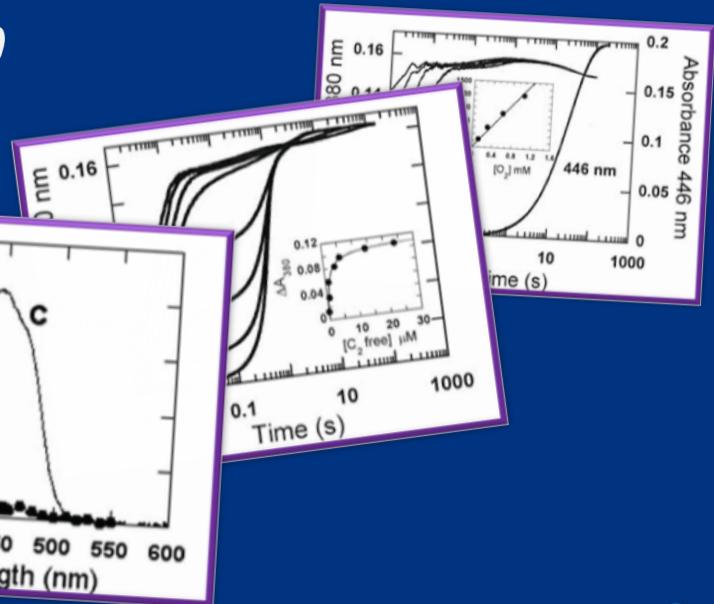
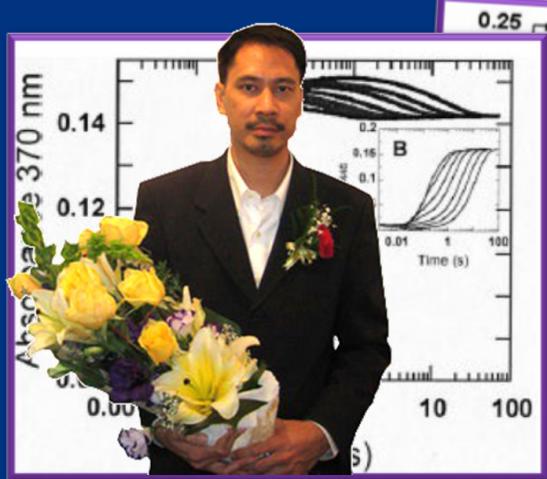




## มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ក្រសួងពេទ្យ



รายงานวัสดุที่ขาดหายไปในช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๒

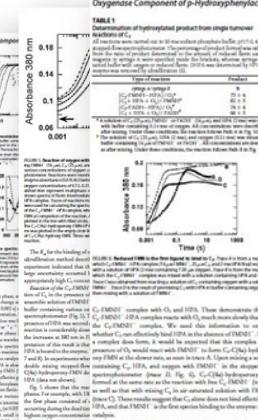
รายงานวิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชากษาสัตว์

ເຄມື່ແລະເກສົ້າ ຂອງສປວກິຈຍແຮ່ງໝາຕີ ປະຈຳປີ 2552

គិតវិទ្យានិពន្ធនឹង “ការគិតចាញេលនផលគារសំរែ  
និងការប្រើប្រាស់បន្ទីកធម្មជាមិនខុសពីគិតវិទ្យា” និង  
ការប្រើប្រាស់បន្ទីកធម្មជាមិនខុសពីគិតវិទ្យា និង  
ការប្រើប្រាស់បន្ទីកធម្មជាមិនខុសពីគិតវិទ្យា

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ถือเป็นรายงานครั้งแรกของประเทศไทย  
ที่นำเทคโนโลยี pre-steady state kinetics (จลนพลศาสตร์ก่อน  
สภาวะคงตัว) มาใช้ในการศึกษา  
กลไกการทำงานของเอนไซม์ใน  
ระดับเชิงลึก ซึ่งเทคโนโลยีนี้นับเป็น  
รากฐานสำคัญในการเพิ่ม  
มาตราฐานให้งานวิจัยทาง  
วิทยาศาสตร์ของไทยทัดเทียมกับ  
ระดับนานาชาติด้วย และยังถือเป็น  
งานวิจัยระดับสากลชั้นแรกๆ ที่  
 wang รากฐานความเข้าใจที่ถูกต้อง  
เกี่ยวกับกลไกการทำงานของกลุ่ม  
เอนไซม์ p-Hydroxyphenyl  
acetate hydroxylase

เอนไซม์ p-Hydroxyphenylacetate hydroxylase มีส่วนในการบวบเนื้อสารประเทกฟินอลโดยจุตินทรีย์และสำคัญต่อการย่อยสารอินทรีย์โดยกระบวนการทางชีวภาพ คือการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้จะมีเอนไซม์รีดักเกสและออกซิเจนในการกำปฏิกิริยา และผู้วิจัยเห็นว่า จลนเพลศศาสตร์ก่อนสภากาชาดตัวของเอนไซม์ออกซิเจนเนสที่มีสารพลาวนเป็นองค์ประกอบแกบไม่มีการศึกษามาก่อน เเลย จึงสร้างเครื่องมือวิจัยใหม่ศึกษาがらไกการทำงานของเอนไซม์ออกซิเจนเนส และการส่งผ่านสารประกาบเริ่ดพลาวนให้เกิดองค์ความรู้ใหม่



### Oxygenase Component of *p*-Hydroxyphenylacetate 3-Hydroxylase

FIGURE 1. Kinetics of ATO-20000 complex formation. (A) Absorbance at 360 nm was measured by discrete sampling. (B) Equilibrium constant for quenching reaction in the presence of 100  $\mu$ M ATO-20000 was determined by titration. The absorbance at 360 nm was measured at 2, 4, 6, 8, and 10 s after quencher was added with the reactant solution. The absorbance at 360 nm was measured at 0.001, 0.01, 0.1, 1, and 10 s after addition of 100  $\mu$ M ATO-20000 to 1 mM and 100  $\mu$ M rhodamine. Quenchers were measured by absorbance at 360 nm. (C) Quenching of fluorescence of 1 mM rhodamine by 100  $\mu$ M ATO-20000. A plot of the logarithm of the ratio of fluorescence intensity at 360 nm to that at 550 nm versus time represents the kinetics of ATO-20000 quenching.

The thermodynamics of binding of  $\text{Fe}^{2+}$  to  $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{MDSI}$  prior to the formation of the  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{F}_{13})_2$  hydride complex was studied by spectrophotometry, where various concentrations of  $\text{Fe}^{2+}$  were mixed with a fixed concentration of  $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{MDSI}$ . The absorbance at  $350 \text{ nm}$  decreased with increasing concentration of  $\text{Fe}^{2+}$  in the solution after double minima. The reaction was reversible, and the equilibrium constant was calculated for the hydride complex.  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{F}_{13})_2$  hydride complex reacted with this concentration of oxygen at  $-10^\circ\text{C}$ , and length increased from  $1.05 \text{ nm}$  to  $1.10 \text{ nm}$  at  $-10^\circ\text{C}$  and  $1.12 \text{ nm}$  at  $25^\circ\text{C}$ . Using the increasing time of the  $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{MDSI}$  hydride complex formation, the equilibrium constant for the formation of  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{F}_{13})_2$  hydride complex was measured at  $-10^\circ\text{C}$  and  $25^\circ\text{C}$ . The reaction was completed by dissolving  $\text{Fe}^{2+}$  in  $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{MDSI}$  at  $-10^\circ\text{C}$ , and the reaction was completed by dissolving  $\text{Fe}^{2+}$  in  $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{MDSI}$  at  $25^\circ\text{C}$ . The cluster was formed at  $-10^\circ\text{C}$  and  $25^\circ\text{C}$  in Fig. 5. The  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{F}_{13})_2$  hydride complex with oxygen reacts with more energy than does  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{F}_{13})_2$ . Figure 7 shows that the amount of  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{F}_{13})_2$  hydride complex increases with increasing temperature. The equilibrium constant for the formation of  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{F}_{13})_2$  hydride complex increases when oxygen becomes more active. In Figure 8, it is indicated that the equilibrium constant for the formation of  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{F}_{13})_2$  hydride complex increases with oxygen concentration. The equilibrium constant for binding of  $\text{O}_2$  to  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{F}_{13})_2$  hydride complex depends on the kind of the substituent group. The equilibrium constant for the formation of  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{F}_{13})_2$  hydride complex is  $1.6 \times 10^{-2}$ .

**Binding of HbA to Cx.** After binding to Cx, no further increase in oxygen affinity was observed with increasing concentrations of two pairs of (Fig. 1D). At Cx/CxMFI<sup>0</sup> = 1, prior to mixing with oxygen, and at Cx/CxMFI<sup>100</sup>, hyperoxia (P<sub>O<sub>2</sub></sub> = 1000 mmHg) did not change the oxygen affinity. The kinetics and thermodynamics of binding of HbA to Cx/CxMFI<sup>100</sup> were similar to those observed by deoxygenated HbA (Fig. 1C). The first order rate constant for HbA to CxMFI<sup>100</sup> under anaerobic conditions was 1.5 times faster than the rate constant for HbA to Cx. In contrast, the second order rate constant for HbA to CxMFI<sup>100</sup> after various times of aging, the second order rate constant for HbA to CxMFI<sup>100</sup> increased with time (Fig. 1E). The rate constant for HbA to CxMFI<sup>100</sup> in the first step, and oxygen affinity increased with time (Fig. 1F).

ប្រព័ន្ធខាងក្រោមទី១៩០០រវិទ្យា

นอกจากการวิจัยชิ้นนี้จะก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ที่หักล้างแนวคิดเดิมเกี่ยวกับการส่งผ่านสารประกอบบรีดิวซ์ฟลาเวนระหว่างโปรตีนในเซลล์แล้ว ยังจะมีบทบาทสำคัญต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในภาคอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคตได้อีกด้วย เช่น อุตสาหกรรมการสังเคราะห์สารเคมี ด้วยวิธีชงสังเคราะห์ อุตสาหกรรมการผลิตยาปฏิชีวนะ และอุตสาหกรรมการทำจัดสารพิษในสิ่งแวดล้อมและการบำบัดของเสียด้วยวิธีทางชีวเคมี ชั้นต้น