เฟอริดอกซินเอนเอดีพีรีดักเตส

ใน Chlamydomonas reinhardtii สายพันธุ์ต้านพาราควอท

นางสุคันธรส ธาดากิตติสาร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาชีวเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2535

ISBN 974-581-655-8

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018131

Ferredoxin-NADP Reductase

in Paraquat Resistant *Chlamydomonas reinhardtii*

Mrs.Sukuntaros Tadakittisarn

A Thesis submitted in Partial Fulfilment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Biochemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1992

ISBN 974-581-655-8

หัวข้อวิทยานิพนธ์ เฟอริดอกซินเอนเอดีพีรีดักเตสใน *Chlamydomonas reinhardtii* สายพันธุ์ต้านพาราควอท

โดย นางสุคันธรส ธาดากิตติสาร

ภาควิชา ชีวเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สัณห์ พณิชยกุล

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ..... ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร. สุกัญญา สุนทรส)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. สัณห์ พณิชยกุล)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. อรัญ อินเจริญศักดิ์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง)

สุคันธรส ธาดากิตติสาร : เฟอริดอกซินเอนเอดีพีรีดักเตสใน Chlamydomonas reinhardtii สายพันธุ์ต้านพาราควอท (FERREDOXIN-NADP REDUCTASE IN PARAQUAT RESISTANT CHLAMYDOMONAS REINHARDTII) อ.ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล, 126 หน้า. ISBN 974-581-655-8

ในงานวิจัยนี้ได้ทำให้เอนไซม์เฟอริดอกซินเอนเอดีพีรีดักเตส (FNR) จากสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว Chlamydomonas reinhardtii สายพันธุ์ดั้งเดิม (137c) กับสายพันธุ์ต้านพาราควอท (PPQ-10/3) บริสุทธิ์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของเอนไซม์ในการอธิบายกลไกการต้านพาราควอทของพืช ผลการทดลองพบว่า ลักษณะการสังเคราะห์เอนไซม์ FNR ของสาหร่าย 2 สายพันธุ์ มีความสัมพันธ์ควบคู่กับการเจริญซึ่งเซลล์จะเจริญสูงสุดมีปริมาณ $5x10^6$ และ $2.4x10^6$ เซลล์/มล.อาหารเพาะเลี้ยงในสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์ PPQ-10/3 ตามลำดับ สายพันธุ์ PPQ-10/3 มีการเจริญเข้าสู่ระยะสูงสุดช้ากว่าสายพันธุ์ 137c ประมาณ 2 วัน เซลล์จะสังเคราะห์ FNR สูงสุดที่ระยะปลายของการเจริญแบบทวิคูณ มีแอคติวิตีสูงสุดประมาณ 0.021 และ 0.031 หน่วย/10^7 เซลล์ในสายพันธุ์ 137c และ PPQ-10/3 ตามลำดับ รูปแบบของไอโซไซม์ FNR ที่แยกด้วยโพลีอะคริลาไมด์ เจลอิเลคโตรโฟรีซีส ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในจำนวน 17 แถบของ FNR ที่ตรวจพบในสารละลายเอนไซม์ที่แยกจากเซลล์มี 2 แถบ ที่เห็นชัด (Rf 0.20 และ 0.28) สามารถแยกเอนไซม์ FNR บริสุทธิ์สูงด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต(เข้มข้นอิ่มตัว 0-70 %) แยกในคอลัมน์ ดีอีเออี ทริสซาคริล ครั้งที่ 1 คอลัมน์ พี 11 ฟอสโฟเซลลูโลส คอลัมน์ ดีอีเออี ทริสซาคริล ครั้งที่ 2 และการแยกโดยวิธีโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซีส ได้เอนไซม์ FNR บริสุทธิ์สูงแถบเดียว (Rf 0.28) มีค่าแอคติวิตีจำเพาะใกล้เคียงกัน คือ 1.18 และ 1.25 หน่วย/มก.โปรตีน สำหรับสายพันธุ์ 137c และ PPQ-10/3 ตามลำดับ เมื่อนำเอนไซม์ที่แยกได้ไปศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ พบว่า พีเอชที่เหมาะสมสำหรับเร่งปฏิกิริยาไดอะโฟเรสของเอนไซม์ FNR จาก 2 สายพันธุ์ มีแอคติวิตีสูงสุดที่ ช่วงพีเอช 8.5-9.0 มีอุณหภูมิเหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 65-70°ซ ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 60 mM มีผลในการกระตุ้นปฏิกิริยาไดอะโฟเรสในสารละลายเอนไซม์เริ่มต้น แต่จะไม่มีผลในเอนไซม์บริสุทธิ์สูง จากการศึกษาค่าคงที่ทางจลศาสตร์ในเอนไซม์บริสุทธิ์สูงและเอนไซม์ที่แยกจากคอลัมน์ ดีอีเออี ทริสซาคริล ครั้งที่ 2 มีค่าใกล้เคียงกันมาก คือค่า Km ต่อสับสเตรต NADPH มีค่า 12.5±0.78 μM และ 13.3±0.89 μM ในสายพันธุ์ 137c และ PPQ-10/3 ตามลำดับ การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลโดยวิธีเอสดีเอส โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซีส ซึ่งได้แถบโปรตีนแถบเดียวมีค่าประมาณ 33,000 ดาลตัน ทั้งสองสายพันธุ์ ข้อมูลจากผลการทดลองทั้งในแง่คุณภาพและปริมาณของเอนไซม์ FNR พอสรุปได้ว่ากลไกการต้านพาราควอทใน C. reinhardtii สายพันธุ์ PPQ-10/3 ไม่ได้มีการทำงานผ่านการทำงานของเอนไซม์ FNR ในระบบการทำงานของ PS I

ภาควิชา ชีวเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา ชีวเคมี ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2534 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

C025946 : MAJOR BIOCHEMISTRY
KEY WORD : FERREDOXIN-NADP REDUCTASE/CHLAMYDOMONAS REINHARDTII/PARAQUAT RESISTANT

SUKUNTAROS TADAKITTISARN : FERREDOXIN-NADP REDUCTASE IN PARAQUAT RESISTANT CHLAMYDOMONAS REINHARDTII. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. SANHA PANICHAJAKUL, Ph.D. 126 pp. ISBN 974-581-655-8

Ferredoxin-NADP reductase was characterized and purified from the unicellular green alga Chlamydomonas reinhardtii wild type strain (137c) and paraquat resistant (PPQ-10/3) strains. The pattern of FNR synthesis was growth associative. The maximum growth of alga cells were established at $5x10^6$ and $2.4x10^6$ cells/ml medium in 137c and PPQ-10/3 respectively, whereas the growth rate of PPQ-10/3 cell line was slower than the wild type. At the late log phase the maximum yield of FNR activity was observed to be about 0.021 and 0.031 units/10^7 cells in 137c and PPQ-10/3 respectively. The isozyme patterns of the crude enzyme in the two cell lines were not significantly different. Among 17 bands of FNR isozymes observed there were 2 major bands (Rf 0.20 and 0.28) illustrated by the polyacrylamide gel electrophoresis. The highly purified (Rf 0.28 band) was obtained by $(NH_4)_2So_4$ fractionation (0-70 % saturation), 1st DEAE-trisacryl, P 11 phosphocellulose, 2nd DEAE-trisacryl column chromatography and the non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis. The specific activity of FNR purified from the 2 cell lines was not significantly different (1.18 units/mg protein in 137c and 1.25 unit/mg protein for PPQ-10/3 strain). The pH optimum of the two cell lines was in the same range at 8.5-9.0 and also the optimum temperature was about 65-70°c in both cell lines. The low concentration of NaCl (60mM) stimulated the FNR-mediated diaphorase activity in the crude enzyme but not in the highly purified enzyme and of the enzyme obtained from the 2nd DEAE-trisacryl column were almost the same about 12.5±0.78 μM and 13.3±0.89 μM in 137c and PPQ-10/3 strain respectively. The molecular mass calculated by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis in both strains were estimated to be about 33,000 dalton. The result suggested that the properties of FNR from the 137c and PPQ-10/3 were quite similar there was not significantly change in the major properties of enzyme both qualitative and quantitative through the function. It was concluded that the mechanism of paraquat resistant was not directly mediated by this redox enzyme in PS I system.

ภาควิชา ชีวเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา ชีวเคมี ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2534 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย และได้ตรวจแก้ไขจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดี

กราบของพระคุณ อาจารย์ ดร.สุกัญญา สุนทรส รองศาสตราจารย์ ดร.อรัญ อินเจริญศักดิ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา บุญ-หลง ที่กรุณาให้คำแนะนำตรวจแก้วิทยานิพนธ์ ตลอดจนคำปรึกษาในระหว่างทำงานวิจัย

กราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีวเคมีทุกท่านที่ได้ให้ความรู้พื้นฐาน คำแนะนำและความช่วยเหลือ ตลอดระยะเวลาที่ศึกษาอยู่ในภาควิชา

ขอบคุณภาควิชาชีวเคมีที่กรุณาเอื้อเฟื้อเครื่องมือ อุปกรณ์การทดลองตลอดจนความสะดวกในการทำวิจัย

ขอบคุณเจ้าหน้าที่ ภาควิชาชีวเคมีทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกตลอดระยะเวลาทำวิทยานิพนธ์

ขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย สำหรับความอนุเคราะห์ด้านทุนวิจัย

ขอบคุณคุณสุพร นุชดำรงค์ ที่ได้ให้สายพันธุ์สาหร่าย ในการทดลองตลอดจนคำแนะนำในการศึกษาเกี่ยวกับสาหร่าย

ขอบคุณเพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคนโดยเฉพาะ โอ่ง เจี๊ยบ นี้ ยุทธ และดา ที่ได้ให้ความช่วยเหลือเป็นกำลังใจ เป็นความประทับใจอย่างยิ่ง

กราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้สนับสนุนให้ได้ศึกษามาจนถึงเวลานี้ และท้ายที่สุดขอบคุณคุณอนุสรณ์ สำหรับทุก ๆ อย่าง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ญ

สารบัญรูป..... ฏ

คำย่อ..... ฒ

บทที่

1. บทนำ..... 1

2. เคมีภัณฑ์และครุภัณฑ์

2.1 เคมีภัณฑ์..... 12

2.2 ครุภัณฑ์..... 13

2.3 สายพันธุ์สาหร่าย..... 14

3. วิธีทดลอง

3.1 การเตรียมอาหารสำหรับ C. reinhardtii..... 15

3.2 การเตรียมสารละลายสำหรับทำโพลีอะไครลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซีส..... 18

3.3 สารละลายสำหรับเตรียมเอสดีเอส-โพลีอะไครลาไมด์เจล..... 19

3.4 วิธีการเพาะเลี้ยง C. reinhardtii..... 21

3.5 วิธีการติดตามการเจริญของ C. reinhardtii..... 22

3.6 การเตรียมเซลล์เพื่อสกัดเอนไซม์..... 24

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.7 การเตรียมสารละลายเอนไซม์..... 24

3.8 การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ FNR..... 25

3.9 การวัดปริมาณโปรตีน..... 25

3.10 การวัดปริมาณโปรตีนโดยวิธีการจับกับโคแมสซิบลู..... 26

3.11 วิธีการและขั้นตอนการทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์..... 27

3.12 การศึกษารูปแบบการสังเคราะห์เอนไซม์ FNR และการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเอนไซม์..... 33

3.13 การศึกษาน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์โดยวิธีเอสดีเอส-โพลีอะไครลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซีส ชนิดแผ่น..... 35

4. ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะและรูปแบบการเจริญของ C. reinhardtii..... 38

4.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแยกเอนไซม์..... 40

4.3 ผลการศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบของการผลิตเอนไซม์ FNR โดย C. reinhardtii สายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์ต้านพาราควอท.. 47

4.4 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเก็บรักษาเซลล์ C. reinhardtii เพื่อสกัดแยกเอนไซม์..... 49

4.5 ผลการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการทำให้เอนไซม์ FNR จาก C. reinhardtii สายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์ต้านพาราควอท บริสุทธิ์.....49

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.6 ผลการทำให้เอนไซม์ FNR ที่แยกจาก C. reinhardtii สายพันธุ์ต้านพาราควอทบริสุทธิ์..... 73

4.7 ผลการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของเอนไซม์ FNR ที่มีความบริสุทธิ์สูง ซึ่งแยกได้จาก C. reinhardtii สายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์ต้านพาราควอท..... 73

5. วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง..... 86

เอกสารอ้างอิง..... 110

ภาคผนวก

1. กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ DCPIP..... 120

2. กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีลอรี..... 121

3. กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีการจับกับโคแมสซิบลู.....122

4. กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตบัฟเฟอร์..... 123

5. กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณทริสบัฟเฟอร์..... 124

6. การแปรเปลี่ยนค่า OD_{800} ต่อนาทีของการวัดปริมาณเอนไซม์ FNR โดยวิธีไดอะโฟเรส..... 125

ประวัติผู้เขียน..... 126

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

1. ผลการหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องกำเนิดเสียงความถี่สูง..... 41

2. ผลการศึกษาอัตราส่วนของเซลล์ C. reinhardtii ต่อบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการสกัดแยกเอนไซม์ FNR..... 43

3. ผลการตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 0-80%..... 53

4. สรุปขั้นตอนเบื้องต้นของการทำให้เอนไซม์ FNR จาก C. reinhardtii สายพันธุ์ดั้งเดิมบริสุทธิ์บางส่วน..... 56

5. สรุปผลการทำให้เอนไซม์ FNR จาก C. reinhardtii สายพันธุ์ดั้งเดิม (137c) บริสุทธิ์ตามขั้นตอนต่าง ๆ..... 70

6. สรุปผลการทำให้เอนไซม์ FNR จาก C. reinhardtii สายพันธุ์ต้านพาราควอท(PRQ-10/3) บริสุทธิ์ตามขั้นตอนต่าง ๆ 78

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่

1.1 สมการแสดงการเกิดพาราควอทเรดิกัลและซุปเปอร์ออกไซด์เรดิกัล ซึ่งมีผลต่อเนื่องทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และไฮดรอกซิลเรดิกัล ($OH^{\bullet}$)..... 2

1.2 สมมติฐานการเกิดและการกำจัดสารประกอบซุปเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในคลอโรพลาสต์..... 6

1.3 Z-scheme แสดงวิถีของการส่งผ่านอิเลคตรอนในคลอโรพลาสต์.. 7

1.4 สมมติฐานการเรียงตัวของส่วนประกอบการส่งผ่านอิเลคตรอนบนเยื่อไธลาคอยด์ของคลอโรพลาสต์และสมมติฐานกระบวนการกำจัดพิษของสารประกอบซุปเปอร์ออกไซด์เรดิกัลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์..... 10

3.1 การเพาะเลี้ยง C. reinhardtii 23

3.2 ขั้นตอนการแยกเอนไซม์ FNR จาก C. reinhardtii ให้บริสุทธิ์..... 28

4.1 ลักษณะการเจริญของ C. reinhardtii ในอาหารสูตร TMP ในขวดก้นชมพู่ขนาด 4 ลิตร ติดตามการเจริญโดยการวัดความหนาแน่นของเซลล์ (OD_{540}) นับจำนวนเซลล์ และวัดปริมาณคลอโรฟิลล์เอ..... 39

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

4.2 ผลการแปรเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (0-320 mM) ของการวัดปริมาณแอคติวิตีในปฏิกิริยาไดอะโฟเรสของเอนไซม์ FNRในการรีดิวส์ DCPIP ด้วย NADPH..... 46

4.3 รูปแบบการผลิตเอนไซม์ FNR และปริมาณโปรตีนที่ระยะต่าง ๆ ของการเจริญของ C. reinhardtii ที่เลี้ยงในอาหาร TMP.... 48

4.4 ผลการเก็บรักษาเซลล์ C. reinhardtii ในสภาพ packed cell ที่อุณหภูมิ 4°ซ และ -4°ซ ที่สัปดาห์ต่าง ๆ 50

4.5 ผลการแยกสารละลายเอนไซม์ FNR เริ่มต้นจาก C. reinhardtii สายพันธุ์ดั้งเดิม (137c) และสายพันธุ์ต้านพาราควอท (PPQ-10/3) ด้วยวิธีโพลีอะไครลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซีส..... 52

4.6 ผลการแยกเอนไซม์ FNR ในคอลัมน์ดีอีเออี ทริสซาคริล..... 55

4.7 รูปแบบไดโซไซม์ของ FNR จาก C. reinhardtii ที่ได้จากคอลัมน์ดีอีเออี ทริสซาคริล เปรียบเทียบกับสารละลายเอนไซม์เริ่มต้นโดยนำมาแยกในโพลีอะไครลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซีส..... 58

4.8 ผลการแยกเอนไซม์ FNR ในคอลัมน์พี 11 ฟอสโฟเซลลูโลส..... 61

4.9 รูปแบบของโปรตีนและไอโซไซม์ของ FNR จาก C. reinhardtii ที่แยกได้จากคอลัมน์ พี 11 ฟอสโฟเซลลูโลสและเซฟฟาเด็กซ์ จี 100 แยกโดยวิธีโพลีอะไครลาไมด์เจล อิเลคโตรโฟรีซีส..... 62

4.10 ผลการแยกเอนไซม์ FNR ในคอลัมน์เซฟฟาเด็กซ์ จี-100..... 64

4.11 ผลการแยกเอนไซม์ FNR จาก C. reinhardtii สายพันธุ์ดั้งเดิม (137c) ให้บริสุทธิ์ตามขั้นตอนต่าง ๆ ตามลำดับ..... 66

4.12 รูปแบบไอโซไซม์ของ FNR จาก C. reinhardtii ที่ทำให้บริสุทธิ์ในขั้นตอนต่าง ๆ โดยนำมาเปรียบเทียบจำนวนแถบไอโซไซม์และโปรตีน ด้วยวิธีโพลีอะไครลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซีส..... 72

4.13 ผลการแยกเอนไซม์ FNR จาก C. reinhardtii สายพันธุ์ต้านพาราควอท (PPQ-10/3) ให้บริสุทธิ์ตามขั้นตอนต่าง ๆ ตามลำดับ..... 74

4.14 ผลกระทบของพีเอชต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ FNR จาก C. reinhardtii ที่ทำให้บริสุทธิ์ถึงคอลัมน์ดีอีเออี ทริสซาคริล ครั้งที่ 2..... 80

4.15 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาของ FNR จาก C. reinhardtii ที่ทำให้บริสุทธิ์ตามขั้นตอนต่าง ๆ ถึงคอลัมน์ดีอีเออี ทริสซาคริล ครั้งที่ 2..... 81

4.16 Lineweaver-Burk plot ของเอนไซม์ FNR จาก C. reinhardtii สองสายพันธุ์โดยปฏิกิริยาไดอะโฟเรสในการรีดิวส์ DCPIP ในสภาพที่มี NADPH..... 82

4.17 ผลการเปรียบเทียบการเคลื่อนที่ของโปรตีนมาตรฐานกับเอนไซม์ FNR จาก C. reinhardtii สองสายพันธุ์ในการศึกษาน้ำหนักโมเลกุลโดยวิธีเอสดีเอส-โพลีอะไครลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซิส.. 84

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

4.18 เส้นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง mobility และค่า log ของน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานในการศึกษาน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ FNR โดยวิธี เอสดีเอส-โพลีอะไครลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซีส..... 85

5.1 สมการแสดงการเกิดปฏิกิริยาไดอะโฟเรสในการรีดิวซ์ DCPIP ของ NADPH โดยเอนไซม์ FNR ซึ่งมี FAD เป็นโคเอนไซม์ ทำหน้าที่ในการส่งผ่านอิเลคตรอน..... 91

5.2 ปฏิกิริยาของเอนไซม์ EPSP Synthase แสดงโครงสร้างทางเคมีของสับสเตรตและไกลโฟเสท..... 105

ค่าย่อ

°ช.	= องศาเซลเซียส
ซม.	= เซนติเมตร
มก.	= มิลลิกรัม
มล.	= มิลลิลิตร
ทริส	= Tris-hydroxymethyl aminomethane
เอสดีเอส	= Sodium dodecyl sulfate
DCPIP	= Dichlorophenolindophenol
NADPH	= Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
PMSF	= Phenylmethylsulfonyl fluoride
EDTA	= Ethylene diamine tetra-acetic acid
INT	= Iodophenyl-nitrophenyl tetrazolium chloride
FNR	= เฟอริดอกซินเอนเอดีพีรีดักเตส
K_m	= Michaelis-Menten Constant
PS I	= Photosystem I
PS II	= Photosystem II
P	= พาราควอท
Fd	= เฟอริดอกซิน
GSH	= กลูตาไธโอน
Asc	= แอสคอเบท

คำย่อ(ต่อ)

DHA	= ดีไฮโดรแอสคอเบท
FAD	= Flavin adenine dinucleotide
Prot.	= Protein
Act.	= Activity