Thesis Title Lipoproteomics of Low Density Lipoprotein Subfractions

Author Miss Keeratiporn Worrasettasing

Degree Master of Science (Medical Technology)

Thesis Advisor Dr. Khanittha Taneyhill

ABSTRACT

Low density lipoprotein (LDL) is the major lipoprotein responsible for the delivery of cholesterol to cells. Two main LDL phenotypes have been identified: pattern A, characterized by the predominance of large, buoyant LDL (bdLDL) and pattern B, characterized by an excess of small, dense LDL (sdLDL). Many studies have shown that the sdLDL phenotype is associated with coronary heart disease (CHD). However, most current methods used for measurement of sdLDL suffer from several limitations. Furthermore, there is limited evidence relating LDL subfractions and their protein composition. The aim of this study was to develop techniques for identification of proteins in sdLDL and bdLDL, to compare protein profile on these fractions using proteomics techniques, and to identify novel proteins in LDL.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Fractions of sdLDL and bdLDL were isolated by density gradient ultracentrifugation. Proteins from each fraction were separated with one and two dimensional gel electrophoresis and subsequently identified by liquid chromatography and electrospray ionization in combination with tandem mass spectrometry (LC/ESI MS/MS). We identified some interesting proteins that showed differential expression between sdLDL and bdLDL. We demonstrated the presence of apo A-I, a newly discovered protein phosphatase 2A (PP2A) and phospholipase A1 (PLA1) in sdLDL. PLA1 is a family of enzymes that hydrolyze phospholipid and triacylglycerol. Previous study suggested that overexpression of PLA1 develops into aggressive atherosclerosis. Furthermore, the suppression of these PLA1 decreases proinflammatory cytokine expression, including IL-1β, IL-6, MCP-1 and TNF-α. This might explain why sdLDL is more atherogenic than bdLDL. On the other hand, we found the presence of apo D and lysozyme in bdLDL. Previous study suggested greater binding of lysozyme to advanced glycation end product-LDL than to unmodified LDL. These protein profiles of LDL subfractions may contribute to our understanding of the molecular mechanisms of atherosclerosis and can be applied to the development of novel techniques for identification of sdLDL and bdLDL.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ไลโปโปรตีโอมิกส์ในหน่วยย่อยของไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ

ผู้เขียน นางสาวกีรติพร วรเศรษฐสิงห์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.ขนิษฐา ทานี่ฮิล

บทคัดย่อ

ไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (LDL) มีหน้าที่ขนส่งคลอเลสเตอรอลไปให้แก่เซลล์ บุคคลที่มีแอลดีแอลขนาดใหญ่และความหนาแน่นน้อย (bdLDL) จำนวนมาก เรียกว่าลักษณะเอ ในขณะที่บุคคลที่มีแอลดีแอลขนาดเล็กและความหนาแน่นมาก (sdLDL) จำนวนมาก เรียกว่า ลักษณะบี ปัจจุบันการตรวจ sdLDL ได้รับความสนใจสูงเนื่องจากคนที่มีลักษณะบีมีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจสูงกว่า แต่การตรวจ sdLDL ยังมีข้อจำกัดหลายอย่าง และยังมีงานวิจัยที่ศึกษาโปรตีนที่พบบนหน่วยย่อยของ LDL อยู่น้อย งานวิจัยนี้จึงต้องการพัฒนาเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาโปรตีนของหน่วยย่อยของ LDL เปรียบเทียบโปรตีนที่ปรากฏในแต่ละหน่วยย่อย และค้นหาโปรตีนตัวใหม่ โดยทำการปั่นแยกหน่วยย่อยอาศัยความแตกต่างของความหนาแน่น ทำการแยกโปรตีนด้วยเทคนิควิ่งวุ้นทั้งหนึ่งและสองมิติ แล้ววิเคราะห์ด้วย LC-ESI MS/MS ผลการศึกษาพบโปรตีน apo A-I, protein phosphatase 2A (PP2A) และ phospholipase A1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(PLA1) ใน sdLDL มาก โดย PLA1 เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยฟอสโฟลิปิดและไตรกลีเซอไรด์ การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการแสดงออกของ PLA1 ที่เพิ่มมากขึ้นจะนำไปสู่ภาวะ aggressive atherosclerosis นอกจากนี้การยับยั้ง PLA1 ยังทำให้การแสดงออกของ proinflammatory cytokines เช่น IL-1β, IL-6, MCP-1 และ TNF-α ลดลง ซึ่งเป็นเหตุผลว่าทำไม sdLDL จึงส่งเสริมให้เกิด atherosclerosis ได้มากกว่า ในขณะที่ผลการทดลองพบ apo D และ lysozyme ใน bdLDL โดย lysozyme สามารถจับกับ advance glycation end product ได้ดี ทำให้ลดการเกิด LDL modification ซึ่งมีผลต่อการจับกันของ LDL และ LDL receptor การศึกษาโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบในหน่วยย่อยของไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำเหล่านี้อาจนำไปสู่การพัฒนาชุดตรวจใหม่ๆ และนำไปสู่ความเข้าใจในกลไกการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็งได้ดียิ่งขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved