หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผล

การที่เอนไซม์กลูโคส์ไอโซเมอเรส์จากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ที่ส์ร้างและเก็บอยู่ภายในเซล (intracellular enzyme) ฉะนั้นการศึกษาเอนไซม์ทางด้านชีวเคมีและจลน-ศาส์ตร์ จึงต้องอาศัยการส์กัดแยกเอนไซม์ออกจากเซลด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น ทางกลหรือการใช้ส์ารเคมี สำหรับกลูโคส์ไอโซเมอเรส์จากส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 นั้นได้ทดลองทำการส์กัดแยกด้วยวิธีการบ่มเซลในส์ารเคมีชนิดต่าง ๆ ได้แก่ 1.0 เปอร์เซ็นต์ทอลูอีน, 0.1 เปอร์เซ็นต์ทวีน-80 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์เซทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ เปรียบเทียบกับการส์กัดแยกโดยวิธีกลด้วยการบดเซลกับผงอะลูมินาละเอียด พบว่าการส์กัดแยกกลูโคส์ไอโซเมอเรส์จากส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 โดยบ่มเซลในส์ารละลายบัฟเฟอร์ที่มี 0.1 เปอร์เซ็นต์เซทิล-ไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ เป็นวิธีการที่เหมาะส์ม เนื่องจากให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดซึ่งส์อดคล้องกับรายงานของ Chen และคณะ (35) ในการส์กัดแยกเอนไซม์นี้โดยใช้ส์ารจำพวก**แคทไอออนิคดีเทอร์เจนต์** นอกจากนี้การส์กัดแยกด้วยส์ารเคมีนี้ยังเป็นวิธีการที่ง่ายและส์ะดวกกว่าวิธีกลซึ่งสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูง และไม่เหมาะส์มที่จะใช้ในระดับอุตส์าหกรรม จากรายงานของ Takasaki และคณะ (36) ในการใช้ความร้อนร่วมกับส์ารจำพวกแคทไอออนิคดีเทอร์เจนต์เพื่อส์กัดแยกกลูโคส์ไอโซเมอเรส์จากเซลของส์เตรพโตมัยซีส์ซึ่งให้ผลดี จึงได้ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะส์มซึ่งจะใช้ในการส์กัดแยกเอนไซม์นี้จากเซลของส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 ผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส์ เอนไซม์จะถูกส์กัดแยกจากเซลได้สูงสุด ส่วนอุณหภูมิที่สูงขึ้นไป (50 องศาเซลเซียส์) ปริมาณเอนไซม์ที่ถูกส์กัดแยกจะลดลงเนื่องจากเอนไซม์บางส่วนจะถูกตรึงไว้ที่ผนังเซลได้ (Heat fixed enzyme)

นอกจากนี้เวลาที่ใช้ในการส์กัดแยกเอนไซม์จากเซลก็มีส่วนสำคัญ จากการศึกษาพบว่าที่ 24 ชั่วโมงเป็นเวลาที่เหมาะส์มในการส์กัดแยกกลูโคส์ไอโซเมอเรส์จากส์เตรพโตมัยซีส์ 190-1 เนื่องจากให้ปริมาณเอนไซม์สูงสุด

ส่วนปริมาณเซลที่ใช้ในการส์กัดแยกเอนไซม์นั้น พบว่าในส์ารแขวนลอยของเซลเข้มข้น

50 เปอร์เซนต์ ให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด แต่ไม่เหมาะสมในทางปฏิบัติเนื่องจากสารแขวนลอยของเซลมีลักษณะข้นมาก ซึ่งอาจทำให้สูญเสียปริมาณเอนไซม์ในระหว่างขั้นตอนการเตรียม ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณเซลต่ำลงมาคือเข้มข้น 40 เปอร์เซนต์ในการสกัดแยกเอนไซม์ ซึ่งก็ให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะใกล้เคียงกัน การทำให้กลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 บริสุทธิ์ขึ้นนั้น เริ่มต้นได้ศึกษาถึงการตกตะกอนเอนไซม์ที่สกัดแยกออกจากเซลด้วยผงแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อแยกเฉพาะโปรตีนในลำดับส่วนที่เป็นเอนไซม์ออกมา และพบว่าที่ลำดับส่วน 30-80 เปอร์เซนต์เป็นลำดับส่วนที่โปรตีนส่วนใหญ่มีแอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรส เนื่องจากให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด และขั้นตอนนี้ทำให้เอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นถึง 4.02 เท่า โดยมีปริมาณเอนไซม์เหลือถึง 83 เปอร์เซนต์

ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ตกตะกอนโปรตีนที่มีแอคติวิตีของกลูโคส-ไอโซเมอเรสจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ จะต่างกัน เช่น กลูโคสไอโซเมอเรสจาก S. flavogriseus (40) ซึ่งตกตะกอนที่แอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 70-90 เปอร์เซนต์ และเอนไซม์จาก S. phaeochromogenes (29) จะตกตะกอนที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 30 ถึง 50 เปอร์เซนต์ เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ได้จากจุลินทรีย์ต่างชนิดกันมีค่าต่างกันมากตั้งแต่ 52,000-197,000 ดาลตัน

จากการนำกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 มาทำโครมาโตกราฟฟีบนดีอีเออี-เซลลูโลส และชะล้างคอลัมน์ด้วยเกรเดียนท์เส้นตรงของเกลือโปแตสเซียม-คลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0 ถึง 400 มิลลิโมลาร์ใน 0.05 โมลาร์โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.0) พบว่าโปรตีนที่มีแอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรสมี 2 ยอดซึ่งเรียกชื่อว่า ลำดับส่วน A และลำดับส่วน B ลำดับส่วน A เป็นลำดับส่วนที่มีแอคติวิตีของเอนไซม์ส่วนใหญ่ และออกมาที่ความเข้มข้นของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ที่ระหว่าง 150-200 มิลลิโมลาร์ ส่วนลำดับส่วน B ซึ่งมีแอคติวิตีของเอนไซม์น้อยกว่า และออกมาที่ความเข้มข้นของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ระหว่าง 230-250 มิลลิโมลาร์ แสดงว่าลำดับส่วน B น่าจะมีประจุลบมากกว่าลำดับส่วน A จึงยึดกับดีอีเออี-เซลลูโลสได้แน่น และต้องใช้เกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นสูงกว่าจึงจะชะลำดับส่วน B ออกจากคอลัมน์ได้

เมื่อนำเอนไซม์มาทำให้บริสุทธิ์ต่อไป โดยการนำลำดับส่วน A ซึ่งมีปริมาณโปรตีนสูงมาทำโครมาโตกราฟฟีบนดีอีเออี-เซฟาเด็กซ์ เอ-50 โดยชะล้างคอลัมน์ด้วยเกรเดียนท์เส้นตรงของ

เกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.1 ถึง 0.8 โมลาร์ ใน 0.05 โมลาร์โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.0) พบว่าโปรตีนที่มีแอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรสออกมาเพียงยอดเดียวที่ความเข้มข้นของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ระหว่าง 560 ถึง 610 มิลลิโมลาร์ ซึ่งให้ชื่อว่าลำดับส่วน Aa โดยลำดับส่วนนี้มีปริมาณโปรตีน 36.32 เปอร์เซ็นต์ และมีแอคติวิตีจำเพาะสูงขึ้น 24.57 เท่า

หลังจากที่นำลำดับส่วน Aa มาทำโครมาโตกราฟฟีบนเซฟาเด็กซ์ จี-200 และชะล้างคอลัมน์ด้วย 0.05 โมลาร์โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.0) ที่มี 0.1 โมลาร์โปแตสเซียม-คลอไรด์ พบว่ายอดของโปรตีนที่มีแอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรสมีลักษณะเป็นไหล่ จึงแยกเก็บเป็น 3 ส่วนได้แก่ Aa_1, Aa_2 และ Aa_3 โดยในลำดับส่วนของ Aa_1 เป็นส่วนยอดของแอคติวิตี, Aa_3 คือไหล่ของแอคติวิตี และ Aa_2 คือส่วนผสมของ Aa_1 และ Aa_2 แสดงว่า Aa_1 ควรเป็นลำดับส่วนที่มีความบริสุทธิ์สูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับค่าแอคติวิตีจำเพาะของลำดับส่วนทั้ง 3 ที่เพิ่มขึ้นเป็น 41.34, 38.29 และ 36.76 เท่าตามลำดับ

สำหรับลำดับส่วน B ซึ่งมีปริมาณโปรตีนน้อย จึงมิได้นำมาทำโครมาโตกราฟฟีบนดีอีเออี-เซฟาเด็กซ์ เอ-50 แต่นำมาทำโครมาโตกราฟฟีบนเซฟาเด็กซ์ จี-200 เลยนั้น พบว่าแอคติวิตีของเอนไซม์ปรากฏเป็น 3 ยอด ดังนั้นจึงแยกเก็บเป็น 3 ส่วนคือ B_1, B_2 และ B_3 โดยลำดับส่วนทั้ง 3 มีแอคติวิตีสูงกว่าสารสกัดเริ่มต้นของเอนไซม์เป็น 41.67, 36.88 และ 35.37 เท่าตามลำดับ และจากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลโดยเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐานเมื่อกรองผ่านเซฟาเด็กซ์ จี-200 พบว่าลำดับส่วน Aa_1, Aa_2, Aa_3 มีน้ำหนักโมเลกุลดังนี้ 185,000, 120,000, 80,000 ดาลตัน ตามลำดับ และลำดับส่วน B_1, B_2 และ B_3 มีน้ำหนักโมเลกุลดังนี้ 185,000, 80,000 และ 45,000 ดาลตัน ตามลำดับ

เมื่อนำเอนไซม์ทุกลำดับส่วน (Aa_1, Aa_2, Aa_3 และ B_1, B_2, B_3) มาทดสอบความบริสุทธิ์ โดยทำอิเลคโตรโฟรีซีสบนโพลีอะไครลาไมด์เจล พบว่าเอนไซม์ทุก ๆ ลำดับส่วนให้แถบโปรตีนสีเข้มชัด 2 แถบ ซึ่งทั้ง 2 แถบนี้มีแอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรส นอกจากนี้เมื่อนำทุกลำดับส่วนของเอนไซม์มาแยกให้เป็นหน่วยย่อยโดยการทำอิเลคโตรโฟรีซีสบนโซเดียมโดเดซิล-ซัลเฟต-โพลีอะไครลาไมด์เจล ได้แถบโปรตีนที่ติดสีเข้มชัดเพียงแถบเดียว แสดงว่าเอนไซม์ที่เตรียมได้นี้ค่อนข้างบริสุทธิ์ และจากการที่แถบโปรตีนนี้อยู่ในตำแหน่งเดียวกันทั้งหมด แสดงว่าเอนไซม์ทุกลำดับส่วนนี้ควรจะเป็นเอนไซม์ตัวเดียวกันที่มีหน่วยย่อยเหมือนกัน (identical subunit) จากการเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล พบว่าหน่วยย่อยนี้มีน้ำหนักโมเลกุล

46,000 ดาลตัน จากการที่น้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ในลำดับส่วน Aa_1 และ B_1 เท่ากันคือ 185,000 ดาลตัน แสดงว่าเอนไซม์นี้น่าจะประกอบด้วย 4 หน่วยย่อย ซึ่งคุณสมบัตินี้คล้ายคลึงกับกลูโคส์ไอโซเมอเรส์จากจุลินทรีย์อื่น ๆ เช่น เอนไซม์จาก S. griseofuscus, S-41 (63-64) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 180,000 ดาลตัน และมี 4 หน่วยย่อย และเอนไซม์จาก S. albus (49) มีน้ำหนักโมเลกุล 187,000 ดาลตัน และมี 4 หน่วยย่อย เป็นต้น

จากผลการทดลองดังกล่าวอาจสรุปได้ว่า ลำดับส่วน Aa_1 และ B_1 น่าจะเป็นเอนไซม์ตัวเดียวกัน ซึ่งมีองค์ประกอบเหมือนกัน แต่ในระหว่างขั้นตอนการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์เมื่อทำโครมาโตกราฟฟีบนดีอีเออี-เซลลูโลส์นั้น เอนไซม์ในลำดับส่วน A อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเอนไซม์โดยที่มีการพับงอของสายโพลีเปปไทด์ซึ่งอาจเป็นผลให้เอนไซม์ในลำดับส่วนนี้มีการแสดงประจุรวมน้อยกว่าเอนไซม์ในลำดับส่วน B ดังนั้นเอนไซม์ในลำดับส่วน A จึงเกาะกับดีอีเออี-เซลลูโลส์ด้วยแรงระหว่างประจุต่ำกว่า จึงถูกชะออกจากคอลัมน์ด้วยเกลือโปแตส์เซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าลำดับส่วน

ส่วนลำดับส่วนอื่น ๆ (Aa_2, Aa_3, B_2 และ B_3) อาจเกิดจากการสูญเสียหน่วยย่อยบางหน่วยไปในระหว่างขั้นตอนการเตรียมเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ อันอาจเนื่องมาจากการยึดเกาะของหน่วยย่อยนั้น ๆ เป็นไปอย่างหลวม ๆ สำหรับลำดับส่วน B_3 มีน้ำหนักโมเลกุล 45,000 ดาลตัน (จากโครมาโตกราฟฟีบนเซฟาเด็กซ์ จี-200) ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำหนักโมเลกุลของหน่วยย่อย อย่างไรก็ตาม มีรายงานของ Kasumi และคณะ (64) ซึ่งนำเอนไซม์มาแยกเป็นหน่วยย่อยโดยทำการบ่มในสารละลายของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ยังคงมีแอคติวิตีเหลืออยู่มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของเอนไซม์เริ่มต้น แสดงว่าเอนไซม์ในรูปหน่วยย่อยยังคงรักษาความเป็นคะตะลิส์ต์ไว้ได้

นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงกลูโคส์ไอโซเมอเรส์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลค่อนข้างต่ำ เช่น เอนไซม์จาก S. bikiniensis (48) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเพียง 52,000 ดาลตัน แต่การศึกษานี้ยังไม่ได้ทดสอบแอคติวิตีของหน่วยย่อยของกลูโคส์ไอโซเมอเรส์จากส์เตรพโตมัยซีส์ สายพันธุ์ 190-1

อย่างไรก็ตามก็ยังไม่สามารถหลีกเลี่ยงความเป็นไปได้ที่ว่า เอนไซม์ลำดับส่วนต่าง ๆ เหล่านี้อาจเป็นไอโซเอนไซม์

สำหรับการศึกษาคุณสมบัติของกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 พบว่าเอนไซม์จะทำงานได้ดีที่อุณหภูมิในช่วง 75 ถึง 80 องศาเซลเซียส ที่ pH 7.0 ในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และ pH 9.0 ในทริสบัฟเฟอร์ โดยที่ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์เป็น 150 มิลลิโมลาร์ ส่วนความเข้มข้นของแมกนีเซียมและโคบอลท์ที่จำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์มีค่าเป็น 5 และ 0.05 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ที่มิได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ (69) พบว่าใกล้เคียงกันมาก

การที่กลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 มีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานค่อนข้างสูงนี้ เป็นคุณสมบัติที่คล้ายคลึงกับสเตรพโตมัยซีสอื่น ๆ เช่น S. flavogriseus (40), S. albus, YT-5 (36) และ S. olivochromogenes (16) ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมเป็น 70, 80 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

กลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 ทำงานได้ดีทั้งที่ pH 7.0 (ในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์) และ pH 9.0 (ในทริสบัฟเฟอร์) ซึ่งพบว่าไม่ต่างจากเมื่ออยู่ในสภาพที่มิได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ (69) และยังคล้ายคลึงกับเอนไซม์จาก S. phaeochromogenes (29) การที่เอนไซม์นี้สามารถทำงานได้ดีในช่วง pH ที่เป็นกลางนั้น เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตฟรุคโตส เนื่องจากสามารถหลีกเลี่ยงการเกิดสารที่ไม่ต้องการ เช่น พโซโคส ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้ในปฏิกิริยาการไอโซเมอไรซ์กลูโคสในสภาพที่เป็นด่าง

การที่กลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 สามารถทำงานได้ดีในทริสบัฟเฟอร์นั้น พบว่าแตกต่างจากกลูโคสไอโซเมอเรสจากจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น จาก B. coagulans (39) และ S. griseofuscus, S-41 (43) ซึ่งตามรายงานกล่าวว่าทริสบัฟเฟอร์มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จากจุลินทรีย์เหล่านี้ในลักษณะของการยับยั้งแบบแย่งชัน (competitive inhibition)

สำหรับไอออนของแมกนีเซียมและโคบอลท์ซึ่งมีผลต่อการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 นั้น พบว่าที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมของไอออนทั้ง 2 ร่วมกันเอนไซม์จะมีแอคติวิตีสูงสุด แต่ที่ความเข้มข้นของไอออนใดไอออนหนึ่งสูงเกินไปจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เหตุผลนี้อาจคล้ายคลึงกับรายงานของ Kasumi และคณะ (65) ซึ่งกล่าวถึงบทบาทของไอออนทั้ง 2 ต่อการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรสจาก S. griseofuscus, S-41 ผลการศึกษาทางจลนศาสตร์พบว่าถ้าเพิ่มความเข้มข้นของไอออนใดไอออนหนึ่ง ขณะที่ความเข้มข้น

ของอีกไอออนหนึ่งคงที่ จากการวัดอัตราเร็วของปฏิกิริยา พบว่าในช่วงที่อัตราส่วนความเข้มข้นของไอออนทั้ง 2 เหมาะสม อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น แต่ถ้าอยู่ในช่วงอัตราส่วนความเข้มข้นของไอออนทั้ง 2 ไม่เหมาะสม การเพิ่มความเข้มข้นของไอออนใดไอออนหนึ่งจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และพบว่าไอออนทั้ง 2 จะมีลักษณะยับยั้งซึ่งกันและกันแบบแข่งขัน ผลการทดลองดังกล่าวอาจแสดงว่าไอออนทั้ง 2 จะจับกับเอนไซม์ที่ตำแหน่งเดียวกันหรือใกล้เคียงกันมาก นอกจากนั้น Kasumi และคณะ (65) ได้วัดค่าแตกตัวคงที่ (dissociation constant) ของแต่ละไอออนเมื่ออยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเอนไซม์กับไอออน (binary complex) และระหว่างเอนไซม์-ไอออน-ซับสเตรท (tertiary complex) พร้อมทั้งศึกษาแอคติวิตีของเอนไซม์ในสภาวะต่าง ๆ ได้สรุปว่าทั้งแมกนีเซียมและโคบอลท์จะทำหน้าที่กระตุ้นแอคติวิตีของเอนไซม์โดยที่แมกนีเซียมจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าโคบอลท์ในขณะที่โคบอลท์มีประสิทธิภาพดีกว่าแมกนีเซียมในการรักษาเสถียรภาพของเอนไซม์ต่อความร้อน และความเป็นกรด โดยได้ทดลองนำเอนไซม์นี้มาบ่มกับสารที่ทำให้โปรตีนเสียสภาพหลายชนิด พบว่าใน 1 โมเลกุลของเอนไซม์ประกอบด้วยโคบอลท์ 4 อะตอม โดยที่โคบอลท์ 3 อะตอมจะเกาะกับเอนไซม์อย่างหลวม ๆ จึงหลุดได้ง่าย และโคบอลท์ทั้ง 3 อะตอมนี้มีความสำคัญต่ำในการรักษาโครงสร้างของเอนไซม์ (stabilize quarternary structure) แต่โคบอลท์อีกหนึ่งอะตอมซึ่งเกาะกับเอนไซม์แน่นมีความสำคัญมากต่อเสถียรภาพของเอนไซม์ ส่วนการเติมโคบอลท์ในสารละลายของการทำปฏิกิริยาจะช่วยป้องกันมิให้อะตอมทั้ง 3 ของโคบอลท์ที่เกาะกับเอนไซม์อย่างหลวม ๆ หลุดออกจากเอนไซม์ ซึ่งจะช่วยเสริมการรักษาสภาพของเอนไซม์

ผลการศึกษาความจำเพาะของกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 ที่มีต่อซับสเตรทต่าง ๆ นั้นพบว่าเอนไซม์มีความจำเพาะต่อซับสเตรททั้งดี-กลูโคส, ดี-ไซโลส และ ดี-ไรโบส เช่นเดียวกับเอนไซม์จาก S. griseofuscus, S-41 (43) และไม่สามารถไอโซเมอไรซ์ ดี-แมนโนส, แอล-อะราบิโนส, แอล-ไซโลส, ดี-ซอร์บิตอล, ดี-แมนนิตอล และ ดี-ไซลีตอล โดยมีค่าคงที่ K_m สำหรับ ดี-กลูโคส และ ดี-ไซโลส เป็น 0.22 และ 0.122 โมลาร์ ตามลำดับ คุณสมบัติที่เอนไซม์มีความจำเพาะต่อดี-ไซโลสสูงกว่าดี-กลูโคสนี้คล้ายคลึงกับกลูโคสไอโซเมอเรสจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่นจาก S. albus, YT-5 (34, 36) ซึ่งมีค่า K_m สำหรับดี-กลูโคส และดี-ไซโลส เป็น 0.16 และ 0.032 โมลาร์ ตามลำดับ และจาก S. flavogriseus (40) ซึ่งมีค่า K_m เป็น 0.249 โมลาร์

สำหรับ ดี-กลูโคส และ 0.078 โมลาร์ สำหรับดี-ไซโลส เป็นต้น

มีรายงานหลายฉบับกล่าวถึงน้ำตาลและน้ำตาลแอลกอฮอล์หลายชนิดสามารถยับยั้งแอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรสจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ (40, 43, 49) จากการศึกษากับกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 ก็พบว่ามีน้ำตาลหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ได้ เช่น ดี-แมนโนส, แอล-อะราบิโนส, ดี-กาแลคโตส, ดี-ซอร์บิตอล, ดี-แมนนิตอล และ ดี-ไซลีตอล โดยมีค่าคงที่ยับยั้งเป็น 0.96, 1.12, 0.91, 0.028, 0.38 และ 0.014 โมลาร์ ตามลำดับ การที่ค่า K_i สำหรับดี-ไซลีตอล มีค่าต่ำสุดนี้แสดงว่าเอนไซม์มีความจำเพาะต่อไซลีตอลสูงสุดซึ่งคล้ายคลึงกับกลูโคสไอโซเมอเรสจากจุลินทรีย์อื่น ๆ (34-35, 39) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์จาก S. griseofuscus, S-41 (43) ซึ่งมีค่า K_i สำหรับดี-ไซลีตอล และดี-ซอร์บิตอล ค่อนข้างต่ำมากคือ 1.2×10^{-3} และ 1.1×10^{-2} โมลาร์ ตามลำดับ และค่า K_i นี้ยังต่ำกว่าค่า K_m สำหรับดี-ไซโลส และดี-กลูโคสด้วย (5.4×10^{-2} และ 2.2×10^{-1} โมลาร์ ตามลำดับ) ซึ่งคล้ายคลึงกับเอนไซม์ที่เตรียมได้นี้

นอกจากนี้ยังพบว่ามีไอออนของโลหะบางชนิดที่มีผลยับยั้งการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 ด้วย ทั้งนี้จากการศึกษาโดยใช้เอนไซม์ที่กำจัดเกลือแร่ออกแล้วพบว่าไอออนของโลหะหนัก เช่น เงิน, ตะกั่ว, ปรอท รวมทั้งเหล็ก (III) จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ ส่วนไอออนของโลหะบางชนิด เช่น แมงกานีส, เหล็ก (II) แคลเซียม และแบเรียม สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ได้เล็กน้อย

จากคุณสมบัติต่าง ๆ ของกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 ที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการที่จะนำไปสู่ความเป็นไปได้ที่จะนำเอนไซม์นี้มาใช้งานในระดับอุตสาหกรรมในประเทศต่อไป