

บทคัดย่อ

WT1 17AA-/KTS- isoform มีผลต่อระดับการแสดงออกของ actin binding proteins 3 ชนิด ได้แก่ $\square$ -actinin 1, cofilin 1 และ gelsolin ซึ่งพบว่าสัมพันธ์กับกลไกของ actin cytoskeleton, การเกาะพื้นผิวของเซลล์ และ การเคลื่อนที่ของเซลล์ แต่ยังไม่ทราบแน่ชัดว่า WT1 17AA-/KTS- isoform ควบคุมการแสดงออกของยีนทั้ง 3 อย่างไร การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงกลไกการควบคุมการแสดงออกของ actin binding proteins โดย WT1 17AA-/KTS- isoform ซึ่งเป็นไปได้ว่าจะควบคุมยีนเป้าหมายโดยตรงหรือผ่านทางกลไกอื่น ซึ่งได้ใช้เทคนิค Chromatin immunoprecipitation และ GFP reporter assay เพื่อทำการตรวจสอบ จากผลการทดลองพบว่า WT1 17AA-/KTS- สามารถจับกับส่วนของ 5'-flanking sequences บนยีน gelsolin ณ ตำแหน่ง 5'-CCGCCCCGCGC-3' และ 5'-CGCCCCGCGC-3' ได้ และเมื่อทำการทดสอบโดยใช้ RT-PCR และ western blot analysis ใน WT1 17AA-/KTS- highly expressing cells และ เซลล์ที่ได้รับ WT1 17AA- specific siRNA พบว่า WT1 17AA-/KTS- สามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีน Rac และ Cdc42 ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกของ actin cytoskeleton, การเปลี่ยนรูปร่างของเซลล์, การเกาะพื้นผิวของเซลล์ และ การเคลื่อนที่ของเซลล์ จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า WT1 17AA-/KTS- isoform มีผลต่อการควบคุมการแสดงออกของ ยีน gelsolin โดยควบคุมโดยตรงผ่าน promoter site ของยีนนี้ และอาจเป็นไปได้ว่า WT1 17AA-/KTS- isoform ควบคุมยีนทั้งสามชนิดผ่านกลไกอื่น นั่นคือ Rac และ Cdc42 pathway ด้วยเช่นกัน

Abstract

WT1 17AA-/KTS- isoform alters actin binding proteins: α -actinin 1, cofilin 1 and gelsolin involved with actin cytoskeleton dynamics, cell adhesion and cell migration. Here we investigated whether or not WT1 17AA-/KTS- isoform could alters expression of actin binding proteins by directly bind to each actin binding protein gene or indirectly regulation via the other pathway. Chromatin immunoprecipitation and GFP reporter assay detected two DNA binding sites of WT1 17AA-/KTS- at 5'-flanking sequences of gelsolin gene, 5'-CCGCCCCGCGC-3' and 5'-CGCCCCGC-3'. RT-PCR and western blot results in WT1 17AA-/KTS- highly expressing cells and WT1 17AA- specific siRNA treated parental cells supported that WT1 17AA-/KTS- induced expression of actin cytoskeleton mechanism mediated gene, Rac and Cdc42. These results suggested that WT1 17AA-/KTS- isoform alters the expression of gelsolin gene by direct binding to its DNA binding sites and may regulates all three kinds of actin binding protein genes via Rac and Cdc42 pathway.

Key word; WT1 DNA binding site, WT1 target gene, gelsolin, small GTPase gene, cancer cell migration