



รายงานการวิจัย

เรื่อง

จำนวนและตำแหน่งพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีน gp64

จากอนุภาคไวรัสก่อโรคหัวเหลืองในกุ้ง

Disulfide Bonds Arrangement in gp64 Structural Protein

Isolated from Shrimp Yellow Head Virus

อภิชัย บัวชูก้าน

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนวิจัยวิทยาเขตปัตตานี

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

ประจำปีงบประมาณ 2551

ชื่อโครงการวิจัย : จำนวนและตำแหน่งพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีน gp64 จากอนุภาคไวรัสก่อโรคหัดเหลืองในกุ่ม

ชื่อนักวิจัย : อภิชัย บัวชูก้าน

หน่วยงานต้นสังกัด : แผนกวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

โทรศัพท์ : 073-313928 ต่อ 1873

E-mail : apichai.b@psu.ac.th

บทคัดย่อ

โปรตีน gp64 เป็นหนึ่งในโปรตีนโครงสร้างที่เปลือกหุ้มของไวรัสก่อโรคหัดเหลืองในกุ่ม (YHV) มีจำนวนกรดอะมิโน cysteine ที่มีศักยภาพต่อการก่อพันธะไดซัลไฟด์ได้ 24 ตำแหน่ง การวิจัยนี้เน้นศึกษาเพื่อพิสูจน์และระบุตำแหน่งการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ภายในโมเลกุลของโปรตีน gp64 จากอนุภาคไวรัส YHV โดยการย่อยโปรตีนในเจลพอลิอะคริลลาไมด์ด้วยเอนไซม์ทริปซิน ไคโมทริปซิน และเอนไซม์ทั้งสองผสมกัน วิเคราะห์การก่อพันธะไดซัลไฟด์ด้วย nanoLC-MS/MS ร่วมกับซอฟต์แวร์ xQuest, Mascot, MS-Bridge, MassMatrix, MS2DB+ และ Peptidemap ตามลำดับ พบการก่อพันธะไดซัลไฟด์จำนวน 6 พันธะ โดยมี 5 พันธะ ที่บริเวณด้าน N-terminal ของโปรตีน คือ Cys₂₆-Cys₃₁, Cys₇₆-Cys₁₈₀, Cys₉₆-Cys₁₀₂, Cys₁₃₅-Cys₁₄₁, Cys₁₉₀-Cys₁₉₇ และ 1 พันธะที่ด้าน C-terminal คือ Cys₅₂₀-Cys₅₂₉ ตามลำดับ ตำแหน่งการก่อพันธะไดซัลไฟด์นี้อาจใช้เป็นข้อมูลสำหรับอธิบายการจัดเรียงโมเลกุล gp64 ที่เปลือกหุ้มอนุภาค และอาจสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการออกแบบอุปกรณ์นำส่งระดับนาโนแบบที่มีโครงสร้างคล้ายอนุภาคไวรัสก่อโรคหัดเหลืองได้

คำสำคัญ : กุ่ม, พันธะไดซัลไฟด์, แมสสเปกโตรเมตรี, ไวรัสก่อโรคหัดเหลือง

Research Title : Disulfide Bonds Arrangement in gp64 Structural Protein Isolated from Shrimp Yellow Head Virus

Author : Apichai Bourchokarn

Address : Section of Agricultural Technology. Department of Technology and Industries, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani Campus

Telephone : 073-313928 Ext. 1873

E-mail : apichai.b@psu.ac.th

Abstract

Protein gp64 is one of major structural protein of the yellow head virus (YHV) envelope. This protein has 24 cysteine residues that can potentially form disulfide bonds. This study aimed to identify and localize intramolecular disulfide bonds of gp64 isolated from YHV. *In gel* digestions were performed using trypsin, chymotrypsin and mixed between both. Digested peptides were extracted and analyzed with nanoLC-MS/MS in combination with data searching using xQuest, Mascot, MS-Bridge, MassMatrix, MS2DB+ and Peptidemap, respectively. The analysis results revealed five disulfide bonds at the N-terminal (Cys₂₆-Cys₃₁, Cys₇₆-Cys₁₈₀, Cys₉₆-Cys₁₀₂, Cys₁₃₅-Cys₁₄₁, Cys₁₉₀-Cys₁₉₇) and one bond at the C-terminal (Cys₅₂₀-Cys₅₂₉) end of the protein. The position of disulfide bonds identified in this study can be used for insight in molecular folding and arrangement of gp64 in the envelope of YHV. It may also employ as a basis for the development of YHV-based nanodelivery-scaffold.

Keywords : disulfide bond, mass spectrometry, shrimp, yellow head virus