การแยกให้บริสุทธิ์และการศึกษาสมบัติของแอลคาไลน์โปรตีเอสจากเชื้อ

BACILLUS SUBTILIS TISTR 25

ร.อ. ปกรณ์ จิโรจน์กุลกิจ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาชีวเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2532

ISBN 974-576-338-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

016060

PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF ALKALINE PROTEASE FROM

<u>BACILLUS</u> <u>SUBTILIS</u> TISTR 25

Capt. Prakorn Girodkunkid

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Sciences

Department of Biochemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1989

ISBN 974-576-338-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การแยกให้บริสุทธิ์และการศึกษาสมบัติของแอลคาไลน์โปรตีเอสจากเชื้อ *Bacillus subtiis* TISTR 25
โดย	ร.อ. ปกรณ์ จิโรจน์กุลกิจ
ภาควิชา	ชีวเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์วิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..................................คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..................................ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. สัณห์ พณิชยกุล)

..................................กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์)

..................................กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พีรดา สิริจินตกานต์)

..................................กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ปกรณ์ จิโรจน์กุลกิจ, ร.อ. : การแยกให้บริสุทธิ์และการศึกษาสมบัติของแอลคาไลน์โปรตีเอส จากเชื้อ BACILLUS SUBTILIS TISTR 25 (PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF ALKALINE PROTEASE FROM BACILLUS SUBTILIS TISTR 25) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์ , 111 หน้า.

Bacillus subtilis TISTR 25 เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากดินในประเทศไทย สามารถถูกชักนำให้ผลิตเอนไซม์โปรตีเอสสูงขึ้นได้โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 °ซ ในอาหารสูตรปรับต่ำที่เสริมด้วย 1 เปอร์เซนต์กลูตาเมท pH 6.0 และพบว่าการผลิตเอนไซม์โปรตีเอส ถูกกดดันในสภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคส ด้วยกระบวนการคาตาบอไลต์ รีเพรสชัน โดยการศึกษาผลของ Ethylenediamine tetraacetic acid และ Phenylmethylsulfonyl fluoride ต่อเอนไซม์แอคติวิตี พบว่าเอนไซม์โปรตีเอสที่แยกได้ในน้ำเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วยนิวทรัลและแอลคาไลน์โปรตีเอสในอัตราส่วนประมาณ 1 : 3 ซึ่งต่างจากเชื้อมาตรฐาน *B. licheniformis* ATCC 21415 ที่สร้างเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสเป็นส่วนใหญ่

เมื่อตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต และแยกโดย CM-cellulose คอลัมน์โครมาโตกราฟี เอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสจากสายพันธุ์ TISTR 25 มีความบริสุทธิ์ขึ้น 2.3 เท่า จากการศึกษาสมบัติของแอลคาไลน์โปรตีเอสที่มีความบริสุทธิ์บางส่วนนี้ พบว่า เอนไซม์เป็นโพลีเพปไทด์สายเดี่ยว ไม่มีหน่วยย่อย และมีน้ำหนักโมเลกุล 27,000 ดาลตัน pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาคือ 8.5 และ 55 °ซ เอนไซม์ไฮโดรไลส์ได้ทั้งสับสเตรตธรรมชาติและสับสเตรตสังเคราะห์ โดยมีค่า K_m ต่อ casein , hemoglobin และ benzoyl tyrosine ethyl ester (BTEE) เท่ากับ 0.02, 0.07 และ 8.0 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ และมีค่า K_m ต่อ azocasein, azocoll คือ 3.03 และ 33.33 มก./มล. เอนไซม์มีความจำเพาะในการไฮโดรไลส์พันธะเพปไทด์ที่ปลายคาร์บอกซิลของกรดอะมิโน อาร์จินีน อะลานีน ลูซีน เฟนิลอะลานีน และเวลีน

แอลคาไลส์โปรตีเอสที่แยกได้จาก *B. subtilis* TISTR 25 นี้ มีสมบัติบางประการต่างจากเอนไซม์ Subtilisin Carlsberg คือ pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยา รวมทั้งแอฟฟินิตีต่อ casein และ BTEE ซึ่งคาดว่าเอนไซม์ทั้งสอง อาจมีส่วนประกอบกรดอะมิโนในบริเวณ binding site ต่างกัน เมื่อศึกษาความจำเพาะของเอนไซม์ในการไฮโดรไลส์พันธะเพปไทด์ โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปคโตรโฟโตเมตรี และ TLC พบว่า เอนไซม์ที่แยกได้มีความจำเพาะไม่ต่างจากเอนไซม์ Subtilisin Carlsberg และ Nagarse แต่ต่างจากเอนไซม์ Trypsin ในสภาวะที่ทำการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ชีวเคมี

สาขาวิชา ชีวเคมี

ปีการศึกษา 2531

ลายมือชื่อนิสิต ร.อ. ปกรณ์ จิโรจน์กุลกิจ

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา [signature]

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

PRAKORN GIRODKUNKID, CAPT. : PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF ALKALINE PROTEASE FROM BACILLUS SUBTILIS TISTR 25
THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PIAMSOOK PONGSAWASDI, Ph.D., 111 pp.

A chemical-defined medium supplemented with 0.1 percent glutamate at pH 6.0 and 30 °C were the most suitable culturing condition for the production of extracellular proteases by a local strain of *Bacillus* , *B. subtilis* TISTR 25. Glucose was found to have a pronounce effect on the protease production through catabolite repression. Through the use of the enzyme inhibitors, phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) and ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA), the results suggested that the enzyme excreted by the strain TISTR 25 are combination of neutral and alkaline proteases in the approximate ratio of 1 : 3. The culture thus differs from the standard strain of *B. licheniformis* ATCC 21415 which mostly produced alkaline protease.

Alkaline protease from *B. subtilis* TISTR 25 was purified 2.3 fold by using ammonium sulfate precipitation and CM-cellulose chromatography. The purified enzyme was proved to be a monomer with a molecular weight of 27,000. The optimum pH and the optimum temperature were 8.5 and 55 °C, respectively. The enzyme was able to hydrolyse both natural and synthetic substrates. The K_m for casein, hemoglobin and benzoyl tyrosine ethyl ester (BTEE) were 0.02, 0.07 and 8.0 mmol/l whereas those of azocasein and azocoll were 3.03 and 33.33 mg/ml, respectively. The enzyme hydrolysed peptide bond specifically at the carboxyl end of the amino acid arginine , alanine , leucine , phenylalanine and valine.

This purified alkaline protease differs from Subtilisin Carlsberg in its optimum pH and temperature for catalysis. The two enzymes also differ in their affinities to casein and BTEE, the result of which suggests that some amino acids around the vicinity of the binding site of the two enzymes might be different. The result from peptide hydrolysis as analyzed by spectrophotometric and TLC technique indicated that the pattern of specificity of peptide hydrolysis of this alkaline protease is similar to that of Subtilisin Carlsberg and Nagarse but differs from trypsin.

ภาควิชา ชีวเคมี

สาขาวิชา ชีวเคมี

ปีการศึกษา 2531

ลายมือชื่อนิสิต ร.อ. ปกรณ์ จิโรจน์กุลกิจ

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา [signature]

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์ ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา คอยให้คำแนะนำ และความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาที่ผู้เขียนศึกษาอยู่ในภาควิชาชีวเคมี

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สัณห์ พณิชยกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พีรดา สิริจินตกานต์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง ที่กรุณาให้คำแนะนำต่อผู้เขียน รวมทั้งกรุณารับเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณนิสิตหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต และดุษฎีบัณฑิต ในภาควิชาชีวเคมี และเทคโนโลยีชีวภาพที่ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		จ
กิตติกรรมประกาศ		ฉ
สารบัญตาราง		ฌ
สารบัญรูป		ฎ
คำย่อ		ฆ
บทที่		
1	บทนำ	1
2	ครุภัณฑ์ และเคมีภัณฑ์	
	2.1 ครุภัณฑ์	13
	2.2 เคมีภัณฑ์	14
	2.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง	15
3	วิธีการทดลอง	
	3.1 การเตรียมสารละลาย	17
	3.2 การเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง	21
	3.3 การเลี้ยงเชื้อและการติดตามการเจริญของเชื้อ	21
	3.4 การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์โปรตีเอส	21
	3.5 การวัดปริมาณโปรตีนโดยวิธีลอรี	22
	3.6 การวัดปริมาณโปรตีนโดยวิธีแบรดฟอร์ด	23
	3.7 การวัดปริมาณกลูโคส	23
	3.8 การวัดปริมาณโซเดียมไอออน	23
	3.9 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและการสังเคราะห์เอนไซม์โปรตีเอส	23

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.10 ขั้นตอนการเตรียมเอนไซม์และการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์........ 24
3.11 วิธีแยกโปรตีนด้วยโพลีอะไครลาไมด์ เจล อีเลคโตรโฟริซิส.... 26
3.12 การศึกษาสมบัติของเอนไซม์โปรตีเอส(crude enzyme)...... 28
3.13 การศึกษาสมบัติของแอลคาไลน์โปรตีเอสที่ทำให้บริสุทธิ์บางส่วน.. 28

4 ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและสังเคราะห์เอนไซม์โปรตีเอสของเชื้อบาซิลลัส.................... 35
4.2 ผลการศึกษาโปรตีเอสในลักษณะ crude enzyme........... 39
4.3 ผลการเตรียมเอนไซม์โปรตีเอสเพื่อนำไปทำให้บริสุทธิ์........ 44
4.4 ผลการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์.................................... 44
4.5 ผลการตรวจสอบชนิดของโปรตีเอส.............................. 48
4.6 ผลการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเอนไซม์โดยเทคนิคโพลีอะไคร-ลาไมด์ เจล อีเลคโตรโฟริซิส............................ 53
4.7 ผลการศึกษาสมบัติของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสที่ทำให้บริสุทธิ์บางส่วน.. 53

5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง..................................... 84

เอกสารอ้างอิง... 100

ภาคผนวก.. 107

กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีลอรี............ 108

กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีแบรดฟอร์ด....... 109

กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไทโรซีน......................... 110

ประวัติผู้เขียน... 111

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงข้อมูลเชิงพาณิชย์ของเอนไซม์โปรตีเอสทั่วโลกในปี 1981	2
2	ขั้นตอนการแยกชนิดของเอนไซม์โปรตีเอสจาก B. subtilis สายพันธุ์ต่างๆให้บริสุทธิ์	10
3	การผลิตโปรตีเอสของ B. subtilis TISTR 25 เมื่อเลี้ยงในปริมาตรต่างกัน..	47
4	ผลการตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 0-80 เปอร์เซนต์	49
5	สรุปผลการทำให้เอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสบริสุทธิ์..............	51
6	ผลการทดสอบชนิดของโปรตีเอสในแฟรคชันต่างๆจากการแยกด้วยคอลัมน์ CM-cellulose โดยการใช้สารยับยั้ง EDTA และ PMSF..........	52
7	สรุปค่า K_m และ V_{max} ของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสกับ Subtilisin Carlsberg เมื่อใช้โปรตีนต่างชนิดหรือเอสเทอร์เป็นสับสเตรต	71
8	ผลของไอออนของโลหะต่อแอคติวิตีของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสจาก B. subtilis TISTR 25	72
9	ผลของสารเคมีต่างชนิดต่อแอคติวิตีของแอลคาไลน์โปรตีเอสจาก B. subtilis TISTR 25	73
10	เปรียบเทียบแอคติวิตีของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสจาก B. subtilis TISTR 25 , Subtilisin Carlsberg , Nagarse และ Trypsin ในการไฮโดรไลส์เพปไทด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ	77
11	การไฮโดรไลส์เพบไทด์สังเคราะห์โดยเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสจาก B. subtilis TISTR 25	78
12	ค่า R_f ของ spot บนแผ่น TLC ของกรดอะมิโนมาตรฐาน และ enzyme	

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แผนภาพแสดงขั้นตอนการทำให้เอนไซม์ แอลคาไลน์โปรตีเอสให้บริสุทธิ์..	25
2	ลักษณะการเจริญและแอคติวิตีของเอนไซม์โปรตีเอสของ Bacillus subtilis TISTR 25 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี NH_4Cl และเสริมด้วยอาหารเสริมต่างๆ....................................	36
3	การเจริญและแอคติวิตีของเอนไซม์โปรตีเอสของ Bacillus licheniformis ATCC 21415 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี NH_4Cl และเสริมด้วยอาหารเสริมต่างๆ..............................	37
4	การเจริญ การผลิตเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอส การเปลี่ยนแปลง pH และปริมาณน้ำตาลกลูโคสของ B. subtilis TISTR 25...........	38
5ก	เปรียบเทียบการเจริญของ B. subtilis TISTR 25 และ B. licheniformis ATCC 21415 ที่อุณหภูมิต่างๆ................	40
5ข	เปรียบเทียบ แอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์โปรตีเอสจากเชื้อที่เลี้ยงในรูปที่ 5ก	41
6	เปรียบเทียบการเจริญและแอคติวิตีของเอนไซม์โปรตีเอสของ B. subtilis TISTR 25 และ B. licheniformis ATCC 21415 เมื่อมีและไม่มี NH_4Cl	42
7	ความเสถียรของ crude enzyme เตรียมจาก B. subtilis TISTR 25 และ B. licheniformis ATCC 21415 เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 และ -20 °ซ	43
8ก	ผลของ phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) ต่อโปรตีเอสแอคติวิตีใน crude enzyme จาก B. subtilis TISTR 25 และ B.	

รูปที่		หน้า

licheniformis ATCC 21415 45

8ข ผลของ EDTA ต่อโปรตีเอสแอคติวิตีใน crude enzyme จาก B. subtilis TISTR 25 และ B. licheniformis ATCC 21415 ... 45

9 การเจริญ แอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์โปรตีเอส เมื่อเลี้ยงเชื้อในขวดรูปชมพู่ขนาด 1 ลิตร.................................. 46

10 รูปแบบการแยกและทำโปรตีเอสให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์ CM-cellulose.. 50

11ก รูปแบบของโปรตีนที่ได้จากขั้นตอนต่างๆในการทำเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสให้บริสุทธิ์ แยกโดยโพลีอะไครลาไมด์ เจล อีเลคโตรโฟริซิส.. 54

11ข รูปแบบของแอลคาไลน์โปรตีเอสในปริมาณต่างๆแยกโดย เจล อีเลคโตรโฟริซิส.. 55

12 รูปแบบการแยกโปรตีนในคอลัมน์เซฟาเด็กซ์ จี-75 56

13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง K_{av} และ log ของน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานในการศึกษาน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสโดยคอลัมน์เซฟาเด็กซ์ จี-75 57

14 รูปแบบของโปรตีนมาตรฐานและเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสแยกโดยเอสดีเอส-โพลีอะไครลาไมด์ เจล อีเลคโตรโฟริซิส............. 59

15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Relative mobility และ log ของน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานในการศึกษาน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสโดยวิธีเอสดีเอส-โพลีอะไครลาไมด์ เจล อีเลคโตรโฟริซิส.................................... 60

16 ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของแอลคาไลน์โปรตีเอสจาก B. subtilis TISTR 25 เปรียบเทียบกับเอนไซม์มาตรฐาน Subtilisin 61

17 ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของโปรตีเอสจาก B. subtilis TISTR เปรียบเทียบกับเอนไซม์มาตรฐาน Subtilisin 62

รูปที่ หน้า

18 ผลของ pH ต่อความเสถียรของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสจาก
B. subtilis TISTR 25 64

19 ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสจาก
B. subtilis TISTR 25 65

20 ความเสถียรของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสจาก B. subtilis
TISTR 25 66

21 Lineweaver-Burk plot ของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอส เปรียบ
เทียบกับ Subtilisin Carlsberg เมื่อใช้ casein เป็นสับสเตรต.. 67

22 Lineweaver-Burk plot ของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอส เปรียบ
เทียบกับ Subtilisin Carlsberg เมื่อใช้ azocasein เป็น
สับสเตรต 67

23 Lineweaver-Burk plot ของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอส เปรียบ
เทียบกับ Subtilisin Carlsberg เมื่อใช้ azocoll เป็นสับสเตรต. 68

24 Lineweaver-Burk plot ของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอส
เปรียบเทียบกับ Subtilisin Carlsberg เมื่อใช้ hemoglobin เป็น
สับสเตรต 68

25 Lineweaver-Burk plot ของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอส เปรียบเทียบ
กับ Subtilisin Carlsberg เมื่อใช้ BTEE เป็นสับสเตรต 70

26ก การไฮโดรไลส์เพบไทด์สังเคราะห์ที่มีสีคือ NBz-Arg pNA โดยเอนไซม์
ชนิดต่างๆ 75

26ข การไฮโดรไลส์เพบไทด์สังเคราะห์ที่มีสีคือ NBz-Phe-Val-Arg pNA โดย
เอนไซม์ชนิดต่างๆ.............................. 76

27 ความจำเพาะในการไฮโดรไลส์เพบไทด์สับสเตรตของเอนไซม์โปรตีเอส
ต่างชนิด.............................. 83

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ หน้า

28 ความจำเพาะในการไฮโดรไลส์เพปไทด์สับสเตรตของเอนไซม์โปรตีเอส TISTR 25 83

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

มก.	=	มิลลิกรัม
มล.	=	มิลลิลิตร
°ซ	=	องศาเซลเซียส
A	=	Absorbance
K_m	=	Michaelis-Menten constant
V_{max}	=	Maximum velocity
BTEE	=	Benzoyl tyrosine ethyl ester
BPN	=	Bacterial Protease Nagarse

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย