

การศึกษาไซคลินีนจากเซลล์มะเร็ง

นางสาว พรยูพา ธีญภัทรกุล

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2548

STUDY OF CYCLIN GENE FROM CANCER CELLS

MISS PORNYUPA THUNPATTRAKUL

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

2005

โครงการพิเศษ
เรื่อง การศึกษาไชคลินีนจากเซลล์มะเร็ง

.....
(นางสาวพยุพา ธีฎภัทรกุล)

.....
(รศ.ดร. จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
(ดร.พรทิพา พิชา)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การศึกษาไซคลินยีนจากเซลล์มะเร็ง

พรยุพา ธีญภัทรกุล

อาจารย์ที่ปรึกษา: จันทรเพ็ญ วิวัฒน์*, พรทิพา พิษา**

*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

**สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

คำสำคัญ: ไซคลินดี 1, ไซคลินอี 2, วัฏจักรเซลล์, เซลล์มะเร็ง

ยีนไซคลินเป็นยีนที่สร้างโปรตีนไซคลิน ซึ่งมีความสำคัญในการควบคุมวัฏจักรเซลล์ ในการศึกษาครั้งนี้ผู้ทดลองได้มุ่งเน้นไปที่สับไทป์ไซคลินดี 1 และ ไซคลินอี 2 ซึ่งการแสดงออกที่มากผิดปกติของยีนทั้งสองนี้มีความสัมพันธ์กับการเกิดและพัฒนาการของเซลล์มะเร็ง ผู้ทดลองได้ทำการสกัดแยกอาร์เอ็นเอทั้งหมดจากเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด ได้แก่ MCF-7, HeLa, และ KB จากนั้นได้ทำการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนยีนโดยวิธีการปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสแบบย้อนกลับ เพื่อให้ได้ยีนไซคลินดี 1 และ ไซคลินอี 2 โดยใช้โอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ที่จำเพาะ ผลผลิตดีเอ็นเอคู่สมที่ได้มีจำนวนเบสประมาณ 200 คู่เบส ซึ่งสอดคล้องกับไซคลินดี 1 ที่ได้มีรายงานไว้แล้ว แต่ไม่สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอคู่สมของไซคลินอี 2 ได้ ผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสของไซคลินดี 1 ถูกนำมาโคลนเข้าเวกเตอร์ pGEM[®]T-easy และทรานฟอร์มเข้าสู่เซลล์ *E.coli* DH5 α แล้วทำการคัดเลือกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่ผสมยาปฏิชีวนะ ampicillin 100 μ l/ml, X-Gal 20 μ l/plate และ IPTG 50 μ l/plate จากนั้นทำการแยกพลาสมิดลูกผสมที่ได้และทำให้บริสุทธิ์ แล้วทำการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอคู่สมที่ได้และเปรียบเทียบกับลำดับเบสของดีเอ็นเอของไซคลินดี 1 จากแหล่งอื่นที่มีรายงานไว้ พบว่ามีความเหมือนกันร้อยละ 52.63 %

Abstract

Study of cyclin gene from cancer cells

Pornyupa Thanpattrakul

Project advisor: Chanpen Wiwat*, Pornnipa Picha**

* Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

**National Cancer Institute Thailand

Keywords: cyclin D1, cyclin E2, cell cycle, cancer cell

Cyclin is a family of regulatory protein that controls mammalian cell cycle. In this study we focused on 2 subtypes of cyclin family, cyclin D1 and cyclin E2. Overexpression of either cyclin D1 or E2 is correlated with the development and progression of cancer. Total RNA was isolated from 3 cancer cell lines MCF-7, HeLa and KB. The cyclinD1 and E2 coding sequence were reverse transcribed and amplified with specific oligonucleotide primers. We could obtain approximately 200 base-pair cDNA, corresponded to cyclin D1 which was previously reported. But the attempt to amplify cyclin E2 cDNA was not success. PCR product of cyclin D1 was cloned into pGEM[®]-Teasy plasmid vector, and transformed into *E.coli* DH5 α . The transformants were selected on LB agar containing 100 μ l/ml ampicillin, X-Gal 20 μ l/plate and IPTG 50 μ l/plate. Subsequently, the recombinant plasmids were isolated, purified and subjected to sequence by automatic sequencer. The nucleotide sequence was compared with cyclinD1 from other sources. The results showed only 52.63 % homology.