

9 AUG 1996

**CHEMICAL MODIFICATION OF
CASSAVA LINAMARASE ISOZYMES**

ADISORN TRONGTAWSAK

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE**

(BIOCHEMISTRY)

With compliments
of

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1996

25867

ชื่อวิทยานิพนธ์	การดัดแปลงทางเคมีของไอโซไซม์ดินามาเรสในมันสำปะหลัง
ผู้วิจัย	อดิศร ตรงต่อศักดิ์
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีวเคมี)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	มนตรี จุฬาวัดนทล, Ph.D. ม.ร.ว. ชิชณูसर สวัสดิวัฒน์, Ph.D. พินทิพ วันวงษา, Ph.D.
วันที่สำเร็จการศึกษา	15 มีนาคม พ.ศ. 2539

บทคัดย่อ

เอ็นไซม์ดินามาเรสเป็นเอ็นไซม์กลุ่มเบต้า-ดี-กลูโคซิเดส ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการไชยาโนเจนซิสในมันสำปะหลัง เอ็นไซม์ดินามาเรสประกอบด้วยสามไอโซไซม์ คือ pI 4.3, 3.3 และ 2.9. การศึกษาเปรียบเทียบค่าคงที่ทางไคเนติกของไอโซไซม์ pI 4.3 และ pI 3.3 เมื่อใช้ดินามารินซึ่งเป็นสับสเตรททางธรรมชาติพบว่าค่า K_m ของไอโซไซม์ดินามาเรส pI 4.3 ในมันสำปะหลังมีค่าเท่ากับ 0.13 ± 0.014 มิลลิโมลาร์ และ V_{max} มีค่าเท่ากับ 3.76 ± 0.204 นาโนโมล/นาติ/ไมโครกรัมโปรตีน อย่างไรก็ตามค่า K_m ของไอโซไซม์ pI 3.3 มีค่าเท่ากับ 0.18 ± 0.016 มิลลิโมลาร์ และ V_{max} มีค่าเท่ากับ 5.12 ± 0.252 นาโนโมล/นาติ/ไมโครกรัมโปรตีน

กลูโคโนแลคโตน (δ -gluconolactone) เป็นตัวยับยั้งชนิดแข่งขันของเอนไซม์ดินามารส pI 4.3 ในมันสำปะหลังซึ่งมีค่า K_i เท่ากับ 0.70 ± 0.070 มิลลิโมลาร์ การใช้สารคัดแปลง 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC), *N*-bromosuccinimide (NBS) diethylpyrocarbonate (DEPC), โดยที่มีและไม่มีตัวยับยั้งชนิดแข่งขัน δ -gluconolactone แสดงให้เห็นว่าหมู่คาร์บอกซิล, ฮิสติดีน และทริปโตเฟนเป็นหมู่ที่จำเป็นต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ดินามารส pI 4.3 และ pI 3.3 และเมื่อใช้สารคัดแปลงแต่ละตัวดังกล่าวกับไอโซไซม์ทั้งสองมีผลทำให้ค่า V_{max} และ K_m สำหรับดินามารินลดลง ดังนั้นกรดอะมิโนทั้งสามกลุ่มจึงน่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องในการกระตุ้นเอนไซม์ของทั้งสองไอโซไซม์

dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC), *N*-bromosuccinimide (NBS) and diethylpyrocarbonate (DEPC) in the presence and the absence of the competitive inhibitor (δ -gluconolactone). For each isozyme, treatment with each modifying reagent resulted in a decrease in both V_{\max} and K_m values for linamarin. Therefore, the three amino acid residues are likely to be involved in the catalysis of both isozymes.