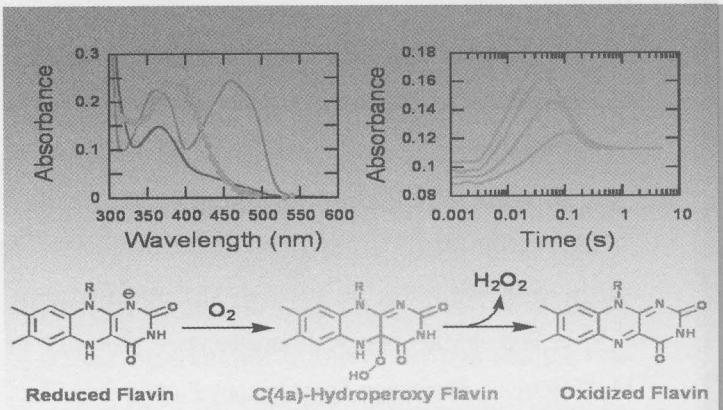
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University
Pillar of the Kingdom

ประกาศเกียรติคุณและรางวัล

ด้านการเรียนการสอนและการวิจัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปี พ.ศ. ๒๕๕๑

รางวัลผลงานวิจัยดีมาก

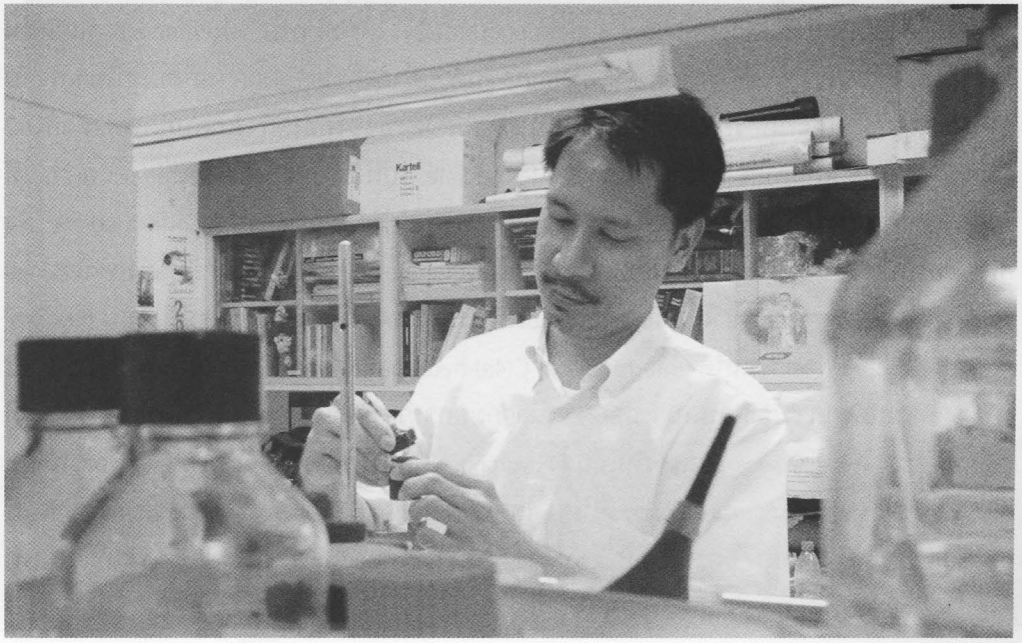


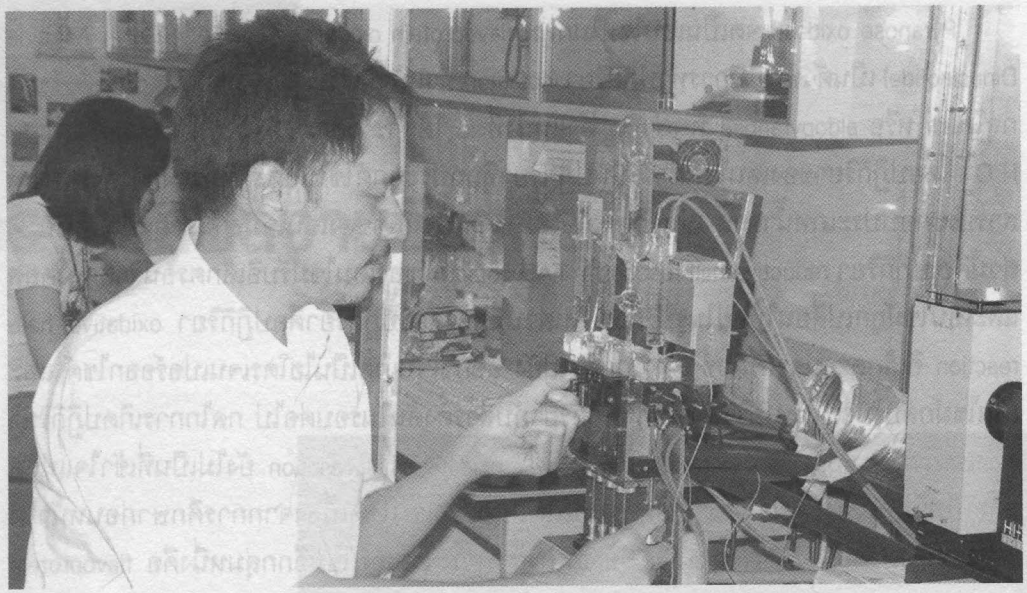
ผลงานวิจัยเรื่อง การเกิดสารตัวกลาง C(4a)-hydroperoxyflavin intermediate ที่พบครั้งแรกในปฏิกิริยา oxidation ของเอนไซม์ในกลุ่ม Flavoprotein Oxidases
Detection of a C(4a)-Hydroperoxyflavin Intermediate in the Reaction of a Flavoprotein Oxidases

โดย อาจารย์ ทันตแพทย์จีรัสย์ สุจริตกุล, เมธินี โปร่งจิตต์, Dietmar Haltrich, พิมพ์ใจ ใจเย็น

แหล่งทุนที่ได้รับ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว) และกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

Pyranose oxidase จัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม flavoprotein oxidases ซึ่งมี FAD (Flavin Adenine Dinucleotide) เป็นตัวช่วยในการทำปฏิกิริยา (cofactor) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเกิด oxidation ของกลูโคลส หรือ aldopyranose ที่ carbon ตำแหน่งที่ ๒ ได้สาร ผลิตภัณฑ์เป็น 2-ketoaldose และ H_2O_2 โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์ตัวนี้เป็นปฏิกิริยาที่ถูกประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการสังเคราะห์สารประกอบประเภทน้ำตาล เช่นน้ำตาลเทียม ปฏิกิริยาหลักของเอนไซม์สามารถแบ่งได้เป็น ๒ ส่วนคือ ปฏิกิริยา reductive half-reaction ที่ FAD cofactor ของเอนไซม์รับอิเล็กตรอนจากกลูโคลส และเอนไซม์ถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปรีดิวซ์ ในส่วนที่สองของปฏิกิริยาคือปฏิกิริยา oxidative half-reaction อิเล็กตรอนจากรีดิวซ์ FAD ถูกส่งไปยัง ออกซิเจนเกิดเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเอนไซม์กลับไปอยู่ในรูปรีดิวซ์ เพื่อทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นในรอบต่อไป กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ flavoprotein oxidases ในส่วนของ oxidative half-reaction ยังไม่เป็นที่เข้าใจแน่ชัด และเป็นที่ถกเถียงกันมานานว่าเกิดผ่านกลไกปฏิกิริยาเช่นไร เนื่องจากการศึกษาก่อนหน้าไม่เคยพบสารตัวกลาง (intermediate) ของปฏิกิริยา ต่างจากเอนไซม์อีกกลุ่มหนึ่งคือ flavoprotein monooxygenases ที่ตรวจพบว่าสาร C(4a)-hydroperoxyflavin เป็นสาร intermediate ของปฏิกิริยา





ในผลงานวิจัยชิ้นนี้ การศึกษาปฏิกิริยาของเอนไซม์ pyranose oxidase ในระดับ pre-steady state kinetics โดยใช้ stopped-flow spectrophotometry ได้ตรวจพบ intermediate ที่เกิดขึ้นระหว่างปฏิกิริยาช่วง oxidative half-reaction โดยเกิดขึ้นด้วยค่าคงที่ของอัตราการเกิดปฏิกิริยาเท่ากับ $5.8 \times 10^4\ M^{-1}s^{-1}$ และปฏิกิริยาสามารถผันกลับได้ด้วยค่าคงที่ของอัตราการเกิดปฏิกิริยาเท่ากับ $2\ s^{-1}$ จากนั้นจึงเข้าสู่ขั้นที่สองของการสลาย intermediate ไปเป็น oxidized enzyme ด้วยค่าคงที่ของอัตราการเกิดปฏิกิริยาเท่ากับ $18\ s^{-1}$ เมื่อคำนวณสเปคตรัม ของสาร intermediate ดังกล่าวพบว่าลักษณะของสเปคตรัมคล้ายกับ C(4a)-hydroperoxyflavin ที่พบในกลุ่มของเอนไซม์ flavoprotein monooxygenases จึงเป็นผลงานวิจัยครั้งแรกที่แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ในกลุ่ม flavoprotein oxidases สามารถเกิด intermediate C(4a)-hydroperoxyflavin ได้ ซึ่งยังไม่มีผู้รายงานปรากฏการณ์ดังกล่าวมาก่อนหน้า นอกจากนี้จากผลการวิเคราะห์คุณลักษณะโครงสร้าง ๓ มิติของเอนไซม์ pyranose oxidase แสดงให้เห็นถึง hydrophobicity บริเวณรอบ flavin cofactor ที่ทำให้เกิด stability ของ intermediate และ space ที่เพียงพอต่อขนาดของ hydroperoxy group ของ intermediate อันเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเกิดและ stability ของ intermediate เพราะปัจจัยดังกล่าวไม่พบในโครงสร้าง ๓ มิติของเอนไซม์ในกลุ่ม flavoprotein oxidase ตัวอื่น

สิ่งที่ดีเด่นของงานวิจัย

๑. ผลของงานวิจัยนี้เป็นผลการศึกษาแรกที่แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ในกลุ่ม flavoprotein oxidases ซึ่งเป็นกลุ่มเอนไซม์ที่มีความสำคัญในกระบวนการ metabolism ของสิ่งมีชีวิตทุกประเภท สามารถเกิดสาร C(4a)-hydroperoxyflavin intermediate ได้เหมือนกับเอนไซม์ในกลุ่ม flavoprotein monooxygenases ซึ่งต่างจากความเชื่อเดิมที่เชื่อว่าเอนไซม์ในกลุ่ม oxidase มี pathway ของปฏิกิริยาที่แตกต่างไปจากเอนไซม์ในกลุ่ม monooxygenases โดยผลงานวิจัยชิ้นนี้ได้ใช้การทดลองและการคำนวนวิเคราะห์ทาง kinetics แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ในกลุ่ม oxidase อาจใช้ common pathway ของปฏิกิริยา oxidative half-reaction เดียวกันกับ monooxygenases

๒. ผลของการวิเคราะห์ข้อมูล ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและหน้าที่ของเอนไซม์แสดงให้เห็นว่า โครงสร้าง ๓ มิติของเอนไซม์ pyranose oxidase เป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้เกิด stability ของ intermediate ดังกล่าวคือ เอนไซม์ตัวนี้มี hydrophohicity และ space ที่บริเวณ active site ซึ่งเพียงพอต่อขนาดของ hydroperoxy group ของ intermediate ซึ่งลักษณะดังกล่าวไม่พบในเอนไซม์ตัวอื่นที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน เช่น glucose oxidase และ alditol oxidase ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ไม่พบการเกิดสาร C(4a)-hydroperoxyflavin intermediate

สถานที่ติดต่อ
ภาควิชาชีวเคมี คณะทันตแพทยศาสตร์
โทรศัพท์ ๐-๒๒๑๘-๘๖๗๓
โทรสาร ๐-๒๒๑๘-๘๖๗๑
E-mail : Jsucharitakul@hotmail.com