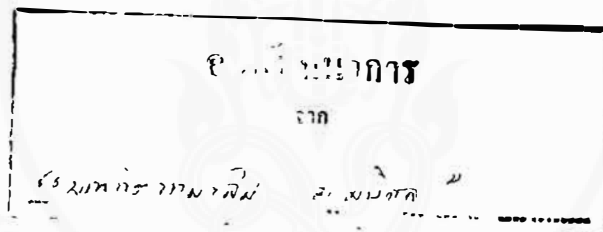


29 SEP 1994



**KINETICS OF THE ENZYME N-ACETYLTRANSFERASE
IN THE OPTIC LOBE OF
THE BLACK TIGER SHRIMP, *Penaeus monodon***

PATTIRA PONGTIPPATEE



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

**IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1994**

Copyright by Mahidol University

๕๐๐๔๘

ชื่อวิทยานิพนธ์	จลนศาสตร์ของเอ็นไซม์ <i>N</i> -Acetyltransferase ในสมองส่วนก้านตาของกุ้งกุลาดำ (<i>Penaeus monodon</i>)
ผู้วิจัย	ภัททิรา พงษ์ทิพย์พาที
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กายวิภาคศาสตร์)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	บุญเสริม วิทยชำนานุกุล, พ บ , Ph D. เรื่อน สมณะ, พ บ , Ph.D ประเสริฐ ไศภณ, Ph D.
วันสำเร็จการศึกษา	6 กรกฎาคม พศ 2537

บทคัดย่อ

N-Acetyltransferase (NAT) เป็นเอ็นไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ฮอร์โมน melatonin ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการค้นพบเอ็นไซม์ชนิดนี้ในสมองส่วนก้านตาของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) ได้ทำการศึกษาทางด้านจลนศาสตร์ และการทำงานของเอ็นไซม์ชนิดนี้ในสภาวะมืดและสว่างต่าง ๆ กัน และยังพบว่าในกุ้งตัวผู้เอ็นไซม์ชนิดนี้มากกว่าในกุ้งตัวเมีย ในสมองส่วนก้านตาของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ก็มีเอ็นไซม์ชนิดนี้อยู่ด้วย จากการศึกษาจลนศาสตร์ โดยใช้ tryptamine และ acetyl-CoA เป็น substrate โดยให้ระดับความเข้มข้นของ acetyl-CoA คงที่ และปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของ tryptamine ตั้งแต่ 0 ถึง 200 μM ที่ pH 7 และอุณหภูมิ 28 $^{\circ}\text{C}$ พบว่ามีค่า K_m เท่ากับ 21 45 \pm 6 64 μM ค่า V_{max} เท่ากับ 112 43 \pm 17 20 pmol/hr/ μg protein และที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน คือที่ 0 $^{\circ}\text{C}$, 28 $^{\circ}\text{C}$, 37 $^{\circ}\text{C}$, 50 $^{\circ}\text{C}$ และ 60 $^{\circ}\text{C}$ จะมีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ชนิดนี้ โดยจะทำงานเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มจาก 0 $^{\circ}\text{C}$ ถึง 50 $^{\circ}\text{C}$ และลดลงอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 60 $^{\circ}\text{C}$ สภาพความเป็นกรดหรือต่างที่ต่าง ๆ กันก็มีผลต่อ

การทำงานของ NAT เช่นกันโดยที่เอ็นไซม์จะทำงานได้สูงสุดที่ pH 7 จากการเปรียบเทียบระดับเอ็นไซม์ชนิดนี้ในกึ่งกลางลำตัวผู้และตัวเมีย พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังได้วัดระดับเอ็นไซม์ Hydroxyindole-O-methyltransferase ด้วยได้พบเอ็นไซม์ชนิดนี้แต่ไม่พบความแตกต่างของระดับเอ็นไซม์ในกึ่งตัวผู้และตัวเมีย



Thesis Title Kinetics of the Enzyme *N*-Acetyltransferase in the Optic Lobe of the Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*

Name Pattira Pongtippatee

Degree Master of Science (Anatomy)

Thesis Supervisory Committee

Boonsirm Withyachumnarnkul, M.D., Ph.D.
Reon Somana, M.D., Ph.D.
Prasert Sobhon, Ph.D.

Date of Graduation
6 July B.E. 2537 (1994)

ABSTRACT

N-acetyltransferase (NAT) is a rate-limiting enzyme playing role in the biosynthetic pathway of melatonin in mammalian pineal gland. The giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* contains high level of NAT in the optic lobe. Its kinetics and light-dependent changes have been studied. Male *M. rosenbergii* has also been found to contain higher level of the enzyme than the female. Another crustacean species, black tiger shrimp *Penaeus monodon*, also contains high level of NAT in its optic lobe. The purpose of this study is to determine the enzyme kinetics and biochemistry of NAT in *P. monodon* and compare to those of *M. rosenbergii*, and also, to determine hydroxyindole-O-methyltransferase (HIOMT) activity. The latter enzyme is responsible for melatonin synthesis in the final-step reaction. The NAT activity was determined in the optic lobe with different tryptamine concentrations while

acetyl-CoA concentration was kept constant. Lineweaver-Burke plots reveal that the K_m and V_{max} of enzyme NAT were 21.45 +/- 6.64 μ M and 112.43 +/- 17.20 pmol/hr/ μ g protein, respectively. The effects of temperature and pH on NAT activity had been studied. The enzyme activities were determined at 0 °C, 28 °C, 37 °C, 50 °C and 60 °C when the pH was kept constant at 7. The activity rose from 0 °C to the maximum level at 50 °C and declined rapidly at 60 °C. For pH variation, the activity was determined at pH 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5 and 8 when the temperature was fixed at 28 °C. Two peaks of activity occurred; one at pH 7 and the other at pH 6. The activity decreased markedly at pH 7.5-8 and pH 5.5. The level of NAT of the male and female, determined at pH 7, did not differ statistically. HIOMT activity could be detected in *P. monodon*'s optic lobes and the level in the male and female shrimp did not differ.