ศันสนียพร กิตติขจร 2553: การทำเคอร์ซินจากเนื้อเมล็ดสบู่ดำให้บริสุทธิ์และฤทธิ์ต้าน แบคทีเรียและเซลล์มะเร็ง ปริญญาวิทยาศาตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี) ภาควิชาชีวเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สุนันทา รัตนาโภ, ปร.ด. 138 หน้า

เคอร์ซินเป็นโปรตีนพิษที่ทำการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีอย่างง่ายจากเนื้อเมล็ดสบู่ดำ *Jatropha curcas* Linn. (KUBP 33) การเตรียมสารสกัดหยาบของเคอร์ซินทำโดยการกวนเนื้อเมล็ดสบู่ดำที่บด ละเอียดในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl, pH 7.5 นาน 24 ชม. จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่ $4^{o}C$ แล้วตักไขมันที่ลอยอยู่ชั้นบนออก ก่อนนำไปไดอะไลซ์ในสารละลายบัฟเฟอร์ sodium-acetate, pH 4.5 และปั่นเหวี่ยงเอาตะกอนทิ้งไป เมื่อนำส่วนใสไปวิเคราะห์โดย SDS-PAGE และเทคนิค MALDI-TOF Mass spectrophotometry พบว่าโปรตีนที่บริสุทธิ์นี้ประกอบด้วย 1 หน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุล 29 กิโลดาลตัน และเป็นพอลิเปปไทด์สายเดี่ยวที่มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 28.4 กิโลดาลตัน ตามลำดับ โปรตีนที่ทำบริสุทธิ์มีความเป็นพิษต่อการสังเคราะห์โปรตีน เนื่องจากพบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ rRNA *N*-glycosidase ซึ่งออกฤทธิ์ในการตัดไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอใน reticulocyte lysate ของกระต่าย จากผลการทดลองวิเคราะห์ด้วย LC-MS/MS สรุปได้ว่าโปรตีนที่แยกได้เป็นเคอร์ซิน ในการศึกษานี้ได้ทดสอบฤทธิ์ของเคอร์ซินบริสุทธิ์ที่แยกได้ในการต้านจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรคในคน โดยเทคนิค agar dilution พบว่า สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ 17 ชนิด โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 และ *Bacillus subtitis* ATCC6633 ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 78.1 ไมโครกรัมโปรตีน/มิลลิลิตร จากการทดสอบฤทธิ์ของเคอร์ซินบริสุทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB, ATCC CCL-17) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF7, ATCC HTB-22) เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187, ATCC CRL-5804) และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (SW 620, ATCC CCL-28) พบว่าไม่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งทุกชนิด จากการตรวจหาปริมาณเคอร์ซินในเมล็ดสบู่ดำจำนวน 157 แหล่งปลูก ที่รวบรวมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ ใน 38 จังหวัดทั่วประเทศไทย โดยเทคนิค Immuno-Western Blot และระบุปริมาณของเคอร์ซินด้วยพอลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเคอร์ซินและคำนวณความเข้มของแถบที่ปรากฏโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอร์ซินบริสุทธิ์ สามารถจัดหมวดหมู่ของสบู่ดำที่รวบรวมมาจากแหล่งต่าง ๆ เป็น 4 กลุ่มตามปริมาณเปอร์เซ็นต์ของเคอร์ซินต่อน้ำหนักเนื้อเมล็ดแห้ง พบว่าเมล็ดสบู่ดำจาก 3 แหล่งปลูกไม่มีเคอร์ซินได้แก่ KUBP 19, KUBP 169 และ KUBP 187 เมล็ดสบู่ดำ KUBP 75 มีปริมาณเคอร์ซินสูงที่สุดเท่ากับ 9.09% (โดยน้ำหนักเนื้อเมล็ดแห้ง)

____________________ ____________________ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์