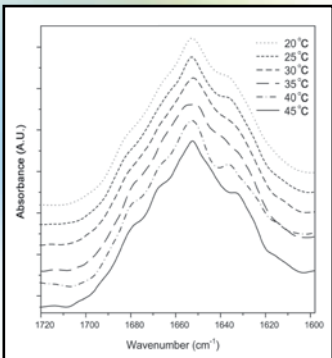




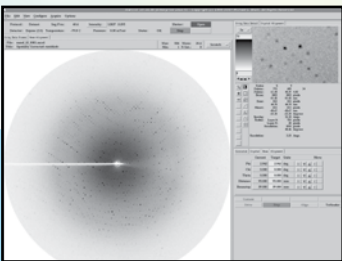
## การศึกษาโครงสร้างของเอนไซม์ แมนแนนเนส เพื่อใช้ในการอธิบาย คุณสมบัติการเร่งปฏิกิริยา



รูป 1 สเปกตรัมที่ได้จากเทคนิค  
IR Spectroscopy



รูป 2 ผลึกเอนไซม์แมนแนนเนส



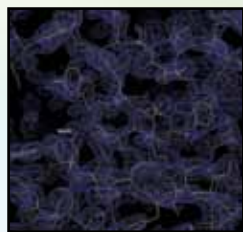
รูป 3 แบบแผนการหักเหรังสีเอกซ์

เอนไซม์แมนแนนเนสเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม  
ไกลโคซิลไฮโดรเลส (GH26) ซึ่งมีคุณสมบัติในการเร่ง  
ปฏิกิริยการย่อยโมเลกุลน้ำตาลสายยาวซึ่งพบมากใน  
หัวบุกและกากมะพร้าว ให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นน้ำตาล  
สายสั้นลงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม  
การผลิตอาหารและอาหารเสริม ซึ่งมีประโยชน์ในเชิง  
การเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบการเกษตร

คณะผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการผลิต  
เอนไซม์แมนแนนเนสที่บริสุทธิ์จากแบคทีเรีย *Bacillus*  
*licheniformis* และทดสอบคุณสมบัติการเร่งปฏิกิริยา  
ที่สภาวะต่างๆ พบว่าเอนไซม์ทำงานได้ดีที่ pH 6.0-7.0  
และอุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่  
เหมาะสมในการประยุกต์ใช้จริงในระดับอุตสาหกรรม  
จากการวิเคราะห์ผลผลิตที่ได้จากการย่อยโมเลกุล  
น้ำตาลของเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์มีความจำเพาะใน  
การเร่งปฏิกิริยาของสารตั้งต้นโมเลกุลน้ำตาลชนิดต่างๆ  
แตกต่างกัน นอกจากนั้นได้ทำการตรวจสอบคุณสมบัติ  
โครงสร้างหน่วยย่อยและน้ำหนักโมเลกุลเอนไซม์ด้วย  
เทคนิค MALDI-TOF Mass Spectrometry รวมถึง

วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของเอนไซม์  
ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Infrared Spectroscopy  
ที่สถานีทดลอง IR Spectroscopy and Imaging  
ณ สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน) พบว่า  
โครงสร้างทุติยภูมิของเอนไซม์ เริ่มมีการเปลี่ยนแปลง  
ที่อุณหภูมิ 40-45°C แต่อย่างไรก็ตามไม่พบการ  
เปลี่ยนแปลงโครงสร้างในระดับที่ทำให้โปรตีนสูญเสีย  
คุณสมบัติ ซึ่งผลที่ได้ผลสอดคล้องกับการศึกษาผล  
ของอุณหภูมิต่อคุณสมบัติความเสถียรของเอนไซม์

เพื่อนำไปสู่ความเข้าใจกลไกการเร่งปฏิกิริยา  
ของเอนไซม์ให้ดีขึ้น จึงได้เตรียมผลึกเอนไซม์ดังกล่าว  
ในห้องปฏิบัติการแสงสยาม และ เก็บข้อมูลการหักเห  
รังสีเอกซ์โดยเครื่อง X-ray diffractometer ณ ปลาย  
สถานีทดลอง Macromolecule Crystallography (MX)  
ของสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน ซึ่งแบบแผนการหักเห  
รังสีเอกซ์ที่ระดับความแยกแยะ 2.3 อังสตรอม ได้ถูกนำ  
ไปประมวลผลเพื่อหากลุ่มสมมาตรและขนาด unit cell  
ของผลึกซึ่งสามารถหาเฟสเริ่มต้นเพื่อวิเคราะห์โครงสร้าง  
สามมิติของเอนไซม์ได้



รูป 4 แผนภาพความหนาแน่นอิเล็กตรอน

ดร. ชมกฤษ สงศิริฤทธิกุล ดร. วราภรณ์ ตันพานิช และศศิธร ลาภบุญเรือง  
สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน)

ดร. สิทธิรักษ์ รอยตระกูล

สถาบันจันม ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

นายบัญชา บุรณะบัญญัติ และรศ.ดร. มณฑาทิพย์ ยามภัย

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Prof. Dietmar Haltrich,

BOKU, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria

### เอกสารอ้างอิง

1. Songsiririthigul, C, Lapboonrueng, S, Roytrakul, S, Haltrich, D, Yamabhai, M. Crystallization and Preliminary Crystallographic Analysis of  $\beta$ -Mannanase from *Bacillus licheniformis*. Acta Cryst. 2011; F67: 217-220.
2. Yamabhai M, Buranabanyat B, Jaruseranee N, Songsiririthigul C. Efficient E. coli expression systems for the production of recombinant  $\beta$  -mannanases and other bacterial extracellular enzymes. Bio Bugs. 2011; 2:1, 1-5.
3. Songsiririthigul, C, Lapboonrueng, S, Roytrakul, S, Haltrich, D, Yamabhai, M. Crystallization and Preliminary Crystallographic Analysis of  $\beta$  -Mannanase from *Bacillus licheniformis*. Acta Cryst. 2011; F67: 217-220.
4. Lapboonrueng, S, Songsiririthigul, C, Tanthanuch, W, Roytrakul, S, Haltrich, D, Yamabhai, M. Structural analysis of  $\beta$  -mannanase from *Bacillus licheniformis*. Proceeding of The 3<sup>rd</sup> BMB International Conference "From Basic to Translational Researches for a Better Life"; The Empress Convention Centre, Chiangmai, Thailand, 6th-8th April, 2011.
5. Songsiririthigul C, Buranabanyat B, Haltrich D, Yamabhai M. Efficient recombinant expression and secretion of a thermostable GH26 mannan endo-1,4-  $\beta$  -mannosidase from *Bacillus licheniformis* in *Escherichia coli*. Microb Cell Fact. 2010; 9(20). doi:10.1186/1475-2859-9-20.
6. Yamabhai M, Emrat S, Sukasem S, Pesatcha P, Jaruseranee N, Buranabanyat B. Secretion of recombinant *Bacillus* hydrolytic enzymes using *Escherichia coli* expression systems. J. Biotechnol. 2008; 133(1): 50-7.