

Abstract

Project Code : RSA/4/2543

Project Title : Nitrate transport of the halophilic cyanobacterium, *Aphanothece halophytica* grown under normal and salt stress conditions

Investigator : Aran Incharoensakdi

Department of Biochemistry

Faculty of Science

Chulalongkorn University

E-mail : iaran @ sc.chula.ac.th

Project Period : March 2000 – February 2003

The transport of nitrate by *Aphanothece halophytica* grown under normal and salt-stress conditions was investigated. Nitrate transport was monitored by measuring nitrate remaining in the assay medium using an anion-exchange high performance liquid chromatography. Kinetic studies revealed that the affinities of nitrate to normal and salt-stress cells were not significantly different, $K_s = 416$ and $450 \mu\text{M}$ respectively. However, the maximum velocity of nitrate uptake for normal cells was about 2 fold of that for salt-stress cells. Both cells required the presence of Na^+ for the uptake of nitrate. Ammonium inhibited nitrate uptake whereas the presence of methionine sulfoximine was unable to release the inhibition by ammonium. Nitrite was found to competitively inhibit nitrate uptake with a K_i value of $84 \mu\text{M}$. Both chloride and phosphate anions had no effect on nitrate uptake. DL-glyceraldehyde, an inhibitor of CO_2 fixation, reduced nitrate uptake. Monensin inhibited nitrate uptake in concentration-dependent manner suggesting an involvement of a Na^+ -electrochemical gradient. Amiloride, an inhibitor of Na^+/H^+ antiporter, reduced nitrate uptake. Carbonylcyanide-*m*-chlorophenylhydrazone (CCCP) and N, N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCCD) each severely inhibited nitrate uptake suggesting that a pH gradient generated by H^+/ATPase played a role in the transport of nitrate. Exogenously added glucose or lactate led to an increase of nitrate uptake rendering a further support for the involvement of ATP and electrochemical potential for the transport of nitrate into *A. halophytica*.

Key Words : Nitrate transport, Cyanobacteria, Salt stress

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : RSA/4/2543

ชื่อโครงการ : การขนส่งในเตรตของไฮยาโนแบคทีเรียชนิดชอบความเค็ม, *อะฟาโนทีคิ ฮาโลฟิ*
ทิกา ที่เจริญภายใต้สภาวะปกติและสภาวะความเครียดของเกลือ

ชื่อนักวิจัย : อรัญ อินเจริญศักดิ์

ภาควิชาชีวเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail : iaran@sc.chula.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : มีนาคม 2543 - กุมภาพันธ์ 2546

ได้ทำการศึกษาการขนส่งในเตรตเข้าสู่เซลล์ของไฮยาโนแบคทีเรียชนิดชอบความเค็ม, *อะฟาโนทีคิ ฮาโลฟิทิกา* ซึ่งเจริญภายใต้สภาวะปกติและสภาวะความเครียดของเกลือ โดยทำการตรวจวัดปริมาณในเตรตที่เหลือนในสารละลายด้วยวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี พบว่า เซลล์ที่เจริญภายใต้ 2 สภาวะดังกล่าวจับตัวกับในเตรต โดยมีค่า K_s ที่ไม่แตกต่างกันนัก กล่าวคือมีค่า 416 และ 450 ไมโครโมลาร์ตามลำดับ สำหรับเซลล์ที่เจริญภายใต้สภาวะปกติและสภาวะความเครียดของเกลือ อย่างไรก็ตามพบว่าความเร็วสูงสุดของการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์ที่เจริญภายใต้สภาวะปกติมีค่าประมาณ 2 เท่าของเซลล์ที่เจริญภายใต้สภาวะความเครียดของเกลือ การนำในเตรตเข้าสู่เซลล์ต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของ Na^+ ด้วย ทางด้านการศึกษาผลของออสโมตอลต่าง ๆ พบว่าแอมโมเนียมยับยั้งการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์ โดยที่การยับยั้งนี้ยังคงมีอยู่ถึงแม้ว่าจะเติมสารเมไธโอนีนซัลฟอกซิมีนลงไปก็ตาม สำหรับไนไตรต์นั้นพบว่าสามารถยับยั้งการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์แบบแข่งขันโดยมีค่า K_i 84 ไมโครโมลาร์ ในขณะที่คลอไรด์และฟอสเฟตไม่มีผลต่อการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์ กลีเซอรอลดีฮัยดริคซึ่งเป็นสารยับยั้งกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์สามารถลดอัตราการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์ ในด้านการศึกษาแหล่งพลังงานของการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์นั้น ทั้งโมเนนซินและอะมิโลไรด์ ซึ่งยับยั้งกระบวนการก่อให้เกิด Na^+ และ H^+ เกรเดียนต์ตามลำดับ สามารถลดอัตราการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์ ในทำนองเดียวกันคาร์บอนิลไฮยาโนด์คลอโรฟิเนลไฮดราโซน (ซีซีซีพี) ซึ่งเป็นสารที่ทำลายแรงผลักดันเนื่องจากโปรตอน สามารถยับยั้งการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์ ในส่วนของไตรโคเลเฮกซิลคาร์โบไดอิมิด (ดีซีซีดี) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการย่อยสลายเอทีพีก็สามารถยับยั้งการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์ นอกจากนั้นยังพบอีกว่าการเติมแหล่งพลังงานจากภายนอกในรูปของกลูโคสหรือแลคเตทสามารถเพิ่มอัตราการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์ได้ จากข้อมูลทั้งหมดข้างต้นสามารถบ่งชี้ว่าแหล่งพลังงานในรูปของเอทีพีหรือในรูปของความต่างศักย์ของเคมีไฟฟ้ามีบทบาทต่อการนำในเตรตเข้าสู่เซลล์ *อะฟาโนทีคิ ฮาโลฟิทิกา*

คำหลัก : การขนส่งในเตรต, ไฮยาโนแบคทีเรีย, ความเครียดของเกลือ