

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของ *Penaeus merguensis*-translationally controlled tumor protein ต่อการแสดงออกของ ยีน *TPT1* ในเซลล์เนื้อเยื่อในโพรงประสาทฟันมนุษย์เมื่อได้รับความร้อน

ผู้เขียน นาย คณัสนันท์ จิรโชติกุล

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพและ ชีวสารสนเทศ

ปีการศึกษา 2556

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: ในขบวนการบูรณฟันด้วยการกรอฟันส่วนที่ผุออกจะส่งผลให้เกิดความร้อนขึ้น ซึ่งหากอุณหภูมิในโพรงประสาทฟันสูงขึ้นจากปกติ ประมาณ 5.5°C อาจทำให้เซลล์เนื้อเยื่อในโพรงประสาทฟันมนุษย์เสียหายและตายได้ อย่างไรก็ตามเซลล์จะตอบสนองด้วยการผลิต heat shock proteins (HSPs) ขึ้นมาปกป้องเซลล์ เมื่อไม่นานมานี้มีงานวิจัยหลายชิ้น ค้นพบว่า โปรตีน Translationally controlled tumor protein (TCTP) มีความสำคัญในขบวนการต่างๆของเซลล์ ทั้งในการแบ่งเซลล์ และ ปกป้องเซลล์จากสภาวะกดดันต่างๆ เช่น ขาดแคลนอาหาร อยู่ในสภาวะที่มีโลหะความเข้มข้นสูง สภาวะที่มี Ca^{2+} ความเข้มข้นสูงภายในเซลล์ และ สัญญาณ proapoptotic/cytotoxic ต่างๆ เป็นต้น ซึ่งมีงานวิจัยน้อยชิ้นมากที่สนใจศึกษา ผลของสภาวะกดดันเซลล์จากความร้อนต่อการตอบสนองของ โปรตีน TCTP ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาผลของสภาวะกดดันเซลล์จากความร้อนและการเติมโปรตีน TCTP จากภายนอก ต่อเซลล์เนื้อเยื่อในโพรงประสาทฟันมนุษย์ และ ต่อการตอบสนองของ TCTP ภายในเซลล์

วิธีการทดลอง: นำเซลล์เนื้อเยื่อในโพรงประสาทฟันมนุษย์จากคนไข้สามคน มาทดลองเลี้ยงภายใต้ สภาวะปกติ และสภาวะกดดันเซลล์จากความร้อน ที่ 43°C เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นเซลล์ทั้งสองกลุ่มจะแบ่งเป็นสองกลุ่มย่อย ทั้งที่เติม และไม่เติม โปรตีน TCTP จากนั้นเซลล์ทั้ง 4 กลุ่มจะนำไปทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ด้วยวิธี MTT assay ดูรูปแบบการตายของเซลล์โดยย้อมนิวเคลียสด้วยสี Hoechst 33258 ตรวจสอบการทำงานของเอนไซม์ caspase-3 และ ดูการแสดงออกของ TCTP ทั้งในระดับยีน ด้วยวิธี Quantitative PCR และ โปรตีนด้วยวิธี western blotting

ผลการทดลอง: พบว่าโปรตีน TCTP ที่ความเข้มข้นต่ำ สามารถกระตุ้นการเจริญของเซลล์ได้ และชักนำให้มีการแสดงออกของยีน *TPTI* และ โปรตีน TCTP เพิ่มขึ้น ในสภาวะกดดันเซลล์จากความร้อน ส่งผลให้เซลล์มีการตายแบบ อะพอโทซิส กระตุ้นการทำงานของ เอนไซม์ caspase-3 และ กระตุ้นให้มีการแสดงออกของ ยีน *TPTI* มากขึ้น แต่กลับลดการแสดงออกของโปรตีน TCTP ภายในเซลล์ จากการเติมโปรตีน TCTP ให้กับเซลล์หลังจากผ่านสภาวะกดดันเซลล์จากความร้อน พบว่า ช่วยปกป้องเซลล์จากการตายได้เล็กน้อย และลดการแสดงออกของโปรตีน TCTP ภายในเซลล์มากขึ้น

สรุปผลการทดลอง: โปรตีน TCTP มี คุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์ และมีผลช่วยปกป้องเซลล์เมื่อได้รับอันตรายจากความร้อนได้เล็กน้อย ซึ่งความรอนดังกล่าวจะส่งผลให้เซลล์เกิดการตายแบบ อะพอโทซิส

คำสำคัญ: เซลล์เนื้อเยื่อในโพรงประสาทฟันมนุษย์ อะพอโทซิส โปรตีน TCTP สภาวะกดดันเซลล์จากความร้อน

Thesis Title Effect of *Penaeus merguensis*-translationally controlled tumor protein on *TPT1* expression of heat-treated human pulp cells

Author Mr. Canussanun Jirachotikoon

Major Program Molecular Biology and Bioinformatics

Academic Year 2013

ABSTRACT

Objective: During restorative procedures in carious teeth, cavity preparation can produce heat. The intrapulpal temperature rise of 5.5°C can be cause of damage to dental pulp and induced to apoptosis. However, pulp cells may survive such injuries. This may be due to the increased synthesis of heat shock proteins (HSPs). Several recent studies showed that TCTP plays an important role in cell cycle progression, early development, and protection against diverse cell stresses such as starvation, heavy metals, calcium and proapoptotic/cytotoxic signals. Less attention has been paid to the effect of heat stress on TCTP expression. Therefore, this study aimed to investigate the effect of heat stress and TCTP on human dental pulp cells (HDPCs).

Methods: HDPCs obtained from 3 patients were cultured in either normal condition or heat stress at 43°C for 45 min and with or without added TCTP in the culture medium. The cell viability was determined by MTT assay. The nuclei of cells were stained with Hoechst 33258 dye and caspase-3 was measured. The expression of TCTP was studied at gene level by Quantitative PCR and protein level using western blotting.

Results: TCTP at low concentration can promote HDPCs proliferation and induced the up-regulated of both *TPT1* gene and TCTP protein. The heat stress affected to induce cells dead by apoptosis, activated caspase-3 and resulting in up-regulation of *TPT1* gene but down-regulation of TCTP protein. The addition of TCTP in heat-treated cells slightly protected cell death and down-regulation of TCTP protein.

Conclusion: TCTP can promote HDPCs proliferation and slightly protect them from heat stress effect that induced cells dead by apoptosis.

Keywords: HDPCs, Apoptosis, Heat stress, *TPT1*, TCTP