บทคัดย่อ

209221

โปรติเอสขนาด 48 kDa (AMP48) สามารถแยกและทำให้บริสุทธิ์จากน้ำยางของต้น *Artocarpus heterophyllus* (ขนุน) ด้วยการตกตะกอนด้วยกรด และโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนไอออน เอนไซม์นี้จัดอยู่ในกลุ่มของ serine protease เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์สามารถถูกยับยั้งด้วย phenylmethanesulfonyl fluoride และ soybean trypsin inhibitor เอนไซม์นี้มีลำดับกรดอะมิโนจาก N-terminal คือ A-Q-E-G-G-K-D-D-D-G-G ซึ่งเป็นลำดับกรดอะมิโนที่ไม่มีความเหมือนกับกรดอะมิโนของโปรตีนใน BLAST databases และจาก serine protease ของพืชอื่น ๆ โครงสร้างทุติยภูมิของเอนไซม์ชนิดนี้ประกอบด้วย α-helix 51% และ β-sheet 9% AMP48 มีคุณสมบัติย่อยไฟบริโนเจนของมนุษย์ (fibinogenolytic acivity) โดยมีประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดที่อุณหภูมิระหว่าง 55 ถึง 60 $^{\circ}$C ที่ pH 8 โดยเอนไซม์สามารถย่อย α subunit ได้ดีตามด้วย β และ γ subunit นอกจากนี้เอนไซม์นี้มีคุณสมบัติย่อยก้อนไฟบรินได้เมื่อศึกษาการย่อยด้วย SDS-PAGE และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิที่เปลี่ยนไปของก้อนไฟบรินเมื่อย่อยด้วย AMP48 โดยใช้เทคนิค ATR-FTIR spectroscopy

Abstract

209221

A 48-kDa protease (AMP48) was isolated and purified from crude latex of *Artocarpus heterophyllus* (jackfruit) by acid precipitation and ion exchange chromatography. Enzyme activity of AMP48 was strongly inhibited by phenylmethanesulfonyl fluoride and soybean trypsin inhibitor, indicating that the enzyme was a plant serine protease. The N-terminal amino acid sequences (A-Q-E-G-G-K-D-D-D-G-G) of AMP48 had no sequence similarity matches with any sequence databases of BLAST search and other plant serine protease. The secondary structure of this enzyme was composed of high α-helix (51%) and low β-sheet (9%). AMP48 had fibrinogenolytic activity with maximal activity between 55 and 60 °C at pH 8. The enzyme efficiently hydrolyzed α followed by partially hydrolyzed β and γ subunits of human fibrinogen. In addition, the fibrinolytic activity was observed through the degradation products by SDS-PAGE and monitoring the alteration of secondary structure of fibrin clot after enzyme digestion using ATR-FTIR spectroscopy.