การศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ cGMP-Phosphodiesterase และ cGMP-Binding Protein จากตัวอสุจิของหอยเม่นจุดฟ้า

328013

โดย

นาง ประภาพร อุทารพันธุ์

หอยเม่นจุดฟ้า - วิจัย
เอนไซม์ - วิจัย

สมอ
เลขหมู่ QL430.5.D52 ป46 2534
เลขทะ...
12 / ก.ย. / 38

Order Key 4969
BIB Key 82365

รายงาน

การเพิ่มพูนความรู้ทางวิชาการของอาจารย์ภายในประเทศ

1 พฤศจิกายน 2533 - 31 ตุลาคม 2534

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทคัดย่อ

จากการศึกษาเอนไซม์ phosphodiesterase และ cGMP-binding protein ของตัวอสุจิของหอยเม่นจุดฟ้า (*Diadema setosum*) พบว่ามี activity จำเพาะของเอนไซม์ phosphodiesterase และของการ bind กับ cGMP เป็น 38.23 nmol/min/mg protein และ 4.37 pmol cGMP/mg protein ตามลำดับ

การสกัดเอนไซม์และโปรตีนชนิดนี้จากตัวอสุจิ ต้องอาศัยการบดละเอียดและ detergent Octyl glucoside มีผลยับยั้ง activity ของเอนไซม์ phosphodiesterase ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น มากกว่า CHAPS และ Triton X-100 ตามลำดับ ในขณะที่ Lubrol PX ไม่ยับยั้ง และ 0.5 % Lubrol PX เป็นความเข้มข้นดีที่สุดที่สามารถสกัดเอนไซม์ phosphodiesterase ออกจากตัวอสุจิได้มากสุดถึง 73-77 % เมื่อใช้ความเข้มข้นโปรตีนของตัวอสุจิไม่เกิน 5 มก. ต่อ มล. ตัวอสุจิที่ใช้ในการศึกษาไม่ควรเก็บไว้ที่ -70° ซ เป็นเวลานานเพราะเอนไซม์ phosphodiesterase ไม่เสถียร จะมี activity ลดลงตามเวลาเก็บที่นานขึ้น เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าว

เอนไซม์ phosphodiesterase และ cGMP-binding protein ถูกชะออกมาในตำแหน่งเดียวกันเมื่อถูกทำให้บริสุทธิ์โดยคอลัมน์ DEAE-Sephacel และ Sephadex G-200 โดยจะมี activity จำเพาะเพิ่มขึ้น 6 และ 3 เท่า จากคอลัมน์ทั้ง 2 ตามลำดับ activity ของเอนไซม์ที่ได้นี้ถูกกระตุ้นได้โดย Mg^{2+} และ Mn^{2+} ซึ่งมีค่า $K_{0.5}$ ของการกระตุ้นเป็น 0.30 mM และ 0.53 mM ตามลำดับ ในขณะที่ Ca^{2+} ไม่มีผลต่อ activity ของเอนไซม์ เมื่อติดตามการ bind ของ cGMP กับ cGMP-binding protein ที่ได้จากคอลัมน์ Sephadex G-200 พบว่า K_d ของการ bind มีค่า 27.12 nm และมี B_{max} เป็น 99 pmol cGMP /mg protein โดยที่ cGMP (K_d 0.3 μM) สามารถแข่งขันการ bind ระหว่าง ^{3}H-cGMP กับ cGMP-binding protein ได้ดีกว่า cAMP (K_d 5.7 μM)