

ABSTRACT

Project Code : MRG4680180
Project Title : Functional polymorphism of MICA and NK cell activation
Investigator : Sahapat Barusrux ,
Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University,
The Centre for Research and Development of Medical Diagnostic
Laboratories, Khon Kaen University
E-mail address : sahapat@kku.ac.th, dr_sahapat@yahoo.com
Project period : 1 July 2003 – 30 April 2007

MICA gene is highly polymorphic with at least 59 alleles having been reported. *MICA* binds to the NKG2D receptor on natural killer (NK) cells and several immune cells. It is possible that the *MICA* polymorphisms may affect the NKG2D binding leading to different degree of immune cell activation. This study aims to generate various allelic *MICA* mutants which represent ethnic specific extracellular domain (α -1, α -2, α -3) polymorphisms by site-directed mutagenesis. We have successfully produced the Caucasian specific allele (*MICA**00701), the northeastern Thai specific allele (*MICA**045), the α -2 polymorphic variants (*MICA**043 and *MICA**01202), the α -3 polymorphic variant (*MICA**038) and the α -1 to α -3 polymorphic variants (*MICA**034 and *MICA**010) from the *MICA**00201 (pSBKKU412_002) template. All mutants were verified by sequencing and successfully stably transfected to the C1R cells which were validated for *MICA* cell surface expressions. These stable transfectants will be used to study the effect of *MICA* polymorphic residues carried by these alleles on NK cell activation. In conclusion, site-directed mutagenesis is a simple and very effective method to generate allelic *MICA* polymorphic residues to study their effects on NK cell activations compared to the classical cloning. The technique can also be applied to other studies. It is an invaluable technique for studying protein structure-function relationships and for carrying out vector modifications.

Keywords : MICA; NKG2D; polymorphism; site-directed mutagenesis

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG 4680180

ชื่อโครงการ : หน้าที่ความสำคัญของโพลีมอร์ฟิสมของมิกเอต่อการกระตุ้นเซลล์เอ็นเค

ชื่อนักวิจัย : สหพัฒน์ บัณฑิตวิรัช,
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น,
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

E-mail address : sahapat@kku.ac.th, dr_sahapat@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : 1 กรกฎาคม 2546 – 30 เมษายน 2550

ยีนมิกเอ (*MICA*) มีความหลากหลายมีรายงานไม่น้อยกว่า 59 อัลลีล มิกเอจะจับกับตัวรับเอ็นเคจีทูตี (*KG2D receptor*) ซึ่งพบบนเซลล์ natural killer (NK) cells และ เซลล์ภูมิคุ้มกันหลายชนิด มีความเป็นไปได้ที่ ความหลากหลายของมิกเอ จะมีผลต่อความแรงในการจับกับ *KG2D receptor* ซึ่งจะมีความแตกต่างต่อการกระตุ้นเซลล์ภูมิคุ้มกัน การศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อสร้างอัลลีลมิกเอผ่าเหล่าชนิดต่างๆ โดยวิธี site-directed mutagenesis โดยมีส่วน extracellular domain (α -1, α -2, α -3) เหมือนกับอัลลีลที่พบได้เฉพาะในชนชาติ โดยใช้ *MICA*00201* (pSBKKU412_002) เป็นต้นแบบเพื่อสร้าง *MICA*00701* และ *MICA*045* ซึ่งเป็นอัลลีลที่จำเพาะในชาวผิวขาว และชาวไทยอีสาน ตามลำดับได้สำเร็จ นอกจากนี้ยังสามารถสร้าง *MICA*043* และ *MICA*01202* (อัลลีลที่มีความหลากหลายในส่วน α -2), *MICA*038* (อัลลีลที่มีความหลากหลายในส่วน α -3), *MICA*034* และ *MICA*010* (อัลลีลที่มีความหลากหลายในส่วน α -1, α -2, α -3) อัลลีลผ่าเหล่าทั้งหมดผ่านการตรวจสอบความถูกต้องโดยการทำ DNA sequencing และ การทำทรานสเฟคชันเพื่อดูการแสดงออก เซลล์ที่ผ่านการทำทรานสเฟคชัน สามารถนำไปใช้ศึกษาผลความหลากหลายของมิกเอต่อการกระตุ้น NK cells โดยสรุปในการสร้างอัลลีลมิกเอที่มีความหลากหลาย สำหรับการศึกษาผลความหลากหลายของมิกเอต่อการกระตุ้น NK cells เทคนิค site-directed mutagenesis เป็นวิธีที่ง่ายและมีประสิทธิภาพสูง เมื่อเทียบกับวิธีเดิม เทคนิคนี้สามารถประยุกต์ใช้กับงานต่างๆ ได้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีน และการดัดแปลงเวกเตอร์ เป็นต้น

คำหลัก : มิกเอ; เอ็นเคจีทูตี; ความหลากหลาย; site-directed mutagenesis