำการรันโปรแกรม ซึ่งในที่นี้ใช้ command line เช่น กรณีมีข้อมูล file ของ Genome a และ file unknown sequence ซึ่งข้อมูล sequence เหล่านี้เป็นรูปแบบของโปรตีน และมีลักษณะเป็น FastA format

ตัวอย่างวิธีการในขั้นตอน 5

5.1 ทำการ format ตัวที่เป็นฐานข้อมูล <database genome> คือ genome A ก่อน โดยใช้ คำสั่ง

i. formatdb -i genome A

5.2 จากนั้นทำการ BLAST โดยใช้คำสั่ง

5.2.1 blastall -p blastp -i <query genome> -d <database genome>
-e <cutoff> -o output file name

เช่น blastall -p blastp -i unknown sequence file -d genomeA -e 0.0001 -o
unknownVSgenomeA

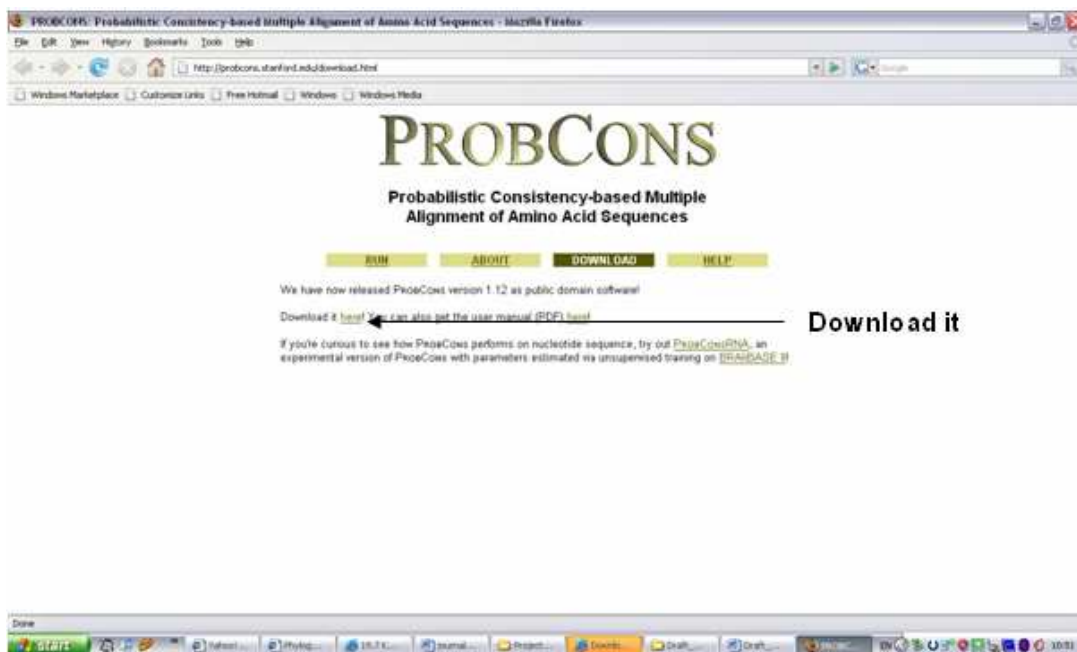
หมายเหตุ Command line ที่ใช้สำหรับการรัน BLAST นั้นมีหลาย command ให้เลือก เช่น ถ้า sequence เป็นลักษณะ nucleotide sequence, command line อาจจะเป็น -p blastx เป็นต้น

6. ทำการ Extract ข้อมูลที่ได้จากการรัน BLAST โดยอาจจะใช้ bioperl มาทำการ extract ข้อมูลในส่วนที่เราต้องการแสดงผลได้ ตามข้อที่ 4

ภาคผนวก ข

การใช้โปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 เพื่อยืนยันผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของคน กับฐานข้อมูลโปรตีนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด จากโปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13

1. การใช้โปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 ในการวิจัยครั้งนี้ ใช้โปรแกรมบนเครื่องคอมพิวเตอร์ Macbook โดยสามารถดาวน์โหลด และติดตั้งโปรแกรมลงบนเครื่องคอมพิวเตอร์ได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย ซึ่งสามารถดาวน์โหลดได้ที่ <http://probcons.stanford.edu/download.html> ซึ่งมีส่วนของบริเวณให้ดาวน์โหลด ดังภาพประกอบ 33



ภาพประกอบ 33 แสดงหน้าจอของเว็บไซต์ <http://probcons.stanford.edu/download.html> สำหรับดาวน์โหลดโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1

2. เมื่อคลิกที่ Download it here จะปรากฏหน้าต่างที่แสดงรายชื่อ (probcons_V1_12.tar.gz) และขนาดของไฟล์ สำหรับบันทึกไฟล์ดังกล่าวลงเครื่องคอมพิวเตอร์ ซึ่งระบบปฏิบัติการที่สามารถใช้โปรแกรมห้ดังกล่าวได้ จำเป็นต้องใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ Macbook

3. เมื่อทำการจัดเก็บไฟล์ดังกล่าวลงเครื่องคอมพิวเตอร์เรียบร้อยแล้ว ให้ทำการติดตั้งไฟล์ดังกล่าวในเครื่องคอมพิวเตอร์ โดยเพื่อให้สะดวกต่อการเรียกใช้งานจะจัดเก็บไฟล์ดังกล่าวในโฟลเดอร์ Documents

4. การใช้โปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 ต้องใช้ Command-line interface ในการสั่งงานโปรแกรม ซึ่งเริ่มต้นด้วยการย้ายไฟล์ที่ต้องการเปรียบเทียบ (รูปแบบไฟล์อยู่ในรูป FastA ที่มีลำดับข้อมูลลำดับกรดอะมิโนในโปรตีนของคน และข้อมูลลำดับกรดอะมิโนในโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง) ไปอยู่ในโฟลเดอร์ของโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 (ชื่อ Probcons) จากนั้นเปิด Terminal เพื่อใช้งานโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 โดยพิมพ์คำสั่งเพื่อให้เข้าไปที่โฟลเดอร์ Documents จากนั้นเข้าไปที่โฟลเดอร์ Probcons

5. จากนั้นพิมพ์คำสั่ง

`“./probcons_clustalw resultMAP3K14.txt >> MAP3K14_ApopCe_outputx3.aln”`

โดยที่ ResultMAP3K14.txt เป็นไฟล์ที่ต้องการเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม PROBCONS และ ไฟล์ MAP3K14_ApopCe_outputx3.aln เป็นไฟล์ที่ได้จากการเปรียบเทียบจากโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 โดยเมื่อเปรียบเทียบเสร็จไฟล์ดังกล่าวจะอยู่ในโฟลเดอร์ Probcons

6. จัดเก็บไฟล์ที่ได้จากการเปรียบเทียบจากโปรแกรม PROBCONS เวอร์ชัน 1.1 จากโฟลเดอร์ Probcons ไปจัดเก็บไว้โฟลเดอร์อื่น เพื่อง่ายต่อการค้นหา

7. สำหรับไฟล์ที่ต้องการเปรียบเทียบอื่นๆ ทำลักษณะเช่นเดียวกันกับการใช้โปรแกรมในการเปรียบเทียบ resultMAP3K14.txt

ภาคผนวก ค

การใช้โปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 เพื่อยืนยันผลการเปรียบเทียบลำดับ
กรดอะมิโนของคน กับฐานข้อมูลโปรตีนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 6 ชนิด จาก
โปรแกรม BLASTP เวอร์ชัน 2.2.13

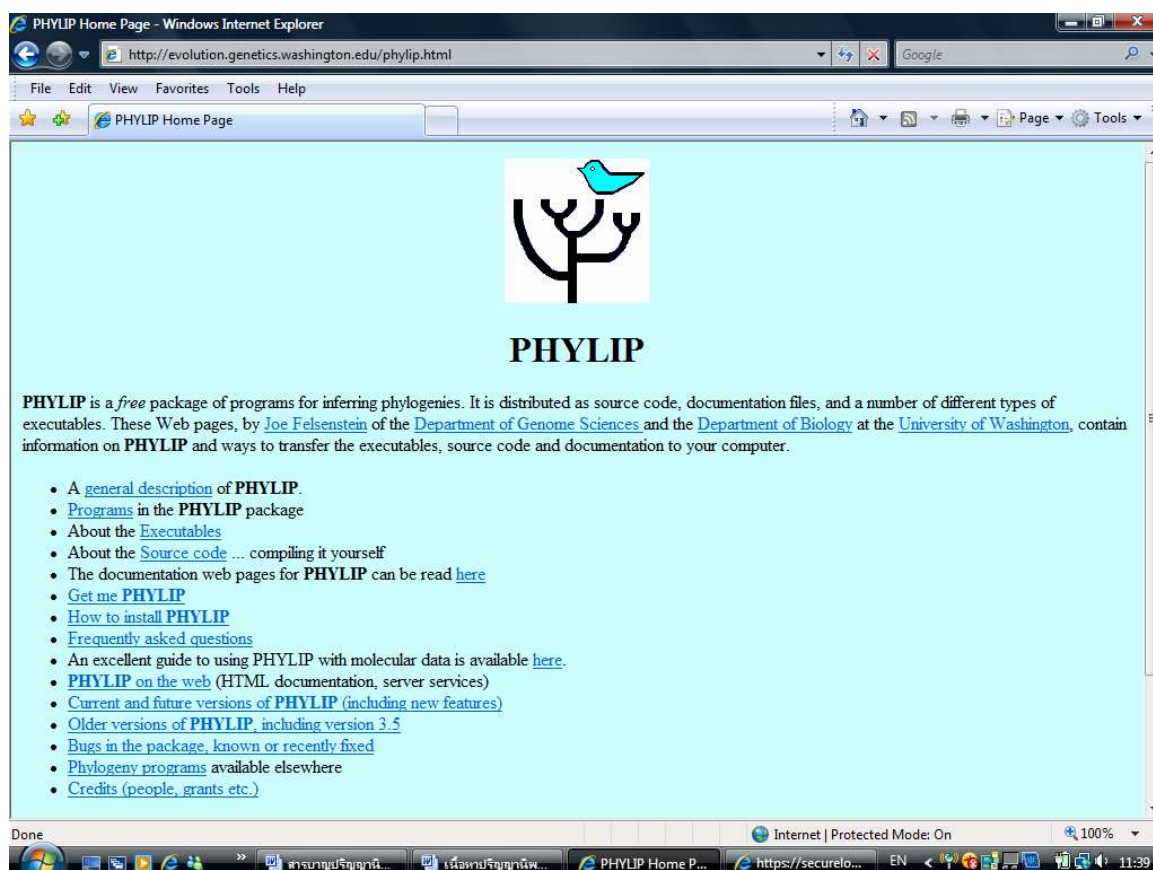
เริ่มต้นการใช้งาน

การติดตั้งโปรแกรม PHYLIP

1. เชื่อมต่ออินเทอร์เน็ตไปยังเว็บไซต์

<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>

2. ผู้ใช้สามารถดาวน์โหลดโปรแกรมได้โดยไปที่หัวข้อ Get me PHYLIP เลือกที่หัวข้อย่อย Latest “alpha release” of PHYLIP 3.67 ดังภาพประกอบ 34 แสดงการดาวน์โหลดโปรแกรม PHYLIP 3.67



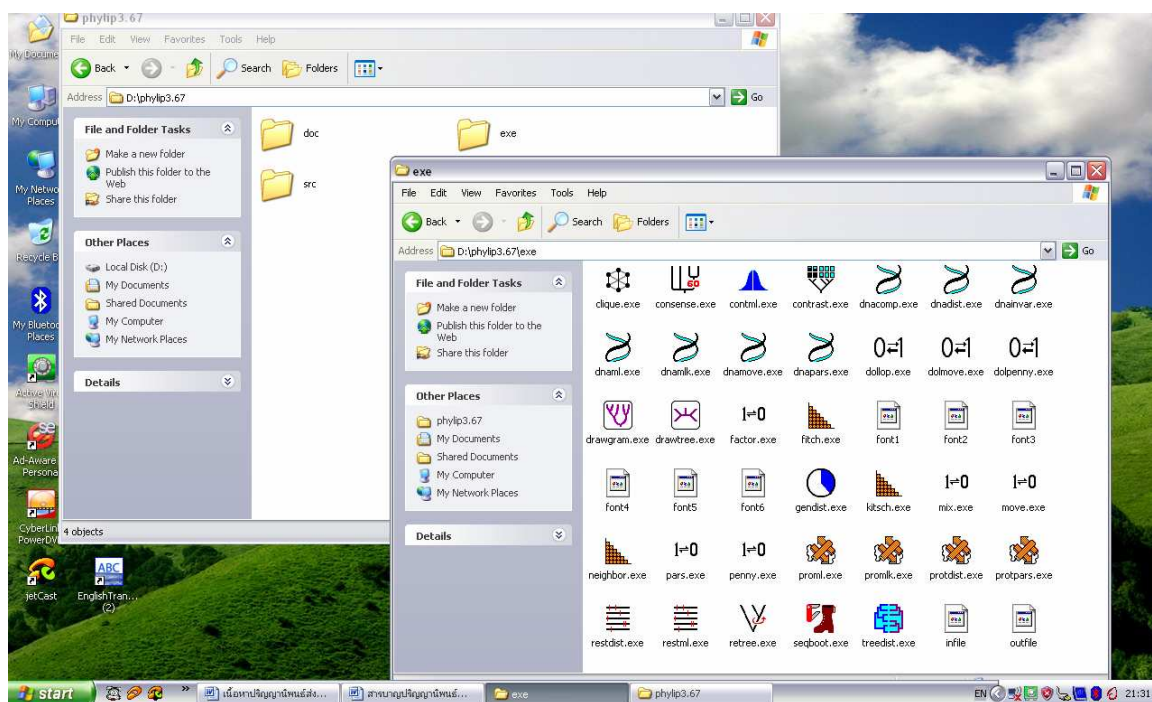
ภาพประกอบ 34 แสดงการดาวน์โหลดโปรแกรม PHYLIP 3.67

3. เนื่องจากโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 สามารถแบ่งย่อยได้ตามระบบปฏิบัติการ ผู้ใช้สามารถเลือกดาวน์โหลดโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67 ได้ตามความเหมาะสมกับเครื่องคอมพิวเตอร์ที่ใช้

4. เมื่อทำการดาวน์โหลด จนครบจะได้ลักษณะของไฟล์ exe โดยไฟล์ที่ชื่อ phylipw ประกอบไปด้วยไฟล์เอกสารช่วยเหลือ และ source code ส่วนโปรแกรมหลักอยู่ในไฟล์ที่ชื่อ phylipwx และ phylipwy

5. เมื่อทำการดับเบิลคลิกในแต่ละไฟล์จะแสดงหน้าต่าง self-extraction ให้เลือกที่คำสั่ง unzip โดยไม่ต้องปรับค่าใดๆ

6. เมื่อ Extract ครบทั้ง 3 ไฟล์ จะเกิดโฟลเดอร์ใหม่ที่มีชื่อ PHYLIP โดยเมื่อคลิกดูภายในจะประกอบด้วย โฟลเดอร์ย่อยๆ และเมื่อคลิกเข้าไปในโฟลเดอร์ “exe” จะพบรายชื่อของโปรแกรมทั้งหมดของ PHYLIP ดังภาพประกอบ 35



ภาพประกอบ 35 แสดงโปรแกรมทั้งหมดของ PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

โดยที่

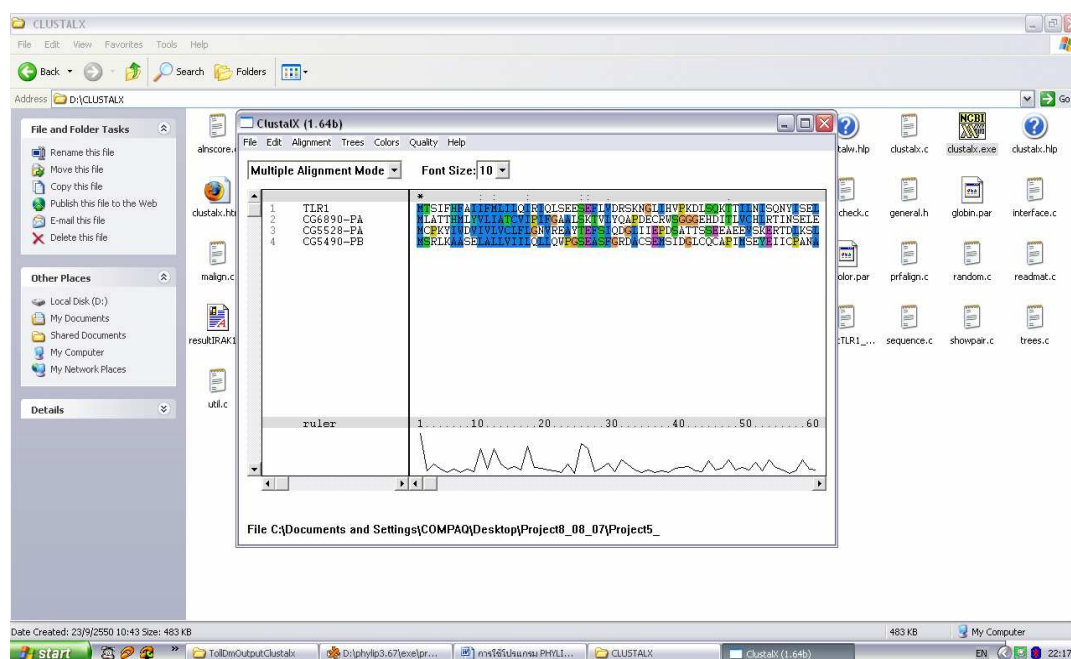
- doc: ประกอบไปด้วยไฟล์ช่วยเหลือ
- exe: รวมส่วนของโปรแกรมทั้งหมดของ PHYLIP
- src: รวม source code ของโปรแกรม

7. เสริมขั้นขั้นตอนการติดตั้งโปรแกรม PHYLIP วิธีเรียกใช้แต่ละโปรแกรมใช้วิธีการดับเบิลคลิกที่ไอคอนที่ต้องการใช้

การใช้โปรแกรม PHYLIP

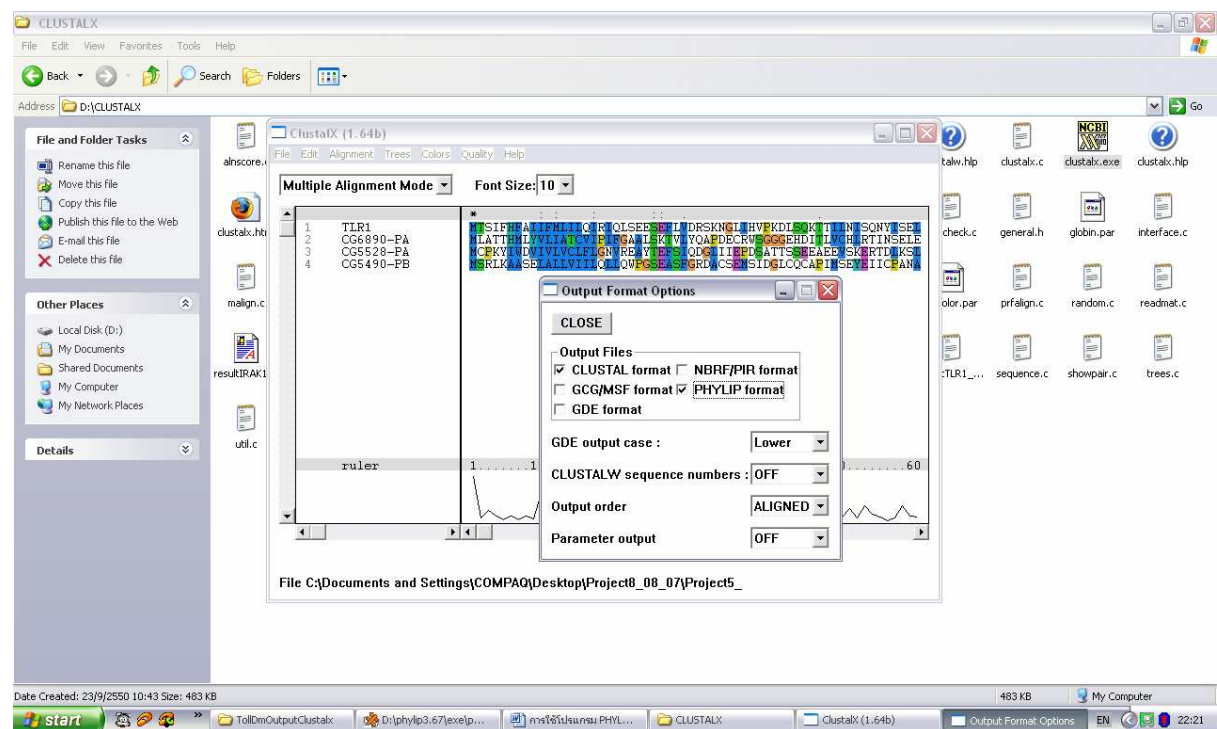
ตัวอย่างที่ทำการสาธิต เป็นการนำข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน TLR1 ซึ่งเป็นโปรตีนตัวรับวิธีการส่งสัญญาณจากกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของคน กับโปรตีนของ *Drosophila melanogaster* คือ CG5528-PA, CG6890-PA และ CG5490-PB มาศึกษาหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของโปรตีน โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. เริ่มต้นด้วยขั้นตอนการจัดเรียงลำดับกรดอะมิโน โดยใช้โปรแกรม CLUSTALX เวอร์ชัน 1.64b โดยการดับเบิลคลิกที่ไอคอน  (ClustalX.exe) จากนั้นเลือกคำสั่ง File > Load Sequences เปิดไฟล์ที่ชื่อ resultTLR1_Toll_Dp จะได้ดังภาพประกอบ 36



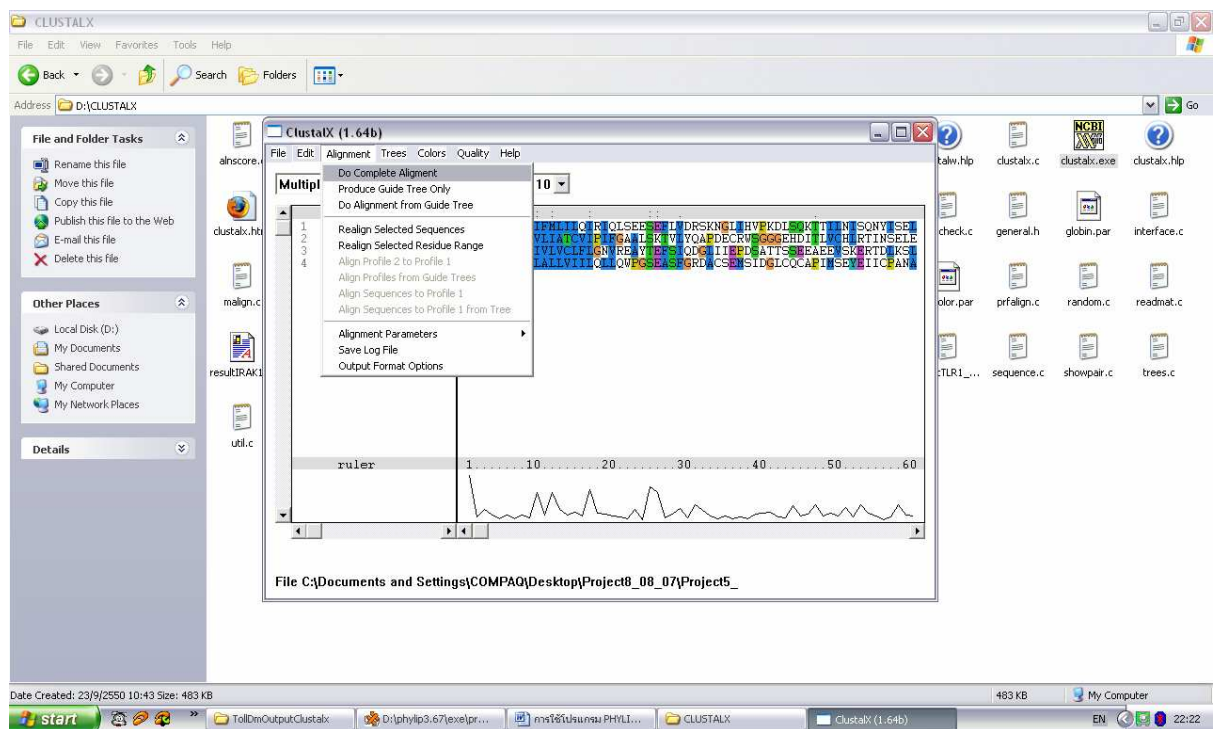
ภาพประกอบ 36 การนำลำดับกรดอะมิโนเข้ามาในโปรแกรมโดยเปิดไฟล์ resultTLR1_Toll_Dp.txt

2. ใช้คำสั่งผ่านเมนู Edit > Select All Sequences เพื่อเลือกลำดับเบสทั้งหมดที่ต้องการทำงานด้วยแถบสีดำ จากนั้นเข้าไปคลิกในส่วนเมนูคำสั่ง Alignment > Output Format Option จะปรากฏหน้าต่างให้กำหนดค่าต่างๆ เนื่องจากโปรแกรม PHYLIP ต้องอาศัยข้อมูลเริ่มต้นที่ผ่านการจัดเรียงลำดับกรดอะมิโนแล้ว และต้องอยู่ในรูปของ PHYLIP format จึงต้องตั้งค่า output เป็น PHYLIP format ดังภาพประกอบ 37 จากนั้นกด CLOSE



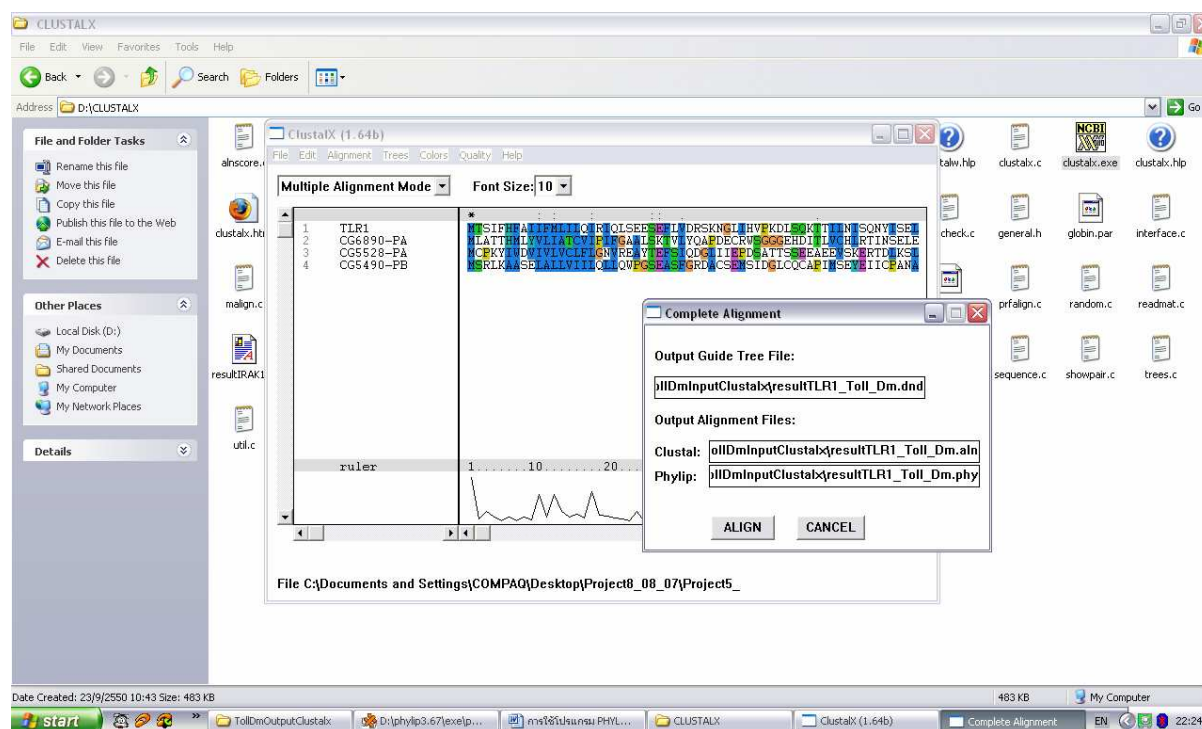
ภาพประกอบ 37 แสดงการตั้งค่า output เป็น PHYLIP format

3. ใช้คำสั่งผ่านเมนู Alignment > Do Complete Alignment ดังภาพประกอบ 38



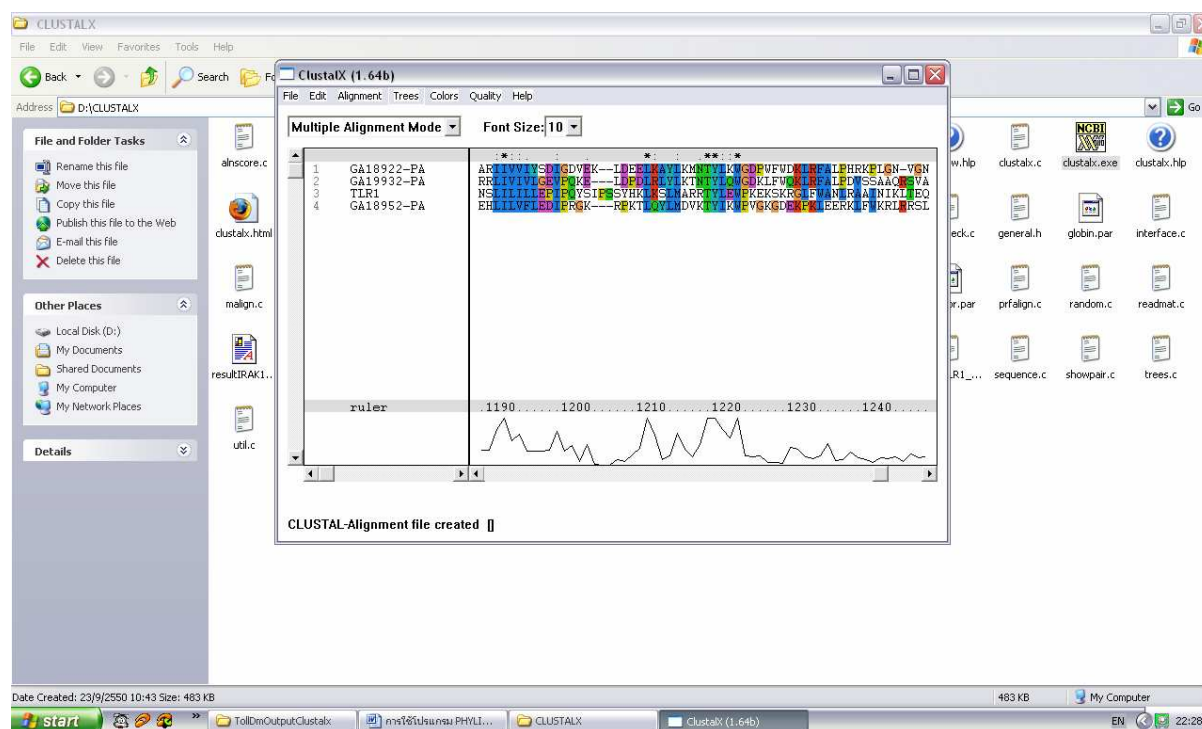
ภาพประกอบ 38 แสดงคำสั่ง Do Complete Alignment

4. เมื่อเลือกจะปรากฏหน้าต่างขึ้นมาใหม่บอกตำแหน่ง และชื่อไฟล์ ของผลที่จะได้จากการจัดเรียงลำดับกรดอะมิโนด้วยโปรแกรม CLUSTALX เวอร์ชัน 1.67b โดยอัตโนมัติโปรแกรมจะทำการ Phylogenetic guide tree ให้ด้วยซึ่งจะบันทึกอยู่ในไฟล์ ที่มีนามสกุล .dnd และไฟล์ Alignment ซึ่งจะมีนามสกุลเป็น .phy ดังภาพประกอบ 39



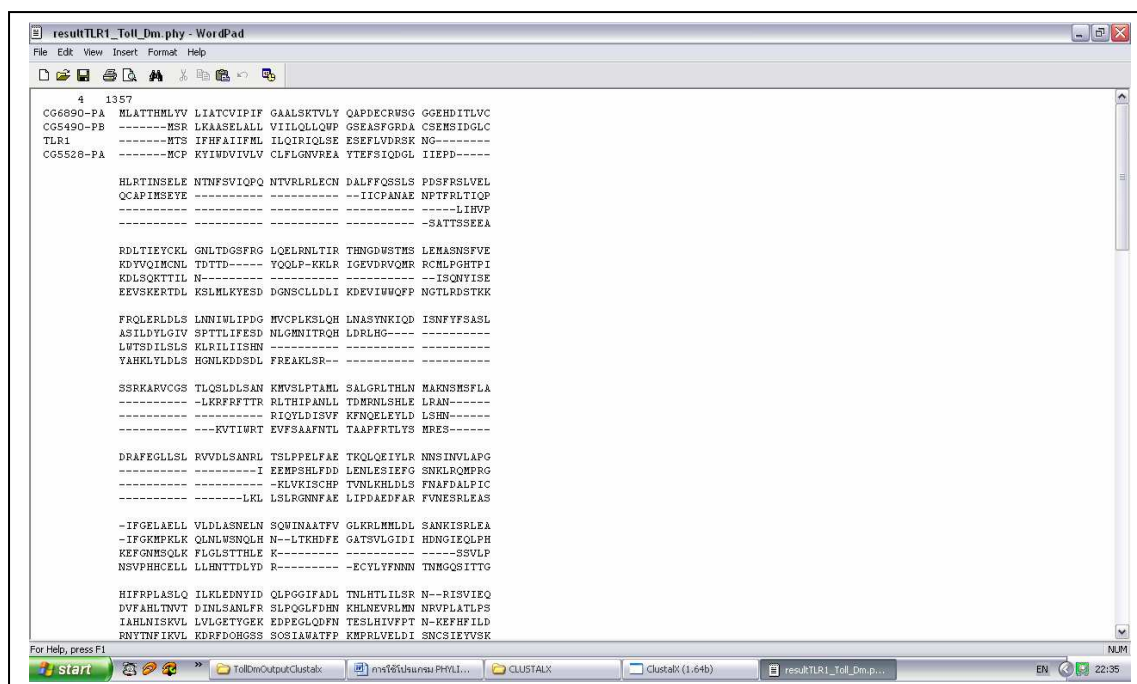
ภาพประกอบ 39 แสดงไฟล์ผลที่ได้จากการทำ Alignment ด้วยโปรแกรม CLUSTALX เวอร์ชัน 3.67b

5. เมื่อเลือกที่คำสั่ง ALIGN โปรแกรมจะเริ่มทำงาน เมื่อเสร็จสมบูรณ์จะแสดงผล ดังภาพประกอบ 40



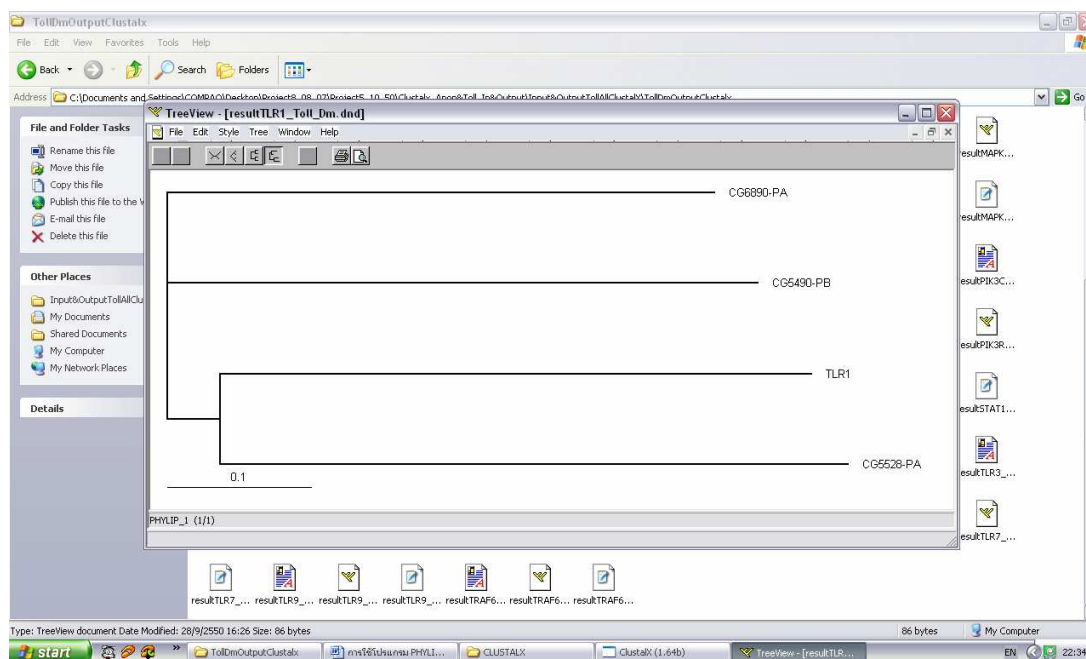
ภาพประกอบ 40 แสดงการทำงานของโปรแกรมในการจัดเรียงลำดับกรดอะมิโน

6. จากขั้นตอนที่ 5 เมื่อเข้าไปยัง Folder ที่จัดเก็บผลการจัดเรียงลำดับกรดอะมิโนจะพบกับไฟล์ที่มี 2 แบบ คือ resultTLR1_Toll_Dp.phy และ resultTLR1_Toll_Dp.dnd ซึ่ง resultTLR1_Toll_Dp.phy จะสามารถเปิดดูได้โดยอาศัยโปรแกรม text editor เช่น notepad หรือ wordpad จะได้ลักษณะดังภาพประกอบ 41



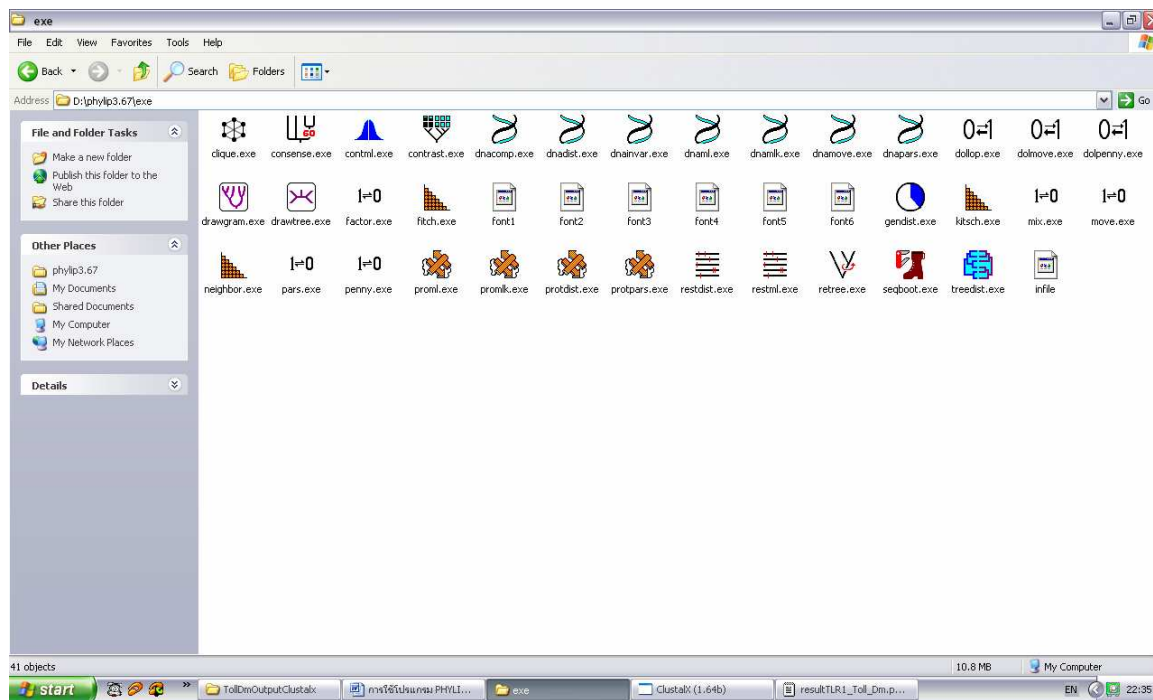
ภาพประกอบ 41 แสดงไฟล์ resultTLR1_Toll_Dp.phy เปิดดูโดยโปรแกรม text editor

ส่วน resultTLR1_Toll_Dp.dnd ซึ่งเป็น guide tree สามารถเปิดได้ด้วยโปรแกรมประเภท TreeView จะได้ผลดังภาพประกอบ 42



ภาพประกอบ 42 แสดงไฟล์ resultTLR1_Toll_Dp.dnd เปิดด้วยโปรแกรม TreeView

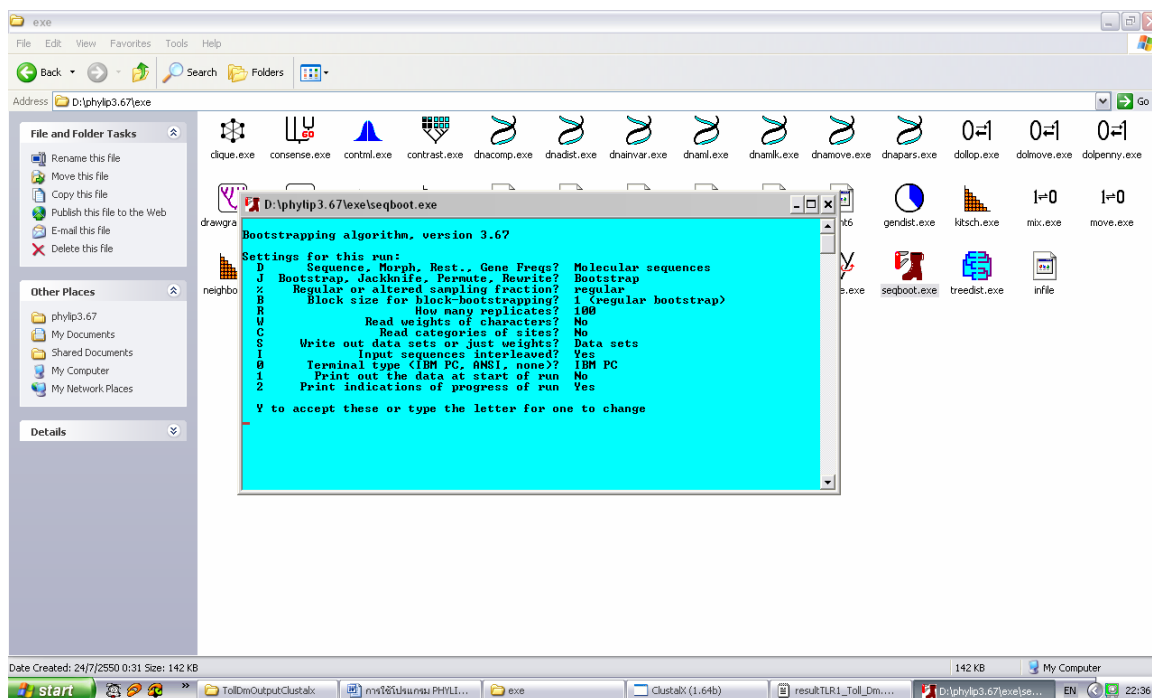
7. จากขั้นตอนที่ 6 ให้ใช้คำสั่ง Rename ทำการเปลี่ยนชื่อ resultTLR1_Toll_Dp.phy เป็น infile โดยไม่ต้องใส่นามสกุล แล้วย้าย infile ไปไว้ในโฟลเดอร์ “exe” ของโปรแกรม PHYLIP เพื่อเตรียมพร้อมในการนำไปใช้กับชุดโปรแกรม PHYLIP ดังภาพประกอบ 43



ภาพประกอบ 43 แสดงการเตรียมไฟล์ไว้ใช้งานในโปรแกรม PHYLIP เวอร์ชัน 3.67

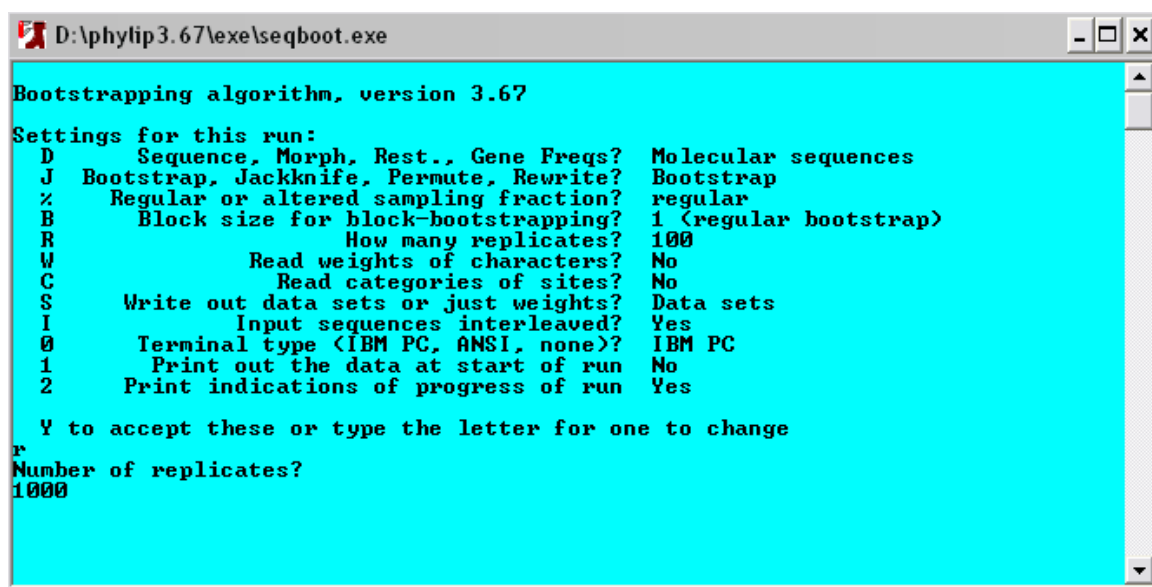
8. จากขั้นตอนที่ 7 จะเริ่มการทำงานจากโปรแกรม seqboot.exe เป็นการทำ bootstrapping ทำให้เกิดชุดข้อมูลจำนวนมาก เป็นประโยชน์นำไปใช้ในการคำนวณเพื่อการสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic tree) วิธีการคือ ดับเบิ้ลคลิกที่ไอคอน  จะปรากฏหน้าต่างดังภาพประกอบ 44

Seqboot.exe



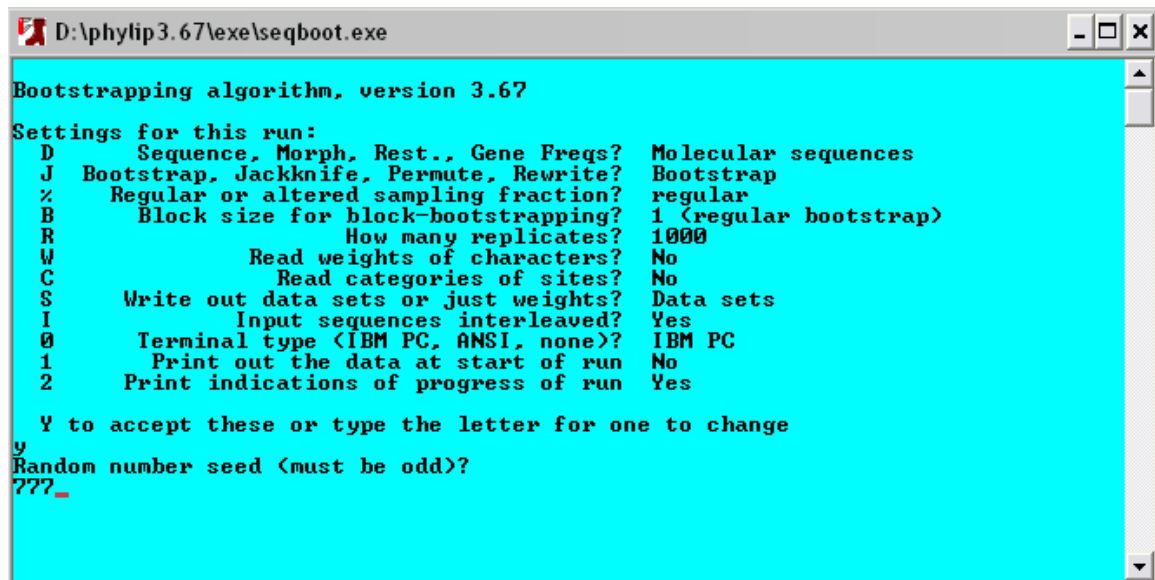
ภาพประกอบ 44 แสดงหน้าต่างที่เกิดจากโปรแกรม seqboot.exe

ซึ่งวิธีในการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ สามารถทำได้โดยการพิมพ์ตัวอักษรนำหน้าในแต่ละแถวที่ต้องการเปลี่ยน ตัวอย่างเช่น ต้องการเปลี่ยนจำนวนชุดข้อมูล Replication ในแถว R จาก 100 เป็น 1000 ชุด ให้พิมพ์อักษรนำหน้าแถวคือ R แล้วกด enter โปรแกรมจะขึ้นคำถามให้ใส่จำนวน 1000 แล้วกด enter จะสังเกตตัวเลขเปลี่ยนเป็น 1000 ดังภาพประกอบ 45



ภาพประกอบ 45 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าจำนวนชุดข้อมูล replication

จากนั้นตอบตกลงค่าที่ตั้งไว้โดยการกด y แล้ว enter โปรแกรมจะถามค่า random number seed ให้ใส่ 777 แล้ว enter เริ่มการทำงานโดยอัตโนมัติ เมื่อเสร็จหน้าต่างสีฟ้าจะหายไปก่อนจะปรากฏผลที่ได้เป็นไฟล์ที่ชื่อ outfile ออกมาดังภาพประกอบ 46



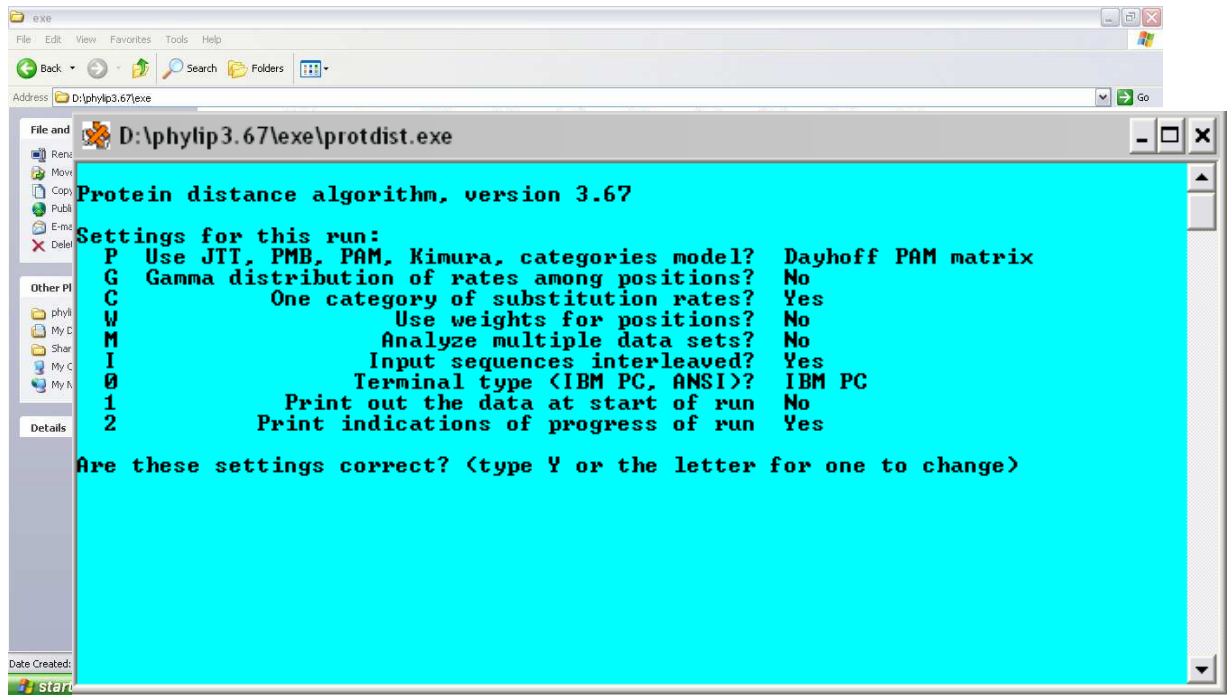
```

D:\phyli3.67\exe\seqboot.exe
Bootstrapping algorithm, version 3.67
Settings for this run:
D      Sequence, Morph, Rest., Gene Freqs?      Molecular sequences
J      Bootstrap, Jackknife, Permute, Rewrite?   Bootstrap
%      Regular or altered sampling fraction?      regular
B      Block size for block-bootstrapping?       1 (regular bootstrap)
R      How many replicates?                      1000
W      Read weights of characters?               No
C      Read categories of sites?                 No
S      Write out data sets or just weights?      Data sets
I      Input sequences interleaved?              Yes
0      Terminal type (IBM PC, ANSI, none)?       IBM PC
1      Print out the data at start of run        No
2      Print indications of progress of run     Yes

Y to accept these or type the letter for one to change
y
Random number seed (must be odd)?
777
  
```

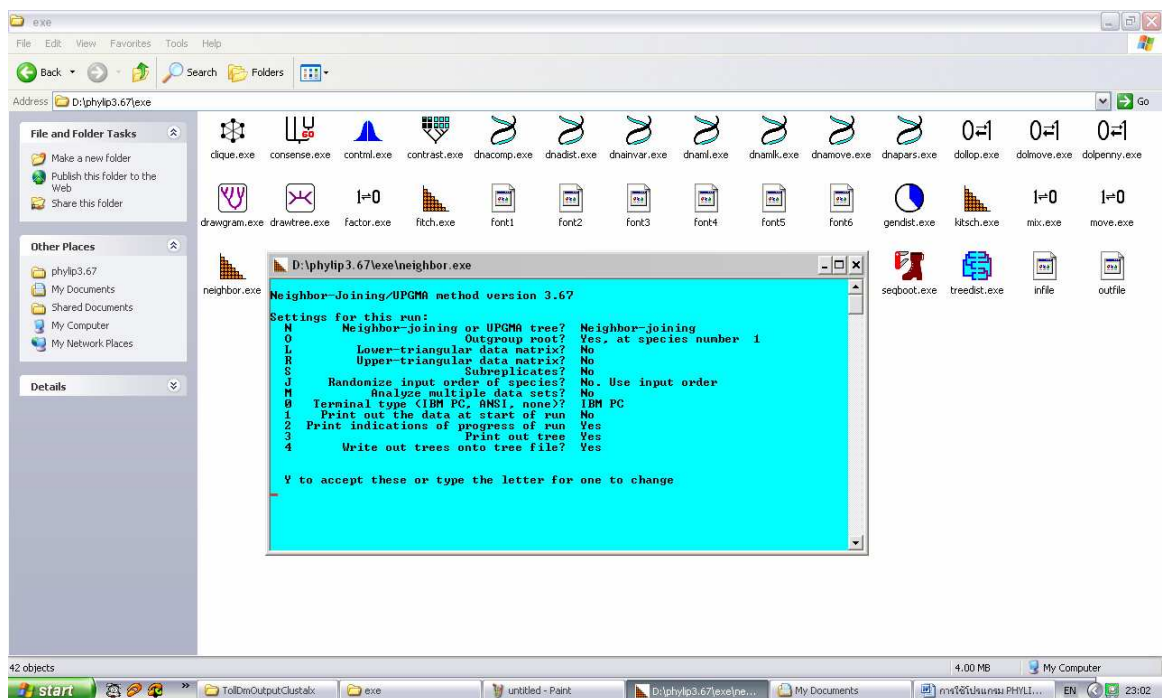
ภาพประกอบ 46 แสดงการกำหนดค่า Random number seed ในโปรแกรม seqboot.exe

9. จากขั้นตอนที่ 8 ถ้าต้องการบันทึก input เดิมเก็บไว้ให้ใช้คำสั่ง cut/paste ไปไว้ในโฟลเดอร์อื่นที่ต้องการ จากนั้นอาจใช้คำสั่ง rename เปลี่ยนไฟล์เป็นชื่ออื่นๆ ได้ ส่วน outfile ที่ได้มาใหม่นั้น สามารถนำไปผ่านกระบวนการต่อไปได้จะต้องเปลี่ยนชื่อเป็น infile จากนั้นจึงเรียกใช้โปรแกรมต่อไปคือ protdist.exe จะปรากฏดังภาพประกอบ 47 และให้ทำการเปลี่ยนแปลงค่า Categories model จาก Jones-Taylor-Thornton matrix เป็น Dayhoff PAM Matrix โดยการกด P 2 ครั้ง



ภาพประกอบ 47 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า Categories model ของโปรแกรม Protodist.exe

10. ทำการเปลี่ยนแปลงชื่อไฟล์ที่ได้จากขั้นตอนที่ 9 (outfile) เป็น infile และทำการจัดเก็บไฟล์ output ไว้ เมื่อเปลี่ยนชื่อไฟล์เรียบร้อยแล้วจึงเรียกใช้โปรแกรม neighbor.exe ดังภาพประกอบ 48



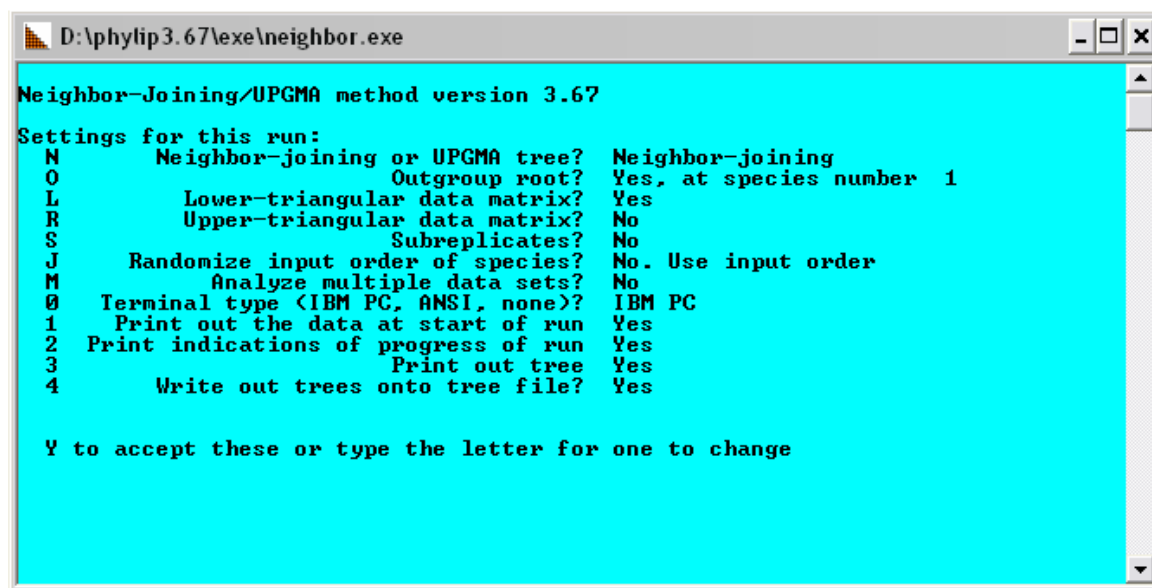
ภาพประกอบ 48 แสดงหน้าจอของโปรแกรม neighbor.exe

11. ทำการเปลี่ยนค่าต่างๆ ในโปรแกรมดังนี้

11.1 เปลี่ยนแปลงค่า Lower-triangular data matrix จาก No เป็น Yes

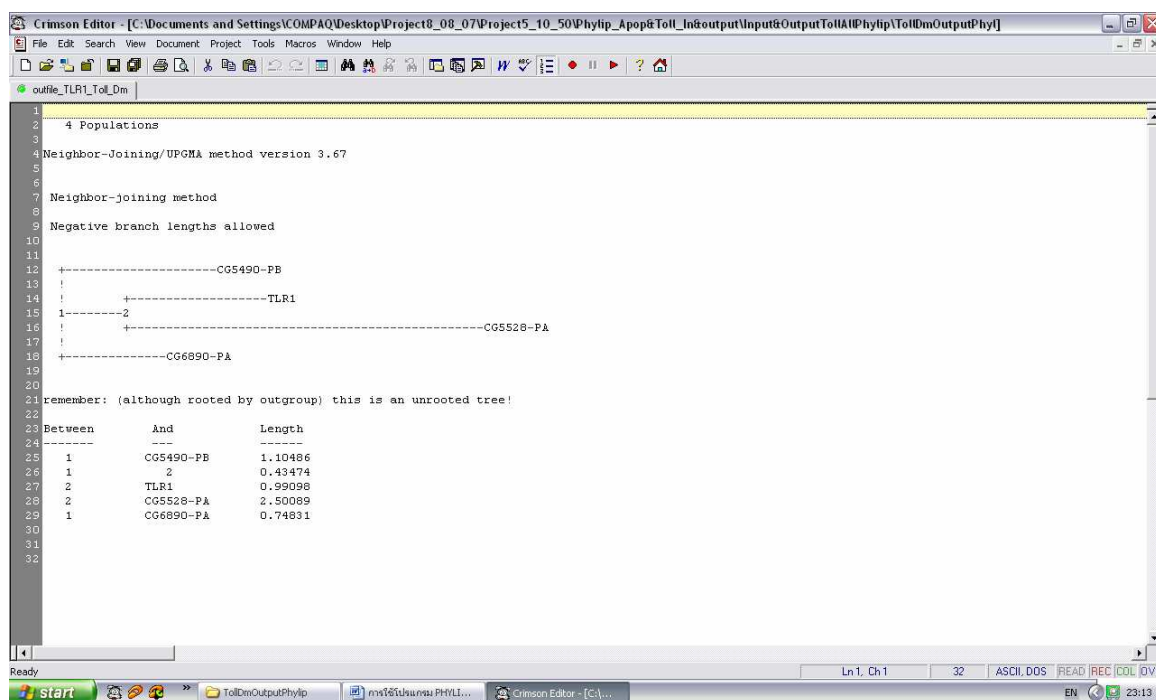
11.2 เปลี่ยนแปลงค่า Outgroup root จาก No เป็น Yes และกำหนด Outgroup species เป็น 1

การเปลี่ยนแปลงค่าทั้งหมดแสดงดังภาพประกอบ 49



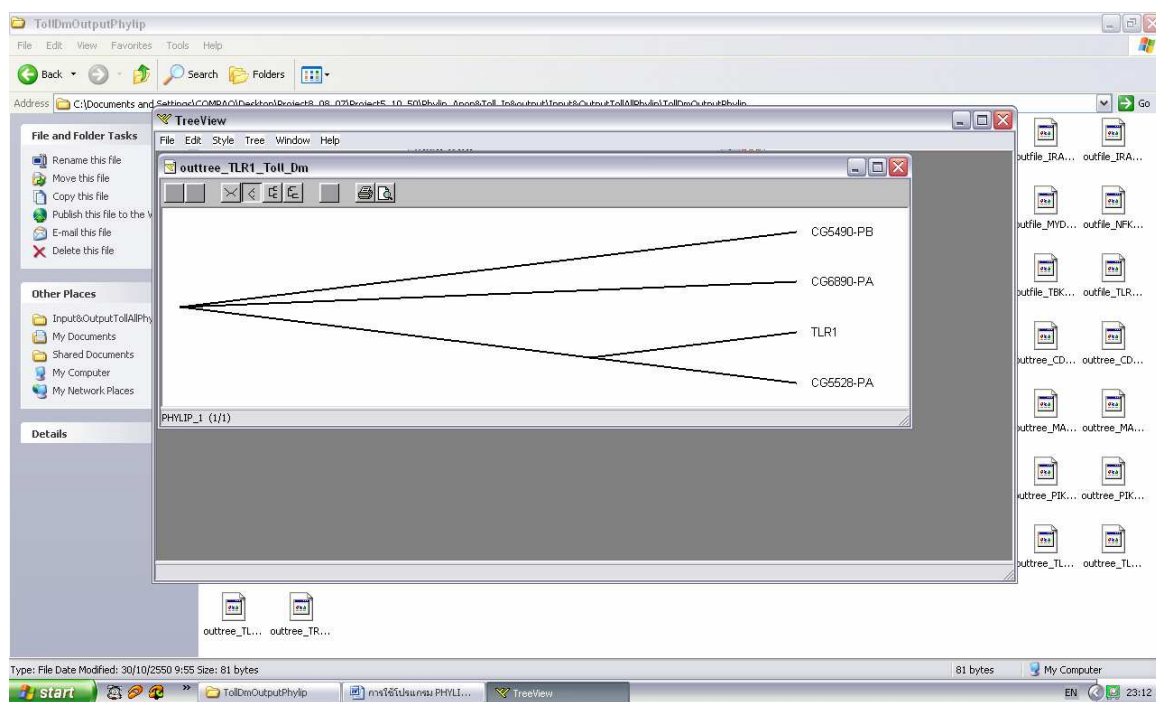
ภาพประกอบ 49 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าในโปรแกรม neighbor.exe

11. ผลที่ได้จากขั้นตอน 10 นอกจาก outfile ตามปกติแล้วยังจะมีผลที่ชื่อ outtree ออกมาด้วย ซึ่งในกรณีของ outfile เมื่อเปิดด้วย text editor เช่น notepad จะเป็นข้อมูลในลักษณะรายละเอียดข้อมูลความสัมพันธ์ของโปรตีน ดังภาพประกอบ 50



ภาพประกอบ 50 แสดงข้อมูลในลักษณะรายละเอียดข้อมูลความสัมพันธ์ของโปรตีนโดยการเปิด outfile ที่ได้จากการใช้ neighbor.exe

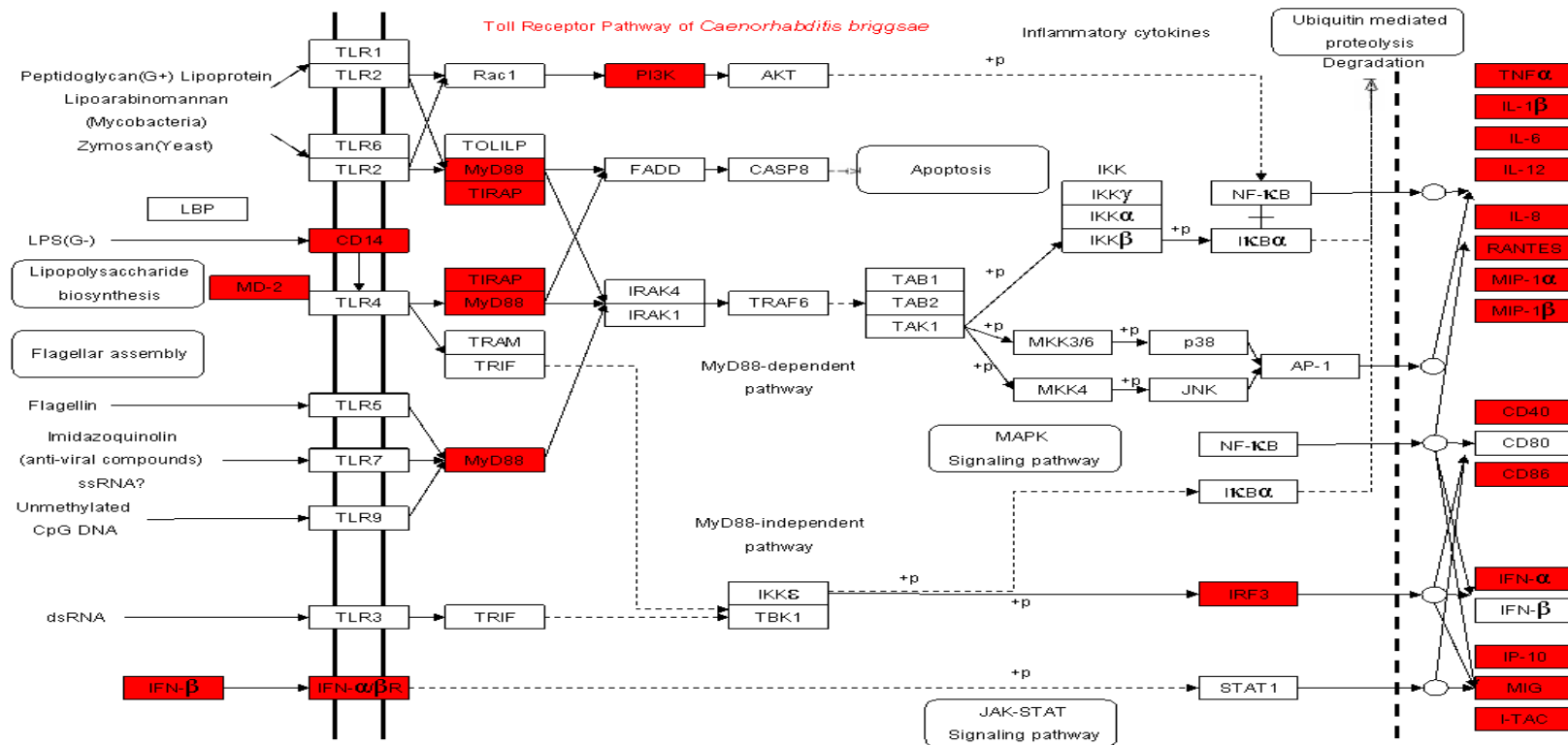
ในส่วนของ outtree สามารถเปิดได้โดยใช้โปรแกรมประเภท tree editor/viewer เช่น TreeView32 จะได้ลักษณะของ tree ดังภาพประกอบ 51



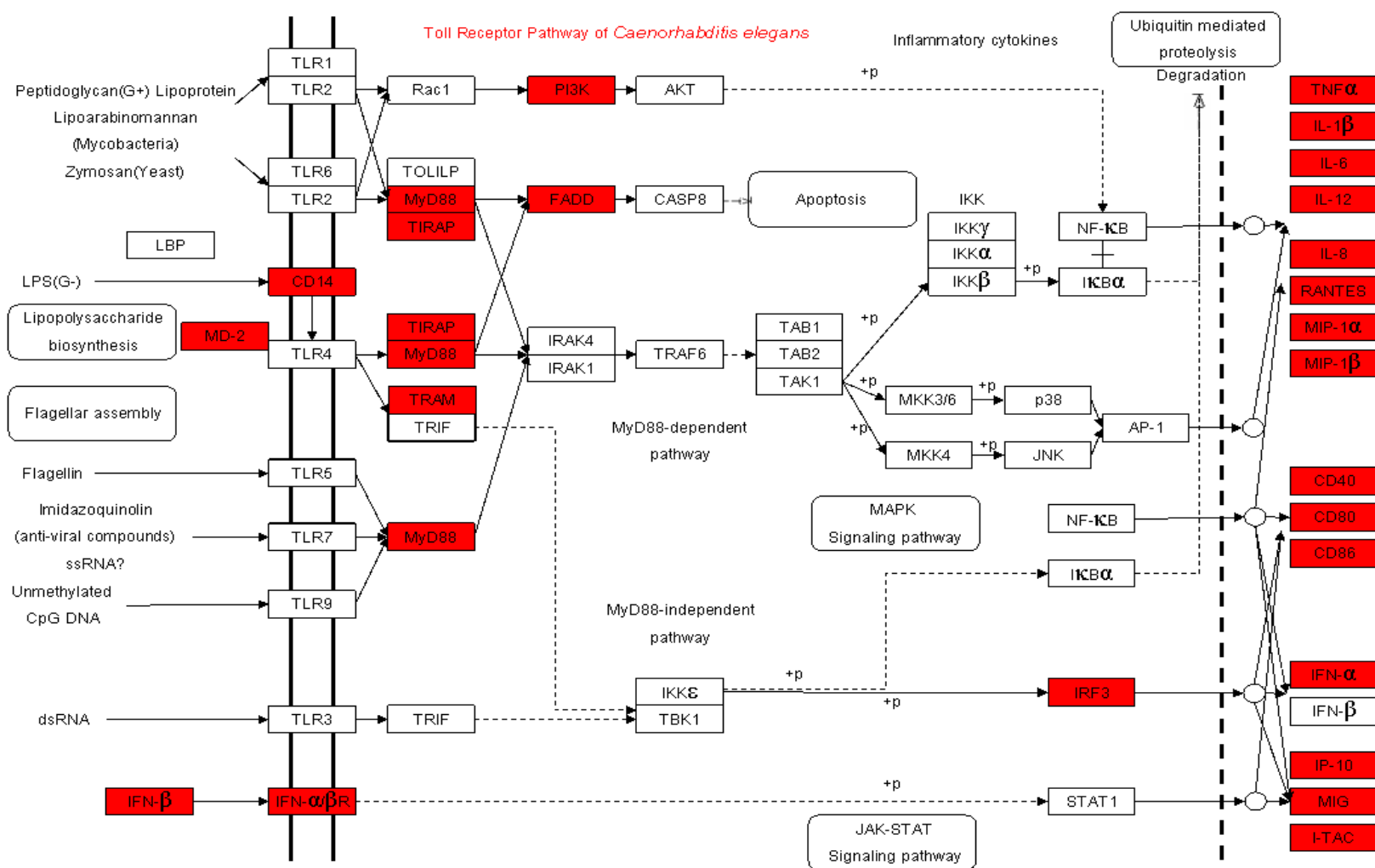
ภาพประกอบ 51 แสดง Phylogenetic tree ที่เปิดโดยโปรแกรม TreeView จากโปรแกรม neighbor.exe

ภาคผนวก

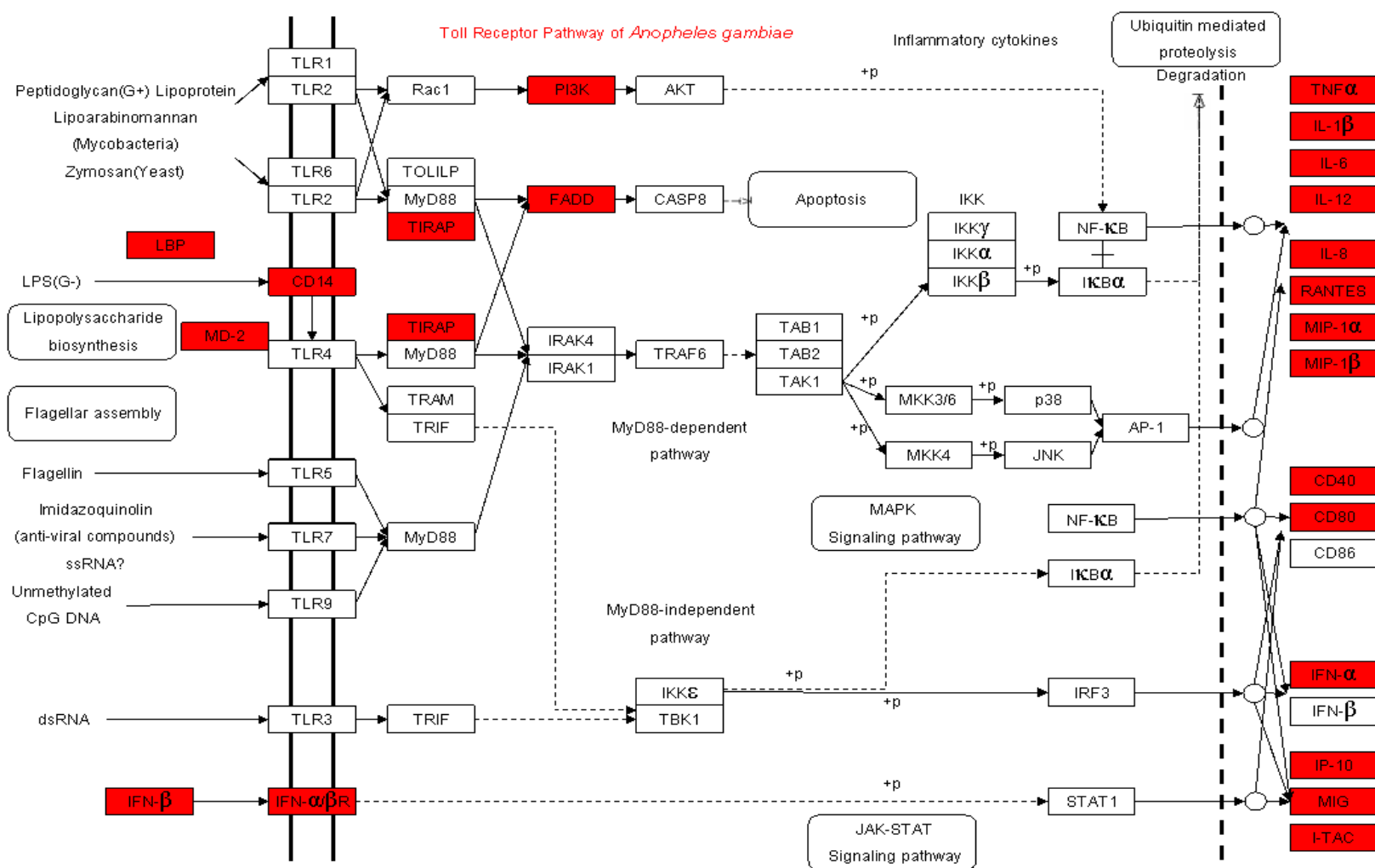
แผนภาพแสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังแต่ละชนิด



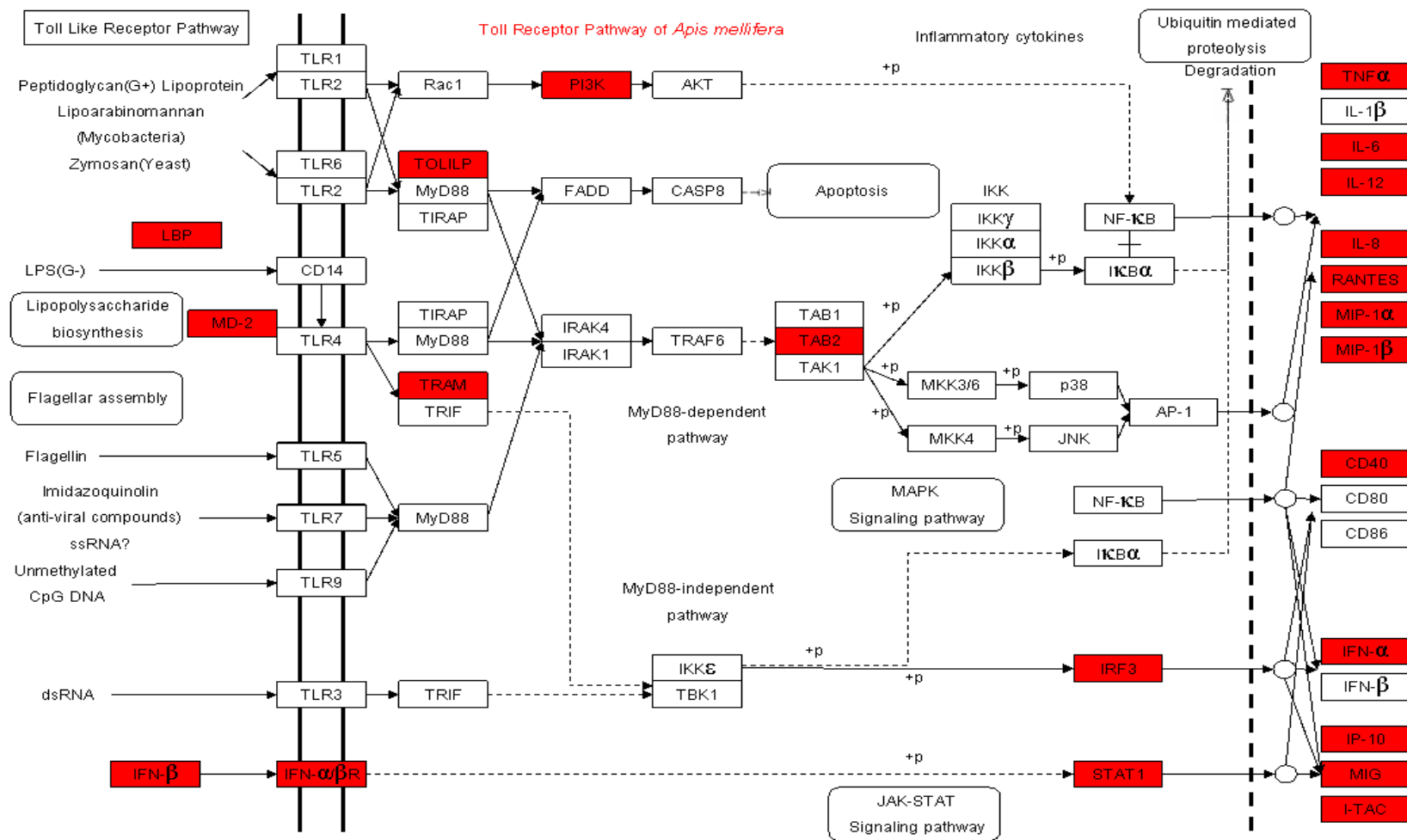
ภาพประกอบ 52 แสดงแผนภาพแสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของ *Caenorhabditis briggsae*



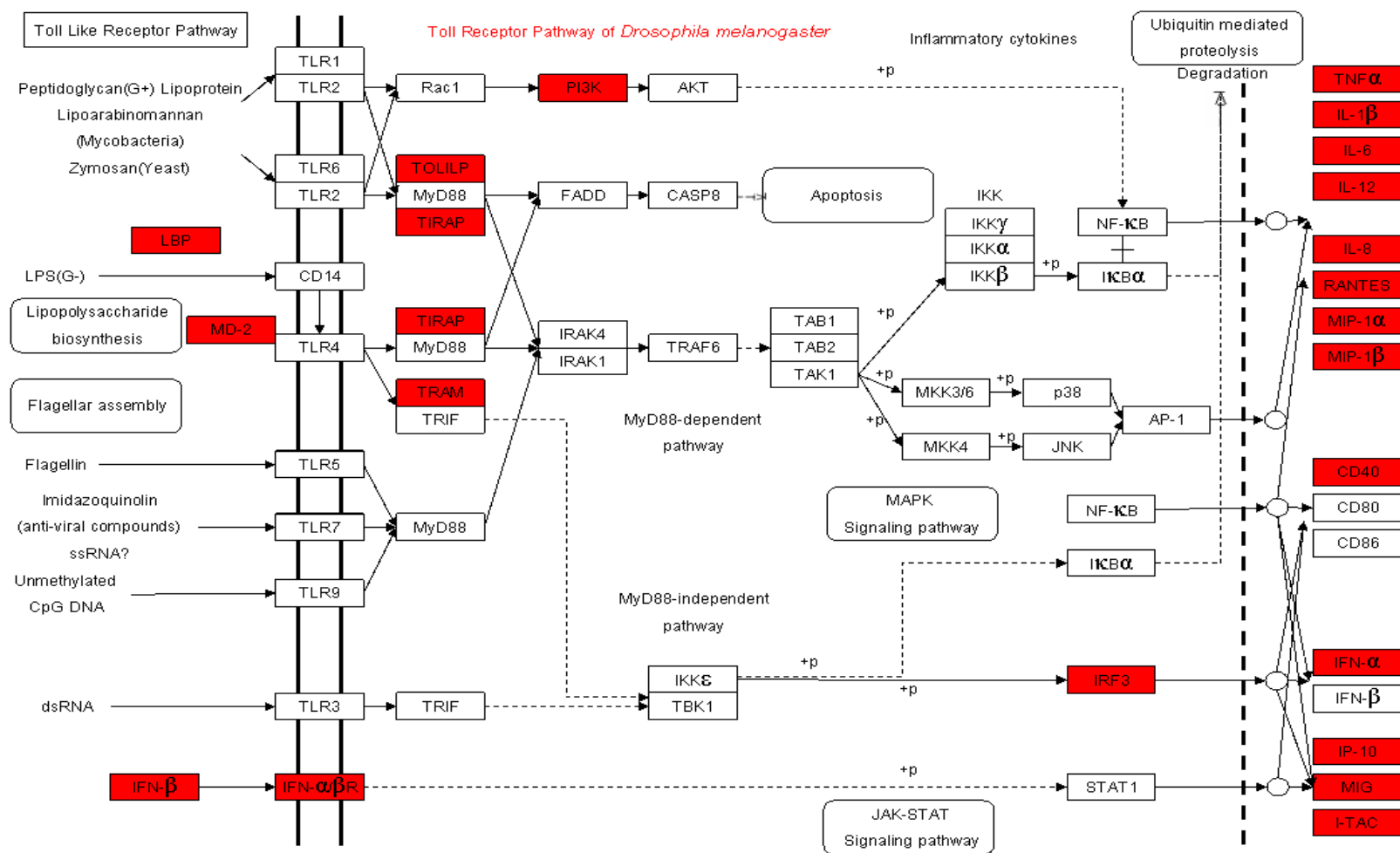
ภาพประกอบ 53 แสดงแผนภาพแสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของ *Caenorhabditis elegans*



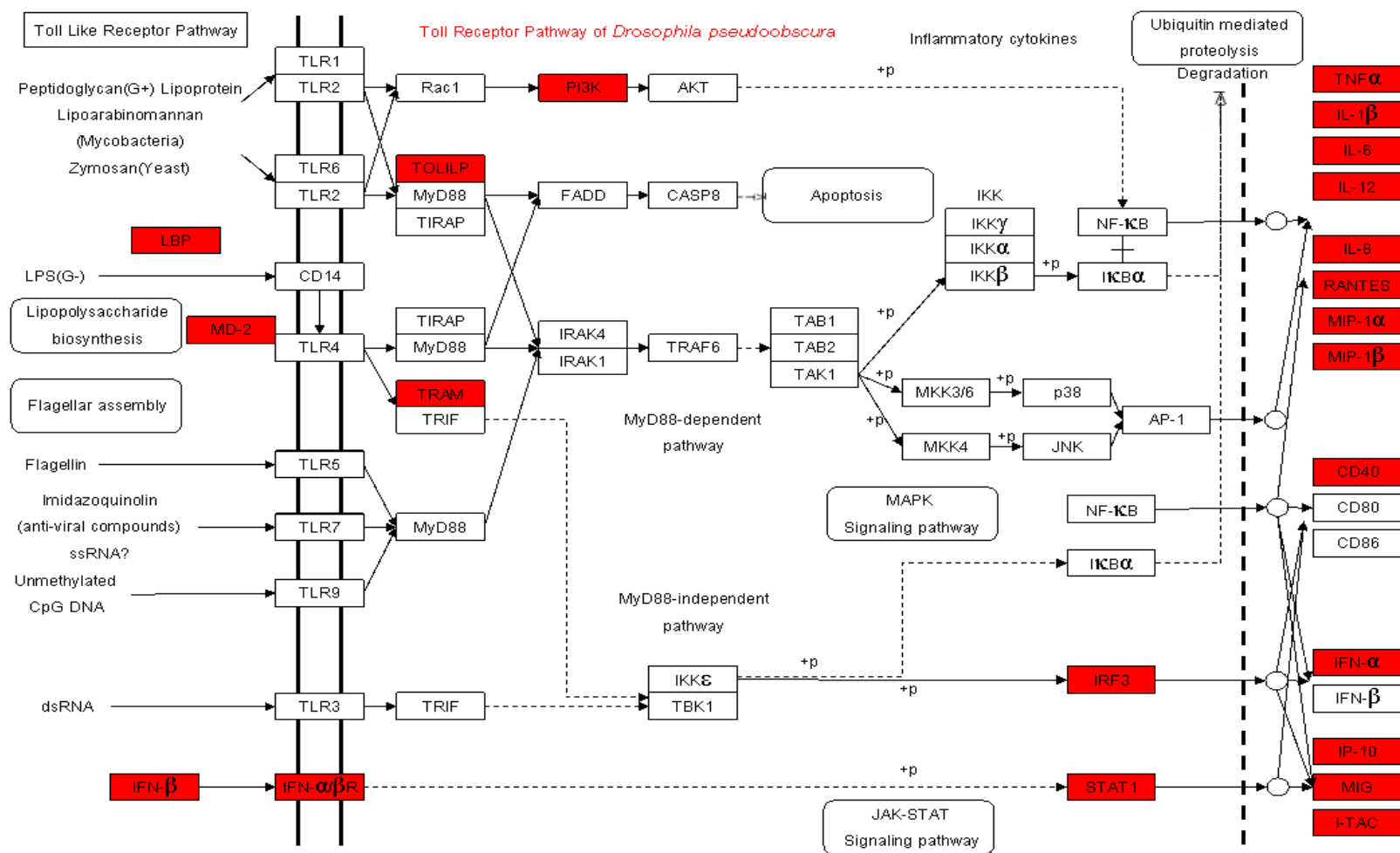
ภาพประกอบ 54 แสดงแผนภาพแสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของ *Anopheles gambiae*



ภาพประกอบ 55 แสดงแผนภาพแสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของ *Apis mellifera*



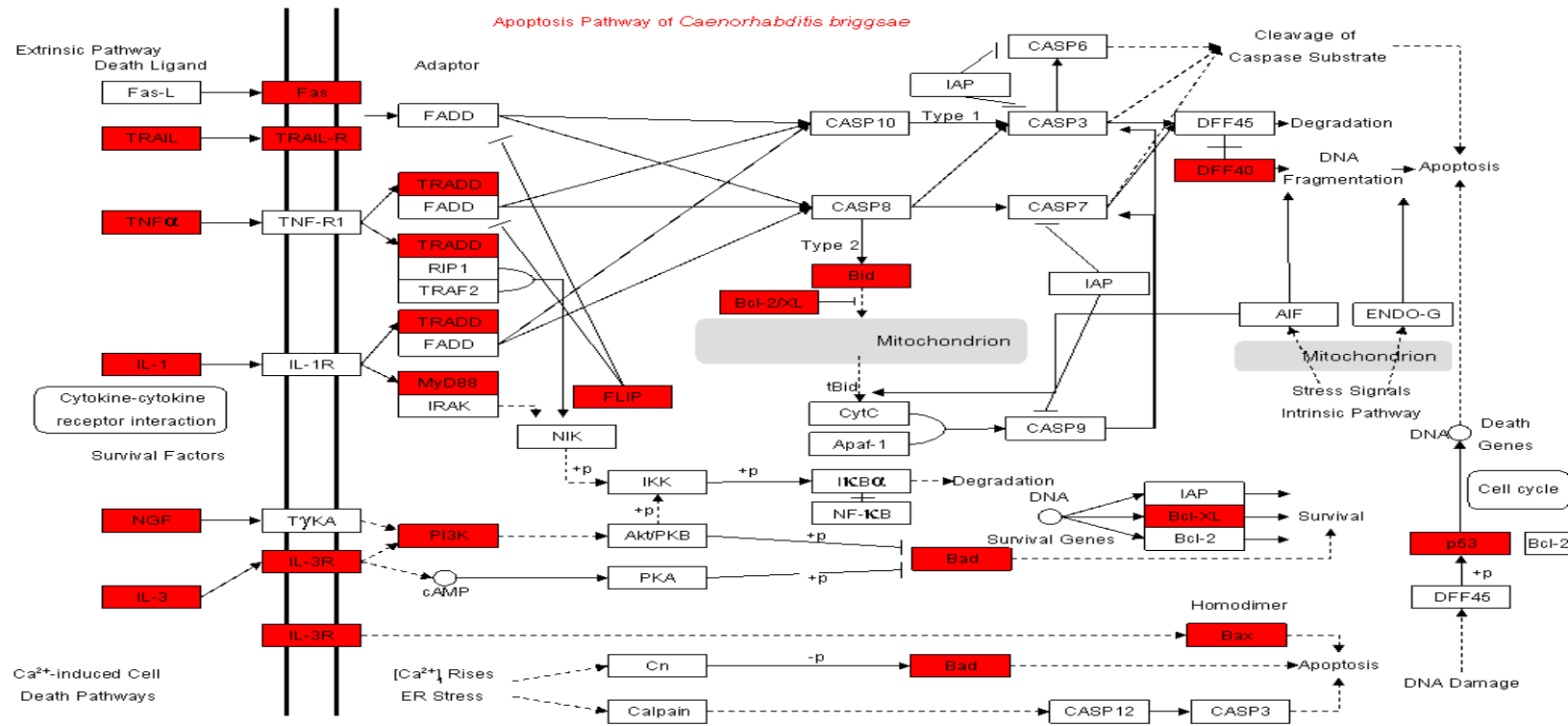
ภาพประกอบ 56 แสดงแผนภาพแสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของ *Drosophila melanogaster*



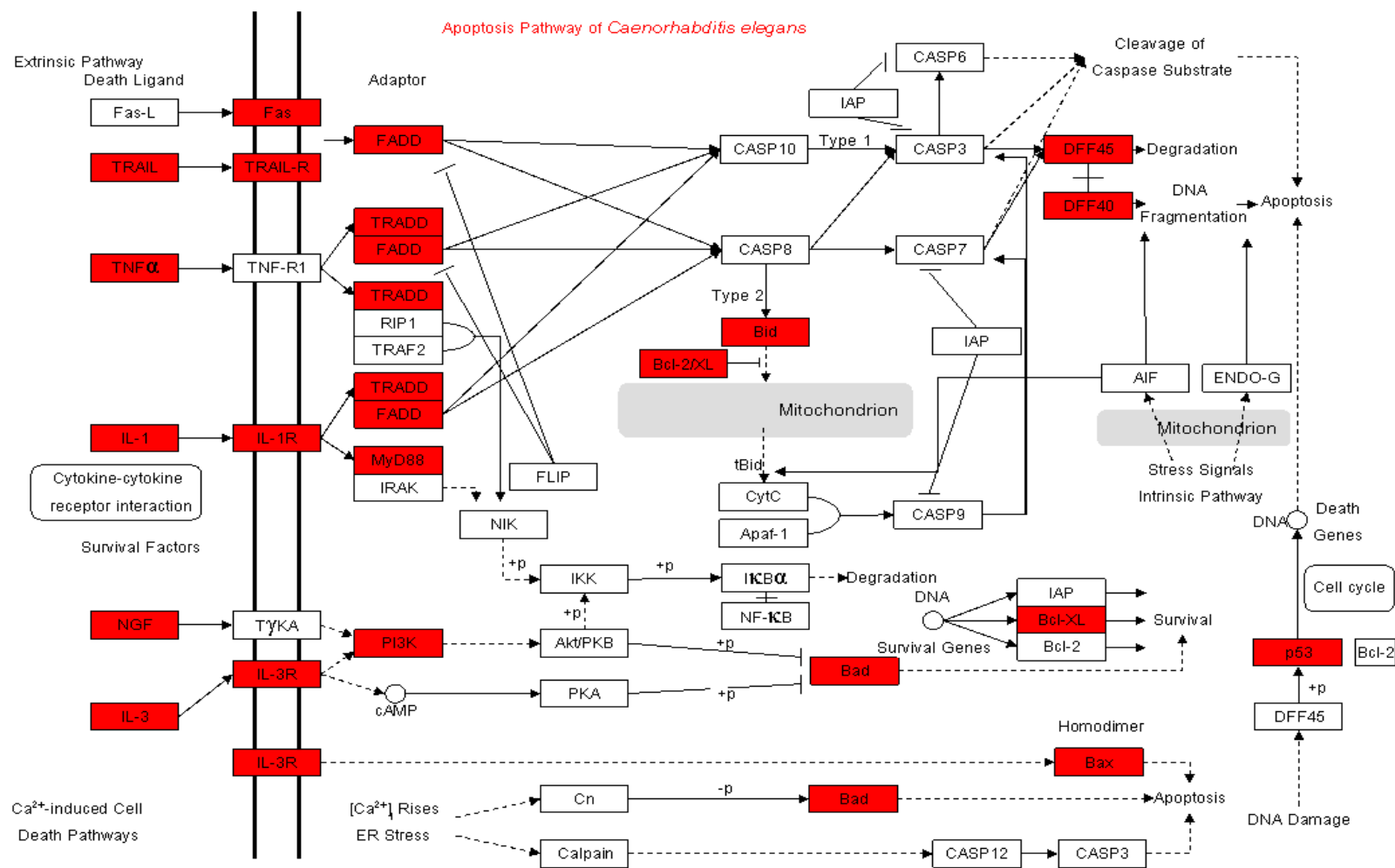
ภาพประกอบ 57 แสดงแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการจากโมเลกุลตัวรับชนิดทอลล์ของ *Drosophila pseudoobscura*

ภาคผนวก จ

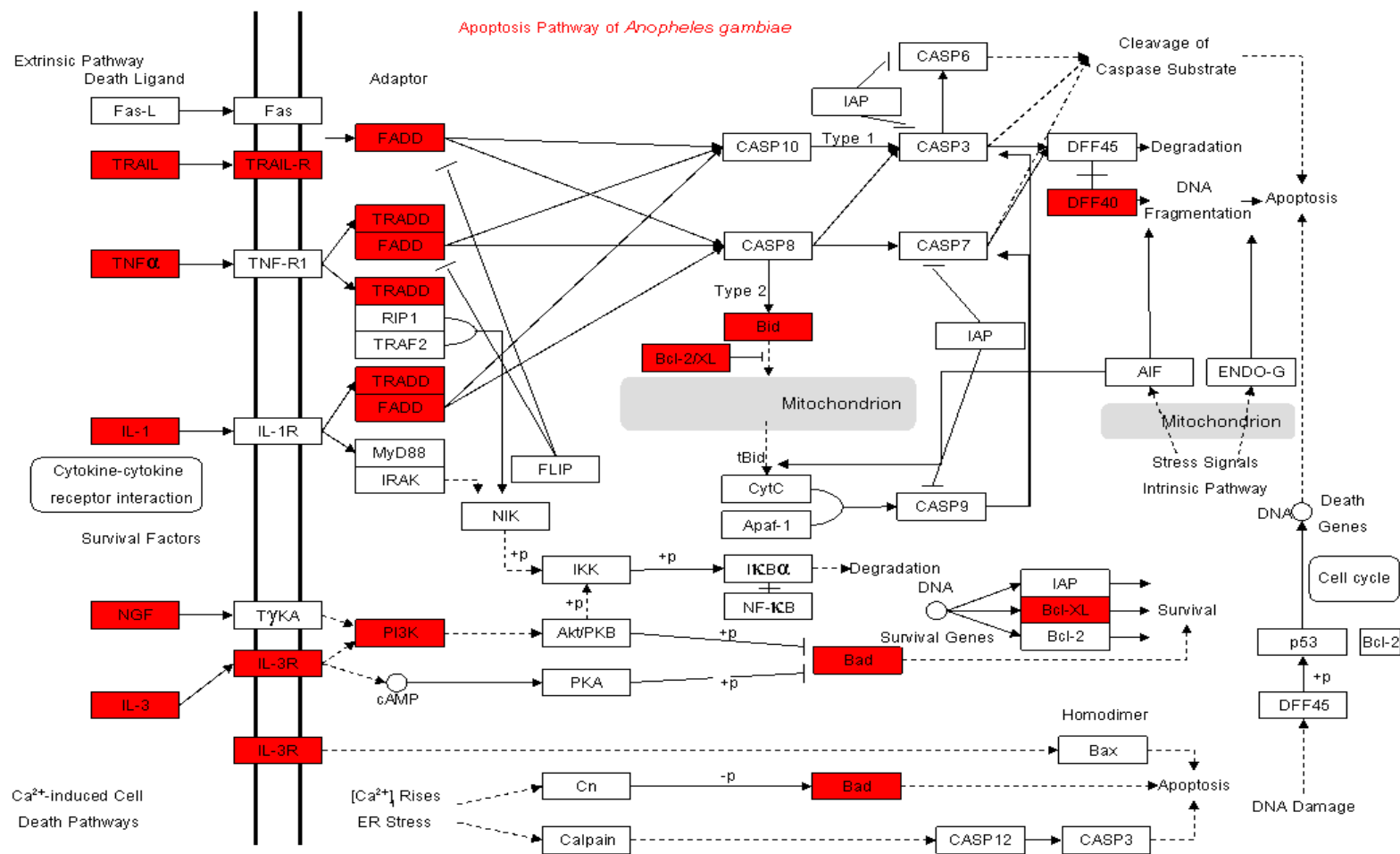
แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอโทสิสของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังแต่ละชนิด



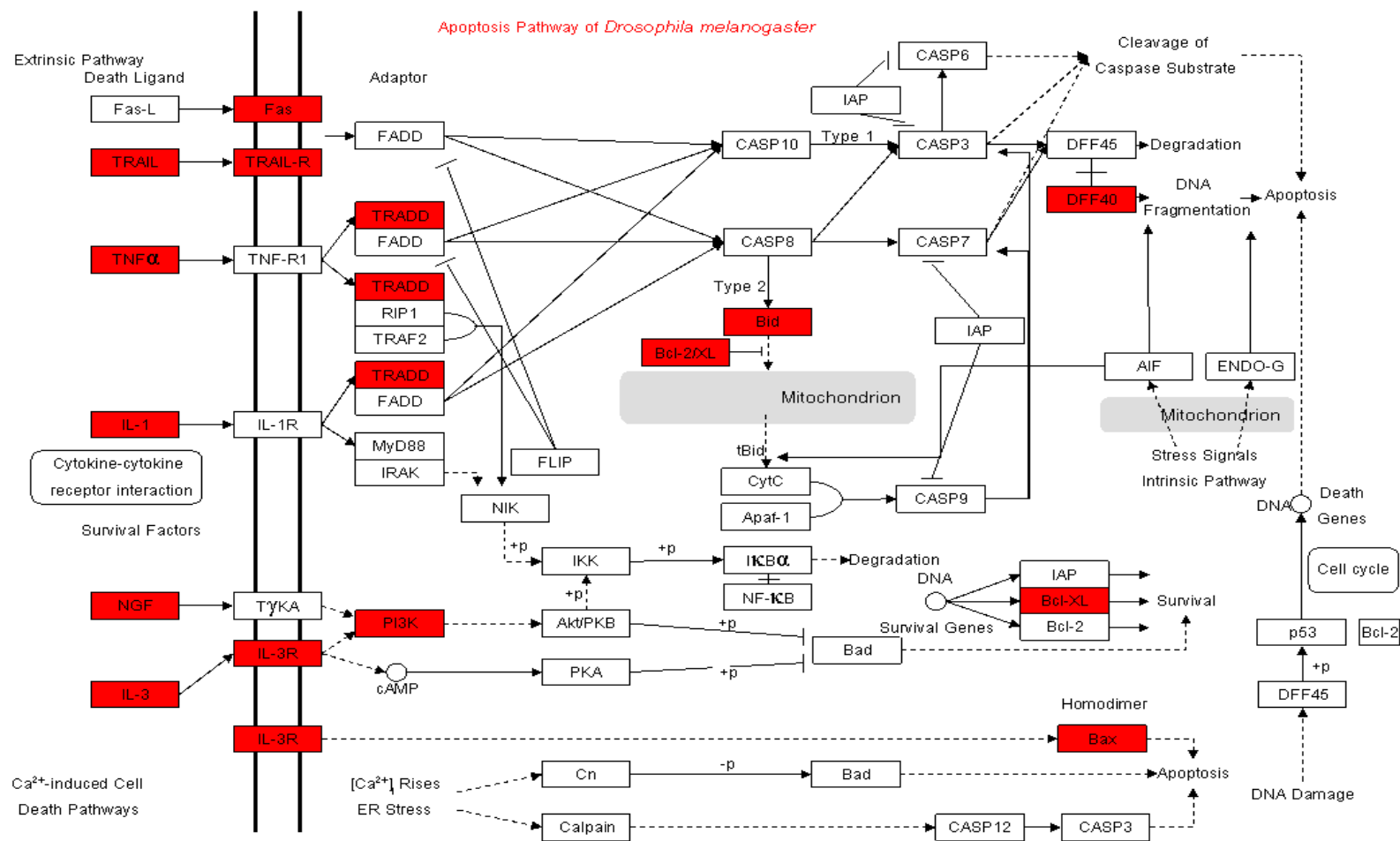
ภาพประกอบ 58 แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอโทสิสของ *Caenorhabditis briggsae*



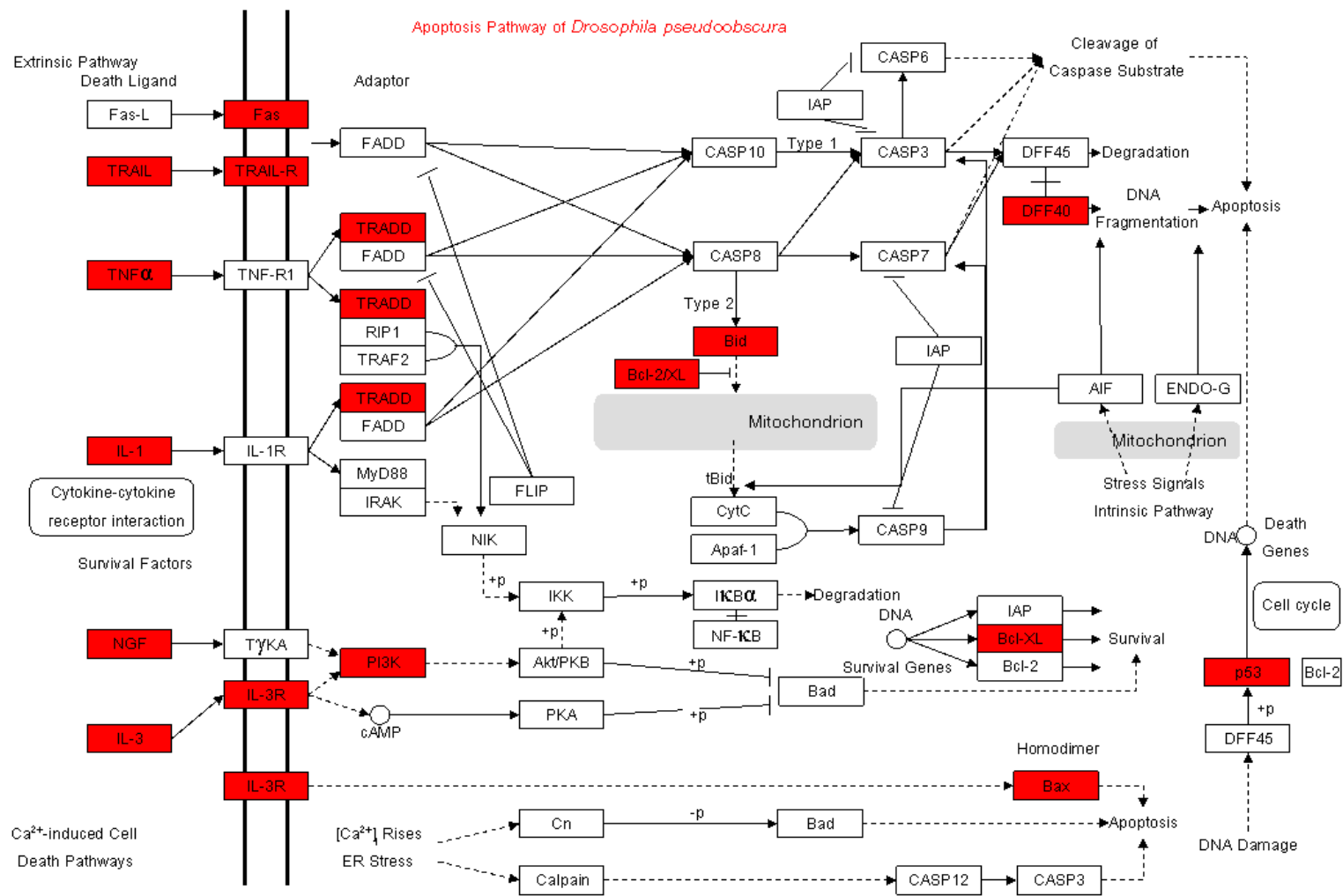
ภาพประกอบ 59 แผนภาพแสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอโทสิสของ *Caenorhabditis elegans*



ภาพประกอบ 60 แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอพโทสิสของ *Anopheles gambiae*



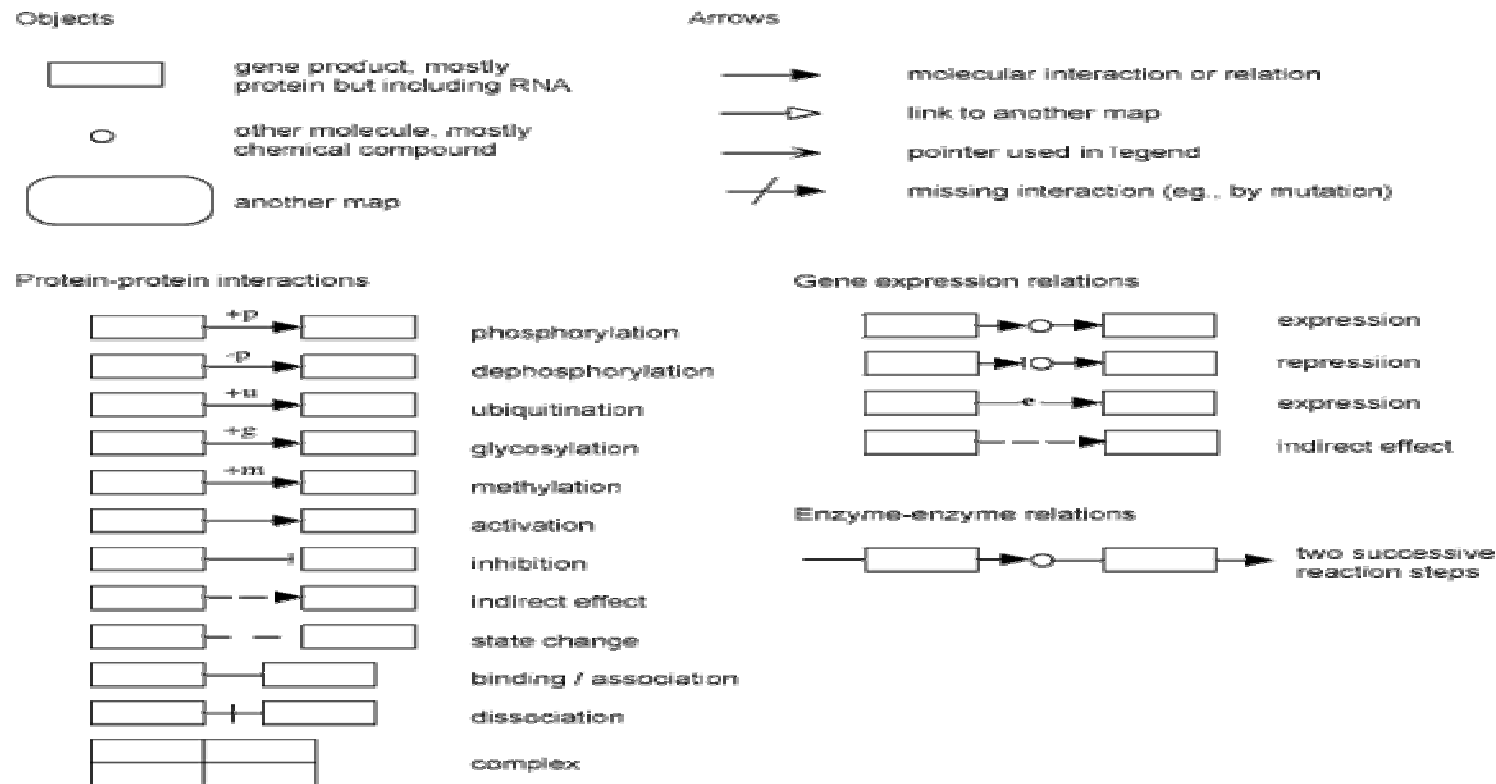
ภาพประกอบ 62 แผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอโทสิสของ *Drosophila melanogaster*



ภาพประกอบ 63 แผนภาพแสดงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของกระบวนการเอพอโทสิสของ *Drosophila pseudoobscura*

ภาคผนวก จ

แผนภาพแสดงสัญลักษณ์ และความหมายที่ปรากฏภายในแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของทั้งสองกระบวนการ



ภาพประกอบ 64 แสดงแผนภาพแสดงสัญลักษณ์ และความหมายที่ปรากฏภายในแผนภาพแสดงวิธีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของทั้งสองกระบวนการ⁽⁵³⁾

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นายวิรุพพ์ ศรีรัตนกมล
วันเดือนปีเกิด	วันที่ 6 เมษายน 2526
สถานที่เกิด	อ.ปะทิว จ.ชุมพร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 261 ม.1 ต.ดอนยาง อ.ปะทิว จ.ชุมพร 86210

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2542	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนมาบอำมฤตวิทยา
พ.ศ. 2546	การศึกษาระดับบัณฑิต (วิทยาศาสตร์-เคมี) มหาวิทยาลัยทักษิณ
พ.ศ. 2551	การศึกษามหาบัณฑิต (เคมี) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ