การแสดงออกของยีนพลูริโพเทนท์และยีนต้านภาวะความเครียดออกซิเดชันของเซลล์ต้นกำเนิดไอพีเอสเมื่อบ่มเซลล์กับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

นางสาว กัญญาณัฐ ผอบทิพย์

นางสาว ฉัตรกมล ตั้งแสนสุข

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2559

THE EXPRESSION OF PLURIPOTENT AND ANTIOXIDANT GENES IN IPS CELLS INCUBATED WITH HYDROGEN PEROXIDE

MISS KANYANAT PAOBTHIP

MISS CHATKAMON THANGSANSUK

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT

OF THE REQUIREMENTS FOR

THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY

FACULTY OF PHARMACY

MAHIDOL UNIVERSITY

2016

โครงการพิเศษ

เรื่อง การแสดงออกของยีนพลูริโพเทนท์และยีนต้านภาวะความเครียดออกซิเดชันของเซลล์ต้นกำเนิดไอพีเอสเมื่อบ่มเซลล์กับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

.....

(นางสาวกัญญาณัฐ ผอบทิพย์)

.....

(นางสาวฉัตรกมล ตั้งแสนสุข)

.....

อาจารย์ที่ปรึกษา

(อ.ดร.คณิสส์ เสงี่ยมสุนทร)

.....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(อ.ดร.มนตรี ยะสาวงษ์)

บทคัดย่อ

การแสดงออกของยีนพลูริโพเทนท์และยีนต้านภาวะความเครียดออกซิเดชันของเซลล์ต้นกำเนิดไอพีเอสเมื่อบ่มเซลล์กับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

กัญญาณัฐ ผอบทิพย์, ฉัตรกมล ตั้งแสนสุข

อาจารย์ที่ปรึกษา : คณิสส์ เสงี่ยมสุนทร, มนตรี ยะสาวงษ์

ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : เซลล์ไอพีเอส, ภาวะเครียดออกซิเดชัน, ยีนต้านการออกซิเดชัน, ยีนพลูริโพเทนน์

ภาวะเครียดออกซิเดชันเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคและการตายของเซลล์ เซลล์ต้นกำเนิดอินดิวซ์พลูริโพเทนท์ (ไอพีเอส) คือเซลล์ต้นกำเนิดที่ผ่านกระบวนการโปรแกรมเซลล์ย้อนกลับจากเซลล์ร่างกาย ผลกระทบของอนุมูลอิสระต่อคุณสมบัติของเซลล์ไอพีเอสยังไม่ทราบแน่ชัด โดยเฉพาะการเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ที่เฉพาะเจาะจง เมื่อนำเซลล์ไอพีเอสบ่มร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 16 - 150 μM เป็นระยะเวลา 24 48 ชั่วโมง และ 1 สัปดาห์ พบว่าภาวะเครียดออกซิเดชันที่เกิดจาก H_2O_2 ส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์ การแสดงออกของยีนพลูริโพเทนท์ Oct4 Sox2 Klf4 และ c-MYC ในกลุ่มเซลล์ที่บ่มกับ H_2O_2 24 ชั่วโมงเพิ่มขึ้น 1-2.5 เท่า กลุ่มที่บ่มกับ H_2O_2 64 μM ระดับของยีน GCLC เพิ่มขึ้น 2.5 เท่า การแสดงออกของยีนพลูริโพเทนท์ในกลุ่มที่บ่มเซลล์กับ H_2O_2 48 ชั่วโมงเพิ่มขึ้น 1-2 เท่า ระดับของ CAT เพิ่มขึ้น 2-5 เท่าและยีน GCLC เพิ่มขึ้น 2 เท่า ส่วนกลุ่มที่บ่ม 1 สัปดาห์พบว่ายีน Klf4 เพิ่มขึ้น 3 เท่า การแสดงออกของยีนควบคุมยีนพลูริโพเทนท์และยีนต้านอนุมูลอิสระ Nrf2 เพิ่มขึ้น 1-5 เท่า ผลการทดลองพบว่าเซลล์ต้นกำเนิดไอพีเอสมีการตอบสนองต่อระดับอนุมูลอิสระแตกต่างกัน ความเข้มข้นของ H_2O_2 ในระดับต่ำจะเพิ่มการแสดงออกของยีนพลูริโพเทนท์และสามารถกระตุ้นการทำงานของยีนต้านอนุมูลอิสระ GCLC GCLM GSTP1 และ CAT การที่อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นนั้นอาจยับยั้งการพัฒนาของเซลล์ไอพีเอสโดยเพิ่มการทำงานของยีนพลูริโพเทนท์

Abstract

The expression of pluripotent and antioxidant genes in iPS cells after incubated with hydrogen peroxide

Kanyanat Paobthip, Chatkamon Tangsansuk

Project advisor : Khanit Sa-ngiamsuntorn, Montri Yasawong

Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword : iPS cells, oxidative stress, antioxidation gene, pluripotent gene

Oxidative stress is a key contributor to disease and cell death. The induced pluripotent stem cell or iPS cells are stem cells reprogrammed from the somatic cells. The effect of reactive oxygen species (ROS) on the properties of iPS cells such as cell proliferation and differentiation was not elucidated. After incubated iPS cell with 16-150 μM H_2O_2 for 24, 48 h and 1 week, oxidative stress from H_2O_2 induced cell apoptosis. The expression of pluripotent genes such as Oct4, Sox2, Klf4 and c-MYC treated with H_2O_2 for 24 h was up regulated 1-2.5 folds comparing with untreated cells. Treated iPS cells with 64 μM H_2O_2 increased glutathione producing enzyme (GCLC) to 2.5 folds. In 48 h treated group, pluripotent genes increased 1-2 folds. CAT increased 2-5 folds and GCLC 2 folds. Long-term incubated iPS cells with H_2O_2 up regulated Klf4 3 folds. The Nrf2, a major transcription factor for antioxidant and pluripotent genes also increased responding to the H_2O_2 treatment. In summary, the exposure to the ROS could inhibit iPS cells differentiation by up regulating pluripotent genes.