

ชื่อวิทยานิพนธ์	กลไกการทำงานของ Fortilin/TCTP ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตายของเซลล์
ผู้เขียน	นางสาวพจนพร ไกรดิษฐ์
สาขาวิชา	ชีวเคมี
ปีการศึกษา	2548

บทคัดย่อ

Fortilin หรือ Translationally Controlled Tumor Protein (TCTP) โปรตีนที่พบว่ามีการแสดงออกในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง ถึงแม้ว่าจะพบการแสดงออกของยีน fortilin/TCTP ทั้งในสัตว์และพืช แต่ยังไม่มียางานของโปรตีนชนิดนี้ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตายของเซลล์ในกึ่ง (apoptosis) งานวิจัยในครั้งนี้ได้พบว่า fortilin/TCTP มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในกึ่งที่ติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในระยะเริ่มต้น และการแสดงออกลดลงเมื่อกึ่งอยู่ในสภาวะใกล้ตาย นอกจากนี้ยังพบอีกว่าเมื่อนำยีน fortilin/TCTP ของกึ่ง และคน เข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยง U2OS และกระตุ้นเซลล์เพาะเลี้ยงให้เกิดการตายด้วยสาร etoposide, staurosporine, cisplatin, hydroxyurea และ 5-fluorouracil (5-FU) ยีน fortilin/TCTP ที่อยู่ในเซลล์เพาะเลี้ยงสามารถป้องกันเซลล์จากการตาย (apoptosis) ได้ และผลที่ได้จากยีน fortilin/TCTP ของกึ่งเหมือนกับผลที่ได้จากการใช้ยีนของคน เนื่องจากในขณะนี้ไม่มีข้อมูลของยีนชนิดนี้ของกึ่งน้อยมาก ในการทดลองเพื่อศึกษาหน้าที่ของ fortilin/TCTP เพิ่มเติมในครั้งนี้จึงเลือกใช้ fortilin/TCTP ของคนเป็นต้นแบบในการศึกษาถึงกระบวนการป้องกันการตายของเซลล์ (antiapoptotic function) จากการทดลองพบว่า fortilin/TCTP

ของคน และ MCL1 เป็นโปรตีนที่สามารถป้องกันการเกิดกระบวนการตายของเซลล์ได้ด้วยตัวเอง โดยไม่ต้องอาศัย MCL1 และ fortilin/TCTP ซึ่งเป็นโปรตีนตัวช่วย และจากการใช้เทคนิค small interference RNA (siRNA) ในการยับยั้งยีนเป้าหมาย human-fortilin/TCTP และ MCL1 ซึ่งอยู่ในเซลล์เพาะเลี้ยง U2OS ทั้งแบบ monoclonal population และ polyclonal population แล้วกระตุ้นให้เซลล์เพาะเลี้ยงเกิดการตายด้วย 5-FU พบว่าเมื่อทำการยับยั้ง MCL1 ด้วย siRNA ที่จำเพาะกับยีนนี้ human-fortilin/TCTP ที่อยู่ในเซลล์สามารถป้องกันเซลล์จากการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายด้วย 5-FU ได้ และเมื่อทำการยับยั้ง human-fortilin/TCTP ด้วย siRNA ที่จำเพาะกับยีนนี้ พบว่า MCL1 ที่อยู่ในเซลล์สามารถป้องกันเซลล์จากการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายด้วย 5-FU ได้เช่นเดียวกัน จากข้อมูลที่ได้นี้แสดงว่า human-fortilin/TCTP และ MCL1 สามารถป้องกันเซลล์จากกระบวนการตายของเซลล์ได้โดยไม่ต้องทำงานร่วมกับโปรตีนตัวช่วย นอกจากนี้ยังพบว่าการยับยั้งการแสดงออกของยีนเป้าหมาย human-fortilin/TCTP และ MCL1 ด้วย siRNA ไม่มีผลทำให้ตำแหน่งของการแสดงออกของยีนตัวช่วยเปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้คาดว่าการทำงานร่วมกันระหว่าง human-fortilin/TCTP และ MCL1 นี้สามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการป้องกันเซลล์จากกระบวนการตายได้ดีขึ้น อันเนื่องมาจาก MCL1 ช่วยทำให้ human-fortilin/TCTP มีความเสถียรมากขึ้น และจากการที่พบว่า human-fortilin/TCTP สามารถป้องกันเซลล์จากการเข้าสู่สภาวะการตายได้ด้วยตัวเอง ดังนั้น fortilin/TCTP ในกึ่ง อาจจะมีบทบาทเช่นเดียวกันในการตอบสนองต่อการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวโดยผ่านกระบวนการตายของเซลล์

Thesis Title	Establishing a Role for Fortilin/TCTP in Apoptosis
Author	Miss Potchanapond Graidist
Major Program	Biochemistry
Academic Year	2005

Abstract

Fortilin or Translationally Controlled Tumor Protein (TCTP) is a highly conserved protein that is widely expressed in all eukaryotic organisms. Although fortilin/TCTPs are highly conserved throughout the animal and plant kingdoms, the exact role of shrimp fortilin/TCTP in apoptosis regulation remained unknown. Here, we report that fortilin/TCTP is drastically upregulated in shrimp haemolymph during the early phase of WSSV infection and that its expression abruptly decreases as shrimp become moribund. Strikingly, shrimp fortilin/TCTP and human-fortilin/TCTP, when overexpressed in mammalian cells, U2OS, protected cells from cell death induced by etoposide, staurosporine, cisplatin, hydroxyurea, and 5-fluorouracil (5-FU). These data suggest that shrimp fortilin/TCTP, like mammalian fortilin/TCTP, protects cells from undergoing apoptosis. Furthermore, because of lack of knowledge in shrimp fortilin/TCTP, we used human-fortilin/TCTP as a model to study the antiapoptotic function of this molecule. We present evidence that human-fortilin/TCTP and MCL1 are capable of functioning as antiapoptotic proteins independently of each other. Using a robust small interference RNA (siRNA)-mediated gene silencing system, we analyzed the cytoprotective effects of human-fortilin/TCTP and MCL1 together and apart in U2OS cell lines exposed to 5-

fluorouracil (5-FU) in both monoclonal and polyclonal cell populations. When MCL1 was silenced by MCL1-targeted siRNA, human-fortilin/TCTP was still able to protect cells from 5-FU-induced cytotoxicity in a dose-dependent manner. Conversely, when human-fortilin/TCTP was silenced by fortilin/TCTP-targeted siRNA, MCL1 was also able to protect cells from 5-FU-induced cytotoxicity in a dose-dependent manner. Together, these data clearly suggest that human-fortilin/TCTP and MCL1 can exert their cytoprotective activities independently of each other. The silencing of human-fortilin/TCTP and MCL1 did not qualitatively change the subcellular localization of MCL1 and human-fortilin/TCTP, respectively. The biological significance of (human-fortilin/TCTP)-MCL1 interaction may be that it increases cellular resistance to apoptosis by allowing MCL1, an independently antiapoptotic protein, to stabilize another independently antiapoptotic protein, human-fortilin/TCTP. Since human-fortilin/TCTP by itself was capable of protecting cells from undergoing apoptosis, shrimp fortilin/TCTP may also play a critical role in the organism's response to WSSV-infection through its regulation of cell death pathways.