

เนลวัฒน์ กิ่งสุวรรณพงษ์ : การวิเคราะห์การทำงานของมิวเทชันใหม่ในยีน AGXT แบบ c.32C>G (p.Pro11Arg) ในครอบครัวชาวไทยที่เป็นโรค PH1. (Functional analysis of a novel AGXT mutation, c.32C>G (p.Pro11Arg), in a Thai family with PH1) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ดร.รัชนิกร ธรรมโชติ, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ศ.นพ.วรศักดิ์ โชติเลอศักดิ์, 93 หน้า.

โรค Primary hyperoxaluria type1 (PH1) เป็นโรคทางพันธุกรรมถูกควบคุมด้วยยีนด้อยบนออโทโซม โดยเกิดจากความผิดปกติของยีน AGXT ซึ่งผลิตเอนไซม์ alanine:glyoxylate aminotransferase (AGT) ทำหน้าที่สลายไกลออกซิเลท โดยพบมากในเพอร์ออกซิโซมของเซลล์ตับ โรค PH1 เกิดจากการหลั่งออกซาเลทและสะสมในรูปผลึกของแคลเซียมออกซาเลทในไต ต่อมาผู้ป่วยจะสูญเสียการทำงานของไตและเสียชีวิตในที่สุด ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางเวชพันธุศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ได้ตรวจพบผู้ป่วยชาวไทยรายหนึ่งเป็นโรค PH1 ซึ่งมีสาเหตุความผิดปกติแบบดิสชัน และมีมิวเทชันในยีน AGXT โดยพบว่านิวคลีโอไทด์ลำดับที่ 32 มีการเปลี่ยนจาก cytosine เป็น guanine (c.32C>G) ส่งผลให้กรดอะมิโนลำดับที่ 11 เปลี่ยนจาก proline เป็น argenine (p.Pro11Arg) ซึ่งเป็นการกลายพันธุ์ที่ยังไม่เคยมีการรายงานมาก่อน ในการวิจัยนี้ได้วิเคราะห์การทำงานของมิวเทชันใหม่ในยีน AGXT แบบ p.Pro11Arg โดยเพิ่มปริมาณยีน AGXT ในส่วนที่ผลิตโปรตีนนี้จากเซลล์ HepG-2 และ transfect เข้าสู่เซลล์ COS7 โดยผลจากการทำ western blot แสดงให้เห็นว่ายีนกลายพันธุ์สามารถผลิตโปรตีนได้ตามปกติ สำหรับการตรวจสอบความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ AGT โดยวิธี semiautomated spectrophotometric บ่งชี้ว่า เอนไซม์ AGT ที่ผลิตจากยีนกลายพันธุ์มีความสามารถในการทำงานลดลงประมาณ 69% เมื่อเทียบกับเอนไซม์ AGT ที่ผลิตจากยีนปกติ ส่วนการตรวจสอบตำแหน่งเป้าหมายภายในเซลล์ของเอนไซม์ AGT ที่กลายพันธุ์ โดยวิธี immunofluorescence พบว่าเอนไซม์ AGT ที่กลายพันธุ์ประมาณ 20% นั้นถูกส่งไปยังออร์แกเนลล์อื่นที่ผิดตำแหน่ง ไม่ได้ถูกส่งไปยังเพอร์ออกซิโซมตามปกติ สรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงชนิด p.Pro11Arg นี้เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ก่อให้เกิดโรค PH1 โดยการลดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ และทำให้ตำแหน่งเป้าหมายภายในเซลล์เปลี่ยนแปลงไป

ภาควิชา.....พฤกษศาสตร์.....
สาขาวิชา.....พันธุศาสตร์.....
ปีการศึกษา.....2554.....

ลายมือชื่อนิสิต.....เนลวัฒน์ กิ่งสุวรรณพงษ์.....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....รัชนิกร ธรรมโชติ.....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....วรศักดิ์ โชติเลอศักดิ์.....

5072636423 : MAJOR GENETICS

KEYWORDS : PH1 / NOVEL MUTATION / AGXT / p.Pro11Arg / c.32C>G / AGT

NELAWAT KINGSUWANNAPONG : FUNCTIONAL ANALYSIS OF A NOVEL
AGXT MUTATION, c.32C>G (p.Pro11Arg), IN A THAI FAMILY WITH PH1.
ADVISOR : RACHANEEKORN TAMMACHOTE, Ph.D.,
CO-ADVISOR : PROF. VORASUK SHOTELERSUK, M.D. 93 pp.

Primary hyperoxaluria type1 (PH1) is a lethal autosomal recessive disorder of glyoxylate metabolism caused by deficiency of the liver-specific peroxisomal enzyme alanine:glyoxylate aminotransferase (AGT). PH1 is presented by excretion of oxalate and accumulation of insoluble calcium oxalate in the kidney and eventually leads to renal failure and death. The Center of Excellence for Medical Genetic, Chulalongkorn University, recently identified a Thai patient with PH1 caused by a deletion and a missense mutation in the *AGXT* gene, c.32C>G (p.Pro11Arg), which is a novel mutation. In this study, we analyzed the effects of this novel *AGXT* mutation. We have cloned the entire coding region of *AGXT* from Hep-G2 cells and transfected into COS7 cells. Western blot analysis of AGT results indicated that the p.Pro11Arg mutation did not affect the level of protein expression. The AGT catalytic activity, measured by semiautomated spectrophotometric assay, indicated that the mutant AGT activity decreased about 69%, compared to that of the wild type. Immunofluorescence microscope was used to analyze the sub-cellular localization of the mutant AGT and demonstrated that about 20% of the enzyme was mis-localized from peroxisomes. In conclusion, the p.Pro11Arg mutation cause pathogenicity by reduced the enzyme activity and mis-localize the ATG enzyme.

Department : Botany

Field of Study : Genetics

Academic Year : 2011

Student's Signature N. Kingsuwannapong

Advisor's Signature R. Tammachote

Co-advisor's Signature V. Shotelersuk