

คม323 ชีวเคมี 1



อ. กัญญา บุตรราช

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้



ห้อง 3403 อาคารจุฬารักษ์



CH323 Biochemistry1



Kanya Buttaraj

โปรตีน

เรื่อง	หน้า
1. กรดอะมิโน	4
2. คุณสมบัติของกรดอะมิโน	9
4. สเตอริโอเคมีของกรดอะมิโน	21
3. โครงสร้างของโปรตีน	30
4. คุณสมบัติของโปรตีน	50
5. หน้าที่ของโปรตีน	57

โปรตีน (Protein) เป็นสารอินทรีย์ขนาดใหญ่ (macromolecule) พบในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด และในทุกเซลล์ ในร่างกายมีโปรตีน**ปริมาณมากที่สุด**เมื่อเทียบกับสารชีวโมเลกุลอื่นๆ (ไม่นับน้ำ) โดยคิดเป็นน้ำหนักมากกว่า **50%** ของสารทั้งหมด ดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 องค์ประกอบชีวมวลโดยเฉลี่ยของเซลล์ *E. coli*

Typical 'wild-type' composition

Protein (55.0%)

L-alanine	L-arginine	L-asparagine
L-aspartate	L-cysteine	L-glutamine
L-glutamate	glycine	L-histidine
L-isoleucine	L-leucine	L-lysine
L-methionine	L-phenylalanine	L-proline
L-serine	L-threonine	L-tryptophan
L-tyrosine	L-valine	

Lipid (9.1%)

structure

phosphatidylethanolamine

phosphatidylglycerol^d

cardiolipin

acyl chain length: number of unsaturated bonds

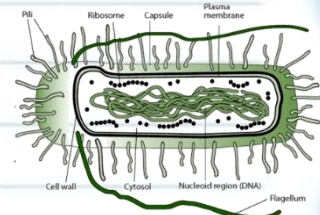
16:0

16:1

18:1

LPS (3.4%)

inner/outer core KDO₂ lipid A



RNA (20.5%)

ATP	CTP	GTP
UTP		

Cofactors, Prosthetic Groups and Other (<2.9%)

S-adenosylmethionine

FAD

coenzyme A

NAD(P)

thiamine diphosphate

riboflavin

undecaprenyl pyrophosphate

pyridoxal 5'-phosphate^b

folates

quinones

hemes

DNA (3.1%)

dATP	dCTP	dGTP
dTTP		

chorismate

enterobactin

glutathione

putrescine

spermidine

vitamin B₁₂

Inorganic ions (1.0%)

ammonium	calcium	chlorine
cobalt	copper	iron
magnesium	manganese	molybdate
phosphorous	potassium	sulfate
zinc		

Murein (2.5%)

structure

murein disaccharide

peptide chain length

pentapeptide

tetrapeptide

Glycogen (2.5%)

glycogen

Protein

Lipid

Nucleic acid

carbohydrate

'Core' biomass composition substitutes

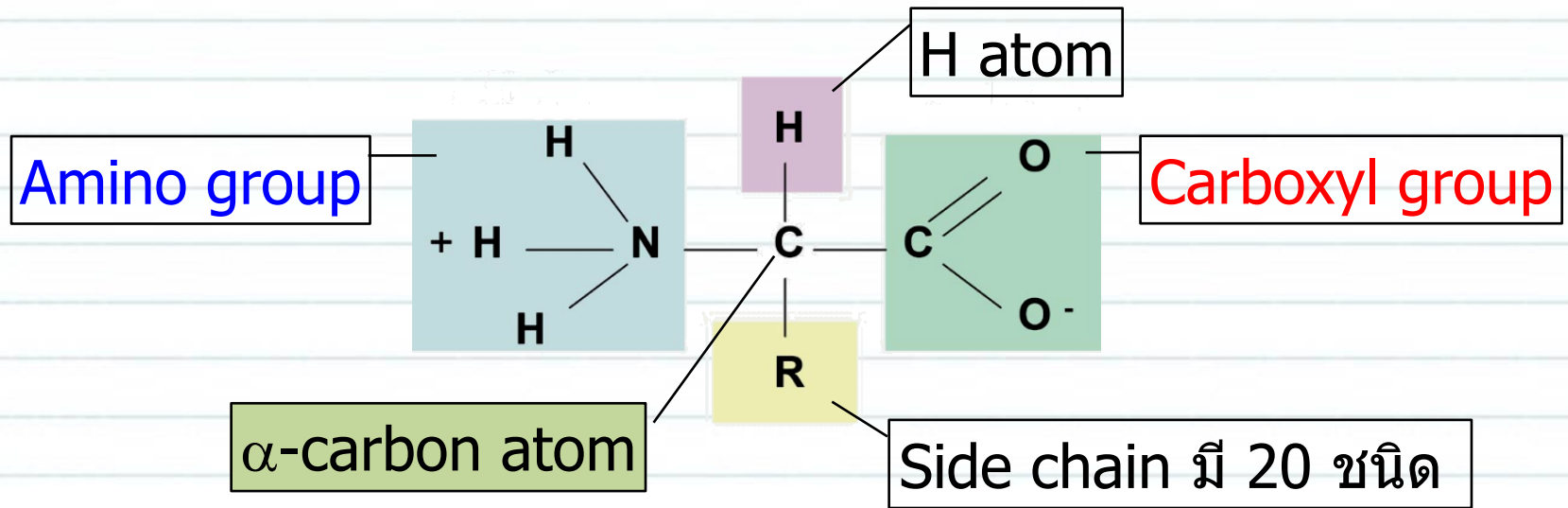
กรดอะมิโน

โปรตีนในธรรมชาติประกอบด้วยกรดอะมิโนพื้นฐาน (basic amino acids) 20 ชนิด โดยโครงสร้างของกรดอะมิโนประกอบด้วย

- | | |
|------------------|-----------------|
| - Carboxyl group | COOH |
| - Amino group | NH ₂ |
| - H atom | H |
| - Side chain | R (20 ชนิด) |

องค์ประกอบทั้ง 4 จับกับคาร์บอนอะตอมกลาง หรือ α -carbon atom

กรดอะมิโน



รูป 1 โครงสร้างของแอลฟา-อะมิโน แอซิด (α -amino acid)

ดัดแปลงจาก : <http://www.proprofs.com/flashcards/cardshowall.php?title=biological-molecules-aqa-proteins>

Side chain ที่แตกต่างกัน 20 ชนิด เป็นตัวกำหนดคุณสมบัติของกรดอะมิโน จึงแบ่งกรดอะมิโนเป็น 3 กลุ่มตามคุณสมบัติของ side chain ดังตาราง 2

ตาราง 2 โครงสร้างโมเลกุลของกรดอะมิโนพื้นฐานทั้ง 20 ชนิด

1. Nonpolar amino acids

กรดอะมิโนที่ไม่มีขั้ว ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) มี 9 ชนิด

2. Polar amino acids

กรดอะมิโนที่มีขั้ว ไม่แตกตัวเป็นประจุ ชอบน้ำมี 6 ชนิด

3. Charged amino acids

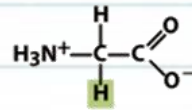
กรดอะมิโนที่แตกตัวเป็นประจุ มี 5 ชนิด

Acidic amino acids (-)

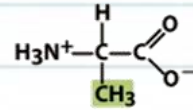
Basic amino acids (+)

ดัดแปลงจาก: <http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/lectures/aminoacids01.jpg>

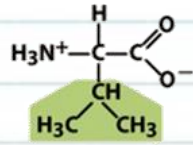
Nonpolar side chains



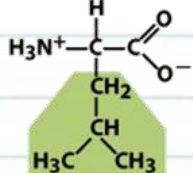
Glycine (G)
Gly



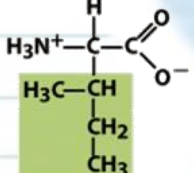
Alanine (A)
Ala



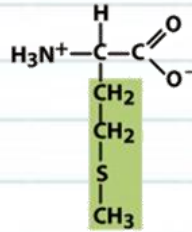
Valine (V)
Val



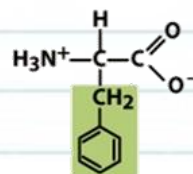
Leucine (L)
Leu



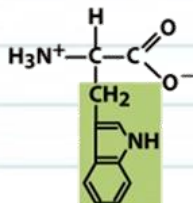
Isoleucine (I)
Ile



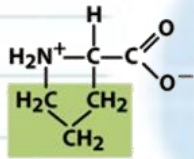
Methionine (M)
Met



Phenylalanine (F)
Phe

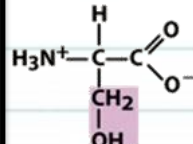


Tryptophan (W)
Trp

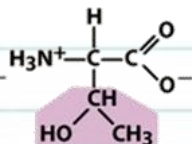


Proline (P)
Pro

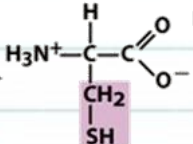
Polar side chains



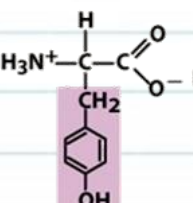
Serine (S)
Ser



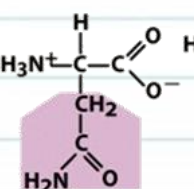
Threonine (T)
Thr



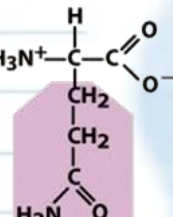
Cysteine (C)
Cys



Tyrosine (Y)
Tyr



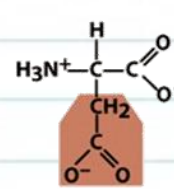
Asparagine (N)
Asn



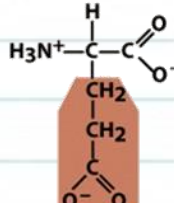
Glutamine (Q)
Gln

Charged side chains

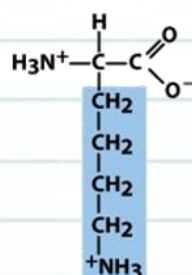
Acid : Side chain ติดประจุ -



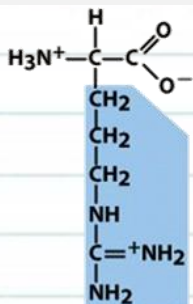
Aspartate (D)
Asp



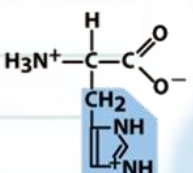
Glutamate (E)
Glu



Lysine (K)
Lys



Arginine (R)
Arg

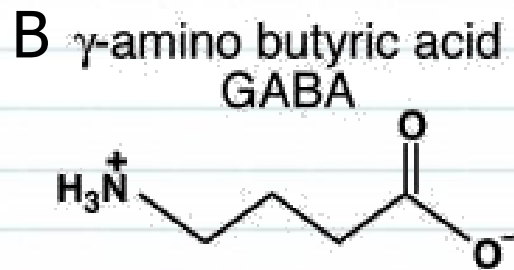
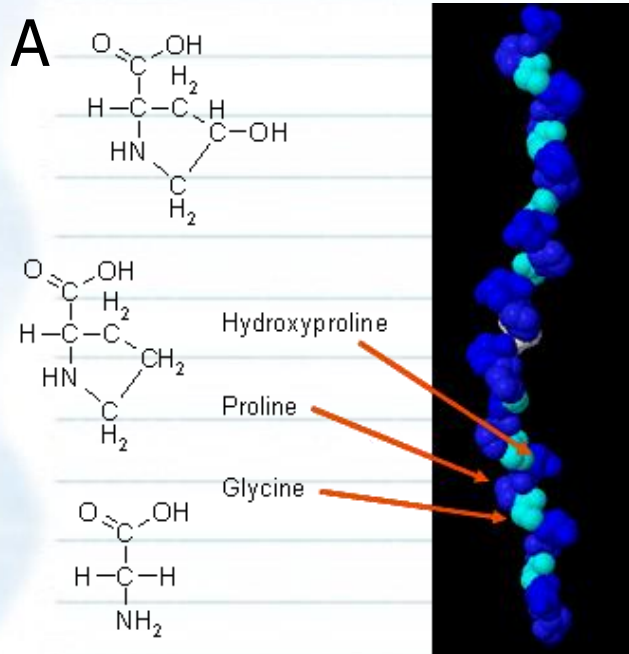


Histidine (H)
His

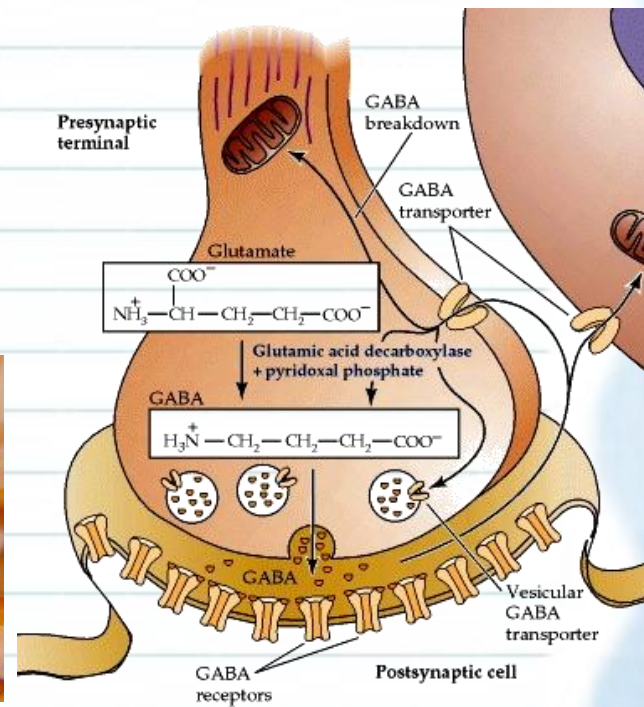
Base : Side chain ติดประจุ +

กรดอะมิโน

นอกจากนี้ยังพบ **นอนโปรตีนोजेनิก อะมิโน แอซิด** (nonproteinogenic amino acid) ซึ่งอาจเป็นองค์ประกอบของโปรตีนหรือไม่ก็ได้ เช่น **ไฮดรอกซีโพรลีน** (hydroxyproline) และ **แกมมา-อะมิโนบิวไทริก แอซิด** (γ -amino butyric acid; GABA) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทประสาทแบบยับยั้ง (inhibitory neurotransmitter)



พบมากในข้าวกล้องงอก



รูป 2 โครงสร้างของไฮดรอกซีโพรลีน (A) และแกมมา-อะมิโน บิวไทริก แอซิด (B)

ที่มา : <https://.../Collagen+-+B+-rgam>, www.getnutri.com/gaba.html, www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=n...

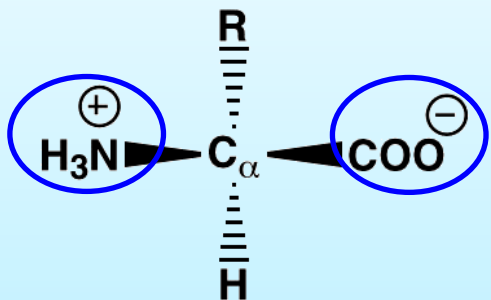
กรดอะมิโน

แบบฝึกหัด 1: โครงสร้างกรดอะมิโน

โครงสร้างต่อไปนี้ ถ้า**เป็น**กรดอะมิโน กาเครื่องหมาย ☒ และระบุชนิดของกรดอะมิโน

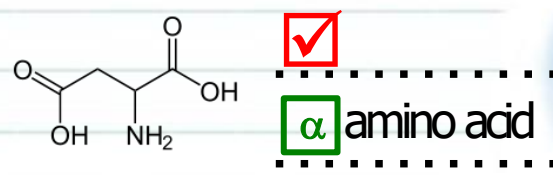
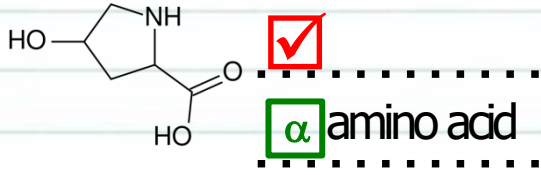
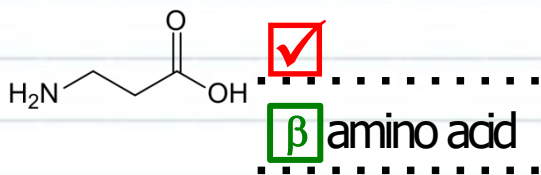
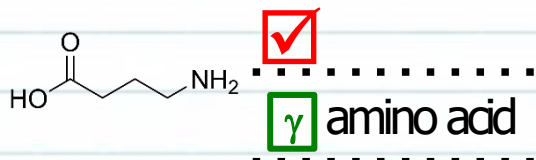
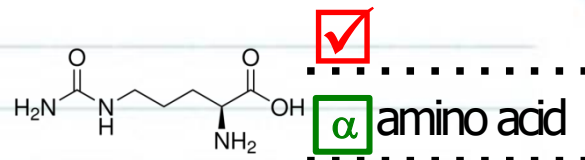
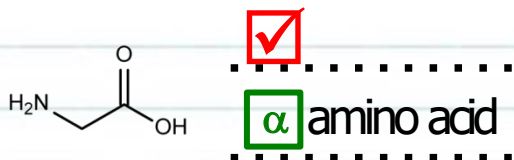
(α , β , หรือ γ) ด้วย

ถ้า**ไม่**เป็นกรดอะมิโน กาเครื่องหมาย ☒



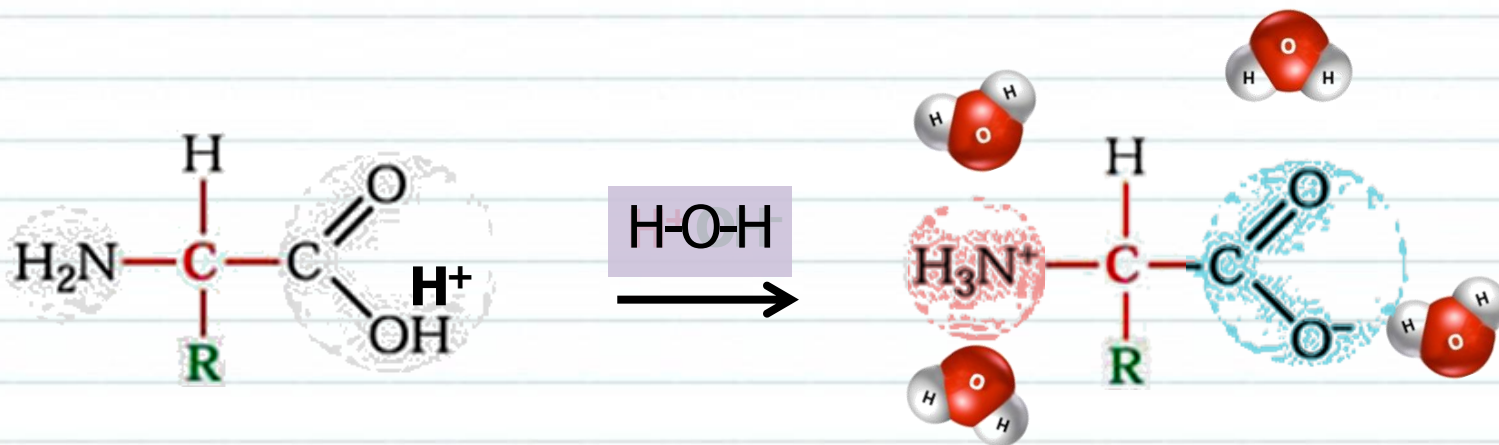
ถ้ามี NH_3^+ และ COO^-
เป็นกรดอะมิโน

ถ้า NH_3^+ และ COO^- จับกับ C_α
เป็น α -amino acid



คุณสมบัติของกรดอะมิโน

1. ความสามารถในการละลาย และจุดหลอมเหลว (Solubility and melting point) เมื่อพิจารณาโครงสร้างโดยรวมจะเห็นว่ากรดอะมิโนละลายน้ำได้ แล้วเกิดเป็น **zwitterion** หรือ **dipolar ion** โดย



$-\text{NH}_2$ เปลี่ยนเป็น $-\text{NH}_3^+$

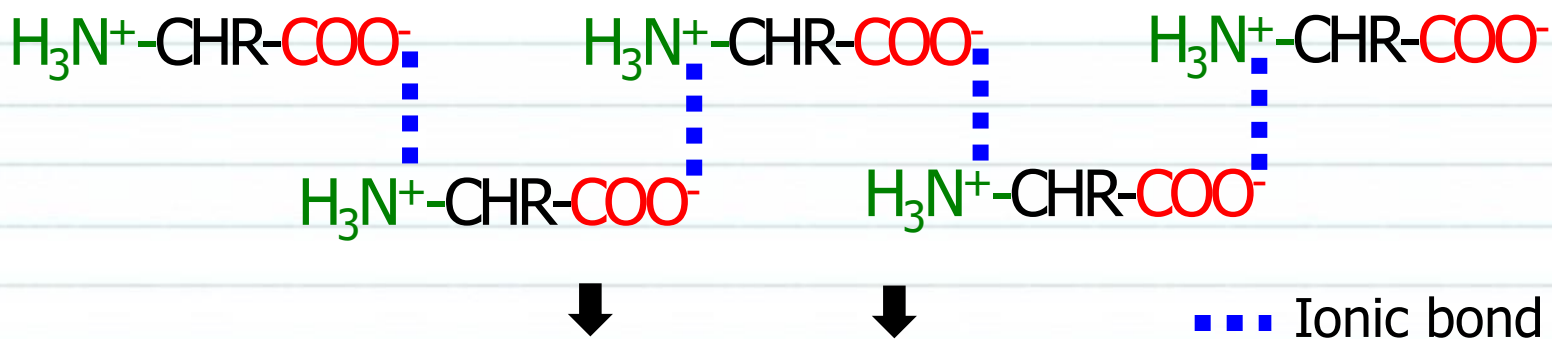
$-\text{COOH}$ เปลี่ยนเป็น $-\text{COO}^-$

รูป 3 กรดอะมิโนละลายน้ำแล้วเปลี่ยนไปอยู่ในรูป zwitterion ที่มีน้ำล้อมรอบได้ดี

ดัดแปลงจาก : <http://pruebabqexp.hostzi.com/EstructPROT.html>

คุณสมบัติของกรดอะมิโน

สำหรับจุดหลอมเหลว พบว่าผลึกของกรดอะมิโนที่ตกจากสภาพ zwitterion (pH เป็นกลาง) จะมี mp สูงกว่า 200 °C เพราะโมเลกุลยึดกันด้วยพันธะไอออนิก (ionic bond) การจะทำลายพันธะนี้ต้องใช้อุณหภูมิสูง

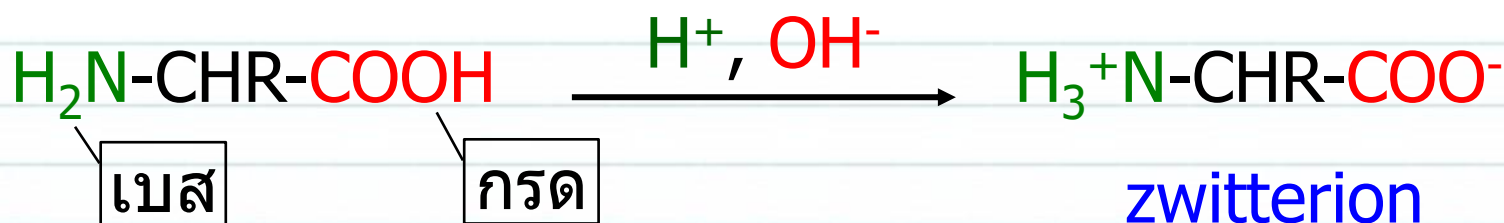


รูป 4 การจับกันด้วยพันธะไอออนิกของ zwitterion ทำให้กรดอะมิโนมีจุดหลอมเหลวสูง

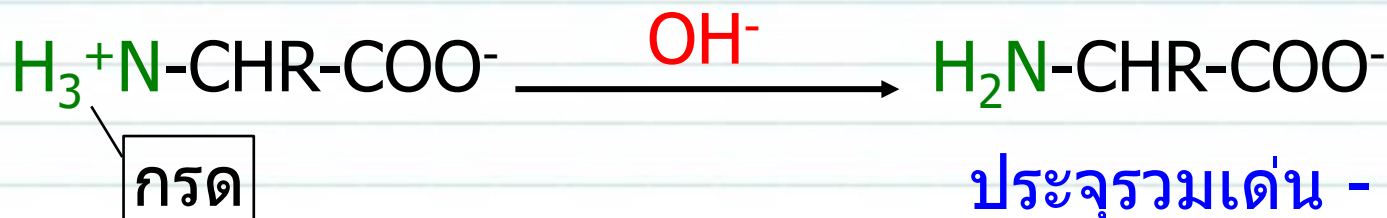
ที่มา: <http://www.chemicalsuppliersdelhi.com/glycine-powder-2039171.html>

คุณสมบัติของกรดอะมิโน

2. ความเป็นกรดเบส (Acid-base properties) เมื่อละลายน้ำ หมู่ -COOH และหมู่ -NH_2 ของกรดอะมิโนจะแสดงความเป็นกรดและเบส แล้วเปลี่ยนไปอยู่ในรูป **zwitterion** ซึ่งเป็นกลางทางไฟฟ้า (ประจุรวมเป็น 0) ดังสมการ

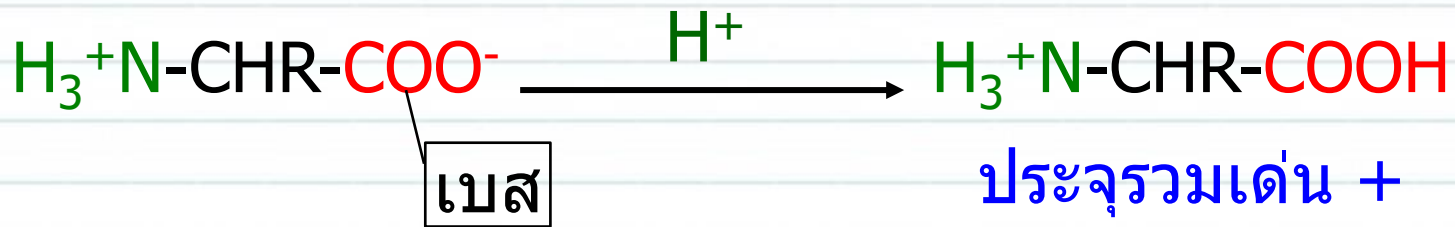


zwitterion ยังสามารถแสดงความเป็นกรด-เบสได้อีกดังนี้ **แสดงความเป็นกรด** หมู่ NH_3^+ จะทำหน้าที่นี้โดยแตกตัวให้ H^+

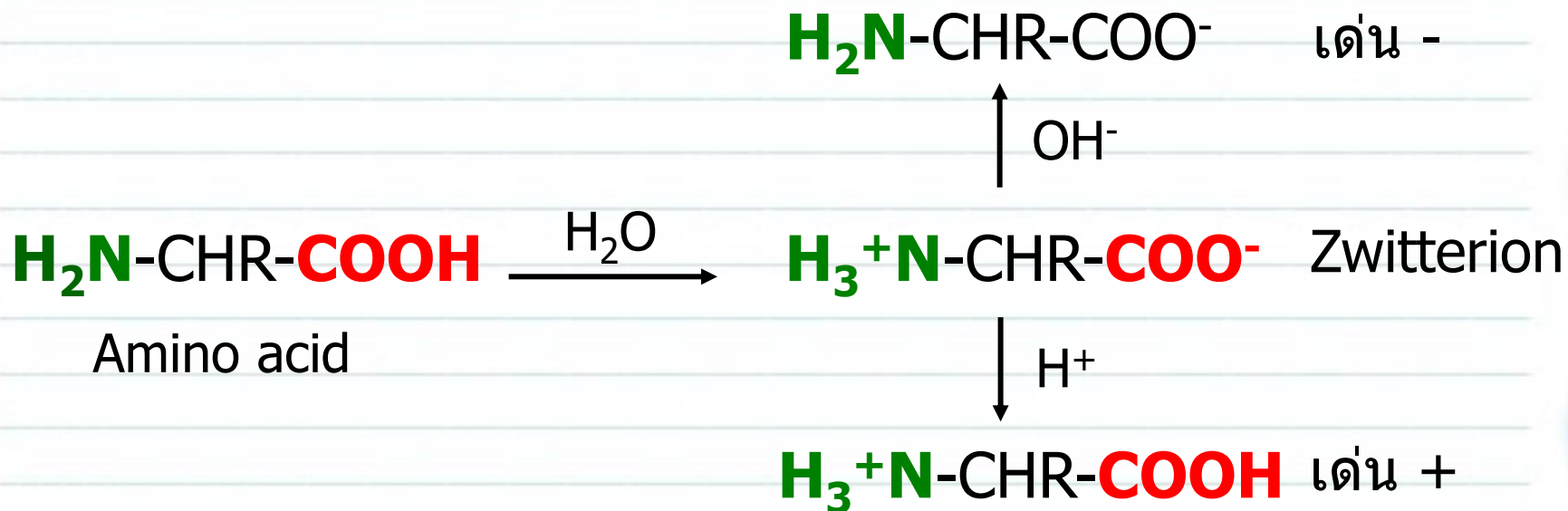


คุณสมบัติของกรดอะมิโน

แสดงความเป็นเบส หมู่ COO^- จะทำหน้าที่นี้โดยรับ H^+



ซึ่งอาจสรุปการแตกตัวแสดงความเป็นกรด-เบสทุกขั้นตอนได้ดังนี้

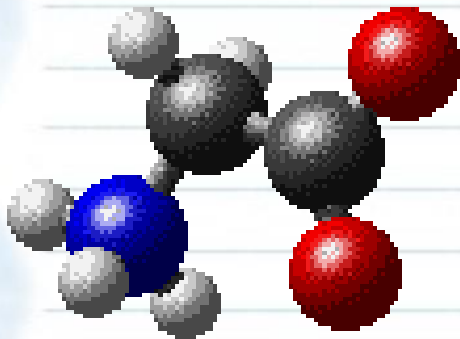


คุณสมบัติของกรดอะมิโน

3. กรดอะมิโนมีกราฟของการไทเทรต (titration curve)

เฉพาะตัว เมื่อไทเทรตกรดอะมิโนด้วยสารละลายกรดหรือเบส แล้วเขียนกราฟระหว่าง pH ที่เปลี่ยนแปลงไปกับปริมาตรกรดหรือเบสที่ใช้ในการไทเทรต จะได้กราฟของการไทเทรต

เช่น titration curve ของ glycine



รูป 5 โครงสร้าง zwitterion ของไกลซีน

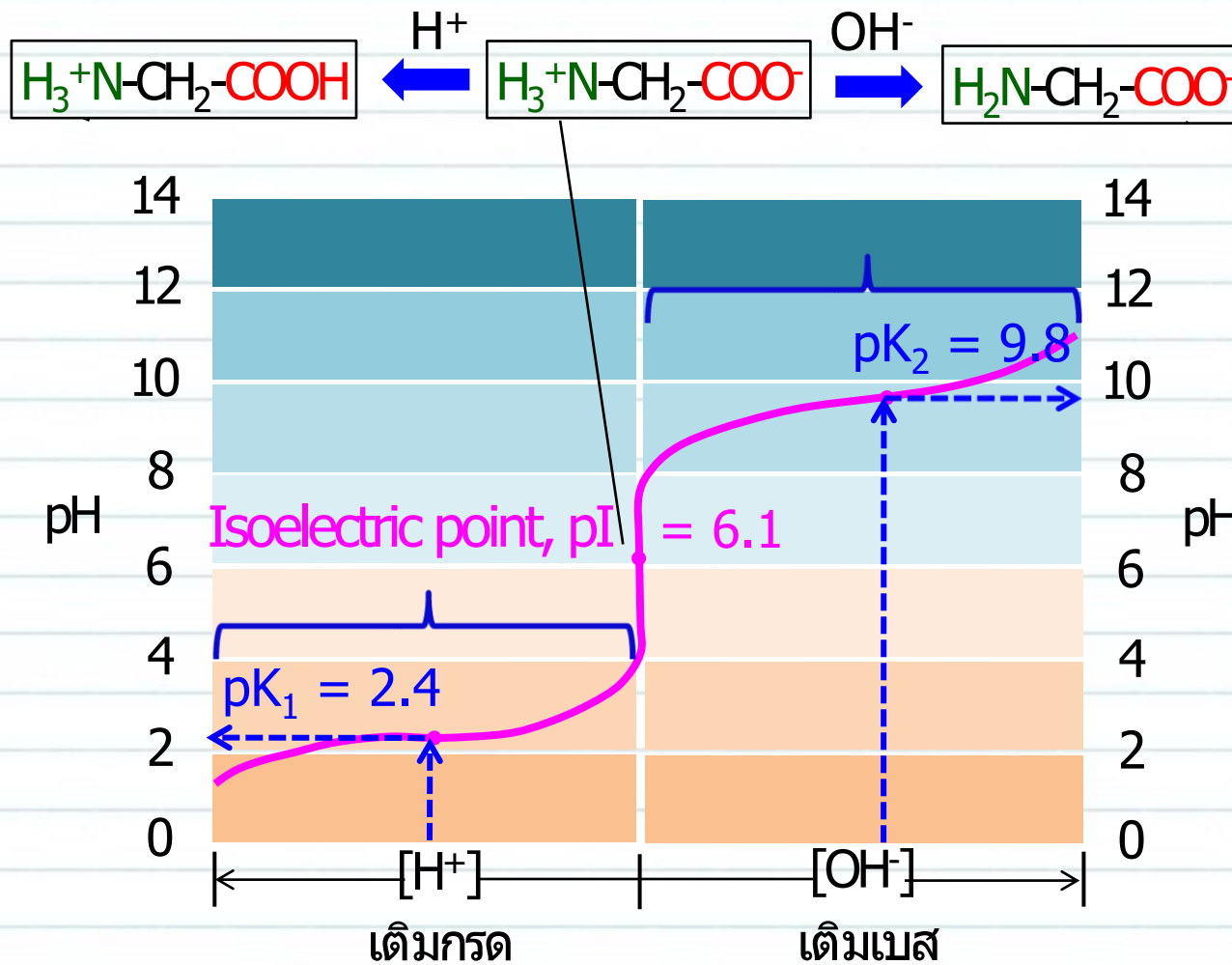
ที่มา : www.biology.arizona.edu/.../aa/Glycine.html



รูป 6 เครื่อง 799 GPT Metrohm Titrino titrator สำหรับหาค่า pK

ที่มา : <http://www.supernew.net/old/metrohm-qzd.htm>

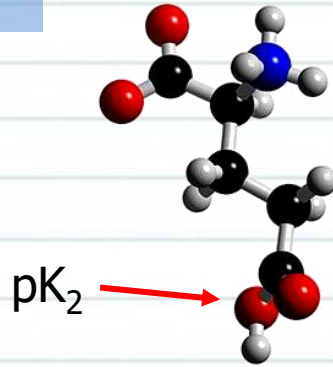
คุณสมบัติของกรดอะมิโน



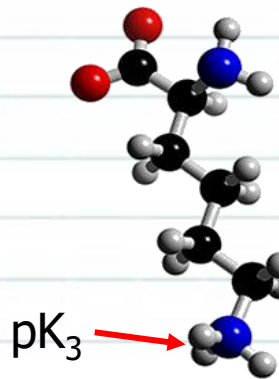
รูป 7 กราฟของการไทเทรตของกรดอะมิโนไกลซีน

ตาราง 3 ค่า pKa ของหมู่กรดและหมู่เบสของกรดอะมิโนที่ 25 °C

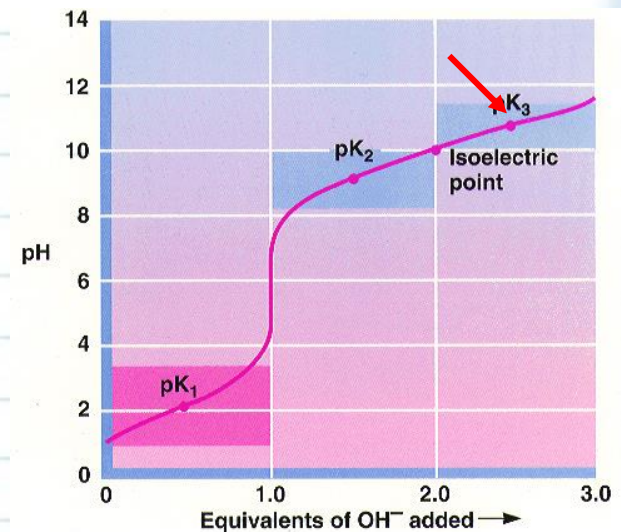
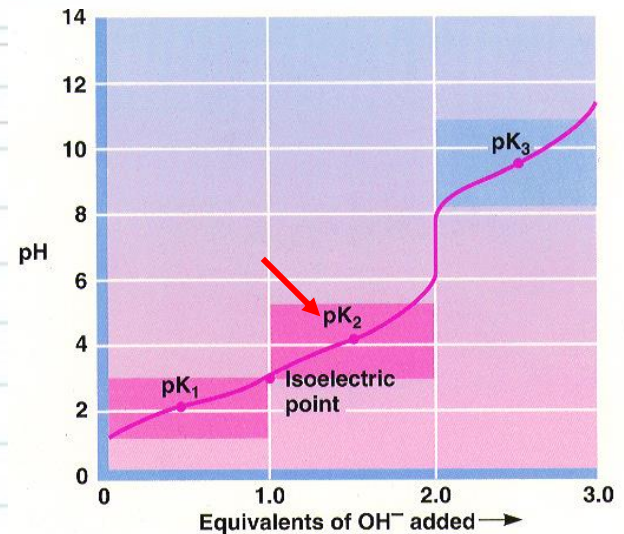
Amino acid	pKa value		
	Carboxyl group	Amino group	Side chain
Glycine	2.4	9.8	-
Alanine	2.4	9.9	-
Valine	2.3	9.7	-
Leucine	2.3	9.7	-
Isoleucine	2.3	9.8	-
Methionine	2.1	9.3	-
Proline	2.0	10.6	-
Phenylalanine	2.2	9.3	-
Tryptophan	2.5	9.4	-
Serine	2.2	9.2	-
Threonine	2.1	9.1	-
Cysteine	1.9	10.7	8.4
Tyrosine	2.2	9.2	10.5
Asparagine	2.1	8.7	-
Glutamine	2.2	9.1	-
Aspartic acid	2.0	9.9	3.9
Glutamic acid	2.1	9.5	4.1
Lysine	2.2	9.1	10.5
Arginine	1.8	9.0	12.5
Histidine	1.8	9.3	6.0



Glutamic acid



Lysine



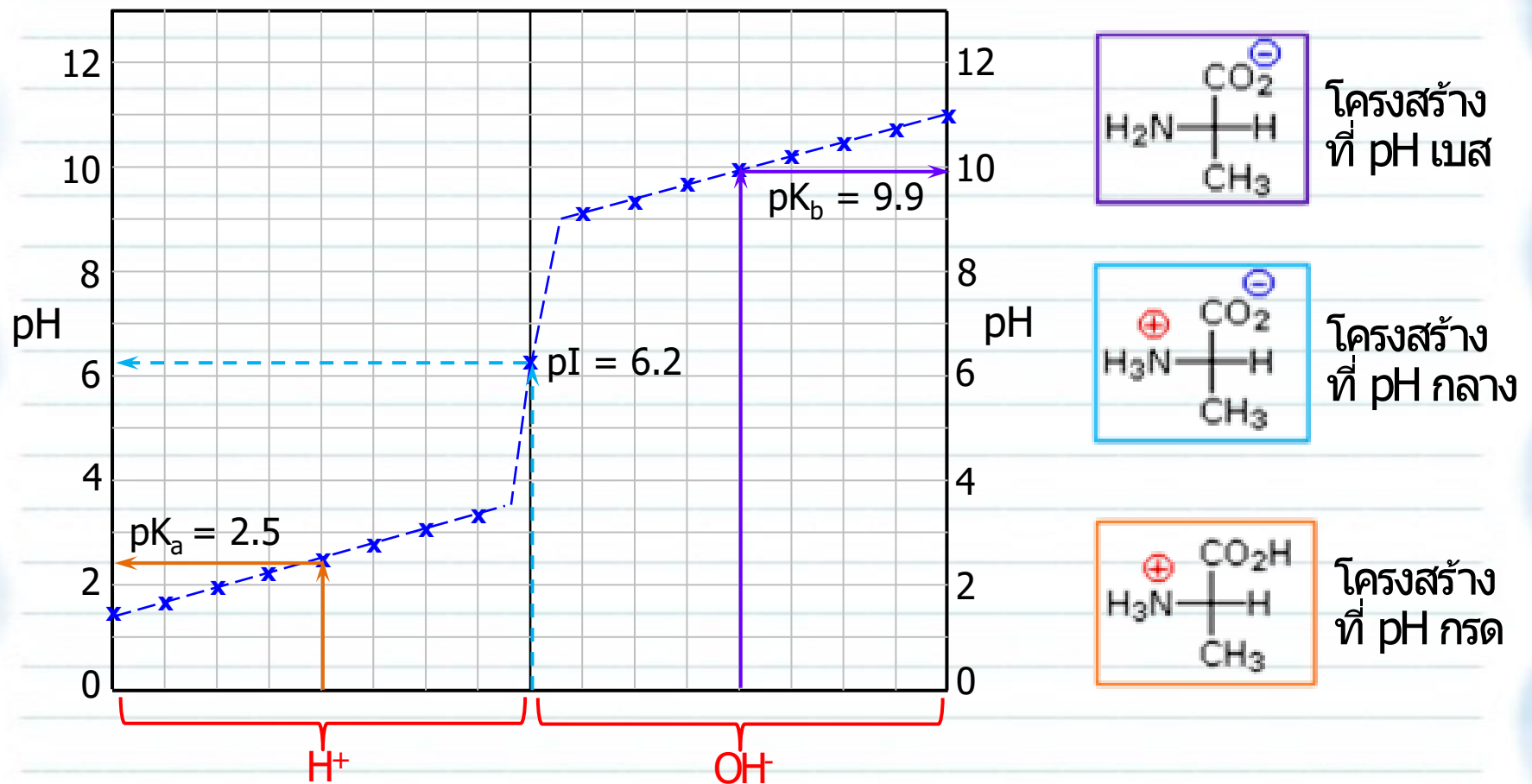
รูป 8 กราฟของการไทเทรตของกลูตามิก แอซิด และไลซีน

คุณสมบัติของกรดอะมิโน

แบบฝึกหัด 2: จากกราฟของการไทเทรตกรดอะมิโนชนิดหนึ่ง

2.1 กรดอะมิโนชนิดนี้แตกตัวได้กี่ครั้ง 2.2 หาค่า pK_1 , pK_2 , ... และ pI ของกรดอะมิโน

2.3 วาดโครงสร้างกรดอะมิโนที่ pH ต่าง ๆ

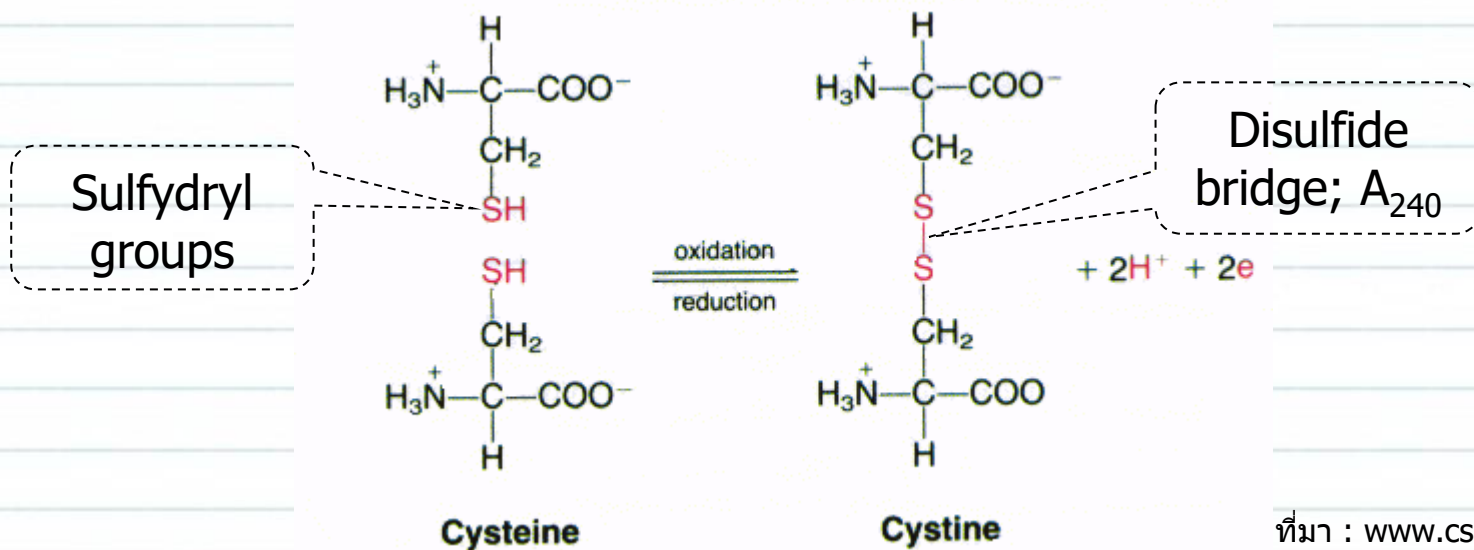


คุณสมบัติของกรดอะมิโน

4. การดูดกลืนแสง (Optical density) มีกรดอะมิโน 3 ชนิดคือ tyrosine tryptophan และ phenylalanine ที่สามารถดูดกลืนรังสี UV ได้ เพราะมี side chain R ที่เป็น aromatic ring

 Tyr, trp, phe ดูดกลืนแสงที่ 280 nm

 Cystine ดูดกลืนแสงที่ 240 nm เพราะมี disulfide bridge



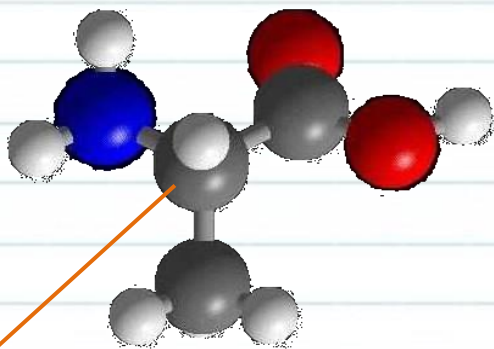
ที่มา : www.cs.stedwards.edu

รูป 9 พันธะไดซัลไฟด์ที่สามารถดูดกลืนแสง UV ได้

คุณสมบัติของกรดอะมิโน

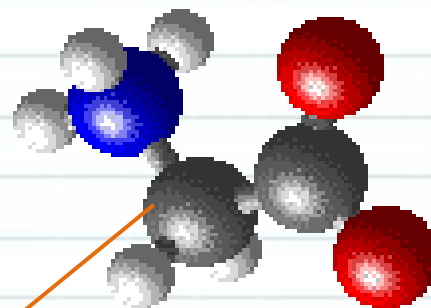
5. กัมมันตภาพเชิงแสง (Optical activity) พิจารณา

โครงสร้างของกรดอะมิโนทุกชนิด จะเห็นว่ากรดอะมิโนส่วนใหญ่มีคาร์บอนไม่สมมาตร (asymmetric carbon) หรือศูนย์กลางไครัล (chiral center) อยู่ในโมเลกุลซึ่งทำให้กรดอะมิโนมีคุณสมบัตินี้ ยกเว้น **glycine**



Asymmetric carbon: Chiral center

Alanine



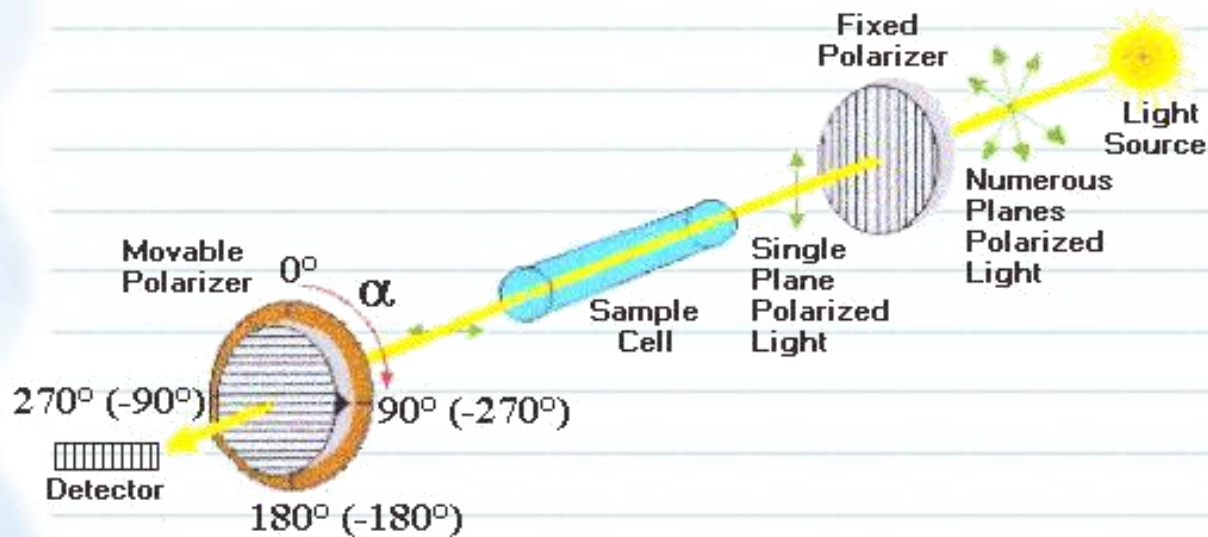
Symmetric carbon: Achiral center

Glycine

รูป 10 โครงสร้างของอะลานีน และไกลซีนแสดงคาร์บอนอะตอมกลางที่ไม่สมมาตร

คุณสมบัติของกรดอะมิโน

ดังนั้นกรดอะมิโนจึงสามารถ**บิเคราะห์** (plane) ของ**แสง**
ระนาบเดียว (polarized light) ได้



DISC POLARIMETER

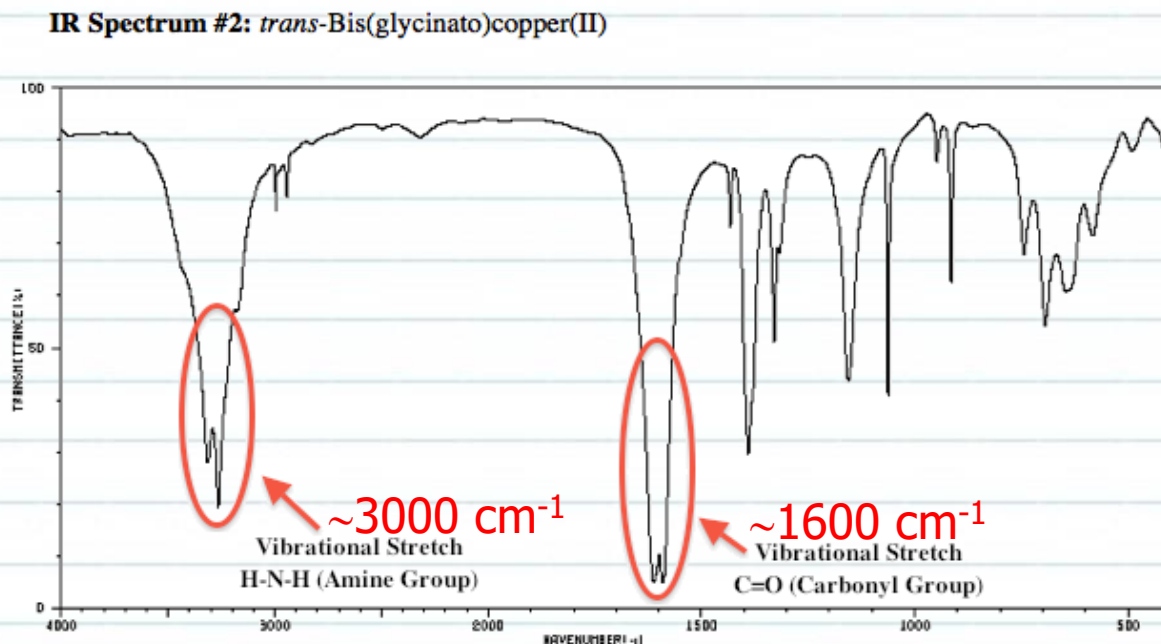


DIGITAL AUTOMATIC
POLARIMETER

รูป 11 เครื่องวัดการบิเคราะห์ของแสงระนาบเดียว

คุณสมบัติของกรดอะมิโน

6. อินฟราเรดสเปกตรัม (IR spectrum) ของกรดอะมิโน แสดงให้เห็นหมู่คาร์บอนิล (-C=O) ของคาร์บอกซิเลต (-COO^-) ที่ประมาณ 1600 cm^{-1} และหมู่เอมีน (-NH_2) ที่ประมาณ 3300 cm^{-1}



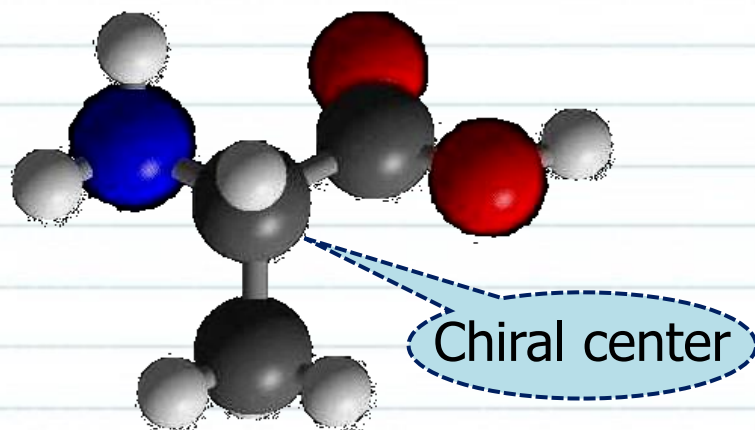
รูป 12 อินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์ของกรดอะมิโนไกลซีน แสดงให้เห็นพีคที่ 1600 cm^{-1} และ 3300 cm^{-1}

ที่มา : <http://chemglue4u.com/lab-helper/inorganic-lab-helpers/preparation-of-copper-ii-compounds-with-glycine/>

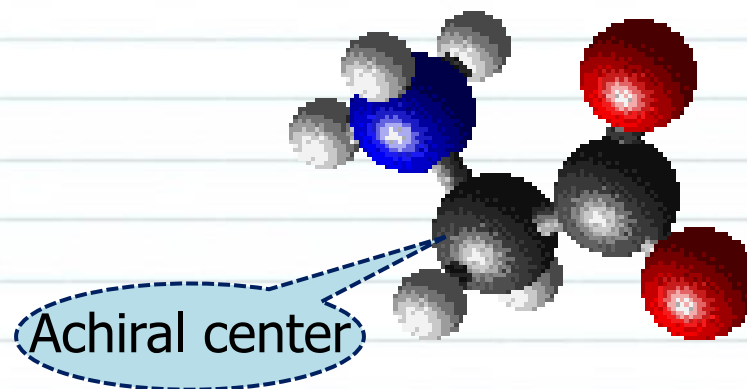
สเตอริโอเคมีของกรดอะมิโน

จากโครงสร้างกรดอะมิโนจะเห็นว่าแอลฟาคาร์บอนของกรดอะมิโนทุกชนิด ยกเว้น glycine เป็นศูนย์กลางสเตอริโอ (stereogenic center) ของโมเลกุล

Alanine



Glycine

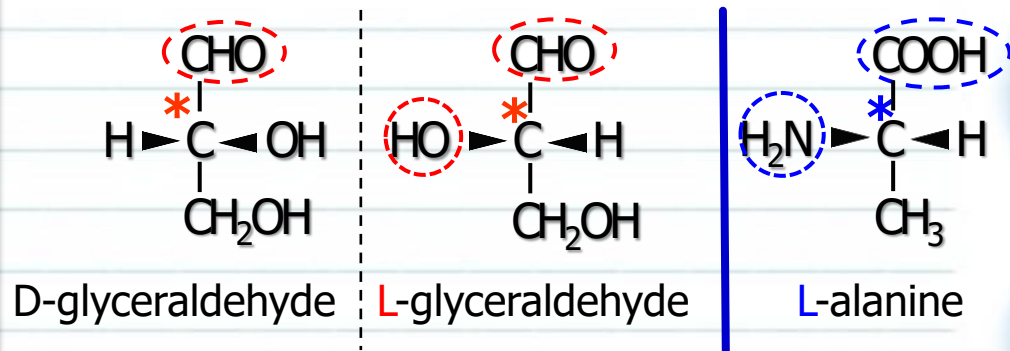
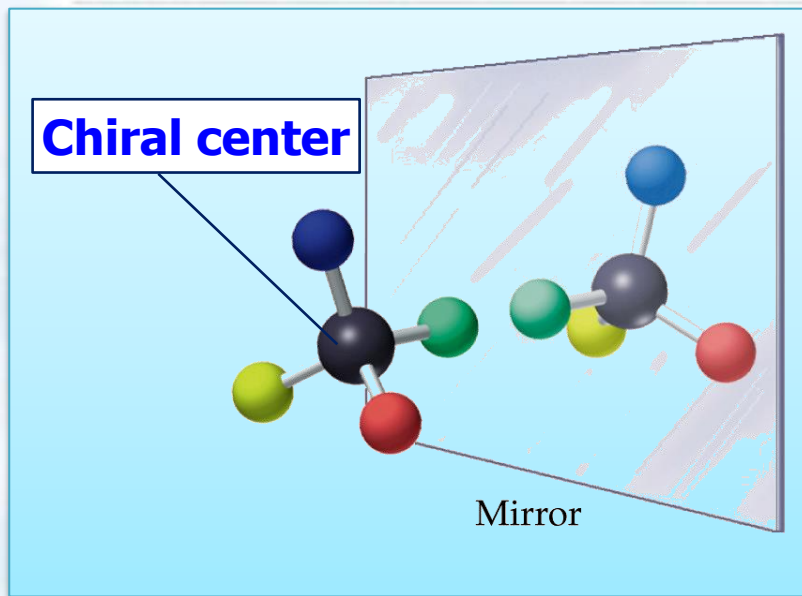


รูป 13 ศูนย์กลางไครัลของกรดอะมิโนอะลานีน และ ศูนย์กลางอะไครัลของกรดอะมิโนไกลซีน

ดัดแปลงจาก : http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/problem_sets/aa/alanine.html
http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/problem_sets/aa/Glycine.html

สเตอริโอเคมีของกรดอะมิโน

การมีไครัล (chiral) คาร์บอนในโมเลกุล ทำให้เกิดอีนันทิโอเมอร์ (enantiomer) ได้ และมีการระบุชื่อของไครัลคาร์บอน ในโมเลกุลของกรดอะมิโนด้วย โดยอาจเป็นแบบ D/L เมื่อเทียบกับคอนฟิกรูชันของน้ำตาล



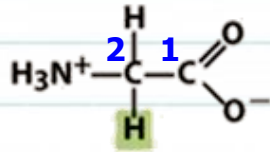
รูป 14 ลักษณะการเป็นเงา (อีนันทิโอเมอร์) กันของโมเลกุลที่มีศูนย์กลางไครัล

รูป 15 กรดอะมิโนในธรรมชาติเป็นแบบ L-amino acid เมื่อเทียบกับคอนฟิกรูชันของน้ำตาล

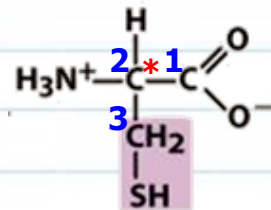
สเตอริโอเคมีของกรดอะมิโน

แบบฝึกหัด 3 : จากโครงสร้างกรดอะมิโนต่อไปนี้ 1. ระบุจำนวน C ในสายโซ่หลัก
2. ระบุตำแหน่ง chiral center (*)

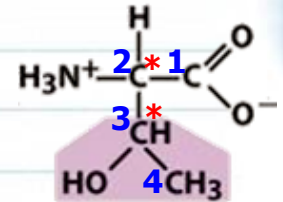
Glycine



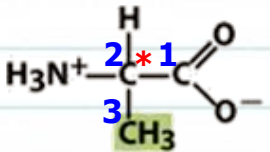
Cysteine



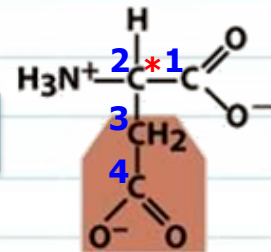
Threonine



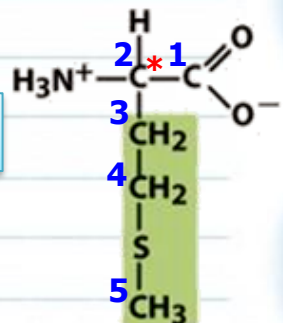
Alanine



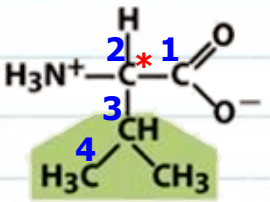
Aspartic acid



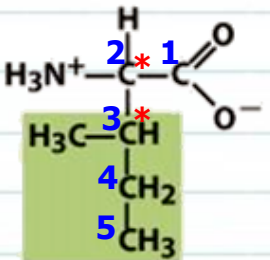
Methionine



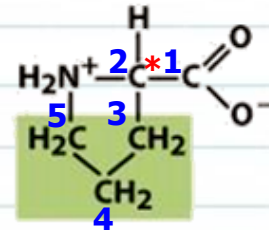
Valine



Isoleucine

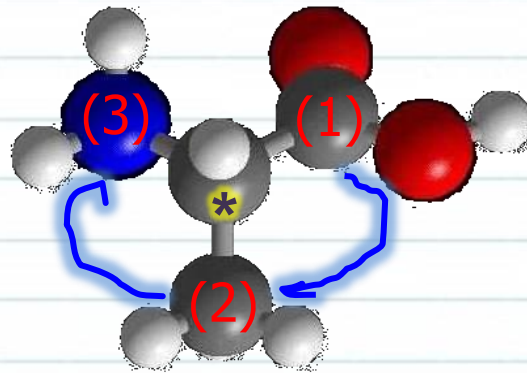
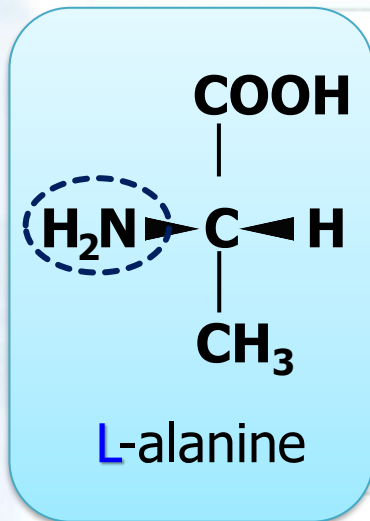


Phenylalanine



สเตอริโอเคมีของกรดอะมิโน

โปรตีนเจนิกอะมิโน แอซิดเกือบทั้งหมดจะมีคอนฟิกิวเรชันของไครัลคาร์บอนเป็นแบบ L



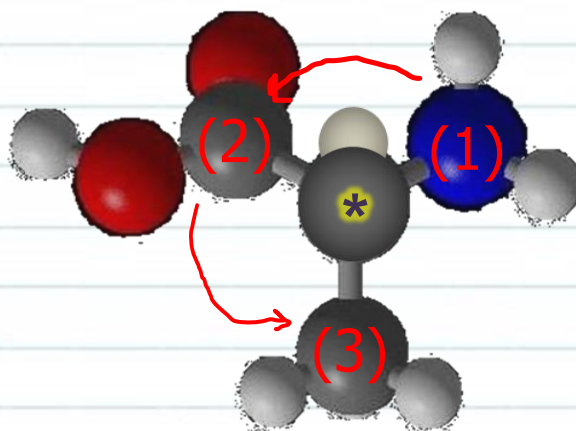
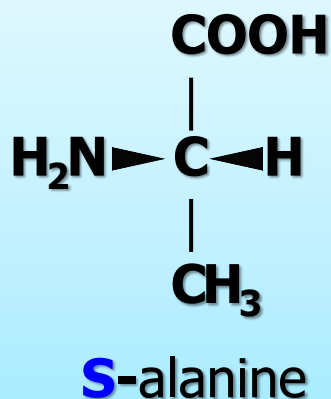
1. ระบุไครัลคาร์บอน *
2. มองจาก H ไปยัง C*
(หัน H เข้าหาตัว)
3. ลากเส้นจาก -COOH (1)
ไปยัง -R (2) ไปยัง -NH₂ (3)
4. ทิศตามเข็มนาฬิกา เรียก L
ทิศทวนเข็มนาฬิกา เรียก D

รูป 16 การระบุ D/L-configuration ของกรดอะมิโนอะลานีน

ดัดแปลงจาก : http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/problem_sets/aa/alanine.html

สเตอริโอเคมีของกรดอะมิโน

อาจะระบุชื่อของไครัลคาร์บอนเป็นแบบ **R/S** ตามกฎของ **Cahn-Ingold-Prelog** ซึ่งโปรตีนโนเจนิกอะมิโน แอซิดเกือบทั้งหมด จะมีคอนฟิกรูเรชันของไครัลคาร์บอนเป็นแบบ **S**

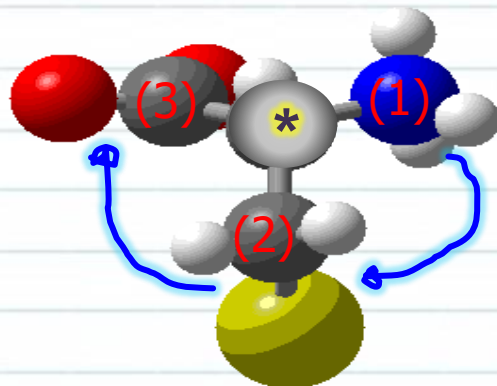
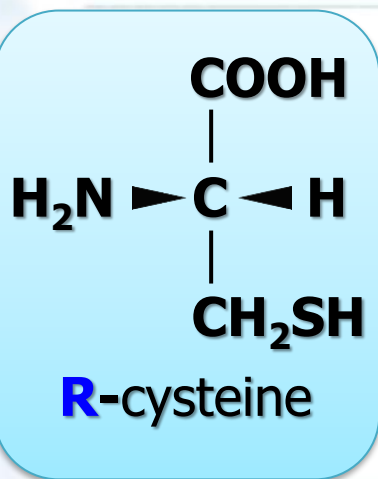


1. ระบุไครัลคาร์บอน *
2. มองจาก C* ไปยัง H (หัน H ออกจากตัว)
3. ลากเส้นจาก -NH₂ (1) ไปยัง -COOH (2) ไปยัง -CH₃ (3)
4. ทิศตามเข็มนาฬิกา เรียก **R** (rectus = right)
ทิศทวนเข็มนาฬิกา เรียก **S** (sinister = left)

รูป 17 การระบุ R/S-configuration ของกรดอะมิโนอะลานีน

สเตอริโอเคมีของกรดอะมิโน

ยกเว้นซิสเทอีนที่เป็นแบบ R configuration ตามกฎของ Cahn-Ingold-Prelog



1. ระบุไครัลคาร์บอน *
2. มองจาก C* ไปยัง H (หัน H ออกจากตัว)
3. ลากเส้นจาก -NH₂ (1) ไปยัง -CH₂SH (2) ไปยัง -COO⁻ (3)
4. ทิศตามเข็มนาฬิกา เรียก R (rectus = right)
ทิศทวนเข็มนาฬิกา เรียก S (sinister = left)

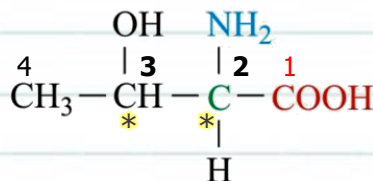
รูป 18 การระบุ R-configuration ของกรดอะมิโนซิสเทอีน

ดัดแปลงจาก : <http://staffjccc.net/pdecel/biochemistry/amino.html>

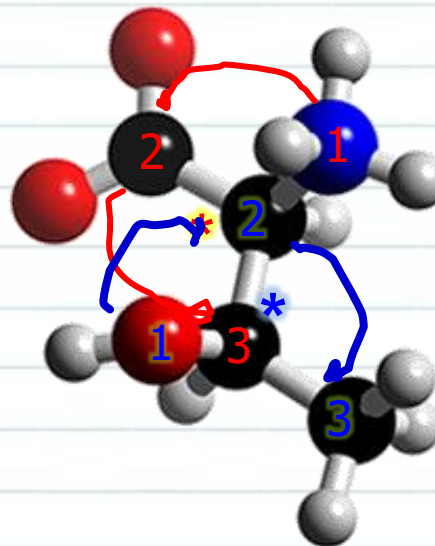
สเตอริโอเคมีของกรดอะมิโน

สำหรับ **ทรีโอนีน** ที่มีไครัลคาร์บอน 2 อะตอมในโมเลกุล จะมีคอนฟิกริชันตามกฎของ Cahn-Ingold-Prelog ดังนี้

1. ระบุไครัลคาร์บอน * (C_2, C_3)
2. กรณี C_2 มองจาก C^* ไปยัง H (หัน H ออกจากตัว)
3. ลากเส้นจาก $-NH_2$ (1) ไปยัง $-COO^-$ (2) ไปยัง $-CH-OH$ (3)
4. ทิศ **ทวนเข็มนาฬิกา** เรียก **S**
5. กรณี C_3 มองจาก C^* ไปยัง H (หัน H ออกจากตัว)
6. ลากเส้นจาก $-OH$ (1) ไปยัง $-CH$ (2) ไปยัง $-CH_3$ (3)
7. ทิศ **ตามเข็มนาฬิกา** เรียก **R**



ทรีโอนีน



2S

3R

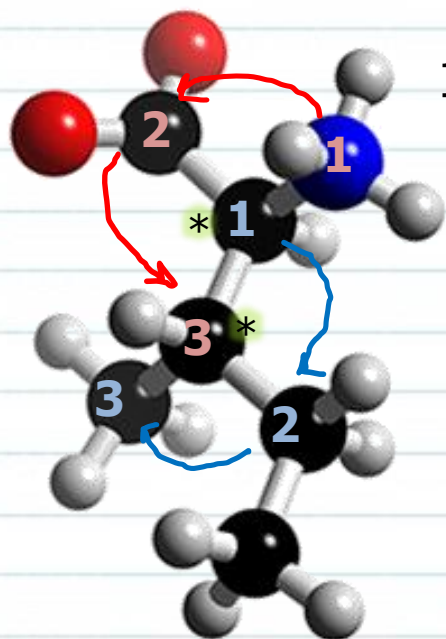
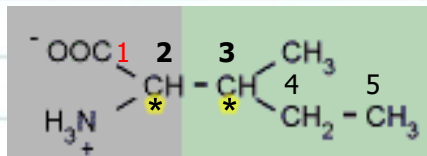
ดัดแปลงจาก : www.3dchem.com/molecules.asp?ID=47

รูป 19 การระบุ R/S-configuration ของกรดอะมิโนที่มีไครัลคาร์บอน 2 อะตอม

สเตอริโอเคมีของกรดอะมิโน

แบบฝึกหัด 4 : 1. ระบุ R/S-configuration ของไอโซลิวซีน
2. ขั้นตอนการพิจารณาชนิด configuration

ไอโซลิวซีน



1. Configuration เป็นแบบ

2S

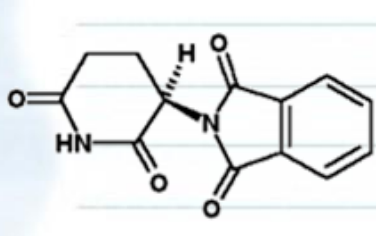
3S

2. ขั้นตอนการพิจารณา configuration

1. ระบุไครัลคาร์บอน * (C_2 , C_3)
2. กรณี C_2 มองจาก C^* ไปยัง H (หัน H ออกจากตัว)
3. ลากเส้นจาก $-NH_2$ (1) ไปยัง $-COO^-$ (2) ไปยัง $-CH-(CH_3)-(CH_2-CH_3)$ (3)
4. ทิศทางวนเข็ม เรียก S
5. กรณี C_3 มองจาก C^* ไปยัง H (หัน H ออกจากตัว)
6. ลากเส้นจาก $-CH$ (1) ไปยัง $-CH_2-CH_3$ (2) ไปยัง $-CH_3$ (3)
7. ทิศทางวนเข็ม เรียก S

สเตอริโอเคมีของกรดอะมิโน

โดยปกติสารที่เป็นอีแนนทิโอเมอร์กันจะแสดงสมบัติทางเคมีเหมือนกันทุกประการ แต่กรดอะมิโนที่เป็นอีแนนทิโอเมอร์กันเมื่อเป็นองค์ประกอบของโปรตีน/เอ็นไซม์จะทำให้มีความจำเพาะต่อโมเลกุลอื่นๆ ต่างกัน ซึ่งส่งผลให้การตอบสนองหรือเร่งปฏิกิริยาต่างกัน เช่น

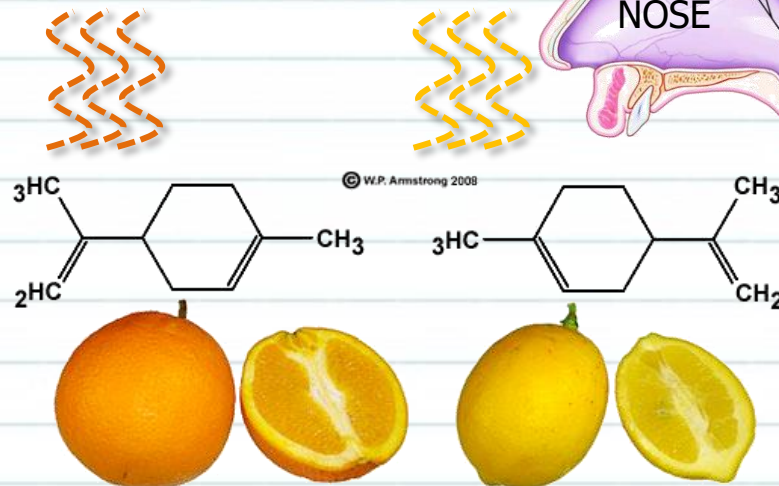


(R)-thalidomide
is effective against
morning sickness.



Thalidomide baby

(S)-thalidomide
causes birth defects.



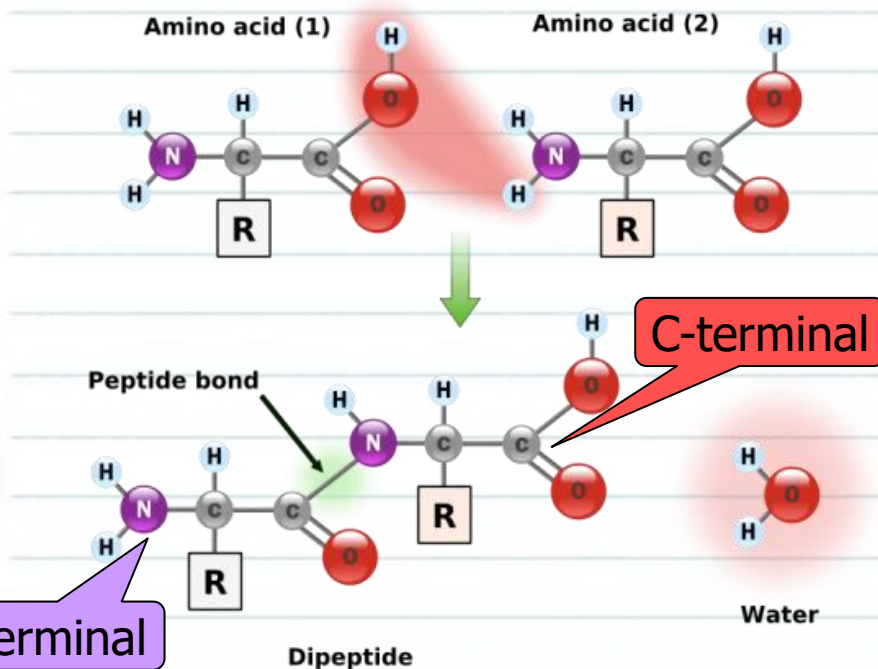
D-Limonene (กลิ่นส้ม) L-Limonene (กลิ่นมะนาว)

ที่มา : www.k-faktor.com/thalidomide/

รูป 20 ผลของโมเลกุลที่เป็นอีแนนทิโอเมอร์กันต่อความผิดปกติของร่างกาย และต่อการรับกลิ่น

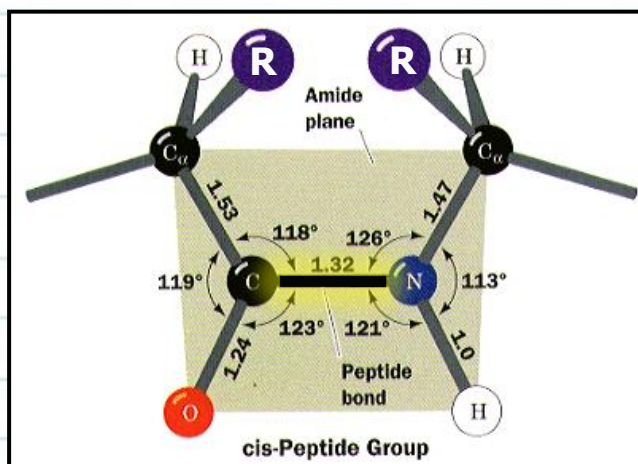
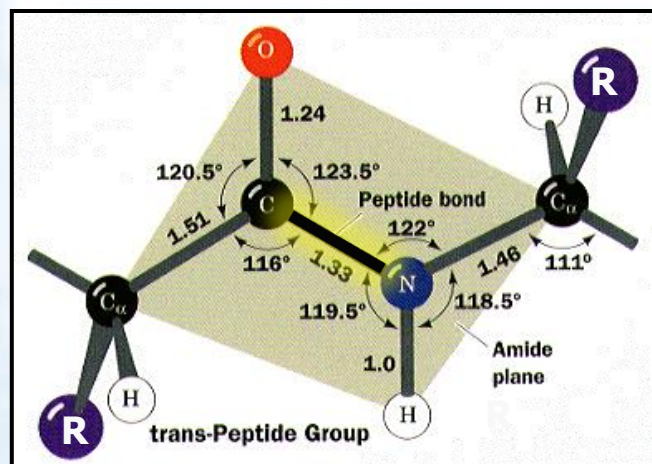
โครงสร้างของโปรตีน

โปรตีนเกิดจากกรดอะมิโนมาเชื่อมโยงกันเป็นสายยาวด้วย **พันธะเปปไทด์** (peptide bond) ซึ่งเป็นพันธะโควาเลนต์ โดยพันธะเปปไทด์เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างหมู่ **carboxyl** ($-\text{COOH}$) ของกรดอะมิโนโมเลกุลแรกกับหมู่ **amino** ($-\text{NH}_2$) ของกรดอะมิโนโมเลกุลถัดไป



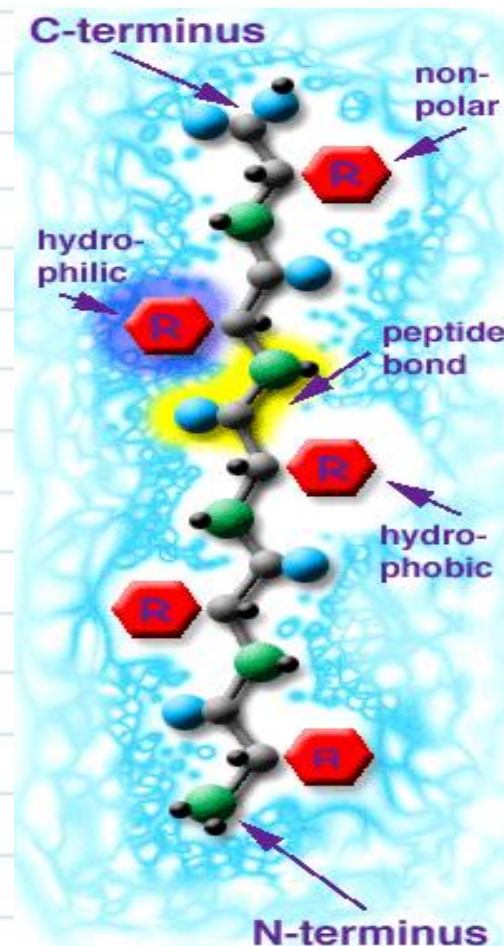
Dipeptide : กรดอะมิโน 2 โมเลกุล
Oligopeptide : กรดอะมิโน ≤ 50
Polypeptide : กรดอะมิโน 100 ถึง 800
(Protein) (MW : 10,000-80,000)

โครงสร้างของโปรตีน



รูป 22 โครงสร้างโปรตีน แสดงพันธะเปปไทด์แบบทรานส์ และแบบซิส

ที่มา : www.nd.edu, www.brooklyn.cuny.edu/.../C4b_proteinShape.html

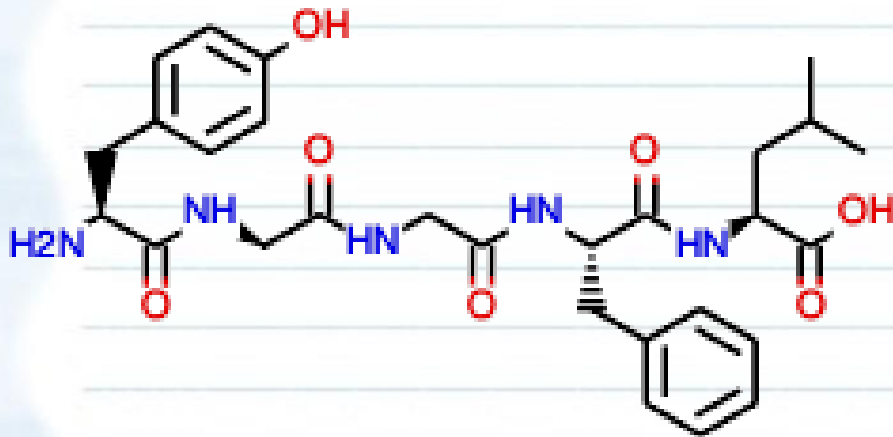


รูป 23 โครงสร้างโปรตีนแบบทรานส์ซึ่งกรดอะมิโนหันหมู่ R สลับข้างกันตลอดเส้นโปรตีน

โครงสร้างของโปรตีน

ตัวอย่าง โครงสร้าง ชนิดของเปปไทด์ การเรียกชื่อ
สัญลักษณ์ของเปปไทด์ และหน้าที่ของโปรตีน

ลิวซีนเอ็นเคเฟฟาลิน
(Leucine enkephalin)



Tyr Gly Gly Phe Leu

รูป 24 โครงสร้างลิวซีนเอ็นเคเฟฟาลิน

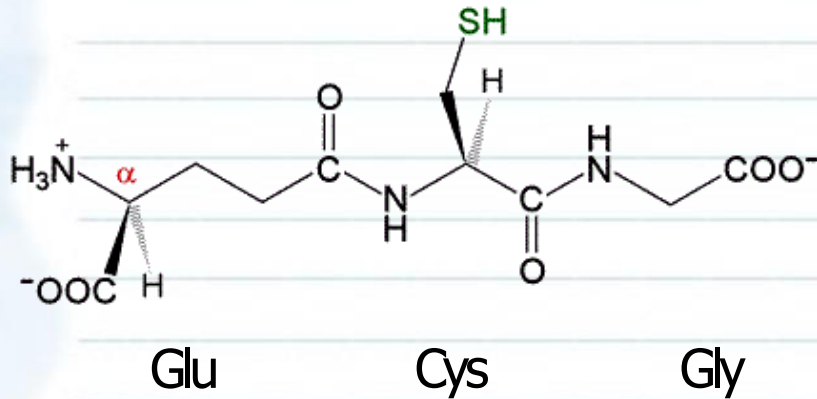
ที่มา: <http://en.wikipedia.org/wiki/DADLE>

- ➡ ชนิดของเปปไทด์: เพนตะเปปไทด์
- ➡ การเรียกชื่อ: ไทโรซิลไกลซิลไกลซิลฟีนิลอะลานิลลิวซีน
- ➡ สัญลักษณ์: Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu
- ➡ สัญลักษณ์ (ย่อ): YGGFL
- ➡ หน้าที่: ยับยั้งความเจ็บปวด



โครงสร้างของโปรตีน

กลูตาไทโอน (Glutathione)

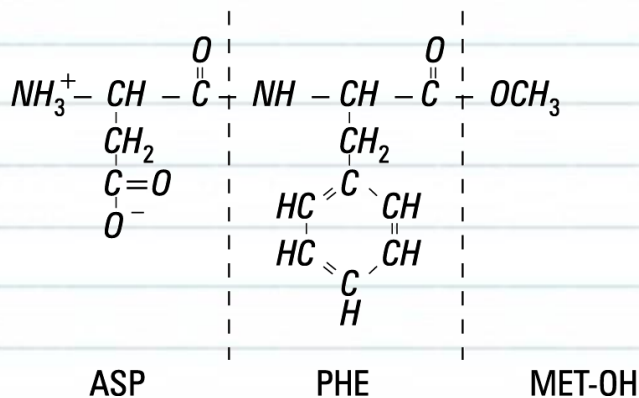


รูป 17 โครงสร้างกลูตาไทโอน

- ➡ ชนิดเปปไทด์: ไตรเปปไทด์
- ➡ ชื่อเปปไทด์: กลูตามิลซิสเตอิลกลัยซีน
- ➡ สัญลักษณ์: Glu^L Cys-Gly
- ➡ หน้าที่: Antioxidant



แอสพาร์เทม (Aspartame)



รูป 25 โครงสร้างแอสพาร์เทม

- ➡ ชนิดเปปไทด์: ไดเปปไทด์ (เมทิลเอสเทอร์)
- ➡ ชื่อเปปไทด์: แอสพาร์ติลฟีนิลอะลานีน เมทิลเอสเทอร์
- ➡ สัญลักษณ์: Asp-Phe-OMe
- ➡ หน้าที่: สารให้ความหวาน



โครงสร้างของโปรตีน

โปรตีนแต่ละชนิดต่างกันในเรื่องลำดับ (sequence) และจำนวนของกรดอะมิโนในสาย polypeptide จากการใช้ X-ray crystallography ศึกษาโครงสร้าง 3 มิติพบว่าโปรตีนแต่ละชนิดมีโครงสร้างสลับซับซ้อนแต่แน่นอน ปัจจัยที่มีส่วนในการทำให้เกิดโครงสร้างดังกล่าวคือ

H-bond ภายใน หรือระหว่างสาย polypeptide

Covalent bond ระหว่าง sulfydryl group

Ionic bond ระหว่างประจุ + และ -

Interaction ระหว่าง side chain R ประเภทเดียวกัน

โครงสร้างของโปรตีน

แบ่งโครงสร้างโปรตีนเป็น 4 ระดับ
ตามความซับซ้อนที่เพิ่มขึ้นในสามมิติ

1. โครงสร้างปฐมนิเทศ (Primary

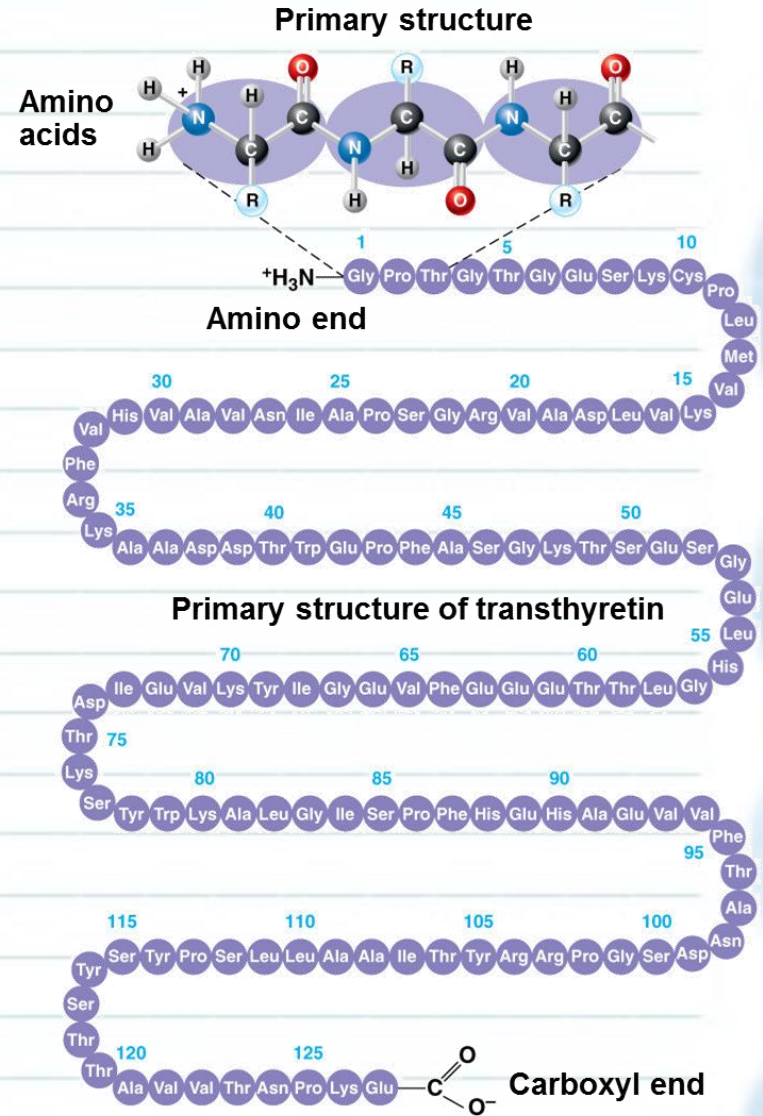
structure) เป็นโครงสร้างของ

โปรตีนระดับแรก โดยพิจารณาว่า

โปรตีนมีลำดับกรดอะมิโนเป็น

อย่างไรเรียงลำดับจาก N-terminal

ถึง C-terminal



© 2011 Pearson Education, Inc.

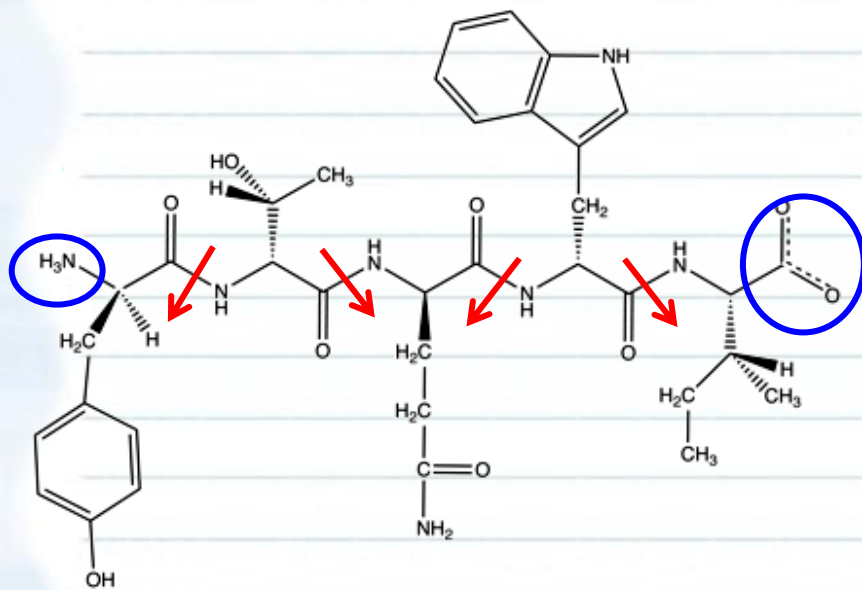
รูป 26 โครงสร้างปฐมภูมิของโปรตีน transthyretin ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 127 โมเลกุล 35

ที่มา: http://www.pinsdaddy.com/go-back-amp-gt-gallery-for-proteins-primary-structure_a0SpSKx6pPtjvzrrJ2qjmENTc*sgiyUhKgr4IAwtVBwkEuTYRbbQIH5T149hILOlfrRnVqyAJXbnMiXvUQplhg/okVnMRex8C2xWPBabWUpEidMafUJIT7U4XWfkholjsG*V0GfjwXmS25qhmGZ98ez8LDuHhURM*xjDnJCKWZ06ZogtMaf73RHoIdvGhbfukwZVSGD8x4jxqvUOLS3ql8MRQRX9u3QqpA9ouQz8B7r1PXyZSMfDe4Mbfe2EsJnIDv4I/

โครงสร้างของโปรตีน

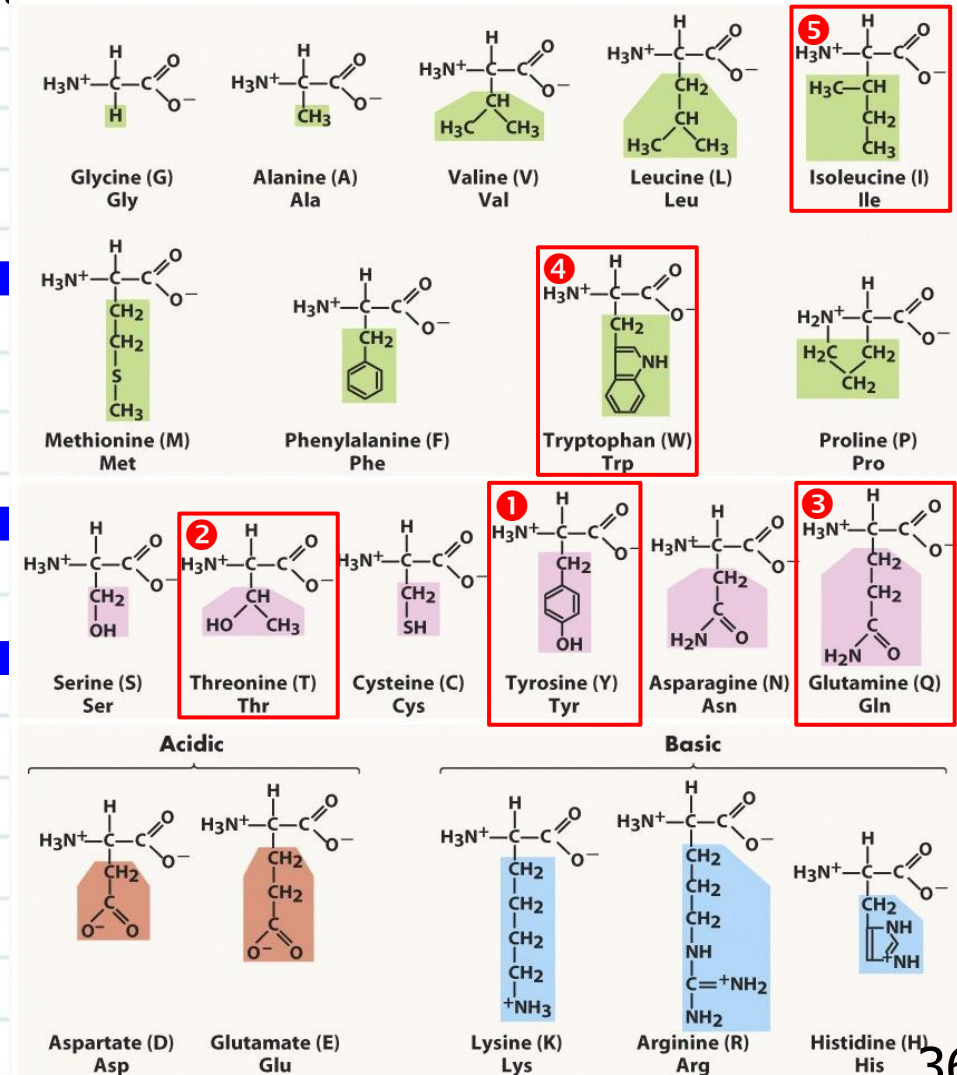
แบบฝึกหัด 5 : โครงสร้างปฐมภูมิของโปรตีน (1)

พิจารณาโครงสร้างของ peptide ต่อ



Tyr Thr Gln Trp Ile

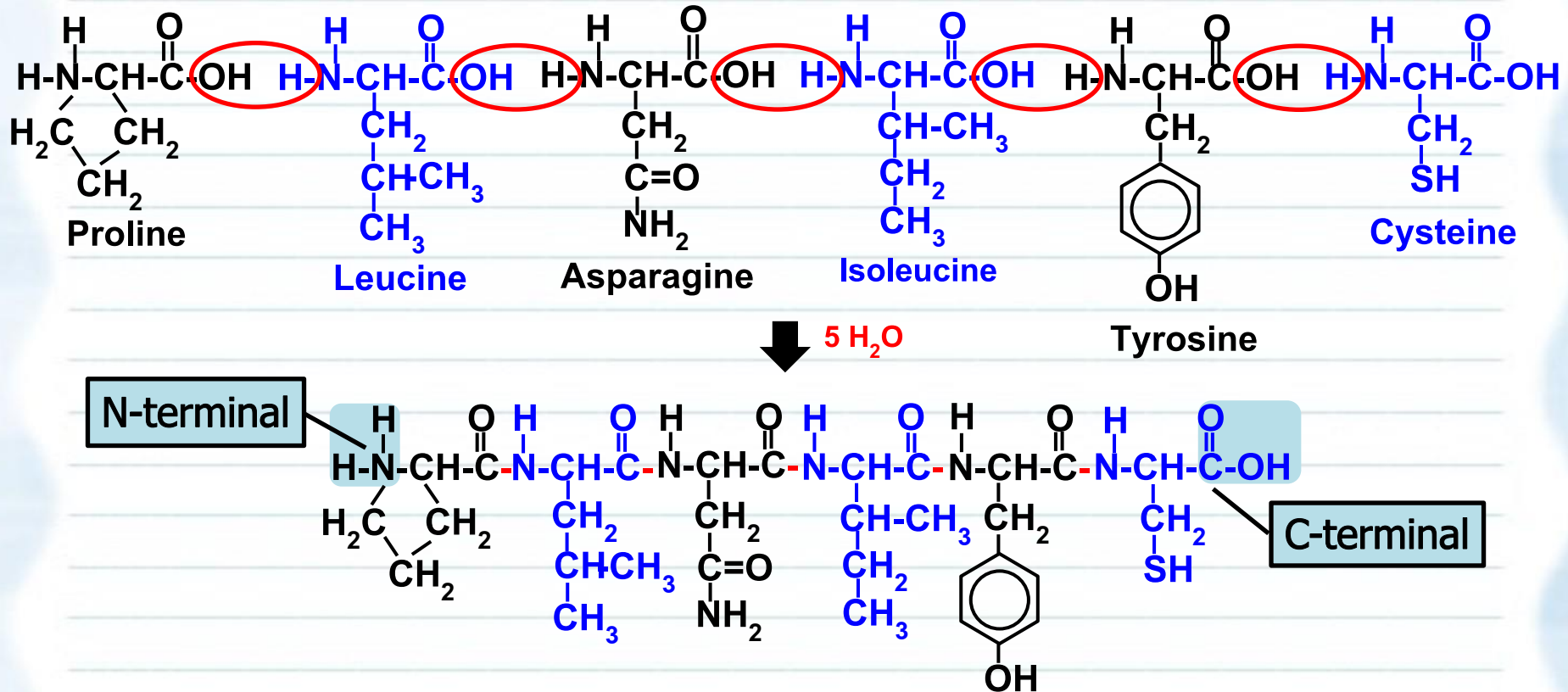
รูป 27 โครงสร้าง oligopeptide



โครงสร้างของโปรตีน

แบบฝึกหัด 6 : โครงสร้างปฐมภูมิของโปรตีน (2)

- เขียนโครงสร้างโมเลกุลของ hexapeptide ที่มีลำดับกรดอะมิโนดังนี้
Pro-Leu-Asn-Ile-Tyr-Cys พร้อมทั้งระบุตำแหน่งพันธะเปปไทด์ และ N- และ C-terminal



โครงสร้างของโปรตีน

แบบฝึกหัด 7: โครงสร้างปฐมภูมิของโปรตีน (3)

วาดโครงสร้างที่สมบูรณ์ของ oxytocin ซึ่งเป็น nanopeptide ที่มีลำดับกรดอะมิโนดังนี้ Gly-Leu-Pro-Cys-Asn-Gln-Ile-Tyr-Cys ชี้ให้เห็นพันธะเปปไทด์ และ N- และ C-terminal ด้วย

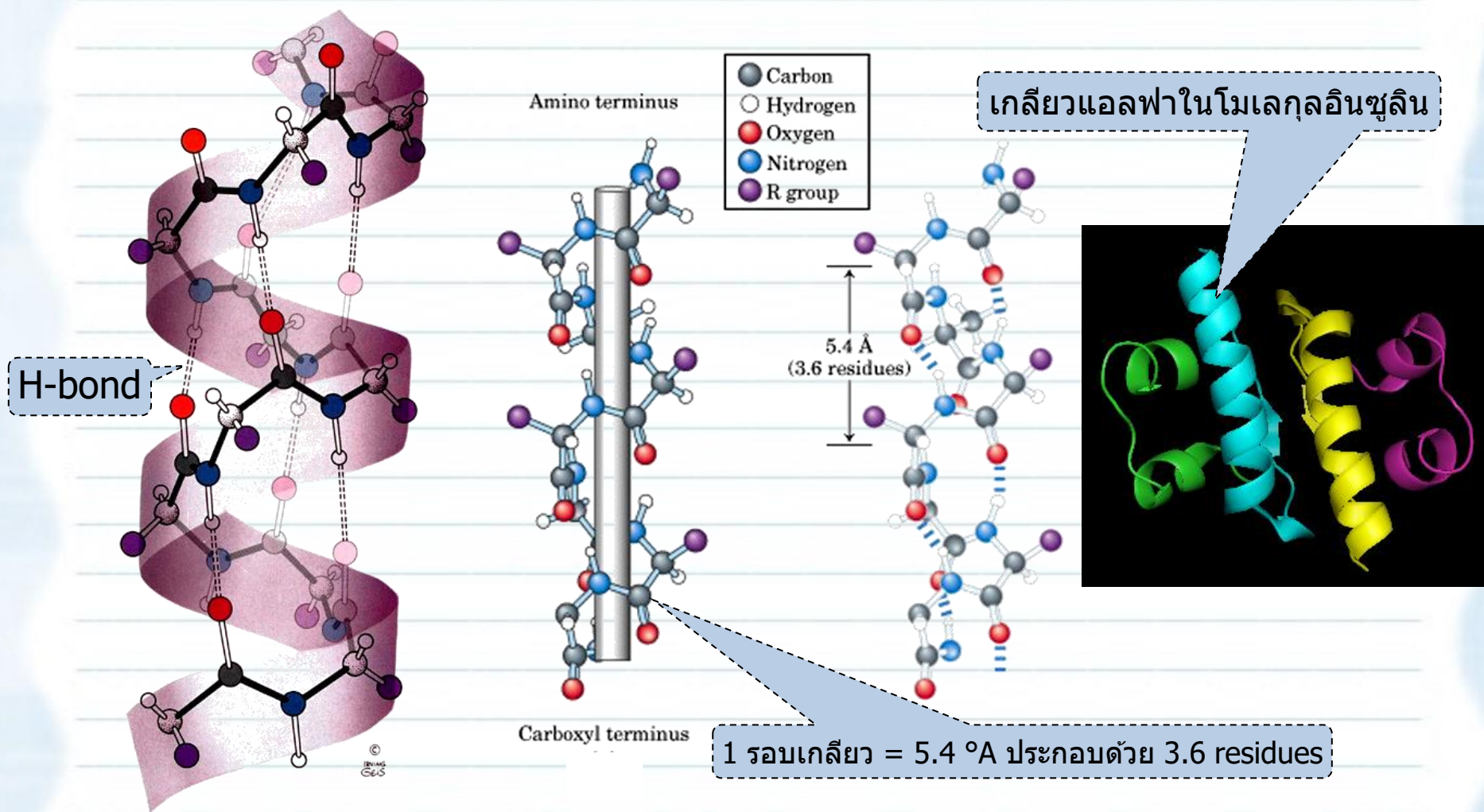
โครงสร้างของโปรตีน

2. โครงสร้างทุติยภูมิ (Secondary structure) โครงสร้างระดับ

นี้พิจารณาว่าสาย polypeptide มีการจัดโครงสร้างเป็นอย่างไร พันธะที่มีส่วนทำให้เกิดโครงสร้างระดับนี้คือ H-bond ภายใน หรือระหว่างสาย polypeptide

- **เกลียวแอลฟา** (α -Helix) เกิดจาก H-bond ระหว่างหมู่ COOH กับหมู่ NH_2 ที่อยู่ไกลออกไปบน polypeptide สายเดียวกัน ทำให้เกิดลักษณะแท่งของโปรตีน

โครงสร้างของโปรตีน



รูป 28 โครงสร้างแบบเกลียวแอลฟาของโปรตีน

ที่มา : courses.cm.utexas.edu/.../ch339k/overheads-1.htm, www.che.wsu.edu/~ntracy/work.htm

โครงสร้างของโปรตีน

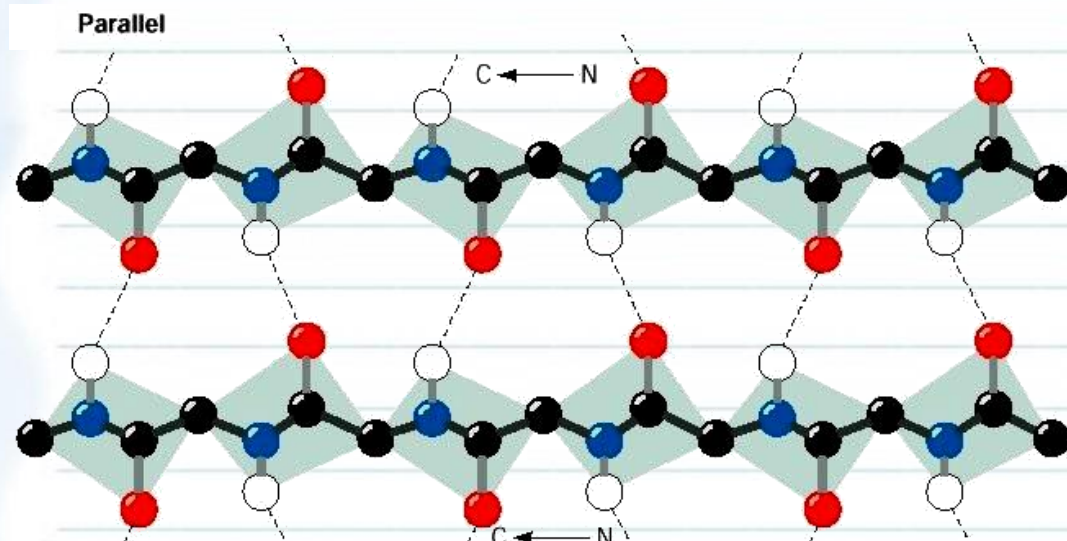
- **แผ่นพลีทเบต้า** (β -Pleated sheet) เกิดจาก H-bond ระหว่าง

หมู่ **COOH** กับหมู่ **NH₂** บน **polypeptide** ต่างสายกัน ทำให้ polypeptide หลายสายมาเรียงขนานกันเกิด **แผ่นที่พับเป็นคลื่น** ของโปรตีน แผ่นพลีทเบต้ามี 2 แบบ

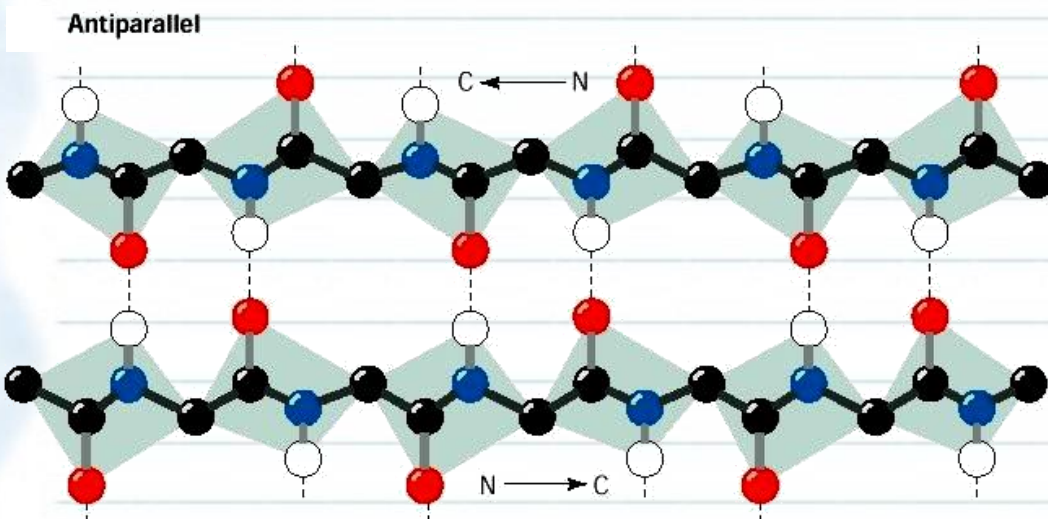
Parallel β -pleated sheet สาย polypeptide ทั้งหมดเรียงขนานโดยหัน N-terminal และ C-terminal ไป**ทางเดียวกัน**

Anti-parallel β -pleated sheet สาย polypeptide ทั้งหมดเรียงขนานโดยหัน N-terminal และ C-terminal **สลับกัน**

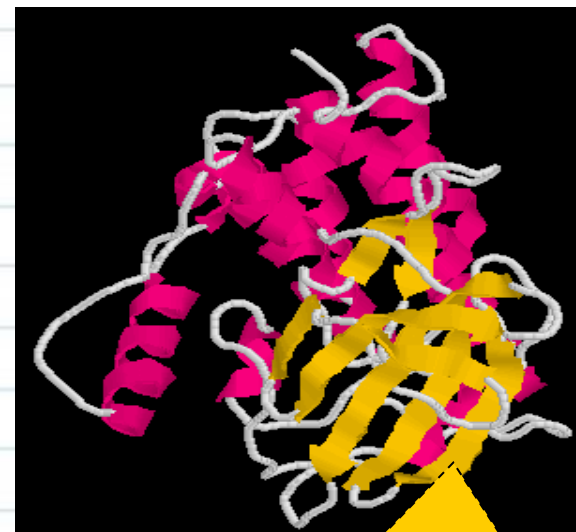
โครงสร้างของโปรตีน



<http://cmgm.stanford.edu/biochem201/Slides/Protein%20Structure/Parallel%20Beta-strands.JPG>



http://cmgm.stanford.edu/biochem201/Slides/Protein%20Structure/Anti_parallel%20Beta-Strands.JPG



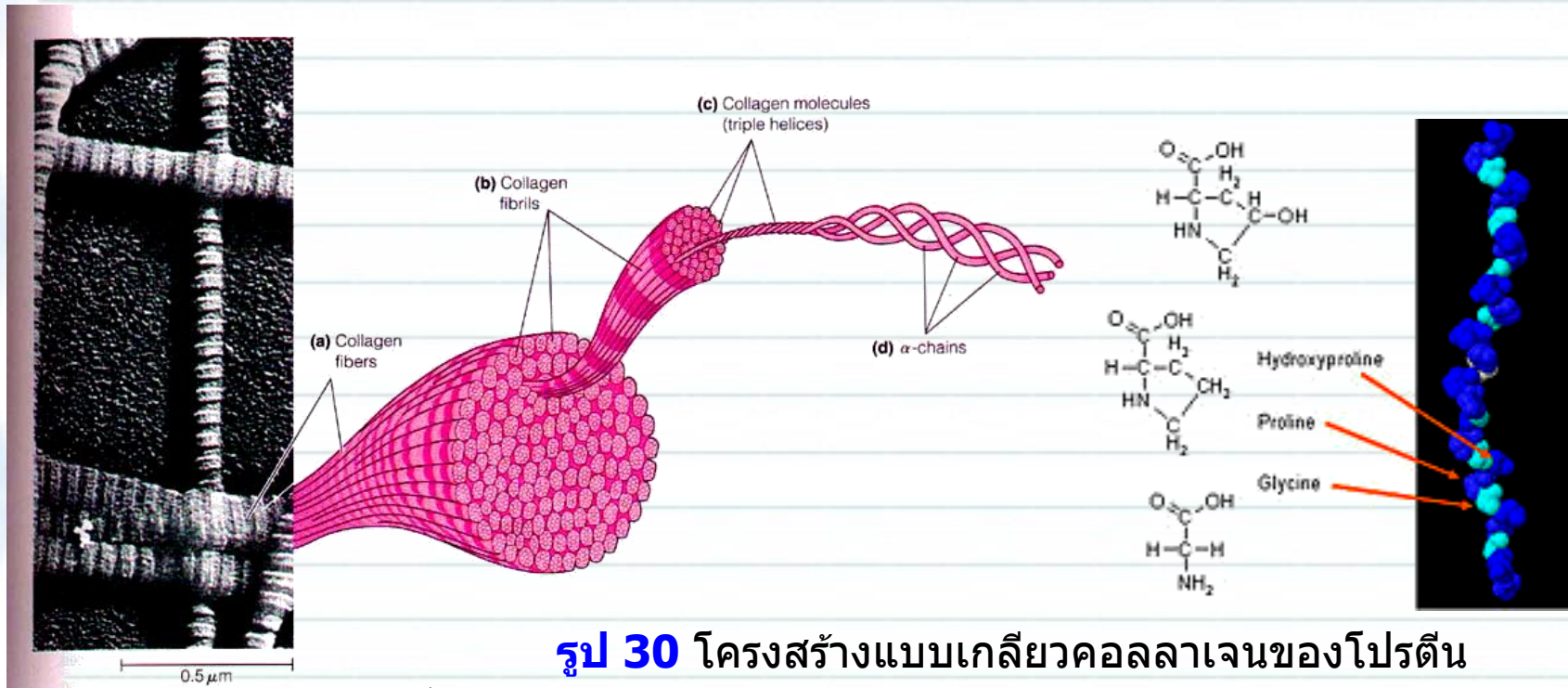
แผ่นพ्लीทเบต้าในโมเลกุลโปรตีน

โครงสร้างแบบ anti parallel
ให้ความแข็งแรงมากกว่า
เพราะ H-bond เป็นระเบียบ
กว่า

รูป 29 โครงสร้างแบบแผ่นพ्लीทเบต้าของโปรตีน

โครงสร้างของโปรตีน

- **เกลียวคอลลาเจน (Collagen helix)** เกิดจากสาย polypeptide 3 สาย พันกันเป็นเกลียวเวียนขวาแน่นคล้ายเชือก โดยแต่ละสายเป็นเกลียวแอลฟาอยู่ก่อน โครงสร้างแบบนี้ทำให้เกิดโปรตีนที่มีลักษณะเป็นเส้นยาว เหนียว ยืด-หดได้



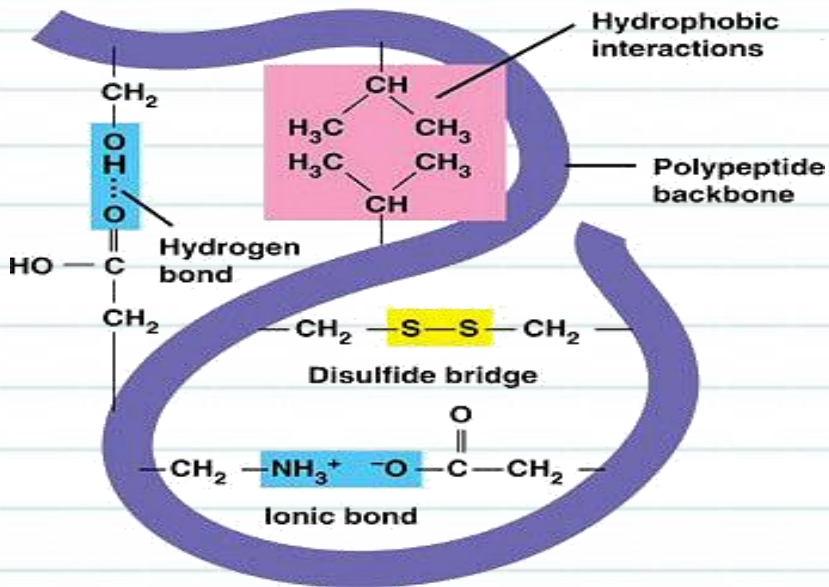
รูป 30 โครงสร้างแบบเกลียวคอลลาเจนของโปรตีน

โครงสร้างของโปรตีน

3. โครงสร้างตติยภูมิ (Tertiary structure) เป็นโครงสร้างระดับที่พิจารณาว่าสาย polypeptide มีการขดหรือม้วนตัวทำให้ได้ **โครงรูปกลม** ปัจจัยที่มีส่วนทำให้เกิดโครงสร้างระดับนี้คือ **แรงระหว่าง side chain R** โดยเฉพาะ **พันธะไดซัลไฟด์** (disulfide bridge) ที่เกิดระหว่าง sulfydryl group ของกรดอะมิโน cysteine

โครงสร้างระดับนี้ถูกทำลายได้โดย **ความร้อน** ซึ่งทำให้โปรตีน **เสียสภาพธรรมชาติ** (denature) และไม่สามารถทำหน้าที่ทางชีวภาพได้

โครงสร้างของโปรตีน



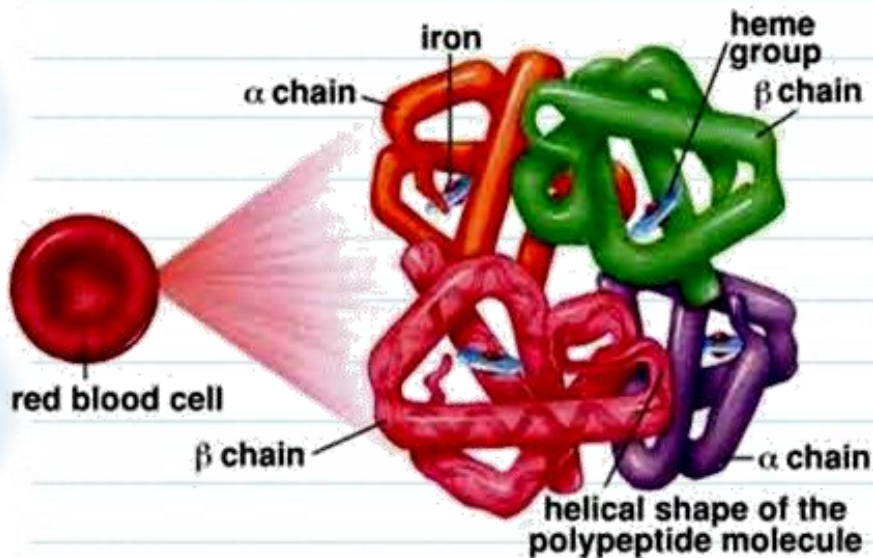
รูป 31 โครงสร้างตติยภูมิของโปรตีน

ที่มา : kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/biology.html, www.chemguide.co.uk/.../proteinstruct.html

โครงสร้างระดับตติยภูมิสามารถถูกทำลายได้โดย **ความร้อน สารเคมี และแรงอื่นๆ** พันธะระหว่าง side chain ที่แตกออกจะทำให้โปรตีนเสียรูปร่างใน 3 มิติ โดยเฉพาะพันธะสำคัญคือ **disulfide bridge** เรียกลักษณะนี้ว่า **การเสียสภาพธรรมชาติ (denature)** ซึ่งโปรตีนจะไม่สามารถทำหน้าที่ทางชีวภาพได้อีก

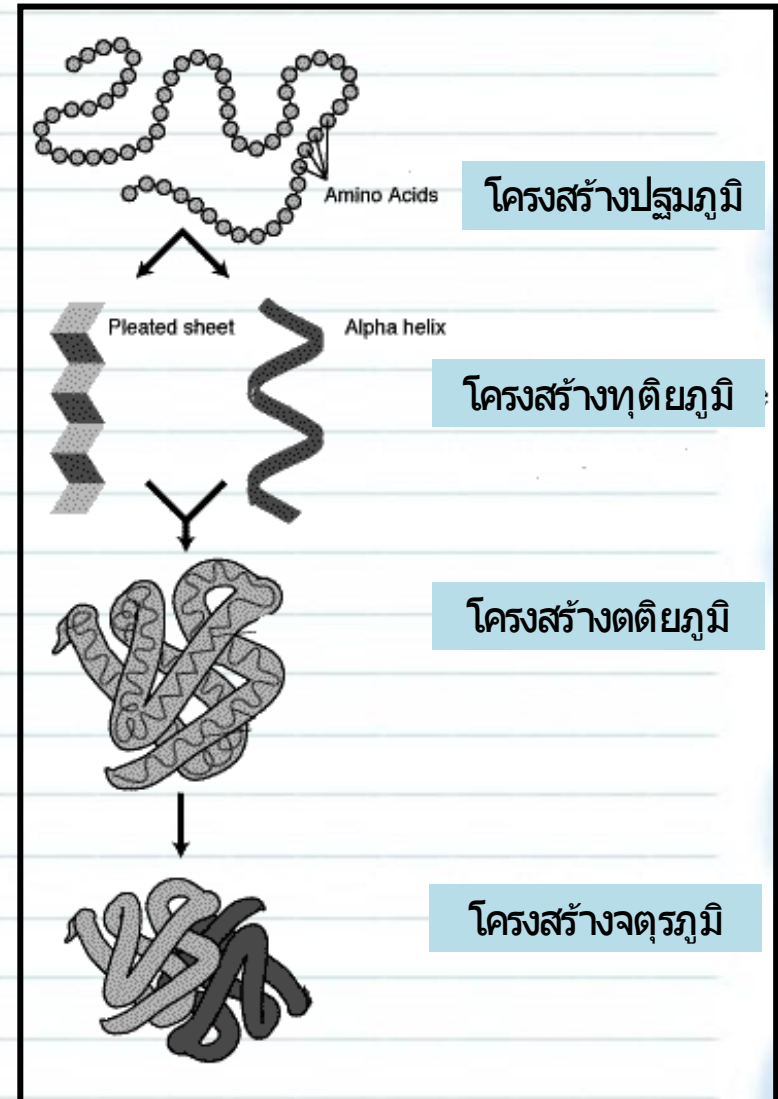
โครงสร้างของโปรตีน

4. โครงสร้างจตุรภูมิ (Quaternary structure) เป็นโครงสร้างระดับที่พิจารณา polypeptide หลาย ๆ ก้อนที่มาเกิดพันธะกัน เพื่อทำหน้าที่ทางชีวภาพให้สมบูรณ์ เรียกแต่ละก้อนว่า หน่วยย่อย (subunit)



รูป 32 โครงสร้างจตุรภูมิของโปรตีน

ที่มา : www.bloodless.it/



รูป 33 โครงสร้างทั้ง 4 ระดับของโปรตีน

ที่มา : www.contexto.info/DNA_Basics/Protein_Structure.htm

โครงสร้างของโปรตีน

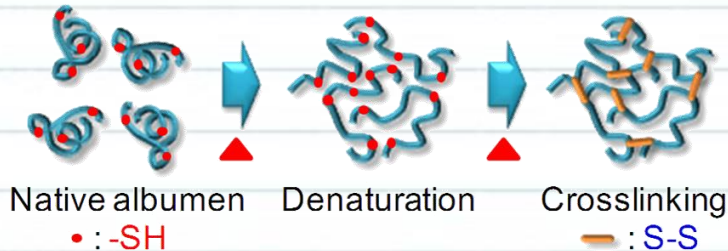
เมื่อโปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ สิ่งที่เปลี่ยนแปลงคือ **รูปร่าง** (shape) ของโปรตีนเปลี่ยนแปลง (เพราะโครงสร้างระดับ 4°, 3°, 2° ถูกทำลาย)

สูญเสียหน้าที่ทางชีวภาพ และสูญเสียความสามารถในการละลายน้ำ นอกจากความร้อน กรดแก่/เบสแก่ ตัวทำละลายอินทรีย์ ความดัน หรือ แม้กระทั่งแรงกลก็สามารถทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติได้

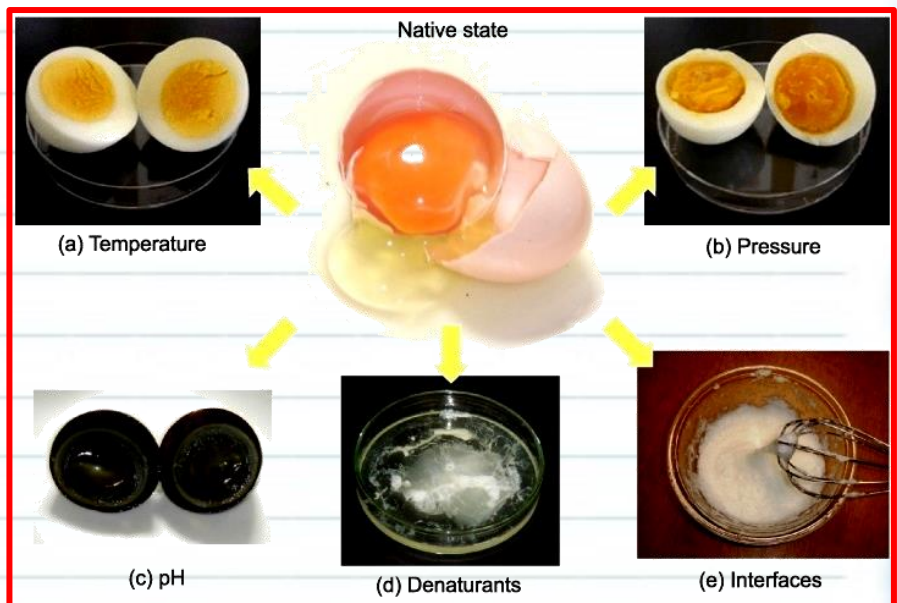
(a) ที่มา: <http://spie.org/x86653.xml>, http://ej.iop.org/images/0953-8984/24/50/503101/Full/cm427692f1_online.jpg



(b) Protein Thermal Irreversible Denaturation



รูป 34 การเสียความสามารถในการละลายน้ำ (a) และ การทำลาย disulfide bond (b) โดยความร้อน (▲) ของโปรตีน albumin

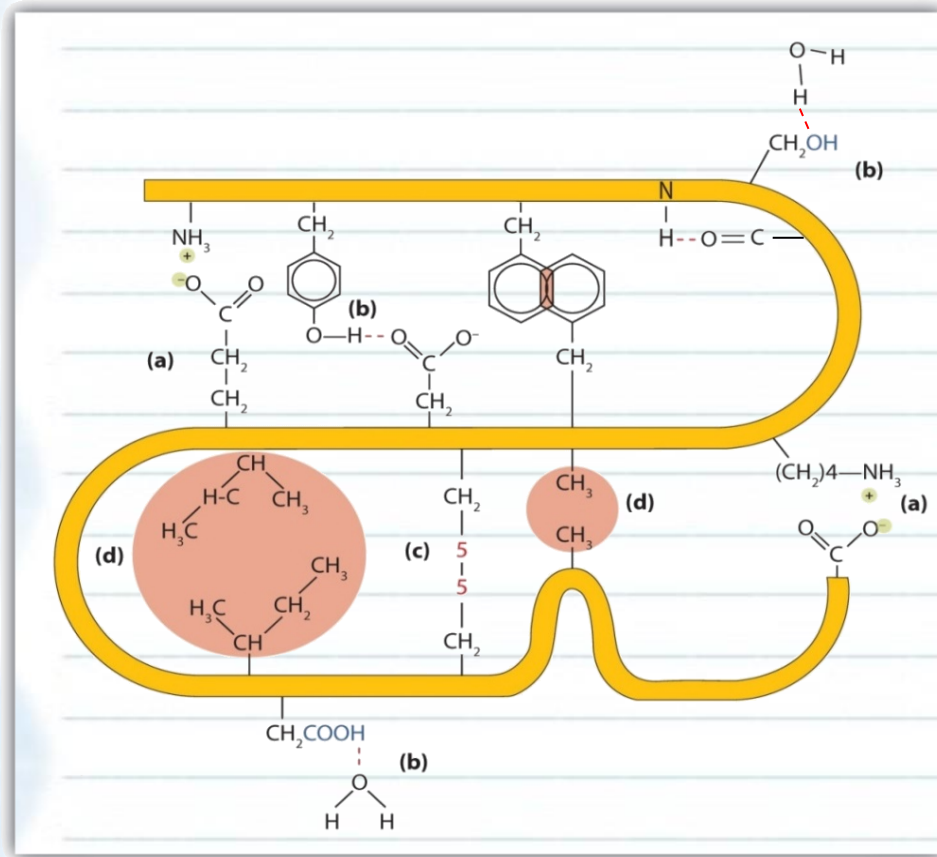


รูป 35 การเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน albumin จากปัจจัยต่างๆ

โครงสร้างของโปรตีน

แบบฝึกหัด 8 : โครงสร้าง 3D ของโปรตีน (1)

ระบุชนิดของพันธะระหว่าง side chain R ของโปรตีนกลุ่มนี้



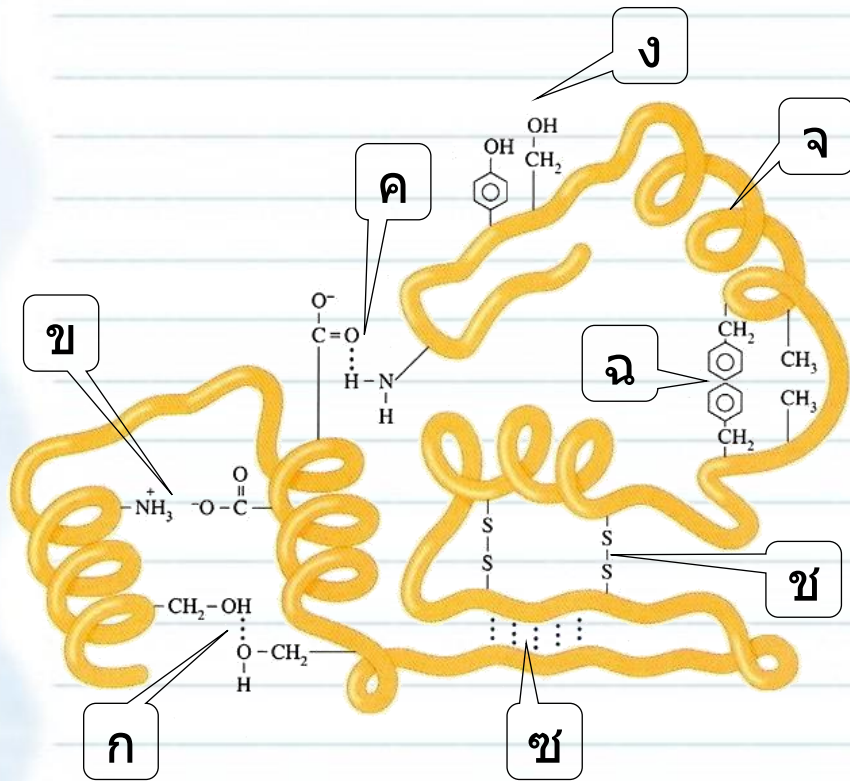
- (a)พันธะไอออนิก.....
- (b)พันธะไฮโดรเจน.....
- (c)พันธะไดซัลไฟด์.....
- (d)แรงระหว่างหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ.....

รูป 36 พันธะเคมีชนิดต่าง ๆ ในการเกิดโครงสร้างสามมิติของโปรตีน

โครงสร้างของโปรตีน

แบบฝึกหัด 9 : โครงสร้าง 3D ของโปรตีน (2)

ระบุชนิดพันธะเคมี และระดับโครงสร้างที่ตำแหน่ง ก.-จ. ของโปรตีนก่อนกลมต่อไปนี้

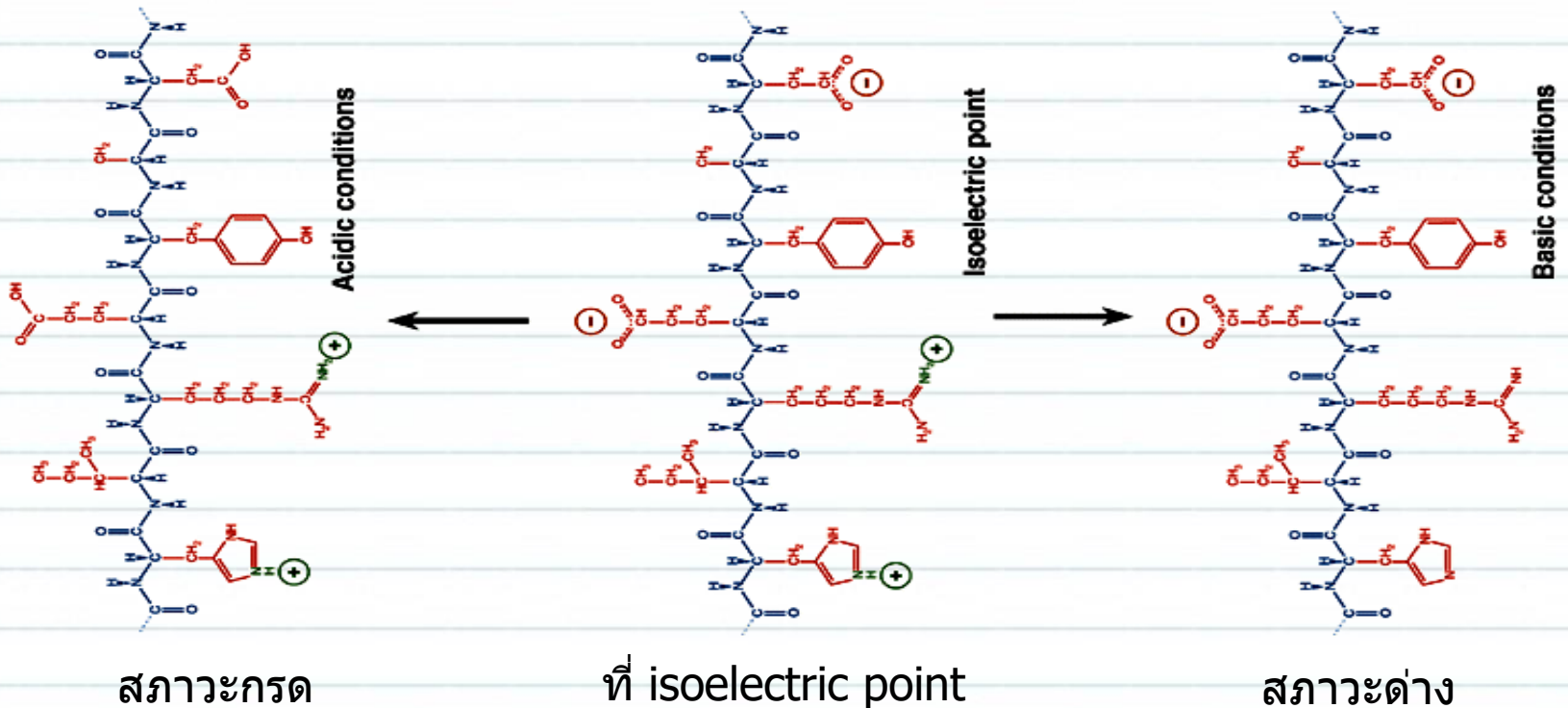


ชนิดพันธะเคมี	ระดับโครงสร้าง
ตำแหน่ง ก...พันธะไฮโดรเจน...	ตติยภูมิ
ตำแหน่ง ข...พันธะไฮโดรเจน...	ตติยภูมิ
ตำแหน่ง ค...พันธะไฮโดรเจน...	ตติยภูมิ
ตำแหน่ง ง...พันธะไฮโดรเจน	-
ตำแหน่ง จ...พันธะไฮโดรเจน	ทุติยภูมิ
ตำแหน่ง ฉ...แรงระหว่างหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ	ตติยภูมิ
ตำแหน่ง ข...พันธะไดซัลไฟด์	ตติยภูมิ
ตำแหน่ง ข...พันธะไฮโดรเจน	ทุติยภูมิ

รูป 37 พันธะเคมีชนิดต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดโปรตีนก่อนกลม

คุณสมบัติของโปรตีน

1. มีกราฟของการไทเทรตเฉพาะตัว มีค่า pK_a , pK_b , หลายค่าเนื่องจาก side chains และหมู่ฟังก์ชันที่ปลาย N และ C นอกจากนี้โปรตีนแต่ละชนิดมีค่า pI เฉพาะ



รูป 38 ประจุรวมของโปรตีนที่สภาวะกรด กลาง และด่าง

ที่มา : nationaldiagnostics.com/.../articles_id/3

คุณสมบัติของโปรตีน

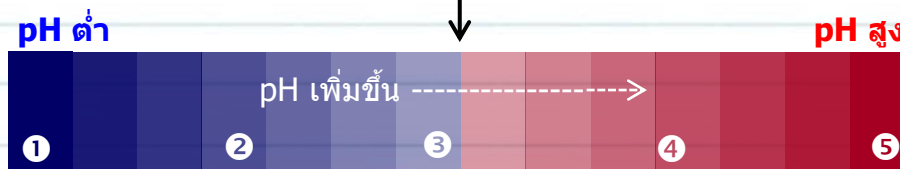
2. ประจุรวมของโปรตีนขึ้นกับ pH ซึ่งสามารถใช้คุณสมบัตินี้ในการแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์

ที่ $pH < pI$ โปรตีนมีประจุรวมเป็น +

ที่ $pH = pI$ โปรตีนมีประจุรวมเป็น 0

ที่ $pH > pI$ โปรตีนมีประจุรวมเป็น -

ที่ $pH = pI$ โปรตีนมีประจุรวมเป็น 0



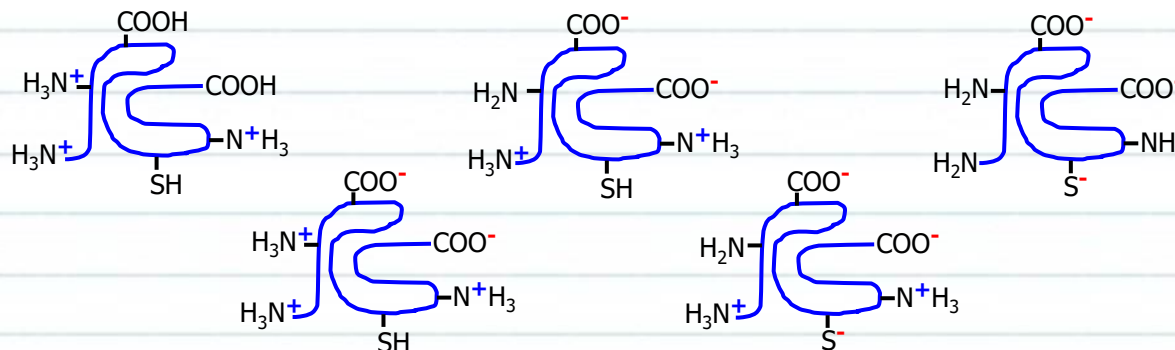
ที่ $pH < pI$
โปรตีนมีประจุรวมเป็น +

ที่ $pH > pI$
โปรตีนมีประจุรวมเป็น -

1. COOH (Func.) pK_{a1} 1.9
2. COOH (R) pK_{a2} 3.9
3. NH_3^+ (R) pK_{b1} 6.0
4. SH (R) pK_{b2} 8.4
5. NH_3^+ (R) pK_{b3} 10.5
6. NH_3^+ (Func.) pK_{b4} 10.7



$$pI \text{ ของโปรตีนชนิดนี้} = \frac{(pK_{b1} + pK_{b2} + pK_{b3} + pK_{b4})}{4} = 8.9$$

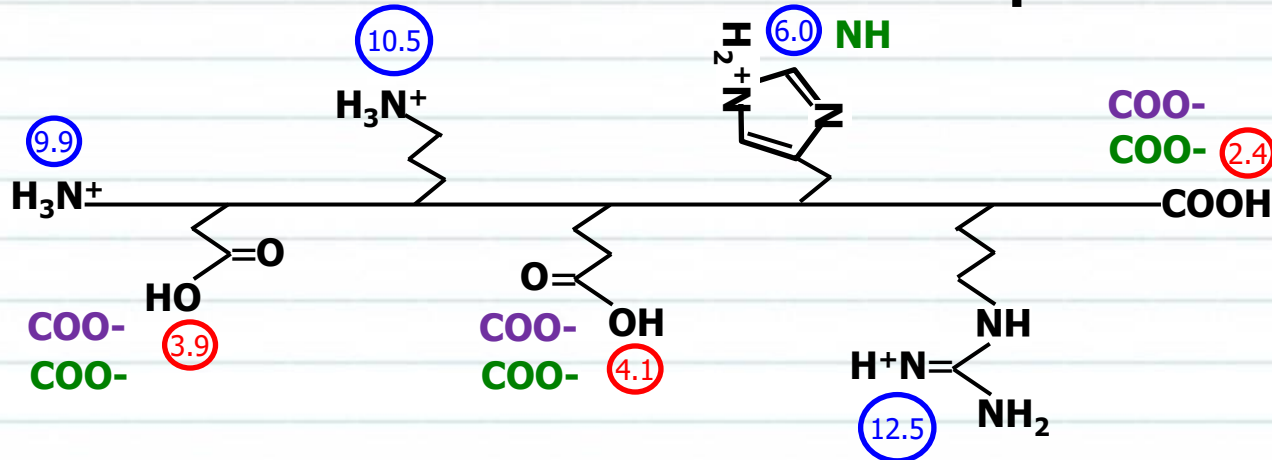


รูป 39 ประจุสุทธิของโปรตีนซึ่งเป็นบวกเมื่อ pH ลดลง และเป็นลบเมื่อ pH เพิ่มขึ้น

ดัดแปลงจาก <http://guweb2.gonzaga.edu/faculty/cronk/CHEM240pub/L11-index.cfm>

คุณสมบัติของโปรตีน

แบบฝึกหัด 10 : ประจุของโปรตีนขึ้นกับ pH ของสารละลาย
เปปไทด์ชนิดหนึ่งประกอบด้วย side chain ที่แตกตัวได้มีค่า **pK** ดังต่อไปนี้



1. เรียงลำดับการแตกตัวของ side chain และ N- และ C-terminal (ก่อน-หลัง)

1. COOH (2.4) 2. COOH (3.9) 3. COOH (4.1)

4. $-\text{N}^+\text{H}_2-$ (6.0) 5. N^+H_3 (9.9) 6. N^+H_3 (10.5) 7. $=\text{N}^+\text{H}$ (12.5)

2. ค่า pI ของเปปไทด์นี้... = $(6.0 + 9.9 + 10.5 + 12.5) / 4 = 9.7$

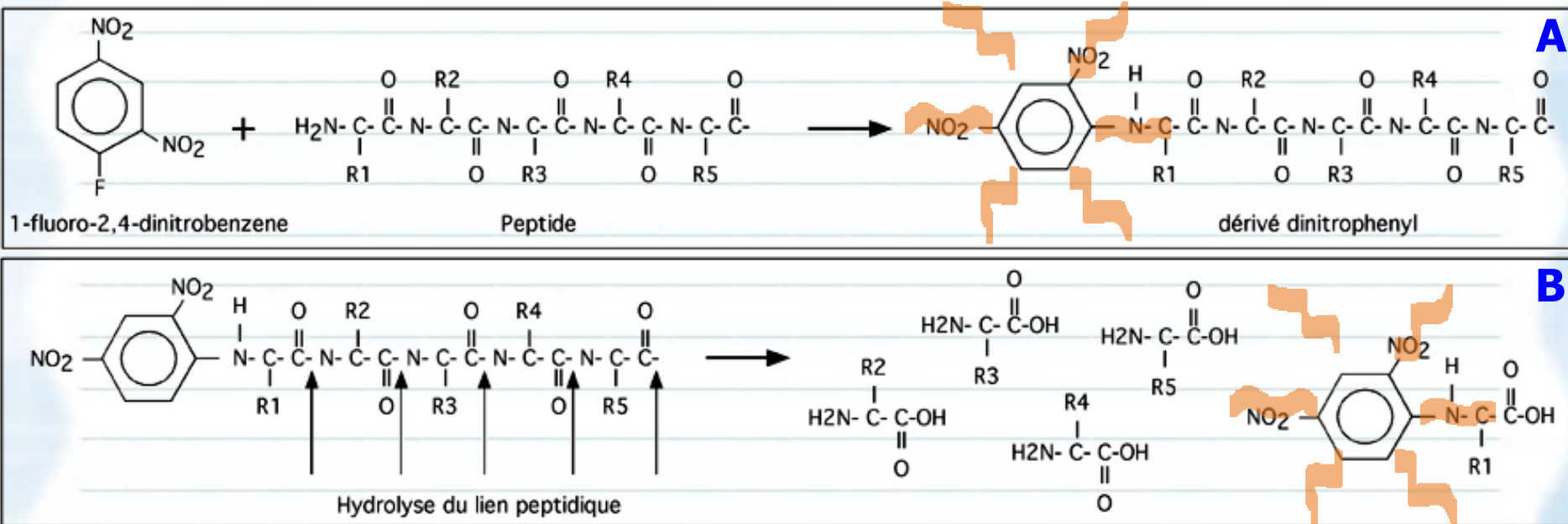
3. แสดงโครงสร้าง **zwitterion** ของเปปไทด์นี้... **ประจุรวมเป็น 0**

4. แสดงประจุทุกตำแหน่งของเปปไทด์นี้ที่ **pH = 5**... **ประจุรวมเด่น +**

คุณสมบัติของโปรตีน

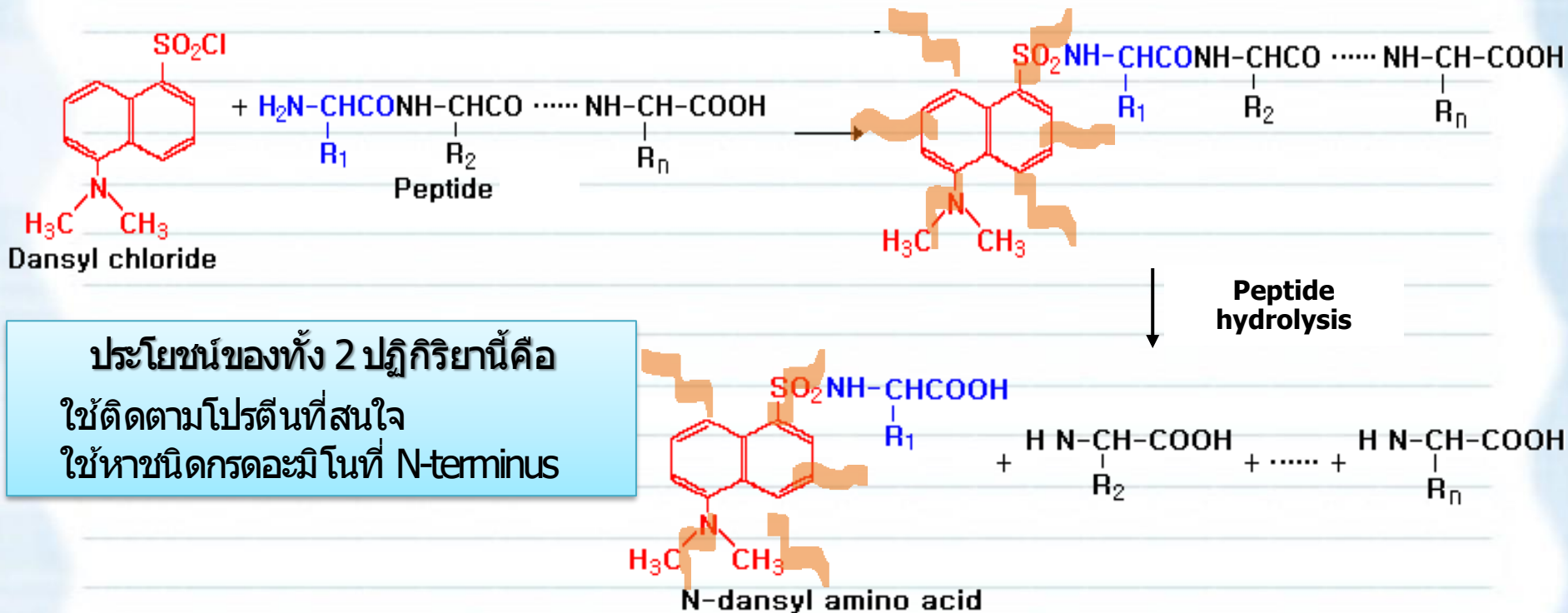
3. สมบัติทางเคมี (Chemical property) โปรตีนทำปฏิกิริยากับสารเคมีได้หลายชนิด ซึ่งมีประโยชน์ในการวิเคราะห์โปรตีน

ปฏิกิริยากับ **1-fluoro-2,4-dinitrobenzene** (FDNB) ซึ่งสารเคมีชนิดนี้จะเข้าทำปฏิกิริยาที่ N-terminal ของโปรตีนเกิดเป็นสารประกอบที่เรืองแสงได้



คุณสมบัติของโปรตีน

ปฏิกิริยากับ dansyl chloride ซึ่งจะเข้าที่ N-terminal ของโปรตีนและเกิดเป็นสารประกอบเรืองแสงขึ้นเช่นกัน

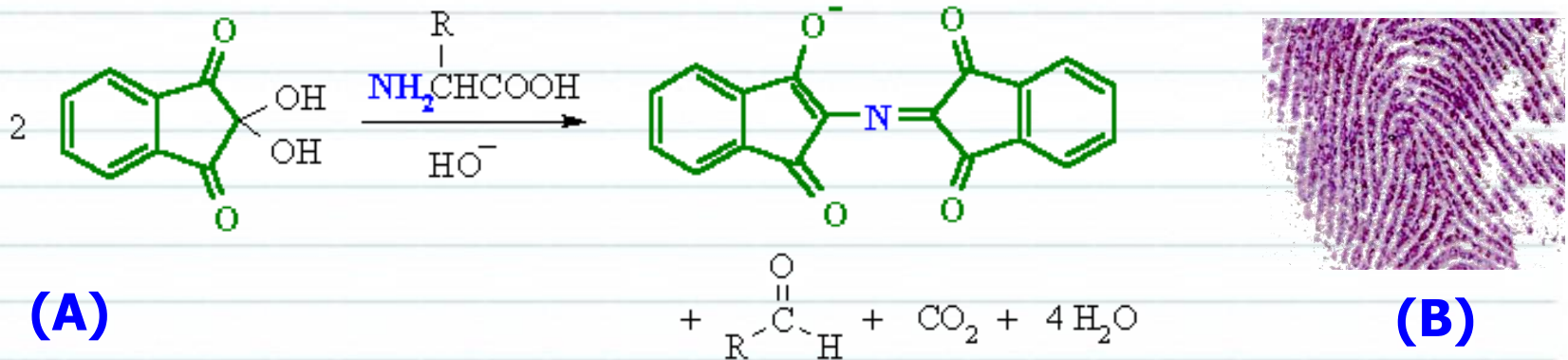


ประโยชน์ของทั้ง 2 ปฏิกิริยานี้คือ
ใช้ติดตามโปรตีนที่สนใจ
ใช้หาชนิดกรดอะมิโนที่ N-terminus

รูป 41 ปฏิกิริยาของเปปไทด์กับแดนซิลคลอไรด์ และเมื่อไฮโดรไลซ์จะได้กรดอะมิโนโมเลกุลแรกเรืองแสง

คุณสมบัติของโปรตีน

ปฏิกิริยากับ ninhydrin หมู่ α -amino ของโปรตีนสามารถทำปฏิกิริยากับ ninhydrin ได้ CO_2 , H_2O , aldehyde, และสารประกอบเชิงซ้อนสีม่วงน้ำเงิน



รูป 42 ปฏิกิริยาของแอลฟา-อะมิโนกับนินไฮดริน (A) และสีม่วงน้ำเงินจากการสเปร์ยนินไฮดรินลงบนรอยนิ้วมือ (B)

ที่มา : www.chem.ucalgary.ca/.../Ch27/ch27-3-3.html, www.ok.gov/.../index.html

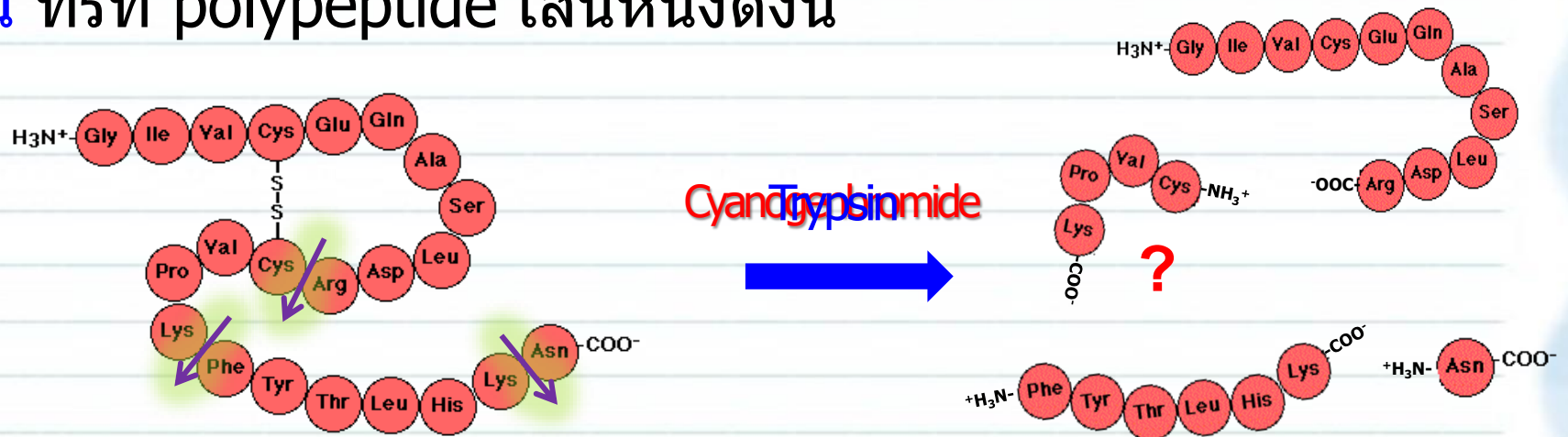
ยกเว้น **proline** ซึ่งเป็น secondary amine ให้สีส้มเหลืองแทน วิธีนี้มีความไวพอที่จะใช้ตรวจหารอยนิ้วมือ

คุณสมบัติของโปรตีน

ปฏิกิริยากับเอนไซม์/สารเคมีเฉพาะ ซึ่งเอนไซม์จะตัดสายโพลี peptide ที่ตำแหน่งจำเพาะ เช่น

- **Trypsin** ตัดหลัง Lys, Arg
- **Chymotrypsin** ตัดหลัง Phe, Trp Tyr
- **Pepsin** ตัดหลัง Phe, Trp Tyr
- **Thermolysin** ตัดหลังกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ
- **Cyanogenbromide** ตัดหลัง Met

เช่น ทรีท polypeptide เส้นหนึ่งดังนี้

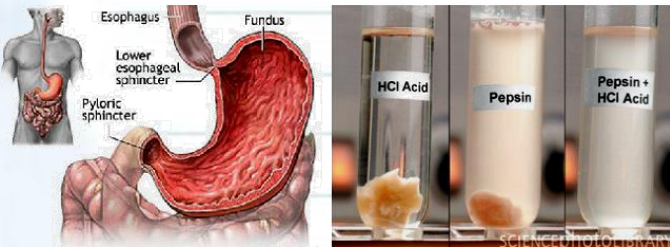


หน้าที่ของโปรตีน

1. โปรตีนเร่งปฏิกิริยา (Enzymes)

เร่งปฏิกิริยาในร่างกายของสิ่งมีชีวิต เช่น

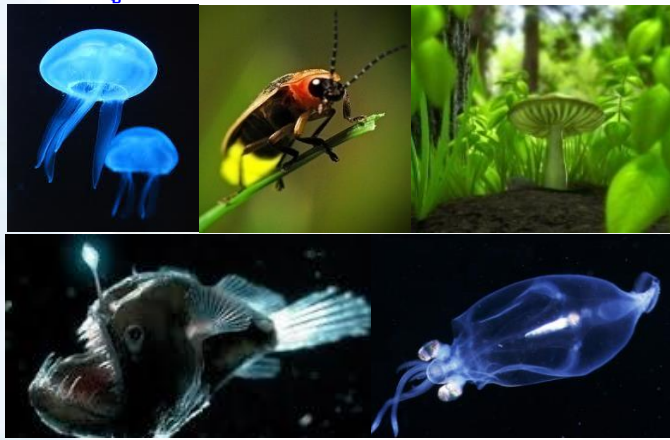
1.1 เปปซินย่อยโปรตีน



1.2 ไทโรซีนเร่งการสร้างสีผิว



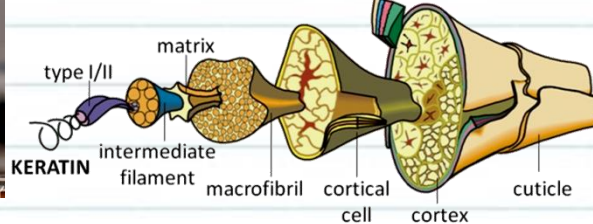
1.3 ลูซิเฟอเรสเร่งการเกิด bioluminescent



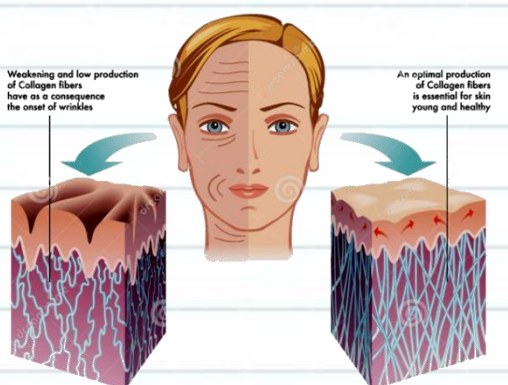
2. โปรตีนโครงสร้าง (Structural proteins)

เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างของร่างกาย เช่น

2.1 เคราตินในผม เล็บ และขนนก



2.2 คอลลาเจนและอีลาสตินใต้ชั้นผิวหนัง



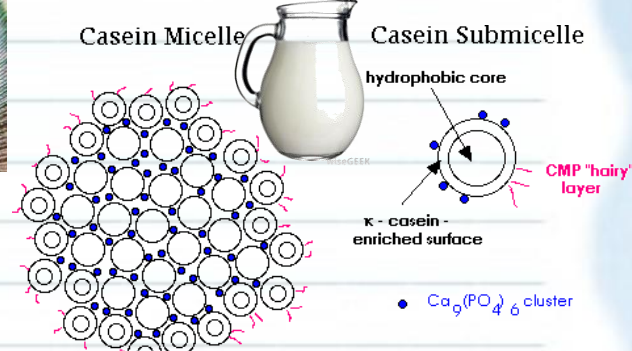
3. โปรตีนสะสม (Storage proteins)

คลังอาหาร รูปแบบการเก็บสำรองเป็นของร่างกาย เช่น

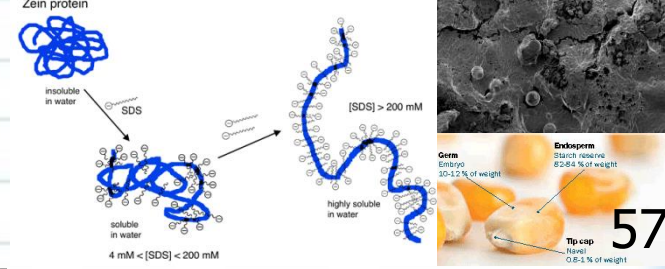
3.1 โอวัลบูมินในไข่ขาว



3.2 เคซีนในน้ำนม



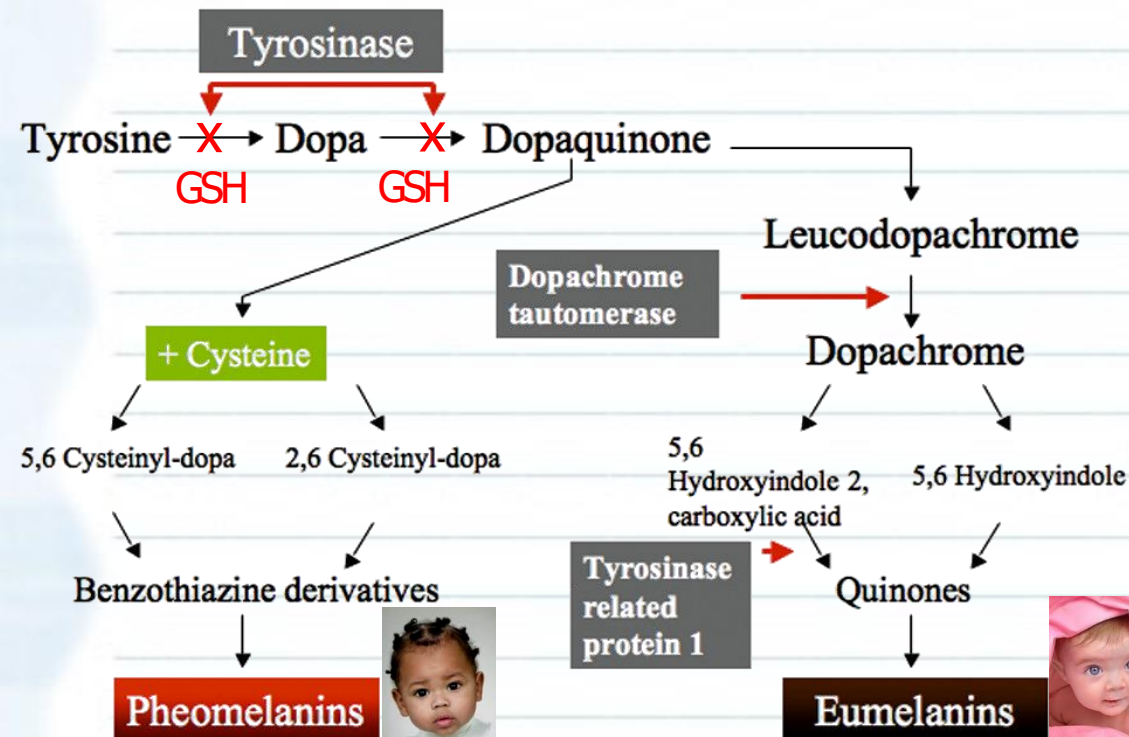
3.3 เซอีในเมล็ดข้าวโพด



ยับยั้งการสร้างสีผิว (melanin) ได้โดยสารแอนติออกซิแดนท์

เอนไซม์ **tyrosinase** ทำหน้าที่เร่งการสร้างสีผิวโดยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน **tyrosine** เป็น **dopa** ซึ่งเป็นปฏิกิริยาแรกของการสร้าง **melanin** อันเป็นเม็ดสีใต้ผิวหนัง ในผม ขน และม่านตาของสัตว์

Melanin Synthesis



ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ เช่น **bearberry cranberry mulberry blueberry** รวมถึงลูกแพร์ เป็นแหล่งของสารยับยั้งไทโรซิเนส (tyrosinase inhibitor) เชื่อว่าทำให้ผิวขาวขึ้นได้



Glutathione (GSH)

Vitamin A

Vitamin E

Vitamin C

α -Arbutin

Kojic acid

Ellagic acid

รูป 43 ขบวนการสังเคราะห์เมลานินซึ่งเป็นเม็ดสีของร่างกาย

ดัดแปลงจาก: <http://www.eyecalcs.com/DWAN/pages/v4/v4c038.html>

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. โปรตีนเร่งปฏิกิริยา (Enzyme)

พืชพื้นเมืองหลายชนิดเป็นแหล่งของ **สารยับยั้งไทโรซิเนส** (tyrosinase inhibitor) เชื่อว่าสามารถทำให้ผิวขาวขึ้นได้ จึงมีงานวิจัยที่เน้นสกัดสารพวกนี้เพื่อใช้เป็น **whitening agent** เพื่อผสมในเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย

ชื่อเรื่องงานวิจัยอิสระ การคัดเลือกพืชผักพื้นบ้านที่เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ

และหาปริมาณฟีนอลิกรวม

ชื่อผู้เขียนงานวิจัยอิสระ กวิญทิพย์ ศศิภาภิพัฒน์

วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมี

คณะกรรมการสอบ



อาจารย์ กัญญา

บุตรราช

ประธานกรรมการ

อาจารย์ พิมพ์

มนเทียรอาสน์

กรรมการ

อาจารย์ ดร. อนรรฆอร

ศรีไสยเพชร

กรรมการ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาพืชผักพื้นบ้านที่เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและหาปริมาณฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้าน 4 ชนิด ได้แก่ ผักไผ่ ผักคาวตอง ผักเชียงดา และผักขี้ขวง ซึ่งอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 3 ชั่วโมงหนัก 5 กรัมสกัดด้วย 95 เปอร์เซ็นต์เอทานอล ปริมาตร 150 มิลลิลิตร มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 4.4424 3.4969 2.9245 และ 1.6820 มิลลิกรัม กรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ จากการตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชโดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน พบว่ากรดแอสคอร์บิกมีค่า IC_{50} เท่ากับ 125 พีพีเอ็ม ในขณะที่สารสกัดผักไผ่ ผักคาวตอง ผักเชียงดา และผักขี้ขวง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 155 170 200 และ 255 พีพีเอ็ม ตามลำดับ การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเอบีทีเอสโดยใช้โทรลล็อกซ์เป็นสารมาตรฐาน พบว่าโทรลล็อกซ์ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 14.3 พีพีเอ็ม ส่วนสารสกัดผักไผ่ ผักคาวตอง ผักเชียงดา และผักขี้ขวง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 100 230 310 และ 340 พีพีเอ็ม ตามลำดับ จากผลทั้งหมดแสดงให้เห็นว่า ผักไผ่เป็นผักพื้นบ้านที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุดและสามารถต้านอนุมูลอิสระทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด แต่น้อยกว่าสารละลายมาตรฐานที่ใช้



ผักไผ่



ผักคาวตอง



ผักเชียงดา

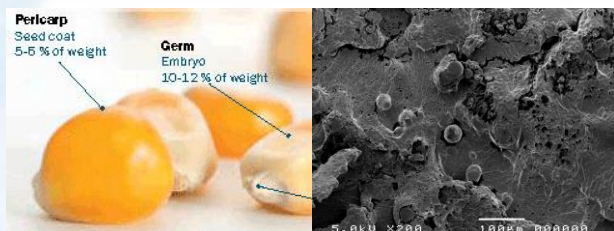


ผักขี้ขวง

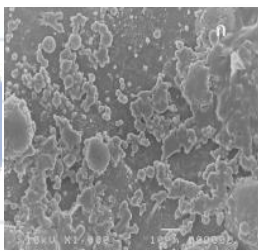
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

3. โปรตีนสะสม (Storage proteins)

คลังอาหาร รูปแบบการเก็บสะสมเป็น
ของร่างกาย เช่น โปรตีนเซอิน



เซอิน มีคุณสมบัติในการฟอร์มเป็น
แผ่นฟิล์มได้ จึงอาจนำไปประยุกต์ใช้ใน
อุตสาหกรรมอาหาร โดยสกัดเซอินจาก
เมล็ดข้าวโพดแล้วปรับปรุงคุณสมบัติ
ของแผ่นฟิล์ม



ลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ได้ และลักษณะพื้นผิว
ของแผ่นฟิล์มเซอินที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์
อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ทีมงานวิจัยอิสระ

เรื่องผู้เขียนงานวิจัยอิสระ

วิทยาศาสตร์บัณฑิต

คณะกรรมการสอบ

การกำจัดสีและการผลิตพลาสติกจากโปรตีนเซอินที่
เตรียมได้จากสารสกัดข้าวโพดปนบดแห้ง

เสาวณิต สีแสง

สาขาเคมี

อาจารย์กัญญา บุตรราช

ประธานกรรมการ

อาจารย์ ดร.อุษารัตน์ รัตนคำนวน

กรรมการ

อาจารย์ ดร.อนรรฆอร ศรีไสยเพชร

กรรมการ

บทคัดย่อ

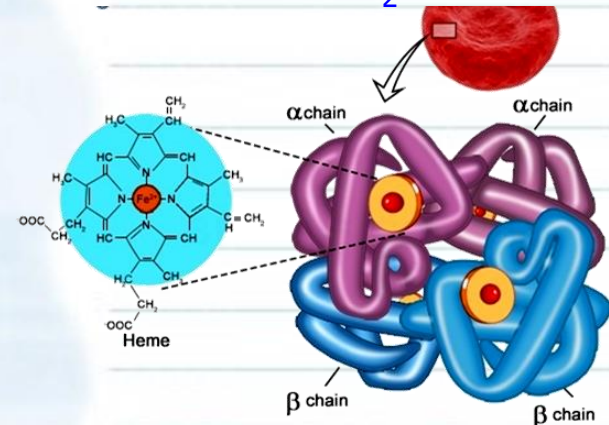
งานวิจัยนี้ได้สกัดโปรตีนเซอินจากข้าวโพดปนบดแห้งโดยใช้ 70 เปอร์เซ็นต์ เอทานอลในอัตราส่วนน้ำหนักต่อปริมาตร 1:4 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาทีนาน 2 ชั่วโมง เมื่อกรองกากข้าวโพดออกได้สารละลายเซอินสีเหลืองใส หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีบลูมก้าห์ล ได้โปรตีนร้อยละ 0.8050 จากนั้นขึ้นรูปแผ่นฟิล์มโดยการระเหยตัวทำละลายออกจนงานเฉพาะที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 20 ชั่วโมง แผ่นฟิล์มที่ได้มีสีเหลืองใส ยืดหยุ่น ผิวหน้าขรุขระ ส่วนผิวด้านล่างที่สัมผัสกับภาชนะจะเรียบ เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าพื้นผิวที่ขรุขระประกอบด้วยเม็ดกลมขนาดประมาณ 38.2353 ไมโครเมตร กระจายตัวอยู่ทั่วไป จากการใช้ถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1:20 น้ำหนักต่อปริมาตรกำจัดสีของสารละลายเซอิน ที่อุณหภูมิห้องได้สารละลายใสไม่มีสี หาปริมาณโปรตีนได้ 0.3675% ผลไม่สามารถขึ้นรูปแผ่นฟิล์มได้ด้วยวิธีข้างต้น งานวิจัยนี้จึงจะผลิตพลาสติกจากสารสกัดเซอินดังกล่าวโดยการเติมสารพลาสติกไซเซอร์เช่น กลีเซอรอล และน้ำตาล สามารถผลิตเม็ดพลาสติกได้หนัก 0.0375 กรัม คิดเป็น %yield เท่ากับ 0.93% จากนั้นศึกษาสมบัติทางความร้อนและสมบัติทางสภาพเพื่อหาฟังก์ชันของพลาสติกที่เตรียมได้เทียบกับแผ่นฟิล์มเซอิน ทดสอบการเป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันของสารสกัดเซอินเทียบกับสารมาตรฐาน TBHQ 70% เอทานอลและคลอโรฟอร์ม

หน้าที่ของโปรตีน

4. โปรตีนขนส่ง (Transport proteins)

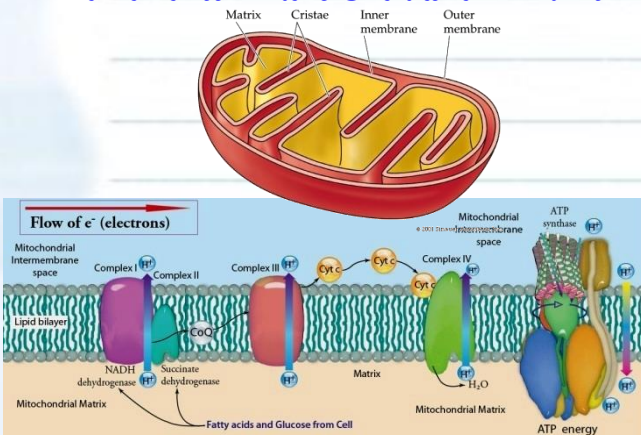
ลำเลียงก๊าซออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และสารอื่นๆ เช่น

4.1 ฮีโมโกลบิน ขนส่ง O_2 ในเลือด



© Buzzle.com

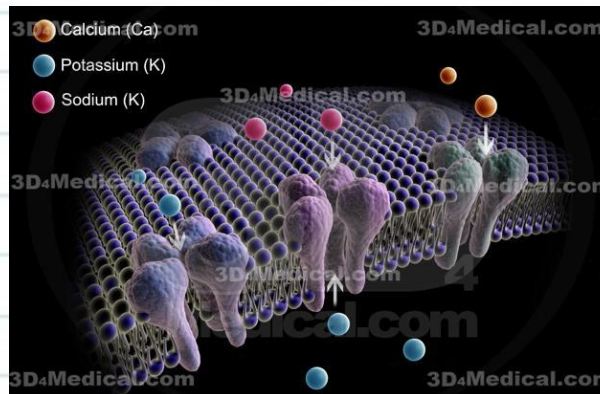
4.2 ไซโตโครม ขนส่ง e^- ในไมโทคอนเดรีย



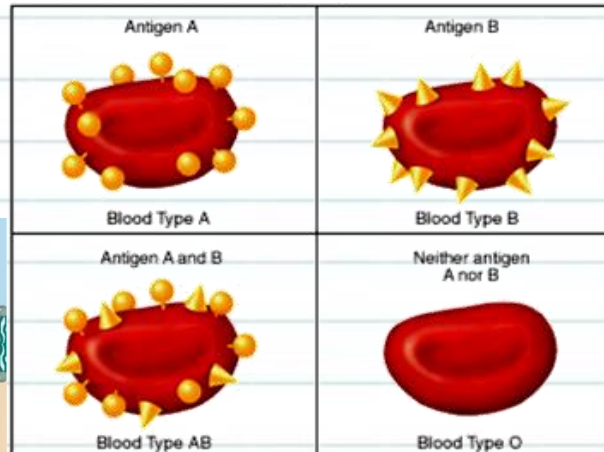
5. โปรตีนตัวรับ (Receptor proteins)

จับกับโมเลกุลเฉพาะ และทำให้เซลล์เกิดเปลี่ยนแปลงที่เหมาะสม เช่น

5.1 Ion channels ที่เยื่อหุ้มเซลล์



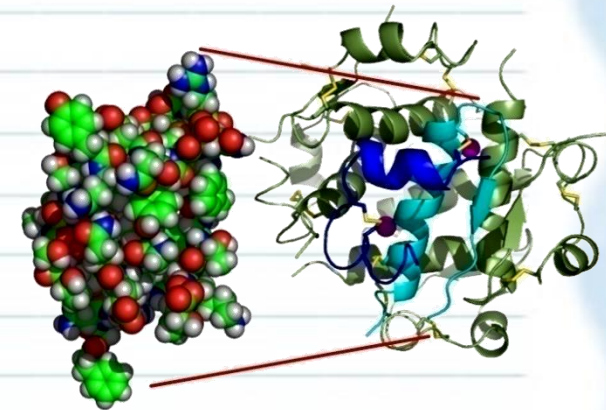
5.2 Antigen A, B บนผิว RBC



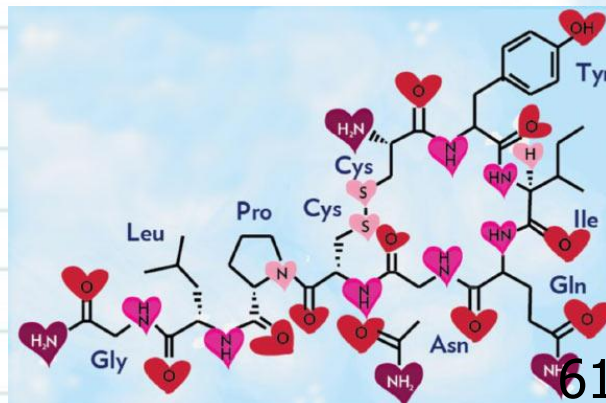
6. โปรตีนควบคุม (Regulatory proteins)

ฮอร์โมนควบคุมกระบวนการของร่างกาย เช่น

6.1 อินซูลิน ควบคุมระดับน้ำตาล



6.2 ออกซิโทซิน ฮอร์โมนแห่งความผูกพัน

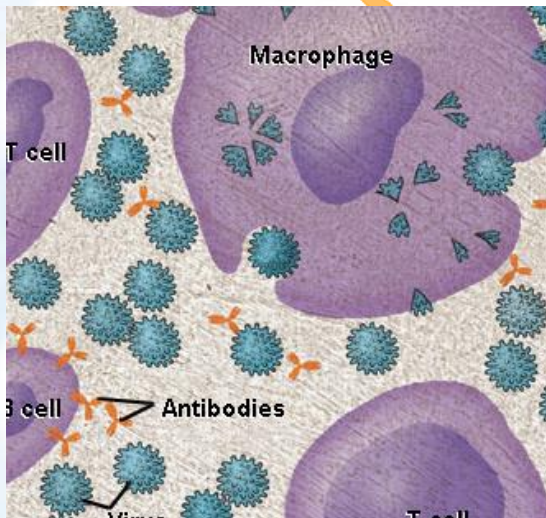
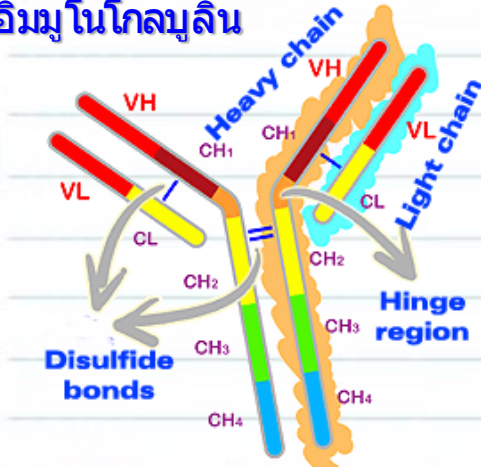


หน้าที่ของโปรตีน

7. โปรตีนป้องกัน (Protective proteins)

ช่วยจดจำ และกำจัดสิ่งแปลกปลอม เป็นภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย เช่น

7.1 อิมมูโนโกลบูลิน



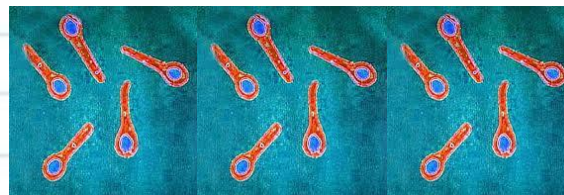
8. โปรตีนพิษ (Toxins)

สร้างขึ้น และขับออกนอกเซลล์เพื่อป้องกันศัตรู เช่น

8.1 พิษงู

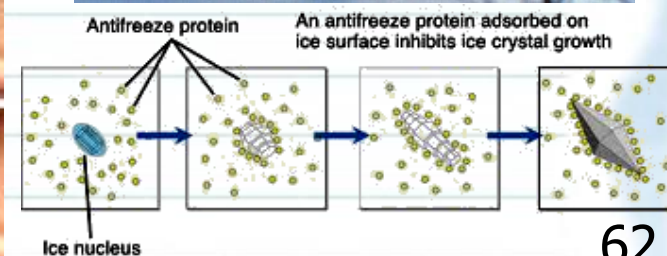


8.2 Clostridium botulinum toxin

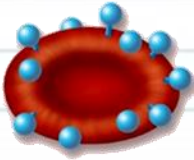
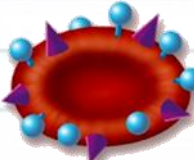
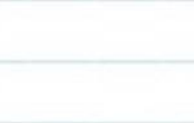


9. หน้าที่อื่นๆ โปรตีนด้านการเยือกแข็ง

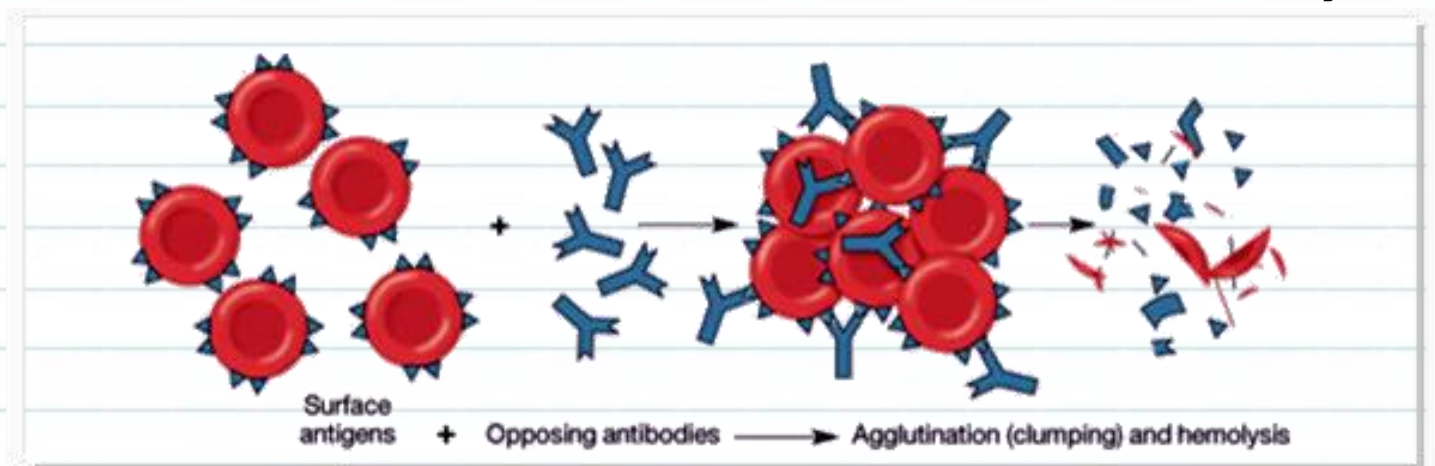
เลือดของสัตว์ขั้วโลกไม่แข็งตัว ทำให้มีชีวิตได้ใน อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง



หมู่เลือด ABO

	หมู่เลือด A	หมู่เลือด B	หมู่เลือด AB	หมู่เลือด O
Antigen บนผิวเม็ดเลือด				
	Antigen A	Antigen B	Antigen A และ B	ไม่มี Antigen
Antibody ในน้ำเลือด				
	Anti-B antibody	Anti-A antibody	ไม่มี antibody	Anti-B และ Anti-A antibody

รูป 44 ลักษณะแอนติเจนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดง และแอนติบอดีในน้ำเลือดของคนหมู่เลือดต่างๆ



รูป 45 เมื่อแอนติเจน B บนผิวเม็ดเลือดจับกับแอนติบอดี anti-B ในน้ำเลือดจะเกิดการตกตะกอน และสลายเม็ดเลือด

หน้าที่ของโปรตีน

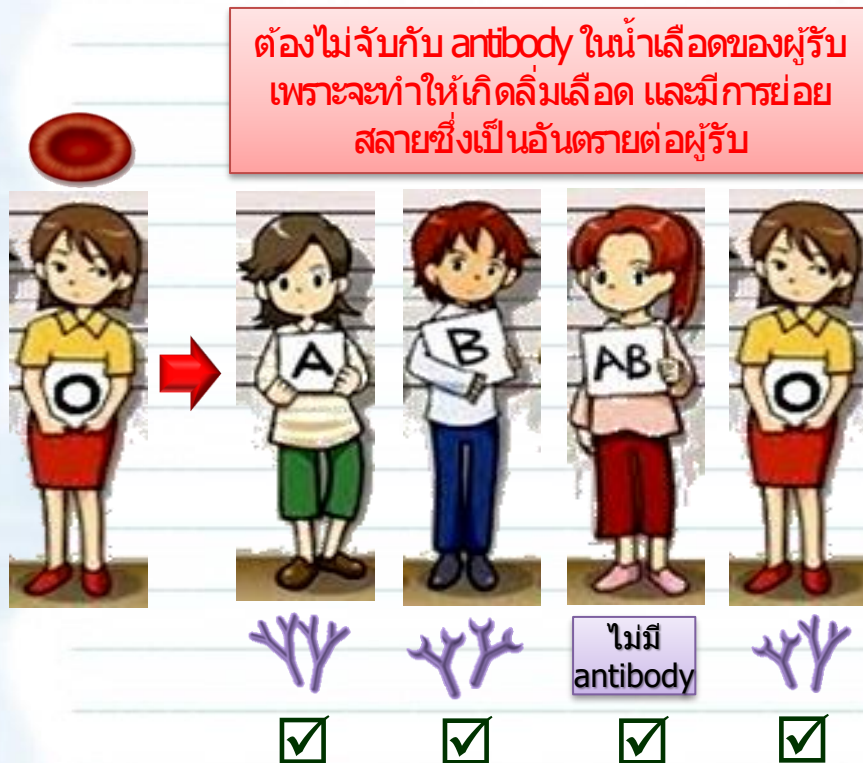
แบบฝึกหัด 11 : หน้าที่ของโปรตีน (1)

คนหมู่เลือด O ให้เลือดกับคนหมู่เลือดใดได้บ้าง

รับเลือดจากคนหมู่เลือดใดได้บ้าง อธิบายเหตุผล

1. กรณีหมู่ O ให้เลือด

พิจารณา antigen บนผิวเม็ดเลือดของ O



2. กรณีหมู่ O รับเลือด

พิจารณา antibody ในน้ำเลือดของ O



หน้าที่ของโปรตีน

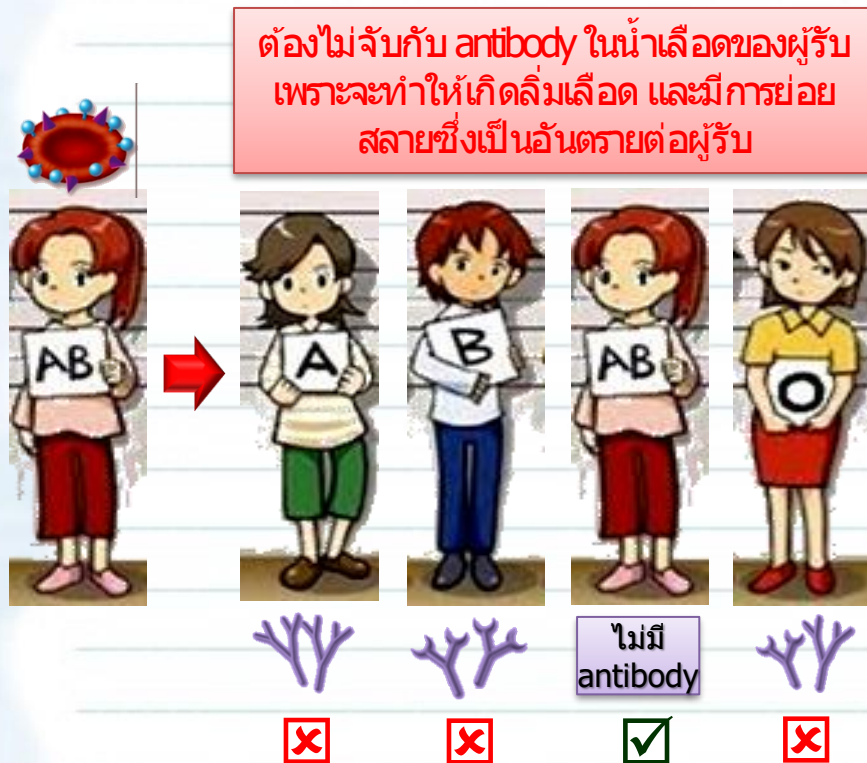
แบบฝึกหัด 12 : หน้าที่ของโปรตีน (2)

คนหมู่เลือด AB ให้เลือดกับคนหมู่เลือดใดได้บ้าง

รับเลือดจากคนหมู่เลือดใดได้บ้าง อธิบายเหตุผล

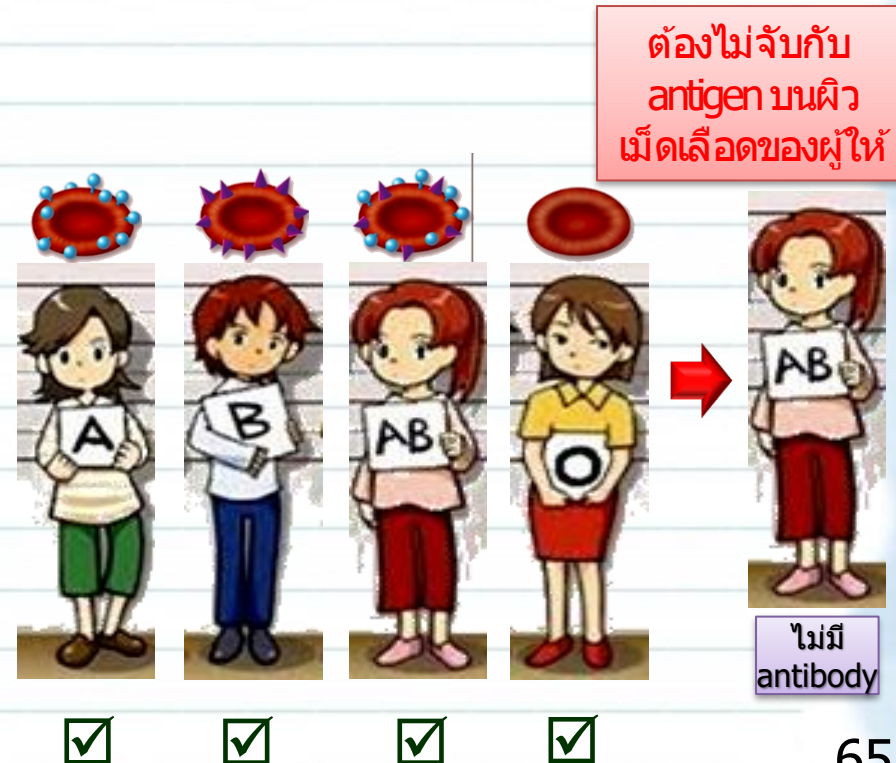
1. กรณีหมู่ AB ให้เลือด

พิจารณา antigen บนผิวเม็ดเลือดของ AB



2. กรณีหมู่ AB รับเลือด

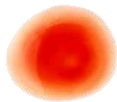
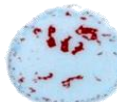
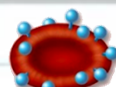
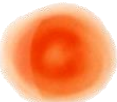
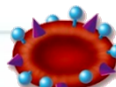
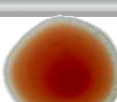
พิจารณา antibody ในน้ำเลือดของ AB



หน้าที่ของโปรตีน

แบบฝึกหัด 13 : หน้าที่ของโปรตีน (3)

การจับกันระหว่าง antigen บนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดง และ antibody ในน้ำเลือดทำให้เลือดตกตะกอน และถูกย่อยสลาย หลักการนี้นำมาประยุกต์ใช้ในการทดสอบหมู่เลือด ABO ได้ โดยการหยดสารละลาย antibody ชนิดต่าง ๆ ลงบนน้ำเลือดแล้วสังเกตผล

 ควบคุม anti-A anti-B anti-A+B				ระบุหมู่เลือด	วาดรูป antigen
				หมู่.....A.....	
				หมู่.....B.....	
				หมู่.....AB.....	
				หมู่.....O.....	

โครงสร้างของกรดอะมิโนพื้นฐาน 20 ชนิด แบ่งตามชนิดของ side chains

