เพ็ญพร สูจิวัฒนารัตน์ 2549: การผลิตและการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งจำเพาะของรีคอมบิแนนต์เบต้า-กลูโคซิเดสจากพะยูง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุวิศวกรรม) สาขาพันธุวิศวกรรม โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ประธานกรรมการที่ปรึกษา: อาจารย์ประชุมพร คงเสรี, Ph.D. 119 หน้า
ISBN 974-16-2359-3

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

เพ็ญพร สูจิวัฒนารัตน์ ประชุมพร คงเสรี 25 / 5 / 2549

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ