รหัสโครงการ: MRG4980055

ชื่อโครงการ: การศึกษาเยื่อหุ้มของไวรัสไข้เลือดออก: การออกแบบและการสร้างเยื่อหุ้มไวรัสจำลองและการวิเคราะห์เยื่อหุ้มจำลองนั้น
(เนื้อหาของงานวิจัยได้ถูกปรับเปลี่ยนไปจากเดิม บทคัดย่อและรายละเอียดที่ตามมาเป็นเนื้อหาที่แก้ไขแล้ว)

ชื่อนักวิจัย: นายพัลลภ กาญจนภาณุรัช
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
อีเมล์: scpkb@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 1 กรกฎาคม 2549 ถึง 30 มิถุนายน 2551 (2 ปี)

เมมเบรนของเซลล์ต่างๆนั้นมีคุณสมบัติของความไม่สมมาตรอันเกิดจากส่วนประกอบที่ต่างกันของชั้นแต่ละชั้นในไบเลเยอร์โดยเลเยอร์ชั้นในส่วนใหญ่ประกอบด้วย phosphatidylserine (PS) และ phosphatidylethanolamine (PE) ส่วนเลเยอร์ชั้นนอกประกอบด้วย phosphatidylcholine (PC) และ sphingomyelin คุณสมบัติความไม่สมมาตรนี้จะเสียไปเมื่อมีการย้ายตำแหน่งของโมเลกุลลิปิดบางชนิด เช่นการเคลื่อนที่ของ PS จากเลเยอร์ชั้นในสู่ชั้นนอก สำหรับกรณีของ PS นี้ ปรากฏการณ์ที่น่าสนใจหนึ่งที่เกิดขึ้นคือการจับเกาะระหว่างโปรตีน annexin V และ PS การวิจัยนี้ทำการศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของความหนาแน่นของ PS ในชั้นไบเลเยอร์ต่อการจับเกาะของ annexin V โดยใช้เมมเบรนจำลองชนิด supported planar lipid bilayer (SLB) ซึ่งมีส่วนประกอบคือ 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, porcine brain L-α-phosphatidylserine, และ cholesterol ข้อมูลจากเทคนิค fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) ได้แสดงค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของ 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl) (DPPE-NBD) ในไบเลเยอร์ มีค่าเท่ากับ $7.2 \pm 1.1 \times 10^{-9}$ cm^2/s และมีค่า mobile fraction เท่ากับ 96% ค่า mobile fraction ที่สูงและสัมประสิทธิ์การแพร่ที่สูงนี้แสดงให้เห็นว่าโมเลกุลลิปิดต่างๆในเมมเบรนจำลองชนิดไบเลเยอร์ที่เตรียมขึ้นนี้มีการเคลื่อนตัวที่เหมาะสม การทดลองต่อไปจะศึกษาถึงการกระจายตัวของ annexin V บนผิวของเมมเบรน ตลอดจนอัตราการเคลื่อนที่โดยใช้เทคนิคทาง optical microscopy และ FRAP ผลการทดลองดังกล่าวอาจนำไปสู่ความเข้าใจใหม่เกี่ยวกับกลไกการจับเกาะระหว่าง annexin V และเมมเบรน หรือแม้กระทั่งปัจจัยสำคัญในกระบวนการ apoptosis อีกด้วย

คำหลัก: lipid bilayer, annexin V, fluorescence recovery after photobleaching, lateral diffusion

Project Code: MRG4980055

Project Title: Study of dengue envelope membrane: experimental modeling of the dengue lipid bilayer and characterizations
(The research direction has been substantially modified from the original proposal. The abstract and details that follow are the modified version.)

Investigator: Pallop Karnchanaphanurach
Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University

Email Address: scpkb@mahidol.ac.th

Project Period: July 1, 2006 to June 30, 2008

The cell membrane is asymmetric: Its inner leaflet consists mostly of phosphatidylserine (PS) and phosphatidylethanolamine (PE) lipids while its outer leaflet mostly consists of phosphatidylcholine (PC) and sphingomyelin. The cell membrane loses its asymmetry when components of its inner leaflet, mainly PS molecules, flip to the outer leaflet. When this occurs, binding of certain membrane proteins such as annexin V, which binds specifically to PS, is enabled. Here, we study the effect of membrane density of PS molecules on annexin V binding using a supported, planar lipid bilayer (SLB) system, made of 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, porcine brain L-α-phosphatidylserine, and cholesterol. Fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) data indicate that the fluorescently labeled phospholipid 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl) (DPPE-NBD) in SLBs on glass cover slips have a diffusion coefficient of $7.2 \pm 1.1 \times 10^{-9}$ cm^2/s and the mobile fraction was 96%. This high mobile fraction suggests that the lipids in the SLB are sufficiently mobile. Further studies involve determination of protein distribution and measurement of the mobility of protein on the bilayer using confocal microscopy and FRAP. The results could provide a better understanding of cellular processes that occur only when the membrane is symmetric and certain proteins have bound to it such as apoptosis.

Keywords: lipid bilayer, annexin V, fluorescence recovery after photobleaching, lateral diffusion