

ชื่อเรื่อง การผลิตอินเตอร์ลิวคิน-13 รีคอมบิแนนท์โปรตีนในเซลล์ SK-N-SH  
ผู้วิจัย วิวัฒน์ สนมอ่ำ  
ประธานที่ปรึกษา ดร.ดามรงค์ สว่างกูร  
กรรมการที่ปรึกษา ดร.จรงค์ อรรถรัฐ  
ประเภทสารนิพนธ์ วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาชีวเคมี, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2556  
คำสำคัญ โรคความเสื่อมของระบบประสาทอัลฟาซินนิวคลีอิน อินเตอร์ลิวคิน-13

#### บทคัดย่อ

โรคความเสื่อมของระบบประสาทเป็นโรคที่มีการทำลายเซลล์ประสาทในสมอง โรคสมองเสื่อมที่พบบ่อย ได้แก่ โรคอัลไซเมอร์และพาร์กินสัน ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันและรักษาโรคความเสื่อมของระบบประสาทซึ่งพบว่าสามารถลดพยาธิสภาพที่เกิดจาก amyloid plaques ได้ แต่มักพบภาวะแทรกซ้อนจากขบวนการอักเสบเกิดขึ้นหลังจากการให้วัคซีน ในงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า Interleukin-13 (IL-13) เป็นไซโตไคน์ที่ช่วยลดการอักเสบ ยับยั้งการหลั่ง inflammatory cytokines ในงานวิจัยนี้จึงทำการโคลนยีน IL-13 เข้าสู่เวกเตอร์ pSELECT-blasti-mcs จากนั้นนำเข้าสู่เซลล์ SK-N-SH ศึกษาการแสดงออกของ IL-13 ในระดับ mRNA ด้วยวิธี RT-PCR และระดับโปรตีนด้วยวิธี western blot พบว่าเซลล์ SK-N-SH ที่มี pSELECT-blasti-IL13 มีการแสดงออกของยีนและโปรตีน IL-13 สูงต่างจากกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญ จากการทดสอบความเป็นพิษของ paraquat ต่อเซลล์ SK-N-SH ซึ่งให้เห็นว่า recombinant IL-13 ในเซลล์ SK-N-SH ช่วยลดอัตราการตายของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่า recombinant IL-13 ในเซลล์ SK-N-SH สามารถยับยั้งการแสดงออกของยีน  $\alpha$ -syn ได้เมื่อได้รับสาร paraquat จากการทำ real-time PCR จากงานวิจัยนี้สามารถสร้าง pSELECT-blasti-IL13 และสามารถผลิตโปรตีน IL-13 ในเซลล์ SK-N-SH ได้สำเร็จจากผลการทดลองที่ได้บ่งชี้ว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำ pSELECT-blasti-IL13 ไปพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์เป็น adjuvant vaccine สำหรับผู้ป่วยโรคความเสื่อมของระบบประสาท

Title CLONING AND EXPRESSION OF INTERLEUKIN -13 (IL-13)  
IN SK-N-SH CELLS

Author Wiwat Sanomcham

Advisor Damratsamon Surangkul, Ph.D.

Co - Advisor Jongrak Attarat, Ph.D.

Academic Paper Thesis M.S. in Biochemistry, Naresuan University, 2013

Keywords Neurodegenerative disease,  $\alpha$ -synuclein, Interleukin-13

#### ABSTRACT

Neurodegenerative disease is a progressive loss of neuron, including death of neuron. Alzheimer's diseases and Parkinson's disease are the most common neurodegenerative disease. Currently, many vaccines for the prevention and treatment of neurodegenerative disease were developed and could reduce the pathology of amyloid plaques. However, after vaccination found that the side effects are inflammation in the brain. There are many studies reported about interleukin-13 (IL-13) which is cytokine related to inhibit proinflammatory cytokines. So in this study, I interested to produce the IL-13 plasmid DNA by inserted IL-13 gene into mammalian expression vector (pSELECT-blasti-mcs). The mRNA and protein of IL-13 expression were analysed by RT-PCR and western blot analysis, respectively. The results showed that level of mRNA and protein of recombinant IL-13 in transfected cells were significantly increase than untransfected cells. The neurotoxicity indicated that treatment with paraquat induced cell death via recombinant-IL13 transfected in SK-N-SH protected cell death significant. Real time PCR analysis revealed that the recombinant-IL13 transfected in SK-N-SH repressed of  $\alpha$ -syn expression by paraquat treatment. In conclusion, pSELECT-blasti-IL13 in SK-N-SH cells was successfully constructed and produced recombinant protein IL-13 in SK-N-SH cells. This suggests the potential use of pSELECT-blasti-IL13 in development of an adjuvant vaccine for neurodegenerative disease.