

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



E42112



PROTEOMIC IDENTIFICATION IN RENAL CORTEX
AND MEDULLA OF K-DEPLETED
NORTHEASTERN THAIS

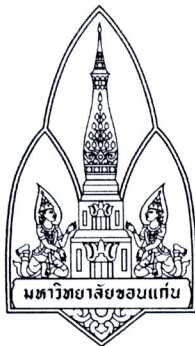
MISS JIRAPORN JUMPAJAN

A THESIS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
KHON KAEN UNIVERSITY

2010

60025 6206

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



**PROTEOMIC IDENTIFICATION IN RENAL CORTEX
AND MEDULLA OF K-DEPLETED
NORTHEASTERN THAIS**



MISS JIRAPORN JUMPAJAN

**A THESIS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
KHON KAEN UNIVERSITY**

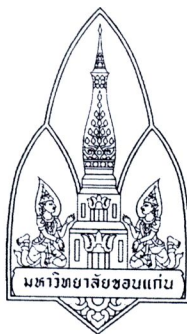
2010

**PROTEOMIC IDENTIFICATION IN RENAL CORTEX
AND MEDULLA OF K-DEPLETED
NORTHEASTERN THAIS**

MISS JIRAPORN JUMPAJAN

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN MEDICAL BIOCHEMISTRY
GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY**

2010



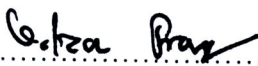
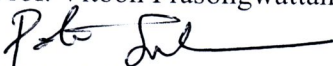

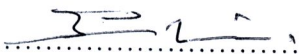


THESIS APPROVAL
KHON KAEN UNIVERSITY
FOR
MASTER OF SCIENCE
IN MEDICAL BIOCHEMISTRY

Thesis Title: Proteomic identification in renal cortex and medulla of K-depleted
Northeastern Thais

Author: Miss Jiraporn Jumpajan

Thesis Examination Committee: Dr. Sittiruk Roytrakul	Chairperson
Assoc. Prof. Sirirat Reungjui	Member
Assoc. Prof. Vitoon Prasongwattana	Member
Prof. Pote Sriboonlue	Member
Assoc. Prof. Dr. Chaisiri Wongkham	Member
Dr. Visith Thongboonkerd	Member

Thesis Advisors:

 (Assoc. Prof. Vitoon Prasongwattana)	Advisor
 (Prof. Pote Sriboonlue)	Co-advisor
 (Assoc. Prof. Dr. Chaisiri Wongkham)	Co-advisor
 (Dr. Visith Thongboonkerd)	Co-advisor
 (Assoc. Prof. Dr. Lampang Manmart) Dean, Graduated School	
 (Prof. Dr. Pisake Lumbiganon) Dean, Faculty of Medicine	

จิราภรณ์ จำปาจันทร์. 2553. การวิเคราะห์โปรตีโอมของไตในคนไทยทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีภาวะพร่องโพแทสเซียม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมีทางการแพทย์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ. วิฑูรย์ ประสงค์วัฒนา,
ศ. พจน์ ศรีบุญลือ,
รศ.ดร.ชัยศิริ วงศ์คำ,
นพ.วิศิษฐ์ ทองบุญเกิด

บทคัดย่อ

E 42112

ภาวะพร่องโพแทสเซียม (K depletion/low K status) เป็นปัญหาสาธารณสุขที่พบได้บ่อยในกลุ่มประชากรทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าภาวะพร่องโพแทสเซียมส่งผลกระทบต่อการทำงานของอวัยวะหลายระบบรวมถึงไตซึ่งเป็นอวัยวะหลักในการควบคุมปริมาณโพแทสเซียมให้อยู่ในสภาวะสมดุล ภาวะพร่องโพแทสเซียมส่งผลให้เกิดพยาธิสภาพต่อโครงสร้างและการทำงานของไตเรียกสภาวะดังกล่าวว่า“hypokalemic nephropathy (HN)”ภาวะ HN มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะต่างเกิน (metabolic alkalosis) การเจริญเติบโตช้า (growth retardation) ความดันโลหิต (hypertension) การขับปัสสาวะมากกว่าปกติ (polyuria) การขยายขนาดของไต (enlarged kidney) การได้รับบาดเจ็บของท่อไต (progressive tubulointerstitial injury) นอกจากนี้ภาวะพร่องโพแทสเซียมน่าจะเป็นปัจจัยแรกที่น่าไปสู่การเกิดโรคนี้ไต (renal stone disease) โรคไตผิดปกติในการขับกรด (renal tubular acidosis) โรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง (hypokalemic periodic paralysis) โรคไหลตาย (sudden unexpected nocturnal death syndrome, SUND) ที่พบในประชากรทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย แต่อย่างไรก็ตามกลไกการเกิดโรคดังกล่าวยังไม่เป็นที่แน่ชัด ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงแบบแผนโปรตีโอมของเนื้อไตทั้งในส่วนคอร์เทกซ์(cortex)และเม็ดดัลลา (medulla) ในกลุ่มผู้ชายไทยทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือทั้งกลุ่มที่มีภาวะพร่องโพแทสเซียม ($K < 80$ ไมโครโมล/กรัม น้ำหนักสด)และไม่มีภาวะพร่องโพแทสเซียม($K \geq 80$ ไมโครโมล/กรัม น้ำหนักสด)(จำนวน 6 รายต่อกลุ่มทั้งหมด 12 ราย)โดยการประยุกต์ใช้เทคนิคโปรตีโอมิกส์ ซึ่งงานวิจัยในครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่มีการนำเอาเทคนิคโปรตีโอมิกส์มาใช้ในการศึกษาแบบแผนโปรตีโอมของไตในคนผลการเปรียบเทียบปริมาณความเข้มของจุดโปรตีนระหว่างกลุ่มที่มีภาวะพร่องโพแทสเซียมกับกลุ่มที่ไม่มีภาวะพร่องโพแทสเซียมในส่วนของคอร์เทกซ์พบการแสดงออกของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไปทั้งหมด 10 จุดเป็นโปรตีนที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นจำนวน 9 จุดและการแสดงออกลดลง 1 จุดซึ่งเมื่อนำโปรตีนทั้ง 10 จุดนี้ไปทำการศึกษานิตของโปรตีนแล้วสามารถจำแนกโปรตีนเหล่านี้เป็น 6 กลุ่มคือโปรตีนที่เป็นเอนไซม์ในกระบวนการเมแทบอลิซึม 2 ชนิด

E₄₂₁₁₂

(ได้แก่ glutathione S-transferase P, acyl-coA thioesterase 9), กลุ่มโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น signaling proteins (ได้แก่ SPARC-like1, protein tyrosine kinase 2-beta isoform 3), กลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ RNA เมแทบอลิซึม (ได้แก่ ATP-dependent RNA helicase DDX60), กลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ (ได้แก่ spindle and kinetochore associated protein-1), กลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซม DNA (ได้แก่ general transcription factor IIIH subunit 1) และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (ได้แก่ immunoglobulin heavy chain variable region, T cell receptor variable chain และในส่วนของเม็ดดิลล่าของไตพบว่ามีการแสดงออกของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไปทั้งหมด 11 จุดเป็นโปรตีนที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นจำนวน 4 จุดและการแสดงออกลดลง 7 จุด เมื่อนำโปรตีนทั้ง 11 จุดนี้ไปทำการศึกษานิตของโปรตีนแล้ว จึงสามารถจำแนกโปรตีนเหล่านี้เป็น 8 กลุ่มคือ กลุ่มโปรตีนที่เป็นเอนไซม์ในกระบวนการเมแทบอลิซึม 3 ชนิด (ได้แก่ catalase, carbonic anhydrase1, enoyl Coenzyme A, hydratase/3 hydroxyacyl Coenzyme A dehydrogenase isoform 1), กลุ่มโปรตีนที่เป็นส่วนโครงสร้างของเซลล์ (ได้แก่ actin-gamma1), กลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่ง (ได้แก่ ADP.ATP translocase), กลุ่มโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น binding protein (ได้แก่ Rab11 family-interacting protein 2), กลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ transcription (ได้แก่ enhancer of polycomb homolog 1 isoforms 2), กลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ signal transduction (ได้แก่ guanine nucleotide exchanger factor GEFT isoforms 3), กลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (ได้แก่ T-cell receptor beta chain, immuno-globulin heavy chain complementarity-determining region 3) และกลุ่มโปรตีนที่ค้นพบใหม่และยังไม่ทราบหน้าที่ (ได้แก่ riken cDNA1700001E04) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนบางชนิดเหล่านี้ (carbonic anhydrase1, acyl-Co A thioesterase 9, ADP.ATP translocase, glutathione S-transferase P, catalase, and SPARC-like1) มีความเกี่ยวข้องกับการทำงานของเซลล์ การสร้างพลังงานและการควบคุมสภาวะกรด-ด่างของไตซึ่งข้อมูลที่ได้รับจากการศึกษาในครั้งนี้ก็นำไปสู่การอธิบายถึงกลไกและพยาธิสภาพของการเกิดโรคที่มีความผิดปกติเกี่ยวกับเมแทบอลิซึมต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะพร่องโพแทสเซียมเรื้อรังรวมถึงการเกิดภาวะHNในกลุ่มประชากรทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย

Jiraporn Jumpajan. 2010. **Proteomic identification in renal cortex and medulla of K-depleted Northeastern Thais**. Master of Science Thesis in Medical Biochemistry, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors: Assoc. Prof. Vitoon Prasong wattana,
Prof. Pote Sriboonlue,
Assoc. Prof. Dr. Chaisiri Wongkham,
Dr. Visith Thongboonkerd

ABSTRACT

E.42112

Low potassium (K) status or K-depletion (KD) is commonly encountered amongst the healthy subjects residing in the northeastern region of Thailand. KD can affect the function and structure of several organ systems especially renal. The clinical syndrome of kidney involvement during prolonged KD is known as “hypokalemic nephropathy (HN)”. HN is related with metabolic alkalosis, growth retardation, hypertension, polyuria, enlarged kidneys, progressive tubulointerstitial injury. Furthermore, KD is related to some metabolic abnormalities that commonly found in the northeastern Thai population such as renal stone disease (RSD), renal tubular acidosis (RTA), hypokalemic periodic paralysis (HPP), sudden unexpected nocturnal death syndrome (SUND). Its pathophysiology, however, remains unclear. In this study, we performed gel-base, differential proteomics analysis of kidneys obtained from 12 males who were apparently healthy but died from an accident. This study is the first time that proteomics has been applied to characterize the altered renal cortex and medulla proteome during K depletion in human. The subjects were divided into two groups; non-K-depleted (NKD, $K \geq 80 \mu\text{mol/g}$ wet weight; $n=6$) and K-depleted (KD, $K < 80 \mu\text{mol/g}$ wet weight; $n=6$). Quantitative intensity analysis of renal cortex revealed changes in the levels of 10 protein spots (nine increased and one decreased spots) in the KD group. Q-TOF MS and MS/MS analyses identified these altered proteins as metabolic enzyme (glutathione S-transferase P, acyl-coA thioesterase 9), signaling proteins (SPARC-like 1, protein tyrosine kinase 2-beta isoform 3), RNA metabolism (ATP-dependent RNA helicase DDX60), cell division (spindle and kinetochore-associated protein 1), DNA repair (general transcription

factor IIH subunit1), and immune responses (immunoglobulin heavy chain variable region, T cell receptor variable chain). In renal medulla, quantitative intensity analysis and statistics revealed significantly differential expression of eleven protein spots including four up-regulated and seven down-regulated spots. Q-TOF MS and MS/MS analyses identified these altered proteins as metabolic enzyme (catalase, carbonic anhydrase1, enoyl Coenzyme A, hydratase/3-hydroxyacyl Coenzyme A dehydrogenase isoform1), cytoskeletal protein (actin-gamma1), transporter proteins (ADP.ATP translocase), small GTP-binding protein (Rab11 family-interacting protein 2), transcription regulation (enhancer of polycomb homolog 1 isoforms 2), rho protein signal transduction (guanine nucleotide exchanger factor GEFT isoforms 3), immune responses (T-cell receptor beta chain, immunoglobulin heavy chain complementarity-determining region 3), and novel protein (riken cDNA 1700001E04). Some of these altered proteins (carbonic anhydrase1, acyl-CoA thioesterase 9, ADP.ATP translocase, glutathione S-transferase P, catalase, and SPARC-like1) have been demonstrated to be involved in the process of cellular function, bioenergetics and acid-base regulation in kidney. Our findings may explain the pathogenic mechanisms of HN commonly found in northeastern Thais.

**Good portion of the present thesis is dedicated to my parents,
relatives and the entire teaching staff and all cadaveric subjects.**

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest and sincere gratitude to my advisor, Assoc. Prof. Vitoon Prasongwattana for his kindness, understanding, encouragement and helpfulness, excellent valuable suggestions, supervision which enable me to carry out my study successfully.

I would like to express my greatest appreciation and admiration to my co-advisors, Prof. Pote Sriboonlue, Assoc. Prof. Dr. Chaisiri Wongkham, Dr. Visith Thongboonkerd for their invaluable suggestions , supervision, encouragement and helpfulness throughout this thesis.

I am grateful to Dr. Sittiruk Roytrakul and Assoc. Prof. Sirirat Ruengjui for serving on the supervisory committee, useful comments, value suggestions and discussions.

I wish to thank Dr. Ratree Tavichakorntrakool for her help, kindness and the time she spared me during the collection of specimens.

Gratitude is also expressed to all my teachers for their instruction, member of the Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, for their warmest welcome, encouragement and different knowledge.

My sincere appreciate is also expressed to all my friends for their helps, encouragement and understanding.

Finally, I wish to express my deepest appreciation and sincere gratitude to my parents and my family for their love, pushing up, cheerfulness, devoting and care for my life. Without their supports, my success would never come true.

Jiraporn Jumpajan

TABLE OF CONTENTS

	Page
ABSTRACT (IN THAI)	i
ABSTRACT (IN ENGLISH)	iii
DEDICATION	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
TABLE OF CONTENTS	vii
LIST OF TABLES	x
LIST OF FIGURES	xi
LIST OF ABBREVIATIONS	xii
CHAPTER I INTRODUCTION	1
1.1 Background and rationale of the study	1
1.2 Research questions	2
1.3 Hypothesis of the study	3
1.4 Objectives of the study	3
1.5 Anticipated outcomes	3
1.6 Scope of the study	3
1.7 Conceptual framework	4
CHAPTER II LITERATURE REVIEWS	5
2.1 K homeostasis and its physiological functions	5
2.1.1 K homeostasis	5
2.1.2 Physiological roles of K	6
2.2 Physiological function of renal cortex and medulla	7
2.3 Renal K transport	8
2.3.1 Renal K excretion	8
2.3.2 Reabsorption of filtered K	9
2.3.3 Secretion of K	10
2.4 Definition of K depletion	10
2.5 Causes of K depletion	10
2.5.1 Non - renal K loss	10

TABLE OF CONTENTS (Cont.)

	Page
2.5.2 Renal K loss	11
2.5.3 Decreased K intake	11
2.6 The clinical manifestation of K depletion and its effects on kidney	11
2.6.1 The clinical manifestation of K depletion	11
2.6.2 The effect of K depletion on kidney	13
2.6.3 The effect of K depletion at cellular level	14
2.6.3.1 Intracellular pH regulation	14
2.6.3.2 Apoptosis and cellular volume	15
2.6.3.3 Free radical formation factor	16
2.6.3.4 Endonuclease activity and endogenous caspase suppression and activation	16
2.6.3.5 Vasomediators activation	17
2.6.4 The pathogenic mechanism of HN	17
2.7 Proteomic identification in HN	18
2.8 K depletion and common metabolic abnormalities	20
CHAPTER III RESEARCH METHODOLOGY	22
3.1 Chemical and reagents	22
3.2 Instruments	25
3.3 Subjects and sample collection	26
3.4 Experimental protocol for proteomic analysis	27
3.4.1 Sample preparation	27
3.4.2 Two dimensional gel electrophoresis	27
3.4.3 Coomassie Brilliant Blue staining	28
3.4.4 Image record and data processing	28
3.4.5 Matching and analysis of protein spots	29
3.4.6 In-gel tryptic protein digestion	29
3.4.7 Protein identification by Q-TOF MS and MS/MS	30
3.5 Statistical analysis	31

TABLE OF CONTENTS (Cont.)

	Page
CHAPTER IV RESULTS	32
4.1 Analysis of proteome profile in renal cortex and medulla related with K status in subjects living in northeastern Thailand	32
4.1.1 Alteredant proteome in KD renal cortex	33
4.1.2 Alteredant proteome in KD renal medulla	37
CHAPTER V DISCUSSION	42
5.1 Analysis of proteome profile in renal cortex and medulla related with K status in subjects living in northeastern Thailand	42
5.2 Technical concerns in proteomic technology and the limitation of proteomic	47
5.3 Schematic propose for the mechanism involving in HN	48
CHAPTER VI CONCLUSION	56
6.1 Analysis of proteome profile in renal cortex and medulla related with K status in subjects living in northeastern Thailand	56
REFERENCES	57
APPENDICES	73
RESEARCH PUBLICATION	80
CURRICULUM VITAE	81

LIST OF TABLES

	Page
Table 1 Physiological roles of K	7
Table 2 Differentially expressed proteins in renal cortex and medulla	8
Table 3 Clinical manifestations of K depletion	12
Table 4 List of the chemicals and reagents used in this study	22
Table 5 List of the instruments used in this study	25
Table 6 Mean of volume intensity of the nine up-regulated and one down regulated protein spots of NKD and KD groups of renal cortex	35
Table 7 Summary of differentially expressed proteins of renal cortex between NKD and KD groups	36
Table 8 Mean of volume intensity of the four up-regulated and seven down regulated protein spots of NKD and KD groups of renal medulla	39
Table 9 Summary of differentially expressed proteins of renal medulla between NKD and KD groups	40
Table 10 % CV of significantly altered protein spots in renal cortex	41
Table 11 % CV of significantly altered protein spots in renal medulla	41
Table 12 Brief descriptions of some proteins which were significantly altered in KD renal cortex	43
Table 13 Brief descriptions of some proteins which were significantly altered in KD renal medulla	45

LIST OF FIGURES

	Page
Figure 1 The hypothesis of mechanism K depletion involving in some metabolic abnormalities and HN	4
Figure 2 K homeostasis depend on the maintenance of external and Internal K balance	6
Figure 3 K transport along nephron and collecting duct	9
Figure 4 Histopathological examinations of kidney tissues of cadaveric donors	14
Figure 5 Hypothetical in pathogenesis of HN	18
Figure 6 Proteome map of differentially expressed proteins among HNK, LNK and KD groups	20
Figure 7 Site of kidney tissues used in this study	26
Figure 8 Proteome map of differentially expressed proteins of renal cortex between NKD and KD groups	34
Figure 9 Proteome map of differentially expressed proteins of renal medulla between NKD and KD groups	38
Figure 10 The “ viscous cycle” model of how and initiation event or condition leading to increased influx of Ca^{2+} may result in renal cell apoptosis and necrosis	50
Figure 11 Cells and mediators involved in Ang II-induced renal fibrosis	51
Figure 12 Schetamic propose for the mechanism of K depletion involving in HN	55

LIST OF ABBREVIATIONS

A	absorbance
ACN	acetonitrile
ATP	adenosine triphosphate
ATL	ascending tin limb
AQP-2	aquaporin-2
Ang II	angotensin II
ANT	adenine nucleotide translocase
ADP	adenosine diphosphate
BSA	bovine serum albumin
bFGF	basic fibroblast growth factor
Ca	calcium
CA I	carbonic anhydrase I
CA II	carbonic anhydrase II
CHAPS	3-[(3-Cholamidopropyl) dimethylamino]-1-propanesulfonate
CID	collision induced dissociation
Cl	chloride
°C	degree celcius
CO	carbon monoxide
CCD	cortical collecting duct
CKD	chronic kidney disease
CV	coefficient of variation
CNT	connecting tubule
2-D	2-dimensional
2-DE	2-dimensional gel electrophoresis
DDW	double –distilled water
DI	deionized water
DNase	deoxyribonuclease
DCT	distal convoluted tubule
dpi	dot per inch

LIST OF ABBREVIATIONS (Cont.)

dRTA	distal renal tubular acidosis
DTT	dithiothreitol
ECF	extracellular fluid
ESADI	estimated safe and adequate daily dietary intake
ESRD	end-stage renal disease
fmole	femtomole (s)
g	gram(s)
×g	gravitational acceleration
GSH	glutathione
GST-class pi	glutathione S-transferase class-pi
G	glomerulus
HN	hypokalemic nephropathy
HPP	hypokalemic periodic paralysis
HNK	high-normal-K
HCO ₃ ⁻	bicarbonate
H ₂ CO ₃	carbonic acid
H ₂ O ₂	hydrogen peroxide
h	hour (s)
H	hydrogen
HCL	hydrochloric acid
IMCD	inner medullary collecting duct
IGF-I	insulin-like growth factor 1
IGFBP-1	insulin-like growth factor binding protein 1
K	potassium
KCl	potassium chloride
kDa	kilodalton
KD group	K depleted group
kVh	kilovolt-hour
LK	low-normal-K

LIST OF ABBREVIATIONS (Cont.)

MALDI-TOF	matrix-assisted laser desorption/ionization time-of -flight
MgCl ₂	magnesium chloride
Mg	magnesium
min	minutes(s)
mL	milliliter (s)
mM	millimolar
MOPS	4-morpholinopropanesulfonic acid
MOWSE	molecular weight search
M _r	molecular mass
MS	mass spectrometry
MS/MS	tandem mass spectrometry
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1
m/z	mass to charge ratio
N	normal
NK	normal-K diet
n	number of case(s)
nmol	nanomole(s)
no.	number
NS	not significant
OD	optical density
OMCD	outer medullary
PLA ₂	phospholipase A ₂
PCT	proximal convolute tubule
PMF	peptide mass fingerprint
pmol	picomole(s)
ppm	part per million
Q-TOF	quadrupole/time of flight
RNA	ribonucleic acid

LIST OF ABBREVIATIONS (Cont.)

RBC	red blood cell
RNase	ribonuclease
rpm	round per minute
ROS	reactive oxygen species
RSD	renal stone disease
SDS	sodium dodecyl sulfate
SDS-PAGE	sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis
SUDS	sudden unexpected death syndrome
SPARC-like1	secreted protein acidic and rich in cysteine-like1
SS	Sjogren's syndrome
SR	sarcoplasmic reticulum
TGF- β	transforming growth factor-beta
TCA	trichloroacetic acid
TAL	thick ascending limb
TEMED	N,N,N,N,-tetramethylethylenedimine
TPP	thyrotoxic periodic paralysis
Tris	tris (hydroxymethyl) aminomethane
TNF- α	tumor necrosis factor-alpha
TCA	trichloroacetic acid
UV	ultraviolet
v	volt (s)
v/v	volume by volume
VEGF	vascular endothelial
W	watt
w/v	weight by volume
μ A	microampere(s)
μ mol	micromole (s)
μ	microgram (s)