โมเลกุล P-3E10 จัดเป็น leukocyte surface molecule ชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการกระตุ้นเซลล์ลิมโฟซัยต์ จากการโคลนยีนทำให้ทราบว่าโมเลกุลP-3E10 คือ Na ,K ATPase β3 subunit ในการศึกษานี้โดยการย้อมเซลล์ด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ P-3E10 (mAb P-3E10) ด้วยวิธี immunofluorescence พบว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวทุกชนิดมีการแสดงออกของโมเลกุล P-3E10 บนผิวเซลล์ และการแสดงออกนี้ไม่ได้เป็นแบบ quantitative polymorphism เมื่อกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวด้วย PHA และ PMA พบว่าการแสดงออกของโมเลกุล P-3E10 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงแสดงให้เห็นว่าโมเลกุล P-3E10 ไม่ได้จัดเป็น lymphocyte activation associated molecule เมื่อศึกษาการแสดงออกของโมเลกุล P-3E10 บนเม็ดเลือดแดงโดยการย้อมด้วย mAb P-3E10 พบว่าเม็ดเลือดแดงคนปกติให้ผลลบ ในขณะที่มากกว่า 80% ของเม็ดเลือดแดงจากผู้ป่วยธาลัสซีเมียให้ผลบวก และโดยวิธี immunoprecipitation ผู้วิจัยสามารถ precipitate โมเลกุล P-3E10 จากผิวเม็ดเลือดแดงคนปกติได้ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าโมเลกุล P-3E10 น่าจะมีอยู่บนเม็ดเลือดแดงของคนปกติ แต่ epitope ที่จำเพาะต่อ mAb P-3E10 ถูกซ้อนอยู่ นอกจากนั้น ผู้วิจัยยังแสดงให้เห็นอีกว่าบนผิวเซลล์เม็ดเลือดขาวโมเลกุล P-3E10 จับอยู่กับ Na, K ATPase α subunit

จากการศึกษาหน้าที่ของโมเลกุล P-3E10 ผู้วิจัยพบว่าการจับกันระหว่าง mAb P-3E10 และโมเลกุล P-3E10 สามารถกดการกระตุ้นเซลล์ลิมโฟซัยต์ได้ โดยพบว่า หาก bypass early signaling แล้ว mAb P-3E10 ไม่สามารถกดการแบ่งตัวของลิมโฟซัยต์ได้ ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าโมเลกุล P-3E10 กดการกระตุ้นลิมโฟซัตย์โดยยับยั้งการส่งสัญญาณระยะแรกของ T lymphocytes (early T cell signaling) นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังพบอีกว่าการกระตุ้นโมเลกุล P-3E10 ทำให้การสร้าง IL-2 receptor CD25 ลดลง และพบว่าเซลล์ monocytes และ CD8+ lymphocytes ไม่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องกับการควบคุมการกระตุ้นเซลล์ลิมโฟซัยต์ เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุล P-3E10 และ lipid raft ผู้วิจัยได้นำเอาการแยก lipid raft โดยวิธี sucrose density gradient ultracentrifugation และวิธี immunoblotting มาใช้ในการศึกษา และพบว่าโมเลกุล P-3E10 ไม่ได้อยู่ใน lipid raft อย่างไรก็ตาม เมื่อกระตุ้นโมเลกุล P-3E10 ด้วย mAb P-3E10 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุล MHC class II ใน lipid raft แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ ZAP-70 และ Lck การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนใน lipid raft เมื่อกระตุ้นโมเลกุล P-3E10 นี้อาจเป็นตัวการทำให้เกิดการควบคุมการกระตุ้นการทำงานของลิมโฟซัยต์

ผู้วิจัยได้ส่ง mAb P-3E10 เข้าไปใน International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens (HLDA workshop) เพื่อกำหนดชื่อในระบบ Cluster of Differentiation (CD) และในการประชุม HLDA workshop ครั้งที่ 8 ที่เมือง Adelaide ประเทศออสเตรเลีย ในวันที่ 16 ธันวาคม 2547 ได้กำหนดชื่อ P-3E10 molecule เป็น CD298 ซึ่งนับเป็น CD molecule แรกของคนไทย

P-3E10 molecule is a leukocyte surface molecule involving in the regulation of lymphocyte activation. Molecular cloning indicated that P-3E10 molecule is the β3 subunit of Na, K ATPase. By immunofluorescence analysis using monoclonal antibody specific to the P-3E10 molecule (mAb P-3E10), in this study, it was found that all peripheral blood leukocytes express P-3E10 molecule. Expression of the P-3E10 molecule on leukocytes is not in quantitative polymorphic manner. Upon PHA or PMA activation, the expression level of P-3E10 on activated PBMCs was not altered in comparison with those of un-stimulated cells indicating P-3E10 molecule is not a lymphocyte activation associated molecule. Red blood cells (RBCs) of healthy donors showed negative reactivity with mAb P-3E10. However, more than 80% of thalassemic RBCs showed positive reactivity. In addition, P-3E10 molecule could be precipitated from RBC surface using immunoprecipitation technique. The results evidenced that P-3E10 molecule is expressed on normal RBC membrane but the epitope recognized by mAb P-3E10 is hidden. Furthermore, we demonstrated the association of P-3E10 molecule and α subunits of Na, K ATPase on leukocyte membrane.

In the study of the immuno-functional of CD298, we found that engagement of P-3E10 molecule by mAb P-3E10 suppressed T lymphocyte activation. However, mAb P-3E10 did not inhibit proliferation of T lymphocytes upon bypassing early signaling cascades indicated that the P-3E10 molecule targeting disturbs early T cell signaling events. In addition, we also found that triggering of P-3E10 molecule blocked the expression of IL-2 receptor CD25 molecule. Furthermore, we found that monocytes and CD8+ lymphocytes were not involved in the inhibition of T lymphocyte proliferation induced by mAb P-3E10. To study the association of P-3E10 molecule and lipid raft, sucrose density gradient ultracentrifugation and immunoblotting was employed. No association of P-3E10 with the membrane lipid raft was observed. However, triggering P-3E10 molecule by specific mAb induced the change of MHC class II molecules, but not for ZAP-70 and Lck, in lipid raft. This perturbation of lipid raft protein may accompany with regulation of lymphocyte actuation.

The mAb P-3E10 was submitted to the 8th Human Leukocyte Differentiation Antigen (HLDA) Workshop held in Adelaide, Australia, 12-16 December 2004. By the 8th HLDA workshop, mAb P-3E10 and its recognized molecule was defined as a new cluster CD298. This is the first CD molecule discovered by Thai researcher.