ดัลโคชิเนสเป็นเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสจากพะยูง สามารถสลาย dalcochinin β-glucoside ซึ่งเป็นสับสเตรทธรรมชาติได้ ขณะที่ลินามาเรสเป็นเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสจากมันสำปะหลัง จะสลายลินามารินได้ ดัลโคชิเนสสามารถเร่งปฏิกิริยาย้อนการสลายได้ดี แต่เร่งปฏิกิริยาย้ายหมู่กลูโคสได้น้อย ในขณะที่ลินามาเรสเร่งปฏิกิริยาย้ายหมู่กลูโคสได้ดี แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาย้อนการสลาย ทั้งๆที่เอนไซม์ทั้งสองมีลำดับกรดอะมิโนคล้ายคลึงกัน 60% ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและหน้าที่ของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส โดยหาตำแหน่งกรดอะมิโนที่สำคัญสำหรับเร่งปฏิกิริยาการสลายสับสเตรทและปฏิกิริยาย้ายหมู่กลูโคส งานวิจัยนี้ได้ทำการโคลนยีนของเอนไซม์ดัลโคชิเนส ให้มีการแสดงออกในยีสต์ *Pichia pastoris* และทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ เมื่อศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของรีคอมบิแนนต์ดัลโคชิเนส พบว่ามีค่าคล้ายคลึงกับดัลโคชิเนสธรรมชาติ จากนั้นทำการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งจำเพาะของยีนดัลโคชิเนส โดยการแทนที่กรดอะมิโนในบริเวณจับอะไกลโคนของดัลโคชิเนสด้วยกรดอะมิโนที่ตำแหน่งที่ตรงกันของลินามาเรส นั่นคือเอนไซม์กลายพันธุ์ N189F และ A454N จากการศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์กลายพันธุ์ทั้งสองชนิด พบว่าตำแหน่ง N189 และ A454 ของเอนไซม์ดัลโคชิเนสไม่น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายลินามาริน แต่ตำแหน่ง N189 น่าจะเป็นตำแหน่งที่สำคัญต่อการย่อยสลาย *p*NP-Glc และ dalcochinin-glucoside เมื่อศึกษาการเร่งปฏิกิริยาย้ายหมู่กลูโคสพบว่า เอนไซม์กลายพันธุ์ N189F มีประสิทธิภาพดีขึ้น ในการเร่งปฏิกิริยาย้ายหมู่กลูโคสกับแอลกอฮอล์ชนิดปฐมภูมิ แต่ตำแหน่ง N189 และ A454 ของเอนไซม์ดัลโคชิเนสไม่น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเร่งปฏิกิริยาย้ายหมู่กลูโคสกับแอลกอฮอล์ชนิดทุติยภูมิและตติยภูมิ

Dalcochinase, a β-glucosidase from Thai rosewood, can hydrolyze dalcochinin β-glucoside that is its natural substrate, whereas linamarase, a β-glucosidase from cassava, hydrolyzes linamarin. Dalcochinase can catalyze reverse hydrolysis well, but shows low efficiency in transglucosylation. On the other hand, linamarase catalyses transglucosylation better than dalcochinase, but was not efficient in catalyzing reverse hydrolysis. Despite these differences, both enzymes have 60% amino acid sequence homology. Thus, this project is interested in studying the relationship between structure and function of β-glucosidase, particularly the identification of the amino acid residue that is important for hydrolysis and transglucosylation. The coding sequence of dalcochinase was cloned, expressed in yeast *Pichia pastoris*, and purified. The recombinant enzyme exhibits similar enzymatic properties to natural dalcochinase. Mutant forms of dalcochinase (namely N189F and A454N) were generated by replacing amino acid residues located in the aglycone binding pocket of dalcochinase with the corresponding residues of linamarase. Kinetic analysis of both enzymes showed that both N189 and A454 were not involved in hydrolysis of linamarin, but N189 could be important for hydrolysis of *p*NP-Glc and dalcochinin glucoside. In transglucosylation studies, N189F mutant could improve transglucosylation efficiency using primary alcohols as acceptors. However, neither N189 nor A454 was likely to be involved in transglucosylation using secondary and tertiary alcohols as acceptors.