บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: PDF/36/2544

ชื่อโครงการ: การศึกษาความผิดปรกติในระดับอณูของยีน *PKD1* ในครอบครัวผู้ป่วยไทยโรคไตเป็นถุงน้ำชนิด autosomal dominant

ชื่อนักวิจัย: ดร. วรรณา ทองนพคุณ
หน่วยอณูพันธุศาสตร์ สถานส่งเสริมการวิจัย
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail address: siwtn@mahidol.ac.th

T 150125

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี 8 เดือน (1 กรกฎาคม 2544 ถึง 29 กุมภาพันธ์ 2547)

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษามิวเตชั่นที่ยีน *PKD1* ซึ่งเป็นสาเหตุร้อยละ 85 ของโรคไตเป็นถุงน้ำชนิดที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบลักษณะเด่น โครงสร้างอันซับซ้อนของยีน *PKD1* ซึ่งมีขนาดใหญ่และมีลำดับเบสส่วนใหญ่ที่ถูกลอกเลียนโดยยีนอื่นไม่น้อยกว่า 6 ยีนทำให้การวิเคราะห์ความผิดปรกติในยีนนี้ทำได้ยาก การที่มิวเตชั่นในยีน *PKD1* มีความหลากหลายอย่างยิ่งทำให้ต้องพิสูจน์หาชนิดของมิวเตชั่นเท่าที่เป็นไปได้ในยีนนี้ในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ รวมทั้งคนไทยซึ่งยังมีข้อมูลนี้อยู่น้อย คณะผู้วิจัยได้เคยพัฒนาเทคนิค long reverse transcription-polymerase chain reaction (long RT-PCR) เพื่อใช้ศึกษาเรื่องนี้โดยการเพิ่มจำนวนชุดของลำดับเบสที่จำเพาะต่อยีน *PKD1* ตลอดทั้งยีนในระดับอาร์เอ็นเอ (ขนาด 13.6 กิโลเบส) งานวิจัยนี้ได้นำเทคนิคดังกล่าวมาใช้ร่วมกับวิธี multiple-fragment single-strand conformation polymorphism (MRF-SSCP) analysis เพื่อใช้ตรวจกรองหามิวเตชั่นของยีน *PKD1* ใน cDNA ที่มีขนาดยาว การวิเคราะห์ลำดับเบสได้ทำทั้งใน cDNA และดีเอ็นเอจากจีโนมที่จำเพาะต่อยีน *PKD1* จากการศึกษาในผู้ป่วยจากต่างครอบครัว 20 ราย ผู้วิจัยได้ตรวจพบมิวเตชั่น 6 ชนิด ได้แก่ splicing mutation 2 ชนิด (IVS13-2A>T และ g.33184-33214del31), nonsense mutation 1 ชนิด (Q1828X), frameshift deletion 2 ชนิด (c.5225_5226delAG และ c.9451_9452delAT) และ in-frame deletion 1 ชนิด (L3287del) มิวเตชั่น 3 ชนิดในจำนวนนี้ไม่เคยมีรายงานมาก่อน และมีมิวเตชั่นที่เกิดขึ้นใหม่ (*de novo* mutation) ในครอบครัว 2 ครอบครัวซึ่งแสดงถึงอัตราการเกิดมิวเตชั่นที่สูงในยีนนี้ จากข้อมูลที่ได้นี้ยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอาการแสดงของโรคกับชนิดหรือบริเวณของยีนที่เกิดมิวเตชั่นและยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมอีกเพื่อเป็นฐานข้อมูลให้เข้าใจกลไกการเกิดโรคที่ระดับโมเลกุลต่อไป ผลการศึกษานี้เป็นประโยชน์เบื้องต้นต่อการวินิจฉัยโรคในแง่ต่าง ๆ อาทิ การวินิจฉัยแยกโรค การวินิจฉัยโรคก่อนมีอาการ การพยากรณ์โรค และการตัดสินเลือกผู้บริจาคไตให้ผู้ป่วย

Abstract

Project code: PDF/36/2544

Project Title: Molecular genetic study of *PKD1* gene in Thai families with autosomal dominant polycystic kidney disease

Investigator: Dr. Wanna Thongnoppakhun

Division of Molecular Genetics, Department of Research and Development, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

E-mail address: siwtn@mahidol.ac.th

Project Period: 2 years 8 months (1 July 2001 – 29 February 2004)

TE 150125

This research aims to study mutations in the *PKD1* gene which are the major cause of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD), accounting for 85% of cases. The complicated structure of this large gene that has been copied by at least 6 homologous genes has made difficulty in its molecular study. Extremely heterogeneous nature of *PKD1* mutations requires identification of all possibilities in various races including Thai population whose little data has been obtained. Our group has recently developed long reverse transcription-polymerase chain reaction (long RT-PCR) techniques for *PKD1*-mutation study by selective amplification of the full-length *PKD1* transcripts (13.6 kb). The strategy was applied, in this study, together with multiple restriction fragment-single strand conformation polymorphism (MRF-SSCP) for mutation screening in long segments of *PKD1*-cDNA. Sequence analyses were performed in both cDNA and genomic-DNA specific for *PKD1*. Upon analysis of 20 unrelated patients, we have identified 6 disease-causing mutations, three of which are novel, in 6 families: 2 splicing mutations (IVS13-2A>T and g.33184-33214del31), 1 nonsense mutation (Q1828X), 2 frameshift deletions ((c.5225_5226delAG and c.9451_9452delAT) and 1 in-frame deletion (L3287del). *De novo* mutations were found in 2 families, stressing the high mutation rate of this gene. More numbers of identified *PKD1* mutations would make a possibility to correlate the genotype with the disease phenotype that could give insight to understand the disease mechanism at the molecular level. Immediate advantages of mutation identifications in *PKD1* are for diagnostic purposes including the differential diagnosis, presymtomatic testing, prognostic implications (PKD1 or PKD2) and determination of living related kidney donor.