



การศึกษาเอนไซม์ไฮดรอกซี เมทิลกลูตาไรล โคเอนไซม์ เอ รีดักเตส ในใบและน้ำยางพารา

Studies on 3-Hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A Reductase in

Leaves and Latex of Hevea brasiliensis

วิโรจน์ โชติพิพัฒน์วารกุล

Wirote Chotephiphatworakul

เลขที่	OK 495 ๑๗ ๖๕๒๙
เลขทะเบียน	023037
วัน เดือน ปี	- 6 พ.ย. 2529

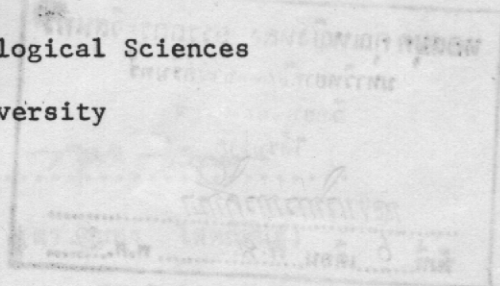
วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biological Sciences

Prince of Songkla University

2529



บทคัดย่อวิทยานิพนธ์

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอกติวิตีของ HMG-CoA reductase ในใบยางเปรียบเทียบกับปริมาณยางที่วัดได้ในรอบ 24 ชั่วโมง และศึกษาเปรียบเทียบระดับแอกติวิตีของ HMG-CoA reductase ในใบยางพันธุ์ต่างๆ ที่ให้ผลผลิตแตกต่างกันตลอดจนศึกษาการทำบริสุทธิ์ HMG-CoA reductase จากน้ำยางพารา

ผลการวิจัยได้พบว่าระดับแอกติวิตีของ HMG-CoA reductase ในใบยางที่เด็ดมาทุกๆ 4 ชั่วโมงต่อรอบวัน จะมีระดับแอกติวิตีขึ้นลงคล้ายกับปริมาณยางที่วัดได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระดับแอกติวิตีของ HMG-CoA reductase มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณยางที่สร้าง พบว่าระดับแอกติวิตีของ HMG-CoA reductase ในใบยางและปริมาณยางที่วัดได้จะสูงสุดในช่วงเวลา 18.00 นาฬิกา การศึกษาเปรียบเทียบระดับแอกติวิตีของ HMG-CoA reductase จากใบยางพันธุ์ต่างๆ ที่เด็ดในเวลา 18.00 นาฬิกา พันธุ์ยางที่ให้ผลผลิตสูงนั้นจะมีระดับแอกติวิตีของเอนไซม์สูงกว่าพันธุ์ยางที่ให้ผลผลิตต่ำ

การทำบริสุทธิ์ HMG-CoA reductase โดยอาศัยวิธีมาตรฐานทางชีวเคมี จากน้ำยางพันธุ์ RRIM 600 โดยใช้ Affi-gel blue column ทำบริสุทธิ์เอนไซม์ในขั้นตอนสุดท้าย และตรวจระดับความบริสุทธิ์ของเอนไซม์โดยวิธี Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) พบโปรตีนแถบใหญ่ 1 แถบ และโปรตีนแถบเล็กอีกแถบหนึ่งโดยย้อมด้วย silver การศึกษาหาน้ำหนักโมเลกุลหน่วยย่อยของเอนไซม์ โดยใช้ SDS-PAGE พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลหน่วยย่อยประมาณ 43,000 ดาลตัน

Abstract

Experiments were carried out to study correlation between HMG-CoA reductase levels in leaves of Hevea brasiliensis and rubber content in the latex. The correlation was studied in a period of 24 hour cycle. Comparison of HMG-CoA reductase was made on leaf obtained from different clonal types. Purification of the enzyme from the latex to apparent homogeneity was also carried out in this study.

The levels of HMG-CoA reductase in leaves were shown to be correlated with the rubber content accordingly. The peak level of the enzyme was the same as that of rubber content in the 24 hour cycle study. HMG-CoA reductase levels showed diurnal variations in a pattern similar to the petiole rubber values. The peak activities occurred around sunset time (1800 h) concurrent with the rubber peak. The enzyme activities in leaves from various clonal types detached at 1800 h showed that the activities in high-yielding clones was significantly higher than the low-yielding clones.

HMG-CoA reductase was purified from latex of clone RRIM 600 in this study using affinity chromatography (Affi Gel-blue) in a final step. The purified enzyme showed a single prominent band with a fainter minor band in a nondenaturing gel electrophoresis by using silver staining technique. SDS-PAGE of the enzyme showed a molecular weight of the enzyme subunit to be 43,000 dalton.