บทที่ 1
บทนำ

กรดอะมิโนเป็นสารโมเลกุลขนาดเล็กที่พบในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทตามความสามารถในการหมุนระนาบแสง คือ กรดอะมิโนฟอร์มดีและกรดอะมิโนฟอร์มแอล (Lehninger, 1982) กรดอะมิโนฟอร์มดีเป็นกรดอะมิโนที่พบได้น้อยในสิ่งมีชีวิตในขณะที่กรดอะมิโนฟอร์มแอลเป็นกรดอะมิโนรูปที่พบในสิ่งมีชีวิตทั่วไปและมีบทบาทที่สำคัญต่อมนุษย์อย่างมาก เช่น เป็นองค์ประกอบของโปรตีนซึ่งทำหน้าที่เป็นโปรตีนโครงสร้าง เอนไซม์ ฮอร์โมน แอนติบอดี รวมทั้งโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการขนส่งออกซิเจน นอกจากนี้กรดอะมิโนในโปรตีนยังสามารถทำให้โปรตีนในเลือดมีสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ (Holum, 1965) และยังมีความสำคัญต่อกระบวนการส่งผ่านสารเคมีบริเวณจุดประสานประสาท(synapses)ในระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) อีกด้วย (Bender, 1975)

ปัจจุบันมีการใช้กรดอะมิโนฟอร์มแอลในการสังเคราะห์สารประกอบชนิดต่างๆ อย่างกว้างขวางเช่น แอล-อะลานีนนอกจากใช้เป็นส่วนประกอบของยาแล้วยังสามารถใช้เป็นสารปรุงรสอาหารได้อีกเนื่องจากมีรสหวาน (Suye, Kawagoe and Inuto, 1992) นอกจากนี้มีรายงานว่าแอล-อะลานีนยังเป็นส่วนประกอบในการผลิต DOPA (dihydroxyphenylalanine) (Reinhold, Uthe and Abramson, 1987) ซึ่งเป็นต้นกำเนิดของสารหลายชนิด เช่น รงควัตถุเมลานินในเส้นผมและผิวหนัง โดปามีน (dopamine) ซึ่งเป็นสารส่งสัญญาณประสาทอีกชนิดหนึ่ง ฮอร์โมนนอร์อีพิเนฟริน (norepinephrine) และอีพิเนฟริน (epinephrine) การขาดเอนไซม์ไทโรซีนไฮดรอกซิเลส (tyrosine hydroxylase) เป็นโรคพันธุกรรมชนิดหนึ่งทำให้ขาด DOPA และผลตามมาคือขาดรงควัตถุในผิวหนังและเส้นผมจึงเป็นเหตุให้มีลักษณะเผือก การขาดโดปามีนทำให้เกิดโรคทางระบบประสาทชนิดหนึ่งเรียกว่า Parkinson's disease ผู้ป่วยไม่สามารถบังคับกล้ามเนื้อร่างกาย มีอาการแขนขาสั่นตลอดเวลา อาการนี้จะบรรเทาได้โดยใช้ยา DOPA เพื่อให้ร่างกายเปลี่ยนเป็นโดปามีนซึ่งจะช่วยให้ระบบประสาททำงานได้ตามปกติ และแอล-อะลานีนยังสามารถผลิตเป็นสารอนุพันธ์เพื่อใช้เป็นสารควบคุมระบบภูมิคุ้มกันและเป็นสารที่ป้องกันการเจริญของเนื้องอก เช่น *N*-(*p*-chlorobenzoyl)-2-(2-cyanoethyl)alanine เป็นต้น (Nagano, 1985) ส่วนแอล-ฟีนิลอะลานีนใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารให้ความหวาน เช่น แอสปาร์แตม (Ohshima and Soda, 1990)

จากประโยชน์ของกรดอะมิโนฟอร์มแอลดังที่กล่าวมา จึงมีคณะวิจัยหลายกลุ่มทำการสังเคราะห์กรดอะมิโนฟอร์มแอลด้วยกระบวนการทางเคมีแต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้อยู่ในรูปฟอร์มแอล

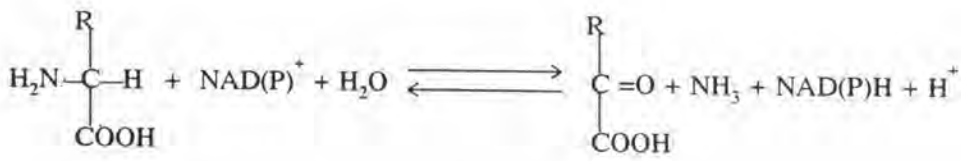
และดีในอัตราส่วนที่เท่ากัน (Takai, 1992) ด้วยเหตุนี้จึงมีคณะวิจัยบางกลุ่มที่หันมาให้ความสนใจการผลิตกรดอะมิโนฟอร์มแอลโดยใช้เอนไซม์กลุ่มต่างๆกัน เช่น แอล-อะมิโนแอซิดทรานสอะมิเนส (L-amino acid transaminase) อะมิโนแอซิดราสิเมส (amino acid racemase) (Berberich, Kaback and Freese, 1968) และแอล-อะมิโนแอซิดบีตา-ดีคาร์บอกซิเลส (L-amino acid β-decarboxylase) (Yamamoto, Tosa and Chibata, 1980) สำหรับแอล-อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนส (L-amino acid dehydrogenase) นั้นมีผู้ทำการศึกษากันอย่างกว้างขวาง และมีการนำเอนไซม์กลุ่มนี้ที่เตรียมได้จากจุลชีพไปใช้เพื่อการสังเคราะห์และการตรวจสอบกรดอะมิโนฟอร์มแอลในสารตัวอย่าง (Ohshima and Soda, 1990)

แอล-อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสเร่งปฏิกิริยาการออกซิไดซ์กรดอะมิโนไปเป็นกรดแอลฟาคีโต (α-keto acid) และแอมโมเนีย โดยปฏิกิริยานี้ผันกลับได้และมีความจำเพาะต่อแอล-ไอโซเมอร์ของกรดอะมิโนและต้องการไพริดีนนิวคลีโอไทด์ ($NAD(P)^+$) เป็นโคเอนไซม์ ดังแสดงในรูปที่ 1

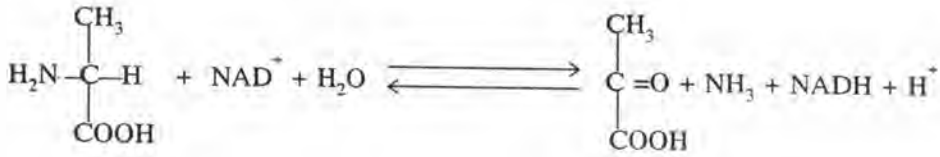
ค่า K_{eq} ของปฏิกิริยา ([α-keto acid][NH_3][NAD(P)H][H^+]/[amino acid][$NAD(P)^+$][H_2O]) อยู่ในระดับต่ำมากประมาณ 10^{-15} M (Ohshima and Soda, 1990) จึงทำให้มีความเหมาะสมที่จะใช้เอนไซม์ดังกล่าวในการสังเคราะห์กรดอะมิโนจากกรดแอลฟาคีโต และในปัจจุบันมีการค้นพบเอนไซม์ในกลุ่มนี้หลายชนิดด้วยกัน ดังแสดงในตารางที่ 1

แอล-อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสชนิดแรกที่มีผู้ทำการศึกษา คือ แอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนส (L-alanine dehydrogenase) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการออกซิไดซ์แอล-อะลานีนไปเป็นไพรูเวท ดังแสดงในรูปที่ 2

คณะวิจัยที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์ชนิดนี้คณะแรกคือ Yoshida และ Freese ใน ปี ค.ศ. 1964 (อ้างถึงใน Hummel and Kula, 1989) โดยทำการศึกษาใน *Bacillus sphaericus*, *B. aneurinolyticus*, *B. circulans* และ *B. cereus* พบว่าค่าแอคติวิตีจำเพาะในสารละลายเอนไซม์ตั้งต้น (crude extract) อยู่ระหว่าง 0.15-0.41 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน เมื่อทำให้เอนไซม์จาก *B. subtilis*, *B. cereus* และ *B. sphaericus* บริสุทธิ์พบว่าค่าแอคติวิตีจำเพาะใกล้เคียงกันประมาณ 157 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 230 กิโลดาลตัน ประกอบด้วย 6 หน่วยย่อย (38 กิโลดาลตัน) เอนไซม์ชนิดนี้มีความจำเพาะต่อแอล-อะลานีนและไพรูเวท ซึ่งค่า pH ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยา reductive amination ประมาณ



รูปที่ 1 แผนภาพปฏิกิริยาของแอล-อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนส



รูปที่ 2 แผนภาพปฏิกิริยาของแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนส

ตารางที่ 1 แอล-อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสชนิดต่างๆ ที่ต้องการไพริดีนนิวคลีโอไทด์เป็นโคเอนไซม์

Enzyme	E.C. number	Coenzyme
ala DH	1.4.1.1	NAD^+
glu DH	1.4.1.2	NAD^+
glu DH	1.4.1.3	$NAD(P)^+$
glu DH	1.4.1.4	$NADP^+$
ser DH	1.4.1.7	NAD^+
val DH	1.4.1.8	NAD^+
		$NADP^+$
leu DH	1.4.1.9	NAD^+
gly DH	1.4.1.10	NAD^+
3,5-diamino-hexanoate DH	1.4.1.11	NAD^+
2,4-diamino-pentanoate DH	1.4.1.12	$NAD(P)^+$
lys DH	1.4.1.15	NAD^+
diamino-pimelate DH	1.4.1.16	$NADP^+$
phe DH	1.4.1.-	NAD^+
tyr DH	1.4.1.-	$NAD(P)^+$

ที่มา : Ohshima and Soda, 1990

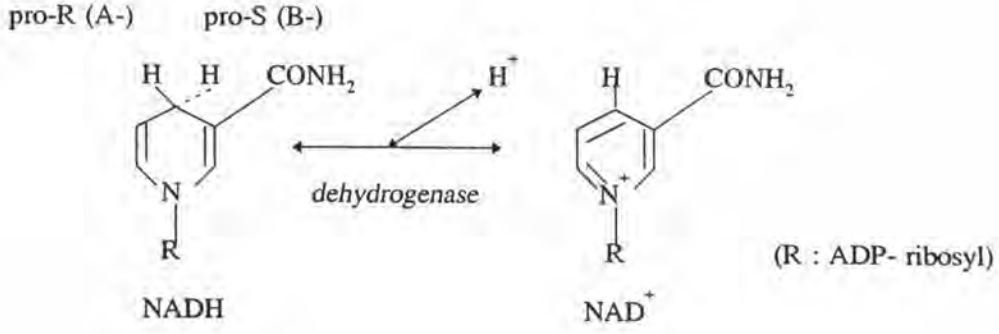
9.0 และปฏิกิริยา oxidative deamination อยู่ระหว่าง 10.0-10.5 ในเวลาต่อมา Edward และ Peter (1977) ได้ทำการศึกษาเอนไซม์นี้ใน *Halobacterium cutirubrum* โดยนำมาทำให้บริสุทธิ์ 100 เท่า พบว่าเอนไซม์นี้มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 72.5 กิโลดาลตัน แอคติวิตีของเอนไซม์จะเพิ่มเมื่ออุณหภูมิเพิ่มแต่จะไม่เสถียร นอกจากนี้ยังพบว่าเอนไซม์ทำงานได้ดีถ้าในสารละลายมีไอออนบวกเช่น โปแตสเซียมไอออน โซเดียมไอออน หรือแอมโมเนียมไอออน ปี 1987 Bellion และ Tan ทำการศึกษาใน methylotrophic bacterium *Pseudomonas* sp. (ที่เจริญในซัคซิเนตและแอมโมเนียมคลอไรด์) โดยนำมาทำให้บริสุทธิ์ 400 เท่า เอนไซม์นี้มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 214 กิโลดาลตันประกอบด้วย 4 หน่วยย่อย (53 กิโลดาลตัน) มีความจำเพาะต่อแอมโมเนียและ NAD^+ ค่า pH ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยา reductive amination ประมาณ 9.0 ในปีต่อมา Vancurova และคณะ (1988) ได้ทำการศึกษาใน *Streptomyces aureofaciens* หลังจากทำเอนไซม์บริสุทธิ์แล้วพบว่าน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 395 กิโลดาลตันประกอบด้วย 8 หน่วยย่อย ค่า pH ที่เหมาะสมใกล้เคียงกับการศึกษาที่ผ่านมา ต่อมา Caballero, Cardenas และ Castillo (1989) ทำการศึกษาใน phototrophic bacterium *Rhodobacter capsulatus* E1F1 พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลและจำนวนหน่วยย่อยใกล้เคียงกับพวกบาซิลลัส และในปีเดียวกันนี้ Vancura และคณะ (1989) ได้ทำการศึกษาใน *S. fradiae* เมื่อนำเอนไซม์มาทำให้บริสุทธิ์แล้วพบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 210 กิโลดาลตันประกอบด้วย 4 หน่วยย่อยซึ่งจะต่างจาก *S. aureofaciens* ต่อมา Ohshima และคณะ (1990) ทำการศึกษาใน thermophilic *Bacillus sphaericus* DSM 462 พบว่ามีสมบัติใกล้เคียงกับพวกบาซิลลัสแต่มีความเสถียรที่อุณหภูมิสูง และการศึกษาที่เพิ่งผ่านมาของ Sawa และคณะ (1994) ทำการศึกษาใน cyanobacterium *Phormidium lapideum* พบว่าเอนไซม์มีน้ำหนักโมเลกุลและจำนวนหน่วยย่อยใกล้เคียงกับพวกบาซิลลัสเช่นกัน แต่ค่า pH ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยา reductive amination และ oxidative deamination เท่ากับ 8.4 และ 9.2 ตามลำดับ จากรายละเอียดดังที่กล่าวมาจะเห็นว่าโครงสร้างและสมบัติของเอนไซม์ต่างกันไปตามชนิดของแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์นั้นๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

แอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสมี stereospecificity เป็นแบบ pro-R (A-) คือ การดึงไฮโดรเจนในปฏิกิริยา reductive amination จะเกิดที่ไฮโดรเจนอะตอมที่ตำแหน่ง pro-R ของ NADH ในขณะที่แอล-อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสอื่นจะเป็น pro-S (B-) stereospecificity ยกเว้นไลซีนดีไฮโดรจิเนสจะเป็นแบบ pro-R เช่นเดียวกับแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสดังแสดงในรูปที่ 3

ตารางที่ 2 สมบัติบางประการของแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสจากแบคทีเรียชนิดต่างๆ

Source	Mr ($\times 10^3$) (subunit structure)	Degree of purification	K_m values (mM)				
			L-ala	NAD^+	pyr	NH_3	NADH
Bacillus subtilis	228(6×38,000)	×356	1.73	0.18	0.54	38	0.023
Bacillus sphaericus	230(6×38,000)	×340	18.9	0.23	1.7	28	0.010
Bacillus cereus	255(6×42,000)	-	-	-	-	-	-
Bacillus stearothermophilus (*Escherichia coli* clone cell)	235(6×39,465)	×30	-	-	-	-	-
Thermus termophilus	290(6×48,000)	×85	4.2	0.12	0.75	59	0.035
Streptomyces clavuligerus	92(monomer)	×38	9.1	0.5	1.1	20	0.14
Streptomyces phaeochromogenes	240(6×39,000)	×20	7.1	0.036	0.29	61	0.047
Streptomyces aureofaciens	395(8×48,000)	×714	5.0	0.11	0.56	6.7	0.029
Streptomyces fradiae	205-210(4×51,000)	×1180	10.0	0.18	0.23	12	0.050
Pseudomonas sp. (methylotrophic)	214(4×53,000)	×400	-	-	-	-	-
Desufvibrio desuficans	-	×56	-	-	-	-	-
Halobacterium cutirubrum	72.5(monomer)	×100	K_m values is salt dependent				
Halobacterium salinarium	60(monomer)	×500	K_m values is salt dependent				
Anabaena cylindrica	270(6×43,000)	×700	0.4	0.014	0.11	8-133	-
Rhizobium lupini bacteroids	180(4×41,000)	-	-	-	-	-	-
Rhodobacter capsulatus E1F1 (phototrophic)	246(6×42,000)	×50	1.25	0.15	0.13	16	0.25 (NADPH)
Phormidium lapideum	240(6×41,000)	-	5.0	0.04	0.33	60.6	0.02

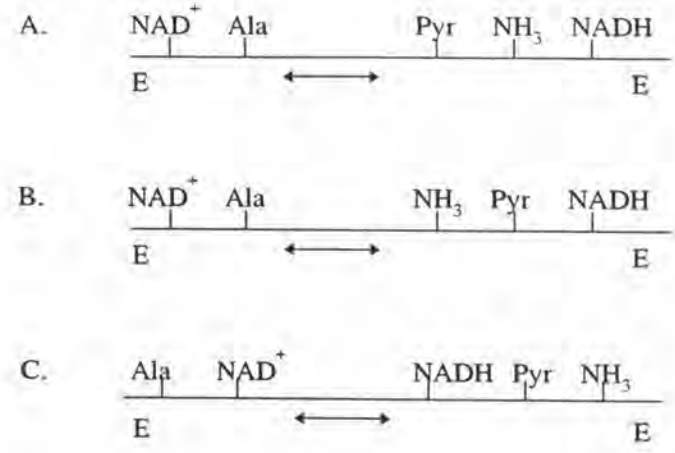
ที่มา : ดัดแปลงเพิ่มเติมจาก Ohshima and Soda, 1990



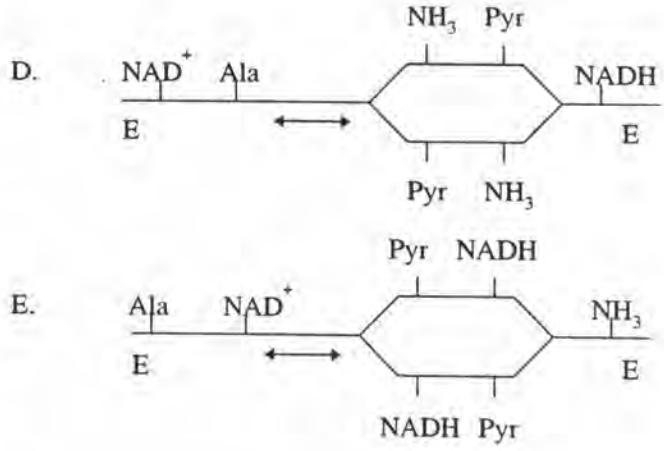
รูปที่ 3 stereospecificity ของการถ่ายโอนไฮโดรเจนอะตอมของ NADH ซึ่งเร่งปฏิกิริยาโดยดีไฮโดรจิเนส

สำหรับการศึกษากลไกทางจลนพลศาสตร์ พบว่ามีความแตกต่างกันไปตามแหล่งที่มาของแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนส เช่น เอนไซม์จาก mesophilic *B. sphaericus*, *B. subtilis* (Ohshima and Soda, 1990) และ *Mycobacterium* (Goldman, 1959) มีกลไกการเร่งปฏิกิริยาแบบ sequential ordered binary-ternary mechanism ส่วนเอนไซม์จาก thermophilic *B. sphaericus* (Ohshima and Soda, 1990) และ *Propionibacterium* (Crow, 1987) มีกลไกการเร่งปฏิกิริยาแบบ sequential random binary-ternary mechanism ดังแสดงในรูปที่ 4

จากงานวิจัยที่ผ่านมายังไม่มีรายงานเกี่ยวกับบริเวณจับของโคเอนไซม์ประเภทนิโคตินาไมด์ (nicotinamide coenzyme binding region) แต่มีการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสจาก *B. sphaericus* และ *B. stearothermophilus* กับแอล-อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสที่ต้องการ $NAD(P)^+$ เป็นโคเอนไซม์ชนิดอื่น เช่น กลูตาเมตดีไฮโดรจิเนสและลูซีนดีไฮโดรจิเนสแสดงให้เห็นว่าบริเวณ Gly^{175}, Gly^{178}, Gly^{181} และ Asp^{198} ของแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสน่าจะเป็นบริเวณจับของโคเอนไซม์ประเภทนิโคตินาไมด์ (Kuroda *et al.*, 1990) นอกจากนี้มีการศึกษาโดยการดัดแปลงกรดอะมิโนของแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสจาก *B. subtilis* โดยวิธีการทางเคมี (chemical modification) และทำการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนกับแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสจากแบคทีเรียชนิดอื่นเช่น *M. tuberculosis* และ *Synechocystis* sp. พบว่าบริเวณ lys^{74} เป็นบริเวณจับของสับสเตรท (substrate binding site) (Delforge *et al.*, 1997) ซึ่งจะสอดคล้องกับสมมติฐานของ Kuroda และคณะ (1990) ที่กล่าวว่าเอนไซม์ชนิดนี้น่าจะมี cationic acid group (lysine) ตรงบริเวณจับของสับสเตรทและตัวยับยั้ง และมี cationic acid group (histidine) ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยากรด-เบส (acid-base catalyst) แต่บริเวณ histidine ดังกล่าวยังไม่ได้มีรายงานยืนยัน นอกจากนั้นกรดอะมิโนบริเวณรอบๆ lys^{74} ยังถูกอนุรักษ์ (conserved residues) ซึ่งไม่พบในอะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสชนิดอื่นทำให้คาดว่าบริเวณนี้น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเป็น A-stereospecific ของแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนส ในขณะที่แอล-อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสชนิดอื่นเป็นแบบ B-form (Delforge *et al.*,1997)



Sequential ordered binary-ternary mechanism



Sequential random binary- ternary mechanism

รูปที่ 4 กลไกการเร่งปฏิกิริยาของแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสจากแบคทีเรียชนิดต่างๆ

A. mesophilic *Bacillus sphaericus*

B. *Bacillus subtilis*

C. *Mycobacterium*

D. thermophilic *Bacillus sphaericus*

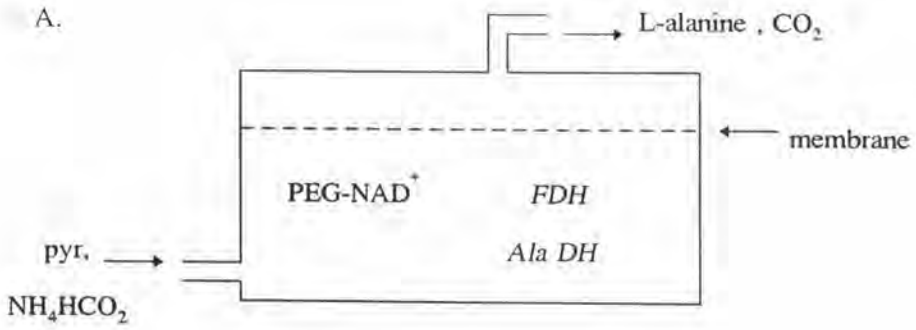
E. *Propionibacterium*

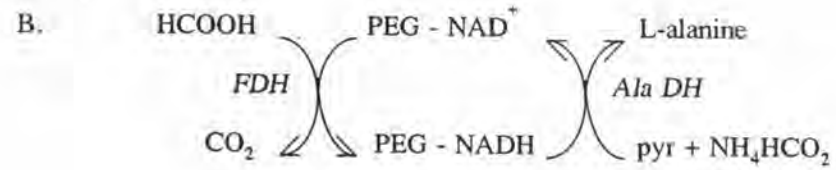
แอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสที่เตรียมได้สามารถนำมาผลิตแอล-อะลานีนโดยวิธีที่นิยมใช้คือ ultrafiltration membrane reactor ในระบบจะประกอบด้วยแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนส ฟอร์เมตดีไฮโดรจิเนส (formate dehydrogenase) และ NAD^+ ที่จับกับโพลีเอทิลีนไกลคอลด้วยพันธะโควาเลนต์($PEG\text{-}NAD^+$) และจะไม่สามารถผ่านเมมเบรนได้ ปฏิกิริยาจะเริ่มโดยการใส่กรดฟอร์มิก (HCOOH) ฟอร์เมตดีไฮโดรจิเนสจะเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิด PEG-NADH ขึ้น ปฏิกิริยานี้จะทำให้สามารถผลิต NADH ที่เสถียรขึ้นและใช้ต้นทุนที่น้อยกว่า จากนั้นผ่านไพรูเวท (pyr) และแอมโมเนียมฟอร์เมต (NH_4HCO_2) เข้า reactor อย่างต่อเนื่อง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะได้แอล-อะลานีนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) แสดงตัวอย่างปฏิกิริยาพอสังเขปดังรูปที่ 5

นอกจากนี้สามารถใช้แอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสทำปฏิกิริยาร่วมกับเอนไซม์อื่นเพื่อผลิตกรดอะมิโนฟอร์มดีชนิดต่างๆได้ วิธีนี้มีชื่อว่า ระบบเอนไซม์หลายชนิด (multi-enzyme system) โดยจะประกอบด้วยแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนส ฟอร์เมตดีไฮโดรจิเนส อะลานีนราสิเมส (alanine racemase) และดี-อะมิโนแอซิดอะมิโนทรานสเฟอเรส (D-amino acid aminotransferase) การผลิตนี้อาศัยสมบัติของดี-อะมิโนแอซิดอะมิโนทรานสเฟอเรสที่มีความจำเพาะต่อสับสเตรทสูงมาก ส่วนแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสและฟอร์เมตดีไฮโดรจิเนสใช้ในปฏิกิริยาการผลิตแอล-อะลานีน และ NADH ตามลำดับ ซึ่งแสดงแผนภาพของปฏิกิริยาดังรูปที่ 6

จากระบบข้างต้นจะสามารถผลิตกรดอะมิโนฟอร์มดีต่างๆ เช่น ดี-กลูตาเมต ดี-เมไทโอนีน และดี-วาลีน ซึ่งกรดอะมิโนฟอร์มดีเหล่านี้จะมีประโยชน์ในด้านการสังเคราะห์ทางเคมี (chemical synthesis) ของ β-lactam antibiotics และ bioactive peptides

การวิเคราะห์กรดอะมิโน กรดแอลฟาคีโต และแอมโมเนียโดยใช้อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสพบว่ามีความสำคัญต่อการแพทย์ การควบคุมกระบวนการทางชีวภาพ(bioprocess control) และการศึกษาทางด้านโภชนาการอย่างมาก นอกจากนี้การตรวจสอบทำได้ง่ายและถูกกว่าเมื่อเทียบกับวิธี ion-exchange high performance liquid chromatography ซึ่งวิธีนี้จะทำการตรวจสอบโดยการวัดการดูดกลืนแสงของปริมาณ NADH ที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงจากปฏิกิริยาที่ใช้อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสเป็นตัวเร่ง โดยจะตรวจสอบกรดอะมิโนและกรดแอลฟาคีโตได้หลายชนิดซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ สำหรับแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสนอกจากจะตรวจสอบปริมาณแอล-อะลานีนและไพรูเวทแล้วยังใช้ตรวจสอบแกมมา-กลูตามิลไซโกลทรานสเฟอเรส (γ-glutamyl cyclotransferase) ซึ่งเป็น marker enzyme ของโรค





รูปที่ 5 การผลิตแอล-อะลานีนโดยวิธี ultrafiltration membrane reactor

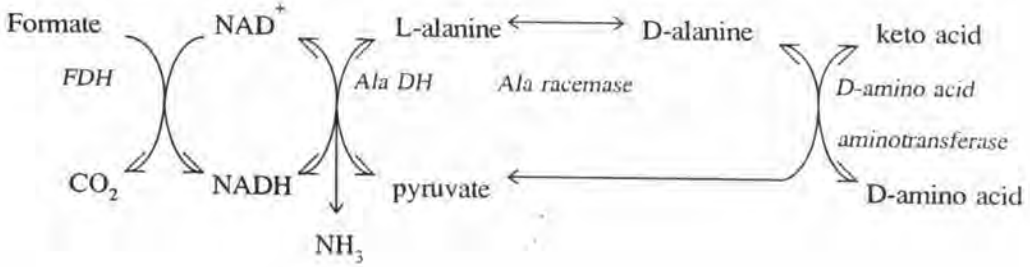
A. enzyme membrane reactor

B. ปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์เพื่อผลิตแอล-อะลานีน

Ala DH : alanine dehydrogenase

FDH : formate dehydrogenase

PEG : polyethyleneglycol



รูปที่ 6 ระบบเอนไซม์หลายชนิดในการผลิตกรดอะมิโนฟอร์มดี

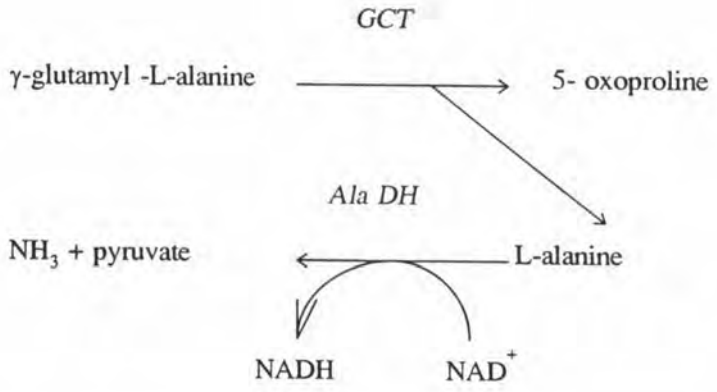
Ala DH : alanine dehydrogenase

FDH : formate dehydrogenase

Ala racemase : alanine racemase

malignant hematopoietic disease ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของการสร้างเม็ดเลือดอย่างรุนแรง โดยผู้ป่วยที่ป่วยเป็นโรคนี้จะมีปริมาณเอนไซม์ชนิดนี้ผิดปกติ และจะสามารถตรวจวัดปริมาณแอล-อะลานีนที่เกิดขึ้นจากแกมมา-กลูตามิลไซโคลทรานสเฟอเรสได้ ดังแสดงในรูปที่ 7 (Ohshima and Soda, 1990)

จากประโยชน์ของแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสที่กล่าวมาถ้าสามารถคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสแล้วทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ได้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการนำเอนไซม์นี้มาประยุกต์ใช้ เช่น การผลิตแอล-อะลานีนภายในประเทศเนื่องจากเอนไซม์นี้จะเป็นอะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสชนิดแรกที่แยกได้จากแบคทีเรียในประเทศไทย และเป็นข้อมูลในการเปรียบเทียบเอนไซม์ชนิดนี้กับแอล-อะมิโนแอซิดดีไฮโดรจิเนสที่ต้องการไพริดีนนิวคลีโอไทด์เป็นโคเอนไซม์ที่ได้มีการศึกษาผ่านมาแล้วในเชิงสมบัติบางประการ



รูปที่ 7 ระบบการตรวจสอบแกมมา-กลูตามิลไซโคลทรานสเฟอเรส

GCT : γ-glutamyl cyclotransferase

Ala DH : alanine dehydrogenase

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถผลิตแอล-อะลานีนดีไฮโดรจิเนสที่ต้องการไพริดีนนิวคลีโอไทด์เป็นโคเอนไซม์ จากนั้นทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์และศึกษาสมบัติทางชีวเคมีบางประการของเอนไซม์