ผศ. ดร.กัลยา ประไพนพ (KP)

Office: Pr.314
Lab: Pr.315
Phone: 02-201-5604
E-mail: kanlaya.pra@mahidol.edu

การเตรียมอนุภาคนาโนจากโพลีเมอร์ที่ย่อยสลายได้เพื่อใช้เป็นตัวขนส่งยา

จำนวนนักศึกษา 2 คน

ปัจจุบันอนุภาคนาโนที่ทำจากวัสดุที่สามารถย่อยสลายได้เริ่มเข้ามามีบทบาทและถูกนำมาประยุกต์ใช้ในงานทางด้านการแพทย์มากขึ้นเพื่อใช้ในการพัฒนาทำเป็นตัวขนส่งยาเพื่อรักษาโรคต่างๆ ในงานวิจัยนี้จะเน้นอนุภาคนาโนที่ทำจากโพลีเมอร์ที่มีความปลอดภัยต่อการใช้งานทางอาหารและทางการแพทย์ ในการนำอนุภาคนาโนมาใช้นั้นขั้นตอนการเตรียมอนุภาคให้มีขนาดที่ต้องการมีความสำคัญมาก เพราะขนาดของอนุภาคที่ต่างกันอาจนำไปสู่คุณสมบัติของอนุภาคนาโนและการตอบสนองของเซลล์ต่ออนุภาคนาโนที่แตกต่างกันได้ ในงานวิจัยนี้นักศึกษาจะได้เรียนรู้วิธีการเตรียมอนุภาคนาโนจากวัสดุโพลีเมอร์ที่ย่อยสลายได้ที่มีขนาดต่างๆกัน ทดสอบคุณสมบัติความคงทนของอนุภาค ทดลองสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บอนุภาคนาโนให้มีความคงทนมากยิ่งขึ้นเพื่อนำอนุภาคนาโนไปประยุกต์ใช้ในการเป็นวัสดุขนส่งยา หรือสารชีวโมเลกุลสำหรับประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป

เทคนิคที่นักศึกษาจะได้เรียนรู้ : เทคนิคทางเคมีอย่างง่ายเพื่อใช้ในการเตรียมและการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคนาโน เทคนิคการถ่ายภาพอนุภาคขนาดนาโน

รศ. ดร. จิรันดร ยูวะนิยม (JY)

Office: Pr. 304/PR.302

E-mail: jirundon.yuv@mahidol.ac.th

Lab: Pr. 317

Phone: 02-201-5601/02-201-5592/099-797-4599

Project: Characterization of penicillin-G acylase mutants aiming for improved stability

จำนวนนักศึกษา 1 **คน**

โปรตีนเป็นสารชีวโมเลกุลกลุ่มหลักที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมกิจกรรมต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิต ด้วยความหลากหลายของลำดับกรดอะมิโนในโปรตีนแต่ละชนิด ทำให้โปรตีนต่าง ๆ มีสมบัติทางกายภาพ การม้วนพับตัวและการรวมตัวเป็นโครงสร้างสามมิติที่แตกต่างกัน อันส่งผลต่อหน้าที่จำเพาะต่าง ๆ นานา โปรตีนกลุ่มหนึ่งซึ่งจัดว่าเป็นเอ็นไซม์ ทำหน้าที่ควบคุมการดำเนินไปของปฏิกิริยาชีวเคมีต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิต อย่างจำเพาะต่อสารตั้งต้นหรือผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยานั้น ๆ อันเป็นผลมาจากการม้วนตัวเป็นโครงสร้างสามมิติของมัน ที่ทำให้มีการจัดตำแหน่งของหมู่เคมีต่าง ๆ ที่เป็นแขนงข้างของกรดอะมิโนที่สำคัญ ให้มาเรียงตัวอยู่ใกล้กันในมุมและระยะที่เหมาะสมต่อการมีปฏิสัมพันธ์กับสารตั้งต้นของปฏิกิริยาดังกล่าวในบริเวณเร่ง (active site) เพื่อที่หมู่เคมีที่สำคัญในบริเวณเร่งนั้น สามารถเข้าทำปฏิกิริยาหรือเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยา เพื่อเปลี่ยนสารตั้งต้นดังกล่าวไปเป็นผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในห้องปฏิบัติการวิจัยนี้ เราต้องการจะสร้างเอ็นไซม์ดัดแปลงโดยกระบวนการทางวิศวกรรมโปรตีน (protein engineering) เพื่อเปลี่ยนสมบัติบางประการของเอ็นไซม์ที่สนใจ เช่น ในโครงการนี้ เราต้องการจะเพิ่มเสถียรภาพทางอุณหภูมิของเอ็นไซม์เพนนิซิลินจีเอซิเลส เพื่อให้สามารถรักษาโครงสร้างสามมิติและการทำงานในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างไปจากในเซลล์สิ่งมีชีวิต อันนำไปสู่การประยุกต์ในงานเชิงอุตสาหกรรมผลิตยาปฏิชีวนะต่อไป โดยการเพิ่มพันธะไดซัลไฟด์เข้าไปในตำแหน่งที่เหมาะสม และทำการตรวจสอบด้วยการวัดเสถียรภาพของโครงสร้างสามมิติในขณะที่ค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิขึ้นไป เพื่อหาจุดที่เอนไซม์ดัดแปลงเริ่มจะเสียโครงสร้างสามมิติ นั่นคือเสียสภาพธรรมชาติและความสามารถในการควบคุมปฏิกิริยาของเอนไซม์ดังกล่าว นอกจากนี้ เพื่อตรวจสอบการออกแบบดัดแปลงเอนไซม์ดังกล่าว เราจำเป็นจะต้องทราบโครงสร้างสามมิติของเอ็นไซม์ดัดแปลงเพนนิซิลินจีเอซิเลส เพื่อจะได้ทำการออกเปรียบเทียบกับโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ปกติก่อนการดัดแปลง และเรียนรู้เกี่ยวกับการออกแบบวิศวกรรมโปรตีนในคอมพิวเตอร์ เพื่อดัดแปลงเอ็นไซม์ในลำดับต่อไปได้อย่างถูกต้อง จึงต้องทำการศึกษาการตกผลึกโปรตีนและหาโครงสร้างสามมิติโดยใช้เทคนิคทาง X-ray crystallography อีกด้วย

References:

1. Done, S.H., et al., Ligand-induced conformational change in penicillin acylase. J Mol Biol, 1998. 284(2): p. 463–75.
2. Panbangred, W., et al., High expression of the penicillin G acylase gene (pac) from Bacillus megaterium UN1 in its own pac minus mutant. J Appl Microbiol. 2000. 89(1): 152–7.
3. Rojviriya, C., et al., Improved X-ray diffraction from Bacillus megaterium penicillin G acylase crystal through long cryo-soaking. Acta Crystallogr 2011. F67(12): p. 1570–1574.

รศ. ดร. เทวัญ จันทรวิไลศรี

Office: R304
Lab: R303
Phone: 02-201-5375
E-mail : tavan.jan@mahidol.ac.th

Project 1: Alternative therapeutic approaches for multidrug resistant *Clostridium difficile*

จำนวนนักศึกษา 1 คน

Clostridium difficile infection (CDI) is among the leading causes of infectious diarrhea among patients in hospitals. Treatment with antibiotics, especially those with a broad spectrum of activities, disrupt normal intestinal flora and create conditions that favor acquisition and proliferation of C. difficile. Therefore, antibiotic use is the primary risk factor for the development of CDI among hospitalized patients. Although, metronidazole and vancomycin are the first and second line of CDI treatment, the numbers of CDI cases are elevating worldwide with an emergence of hypervirulent strains, which are characteristically resistant to multiple types of antibiotics. Multidrug resistance in C. difficile continues to plague antimicrobial chemotherapy of CDI, posing a major cause of concerns within healthcare and hospital environments. The clinical impact of resistance is immense, characterized by increased cost, length of hospital stays, and mortality. Hence, there is an urgent need for alternative therapeutic approaches for multidrug resistant *C. difficile*. This research project will emphasize on various strategies for combating the multidrug resistance in *C. difficile* including novel antimicrobials from different sources such as semi-synthetics, oligopeptides, and reversing the multidrug resistance.

Techniques from this project: Molecular techniques, Aseptic technique, Techniques in microbiology, protein biochemistry

Project 2: Tackling nasopharyngeal cancer cells through semi-synthetic approach

จำนวนนักศึกษา 1 คน

Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is a squamous epithelial cancer covering the surface of nasopharynx. Most of NPC patients tend to present at a more advanced stage of disease because the primary anatomical site of tumor growth is located in the silent painless area. Moreover, NPC in advanced stages exhibit higher metastatic potential than other head and neck squamous cell carcinoma. NPC has a poor prognosis with a high mortality rate as a consequence of a lack of tools for early diagnosis, a poor understanding of the molecular biology of the nasopharyngeal epithelium transformation, and a consequent lack of effective drug therapies. Radiotherapy represents the standard treatment for NPC; however, it is feasible only at an early stage of progression and has a high rate of recurrence. Chemotherapy and radiation therapies

have been used in an attempt to control this cancer and improve the survival of patients with advanced NPC. However, these therapeutic strategies are not effective in prolonging long-term survival due to a subset of cells called cancer-initiating cells that appear resistant to conventional treatments such as chemotherapy and radiation. We therefore believe that it will be much more important to study this resilient subpopulation specifically to understand the biology and potential therapeutic strategies for this disease in Thailand. Our research aims to identify agents from semi-synthetic libraries that specifically target cancer- initiating cells. The premise is that combining such agents in a one-two punch with standard treatments might obliterate tumors more effectively and produce long- lasting results for patients.

Techniques from this project: Molecular techniques, Aseptic technique, Cell culture techniques

รศ. ดร. ฤทัยวรรณ โต๊ะทอง

Office: Pr.318
Lab: Pr.313
Phone: 02-201-5606
E-mail: rutaiwan.toh@mahidol.ac.th, rutaiwan@gmail.com

การศึกษาฤทธิ์การสมานแผลของสารสกัดจากรกหมู

จำนวนนักศึกษา 1 คน

Chronic wound represents a universal problem and a great challenge. The wound dressing industries has significant economic potential, reaching a value of over 50 billion US dollars annually. Unfortunately, Thailand imports most, if not all, medical/pharmaceutical products, including the wound-dressing products, causing a high economic toll. In collaboration with Betagro, a leading agro-industrial company in Thailand, we aim to explore the potential of pig placenta, a by-product from their pig farms, as a cheap and powerful starting materials for the domestic wound-dressing industry. Placenta is an organ developed during pregnancy, functioning to transfer oxygen and nutrient to support fetus growth and development. Rich in growth factors, hormones and biologically active ingredients, placenta has been used to promote wound-healing since ancient times, and has been used extensively in pharmaceutical and cosmetic industries. Wound healing or wound repair is a complex process involving blood clot, platelet aggregation, migration of white blood cell to the wound area to destroy bacteria and damaged cells or tissues, recruitment and activation of fibroblast to secrete MMPs to degrade damaged extracellular matrix and to produce new ECM component), and induction of keratinocyte proliferation and migration to close the wound.

In this project, the student will test the activities of porcine placenta extract on the wound healing activities of fibroblast and/or keratinocyte cell lines. The student will learn animal cell culture technique, survival, proliferation, migration assays, and assays to determine MMP secretion and extracellular matrix protein production. The molecular signaling pathways mediated by the porcine placenta will also be investigated by qRT-PR, western blot and immunofluorescence microscopy.

References:

1. Shaw TJ & Martin P. Wound repair at a glance. J Cell Sci. 2009;122:3209-13

2. Hong JW, Lee WJ, Hahn SB, Kim BJ, Lew DH. The effect of human placenta extract in a wound healing model. Ann Plast Surg 2010;65(1):96-100

3. Choi JS, Kim JD, Yoon HS, Cho YW. Full-thickness skin wound healing using human placenta-derived extracellular matrix containing bioactive molecules. Tissue Eng Part A. 2013;19(3-4):329-39.

Dr Sittinan Chanarat

Office B304

Laboratory K418/Pr305

Tel: 02-201-5450

Email: sittinan.cha@mahidol.edu

Project title: Characterization of evolutionarily conserved splicing regulator Hub1 in rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* & Biological control of rice blast fungus Magnaporthe oryzae by organic intermediates from anaerobic fermentation

Number of student 1-2

Blast fungus Magnaporthe oryzae (Mo) causes one of the most devastating rice diseases worldwide. It affects from 10 to 30% crop yield loss per year, which is enough to feed more than 60 million people. The strategic control of the disease is therefore urgently required.

In our lab, we are interested in a mechanistic regulation of alternative splicing by a family of ubiquitin-like proteins. We showed that homologous to ubiquitin 1 (Hub1) is needed for splicing of certain introns and necessary for stress tolerance in budding yeast. Intriguingly, its homolog in the blast fungus MoHub1 inherits unconventional characteristics, thereby potentially resulting in unusual splicing control. Along the first project "Characterization of evolutionarily conserved splicing regulator Hub1 in rice blast fungus Magnaporthe oryzae", student will be characterizing properties and functions of MoHub1 by using multiple principles and techniques in biochemistry, molecular biology and fungal genetics. By doing so, we aim to gain more insights into distinct features of the organism, which is advantageous for antifungal drug design.

The second project "Biological control of rice blast fungus Magnaporthe oryzae by organic intermediates from anaerobic fermentation", in a collaboration with Dr. Natthiporn Aramrueang at the Department of Biotechnology, is involved in a biological control of the fungus by using by-products from anaerobic fermentation. We have found that intermediates in anaerobic digestion of organic waste could control fungal growth and infection of plants. Student will be analyzing effects of those intermediates on the fungus using techniques in biochemistry, biotechnology and microbiology.

ผศ. ดร. อรชุมา อิฐสถิตไพศาล (OI)

Office: K.440
Lab: K.349 (Centex Shrimp)
Phone: 099-5536995
E-mail: Ornchuma.its@mahidol.ac.th

Characterization of putative nucleotide transporters from enterocytozoon hepatopenaei

จำนวนนักศึกษา 1 คน

Thailand is one of the largest seafood exporters in the world, especially for shrimp products. However, the amount of Thailand shrimp export dramatically decreased in 2018 due to diseases. These diseases have led to high mortality of shrimp and remarkable economic losses not only in Thailand but also in other shrimp-producing countries around SE Asia. Many parasites have been reported as causative agents of shrimp diseases with the most economically-debilitating pathogen being *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) which causes hepatopancreatic microsporidiosis (HPM). EHP was first described in 2004 as an unknown microsporidian, that was associated with monodon slow growth syndrome (MSGS) in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. When EHP was later characterized in 2009, it was found to broaden its host range to the Pacific white shrimp *P. Vannamei* in which it is linked to retardation of shrimp growth and variation of shrimp sizes. Genomes of microsporidia, including EHP, are markedly reduced and only encodes a paucity of enzymes involved in ATP synthesis. To gain energy, microsporidia relies on nucleotide transporters (NTT) to hijack ATP from host cells. In this study, the expression pattern, subcellular localization and nucleotide-transporting activities of 4 putative NTT genes of EHP (*Eh*NTTs) will be characterized. The in depth information about functions and roles of this group of putative virulent factor will provide a chance to understand how EHP causes disease in shrimp which lead to invention of alternative therapeutic treatments for this major pathogen of HPM in economically important shrimp of Thailand and other countries around the world.

Assoc. Prof. Laran Jensen

Office B322
Laboratory B309
Phone : 02-201-5460
Email: laran.jensen@mahidol.ac.th

Sensitization to organophosphate insecticides from altered mitochondrial autophagy

จำนวนนักศึกษา 1 คน

Organophosphate (OP) insecticides insecticides have been widely used in the control of pests and insect-borne diseases, with malathion and chlorpyrifos among the most commonly used of this class. Resistance to OP insecticides is a growing problem, limiting the effectiveness of these compounds. Decreased efficacy of OP insecticides can result in crop loss, spreading of insect-borne diseases as well as environmental contamination due to increased insecticide use. However, the limited genetic tools available for insect systems prevents comprehensive screening for mutations or deletions of genes that promote insecticide sensitivity directly. Simple model systems such as the baker's yeast Saccharomyces cerevisiae can be utilized to aid in the identification of pathways that lead to insecticide sensitivity. Screening a subset of the yeast gene deletion array revealed sensitization to OPs yeast lacking genes involved in mitochondrial autophagy (mitophagy), the process through which damaged mitochondrial are degraded. Accumulation of damaged mitochondria is known to be detrimental to cell survival. For this project changes in both mitophagy and mitochondrial function will be analyzed using techniques including fluorescent based sensors, protein cleavage assays, and activity measurements of of enzymes sensors. Understanding the molecular mechanisms leading to OP insecticide sensitivity is a first step in the identifying targets for the development of new insecticide synergist compounds. In addition, information obtained from this analysis may aid in the understanding of OP insecticide toxicity in humans from chronic exposure to these chemicals.

References:

Kazemi, M. et al. (2012) Organophosphate pesticides: A general review. Agri Sci Res J 2, 512- 522

Lukaszewicz-Hussain, A. (2010) Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity. Pesticide Biochem Physiol 98, 145-150

Dr Mikhail Khovchtchev

Office: K621
Lab: K621
Phone: 02-201-5459
E-mail: Mikhail.khv@mahidol.edu

Project title: Role of copines in SNARE- and calcium-dependent regulation of membrane fusion

Number of student 1-2

We found that neuronal copine 6 binds SNARE protein VAMP2 in the presence of calcium and this interaction is required for regulation of spontaneous neurotransmission in hippocampal neurons (1). Copine 6 belongs to an evolutionarily conserved family of proteins (copines) found in many single cell and multicellular organisms from protists to humans that bind negatively charged phospholipids and other proteins in a calcium regulated manner [2,3]. All copines share a highly conserved and unique architecture containing a pair of tandem C2 domains (C2A and C2B) in the N-terminus and a domain related to A domain in certain integrins and a von Willebrand factor (vWA) domain [4].

Our goal is to uncover molecular mechanism of SNARE mediated copine 6 function using combination of in vitro biochemistry and in vivo functional analysis in mammalian cells. The long-term goal of these studies is to decipher the unified mechanism of copine function in the nervous system and to build a foundation for their clinical application as novel drug targets. Copines are involved in multiple important biological processes across the species and are emerging drug targets in several widespread human diseases from cancers to neurodegeneration (5). The specific aims of our study are: (A) to identify mechanism of calcium dependent interaction of neuronal copines with VAMP2 and other essential SNARE proteins; (B) to characterize calcium dependent phospholipid binding of neuronal copines and their effect on kinetics of neuronal SNARE complex assembly; and (C) to utilize human embryonal carcinoma stem cell line NTERA-2 and primary hippocampal neurons from rodents to interrogate functions of copine 6 in development, synaptic plasticity and synaptic neurotransmission.

References:

Liu, P., et al. (2018). J Neurosci, 38: 5888-99.
Tomsig, J.L. and C.E. Creutz (2002). Cell Mol Life Sci, 59: 1467-77.
Creutz, C.E., et al. (1998). J Biol Chem, 273: 1393-402.
Tomsig, J.L. and C.E. Creutz (2000). Biochemistry, 39: 16163-75.
Sakthivel, K.M. and V.V. Prabhu (2017). J Environ Pathol Toxicol Oncol, 36: 107-1