

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5380018
 ชื่อโครงการ: ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ซ้ำๆ ณ บริเวณปลาย ๕ ไพรม์ และ ๓ ไพรม์ ควบคุมการทำงานของยีนผ่านกระบวนการเมธิลเลชันในโรคมะเร็ง
 ชื่อนักวิจัย: นายชูพงศ์ อธิธิวุฒิ
 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 E-mail Address: chupongi@gmail.com
 ระยะเวลาโครงการ : ๒ ปี

การศึกษาวิจัยเชิงพรรณนาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของระดับเมธิลเลชันที่บริเวณลำดับสารพันธุกรรมที่มีลักษณะซ้ำๆ กัน กระจายอยู่ทั่วจีโนม โดยเลือกศึกษาในลำดับสารพันธุกรรมที่มีรูปแบบ “ไลน์ ๑ (LINE-1 or L1)” ซึ่งพบราว ๑๗ เปอร์เซ็นต์ของจีโนมมนุษย์ การศึกษาในครั้งนี้แตกต่างจากการศึกษารูปแบบเมธิลเลชัน ณ ตำแหน่งปลาย ๕ ไพรม์ของไลน์ ๑ ทั่วจีโนม ในการศึกษาอื่นๆ ที่มีมาก่อนหน้า โดยในครั้งนี้เป็นการศึกษารูปแบบเมธิลเลชันของไลน์ ๑ ณ ตำแหน่ง CpG ไดนิวคลีโอไทด์ที่ปลาย ๓ ไพรม์ จากหลักฐานชิ้นสำคัญก่อนหน้านี้ที่ทำการเปรียบเทียบลำดับของสารพันธุกรรม ณ บริเวณทรานสคริปต์ขั้นสตาร์ทไซต์ (transcription start sites) บน mRNA ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีความสำคัญกับการควบคุมการแสดงออกของยีน โดยเปรียบเทียบกับไลน์ ๑ ที่พบทั้งหมดในจีโนม (ทั้งไลน์ที่แทรกแบบสมบูรณ์และแบบไม่สมบูรณ์) พบว่าส่วนของทรานสคริปต์ขั้นสตาร์ทไซต์ของ mRNA จำนวนหนึ่ง ปรากฏอยู่ ณ บริเวณส่วนปลาย ๓ ไพรม์ของไลน์ ๑ ซึ่งการพบส่วนของไลน์ ๑ บริเวณปลาย ๓ ไพรม์ดังกล่าวในส่วนที่ควบคุมการแสดงออกของยีน ทำให้ผู้วิจัยตั้งสมมติฐานว่าการเกิดเมธิลเลชัน ณ บริเวณปลาย ๓ ไพรม์ของไลน์ ๑ อาจมีนัยสำคัญต่อการควบคุมการแสดงออกของยีน โดยเฉพาะรูปแบบการเกิดเมธิลเลชันที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็ง ผู้วิจัยจึงได้ทำการพัฒนาวิธีไพโรซีควนซิ่ง เพื่อวัดระดับเมธิลเลชันที่เกิดขึ้น ณ ปลาย ๓ ไพรม์ของไลน์ ๑ ในตัวอย่างดีเอ็นเอจากชิ้นเนื้อมะเร็งลำไส้ใหญ่ ๑๐ ราย และมะเร็งปอด ๑๓ ราย เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอของชิ้นเนื้อปกติบริเวณที่ไม่ใช่อวัยวะโรค ของตัวอย่างรายเดียวกัน ผลการศึกษาไม่พบความแตกต่างของระดับเมธิลเลชัน ของตำแหน่ง CpG ไดนิวคลีโอไทด์ ๒ ตำแหน่ง ในกลุ่มมะเร็งและกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้ได้สร้างเครื่องมือในการวัดระดับเมธิลเลชัน ณ ปลาย ๓ ไพรม์ของไลน์ ๑ เพื่อใช้เปรียบเทียบกับวิธีการวัดดั้งเดิมที่วัด ณ ปลาย ๕ ไพรม์ ทั้งวิธี COBRA-L๑ มาตรฐาน และวิธีไพโรซีควนซิ่งจากชุดตรวจสำเร็จรูป เพื่อที่จะสามารถนำไปใช้ศึกษาเปรียบเทียบในการศึกษาอื่นต่อไป

คำสำคัญ: ไลน์ ๑ - เมธิลเลชัน - ปลาย 3 ไพรม์ - มะเร็งปอด - มะเร็งลำไส้ใหญ่

ABSTRACTS

Project Code: TRG5380018

Project Title: Functional repetitive sequences on 5' and 3' regulatory region controls gene expression by methylation in cancer

Investigator: Chupong Ittiwut, Ph.D.
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

E-mail Address: chupongi@gmail.com

Project period: 2 years

A descriptive study of correlation between methylation level of the interspersed repetitive sequences (IRS) and cancer was studied in long interspersed elements 1 (LINE-1 or L1), the most prevalent (approximately 17%) in the human genome. In spite of various studies of global methylation status of L1s CpG dinucleotides at 5' promoter, interestingly, previous comprehensive analysis has shown that predictive transcription start sites (TSSs) of expressed mRNAs were globally mapped to the 3'UTR sequences of full-length and 5'-truncated (fragmented) L1s. To address whether this L1s 3'promoter plays role in genes regulation and carcinogenesis via methylation, in this study, we developed a pyrosequencing-based analysis to evaluate methylation level of the CpGs at 3'UTR of the full-length L1s sequences. Bisulfite-converted genomic DNA derived from microdissected formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissues of 23 cases matched tumors and normal adjacent tissues (10 colonic and 13 lung adenocarcinoms) were amplified by 2 separated primer pairs flanking 2 CpGs, which are located 67-bp apart, then pyro-sequenced in 2 separated reactions. Though, in this study, no significance was found between normal and tumor of lung and colonic adenocarcinoma, we have developed a new pyrosequencing-based method to measure methylation of the 2 CpG dinucleotides in L1s 3'UTR sequences in addition to the two widely used methylation detections at 5'-L1s; combined bisulfite restriction analysis of LINE-1 (COBRA-LINE1) and commercially-available kits.

Keywords: LINE-1, Methylation, 3'UTR, Adenocarcinoma