# ไซโทโครม P–450

## Cytochrome P–450

*มณี ชะนะมา**

**บทคัดย่อ :** มณี ชะนะมา. 2546. ไซโทโครม P-450. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ 17 (1) : 67 - 79.

ไซโทโครม P-450 เป็นเอนไซม์กลุ่มใหญ่จำพวกโมโนออกซิจีเนสที่มีฮีม ซึ่งสามารถพบในสิ่งมีชีวิตตั้งแต่แบคทีเรียจนถึงแมลง พืช และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มันสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารเคมีต่างๆหลายชนิด ชื่อของเอนไซม์ได้มาจากความสามารถในการดูดกลืนแสงมากที่สุดที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร เมื่อเอนไซม์ในรูปถูกรีดิวซ์จับกับคาร์บอนมอนอกไซด์ กลไกการทำงานของเอนไซม์เกี่ยวข้องกับโซ่การถ่ายเทอิเล็กตรอน ซึ่งเริ่มต้นด้วย NADH หรือ NADPH แล้วตามด้วยโปรตีนรีดอกซ์ (redox protein) และไซโทโครม P-450 ตามลำดับ หรือพูดอีกนัยหนึ่งได้ว่าไซโทโครม P-450 ทำหน้าที่เหมือนเอนไซม์ออกซิเดสปลายทาง จนกระทั่งถึงปัจจุบันนี้มี P-450 เพียง 5 ชนิดเท่านั้นที่ทราบโครงสร้างสามมิติ ได้แก่ $P\text{-}450_{cam}$, $P\text{-}450_{BM\text{-}3}$, $P\text{-}450_{terp}$, $P\text{-}450_{eryF}$ และ CYP119 โดยพบว่า P-450 ดังกล่าวมีโครงสร้างสามมิติที่คล้ายกัน ทำให้เชื่อได้ว่าโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ P-450 ทั้งหมดควรจะคล้ายกัน เอนไซม์ P-450 มีหน้าที่หลักอยู่ 2 ประการ ประการแรก เอนไซม์เกี่ยวข้องกับระบบการกำจัดสารพิษในสิ่งมีชีวิต มันช่วยกำจัดสารเคมีแปลกปลอมให้ออกไปจากร่างกาย ประการที่สอง เอนไซม์มีบทบาทที่สำคัญและจำเพาะในเมแทบอลิซึมของสารเคมีที่สร้างขึ้นเองภายในสิ่งมีชีวิต ปัจจุบันมีแนวโน้มในการนำเอา P-450 มาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางทั้งทางด้านการแพทย์ การเกษตร และสิ่งแวดล้อม

**คำสำคัญ**: ไซโทโครม P-450 โมโนออกซิจีเนส การขจัดพิษ เมแทบอลิซึม

*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
Department of Microbiology, Faculty of Public Health, Mahidol University

**Abstract :** Manee Chanama. 2003. Cytochrome P-450. Thai J Health Res 17 (1) : 67 - 79.

Cytochrome P-450 is a superfamily enzyme of heme-containing monooxygenases found in organisms ranging from bacteria to insects, plants, and mammals. It catalyzes the oxidation of a wide variety of substrates. The name is derived from the spectral absorbance maximum produced at 450 nm when carbon monoxide binds to the enzyme in its reduced state. The enzyme mechanism involves an electron transport chain beginning with the NADH or NADPH, then followed by redox protein and cytochrome P-450 respectively. In other words, cytochrome P-450 is served as a terminal oxidase. So far, there have been only five well known three-dimensional structures of P-450s, namely, $P\text{-}450_{cam}$, $P\text{-}450_{BM\text{-}3}$, $P\text{-}450_{terp}$, $P\text{-}450_{eryF}$, and CYP119. Such P-450s have the similar three-dimenisonal structures. It is believed that three-dimensional structures of all P-450 enzymes should be similar. There have been two major views on the function of P-450 enzymes. First, the enzymes involves the detoxification system in the organism. It removes foreign chemicals from the body. Second, the enzymes have critical and specific roles in the metabolism of endogeneous chemicals within the organisms. At present, the potential use of P-450 is continuously implemented to important areas of medicine, agriculture, and environment.

**Key words** : cytochrome P-450, monooxygenase, detoxification, metabolism

---

## ความเป็นมา

ไซโทโครม P-450 (cytochrome P-450, EC 1.14.14.1) เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่ได้รับการศึกษาอย่างมาก เนื่องจากมีบทบาทสำคัญในเมแทบอลิซึม (metabolism) ของสารเคมีต่างๆทั้งที่อยู่ภายในและภายนอกสิ่งมีชีวิต (Porter and Coon, 1991; Guengerich, 1992) P-450 มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเคมีหลายชนิด เช่น hydroxylation, epoxidation, dealkylation, heteroatom oxidation, carbon–carbon bond scission และ oxidative/reductive dehalogenation เป็นต้น (Black and Coon, 1987) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าไซโทโครม P-450 เป็นตัวเร่งทางชีวภาพ (biological catalyst) ที่มีความหลากหลายมากที่สุดและมักกระจายอยู่ทั่วไปภายในเซลล์เกือบทุกชนิดของสิ่งมีชีวิตต่างๆอาทิเช่น คน สัตว์ พืช แมลง ยีสต์ และแบคทีเรีย เป็นต้น เอนไซม์นี้จัดอยู่ในประเภทโมโนออกซิจีเนส (monooxygenase) ซึ่งมีฮีม (heme) เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างโดยมีอะตอมซัลเฟอร์ (sulfur atom) ของกรดอะมิโนซิสเตอีน (cysteine residue) ทำหน้าที่เหมือน axial ligand ที่ถูกเชื่อมต่ออยู่กับอะตอมเหล็ก (iron atom) ของวงแหวนพอร์ไฟริน (porphyrine ring) ชื่อของเอนไซม์ได้มาจากความสามารถในการดูดกลืนแสงมากที่สุดที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร เมื่อเอนไซม์อยู่ในสภาวะถูกรีดิวซ์ (reduced state) และจับอยู่กับคาร์บอนมอนอกไซด์ (carbon monoxide) (Guengerich, 1991)

การค้นพบไซโทโครม P-450 เกิดขึ้นในปี ค.ศ. 1940 ระหว่างการศึกษาปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการใช้โมเลกุลออกซิเจน (molecular oxygen, $O_2$) ซึ่งเรียกว่า mixed–function oxidation reaction (Garfinkel, 1958; Klingenberg, 1958) และสามารถแสดงปริมาณสัมพันธ์ (stoichiometry) ของปฏิกิริยาได้ดังนี้

$$NAD(P)H + O_2 + SH \longrightarrow NAD(P)^+ + H_2O + SOH$$

ซึ่ง SH หมายถึง ซับสเตรต (substrate) และ SOH เป็นผลิตภัณฑ์ (product) ที่เกิดขึ้น ปฏิกิริยานี้มีความสำคัญในเมแทบอลิซึมของสารเคมีซึ่งมีโครงสร้างต่างๆ เช่น ยา สเตรอยด์ และสารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ (pesticides) เป็นต้น และพบว่าเกิดขึ้นในไมโครโซม (microsome) ของตับและเนื้อเยื่ออื่นๆของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยตับเป็นแหล่งที่มีปฏิกิริยาเหล่านี้เกิดขึ้นมากและสารประกอบภายในตับซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวคือไซโทโครม P-450 จึงนับได้ว่าตับเป็นแหล่งที่มีไซโทโครม P-450 มากที่สุด

Omura และ Sato (1962) ที่มหาวิทยาลัยโอซาก้า (Osaka University) ประเทศญี่ปุ่นและ Estabrook ที่มหาวิทยาลัยเพนซิลวาเนีย (University of Pennsylvania) ประเทศสหรัฐอเมริกา (Estabrook and Werringloer, 1977) พบว่าไซโทโครม P-450 เป็นส่วนประกอบในขั้นสุดท้ายของโซ่การขนส่งอิเล็กตรอน (electron transfer chain) ซึ่งช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reation) ของซับสเตรต ต่อมาได้มีกลุ่มนักวิจัย 2 กลุ่มพยายามแยกส่วนประกอบในระบบออกซิเดชัน (oxidation system) เหล่านี้ กลุ่มแรกโดย Gunsalus ที่มหาวิทยาลัยอิลินอยด์ (University of Illinois) ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ซึ่งใช้การบูร (camphor) เป็นแหล่งของคาร์บอนในการเจริญเติบโตมี mixed-function oxidation system ประกอบด้วยโปรตีน 3 ชนิด คือ flavoprotein, putidaredoxin ซึ่งเป็น iron-sulfur protein และไซโทโครม P-450 Gunsalus ได้ตั้งชื่อ P-450 นี้ว่า P-$450_{cam}$ (Conrad *et al*., 1965a; Conrad *et al*., 1965b) ในเวลาใกล้เคียงกัน กลุ่มที่สองโดย Coon และ Lu ที่

มหาวิทยาลัยมิชิแกน (University of Michigan) ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าไมโครโซมจากตับของกระต่ายมีโปรตีน 2 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ flavoprotein และไซโทโครม P-450 ที่เกี่ยวข้องกับโซ่การขนส่งอิเล็กตรอนในระบบดังกล่าว และการทำงาน (activity) ของโปรตีนเหล่านี้ยังต้องการฟอสโฟลิปิดซึ่งจำเป็นต่อการเกิดโครงสร้างของเซลล์เมมเบรน (Lu and Coon, 1968) นอกจากนี้ยังได้มีการค้นหาและศึกษาไซโทโครม P-450 หลายชนิดจากสิ่งมีชีวิตโดยกลุ่มนักวิจัยต่างๆ ดังปรากฏให้เห็นว่าในสิ่งมีชีวิตสปีชีส์หนึ่งๆสามารถมีไซโทโครม P-450 ได้หลายชนิดที่แตกต่างกัน เช่น หนู rat มียีนของไซโทโครม P-450 ที่แตกต่างกันถึงมากกว่า 40 ชนิด และแต่ละยีนจะถอดรหัสสำหรับกำหนดการสร้างเอนไซม์ที่ต่างกัน (Porter and Coon, 1991)

## การตั้งชื่อ

ในสมัยแรกๆของการแยกเอนไซม์ไซโทโครม P-450 แต่ละชนิดนั้น ได้มีการตั้งชื่อของเอนไซม์ตามชื่อของสิ่งมีชีวิตที่เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์หรือตามซับสเตรตจำเพาะที่ถูกเมแทบอไลซ์โดยเอนไซม์นั้นๆ ดังนั้นจึงกำหนดให้ใช้ “P-450” แทน “ไซโทโครม P-450” แล้วห้อยท้ายด้วยชื่อของสิ่งมีชีวิตหรือซับสเตรตจำเพาะที่ถูกเมแทบอไลซ์ดังที่กล่าวข้างต้น ตัวอย่างเช่น

$P\text{-}450_{BM\text{-}3}$ เป็น P-450 ที่ได้มาจากเชื้อ *Bacillus megaterium* strain3

$P\text{-}450_{cam}$ เป็น P-450 ที่เมแทบอไลซ์ซับสเตรตการบูร (camphor)

การตั้งชื่อดังกล่าวทำให้เอนไซม์ชนิดเดียวกันถูกเรียกโดยชื่อที่ต่างกันซึ่งทำให้เกิดความสับสนในการอ่าน ตัวอย่างเช่น $P\text{-}450_{dbl}$ และ $P0450_{Bufl}$ เป็นเอนไซม์ตัวเดียวกัน ซึ่งปัจจุบันเรียกว่า CYP2D6

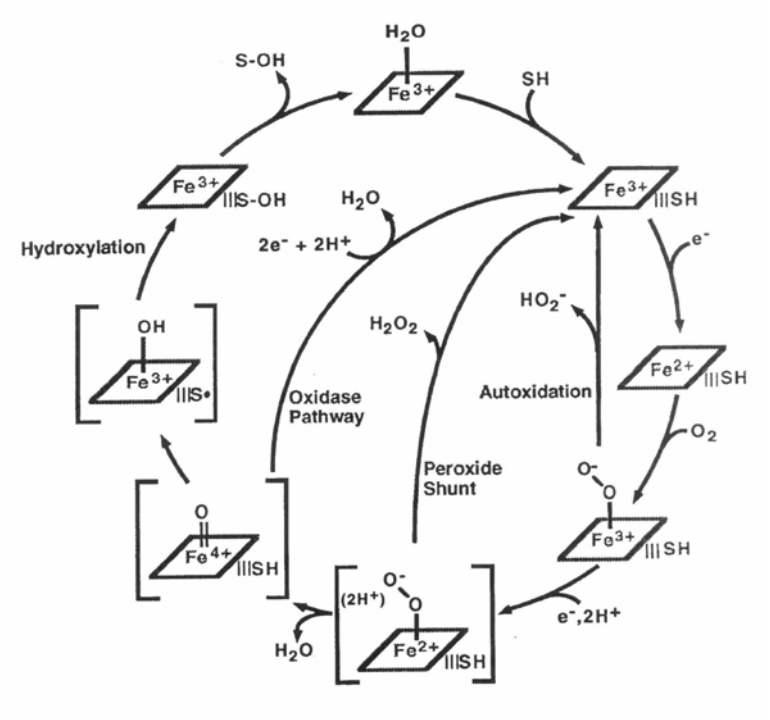
ต่อมาได้มีการนำระบบการจำแนกมาใช้ รวมทั้งได้มีการปรับปรุงให้ทันสมัยขึ้นจนนำมาใช้กันในปัจจุบันอย่างแพร่หลาย (Nelson *et al*., 1993) ระบบนี้ได้แบ่งเอนไซม์และยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ออกเป็น family และ subfamily โดยมีคำนำหน้าด้วย “CYP” แทน “ไซโทโครม P-450” ในทุกสปีชีส์ทั้งหมดยกเว้นยีนของหนู mouse ให้ใช้ “Cyp” แทน และกำหนดกลุ่ม family โดยใช้ตัวเลขอาราบิค (arabic number) ดังตัวอย่าง เช่น CYP2 สมาชิกทุกตัวใน family เดียวกันต้องมีความเหมือนกัน (identity) ในลำดับของกรดอะมิโน (amino acid sequence) มากกว่าร้อยละ 40 และsubfamily ต้องประกอบด้วยเอนไซม์ที่มีความเหมือนกันในลำดับของกรดอะมิโนมากกว่าร้อยละ 55 และใช้ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่เพื่อแสดงความแตกต่างของ subfamily ตัวอย่างเช่น CYP2 มี subfamily ต่างๆ คือ CYP2C, CYP2D และ CYP2E เอนไซม์แต่ละตัวใน subfamily หนึ่งๆจะถูกกำหนดโดยตัวเลขอาราบิค เช่น CYP2D6 ถ้าสมาชิกใน subfamily เดียวกันที่มีหน้าที่เหมือนกันหรือมาจากบริเวณโครโมโซมที่ไม่เกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีน (nontranslated region) ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน มีความแตกต่างของอัลลีล (allelic variation) น้อยกว่าร้อยละ 3 (< 3% divergence) ให้ถือว่า P-450 เหล่านั้นมีอัลลีลที่มาจากยีนเดียวกัน ตัวอย่างเช่น CYP6B1 มีความแตกต่างของอัลลีล 2 ชนิด ได้แก่ CYP6B1v1 และ CYP6B1v2 (v หมายถึง variant) โดยทั่วไปชื่อเอนไซม์จะถูกบ่งชี้โดยใช้ตัวตรง เช่น CYP6B1 แต่ยีนซึ่งสอดคล้องกับเอนไซม์นั้นใช้ตัวเอียง เช่น *CYP6B1* แม้ว่า

ได้มีการนำระบบการตั้งชื่อดังกล่าวมาใช้กันอย่างแพร่หลายแต่ยังมีการเรียกไซโทโครม P-450 บางตัวโดยใช้ระบบดั้งเดิมเพื่อความสะดวก ตัวอย่างเช่น $P\text{-}450_{cam}$ จะถูกเรียกเป็นส่วนใหญ่แทนที่จะเรียก CYP101

## กลไกการทำงาน

ปฏิกิริยาของไซโทโครม P-450 เกี่ยวข้องกับการถ่ายเทอิเล็กตรอน (electron transfer) โดยทำหน้าที่เหมือนเอนไซม์ออกซิเดสปลายทาง (terminal oxidase) นั่นคือการทำงานของ P-450 ต้องอาศัยส่วนประกอบของโปรตีนซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการถ่ายเทอิเล็กตรอน ดังนั้น P-450 สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ตามส่วนประกอบของโปรตีนดังกล่าว (Black and Coon, 1987) ประเภทที่หนึ่ง (class I P-450) เป็น P-450 ที่พบในแบคทีเรียส่วนใหญ่และไมโตคอนเดรียของต่อมหมวกไต (adrenal gland) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยอาศัยส่วนประกอบของโปรตีน ซึ่งทำหน้าที่เป็น redox partner 2 ชนิดคือ ferredoxin reductase และ ferredoxin Ferredoxin reductase เป็น flavoprotein ที่มี FAD หรือ FMN Ferredoxin เป็นโปรตีนที่มีกลุ่ม 2Fe-2S ซึ่งมีหน้าที่ถ่ายเทอิเล็กตรอนระหว่าง ferredoxin reductase และ P-450 โดยการส่งอิเล็กตรอนจาก NAD(P)H ไปยัง P-450 ครั้งละหนึ่งอิเล็กตรอน ประเภทที่สอง (class II P-450) เป็น P-450 ที่พบส่วนใหญ่ในไมโครโซมของตับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและอาศัย redox partner นำพาอิเล็กตรอนเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่เรียกว่า NADPH-cytochrome P-450 reductase ซึ่งประกอบด้วยแต่ละโมเลกุลของ FAD และ FMN เชื่อกันว่า reductase นี้มี FAD domain และ FMN domain โดย FAD domain ทำหน้าที่เหมือนตัวรับอิเล็กตรอนจาก NADPH ขณะที่ FMN domain เปรียบเสมือนกับ ferredoxin และทำหน้าที่เหมือนทางออกของอิเล็กตรอนจากโปรตีนนี้ไปยัง P-450 อย่างไรก็ตามยังพบ class II P-450 ในแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* strain 3 เรียกว่า $P\text{-}450_{BM\text{-}3}$ โดยที่ทั้ง reductase และ P-450 อยู่บนสายโพลีเปปไทด์เส้นเดียวกัน (Fulco,1991) ดังนั้นขบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอนทั้งหมดอยู่ภายในโมเลกุล (intramolecular) ตรงกันข้ามกับ class I P-450 และ class II P-450 ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งขบวนการดังกล่าวเกิดขึ้นระหว่างโมเลกุล (intermolecular) นอกจากนี้ ระบบ P-450 ที่พบในแบคทีเรียเป็น P-450 ที่สามารถละลายได้ (soluble P-450) แต่ P-450 ที่พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะฝังอยู่ในผนังเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane–bound P-450) แม้ว่า P-450 สามารถเร่งปฏิกิริยาได้หลายชนิดดังกล่าวข้างต้น แต่ hydroxylation เป็นปฏิกิริยาที่พบบ่อยที่สุด ปฏิกิริยา hydroxylation ของซับสเตรตโดย P-450 จากแบคทีเรียโดยเฉพาะ $P\text{-}450_{cam}$ ได้ศึกษากันอย่างกว้างขวางและใช้เป็นแม่แบบในการศึกษากลไกการทำงานของ P-450 ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งคาดว่าน่าจะคล้ายคลึงกัน รูปที่ 1 เป็นการเสนอวัฏจักรปฏิกิริยาของ P-450 ในการเกิด hydroxylation ในสภาวะปกติเอนไซม์ P-450 อยู่ในรูป ferrric ($Fe^{3+}$) ที่เป็น low -
spin hexacoordinate ซึ่ง ligand ที่ 6 หรือเรียกว่า distal heme ligand คืออะตอมออกซิเจนซึ่งมาจากน้ำ การทำงานของเอนไซม์สามารถอธิบายโดยสังเขปได้ดังนี้ (Poulos and Raag, 1992) ในขั้นแรกซับสเตรตจับกับ ferric ของเอนไซม์ การจับกับซับสเตรตจำเป็นสำหรับการรับอิเล็กตรอนอย่างรวดเร็วในขั้นตอนต่อมาเนื่องจาก hydrophobic effects และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก low-spin hexacoordinate ไปเป็น high-spin pentacoordinate ภาวะ high-spin ของเอนไซม์สำคัญต่อวัฏจักรของปฏิกิริยาเพราะมันมีผลต่อศักย์การรีดิวซ์ (reduction potential) ของอะตอม

เหล็กโดยทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นในศักย์การรีดิวซ์ของเหล็กซึ่งจะเป็นแรงผลักดันทางเทอร์โมไดนามิกส์ (thermodynamics) สำหรับการเกิดปฏิกิริยาการรีดิวซ์ (reduction reaction) ของ P-450 โดย redox partner ขั้นที่ 2




**รูปที่ 1** วัฏจักรปฏิกิริยาของ P-450 สารตัวกลางที่อยู่ภายในวงเล็บเป็นสารที่ทำนายได้จากปฏิกิริยาแต่ยังไม่สามารถตรวจพบได้ ระนาบของฮีมถูกแสดงโดยรูปสี่เหลี่ยม SH คือซับสเตรต และ SOH คือผลิตภัณฑ์

คือ การถ่ายเทอิเล็กตรอนตัวแรกให้กับ P-450 แล้วกลายเป็น ferrous ($Fe^{2+}$) อิเล็กตรอนนี้มาจาก NAD(P)H และมีโซ่ของการถ่ายเทอิเล็กตรอนดังแสดงในรูป ขั้นที่ 3 คือการจับของโมเลกุลออกซิเจน ($O_2$) กับอะตอมเหล็กของ P-450 ที่ตำแหน่ง *trans* เทียบกับอะตอม thiolate sulfur เกิดเป็นสารประกอบที่เรียกว่า ferrous dioxygen complex สารประกอบนี้เสถียรพอที่จะตรวจพบได้และนับเป็นสารตัวกลางตัวสุดท้ายในปฏิกิริยาที่สามารถตรวจสอบได้ สารประกอบนี้สามารถถูก autooxidized แล้วให้ superoxide พร้อมทั้งได้ ferric form ของ P-450 กลับคืนมา นอกจากนี้คาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) สามารถแย่งกับออกซิเจน ($O_2$) ในการจับกับ ferrous form แล้วทำให้วัฏจักรปฏิกิริยาหยุดทันที สารเชิงซ้อน CO-complex ที่เกิดขึ้นแตกต่างจาก oxy-complex นัยว่า CO-complex มีความเสถียรมากและให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ซึ่งนับเป็นวิธีที่มีประโยชน์อย่างมากในการศึกษา functional P-450 ขั้นที่ 4 คือการถ่ายเทอิเล็กตรอนตัวที่ 2 ไปยัง ferrous oxy-P-450 แม้ว่าการรีดิวซ์ของ ferric form ในขั้นที่ 2 สามารถเกิดขึ้นโดยโซ่การถ่ายเทอิเล็กตรอนปกติแล้ว มันยังเกิดขึ้นได้โดยวิธีการรีดิวซ์แบบใช้แสง (photoreduction) และใช้สารเคมีไดไธโอไนท์ (dithionite) แต่การรีดิวซ์ของ ferrous oxy-P-450 มีความจำเพาะมากกว่า โดยพบว่าการรีดิวซ์แบบใช้แสงและใช้สารเคมีของ ferrous oxy-P-450 โดยไม่มี redox partner เป็นตัวควบคุม (effector) ทำให้เกิด ferric form และไม่มีผลิตภัณฑ์เกิดขึ้น เพราะฉะนั้น redox partner จึงเป็นตัวควบคุมที่มีประสิทธิภาพสำหรับการถ่ายเทอิเล็กตรอนตัวที่ 2 นอกจากนี้ในระบบ microsomal P-450 ไซโทโครม

$b_5$ (cytochrome $b_5$) สามารถทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนตัวที่ 2 กับ ferrous oxy-P-450 ได้ อาจเป็นไปได้ว่าการจับของโมเลกุลที่ให้อิเล็กตรอนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้าง (conformational change) ของ P-450 เป็นผลให้เกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอนหรือการแยกพันธะ O-O (O-O bond scission) หลังจากการรีดิวซ์ครั้งที่ 2 oxygen species ที่เกิดขึ้นจะเทียบเท่ากับ ferric iron-coordinate peroxide complex แต่ยังไม่ทราบการกระจายของอิเล็กตรอน (electron distribution) ในภาวะปกติและภาวะ protonation state อย่างแน่นอน รวมทั้งยังไม่เข้าใจถึงกลไกการแยกพันธะ O-O เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามได้มีการเสนอใน $P\text{-}450_{cam}$ ว่าโปรตอน (proton) มีส่วนทำให้เกิดการแยกพันธะ O-O (dioxygen bond cleavage) เชื่อกันว่าหลังจากเกิดการแยกพันธะ O-O แล้วจะเกิด activated oxygen ขึ้นแล้วมีการใส่ออกซิเจนเข้าไปในซับสเตรต กลไกการแยกพันธะ O-O ที่เป็นไปได้ซึ่งมีหลักฐานมาจากการหา deuterium isotope effects ภายในโมเลกุลคือการดึงอะตอมไฮโดรเจนออกจากซับสเตรตโดย activated oxygen แล้วตามด้วยการผสมกัน (recombination) ของ carbon radical ที่เกิดขึ้นกับ hydroxyl radical ก่อให้เกิด hydroxylated substrate ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ ในที่สุดผลิตภัณฑ์นี้จะแยกจากบริเวณเร่ง (active site) ของ P-450 และวัฏจักรของปฏิกิริยาจึงสมบูรณ์ พร้อมกับได้ P-450 ที่มีเหล็กในรูปของ ferric กลับคืนมาเพื่อเริ่มปฏิกิริยาในรอบต่อไป

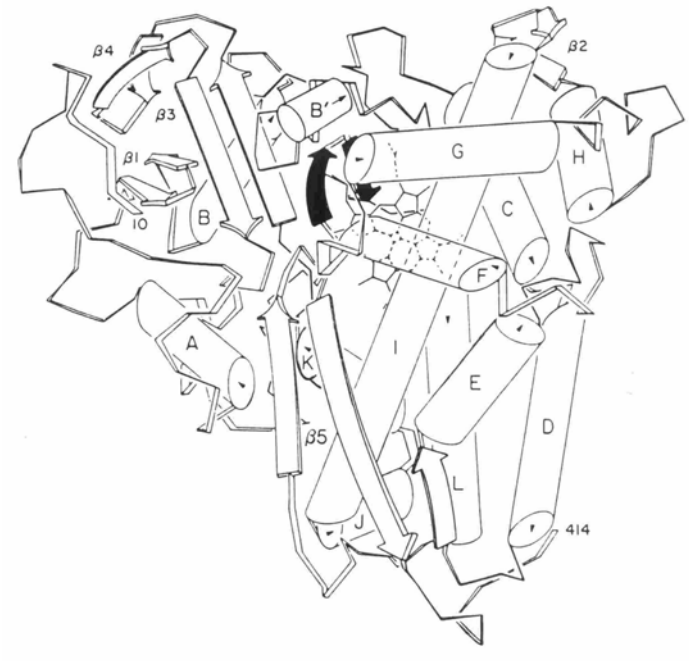
นอกจาก P-450 ทำให้เกิด superoxide จาก autooxidation ดังที่กล่าวข้างต้นแล้วยังทำให้เกิด peroxide หรือน้ำอีกด้วย ซึ่งนับเป็นปรากฏการณ์ที่เรียกว่า uncoupling phenomenon peroxide เกิดขึ้นโดยการสลายของ ferric-peroxide species ในวิถี peroxide shunt ขณะที่น้ำเกิดจาก $[\ FeO\ ]^{4+}$ ในวิถี oxidase ปฏิกิริยา uncoupling เหล่านี้อาจจะเกิดขึ้นเมื่อเอนไซม์เปลี่ยนแปลงซับสเตรตอื่นที่นอกเหนือจากซับสเตรตจำเพาะของมัน หรือเมื่อมีการกลายพันธุ์ (mutation) เกิดขึ้นใน P-450 ซึ่งมีผลต่อเสถียรภาพ (stability) ของสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องตัวใดตัวหนึ่ง หรือเมื่อการ กลายพันธุ์ทำให้โมเลกุลน้ำสามารถเข้าไปในบริเวณเร่งของเอนไซม์ได้

## ลักษณะโครงสร้างของไซโทโครม P-450

โครงสร้างสามมิติ (three-dimensional structure) ของ P-450 มีความสำคัญต่อการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและกลไกการทำงานหรือหน้าที่ของมัน อันจะนำไปสู่การออกแบบซับสเตรตหรือตัวยับยั้งตัวใหม่ รวมทั้งการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ในรายละเอียดด้วย จนกระทั่งถึงปัจจุบันนี้พบว่ามีโครงสร้างสามมิติของ P-450 เพียง 5 ชนิดเท่านั้นคือ $P\text{-}450_{cam}$ (Poulos *et al*., 1987), $P\text{-}450_{BM\text{-}3}$ (Ravichandran *et al*., 1993), $P\text{-}450_{terp}$ (Hasemann *et al*., 1994), $P\text{-}450_{eryF}$ (Cupp-Vickery and Poulos, 1995) และ CYP119 (Yano *et al*., 2000) โครงสร้างสามมิติเหล่านี้ได้มาจากผลึกเอ็กซเรย์ (x-ray crystal) ของมัน P-450 ทั้งหมดนี้มาจากแบคทีเรียและเป็นชนิดละลายได้ (soluble form) ยังไม่มีโครงสร้างสามมิติของ P-450 ที่ยึดติดกับเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane-bound form) เนื่องจากเอนไซม์เหล่านี้ทำให้ตกผลึกได้ยากมาก อย่างไรก็ตามได้มีการเสนอให้ใช้ $P\text{-}450_{BM\text{-}3}$ เป็นแม่แบบสำหรับการจำลองโครงสร้างของ P-450 ที่ยึดติดกับเยื่อหุ้มเซลล์เพราะมีความเหมือนกันของระบบการถ่ายเทอิเล็กตรอน ยิ่งไปกว่านั้นโดเมน (domain) บริเวณที่มีฮีมจับอยู่ของ $P\text{-}450_{BM\text{-}3}$ ยังแสดงเปอร์เซนต์ความเหมือนกันของลำดับกรดอะมิโนกับ P-450 จากยูแคริโอต (eucaryote) ได้ค่อนข้างสูงกว่าเมื่อเทียบกับ P-450 ที่ทราบโครงสร้างแล้วชนิดอื่นๆ ในบรรดา P-450 ที่ทราบโครงสร้างแล้วทั้ง 5 ชนิดนั้น $P\text{-}450_{cam}$ เป็น P-450 ที่มีการศึกษาโครงสร้างอย่างกว้างขวาง ไม่เพียงแต่โครงสร้างของเอนไซม์อย่างเดียว แต่ยังมีโครงสร้างของเอนไซม์ที่จับอยู่กับซับสเตรต

คาร์บอนมอนอกไซม์ ตัวยับยั้งและตัวคล้ายคลึงกับซับสเตรต (substrate analog) รวมทั้งโครงสร้างของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์อีกด้วย ตลอดจนการศึกษาอย่างกว้างขวางทั้งทางชีวเคมีและชีวฟิสิกส์ ดังนั้นความเข้าใจส่วนใหญ่ถึงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและหน้าที่ของ P-450 จึงขึ้นอยู่กับพื้นฐานความรู้ของ $P\text{-}450_{cam}$ (Poulos and Raag, 1992)

จากการเปรียบเทียบทางโครงสร้างของ $P\text{-}450_{BM\text{-}3}$, $P\text{-}450_{terp}$, $P\text{-}450_{eryF}$ และ CYP119 กับโครงสร้างของ $P\text{-}450_{cam}$ (รูปที่ 2) พบว่ามีโครงสร้างคล้ายกัน ทำให้เชื่อได้ว่าโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ P-450 ทั้งหมดควรจะคล้ายกัน นั่นคือโครงสร้างของ P-450 ประกอบด้วยโดเมนที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน 2 โดเมนที่เรียกว่าโดเมน α และ β ซึ่งเชื่อมต่อกันโดยสายสั้นๆ ของ random coil โดยทั่วไปโดเมน α ประกอบด้วยเกลียวอัลฟา (α-helix) 13 เกลียว ซึ่งเรียกชื่อเกลียวเหล่านั้นตามตัวอักษร A, B, B’ และ C ถึง L และโดเมน β ประกอบด้วยแผ่นเบต้า (β-sheet) 5 แผ่น อย่างไรก็ตาม P-450 เหล่านี้ยังมีความแตกต่างกันในความยาวของเกลียวอัลฟาและแผ่นเบต้าอย่างมีนัยสำคัญ โมเลกุลของฮีมจะฝังตัวอยู่ระหว่างเกลียวอัลฟา I และเกลียวอัลฟา L โครงสร้างของเอนไซม์บริเวณที่จับกับฮีมนี้จะเหมือนกัน (conserve) อย่างมากใน P-450 โดยมีลำดับของกรดอะมิโน FXXGXXXCXG บริเวณที่เหมือนกันนี้อยู่ใกล้กับปลาย C-terminus ของเอนไซม์ กรดอะมิโนซิสเตอีน (cysteine) ในบริเวณนี้ทำหน้าที่เป็น ligand ที่ 5 ซึ่งจับกับฮีมและมีบทบาทสำคัญในพันธะ Fe-S ของกลไกการเร่งปฏิกิริยาของ P-450 ทั้งหมด นอกจากนี้ P-450 ยังมีบริเวณเหมือนกันซึ่งมีโครงสร้างที่เรียกว่า four-helix bundle อันประกอบด้วยเกลียวอัลฟาที่ขนานกัน 3 อัน คือเกลียวอัลฟา D, I และ L และเกลียวอัลฟาที่อยู่ตรงข้ามกันหนึ่งอันคือเกลียวอัลฟา E ในบรรดาเกลียวอัลฟาเหล่านี้บริเวณตรงกลางของเกลียวอัลฟา I มีลักษณะเป็นแอ่ง (pocket) สำหรับจับกับโมเลกุลออกซิเจนและมีบทบาทสำคัญในการขนส่งโปรตอนเพื่อการเร่งปฏิกิริยา




**รูปที่ 2** รูปจำลองโครงสร้างสามมิติของ $P\text{-}450_{cam}$ รูปแท่งแสดงถึงเกลียวอัลฟาและรูปลูกศรแสดงถึงแผ่นเบต้า (Poulos *et al*., 1987)

แม้ว่าบริเวณที่จับกับฮีมและบริเวณที่จับกับโมเลกุลออกซิเจนในบรรดา P-450 ทั้งหมดจะเหมือนกัน แต่บริเวณที่จับกับซับสเตรตมีความแตกต่างกันมากที่สุด อาจเนื่องมาจากโครงสร้างของซับสเตรตที่ต่างกัน ตัวอย่างเช่น ซับสเตรตของ $P\text{-}450_{BM\text{-}3}$ คือกรดไขมัน (fatty acid) ที่มีจำนวนคาร์บอน 12-20 ตัว ซับสเตรตของ $P\text{-}450_{eryF}$ คือ 6-deoxyerythronolide B นั้นก็มีขนาดใหญ่กว่าการบูร (camphor, $C_{10}H_{16}O$) และ $\alpha$-terpineol ($C_{10}H_{18}O$) ซึ่งเป็น ซับสเตรตของ $P\text{-}450_{cam}$ และ $P\text{-}450_{terp}$ ตามลำดับ สำหรับ P-450 ที่ยึดติดกับเยื่อหุ้มมักมีซับสเตรตขนาดใหญ่ เนื่องจากระดับความเหมือนกันในตำแหน่งการจับกับซับสเตรตของโครงสร้าง P-450 เท่าที่ทราบนั้นต่ำมาก ทำให้การทำนายตำแหน่งการจับกับซับสเตรตของ P-450 อื่นๆทำได้ยากขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้ P-450 ที่ทราบตำแหน่งการจับกับซับสเตรตแล้วและมีความคล้ายคลึงกับ P-450 ที่ต้องการในเรื่องของขนาดและการเข้าถึงกัน (accessibility) ของเอนไซม์กับซับสเตรต หรือการใช้ P-450 ที่ยังมิได้หาคุณสมบัติทางโครงสร้างแต่มีคุณสมบัติในการจับกับซับสเตรตที่คล้ายคลึงกันก็ทำให้การทำนายตำแหน่งการจับกับซับสเตรตของ P-450 ที่ยังไม่ทราบโครงสร้างนั้นเป็นไปได้

## หน้าที่

โดยปกติไซโทโครม P-450 มีหน้าที่หลักเกี่ยวข้องกับการขจัดพิษ (detoxification) ในสิ่งมีชีวิต (Guengerich, 1991) เช่น ในร่างกายของมนุษย์ ถ้าปราศจากเอนไซม์เหล่านี้ร่างกายก็จะเต็มไปด้วยสารมลพิษ (pollutants) ต่างๆจากสิ่งแวดล้อม สารมลพิษดังกล่าวส่วนใหญ่ได้แก่ benzo [*a*] pyrene ซึ่งพบในควันบุหรี่และเนื้อย่าง polychlorinated biphenyls (PCBs) ซึ่งถูกใช้ในการทำวัสดุฉนวน (insulating materials) และ dioxin (2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin หรือ TCDD) ซึ่งเป็นผลพลอยได้ (by-product) จากการเผาไหม้ (combustion) ทั่วไป นอกจากนี้สารพิษชนิดอื่นๆที่สามารถถูกเมแทบอไลซ์ (metabolized) โดยไซโทโครม P-450 ได้แก่ ยาชนิดต่างๆ รวมทั้งยาปฏิชีวนะ (antibiotics) สารต่อต้านตัวออกซิไดซ์ (antioxidiants) ยาชาหรือยาสลบ (anesthetics) สี (dyes) และสารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ (pesticides) เป็นต้น ตัวอย่างในการกำจัดสารแปลกปลอมออกจากร่างกายของ P-450 เช่น การเมแทบอลิซึมของยา การตอบสนองของแต่ละคนต่อยาชนิดใดชนิดหนึ่งนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของเอนไซม์ P-450 ที่จำเพาะต่อยานั้นๆว่ามีอยู่ในร่างกายของคนๆนั้นมากน้อยเพียงใด ในบางคนอาจจะขาดเอนไซม์ P-450 จำเพาะดังกล่าวทำให้คนเหล่านั้นไม่สามารถกำจัดสารดังกล่าวออกจากร่างกายได้และสะสมมันไว้อย่างต่อเนื่องจนส่งผลให้เกิดความรุนแรงขึ้น ตัวอย่างของ P-450 ที่มีหน้าที่ดังกล่าว เช่น ไซโทโครม P-450 2D6 (Guengerich, 1992) เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดยา debrisoquine ซึ่งเป็นยาลดความดันโลหิตให้ออกจากร่างกาย ขณะนี้เป็นที่ทราบกันแล้วว่าประมาณร้อยละ 7 ของประชากรเผ่าคอร์เคเชียน (Caucasian) ขาดเอนไซม์นี้ทางพันธุกรรม ดังนั้นคนเหล่านี้จะได้รับผลกระทบข้างเคียงอย่างมาก เพราะไม่สามารถเมแทบอไลซ์ยา debrisoquine ได้อย่างพอเพียง

ปฏิกิริยาของ P-450 มีความสำคัญเป็นอย่างมากในการจัดการกับสารก่อมะเร็ง (carcinogen)(Guengerich, 1988) การมีหรือการขาดเอนไซม์ P-450 อาจมีผลต่อการเกิดเนื้องอก (tumor) ได้ ในบางกรณีสารก่อมะเร็งไม่ทำให้เกิดการทำลายถ้าไม่มีเอนไซม์ P-450 ที่จำเพาะกับสารก่อมะเร็งอยู่ ในกรณีนี้เอนไซม์จะเปลี่ยนแปลงสารก่อมะเร็ง

ให้กลายเป็นพวกอิเล็กโตรไฟล์ (electrophile) ซึ่งมีคุณสมบัติออกฤทธิ์ได้ทางเคมี และทำให้มันสามารถสร้างพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) กับดีเอ็นเอ (DNA) แล้วทำให้เกิดการกลายพันธุ์ขึ้น P-450 ดังกล่าวเช่น P-450 1A2 ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อสารก่อมะเร็งที่พบในอาหารที่ไหม้เกรียมและจากควันบุหรี่ การเผาไหม้สารอินทรีย์เหล่านี้จะเปลี่ยนกรดอะมิโนและคาร์โบไฮเดรทให้เป็นสารพวก heterocyclic amine ซึ่งไม่ได้เป็นสารก่อมะเร็งจนกว่ามันจะถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ P-450 ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นสารก่อมะเร็งได้

นอกจากนี้ไซโทโครม P-450 ยังมีบทบาทสำคัญในเมแทบอลิซึมของสารที่สร้างขึ้นเองภายในสิ่งมีชีวิต (endogenous substances) (Guengerich, 1991) หน้าที่ที่สำคัญมากที่สุดอันหนึ่งคือการเกิด hydroxylation ของสเตรอยด์ (steroid) กรดน้ำดี (bile acid) และวิตามิน (vitamin) ความบกพร่องที่เกิดเนื่องจากการขาดเอนไซม์นี้มีความสำคัญต่อการเกิดโรคทางพันธุกรรม ตัวอย่างเช่น เด็กทารกหนึ่งในพันรายจะพบว่ามีการขาดเอนไซม์ไซโทโครม P-450 21B เอนไซม์นี้จะเติมหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) แก่คาร์บอนตำแหน่งที่ 21 ของสารประกอบสเตรอยด์ เช่น เพรคนีโนโลน (pregnenolone) และโพรเจสเทอโรน (progesterone) การขาดเอนไซม์นี้ทำให้เกิดอาการ “salt-wasting syndrome” ที่ทำให้ถึงตายได้ (New and Speiser, 1986)

ไซโทโครม P-450 สามารถเปลี่ยนแปลงสารแอลคาลอยด์ (alkaloid) ที่สร้างขึ้นได้เองในสิ่งมีชีวิต ขณะนี้เป็นที่ทราบกันแล้วว่าสารแอลคาลอยด์ 2 ชนิดอันได้แก่ โคเดอีน (codeine) และมอร์ฟีน (morphine) ที่ถูกสร้างขึ้นในสมองและเนื้อเยื่ออื่นๆเป็นผลมาจากเอนไซม์ไซโทโครม P-450 ที่ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งในกระบวนการสังเคราะห์สารเหล่านี้ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงโคเดอีนไปเป็นมอร์ฟีนด้วย (Vree and Verwey-van Wissen, 1992)

กลุ่มสารที่สำคัญอีกกลุ่มหนึ่งคือไอโคซานอยด์ (eicosanoid) ที่ประกอบด้วยคาร์บอน 20 ตัวจะถูกสังเคราะห์จากกรดอะแรคิโดนิก (arachidonic acid) โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์ไซโทโครม P-450 (Capdevila *et al*., 2000) สารในกลุ่มนี้ประกอบด้วยโมเลกุลส่งสัญญาณ (signaling molecule) ที่สำคัญอาทิเช่น พรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) ทรอมบอกเซน (thromboxane) และลิวโคไตรอีน (leukotriene) เป็นต้น อนุพันธ์ของพลอสตาแกลนดิน 2 ชนิด ได้แก่ ทรอมบอกเซน และพลอสตาไซคลิน (prostacyclin) นั้นน่าสนใจเป็นพิเศษเพราะสารเหล่านี้ไม่ถูกสังเคราะห์โดยปฏิกิริยา mixed-function oxidation ปกติ ปฏิกิริยาดังกล่าวไม่ต้องการอิเล็กตรอนหรือโมเลกุลออกซิเจนแต่เป็นการจัดเรียงตัวภายในของสารต้นตอของพรอสตาแกลนดิน ยังมีสารไอโคซานอยด์ที่สำคัญอื่นๆที่ถูกสังเคราะห์ได้โดยเอนไซม์ P-450 สารกลุ่มนั้นเรียกว่าอีพอคซีไอโคซาไตรอีน (epoxyeicosatriene) สารนี้มีผลกระทบต่อหน้าที่ของไต (Carroll and McGiff, 1997) โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการขนย้ายของไอออนโซเดียม/โปตัสเซียมและการดูดซึมของน้ำ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการบีบตัวของเส้นเลือด (vasoconstriction) ด้วยเหตุนี้ อีพอคซีไอโคซาไตรอีนอาจจะเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดความดันโลหิตสูง (hypertension)

เอนไซม์ไซโทโครม P-450 บางชนิดยังมีความจำเพาะต่อการสร้างก๊าซไนตริกออกไซด์ (NO) (Ortiz de Montellano *et al*., 1998) ก๊าซนี้มีบทบาทสำคัญทางชีววิทยาหลายอย่าง โดยทำหน้าที่เหมือนสารนำสัญญาณประสาท (neurotransmitter) สารควบคุมความดันโลหิต (mediator of blood pressure) และสารพิษ (toxin) ในสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำโดยเฉพาะแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิดมี เอนไซม์ไซโทโครม P-450 ที่มีบทบาทสำคัญในวิถีการสังเคราะห์ยาปฏิชีวนะและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพประเภทต่างๆดังเช่น *Saccharopolyspora erythraea* เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์ที่มีเอนไซม์ P-450$_{eryF}$ และ P-450$_{eryK}$ ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์ยาปฏิชีวนะ erythromycin (Andersen and Hutchinson, 1992; Lambalot *et al*., 1995) *Streptomyces venezuelae* เป็น

แบคทีเรียอีกประเภทหนึ่งที่มีเอนไซม์ PicK ซึ่งเป็น P-450 ที่มีบทบาทร่วมในการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะชนิดใหม่ที่เรียกว่า picromycin (Belach *et al*., 1998) เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีพืชหลายชนิดที่ผลิตสารซึ่งเป็นพิษอย่างมากต่อแมลง ซึ่งนับเป็นกลไกการป้องกันตัวของพืชอย่างหนึ่ง พืชเหล่านี้คือพืชในสปีชีส์ *Apiaceae* (พืชจำพวก carrot และ parsley) และ *Rutaceae* (พืชจำพวก citrus และ aromatic tree อื่นๆ) จะสร้างสารแซนโตทอกซิน (xanthotoxin) อันเป็นสารที่มีพิษต่อแมลงส่วนใหญ่ที่กินพืชเหล่านี้เป็นอาหาร อย่างไรก็ตามมีแมลงจำพวก black swallowtail butterfly (*Papilio polyxenes*) สามารถกินพืชดังกล่าวเป็นอาหารได้ หลังจากที่ตัวหนอน (larvae) ของแมลงดังกล่าวกินใบของพืชเหล่านี้ ภายในทางเดินอาหารส่วนกลาง (midgut) ของตัวหนอนจะผลิตเอนไซม์ไซโทโครม P-450 6B1 (Cohen *et al*., 1989) เอนไซม์นี้เร่งการทำลายสารแซนโตทอกซินเพื่อที่จะกำจัดมันออกจากระบบ นั่นคือสารแซนโตทอกซินกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ไซโทโครม P-450 6B1 ในตัวหนอนเพื่อกลับมาทำลายตัวมันเอง แมลงในสปีชีส์อื่นไม่สามารถผลิตเอนไซม์นี้จึงไม่สามารถกินพืชเหล่านี้เป็นอาหารได้

## บทสรุป

ในธรรมชาติเอนไซม์ไซโทโครม P-450 มีบทบาทและหน้าที่หลายประการ เอนไซม์นี้สามารถผลิตสารที่มีความสำคัญทางชีวภาพและทำให้มนุษย์สามารถกำจัดสารพิษออกจากร่างกายได้ ความเข้าใจเอนไซม์เหล่านี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาเมแทบอลิซึมของยา สารก่อมะเร็ง ยาฆ่าแมลง สเตรอยด์ สารพิษ และวิตามิน เป็นต้น

ในปัจจุบันโดยการใช้เทคโนโลยีการสร้างดีเอ็นเอลูกผสม (recombinant DNA technology) ทำให้สามารถผลิตเอนไซม์ไซโทโครม P-450 เพื่อใช้ในงานด้านต่างๆอาทิเช่น เราสามารถผลิตเอนไซม์ไซโทโครม P-450 ของมนุษย์ในแบคทีเรียหรือเซลล์อื่นๆ เพื่อดูว่าเอนไซม์จะสามารถเปลี่ยนแปลงยาตัวใหม่ไปเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ (mutagen) ได้หรือไม่และ P-450 ของสิ่งมีชีวิตบางชนิดยังสามารถผลิตสารที่สามารถนำไปสู่การเป็นยารักษาโรคได้

นอกจากนี้เรายังสามารถพัฒนาไซโทโครม P-450 โดยวิธีทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) และวิศวกรรมโปรตีน (protein engineering) เพื่อให้ได้เอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการกำจัดสารพิษที่ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมตามที่กำหนดได้ เอนไซม์ P-450 ยังสามารถถูกออกแบบเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงหรือการออกแบบตัวยับยั้งของ P-450 เพื่อใช้เป็นยาฆ่าแมลง ยิ่งไปกว่านั้นเอนไซม์ P-450 ยังสามารถนำไปใช้ในการผลิตสารเคมีที่มีหมู่ ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) บางตัว ซึ่งยากแก่การสังเคราะห์ทางอินทรีย์เคมี ดังนั้นในขณะนี้ได้มีการนำเอาเอนไซม์ P-450 ไปประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ กันอย่างกว้างขวาง

## เอกสารอ้างอิง

Andersen JF. and Hutchinson CR. 1992. Characterization of *Saccharopolyspora erythraea* cytochrome P-450 genes and enzymes, including 6-deoxyerythronolide B hydroxylase. J Bacteriol 174 : 725 -735.

Bettach MC., Kealey JT., Ashley GW. and McDaniel R. 1998. Characterization of macrolide P-450 hydroxylase from *Streptomyces venezuelae* which converts narbomycin to picromycin. Biochemistry 37 : 14937-14942.

Black SD. and Coon MJ. 1987. Cytochrome P-450: Structure and function. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol 60 : 35-87.

Capdevila JH., Falck JR. and Harris RC. 2000. Cytochrome P450 and arachidonic acid bioactivation: Molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase. J Lipid Res 41 : 163-181.

Carroll MA. and McGiff JC. 1997. Renal cytochrome P450-dependent eicosanoids. Adv Exp Med Biol 407 : 255-260.

Cohen MR., Berenbaum MR. and Schuler MA. 1989. Induction of cytochrome P450-mediated detoxification in the black swallowtail. J Chem Ecol 15 : 2347-2355.

Conrad HE., DuBus R., Namtved MJ. and Gunsalus IC. 1965 a. Mixed function oxidation: II. Separation and properties of the enzymes catalyzing camphor lactonization. J Biol Chem 240 : 495-503.

Conrad HE., Lieb K. and Gunsalus IC. 1965 b. Mixed function oxidation: III. An electron transport complex in camphor ketolactonization. J Biol Chem 240 : 4029-4037.

Cupp-Vickery JR. and Poulos TL. 1995. Structure of cytochrome P450eryF involved in erythromycin biosynthesis. Structural Biology 2 : 144-153.

Estabrook RW. and Werringloer J. 1977. Active oxygen-fact or fancy. In microsomes and drug oxidations. Pergamon, New York. pp. 748-757,

Fulco AJ. 1991. $P450_{BM-3}$ and other inducible bacterial P450 cytochromes: Biochemistry and regulation. Annu Rev Pharmacol Toxicol 31 : 177-203.

Garfinkle D. 1958. Studies on pig liver microsomes. I. Enzyme and pigment composition of different microsomal fractions. Arch Biochem Biophys 77 : 493-509.

Guengerich FP. 1988. Roles of cytochrome P-450 enzymes in chemical carcinogenesis and cancer chemotherapy. Cancer Research 48 : 2946-2954.

Guengerich FP. 1991. Reactions and significance of cytochrome P-450 enzymes. J Biol Chem 266 : 10019-10022.

Guengerich FP. 1992. Metabolic activation of carcinogens. Pharmacology and Therapeutics 54 : 17-61.

Guengerich FP. 1992. Minireview: Human cytochrome P-450 enzymes. Life Sciences 50 : 1471-1478.

Hasemann CA., Ravichandran KG., Peterson JA. and Deisenhofer J. 1994. Crystal structure and refinement of cytochrome $P450_{terp}$ at 2.3 $A^{\circ}$ resolution J Mol Biol 236 : 1169-1185.

Klingenberg M. 1958. Pigments of Rat Liver Microsomes. Arch Biochem Biophys 75 : 376-386.

Lambalot RH., Cane DE., Aparic JJ. and Katz L. 1995. Overproduction and characterization of the erythromycin C-12 hydroxylase, Ery K. Biochemistry 34 : 1858-1866.

Lu A. and Coon MJ. 1968. Role of hemoprotein P-450 in fatty acid ω-hydroxylation in a soluble enzyme system from liver. J Biol Chem 243 : 1331-1332.

Nelson DR., Kamataki T., Waxman DJ., Guengerich FP., Estabrook RW., Feyereisen R., et al. 1993. The P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. DNA Cell Biol 12 : 1–15.

New MI. and Speiser PW. 1986. Genetics of adrenal steroid 21-hydroxylase deficiency. Endocr Rev 7 : 331-349.

Omura T. and Sato R. 1962. A new cytochrome in liver microsomes. J Biol Chem 237 : 1375-1376.

Ortiz de Montellano PR., Nishida C., Rodriguez-Crespo I. and Gerber N. 1998. Nitric oxide synthase: Structure and electron transfer. Drug Metab Dispos 26 : 1185-1189.

Porter TD. and Coon MJ. 1991. Cytochrome P-450: Multiplicity of isoforms, substrates, and catalytic and regulatory mechanisms. J Biol Chem 266 : 13469-13472.

Poulos Tl., Finzel BC. and Howard AJ. 1987. High-resolution crystal structure of cytochrome $P450_{cam}$. J Mol Biol 195 : 687 - 700.

Poulos TL. and Raag R. 1992. Cytochrome $P450_{cam}$: Crystallography, oxygen activation, and electron transfer. FASEB J 6 : 674 - 679.

Ravichandran KG., Boddupalli SS., Hasemann CA., Peterson JA. and Deisenhofer J. 1993. Crystal structure of hemoprotein domain of $P450_{BM-3}$, a prototype for microsomal P450's. Science 261 : 731 - 736.

Vree TB. and Verwey-van Wissen CP. 1992. Pharmacokinetics and metabolism of codeine in humans. Biopharm Drug Dispos 13 : 445 - 460.

Yano JK., Koo LS., Schuller DJ., Li H., Ortiz de Montellano PR. and Poulos TL. 2000. Crystal structure of a thermophilic cytochrome P450 from the archaeon *Sulfolobus solfataricus*. J Biol Chem 275 : 31086 - 31092.