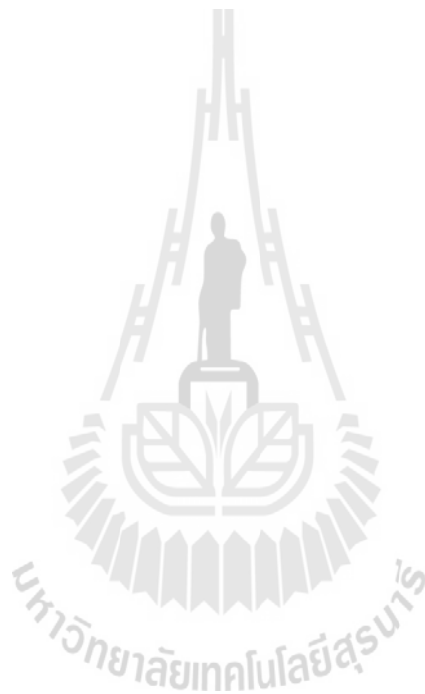


บทคัดย่อ

ช่องพอริน *VhChiP* ที่สกัดจากเยื่อเมมเบรนด้านนอกของแบคทีเรียในทะเล *Vibrio harveyi* มีคุณสมบัติเป็นช่องจำเพาะต่อน้ำตาลโคโตโลลิโกแซคคาริไรด์ โดยมีความสามารถในการนำน้ำตาลโคโตเฮกซะโอสได้ดีที่สุด ในการทดลองนี้ผู้วิจัยได้ใช้เทคนิค BLM และ liposome swelling assay ทำการแสดงผลของการเปลี่ยนกรดอะมิโน Trp136 ที่บริเวณผิวส่วนบนของช่อง *VhChiP* มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมการนำไอออนและการนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ผ่านช่องพอริน การวิเคราะห์ทางจลนพลศาสตร์ของการนำน้ำตาลเข้าช่องพอรินเดี่ยว *VhChiPW136A* และ *VhChiPW136F* พบว่าพอรินกลายพันธุ์มีความสามารถในการนำไอออนและน้ำตาลโคโตเฮกซะโอสลดลงจากช่อง *VhChiP* ดั้งเดิม และพอรินกลายพันธุ์ทั้งสองมีความชอบในการจับกับน้ำตาลน้อยลงอันเนื่องมาจากการมีค่าคงที่การปล่อยของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นมากถึง 20 เท่าของค่าคงที่การปล่อยของพอรินดั้งเดิม



ABSTRACT

VhChiP is a chitooligosaccharide-specific porin isolated from the outer membrane of the marine bacterium *Vibrio harveyi*. *VhChiP* is responsible for the uptake of chitin oligosaccharides, with particular selectivity for chitohexaose. In this study, we employed BLM and liposome swelling assays to demonstrate that Trp136, located at the mouth of the *VhChiP* pore, plays an important role in controlling the ion conductivity, and sugar permeability of the *VhChiP* channel. Kinetic analysis of sugar translocation obtained from single channel recordings indicated that the Trp136 mutations W136A, and W136F considerably reduced the binding affinity of the protein channel towards its best substrate, chitohexaose. Data obtained from liposome swelling assays confirmed that *VhChiPW136A* and *VhChiPW136F* mutants showed decreased the rate of chitohexaose permeation through *the VhChiP* channel. Notably, both Trp136 mutants showed significant increases in the off-rate for chitohexaose, of up to 20-fold that of the native channel.

