บทคัดย่อ

T 147409

รหัสโครงการ : BRG44-8-0002

ชื่อโครงการ: การโคลนยีน การศึกษาคุณสมบัติชีวเคมีและหน้าที่ของ leukocyte surface molecules ชนิดใหม่

ชื่อนักวิจัย: รศ. ดร. วัชระ กสิณฤกษ์

ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

E-mail address: watchara@chiangmai.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 1 มกราคม 2544 - 1 มกราคม 2547

เพื่อศึกษาหาโมเลกุลบนผิวเซลล์ชนิดใหม่ที่ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของ T cells ในการศึกษานี้ ผู้วิจัยได้ทำการผลิตโมโนโคลนอล แอนติบอดีต่อโปรตีนบนผิว Molt4 T cell line แล้วนำแอนติบอดีที่ผลิตได้มาใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาคุณสมบัติและหน้าที่ของโปรตีนจำเพาะ โดยในโครงการวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาโปรตีนที่จำเพาะกับโมโนโคลนอล แอนติบอดี 2 ชนิดคือ P-3E10 และ CA-1H4 molecule ได้ผลการศึกษาดังนี้

โมเลกุล P-3E10

โมเลกุล P-3E10 เป็น cell surface molecule ที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาด 45-50 กิโลดาลตัน และประกอบด้วย intradisulfide bond. P-3E10 molecule พบได้บน hematopoietic และ non-hematopoietic cell lines ทุกชนิดที่นำมาศึกษา และยังสามารถพบได้บนเซลล์ลิมโฟไซท์ โมโนไซท์ และแกรนูโลไซท์ การกระตุ้นลิมโฟไซท์ ด้วย mitogen ไม่มีผลต่อการแสดงออกของโมเลกุล P-3E10 จากการศึกษาหน้าที่ของโมเลกุล P-3E10 พบว่า P-3E10 โมโนโคลนอล แอนติบอดี สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของ T และ B cells ที่ถูกกระตุ้นผ่าน antigen receptor และ P-3E10 โมโนโคลนอล แอนติบอดี ยังสามารถยับยั้งการหลั่ง interferon-γ, IL-2, IL-4 และ IL-10 อีกด้วย แต่ P-3E10 โมโนโคลนอล แอนติบอดี ไม่มีผลต่อการแบ่งตัวของ spontaneous hematopoietic cell lines และไม่มีผลต่อการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเซลล์หรือการกระตุ้นการตายแบบ apoptosis อีกทั้งยังไม่มีผลต่อกระบวน การ phagocytosis ของ phagocytes ผู้วิจัยได้นำ P-3E10 โมโนโคลนอล แอนติบอดี มาโคลน cDNA ที่กำหนดการสร้างโมเลกุล P-3E10 และพบว่า โมเลกุล P-3E10 คือ Na^+ ,K^+-ATPase β3 subunit จากผลการศึกษาทั้งหมดสรุปได้ว่า P-3E10 โมโนโคลนอล แอนติบอดี ทำปฏิกิริยาจำเพาะกับโมเลกุลบนผิวเซลล์ชื่อ Na^+ ,K^+-ATPase β3 subunit ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของเซลล์ลิมโฟไซท์ การศึกษานี้ทำให้เข้าใจถึงการควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ดียิ่งขึ้นและอาจนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในทางคลินิกได้

โมเลกุล CA-1H4

T 147409

โมเลกุล CA-1H4 เป็น cell surface molecule ที่พบได้บน human T และ B cell lines แต่ไม่พบบน myeloid cell lines บน peripheral blood cells พบโมเลกุล CA-1H4 ได้เฉพาะบนบาง sub-population ของ lymphocytes โดยการแสดงของโมเลกุล CA-1H4 บนผิวเซลล์มีลักษณะเป็นแบบ heterogeneous pattern การกระตุ้น lymphocytes ด้วย PHA ทำให้การ express ของโมเลกุล CA-1H4 เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันแรก และลดลงในวันต่อๆ ไป เมื่อศึกษาหน้าที่ของโมเลกุล CA-1H4 พบว่าไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์ แต่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการตายของเซลล์แบบ apoptosis จากข้อมูลที่ได้ ผู้วิจัยเชื่อว่าโมเลกุล CA-1H4 น่าจะเป็น leukocyte surface molecule ชนิดใหม่ที่ยังไม่มีรายงานมาก่อน และน่าทำการโคลนยีนที่กำหนดการสร้าง CA-1H4 molecule เพื่อทราบลำดับกรดอะมิโนและโครงสร้างที่แน่นอนต่อไป

Abstract

TE 147409

Project Code: BRG44-8-0002

Project Title: Molecular Cloning, Biochemical Characterization and Functional Analysis of Novel Leukocyte Surface Molecules

Investigator: Associate Professor Dr. Watchara Kasinrerk

E-mail Address: watchara@chiangmai.ac.th

Project Period: 1 January 2001- 1 January 2003

In order to identify new leukocyte surface molecule involving the regulation of T cell responses. In this study, several monoclonal antibodies against surface molecules of Molt4 T cell line were generated. The generated monoclonal antibodies were then used as a tool to characterization and functional analysis the recognized molecules. In the present report, molecules recognized by 2 monoclonal antibodies, P-3E10 and CA-1H4 were studied. The results are as follows:

P-3E10 molecule

P-3E10 molecule is a cell surface molecule of 45-50 kDa which contains intradisulfide bond. It expresses on all hematopoietic and non-hematopoietic cell lines and also expresses on lymphocytes, monocytes and granulocytes. Activation of lymphocytes with PHA has no effect on the expression of P-3E10 molecule. Functional studies indicate that P-3E10 monoclonal antibody inhibited proliferation of T and B cells after antigen receptor activation. P-3E10 monoclonal antibody also inhibited interferon-γ, IL-2, IL-4 and IL-10 production. However, the antibody had no effect on spontaneous hematopoietic cell line proliferation. It also has no effect on the induction of homotypic cell aggregation and apoptosis. The antibody has no effect on phagocytosis of phagocytes as well. By using P-3E10 monoclonal antibody to clone the cDNA encoding P-3E10 molecule, it was revealed that P-3E10 molecule is Na^+, K^+-ATPase $\beta 3$ subunit. Taken together our findings demonstrated that P-3E10 monoclonal antibody recognized a cell surface molecule, Na^+, K^+-ATPase $\beta 3$ subunit. This molecule involves in the regulation of lymphocyte responses. These findings lead to a better understanding of immune regulation, which may provide new avenues for clinical intervention.

CA-1H4 molecule

CA-1H4 molecule is a cell surface molecule expresses on human T and B cell lines, but not express on myeloid cell lines. On peripheral blood cells, it expresses on sub-populations of lymphocytes. The expression of CA-1H4 molecule on cell surface is as heterogeneous pattern. Activation of lymphocytes by PHA, the CA-1H4 molecule was up-regulated on day 1 and decreased in the later days. Functional studies indicated that CA-1H4 molecule did not involve in cell proliferation. However, CA-1H4 monoclonal antibody induced apoptosis. From our result, we believe that CA-1H4 is a new cell surface molecule. Molecular cloning of this molecule is needed to be carried out for obtaining of the amino acid sequences and the structure of CA-1H4 molecule.