วัชราภรณ์ มูลทรัพย์ : การขนส่งน้ำตาลผ่านช่องโปรตีนแฝงใน *E. coli* : พลวัตของโมเลกุลเดี่ยว (SUGAR TRANSLOCATION BY AN UNEXPRESSED PROTEIN CHANNEL IN *E. COLI* : SINGLE MOLECULE DYNAMICS)
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไมเคิล เอฟ สมิธ, 92 หน้า

ช่องโปรตีน/ ความน่าจะเป็นของการส่งผ่าน/ ไคโตพอริน/การวิเคราะห์ช่องโปรตีนเดี่ยว

ช่องโปรตีนที่ฝังอยู่ที่เยื่อหุ้มชั้นนอกของเซลล์แบคทีเรียมีหน้าที่ในการขนส่งสาร เช่น น้ำตาล ระหว่างภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ ถ้าหากบริเวณโดยรอบไม่มีน้ำตาลกลูโคส แบคทีเรีย *E. coli* จะใช้น้ำตาลทางเลือกแทน ซึ่งยีนแฝงที่เกี่ยวข้องกับพัฒนาการของช่องโปรตีนที่มีความจำเพาะต่อน้ำตาลไคติน (น้ำตาลทางเลือกของกลูโคส) ที่เรียกว่า ช่องพอริน *Ec*ChiP จะแสดงออกในสถานการณ์นี้ ในวิทยานิพนธ์นี้ได้ทำการศึกษาช่องโปรตีนดังกล่าวซึ่งเป็นช่องโปรตีนที่พบได้น้อยมากในธรรมชาติ ซึ่งได้ทำการศึกษาเฉพาะการขนส่งของน้ำตาลผ่านช่องโปรตีนใช้เทคนิค Single channel current measurement เท่านั้น สำหรับเทคนิคนี้กระแสไอออนขนาดเล็กที่ไหลผ่านช่องโปรตีนจะถูกตรวจวัดอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสัญญาณของกระแสไอออนจะมีการเปลี่ยนแปลงแบบฉับพลันทุกครั้งที่ช่องโปรตีนมีการเข้าออกของน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ โดยที่โมเลกุลน้ำตาลที่ถูกกักในช่องโปรตีนจะขัดขวางการเคลื่อนที่ของไอออนไม่ให้ผ่านช่องและเมื่อน้ำตาลออกจากช่องโปรตีนไอออนก็จะสามารถเคลื่อนที่ผ่านช่องไปได้ ทำให้สามารถศึกษาพลวัตของโมเลกุลเดี่ยวในขณะที่น้ำตาลถูกกักในช่องโปรตีนและน้ำตาลหลุดออกจากช่องโปรตีนได้ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยชิ้นนี้คือเพื่อพัฒนาวิธีการศึกษาช่องโปรตีนด้วยเทคนิค Single channel current measurement ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้นโดยมีค่าความน่าจะเป็นที่ช่องโปรตีนขนส่งน้ำตาลไปยังฝั่งตรงข้ามได้สำเร็จรวมอยู่ด้วย ศึกษาสมบัติเฉพาะของช่องพอริน *Ec*ChiP จากข้อมูลของสัญญาณกระแสไอออนผ่านช่องโปรตีนเดี่ยวและพัฒนาโมเดลอย่างง่ายเพื่อที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับระบบที่คล้ายคลึงกันได้ ในงานวิจัยชิ้นนี้ได้วิเคราะห์ข้อมูลของสัญญาณกระแสไอออนผ่านช่องโปรตีนเดี่ยว ผลปรากฏว่าอัตราการดักจับโมเลกุลของน้ำตาลไม่ขึ้นกับเวลา อัตราดังกล่าวนี้เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงจากช่องโปรตีนว่างไปสู่สถานะที่มีน้ำตาลอยู่ในช่องโปรตีน และอัตราการหลุดออกของโมเลกุลน้ำตาลซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงจากช่องโปรตีนที่มีการดักจับน้ำตาลไปสู่สถานะที่ช่องโปรตีนว่างมีการเปลี่ยนแปลงตามเวลาซึ่งแสดงให้เห็นว่าการดักจับโมเลกุลน้ำตาลของช่องโปรตีนมีหลายรูปแบบ ในการศึกษาครั้งนี้ได้อธิบายพฤติกรรมของการดักจับโมเลกุลภายในช่องโปรตีนโดยการพัฒนาโมเดลอย่างง่ายโดยให้โมเลกุลน้ำตาลมีการเคลื่อนที่แบบสุ่มภายในช่องโปรตีนในรูปแบบใดรูปแบบหนึ่ง ใช้การศึกษานี้เสนอวิธีการประมาณหาค่าความน่าจะเป็นของเหตุการณ์ที่

ช่องโปรตีนดักจับน้ำตาลจะเป็นเหตุการณ์ที่ช่องโปรตีนสามารถขนส่งน้ำตาลไปยังฝั่งตรงข้ามได้ ความน่าจะเป็นนี้ไม่สามารถวัดค่าได้โดยตรง แต่ก็เป็นคุณสมบัติสำคัญของช่องโปรตีนที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ได้วิเคราะห์ผลการทดลองที่ใช้ไคโตซานแบบมีประจุซึ่งโมเลกุลมีความคล้ายคลึงกับน้ำตาลไคตินแต่ตอบสนองต่อความต่างศักย์ไฟฟ้าภายนอกเพิ่มเติมเพื่อสนับสนุนคำอธิบายและวิธีการประมาณค่าความน่าจะเป็นที่ได้เสนอนี้ แบบจำลองการเคลื่อนที่แบบสุ่มอย่างง่ายสามารถอธิบายผลการทดลองและทำให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับกระบวนการที่น้ำตาลผ่านช่องโปรตีน ซึ่งวิธีศึกษาและวิธีการประมาณหาค่าความน่าจะเป็นของการขนส่งน้ำตาลผ่านช่องโปรตีนที่ได้เสนอขึ้นนี้ควรจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการศึกษาการขนส่งน้ำตาลผ่านช่องโปรตีนอื่น ๆ ได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาฟิสิกส์ ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2561 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

WATCHARAPORN MOONSAP : SUGAR TRANSLOCATION BY AN UNEXPRESSED PROTEIN CHANNEL IN *E. COLI* : SINGLE MOLECULE DYNAMICS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. MICHAEL F. SMITH, Ph.D. 92 PP.

PROTEIN CHANNEL/TRANSLOCATION PROBABILITY /CHITOPORIN/SINGLE CHANNEL CURRENT MEASUREMENT

The protein channels buried in outer membrane of bacteria are employed to translocate a substrate, like sugar, between the inside and outside of the cell. If the environment lacks glucose then *E. coli* bacteria must exploit an alternative sugar. A silent gene, relevant to the development of a channel that is specific to chitosugars (an alternative to glucose), called *Ec*ChiP is expressed in this situation. We are studying this particular protein channel, rarely found in nature. Particularly, we study sugar permeation through the protein channel using the single channel current measurement. With this technique, a small-ion current through the channel is monitored and abrupt changes in current are seen every time a large sugar molecule enters the channel, blocking the ions, or exits it. The dynamics of single sugar molecules, as they are trapped and escape from the channel, are thus seen. The purposes of this study are , with the sugar translocation probability, to develop a method for using single channel current measurements to study the protein channel more completely, to characterize the properties of *Ec*ChiP by using the channel current data and to develop simple models for sugar translocation in this and similar system. The data reveal that the trapping rate is independent of time. The de-trapping rate is time dependent, revealing that there are multiple different configurations for a trapped molecule. We explain the behavior by

developing a simple model in which molecules are trapped in one of multiple states in the channel through which they perform random walks. We use this to propose a method for estimating the probability that a sugar molecule translocates through the channel, as opposed to escaping backwards to the side from which it came. This probability cannot be measured directly, but is a key property for an effective channel. We use results on charged chitosan molecules, similar to chitosugars but responsive to an applied voltage, to give further support for this picture. The simple random walk model accounts for the data and provides insight into the process by which sugar passes through these protein channels. The general method should be applicable to other similar systems.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Physics Student's Signature _____

Academic Year 2018 Advisor's Signature _____