กระท่อมเป็นพืชท้องถิ่นในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ใบของกระท่อมมีฤทธิ์ผสมผสานระหว่างฤทธิ์ลดปวดแบบฝิ่น และฤทธิ์กระตุ้นแบบโคค่า มีผู้นำใบกระท่อมมาเคี้ยวเพื่อบรรเทาอาการเมื่อยล้า และช่วยให้ทนทำงานหนักใต้แดดจัดได้ดี สารกลุ่มสำคัญที่ได้จากกระท่อมคือ สารกลุ่มอินโดลอัลคาลอยด์ ซึ่งมีรายงานไว้มากกว่า 40 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ mitragynine, speciogynine, paynantheine, 7-hydroxymitragynine จึงนับว่ากระท่อมเป็นพืชที่มีความเหมาะสมในการใช้เป็นต้นแบบ เพื่อศึกษาวิถีชีวสังเคราะห์ของสารในกลุ่มอินโดลอัลคาลอยด์ โดยเฉพาะในขั้นตอนการรวมตัวกันระหว่าง tryptamine กับ secologanin เกิดเป็น strictosidine จุดมุ่งหมายของการศึกษานี้เพื่อโคลนยีนสตริกโตซิดีนซินเธส และศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนที่สังเคราะห์ขึ้นจากยีนดังกล่าว เริ่มต้นจากการสกัด total RNA จากส่วนใบ ใช้ SMART RACE kit ในการเปลี่ยน RNA เป็น cDNA ใช้ข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนสตริกโตซิดีนซินเธสจาก *Catharanthus roseus*, *Ophiorrhiza pumila* and *Rauvolfia serpentina* ในการออกแบบ primers หลังจากได้ชิ้นส่วนที่น่าจะเป็นสตริกโตซิดีนซินเธสแล้ว อาศัยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากชิ้นส่วนนั้นในการออกแบบ gene specific primer เพื่อโคลนยีนสตริกโตซิดีนซินเธสที่สมบูรณ์ ยีนสตริกโตซิดีนที่โคลนได้มีขนาด 1059 คู่เบส ถอดรหัสเป็นสายโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโน 352 ตัว มีความคล้ายคลึงกับยีนสตริกโตซิดีนของ *O. pumila* ร้อยละ 70 ของ *R. serpentina* ร้อยละ 53 และ *C. roseus* ร้อยละ 52 หาค่า เอนไซม์สตริกโตซิดีนซินเธสมีค่า K_m เท่ากับ 0.38 มิลลิโมลาร์ ค่า V_{max} เท่ากับ 0.004 มิลลิโมลาร์/นาที โดยตรวจวัดจากปริมาณทริพทามีนที่ใช้ไปในปฏิกิริยา

206486

Mitragyna speciosa (Roxb.) Korth. or Kratom (RUBIACEAE) is a native plant to Southeast Asia. Its leaves have been used for the opium-like effect and coca-like stimulant ability to diminish fatigue and enhance tolerance to hard work under scorching sun. From about 40 alkaloids reported, the major constituents are indole alkaloids such as mitragynine, speciogynine, paynantheine and 7-hydroxymitragynine. Therefore M. speciosa was selected as a model for the study of the indole alkaloid biosynthesis, particularly the step of condensation between tryptamine and secologanin catalyzed by strictosidine synthase. The research effort has focused on the cloning of strictosidine synthase and the characterization of recombinant protein. Total RNA was isolated from fresh leaves. The cDNA was constructed from total RNA using SMART RACE kit. The PCR was done using universal primer mixture (UPM) together with degenerate primers (based on the conserve regions of strictosidine synthase nucleotides from *Catharanthus roseus*, *Ophiorrhiza pumila* and *Rauvofia serpentina*) to obtain partial clone. The nucleotide sequence of partial clone was used to design gene specific primers (GSPs). The full-length clone (1059 bp, encoded 352 amino acids), produced from PCR using GSPs, shows 70%, 53% and 52% similarity to *O. pumila*, *R. serpentina* and *C. roseus* respectively. The kinetic parameters of strictosidine synthase against tryptamine were K_m 0.38 mM and V_{max} 0.004 mM/min.