

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5880030

ชื่อโครงการ: โครงการ การศึกษาความสำคัญของโปรตีน Nck ต่อการส่งสัญญาณบริเวณ TCR

ชื่อนักวิจัย: จตุพร เงินคำ มหาวิทยาลัยนเรศวร

E-mail Address: jatupornn@nu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 1 กรกฎาคม 2558 ถึง 30 มิถุนายน 2561 (ระยะเวลาวิจัยรวม 2 ปี)

การส่งสัญญาณผ่าน T cell receptor (TCR) ทำให้เกิดการกระตุ้น T cells โปรตีน Nck เป็น adaptor protein ซึ่งมีสมาชิกอยู่ 2 โปรตีน คือโปรตีน Nck1 และ Nck2 จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การลดการแสดงออกของ Nck1 ใน Jurkat T cell ส่งผลให้เมื่อทำการกระตุ้น T cell แล้ว มีการกระตุ้น เอนไซม์ Erk และ MEK ลดลง แล้วยังส่งผลให้สร้าง IL-2 และการแสดงออกของ CD69 ลดลงด้วย ในทางตรงกันข้ามพบว่าเมื่อลดการแสดงออกของ Nck2 ไม่ส่งผลต่อการกระตุ้นโปรตีนดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบบทบาทของ Nck ต่อการกระตุ้นโปรตีน Lck, ZAP-70 และ CD3 ζ ซึ่งอยู่ใกล้บริเวณ TCR และมีบทบาทก่อนโปรตีน Erk และ MEK ดังนั้นในการศึกษานี้จึงศึกษาความเกี่ยวข้องของโปรตีน Nck1 และ Nck2 ต่อการกระตุ้นโปรตีนบริเวณใกล้กับ TCR ผลการศึกษาพบว่าการลดการแสดงออกของโปรตีน Nck1 ส่งผลให้การกระตุ้นโปรตีน Lck, ZAP-70 และ CD3 ζ ลดลง ในขณะที่การลดการแสดงออกของ Nck2 ไม่ส่งผลต่อการกระตุ้นโปรตีนเหล่านี้ นอกจากนี้พบว่ามี ZAP-70 และ Lck ที่จับอยู่กับ TCR-CD3 complex ลดลงในเซลล์ที่ลดการแสดงออก Nck1 แต่เป็นที่น่าสนใจว่า การลดการแสดงออกของ Nck2 ก็ส่งผลให้ Lck มาจับกับ TCR-CD3 complex ลดลงเช่นกัน สำหรับการศึกษา transcriptomic ก็พบว่า Nck จำเป็นสำหรับการแสดงออกของ transcription factor และ cytokine หลายชนิด จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า Nck1 ยังคงมีบทบาทสำคัญต่อการกระตุ้นโปรตีน Lck, ZAP-70 และ CD3 ζ

คำหลัก: T cell receptor, การกระตุ้น T cell, โปรตีน Nck, การส่งสัญญาณบริเวณ TCR

Abstract

Project Code: TRG5880030

Project Title: A study of adaptor protein Nck involving in proximal TCR signaling

Investigator: Jatuporn Ngoenkam, Naresuan University

E-mail Address: jatupornn@nu.ac.th

Project Period: 1 July 2016 to 30 June 2018 (Total project period 2 year)

Ligation of TCR with its ligand results in the activation of T cells. Nck is an adaptor protein that has two members, Nck1 and Nck2. Our previous reports showed that down-regulation of Nck1 in Jurkat T cell impaired TCR-induced phosphorylation of the kinases Erk and MEK. These consequently led to decrease IL-2 production and CD69 expression. In the contrary, down-regulation of Nck2 did not affect the activation of these proteins. However, the role of Nck in activation of TCR-proximal signaling molecules (Lck, ZAP-70 and CD3 ζ), which lie upstream of Erk1/2 and MEK1/2 proteins, is poorly understood. The present study aim to investigate the involvement of Nck1 and Nck2 in TCR-proximal signaling proteins. We found that down-regulate of Nck1 expression was associated with the low phosphorylation of CD3 ζ , Lck and ZAP-70 proteins upon TCR stimulation. In contrast, the activation of these proteins did not alter in Nck2-knockdown cells. In addition, CD3 co-immunoprecipitation and *in situ* proximal ligation assay (PLA) revealed that the recruitment of ZAP-70 and Lck to TCR-CD3 complex was declined in Nck1-knockdown cells. Interestingly, the impaired Lck recruitment to TCR-CD3 complex was also observed in Nck2-knockdown cell. The transcriptomic study showed that downregulation of both Nck1 and Nck2 simultaneously resulted in decrease gene expression in various genes. Altogether, at least in part, Nck1 is a key player to activate TCR-proximal signaling proteins.

Keywords : T cell receptor, T cell activation, Nck protein, TCR proximal signaling