

บทที่ 9 โปรตีน

วัตถุประสงค์ เมื่ออ่านบทนี้ตลอดจนทำแบบฝึกหัดแล้ว นักศึกษาจะต้อง

1. สามารถแยกแยะโปรตีนออกเป็นโปรตีนเชิงเดี่ยวและโปรตีนกอนจุกเขต ตลอดจนโปรตีนเส้นใย และโปรตีนก้อนกลม
2. อธิบายแรงที่ทำให้โปรตีนอยู่ในโครงรูปชนิดต่างๆ ได้
3. อธิบายการทำลายสภาพธรรมชาติของโปรตีนได้
4. อธิบายถึงพันธะตลอดจนโครงสร้างของโปรตีนในรูปแบบเกลียวอัลฟาและเบต้าซีท
5. เปรียบเทียบโครงสร้างในระดับปฐมภูมิ ทุติยภูมิ ตติยภูมิ และจตุรภูมิของโปรตีน
6. แสดงวิธนาการเรียงลำดับของกรดอะมิโนในสายโพลีเปปไทด์

โปรตีนเป็นสารประกอบที่พบบ่อยมากในเซลล์ทุกชนิด โดยจะมีอยู่เป็นจำนวนถึงสองในสามของน้ำหนักทั้งหมดของเซลล์ โปรตีนถูกค้นพบเป็นครั้งแรกใน ปี ค.ศ. 1838 โดยนักเคมีชาวฮอลแลนด์ ชื่อ G.J. Mulder สารประกอบชนิดนี้มีความสำคัญกับร่างกายมาก โดยจะเป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อของสัตว์ เช่นเดียวกับที่เซลลูโลสเป็นโครงสร้างของพืช โปรตีนเป็นส่วนประกอบของผิวหนัง ผม ขนนก ขนสัตว์ เล็บ เขา กีบ กล้ามเนื้อ เอ็น ตลอดจนกระดูกอ่อน นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับระบบสื่อสาร (เป็นส่วนประกอบของเส้นประสาท) การป้องกันอันตราย (เป็นแอนติบอดีส์) การควบคุมเมตาบอลิซึมของร่างกาย (เป็นฮอร์โมน) การเร่งปฏิกิริยา (เป็นเอนไซม์) และการขนส่งออกซิเจน (เป็นฮีโมโกลบิน) ด้วย โปรตีนจะถูกใช้ในการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ ๆ ขึ้นมาและบำรุงรักษาเนื้อเยื่อที่มีอยู่แล้วให้อยู่ในสภาพสมบูรณ์อยู่เสมอ ซึ่งหน้าที่นี้จะแตกต่างไปจากการโบไฮเดรตและไขมัน โดยที่สารทั้งสองประเภทหลังจะถูกใช้เป็นแหล่งให้พลังงานเสียเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่โปรตีนจะมีหน้าที่หลักในการสร้างและซ่อมแซมส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ถ้าให้อาหารที่มีโปรตีน ไรตามิน และเกลือแร่แก่สัตว์ จะทำให้สัตว์นั้นสามารถมีชีวิตอยู่ได้ช่วงระยะเวลาหนึ่ง แต่ถ้าให้อาหารที่มีแต่ลิปิด คาร์โบไฮเดรต ไรตามิน และเกลือแร่ โดยไม่มีโปรตีนเลยแก่สัตว์แล้ว ในกรณีหลังนี้สัตว์จะไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้นานเท่าในกรณีแรก

โมเลกุลของโปรตีนเป็นโพลีเมอร์ขนาดใหญ่ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันไปได้มาก โดยอาจมีน้ำหนักตั้งแต่หลายพันขึ้นไปจนถึงหลายล้านดาลตัน ในโมเลกุลของโปรตีนนั้น นอกจากจะมีคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนแล้ว โปรตีนทุกตัวยังประกอบไปด้วยไนโตรเจน และมีอีกหลายชนิดที่มีซัลเฟอร์ ฟอสฟอรัส และธาตุอื่น ๆ รวมอยู่ด้วย สัดส่วนของธาตุต่าง ๆ ที่พบในโปรตีนจะมีดังนี้คือ มีคาร์บอนราว 53% ไฮโดรเจน 7% ออกซิเจน 23% ไนโตรเจน 16% ซัลเฟอร์ 1% และฟอสฟอรัสน้อยกว่า 1%

9.1 การจำแนกประเภทของโปรตีน

เนื่องจากโปรตีนเป็นสารที่มีโมเลกุลซับซ้อนมาก ดังนั้นจึงทำให้ไม่สามารถที่จะแบ่งโปรตีนออกตามลักษณะโครงสร้างได้เหมือนกันกับในกรณีของลิปิดหรือคาร์โบไฮเดรท ในสมัยก่อนได้มีการจำแนกโปรตีนออกเป็น 2 พวกคือโปรตีนเส้นใย (fibrous protein) และโปรตีนก้อนกลม (globular protein) โปรตีนเส้นใยได้แก่โปรตีนพวกที่มีลักษณะเรียวยาว (elongate) เช่น ไหม (silk) ไฟโบรอิน (fibroin) และ เคราติน (keratin) เป็นต้น พวกนี้จะละลายในตัวทำละลายส่วนใหญ่ แต่ไม่ละลายในน้ำ สำหรับพวกโปรตีนก้อนกลมจะมีลักษณะกลม เช่น อัลบูมิน คาเซอีน (casein) และเอนไซม์ ส่วนมากพวกนี้จะละลายในน้ำและน้ำเกลือ

ในปัจจุบัน มีวิธีแบ่งจำพวกของโปรตีนออกได้ 2 วิธีด้วยกัน วิธีแรกเป็นการแบ่งตามส่วนประกอบ โดยแบ่งได้เป็นโปรตีนเชิงเดี่ยวและโปรตีนคอนจูเกต โดยที่โปรตีนเชิงเดี่ยว คือโปรตีนที่เมื่อถูกย่อยสลายแล้ว จะได้กรดอัลฟาอมิโนทั้งหมด ส่วนโปรตีนคอนจูเกต คือโปรตีนที่เมื่อย่อยสลายแล้ว จะได้กรดอัลฟาอมิโนและส่วนที่ไม่ได้เป็นโปรตีน ซึ่งเรียกว่าหมู่พรอสเทติก (prosthetic group) ด้วย โปรตีนเชิงเดี่ยว จะถูกแบ่งเป็นพวกย่อย ๆ ได้อีก ตามการละลายในตัวละลายต่าง ๆ กัน และโปรตีนคอนจูเกตก็จะถูกแบ่งย่อยได้ตามคุณสมบัติของหมู่พรอสเทติก วิธีที่สองในการแบ่งจำพวกของโปรตีน ก็คือแบ่งตามหน้าที่ ซึ่งการแบ่งทั้งสองวิธีนี้จะได้กล่าวละเอียดต่อไป ดังนี้คือ

9.1.1 การจำแนกโปรตีนตามส่วนประกอบ

1. โปรตีนเชิงเดี่ยวแบ่งเป็นพวกย่อยได้คือ

อัลบูมิน (albumins) เป็น simple protein พวกที่มีมากที่สุดและสำคัญที่สุด พบในไข่ขาว (egg albumin) และในเลือด (serum albumin) อัลบูมินจะละลายในน้ำและสารละลายเกลือเจือจางได้

โกลบูลิน (globulins) ละลายในสารละลายเกลือเจือจางแต่ไม่ละลายน้ำ พวกนี้จะเป็นโปรตีนหมู่ที่มีการกระจายกว้างขวางมาก ตัวอย่างเช่น เป็นแอนติบอดีในซีรัมของเลือด และเป็นไฟบริโนเจนของเลือด

ฮิสโตน (histones) เป็นโปรตีนที่เป็นเบส เนื่องจากประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เป็นเบส (ไลซีน และ/หรือ อาร์จินีน) เป็นจำนวนมาก ฮิสโตนจะพบในรูปที่รวมตัวอยู่กับกรดนิวคลีอิก เกิดเป็นนิวคลีโอโปรตีนของเซลล์ชั้น พวกนี้ละลายในน้ำ และไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เจือจาง

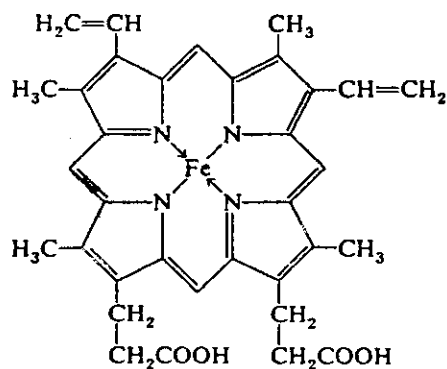
scleroproteins (albuminoids) จะมีหน้าที่เกี่ยวกับการป้องกัน และเป็นโครงสร้างของสิ่งมีชีวิต พวกนี้จะไม่ละลายในน้ำและตัวทำละลายอื่น ๆ ส่วนมาก ตัวอย่างได้แก่ เคราติน (พบในผม ผิวหนัง และเล็บ) คอลลาเจน (พบในกระดูก เอ็น และกระดูกอ่อน) elastin (พบใน elastic fiber ของ connective tissue)

2. โปรตีนคอนจูเกต แบ่งเป็นพวกย่อยได้ คือ

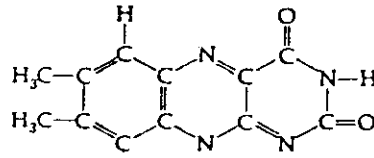
ฟอสโฟโปรตีน พวกนี้เมื่อถูกสลายจะได้กรดฟอสฟอริกและโปรตีน ตัวอย่างที่สำคัญได้แก่ คาเซอีน ซึ่งพบในนม

ไกลโคโปรตีน จะมีคาร์โบไฮเดรตหรืออนุพันธ์ของคาร์โบไฮเดรต เป็นหมู่พรอสเทติก ตัวอย่างได้แก่ mucin ในน้ำลาย

chromoproteins จะมีหมู่พรอสเทติกที่เป็นรงควัตถุ เช่น ฮีม (heme) หรือฟลาวิน (flavin) เชื่อมต่ออยู่กับโปรตีนเชิงเดี่ยว ตัวอย่างของโปรตีนพวกนี้ได้แก่ ฮีโมโกลบิน ซึ่งประกอบด้วยรงควัตถุฮีมต่ออยู่กับส่วนที่เป็นโปรตีนคือโกลบิน



heme



flavin

metalloprotein จะมีไอออนของโลหะ เช่น Cu^{2+} หรือ Zn^{2+} เป็นหมู่โปรสเทติก *นิวคลีโอโปรตีน* เป็นคอมเพล็กซ์ที่พบมากในนิวเคลียสของเซลล์พืชและสัตว์ หมู่โปรสเทติกของพวกนี้คือกรดนิวคลีอิก (DNA และ RNA)

ไลโปโปรตีน มักจะถูกจัดเป็นลิปิดประกอบ เนื่องจากประกอบขึ้นจากเอสเทอร์ของไกลเซเตอรอลและฟอสโฟลิปิด ต่ออยู่กับโมเลกุลของโปรตีน ลิปิดส่วนใหญ่ในกระแสเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะถูกขนส่งในรูปคอมเพล็กซ์ของไลโปโปรตีนนี้ นอกจากนี้ ไลโปโปรตีนยังเป็นส่วนประกอบของระบบขนส่งอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรียด้วย สถานที่ที่จะพบไลโปโปรตีนอีกก็คือไข่แดง นิวเคลียสของเซลล์ และไรโบโซม

9.1.2 การจำแนกโปรตีนตามหน้าที่

1. structural proteins ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของสัตว์ ตัวอย่างได้แก่ คอลลาเจน ซึ่งพบในผิวหนัง กระดูก และกระดูกอ่อน คอลลาเจนนี้จะมีเป็นจำนวนถึงมากกว่าครึ่งหนึ่งของโปรตีนทั้งหมดที่พบในร่างกายสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม
2. contractile proteins ทำหน้าที่เกี่ยวกับการเคลื่อนไหว ตัวอย่างเช่น myosin และ actin ซึ่งพบในกล้ามเนื้อ
3. catalytic proteins ได้แก่เอนไซม์ ซึ่งเป็นโปรตีนจำพวกที่มีมากที่สุด หน้าที่คือเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในร่างกายสิ่งมีชีวิต
4. hormonal proteins เป็นโปรตีนที่ควบคุมการทำงานต่าง ๆ ของเซลล์ ตัวอย่างได้แก่ อินซูลิน ซึ่งช่วยลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือด
5. natural - defense proteins ทำหน้าที่กำจัดสิ่งแปลกปลอม (antigen) ที่ล่องล้าเข้าไปในร่างกาย ตัวอย่างได้แก่ แอนตี้บอดีส์ เช่น แคมมาโกลบูลิน
6. blood proteins เป็นส่วนประกอบของเลือด ตัวอย่างได้แก่ อัลบูมิน และโกลบูลิน นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ในการแข็งตัวของเลือดด้วย ตัวอย่างคือ ไฟบริโนเจน
7. digestive proteins ได้แก่เอนไซม์ต่าง ๆ ที่พบในสารที่หลั่งออกมาจากกระเพาะอาหารและลำไส้ มีหน้าที่เป็นตัวเร่งให้เกิดการย่อยสลายสารอาหาร ให้มีขนาดเล็กลง

8. transport proteins ทำหน้าที่ขนส่งสารต่าง ๆ ภายในเซลล์ ตัวอย่างเช่น ฮีโมโกลบิน ซึ่งขนส่งออกซิเจนในกระแสเลือด

9. respiratory proteins ตัวอย่างได้แก่ ไซโตโครมต่าง ๆ ซึ่งเกี่ยวข้องในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปยังตัวรับที่เหมาะสม เช่น ออกซิเจน เป็นต้น

10. repressor proteins ทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีนในโครโมโซม

11. receptor proteins ได้แก่โปรตีนที่ทำหน้าที่ส่งข่าวสารเข้าไปภายในเซลล์หลังจากเกิดการรวมตัวกับสารเฉพาะเจาะจงที่ภายนอกเซลล์เสียก่อน ดังนั้นโปรตีนพวกนี้จึงต้องอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์

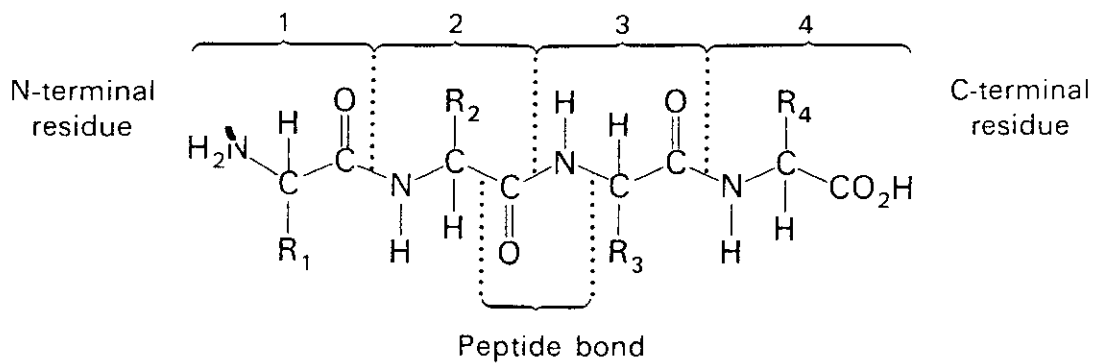
12. ribosomal proteins จะรวมตัวกับ RNA แล้วเกิดเป็นไรโบโซม ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีน

13. toxin proteins พบในสัตว์เลื้อยคลานที่มีพิษ และพิษนี้จะทำอันตรายต่อระบบประสาทของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

14. vision proteins ทำหน้าที่เกี่ยวกับการมองเห็น ตัวอย่างได้แก่ โรดอปซิน (rhodopsins)

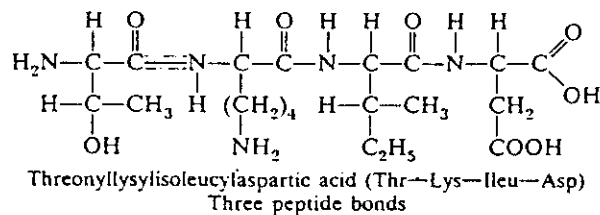
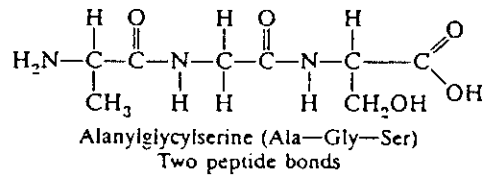
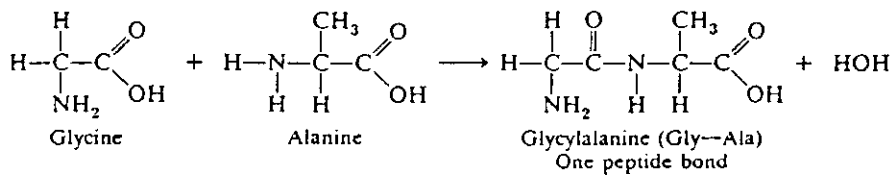
9.2 โครงสร้างปฐมภูมิ (primary structure) ของโปรตีน

โปรตีนสามารถถูกย่อยสลายเพียงบางส่วนได้โดยใช้กรด HCl แล้วจะทำให้เกิดเปปไทด์ (peptides) ขึ้น เปปไทด์ก็คือสายของกรดอะมิโนที่มาเชื่อมต่อกัน โดยใช้พันธะเปปไทด์ (peptide bond) ซึ่งก็คือพันธะเอมิด (amide linkage) ที่เกิดระหว่างหมู่เอมิโนของกรดอะมิโนตัวหนึ่ง กับหมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโนอีกตัวหนึ่ง (รูปที่ 9 - 1) เปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 2, 3 และ 4 ตัว จะเรียกว่าไดเปปไทด์ ไตรเปปไทด์ และเตตระเปปไทด์ ตามลำดับ ถ้าโมเลกุลของสารประกอบขึ้นจากกรดอะมิโน 5 - 35 ตัว จะเรียกลำดับนั้นว่าโพลีเปปไทด์ และถ้าโพลีเปปไทด์นั้นมีความยาวมากขึ้น และน้ำหนักโมเลกุลเกินกว่า 5,000 ดาลตัน ก็จะเรียกลำดับนั้นว่าโปรตีน โปรตีนแต่ละตัวอาจจะประกอบขึ้นจากสายโพลีเปปไทด์มากกว่า 1 สายก็ได้ ซึ่งจำนวนและการเรียงลำดับของกรดอะมิโนในสายโพลีเปปไทด์เหล่านี้ จะแสดงโครงสร้างปฐมภูมิของโปรตีน



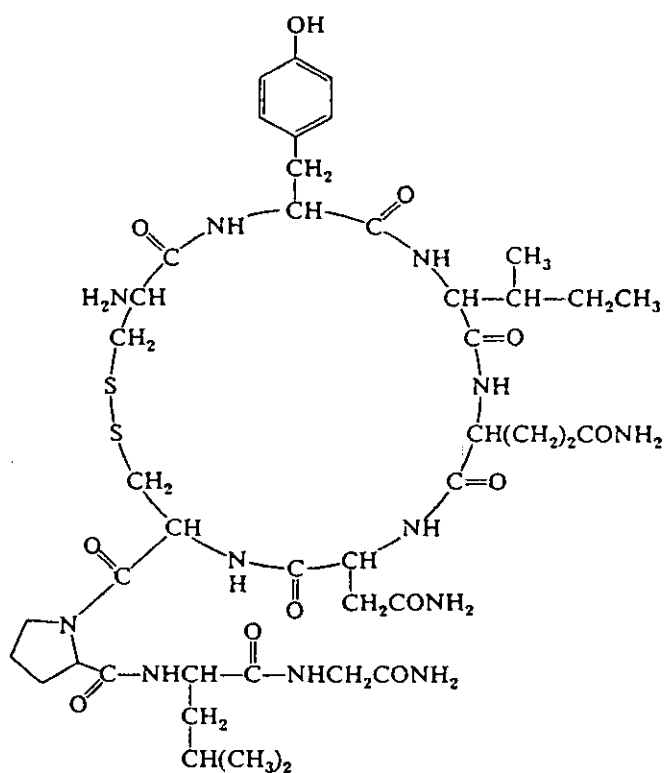
รูปที่ 9 - 1 สายเปปไทด์ แสดงพันธะเปปไทด์ที่เกิดระหว่างกรดอะมิโนที่มาเชื่อมต่อกัน

การเรียกชื่อเปปไทด์ จะเรียกตามชื่อกรดอะมิโนที่มาต่อกัน โดยเริ่มจากทางปลายที่มีหมู่อะมิโน (N - terminal) ไปหาปลายที่มีหมู่คาร์บอกซิล (C - terminal) ชื่อของกรดอะมิโนทุกตัวจะถูกเรียกในรูปของหมู่อะซิล โดยเปลี่ยนคำลงท้าย -ine เป็น -yl ยกเว้นกรดอะมิโนตัวสุดท้ายทางปลาย C - terminal จะเรียกอย่างปกติ รูปที่ 9 - 2 จะแสดงการเกิดพันธะและการให้ชื่อแก่เปปไทด์บางตัว

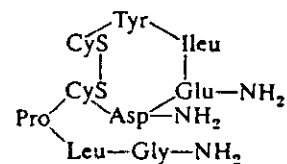


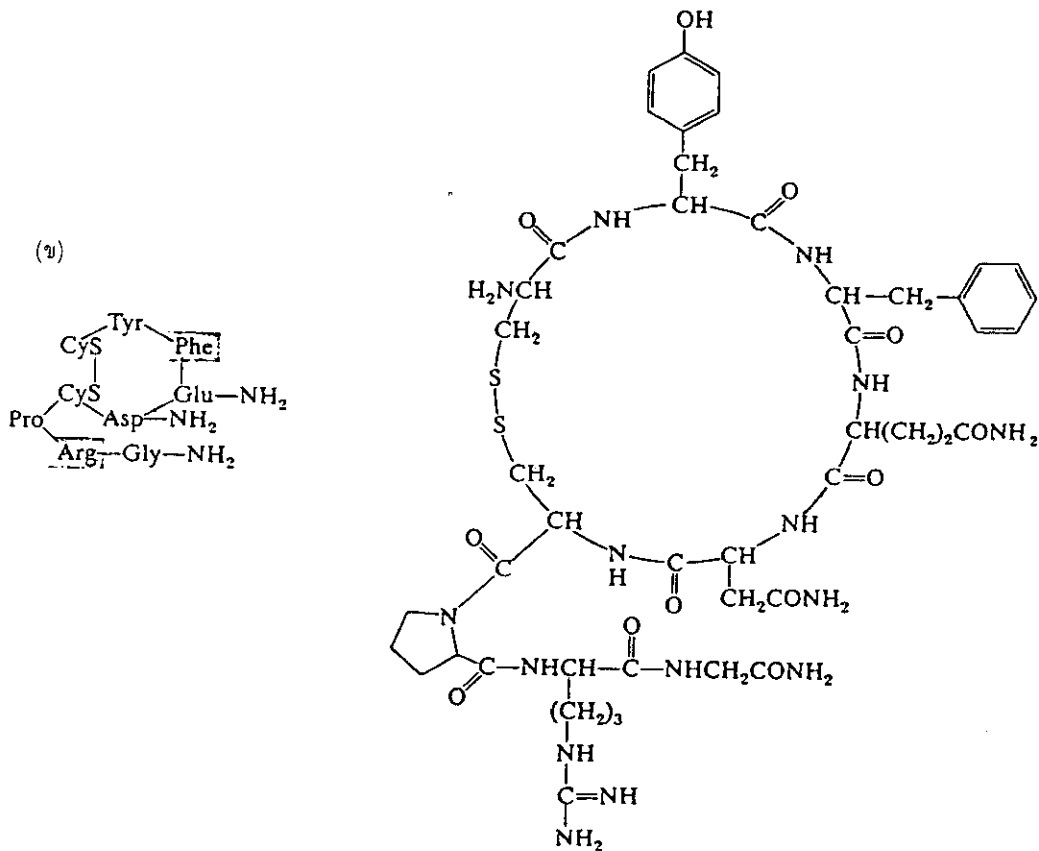
รูปที่ 9 - 2 ตัวอย่างของไดเปปไทด์ ไทรเปปไทด์ และ เตตระเปปไทด์

มีเปปไทด์หลายชนิดที่เกิดในธรรมชาติ และมีความสำคัญในทางชีววิทยาอย่างมาก ตัวอย่างเช่น ออกซีโตซิน (oxytocin) และวาโซเพรสซิน (vasopressin) (รูปที่ 9 - 3) ซึ่งต่างก็เป็นเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 9 ตัว และถูกสังเคราะห์ขึ้นจากต่อมพิทูอิทารี กรดอะมิโน 6 ใน 9 ตัวของเปปไทด์ทั้งสองนี้จะเหมือนกัน แต่อย่างไรก็ดี ผลที่เกิดจากการทำงานของทั้งสองตัวนี้ จะต่างกันอย่างมาก กล่าวคือ ออกซีโตซินจะทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว (contraction) จึงมักจะถูกใช้ในเวลาที่ทารกจะคลอด ส่วนวาโซเพรสซิน จะทำให้ความดันโลหิตสูงขึ้น และควบคุมการกำจัดน้ำออกโดยไต ถ้าขาดวาโซเพรสซินจะทำให้เป็นโรค diabetes insipidus ซึ่งอาการก็คือปัสสาวะมากผิดปกติ



(n)





รูปที่ 9 - 3 เปปไทด์ฮอร์โมนออกซิทอซิน (ก) และวาโซเพรสซิน (ข)

การเรียงลำดับของกรดอะมิโน ในสายโพลีเปปไทด์ จะต้องเป็นไปอย่างถูกต้องจากบรรพบุรุษไปสู่ลูกหลาน ถ้าเกิดความผิดพลาดขึ้น แม้เพียงที่กรดอะมิโนเพียงตัวเดียว ก็จะสามารถเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของโปรตีนนั้นไปได้ ตัวอย่างได้แก่ ในกรณีของโรคที่เรียกว่า sickle cell anemia ซึ่งโรคนี้เป็นกรรมพันธุ์และอาจทำให้ถึงตายได้ โดยที่เซลล์เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วย จะมีลักษณะเปลี่ยนไปจากปกติที่เป็นรูปกลม ทั้งนี้เนื่องจากฮีโมโกลบินของผู้ป่วย จะมีกรดอะมิโนที่ตำแหน่งที่ 6 เป็นแวนดีนแทนที่จะเป็นกรดกลูตามิก ความผิดปกตินี้จะเกิดในสายโพลีเปปไทด์ 2 ใน 4 สายที่มีในฮีโมโกลบินโมเลกุล โดยจะเกิดในสายที่เป็น β -chains ซึ่งแต่ละสายนั้นจะมีกรดอะมิโน 146 ตัว การเปลี่ยนแปลงนี้จะทำให้ฮีโมโกลบินหมดความสามารถในการทำหน้าที่เป็นตัวขนส่งออกซิเจน

ฮีโมโกลบินปกติ

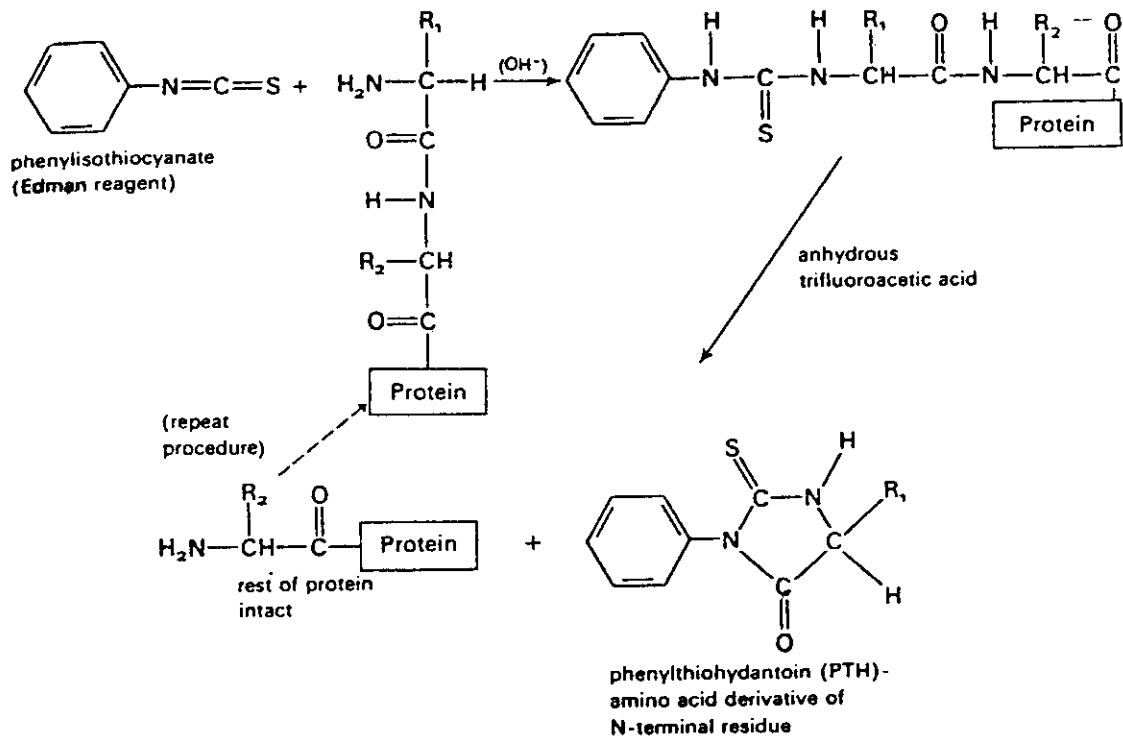
Val - His - Leu - Thr - Pro - Glu - Lys ---

ฮีโมโกลบินของ

Val - His - Leu - Thr - Pro - Val - Lys ---

Sickle cell anemia

การศึกษาถึงการเรียงลำดับของกรดอะมิโนในสายโพลีเปปไทด์ทำได้หลายวิธี แต่ที่นิยมใช้มากที่สุด คือ Edman degradation ซึ่งค้นคว้าโดย Pehr Edman ชาวสวีเดน ในปี ค.ศ. 1950 วิธีนี้ทำได้โดยให้สายโพลีเปปไทด์ทำปฏิกิริยากับ phenylisothiocyanate (C₆H₅-N=C=S) สารนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนที่อยู่ทางปลายอะมิโน (N-terminal) จากนั้นก็ให้ทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดเจือจาง เช่น กรดไตรฟลูออโรอะซิติก (trifluoroacetic acid) ซึ่งจะก่อให้เกิดการตัดกรดอะมิโนตัวที่อยู่ทางปลายอะมิโนนั้นออกไปในรูปของ substituted phenylthiohydantoin (รูปที่ 9 - 4)

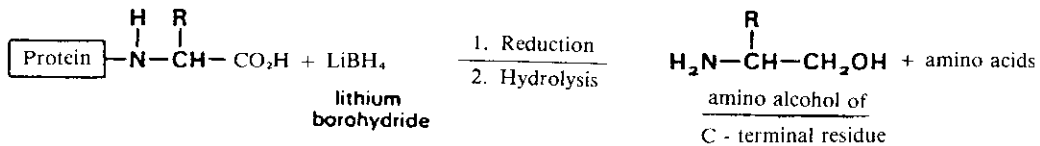


รูปที่ 9 - 4 ปฏิกิริยา Edman degradation

แล้วนำเอากรดอะมิโนตัวที่ถูกตัดออกไปวิเคราะห์ต่อไป

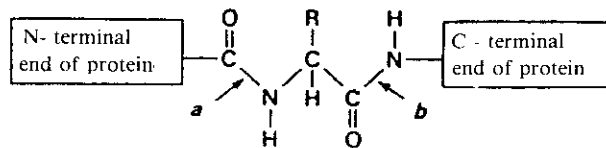
Edman degradation มีข้อดีตรงที่จะตัดกรดอะมิโนทางปลายอะมิโนของสายโพลีเปปไทด์ออกไปทีละตัว ๆ โดยที่จะไม่มีผลกับพันธะอื่นใดในสายเลย ดังนั้นการย่อยด้วยวิธีนี้ จึงเป็นวิธีที่ไม่รุนแรง และจะทำให้สามารถหาการเรียงลำดับของกรดอะมิโน ในการเกิดเป็นเปปไทด์หรือโปรตีนแต่ละชนิดได้

การวิเคราะห์ส่วนประกอบของสายโพลีเปปไทด์ ยังสามารถทำทางปลายคาร์บอกซิลได้ด้วย และมีหลายวิธีการเช่นกัน ตัวอย่างหนึ่งของวิธีการทางเคมีก็คือ ใช้ลิเทียมโบโรไฮไดรด์ (lithium borohydride) ดังสมการ



เมื่อเกิดปฏิกิริยาขึ้นแล้วก็ต้องให้มีการไฮโดรไลซ์ต่อ เพื่อตัดเอาอนุพันธ์อะมิโนอัลกอฮอล์ที่ได้ออกมาศึกษาต่อไปทีละตัว การวิเคราะห์ทางปลายคาร์บอกซิลอีกวิธีการหนึ่งและเป็นที่ยอมรับใช้ที่สุด ได้แก่ วิธีการทางเอนไซม์ โดยใช้คาร์บอกซีเปปติเดส (carboxypeptidase) อันเป็นเอนไซม์จากตับอ่อน และเร่งปฏิกิริยาการสลายสายโพลีเปปไทด์จากปลายคาร์บอกซิลเข้ามาทีละตัว

นอกจากคาร์บอกซีเปปติเดสแล้ว ก็ยังมีเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยโปรตีน (เรียกว่าเอนไซม์พวกโปรตีเอส, protease) อีกหลายชนิด ซึ่งจะพบได้ทั้งในน้ำย่อยของสัตว์ รวมทั้งพบในพืชและบั๊กเตอเรียอีกด้วย ความเฉพาะเจาะจงของเอนไซม์โปรตีเอสแต่ละชนิดว่า จะตัดสายโพลีเปปไทด์ตรงไหน ขึ้นอยู่กับชนิดของกรดอะมิโนที่อยู่เป็น side chain บริเวณพันธะเปปไทด์ที่จะถูกตัดนั้น ตารางที่ 9 - 1 จะแสดงรายละเอียดในการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้บางชนิด



เอนไซม์	ตัดที่	กรดอะมิโนบริเวณที่ถูกตัด	แหล่งที่พบ เอนไซม์
ทริปซิน (trypsin)	b	Lys, Arg	ตับอ่อน
ไคโมทริปซิน (α -chymotrypsin)	b	Tyr, Trp, Phe	ตับอ่อน
เปปซิน (pepsin)	a หรือ b	Trp, Phe, Tyr, Met, Leu	กระเพาะอาหาร
ปาเปน (papain)	b	Arg, Lys, Gly	มะละกอ

ตารางที่ 9 - 1 รายละเอียดของเอนไซม์บางชนิดที่ใช้ในการย่อยสลายสายโพลีเปปไทด์

เมื่อตัดโพลีเปปไทด์ออกเป็นส่วนย่อย ๆ ได้มากพอสมควรแล้ว ก็หาการเรียงลำดับของกรดอะมิโนในแต่ละส่วนนั้น ซึ่งจากการทำเช่นนี้ ก็จะช่วยให้สามารถหาลำดับของกรดอะมิโนที่สมบูรณ์ของสายโปรตีนได้ในที่สุด

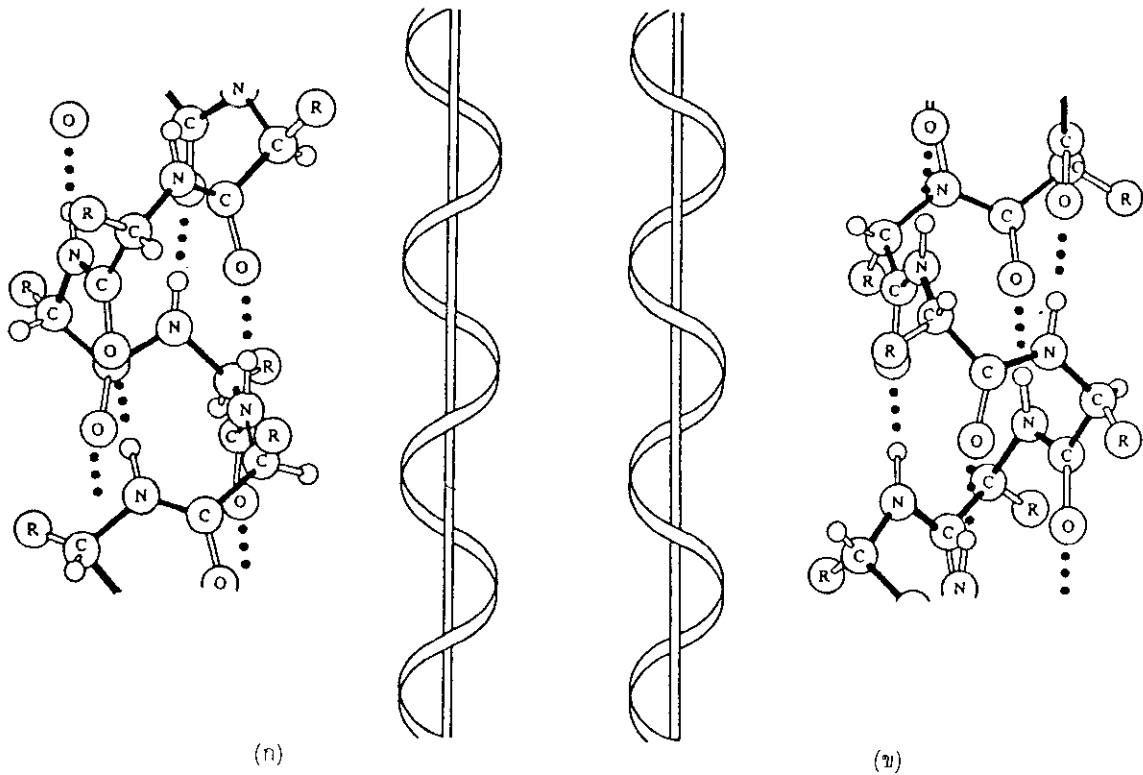
9.3 โครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ของโปรตีน

โครงสร้างปฐมภูมิจะบอกถึงการเรียงลำดับของกรดอะมิโนในสายโปรตีน ในขณะที่โครงสร้างทุติยภูมิจะบอกถึงรูปร่างของโปรตีน ซึ่งมีโอกาสที่จะเกิดได้เป็นหลายรูปร่าง ทั้งนี้เนื่องจากพันธะส่วนใหญ่ในโมเลกุลของโปรตีนจะเป็นพันธะเดี่ยว ดังนั้นก็จะมีการหมุนได้รอบตัว แต่อย่างไรก็ดี ได้มีการพบว่า โปรตีนที่เกิดขึ้นในธรรมชาตินั้น จะมีโครงรูปสามมิติเฉพาะตัวเพียงรูปร่างเดียวเท่านั้น ซึ่งโครงรูปภายนอกที่คงที่ของสายโพลีเปปไทด์นี้ก็คือโครงสร้างทุติยภูมินั่นเอง

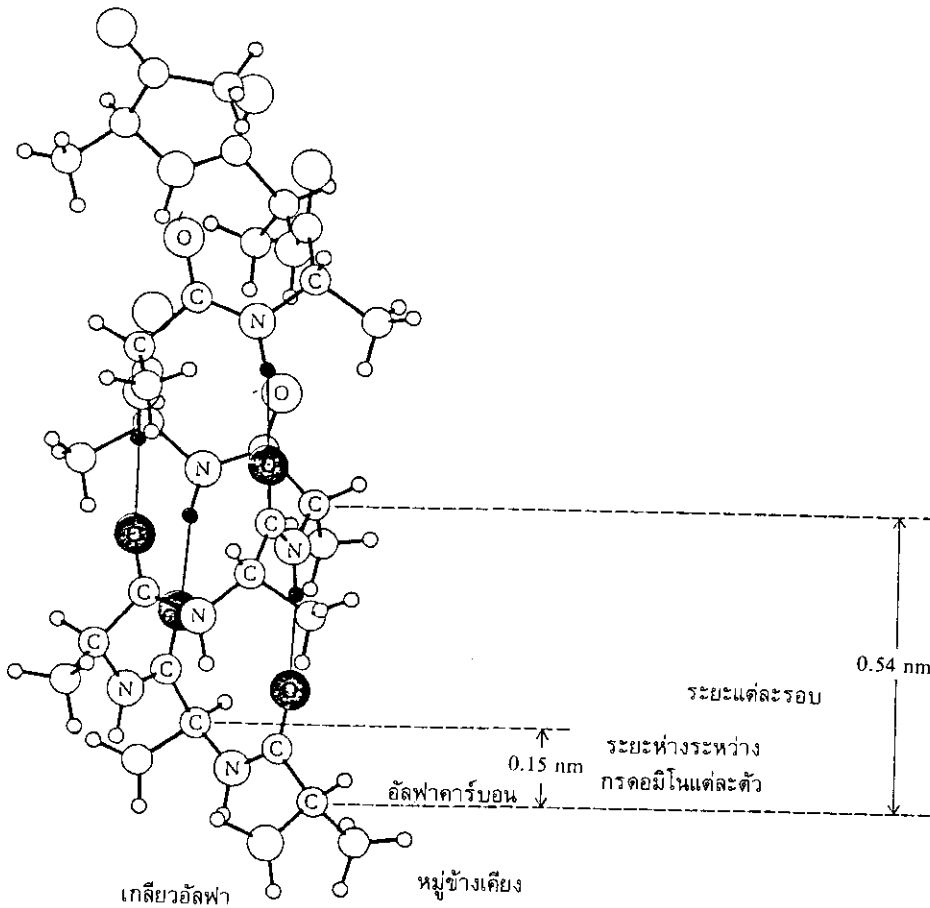
การพิจารณาโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน ทำได้โดยดูถึงลักษณะที่สายโพลีเปปไทด์ขดหรืองอตัวอยู่ และดูถึงพันธะที่ทำให้เกิดโครงรูปนั้นขึ้นด้วย

Linus Pauling และ Robert Corey ได้ตั้งสมมติฐานขึ้นว่า โปรตีนบางชนิดจะมีรูปร่างเป็นเกลียว (spiral) เหมือนขดลวดสปริง (รูปที่ 9 - 5) โดยที่ขดนี้อาจจะวนไปทางซ้ายหรือขวาก็ได้ แต่ที่พบบ่อยมักจะวนไปทางขวา ขดเกลียวนี้มีเสถียรภาพจากการเกิดพันธะไฮโดรเจน ระหว่างเอมิดไฮโดรเจน ของพันธะเปปไทด์หนึ่ง กับ คาร์บอนิลออกซิเจน ที่อยู่เหนือขึ้นไปในอีกเกลียวหนึ่ง ลักษณะโครงสร้างที่มีการเกิดพันธะไฮโดรเจนขึ้นภายในสายโพลีเปปไทด์นี้ เรียกว่าโครงสร้างแบบ

เกลียวอัลฟา (α -helix) จากการศึกษาค้นพบว่าแต่ละรอบของขดเกลียวจะมีระยะ 0.54 นาโนเมตร (รูปที่ 9 - 6) ประกอบขึ้นจากกรดอะมิโน 3.6 ตัว โดยที่แต่ละตัวจะห่างกัน 0.15 นาโนเมตร และ side chain ของกรดอะมิโนเหล่านี้จะชี้ออกจากโครงรูปเกลียวด้วย

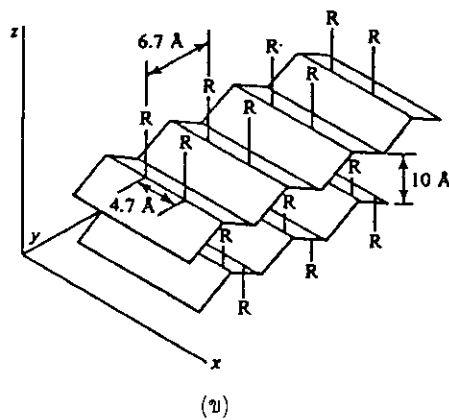
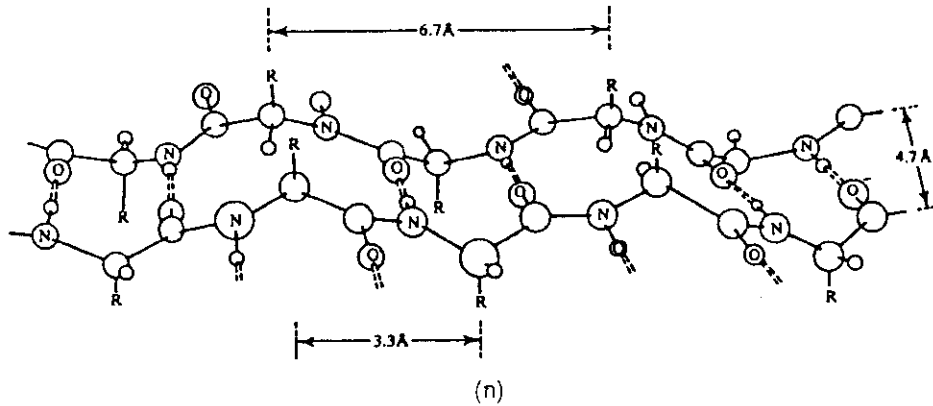


รูปที่ 9 - 5 โครงรูปเกลียวอัลฟาของโปรตีน (ก) ชนิดเวียนขวา (ข) ชนิดเวียนซ้าย



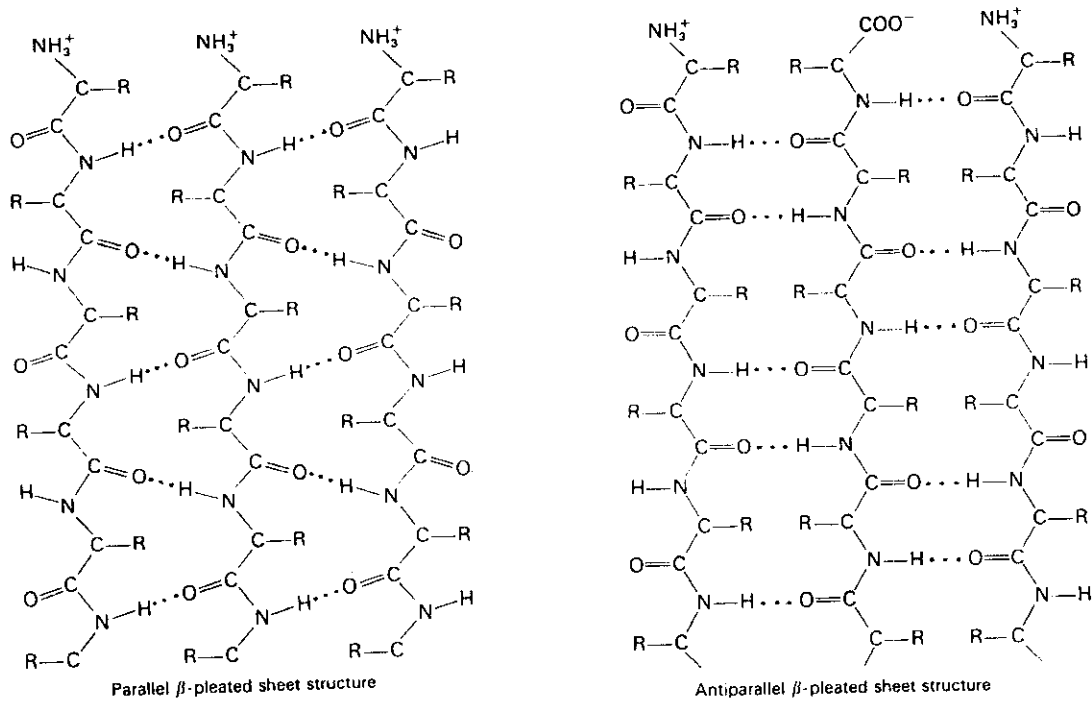
รูปที่ 9 - 6 ความกว้างยาวของเกลียวอัลฟา

โครงสร้างชนิดเกลียวอัลฟาจะพบในโปรตีนบางชนิดเท่านั้น โดยที่ในโปรตีนชนิดอื่น ๆ เช่น แกมมาโกลบูลินจะไม่มีลักษณะเป็นเกลียวเลย ส่วนฮีโมโกลบิน (hemoglobin) และไมโอโกลบิน (myoglobin) ก็จะมีลักษณะเกลียวเพียงบางส่วน สำหรับโปรตีนบางชนิด เช่น ไหม ไฟโบรอิน และ β -keratin จะมีสายโพลีเปปไทด์อยู่ในแนวเรียงกันไปเป็นแผ่น และสายที่อยู่ใกล้กัน ก็จะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างกันขึ้น โครงรูปนี้จะพบไม่มากเท่าเกลียวอัลฟา เพราะหมู่ R ในสายโพลีเปปไทด์ที่อยู่ใกล้กันจะผลัดกัน ทำให้แต่ละสายพยายามยืดตัวออกเป็นแผ่นแบนเพื่อลดแรงผลัด (รูปที่ 9 - 7) โครงรูปชนิดนี้เรียกว่าเบต้าชีต (β -sheet) ซึ่งจะมีพันธะไฮโดรเจนที่เกิดระหว่างสายโพลีเปปไทด์เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย



รูปที่ 9 - 7 รูปแสดงสายโพลีเปปไทด์ (ก) และโคอะแกรม (ข) ของโครงสร้างแบบเบต้าชีท ที่เกิดในเบต้าเคราติน พันธะเปปไทด์จะอยู่ในระนาบของเบต้าชีท ส่วน Side chain (หมู่ R) จะอยู่เหนือหรือใต้ระนาบนี้ โดยจะสลับกันไปตลอดสาย และแต่ละสายของโพลีเปปไทด์ จะยึดกันไว้ด้วยพันธะไฮโดรเจน

ถ้ากรดอะมิโนทางปลายคาร์บอกซิลของสายหนึ่งทำพันธะไฮโดรเจนอยู่กับกรดอะมิโนทางปลายอะมิโนของอีกสายหนึ่ง จะได้เบต้าชีทแบบไม่ขนาน (antiparallel) แต่ถ้ากรดอะมิโนทางปลายคาร์บอกซิลและปลายอะมิโนของแต่ละสายต่างก็ทำพันธะซึ่งกันและกัน คือปลายคาร์บอกซิลทำกับปลายคาร์บอกซิล และปลายอะมิโนทำกับปลายอะมิโน เช่นนี้จะได้เบต้าชีทแบบขนาน (parallel) ดังรูปที่



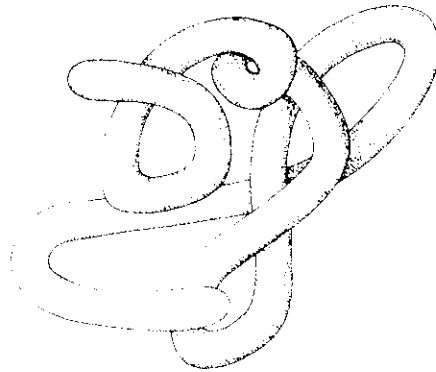
รูปที่ 9 - 8 โครงสร้างเบต้าชีทแบบไม่ขนานและแบบขนาน

คุณสมบัติทางกายภาพของฝ้ายและไหม เป็นผลที่เนื่องมาจากโครงสร้างของแต่ละตัว กล่าวคือ เส้นฝ้ายจะมีความยืดหยุ่นได้มาก จนสามารถดึงออกไปให้ยาวได้เป็น 2 เท่าของความยาวปกติโดยไม่ขาดออกจากกัน และเมื่อหยุดดึงเส้นฝ้ายก็จะกลับเข้าสู่สภาพปกติ ทั้งนี้เพราะเมื่อดึงเส้นฝ้าย พันธะไฮโดรเจนในเกลียวอัลฟาจะแตกออก และเมื่อเลิกดึง ก็จะเกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนเหล่านั้นขึ้นมาใหม่ ตลอดจนสร้างพันธะไดซัลไฟด์ขึ้นระหว่างเกลียวด้วย แรงที่ได้จากพันธะทั้งสองชนิดนี้จะเป็นตัวช่วยทำให้ฝ้ายกลับเข้าสู่รูปร่างเดิมได้ ในทางตรงข้าม ไหมมีโครงสร้างเป็นแบบเบต้าชีท ซึ่งแต่ละชีทจะยึดกันอย่างแน่นหนามาก โดยใช้พันธะไฮโดรเจน ดังนั้นเส้นไหมจะแข็งแรงและต่อต้านการยืด

9.4 โครงสร้างตติยภูมิ (tertiary structure) ของโปรตีน

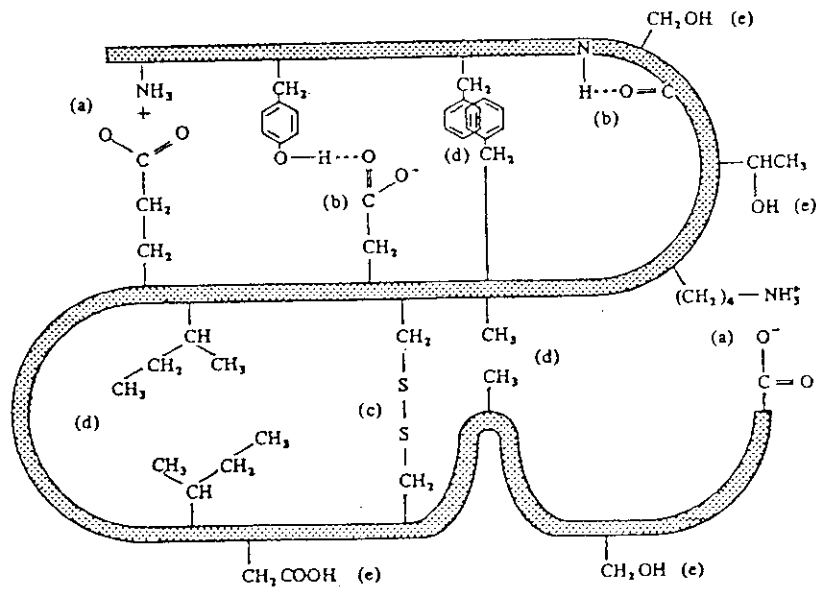
จากโครงสร้างทุติยภูมิ เราทราบว่าจะมีการสร้างพันธะไฮโดรเจนขึ้นในสายโพลีเปปไทด์ โดยถ้าโปรตีนมีพันธะไฮโดรเจนเพียงชนิดเดียวแล้ว พันธะเหล่านี้จะแข็งแรงเพียงพอที่จะทำให้โปรตีน

ในสภาพที่เป็นผลึก อยู่ในโครงรูปอัลฟาเฮลิกซ์ แต่เมื่อเอาโปรตีนไปละลายน้ำ โครงรูปอัลฟาเฮลิกซ์ ก็จะไม่เกิดขึ้น ทั้งนี้เพราะน้ำจะเข้าไปแข่งขันในการเกิดพันธะไฮโดรเจน ทำให้พันธะไฮโดรเจนเดิม ที่เกิดภายในสายโพลีเปปไทด์เกิดไม่ได้ และสารละลายโปรตีนจะมีโครงรูปไม่แน่นอน (random configuration) แต่จากการศึกษาพบว่า เมื่อเอาโปรตีนละลายน้ำ โครงรูปเกลียวอัลฟาก็ยังคงอยู่ไม่ได้ ถูกทำลายไป ดังนั้นจึงแสดงว่า จะต้องมีความแข็งแรงอื่น ๆ อีกที่เข้ามาเกี่ยวข้องในการเกิดโครงรูปของ โปรตีนแต่ละชนิด รูปร่างสามมิติเฉพาะตัว อันเป็นผลที่เกิดขึ้นจากการงอตัวหรือโค้งตัวของขดเกลียว นี้ ก็คือโครงสร้างตติยภูมิของโปรตีน (รูปที่ 9 - 9) ซึ่งโครงสร้างตติยภูมินี้จะเกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ทางชีวเคมีของโปรตีน



รูปที่ 9 - 9 โครงสร้างตติยภูมิของโปรตีน

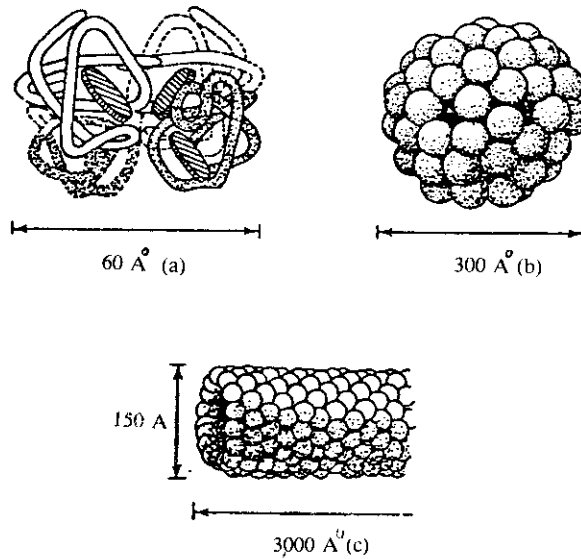
พันธะที่พบในโครงสร้างตติยภูมิ จะเกิดได้หลายชนิดต่างกัน (รูปที่ 9 - 10) ขึ้นกับว่า side chain ของกรดอะมิโนภายในโมเลกุลของโปรตีนจะเป็นอย่างไร โปรตีนส่วนมากจะมีรูปร่างกลมตัน ซึ่งเกิดจากการที่โปรตีนหันเอา nonpolar side chain ของกรดอะมิโนเข้าข้างในโมเลกุล ส่วน polar side chain จะหันออกสู่ผิวหน้าของโมเลกุล และสัมพันธ์กับสารละลายภายนอก รูปร่างที่เกิดขึ้นจะคล้ายกับในกรณีของไมเซลล์



รูปที่ 9 - 10 พันธะที่ทำให้เกิดโครงสร้างคลิขภูมิของโปรตีน (a) salt linkage (b) พันธะไฮโดรเจน (c) พันธะไฮดรอฟิล (d) hydrophobic interaction (e) หมู่โพลาร์ที่ปฏิกริยากับน้ำ

9.5 โครงสร้างจตุรภูมิ (quarternary structure) ของโปรตีน

โปรตีนบางชนิดจะอยู่ในลักษณะที่มีหน่วยย่อยมารวมกันเป็นกลุ่มก้อน ลักษณะที่สายโพลีเปปไทด์แต่ละสายมารวมตัวอยู่ด้วยกันนี้ ก็คือโครงสร้างจตุรภูมิของโปรตีนนั่นเอง โครงสร้างนี้มีเสถียรภาพอยู่ได้ โดยใช้พันธะที่อ่อนไกวเลนธ์เช่นเดียวกับที่ใช้ในโครงสร้างตติยภูมิ ซึ่งได้แก่พันธะไอออนิก พันธะไฮโดรเจน และพันธะ hydrophobic ตัวอย่างของโปรตีนที่มีโครงสร้างจตุรภูมิได้แก่ฮีโมโกลบิน ซึ่งประกอบขึ้นจากโพลีเปปไทด์ 4 สาย คือสายอัลฟา 2 สาย และสายเบต้า 2 สาย แต่ละสายจะมีกรดอะมิโน 153 ตัวต่อกัน โพลีเปปไทด์ทั้ง 4 สาย จะยึดกันอยู่ได้โดยพันธะที่อ่อนไกวเลนธ์ที่เกิดขึ้นระหว่าง polar side chains ตัวอย่างอื่น ๆ อีกก็ได้แก่โปรตีนของไวรัสบางชนิด เช่น polio virus ซึ่งจะมีโปรตีน 130 หน่วยย่อย และ tobacco mosaic virus ซึ่งมีโปรตีน 2130 หน่วยย่อย (รูปที่ 9 - 11) โปรตีนในไวรัสนี้จะหุ้มห่ออยู่รอบ ๆ แกนกลาง ซึ่งเป็นกรดนิวคลีอิก



รูปที่ 9 - 11 โครงสร้างจตุรภูมิของโปรตีนบางชนิด (a) ซีโมโกลบิน (b) polio virus (c) tobacco mosaic virus

9.6 คุณสมบัติของโปรตีน

9.6.1 คุณสมบัติทางเคมีไฟฟ้า เวลาที่กรดอะมิโนมาเรียงต่อกันเพื่อเกิดสายโพลีเปปไทด์นั้น หมู่อัลฟาอะมิโนและคาร์บอกซิลจะเชื่อมต่อกันเป็นพันธะเปปไทด์ แต่อย่างไรก็ดี side chain ของกรดอะมิโนบางตัวเช่น กรดแอสพาทิก กรดกลูตามิก ไสซีน อาร์จินีน และฮิสทีดีน ก็ยังคงมีหมู่ที่เป็นกรดและเบสอิสระอยู่ ดังนั้นเมื่อนำโปรตีนหรือกรดอะมิโนเหล่านี้ไปทำให้เป็นสารละลาย หมู่ที่เป็นกรดและเบสก็จะแตกตัวออก ได้เป็น COO^- และ NH_3^+ ทำให้โปรตีนมีประจุเป็นบวกหรือลบได้

เมื่อประจุสุทธิของโปรตีนเป็นศูนย์ ซึ่งก็คือเมื่อมีจำนวนหมู่ประจุลบเท่ากับหมู่ประจุบวกนั้น โปรตีนจะไม่เคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้า ค่าของ pH ที่จุดนี้เรียกว่า isoelectric pH ของโปรตีน ค่านี้จะขึ้นกับจำนวน ชนิด และการจัดเรียงตัวของหมู่ที่เป็นกรดหรือเบสภายในโมเลกุล โปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เป็นเบสเป็นจำนวนมาก จะมี isoelectric pH ก่อนข้างสูง ส่วนโปรตีนที่มีกรดอะมิโนที่เป็นกรดเป็นจำนวนมาก จะมี isoelectric pH ก่อนข้างต่ำ ตารางที่ 9 - 2 จะแสดงค่า isoelectric pH ของโปรตีนบางชนิด

โปรตีน	Isoelectric pH
Pepsin	<1.1
Pepsinogen	3.7
Casein	4.6
Egg albumin	4.7
Serum albumin	4.8
Urease	5.0
Insulin	5.3
Fibrinogen	5.5
Catalase	5.6
Hemoglobin	6.8
Ribonuclease	9.5
Cytochrome c	~10
Lysozyme	~11

ตารางที่ 9 - 2 isoelectric pH ของโปรตีนบางชนิด

การละลายของโปรตีน จะขึ้นอยู่กับ pH เป็นอย่างมาก โดยที่โปรตีนจะละลายได้น้อยที่สุดที่ isoelectric pH และที่ pH ต่ำกว่านี้โปรตีนจะมีประจุบวก ส่วนที่ pH สูงกว่านี้โปรตีนจะมีประจุลบ ในทั้งสองกรณีหลังนี้ผลจากการมีประจุ จะทำให้เกิดแรงผลักรันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนที่อยู่ใกล้เคียงกัน ทำให้ไม่เกิดการตกตะกอนขึ้น สำหรับที่ isoelectric pH เนื่องจากมีจำนวนประจุบวก เท่ากับประจุลบ ดังนั้นโมเลกุลของโปรตีนจึงมีแนวโน้มที่จะเคลื่อนที่เข้าใกล้กัน เพราะเกิดแรงดึงดูด ระหว่างประจุตรงข้าม แล้วเกิดการรวมเป็นกลุ่มก้อนและตกตะกอนลงมาจากสารละลาย

การที่นมเกิดการสเปรี้ยวขึ้นได้ ก็เพราะมีกรดแลคติกเกิดขึ้นจากการกระทำของแบคทีเรีย แล้ว กรดแลคติกนี้จะไปทำให้ pH ของนมลดจาก 6.6 ลงมาเหลือเพียง 4.6 ซึ่งเป็น isoelectric pH ของ โปรตีนสำคัญในนมนั้นตัวหนึ่งคือคาเซอีน ทำให้คาเซอีนตกตะกอนออกมาจากนมในรูปที่เป็นก้อน สีขาว แล้วนมก็จะหมดสภาพไป

9.6.2 การสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (denaturation of protein) การสูญเสียสภาพ ธรรมชาติหมายถึง การเปลี่ยนแปลงใด ๆ ก็ตาม ที่จะไปรบกวนโครงสร้างสามมิติของโปรตีน โดยที่จะ ไม่ทำให้เกิดการสลายพันธะเปปไทด์ขึ้นเลย การสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนเป็นผลมาจากสภาวะ แวดล้อมหรือการใช้รีเอเจนท์ชนิดต่าง ๆ ดังตัวอย่างต่อไปนี้

ก. ความร้อนและแสงอุตราไวโอเล็ต จะให้พลังงานที่ทำให้อะตอมในโมเลกุลของโปรตีนสั่นรวดเร็วยิ่งขึ้น จนสามารถทำลายพันธะไฮโดรเจนและพันธะ hydrophobic ที่ไม่แข็งแรงได้ ผลก็คือโปรตีนจะตกตะกอน ตัวอย่างที่เห็นได้ง่ายๆ ก็คือ การต้มหรือทอดไข่ วิธีทำลายสภาพธรรมชาติของโปรตีนโดยความร้อนนี้ ได้ถูกนำไปใช้ในขบวนการฆ่าเชื้อ (sterilization) เนื่องจากวิธีนี้สามารถทำลายบั๊กเตอรีได้ โดยไปทำลายสภาพธรรมชาติของเอนไซม์หลายชนิดในบั๊กเตอรีนั้น นอกจากนี้โปรตีนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติไปแล้วนั้น จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ง่ายเข้า มนุษย์จึงนำหลักการนี้มาใช้ประโยชน์ ด้วยการให้ความร้อนแก่อาหารโปรตีนก่อนที่จะรับประทานเข้าไป

ข. ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ethyl alcohol, rubbing alcohol สามารถที่จะทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนขึ้นระหว่างโมเลกุลของโปรตีนได้ และจะทำลายพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลของโปรตีนเสีย สารละลาย 70% อัลกอฮอล์จะใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโรคที่ผิวหนังก่อนที่จะมีการฉีดยา โดยอัลกอฮอล์จะไปทำให้โปรตีนของบั๊กเตอรี ที่อยู่ในบริเวณนั้นสูญเสียสภาพธรรมชาติไป 70% อัลกอฮอล์สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ของบั๊กเตอรี เข้าไปได้ ในขณะที่ 95% อัลกอฮอล์จะไปตกตะกอนโปรตีนที่ผิวหนังของบั๊กเตอรี โดยไม่ซึมผ่านเข้าไปในเซลล์เลย

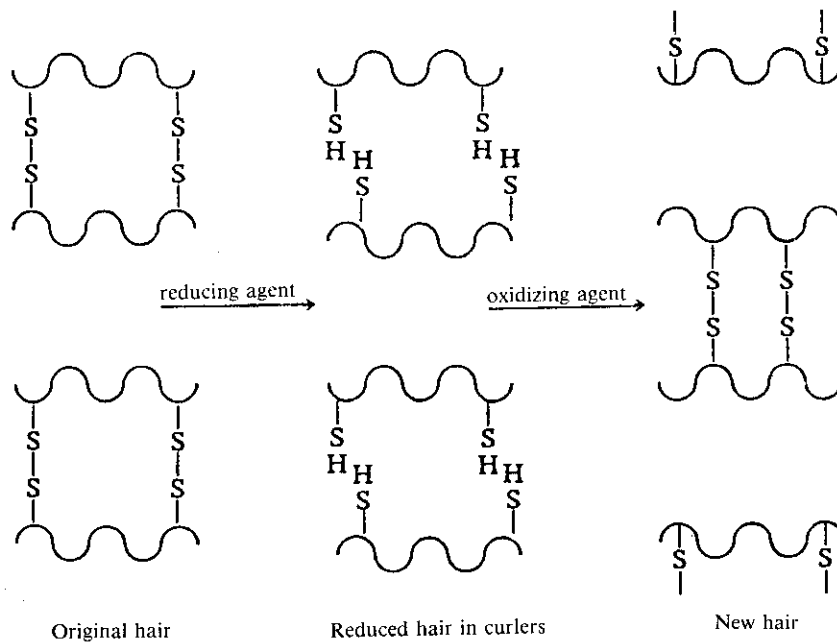
ค. กรดหรือเบส จะทำลาย salt linkage โดยไปรบกวนสภาวะการแตกตัวของหมู่เอมีโนและคาร์บอกซิล จึงทำให้โปรตีนตกตะกอน และถ้าให้โปรตีนถูกกับกรดหรือเบสเป็นระยะเวลา นาน ๆ จะทำให้พันธะเปปไทด์ถูกทำลายด้วย

ง. เกลือของไอออนของโลหะหนัก ได้แก่เกลือของ Hg^{2+} , Ag^+ และ Pb^{2+} แคทไอออนเหล่านี้จะทำพันธะที่แข็งแรงกับคาร์บอกซีเลทแอนไอออนของกรดอะมิโนที่มีฤทธิ์เป็นกรด และกับหมู่ sulfhydryl ของกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์ทำให้ salt linkage และพันธะไดซัลไฟด์ถูกทำลาย และโปรตีนจะตกตะกอนออกมาจากสารละลายในรูปของ metal - protein salt ซึ่งไม่ละลาย ตัวอย่าง เช่น ซิลเวอร์ไนเตรท (หรือบางครั้งเรียกว่า อนุสารคอสติก) ซึ่งใช้ในการป้องกันการติดเชื้อโกโนเรียที่ตาของเด็กแรกเกิด และเมอคิวริกคลอไรด์ ซึ่งเป็นยาฆ่าเชื้ออีกตัวหนึ่ง ที่จะตกตะกอนโปรตีนของบั๊กเตอรี เกลือของโลหะหนักส่วนมากจะเป็นพิษถ้ารับประทานเข้าไป ทั้งนี้เพราะเกลือเหล่านี้จะไปตกตะกอนโปรตีนของเซลล์ทั้งหลายในร่างกาย สารที่มีโปรตีนสูง เช่น ไข่ขาว และนมจะถูกใช้เป็นตัวถอนพิษของโลหะหนัก โดยโปรตีนของไข่ขาวและนมจะเข้าร่วมตัวกับไอออนของโลหะหนัก เกิดเป็นของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งจะถูกขับออกจากกระเพาะอาหารต่อไปด้วยยาที่ทำให้อาเจียร การอาเจียรออกมานี้จะช่วยป้องกันไม่ให้มีน้ำย่อยมาละลายโปรตีนแล้วปลดปล่อยโลหะหนักออกเป็นสารพิษอิสระอีกครั้งหนึ่งได้

จ. อัลคาลอยด์รีเอเจนท์ (alkaloid reagents) ได้แก่กรด picric และกรด tannic รีเอเจนท์พวกนี้ได้ชื่อมาจากการที่แต่เดิมได้ถูกใช้ในการศึกษาหาโครงสร้างของอัลคาลอยด์ ซึ่งได้แก่ มอร์ฟีน โคล-

เคน (cocaine) และ ควินิน (quinine) อัลคาลอยด์รีเอเจนท์จะทำหน้าที่คล้ายกับแคทอออนของโลหะหนัก แต่ต่างกันตรงที่ picrate และ tannate แอนอออน จะรวมตัวกับหมู่เอมีโนซึ่งมีประจุบวกแล้วทำให้ salt linkage ถูกทำลายไป กรดแทนนิคถูกใช้ในอุตสาหกรรมการทำเครื่องหนัง โดยจะไปตกตะกอนโปรตีนในหนังสัตว์ ซึ่งขบวนการนี้เรียกว่า tanning นอกจากนี้ในบางครั้ง กรดทั้งสองชนิดจะถูกใช้ในการรักษาแผลที่เกิดจากไฟไหม้หรือน้ำร้อนลวกได้ด้วย โดยจะไปรวมตัวกับโปรตีนในบริเวณแผลนั้น แล้วไล่ที่อากาศออกไป และห้ามไม่ให้ของไหลในร่างกายไหลออกจากแผล เพราะถ้าปล่อยให้เกิดการสูญเสียน้ำออกจากร่างกายมาก ๆ แล้ว จะทำให้เกิดการช็อคและตายได้ แหล่งที่จะพบกรดแทนนิคได้อย่างง่าย ๆ ก็คือ ในใบชา

จ. การสูญเสียสภาพธรรมชาติของเส้นผม โดยทั่ว ๆ ไปแล้ว การสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน จะเป็นขบวนการที่ผันกลับไม่ได้ แต่อย่างไรก็ดีอุตสาหกรรมที่สำคัญประการหนึ่งคือเรื่องที่เกี่ยวข้องกับเส้นผม นั้น จะเกี่ยวข้องกับการสูญเสียสภาพธรรมชาติชนิดที่ผันกลับได้

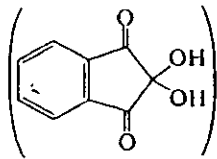
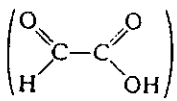


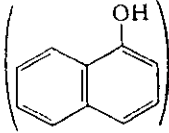
โปรตีนของเส้นผม คือ เคราติน (keratin) จะมีกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์อยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งรูปร่างของเส้นผมส่วนใหญ่ จะขึ้นอยู่กับพันธะไดซัลไฟด์ ที่เกิดระหว่างกรดอะมิโนเหล่านี้ การตัดผม ก็คือขบวนการที่ทำให้พันธะไดซัลไฟด์สลายไป โดยการใช้อริโดซึ่งเอเจนท์เข้ามาช่วย จากนั้นเส้นผมที่ถูกรีดิวซ์ และไม่เป็นระเบียบ ก็จะถูกม้วนและเซ็ทให้ได้ทรงตามที่ต้องการ โดยใช้ออกซิไดซิ่งเอเจนท์

CM 351
หน้า 11

เข้ามาช่วยในการทำให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์อีกครั้งหนึ่ง แต่ครั้งนี้ พันธะที่เกิดจะเกิดที่กรดอะมิโนต่างตัวออกไป

9.6.3 การทดสอบโปรตีนโดยดูสี มีการทดสอบประเภทนี้หลายวิธีด้วยกัน โดยเป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ ตัวอย่างที่สำคัญคือ ninhydrin และ biuret test ซึ่งจะให้ผลบวกกับโปรตีนทุกชนิด สำหรับการทดสอบด้วยวิธีอื่น ๆ จะเฉพาะเจาะจงและให้ผลบวกกับโปรตีนบางประเภทเท่านั้น ตัวอย่างของการทดสอบต่าง ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 9 - 3

ชื่อการทดสอบ	ตัวที่ใช้ในการทดสอบ	ส่วนที่จะให้ผลบวก	สีที่เกิด	สารอื่น ๆ ที่ทำให้ผลบวก
ninhydrin	ninhydrin 	หมู่ - NH ₂ อิสระ	น้ำเงิน	แอมไมนอเอมีน ไพรมารีเอมีน กรดอะมิโน เปปไทด์ โปรตีน
biuret	NaOH, CuSO ₄ เจือจาง	พันธะเปปไทด์ 2 พันธะ	ม่วง	ไทโรเปปไทด์ โพลีเปปไทด์ โปรตีน
xanthoproteic	HNO ₃ เข้มข้น	กรดอะมิโนที่มีวงแหวนเบนซีน	เหลือง	โปรตีนที่มี trp, tyr หรือ Phe
Millon	Hg(NO ₃) ₂ , Hg (NO ₂) ₂	ไทโรซีน	แดง	สารประกอบฟีโนลิก
Hopkins - Cole	glyoxylic acid  และ H ₂ SO ₄ เข้มข้น	ทริปโทเฟน	วงแหวนสีม่วง	สารที่มีวงแหวนอินโดล

ชื่อการทดสอบ	ตัวที่ใช้ในการทดสอบ	ส่วนที่จะให้ผลบวก	สีที่เกิด	สารอื่น ๆ ที่ก่อให้เกิดผลบวก
Sakaguchi	α - naphthol 	อาร์จินีน	แดง	สารประกอบที่มีหมู่กำวนิติล
nitroprusside	sodium nitroprusside $[\text{Na}_2\text{Fe}(\text{NO})(\text{CN})_5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$	ซิสเตอีน	แดง	

ตารางที่ 9 - 3 การทดสอบชนิดต่างๆ ของโปรตีน ที่ให้สีเกิดขึ้น

สรุปเนื้อหาสาระสำคัญ

โปรตีนคือโพลีเมอร์เส้นตรงที่ประกอบขึ้นจากกรดอะมิโนมาเชื่อมต่อกัน โดยใช้พันธะเพปไทด์ คาร์บอนิลที่เรียกว่าเปปไทด์ พันธะนี้เกิดระหว่างหมู่แอลฟาอะมิโนของกรดอะมิโนตัวหนึ่งกับหมู่แอลฟาคาร์บอกซิลิกของกรดอะมิโนตัวที่อยู่ติดกัน ทำให้ได้สายเปปไทด์เกิดขึ้น การเรียงลำดับของกรดอะมิโนจะเป็นตัวกำหนดหน้าที่ของเปปไทด์ ถ้ากรดอะมิโนมาต่อกันมากกว่า 100 ตัวขึ้นไป จะเรียกสายเปปไทด์นั้นว่าโปรตีน ในสิ่งมีชีวิตโปรตีนจะทำหน้าที่เกี่ยวกับการขนส่งและเก็บสะสม สร้างเนื้อเยื่อที่เป็นโครงสร้างของร่างกาย เร่งปฏิกิริยา การเคลื่อนไหว การส่งผ่านข่าวสาร ตลอดจนการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนของเซลล์ โปรตีนที่เป็นโครงสร้างส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีนเส้นใยซึ่งไม่ละลายน้ำ สำหรับโปรตีนที่ละลายน้ำได้จะได้แก่โปรตีนก้อนกลม โปรตีนบางชนิดจะมีส่วนที่ไม่ใช่โปรตีนรวมอยู่ด้วย โปรตีนชนิดนี้เรียกว่าโปรตีนกอนจูเกต และส่วนที่มารวมอยู่เรียกว่าหมู่พรอสเทติก ซึ่งมักจะเป็นอออนของโลหะหรืออินทรีย์โมเลกุลขนาดเล็ก

การที่กรดอะมิโนมาเชื่อมต่อกันและเรียงกันเป็นลำดับ จะบอกถึงโครงสร้างปฐมภูมิของโปรตีน การหาลำดับของกรดอะมิโนทำได้โดยใช้ Sanger's reagent แคนซิลกลอไรด์ และ Edman's reagent

วิเคราะห์กรดอะมิโนที่อยู่ทางปลายอะมิโน วิธีหลังนิยมใช้มากเพราะจะตัดกรดอะมิโนออกทีละตัวโดยไม่ย่อยสลายสายเปปไทด์ ทำให้สามารถหาการเรียงลำดับของกรดอะมิโนได้ แต่อย่างไรก็ดีถ้าเปปไทด์นั้นมีขนาดใหญ่มาก ๆ ก็จะต้องใช้วิธีอื่น ๆ เข้ามาช่วยด้วย เช่นอาจใช้เอนไซม์ โดยเอนไซม์ที่ย่อยสายโปรตีนได้นั้นมีหลายชนิด แต่ละชนิดก็จะมีเฉพาะเจาะจงในการตัดสายเปปไทด์ที่บริเวณต่าง ๆ กัน ชั้นส่วนทั้งหลายของเปปไทด์ที่ถูกตัดจะมีส่วนที่เชื่อมกันอยู่ ทำให้สามารถหาโครงสร้างปฐมภูมิของโปรตีนได้

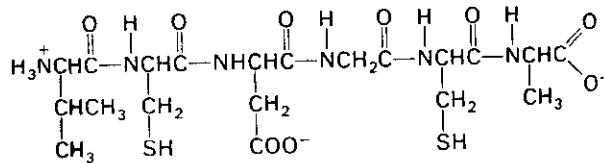
สายโพลีเปปไทด์เส้นตรงจะมีการโค้งงอได้ ถ้ามีพันธะที่ทำให้เกิดคอนฟอร์เมชันนี้ขึ้นโครงสร้างระดับนี้เรียกว่าโครงสร้างทุติยภูมิ ซึ่งมีแบบที่พบมาก 2 แบบด้วยกันคือเกลียวอัลฟาและเบต้าชีท ในเกลียวอัลฟามีพันธะไฮโดรเจนเกิดระหว่างทุกคาร์บอนิลออกซิเจน กับทุกเอมิดีไนโตรเจน พันธะเหล่านี้จะค่อนข้างขนานกับแกนตามยาว แต่ละรอบของเกลียวจะมีกรดอะมิโน 3.6 ตัว สำหรับเบต้าชีทจะมีพันธะไฮโดรเจนเช่นกัน แต่จะเกิดระหว่างสายเปปไทด์ 2 สายหรือระหว่างสองส่วนภายในสายเดียวกัน โปรตีนก้อนกลมจะอยู่ในลักษณะเบต้าชีทนี้

สายเปปไทด์ที่อยู่ในแบบเกลียวอัลฟาหรือเบต้าชีทสามารถที่จะขดตัวต่อไปได้อีก โดยใช้แรงชนิดต่าง ๆ เช่น พันธะไฮโดรเจน แรงแวนเดอร์วาลส์ พันธะไดซัลไฟด์ ลักษณะนี้จะเป็นโครงสร้างตติยภูมิของโปรตีน ซึ่งมักมีรูปร่างกลมตัน และ side chain ที่เป็นนีออนโพลาร์ของกรดอะมิโนจะหันเข้าข้างใน ส่วน side chain ที่เป็นโพลาร์จะหันออกข้างนอก โครงสร้างระดับสุดท้ายคือโครงสร้างจตุรภูมิจะเกิดจากการที่มีโพลีเปปไทด์มากกว่า 1 สายขึ้นไปมาอยู่รวมกัน โดยใช้พันธะเช่นเดียวกับในโครงสร้างตติยภูมิ ตัวอย่างของโปรตีนที่มีโครงสร้างจตุรภูมิได้แก่ฮีโมโกลบิน

ถ้าให้โปรตีนอยู่ในสภาวะบางอย่าง เช่น ได้รับความร้อน สารเคมี หรือ pH สูง ๆ โปรตีนจะสูญเสียสภาพธรรมชาติ คือโครงรูปสามมิติจะเปลี่ยนไป โดยที่พันธะเปปไทด์จะไม่ถูกทำลายเลย การสูญเสียสภาพธรรมชาตินี้ถ้าเกิดไม่มากนักจะผันกลับได้ แต่ถ้าเกิดอย่างรุนแรงแล้วจะผันกลับไม่ได้

คำถามท้ายบท

- ทำไมโปรตีนเส้นใยจึงมักจะไม่ใช่ละลายน้ำ แต่โปรตีนก้อนกลมละลายน้ำ
- จงเขียนโครงสร้างของเปปไทด์ต่อไปนี้ (กรดอะมิโนตัวแรกจะอยู่ทางปลายอะมิโน)
 - 1 ไทรเปปไทด์ Glu - Pro - Cys
 - 2 จงแสดงให้เห็นว่าโอลิโกเปปไทด์ของ Leu และ Lys สามารถที่จะต่อกันเป็นโครงสร้างแบบสายตรงหรือแบบ branched - chain ก็ได้
- เปปไทด์ต่อไปนี้ จะเกิดโครงสร้างวงปิดโดยไม่ทำพันธะเปปไทด์เพิ่มขึ้นได้หรือไม่ ถ้าได้จงเขียนโครงสร้างที่สามารถเกิดขึ้นได้นั้น



- เปปไทด์ต่อไปนี้คือ Phe - Ile ; Lys - Lys - Lys ; Arg - Asp จะเคลื่อนไปยังขั้วบวกหรือขั้วลบที่ pH = 3 และ pH = 10 (ใช้ข้อมูลในตารางที่ 8 - 4)
- กรดอะมิโน 20 ตัวที่พบในธรรมชาติ จะทำให้เกิดโพลีเปปไทด์ที่มี กรดอะมิโน 61 ตัวต่อกันได้ทั้งหมดกี่ชนิด
- โพลีเปปไทด์ต่อไปนี้ ตัวไหนละลายน้ำได้ดีกว่ากัน
 - 1 Phe₂₀ หรือ Gly₂₀
 - 2 Asp₂₀ หรือ Glu₂₀ ที่ pH = 6.0
 - 3 Phe₂₀ หรือ Tyr₂₀
- ท่านคิดว่าโปรตีนที่มีกรดอะมิโน 100 ตัวต่อกัน หรือกรดอะมิโนเหล่านี้ในรูปที่เป็นอิสระจะมีความเป็นบัฟเฟอร์ที่ดีกว่ากัน ถ้าความเข้มข้นเท่ากัน
- ข้อความต่อไปนี้ถูกหรือผิด ถ้าผิดจงบอกด้วยว่าทำไมจึงผิด
 - 1 ในทางทฤษฎี Edman degradation จะใช้หาการเรียงลำดับของกรดอะมิโนในโพลีเปปไทด์ได้ทุกชนิด
 - 2 การบอกซีเปปทีดส์ไม่ว่าจะเป็นชนิด A หรือ B จะตัดกรดอะมิโนตัวสุดท้ายทางปลายคาร์บอกซิลได้เสมอ ถ้ากรดอะมิโนตัวที่อยู่ถัดเข้ามาไม่ใช่โพรลีน
- โคโมทรอปซินจะย่อยเปปไทด์ต่อไปนี้ ออกได้อย่างไรบ้าง

Gly - Tyr - Ala - Val - Phe - Trp

10. จงตอบคำถามต่อไปนี้

10.1 ถ้าย่อยสลายเปปไทด์ต่อไปนี้ด้วยทริปซินหรือไคโมทริปซินจะได้ส่วนย่อย ๆ อะไรบ้าง

Lys - Cys - Tyr - Val - Arg - His - Glu - Trp - Ala - Ser

10.2 จงหาการเรียงลำดับของกรดอะมิโนในเปปไทด์ ซึ่งเมื่อย่อยสลายด้วยทริปซิน หรือไคโมทริปซินแล้วจะได้ส่วนย่อย ๆ ดังนี้

เมื่อย่อยด้วยทริปซินได้ Val - Arg และ Leu - Gly - Asp - Phe - Ala - Tyr - Glu

เมื่อย่อยด้วยไคโมทริปซินได้ Ala - Tyr - Glu และ Val - Arg - Leu - Gly - Asp - Phe

11. จงพิจารณาว่าเปปไทด์ต่อไปนี้将被ย่อยที่ใด เมื่อใช้สารที่กำหนดให้

11.1 ย่อยเปปไทด์ Phe - Met - Leu ด้วยคาร์บอกซีเปปติเดส B

11.2 ย่อยเปปไทด์ Ala - Gly - Phe ด้วยไคโมทริปซิน

11.3 ย่อยเปปไทด์ Pro - Arg - Met ด้วยทริปซิน

12. ข้อความต่อไปนี้ถูกหรือผิด ถ้าผิดจงบอกเหตุผลที่ผิดด้วย

12.1 พันธะไฮโดรเจนจะเกิดระหว่างไฮโดรเจนอะตอมที่อยู่ผิวหน้าของโปรตีนในสารละลาย

12.2 คอนฟอร์เมชันที่เสถียรที่สุดของโปรตีนคือรูปแบบที่มีพลังงานอิสระต่ำที่สุด

12.3 แรงที่สำคัญที่สุดที่ทำให้โปรตีนเกิดการโค้งงอตัวได้คือแรงจากพันธะไฮโดรเจนที่เกิดภายในสาย

12.4 โครงสร้างจตุรภูมิคือรูปแบบในมิติที่ 4 ของโปรตีน ซึ่งเป็นฟังก์ชันของเวลา

12.5 เอมีดไฮโดรเจนของพันธะเปปไทด์ทุก ๆ พันธะในกลีวอัลฟาจะเกิดพันธะไฮโดรเจนทั้งนั้น

13. จงอธิบายโครงสร้างตติยภูมิที่จะเกิดขึ้นในเปปไทด์ต่อไปนี้

13.1 Asp₁₀ - Gly₃ - Lys₁₀

13.2 (Lys - Thr)₁₀ - Leu₆

14. กรดอะมิโนต่อไปนี้ ชนิดใดจะพบอยู่ข้างนอก และชนิดใดจะพบอยู่ข้างในของโปรตีนก่อนกลมที่ อยู่ในสารละลาย pH = 7

Glu Arg

Val Phe

Ilu	Met
Asn	Lys
Ser	Thr

15. ถ้าให้โปรตีนอยู่ในสภาวะแวดล้อมแบบนี้อนโพลาร์ ท่านคิดว่าโปรตีนจะมีการขดตัวแล้วเอกรดอมิโนประเภทใดไว้ข้างนอก และกรดอมิโนประเภทใดไว้ข้างใน

