

## ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การสร้างเซลล์เบสรีพอร์เตอร์ขึ้นสำหรับการวิเคราะห์การ  
แสดงออกของยีนแมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนส-3 ในเซลล์  
ชีวแมนคอนโดซาร์โคมา (SW1353)

## ผู้เขียน

นายกิตติศักดิ์ พุทธรชาติ

## ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

## คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. สิริวดี ชมเดช อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
ผศ. นสพ. ดร. กรกฎ งานวงศ์พานิชย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

## บทคัดย่อ

ยีน matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) ถอดรหัสได้เอนไซม์ MMP-3 ที่มีบทบาทสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของ extracellular matrix (ECM) การแสดงออกของยีน MMP-3 นั้นจะมีผลต่อระบบสรีรวิทยาของเซลล์ในสภาวะปกติและการเกิดพยาธิสภาพของโรคต่างๆ เช่น มะเร็ง โรคหลอดเลือดอุดตัน รวมถึงรูมาตอยด์และข้อเสื่อม ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงพัฒนาวิธีการตรวจสอบการแสดงออกของยีน MMP-3 ในเซลล์ human chondrosarcoma (SW1353) ด้วย reporter gene technology โดยใช้ secreted embryonic alkaline phosphatase (SEAP) เป็น reporter gene เพื่อค้นหาสารเคมีหรือสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการแสดงออกของยีน MMP-3 ส่วนควบคุมการแสดงออกของยีน MMP-3 จะถูกเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR แล้วนำมาเชื่อมต่อกับเวกเตอร์ pSEAP2-control ที่กำจัดส่วนโปรโมเตอร์ SV40 ออกแล้วแทนที่ด้วยส่วนควบคุมการแสดงออก (promoter) ของยีน MMP-3 เพื่อให้การแสดงออกของยีน SEAP อยู่ภายใต้การควบคุมของส่วนควบคุมการแสดงออก (promoter) ของยีน MMP-3 เรียกเวกเตอร์นี้ว่า pMMP3-SEAP จากนั้นทำการส่งถ่ายเวกเตอร์ pMMP3-SEAP เข้าสู่เซลล์ SW1353 แบบชั่วคราว และทดสอบการทำงานของระบบเซลล์รายงานผลด้วยสาร inflammatory agents 2 ชนิด คือ interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) และ lipopolysaccharide (LPS) พบว่า สารทั้งสองนี้สามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีน MMP-3 ได้ด้วยวิธีเซลล์รายงานผลของเวกเตอร์ pMMP3-SEAP และหาความสัมพันธ์ของการตรวจสอบการแสดงออกของยีน MMP-3 ระหว่างวิธี real-time PCR และเซลล์รายงานผลที่ถูกกระตุ้นของสาร

IL-1 $\beta$  พบว่าการตรวจสอบด้วยทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ( $R^2 = 0.723$ ) โดยค่าการ แสดงออกของยีน MMP-3 ด้วยวิธี real-time PCR จะอยู่ในเทอมของ logarithm นอกจากนี้ยัง ทดสอบการยับยั้งการแสดงออกของยีน MMP-3 ที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร IL-1 $\beta$  ด้วยสาร doxycycline และสารสกัดสมุนไพรไทยบางชนิดด้วยวิธีเซลล์รายงานผล พบว่า doxycycline สารสกัดด้วยเอทานอลของลูกใต้ใบ สารสกัดด้วยน้ำของหนุ่ดอกขาว และสารสกัดด้วยเอทานอลของไพลนั้นมี แนวนอนสามารถยับยั้งการแสดงออกของยีน MMP-3 ที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1 $\beta$  ได้ จากผลการทดลอง ทั้งหมดนั้นแสดงให้เห็นเวกเตอร์ pMMP3-SEAP สามารถนำไปเพื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีน MMP-3 ในเซลล์ SW1353 ด้วยวิธีเซลล์รายงานผลได้

**คำสำคัญ;** matrix metalloproteinase-3, reporter gene, interleukin-1 $\beta$ , lipopolysaccharide, doxycycline



(pMMP3-SEAP) provide a new ideal system for screening numerous pharmacological agents on MMP-3 expression at transcription level for high throughput screening.

**keywords;** matrix metalloproteinase-3, reporter gene, interleukin-1 $\beta$ , lipopolysaccharide, doxycycline



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved