

หัวข้อวิจัย	การยับยั้งการแสดงออกของยีน <i>usp14</i> ด้วยเทคนิค RNAi ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี
ผู้ดำเนินการวิจัย	ดร.อุบล ชื่นดำรง และ รศ.ดร.โสพิศ วงศ์คำ
ที่ปรึกษา	รศ.ดร.ทรงศักดิ์ เพ็ชรมิตร ผศ.ยุพารักษ์ ณ พัทลุง
หน่วยงาน	โรงเรียนการเรือน มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
ปีงบประมาณ	2555

บทคัดย่อ

มะเร็งท่อน้ำดีเป็นโรคที่เป็นปัญหาสาธารณสุขโดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ในปัจจุบันกำลังมีการศึกษาตัวบ่งชี้ทางโมเลกุลสำหรับโรคนี้ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบเปลี่ยนแปลงของยีนในผู้ป่วยชาวไทยที่เป็นมะเร็งท่อน้ำดีที่อยู่ในระดับด้วยการขยายยีนแบบสุ่ม (AP-PCR) พบส่วนของดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับโรคมะเร็งท่อน้ำดีอยู่บนยีน *Ubiquitin-Specific Protease 14* หรือ *usp14* บนโครโมโซม 18 ซึ่งแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงร้อยละ 52 ดังนั้น การศึกษาวิจัยในครั้งนี้เพื่อยับยั้งการแสดงออกของยีนดังกล่าว ด้วยเทคนิค RNA interference หรือ RNAi ในเบื้องต้นได้ทำการออกแบบโอลิโกสายสั้น (oligoduplex RNAi) จำนวน 3 ชุด แล้วทำการนำเข้าสู่เซลล์ไลน์ (transfection) ที่ใช้ทำการศึกษ ได้แก่ K KU-100 and M213 พบว่าโอลิโกที่ออกแบบไว้สามารถเข้าเซลล์ไลน์ได้มากกว่าร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับ RNAi negative ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุม แล้วทำการศึกษาการแสดงออกของยีนในระดับอาร์เอ็นเอ ด้วยเทคนิค quantitative real-time PCR พบว่า RNAi ชุดที่ 1 ยับยั้งการแสดงออกของยีน *usp14* ในเซลล์ K KU-100 ในเวลา 24 ชั่วโมง ได้มากที่สุด (ร้อยละ 93.35) และ พบว่า RNAi ชุดที่ 3 ยับยั้งการแสดงออกของยีน *usp14* ในเซลล์ M213 ในเวลา 72 ชั่วโมง ได้มากที่สุด (ร้อยละ 93.84) จากผลการวิจัยทำให้ทราบว่าโอลิโก RNAi ที่ได้ออกแบบไว้สามารถยับยั้งการแสดงออกของยีน *usp14* ได้จริง ลำดับถัดไปควรจะมีการศึกษาสภาวะของเซลล์ไลน์หลังจากถูกยับยั้งยีน *usp 14* ได้แก่ Proliferation, Migration, และ Invasion เนื่องจากเป็นสภาวะที่พบได้ในเซลล์มะเร็ง

Research Title	Inhibition of Ubiquitin-Specific Protease14 by RNA Interference (RNAi) in Cholangiocarcinoma Cell
Researcher	Dr. Ubol Chuensumran and Assoc.Prof.Dr. Sopit Wongkam
Research Consultants	Assoc.Prof.Dr. Songsak Petmitr Asst.Prof. Yupaporn Napatalung
Organization	School of Culinary Arts, Suan Dusit Rajabhat University
Fiscal Year	2012

ABSTRACT

Intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC), a malignant neoplasm of the biliary epithelium in the liver is a major health problem in Northeast Thailand. At present, the molecular marker finding of the disease has been elucidated. Previously, the genomic instabilities of Thai patients with ICC were studied by arbitrarily primed-polymerase chain reaction (AP-PCR). Specific region of *Ubiquitin-Specific Protease 14* or *usp14* gene on chromosome 18 giving gene variation 52% was found. In this study, we intended to inhibit the gene expression using RNA interference or RNAi technique. The 3 sets of oligoduplex RNAi were designed and used for transfection to cell lines including KKU-100 and M213 cells. The results showed that almost 90% of the cell lines were transfected with the RNAi compared with RNAi negative control. Gene expression (RNA level) was then studied using quantitative real-time PCR. The results showed that RNAi set no.1 has the highest efficiency in KKU-100 cell in 24 hour (93.35%). As well as, RNAi set no.3 has the highest efficiency in M213 cell in 72 hour (93.84%). The conclusion is that the designed RNAi (s) can be used to inhibit *usp14* gene expression. However, there are some conditions after gene was inhibited including the proliferation, migration, and invasion of the cells that frequently found in cancer cells should be studied.