สุภาภรณ์ สีทะหา 2553: การแสดงออกของเลคตินจากใบหม่อนในเซลล์แบคทีเรียและเซลล์แมลง และการศึกษาการจับกันระหว่างเลคตินและน้ำตาลในคอมพิวเตอร์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี) สาขาชีวเคมี ภาควิชาชีวเคมี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์อมรรัตน์ พรหมบุญ, Ph.D. 215 หน้า

Mulberry leaf lectin1 (MLL1) เป็นเลคตินที่พบในใบหม่อน (*Morus rotunbiloba Koidz.*) ที่สามารถจับกับกรดเซียลิกได้ โดยทั่วไปจะพบกรดเซียลิกเป็นน้ำตาลที่อยู่บนผิวเซลล์ของแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดและเซลล์มะเร็ง งานวิจัยนี้สนใจที่จะผลิตโปรตีน MLL1 ในปริมาณมาก และทำให้ เลคตินนี้มีความจำเพาะต่อกรดเซียลิกเพิ่มมากขึ้น จึงทำการโคลนยีนของ MLL1 เพื่อทำให้โปรตีนสามารถแสดงออกปริมาณมากในเซลล์แบคทีเรียและเซลล์แมลง ซึ่งการโคลนเข้า pET21a เพื่อให้แสดงออกในเซลล์แบคทีเรีย แบ่งลำดับเบสของเลคตินออกเป็น 3 ส่วน คือ fMLL, nsMLL และ LMLL จากผลการทดลองพบว่า pET-fMLL ไม่มีการแสดงออกของโปรตีน ในขณะที่ pET-nsMLL ได้โปรตีนหลักขนาด 13 kDa และโปรตีนที่มีขนาด 9 kDa ส่วน pET-LMLL ได้โปรตีนหลักที่มีขนาด 16 kDa และโปรตีนที่มีขนาด 13 kDa เมื่อตรวจสอบกิจกรรมของโปรตีนเลคตินจากแบคทีเรีย ด้วยการทำให้เม็ดเลือดแดงของกระต่ายจับกลุ่มตกตะกอน พบว่าโปรตีนไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มตกตะกอน จากนั้นจึงนำยีน MLL1 โคลนเข้า pFastBac HT-A เพื่อให้มีการแสดงออกของโปรตีนในเซลล์แมลง จึงแบ่งลำดับเบสเป็น 2 ส่วน คือ fMLL และ nsMLL พบว่าทั้ง pFast-fMLL และ pFast-nsMLL ไม่มีการแสดงออกของโปรตีนในเซลล์แมลง จากนั้นทำการศึกษาการจับกับกรดเซียลิก (Neu5Gc) ด้วยคอมพิวเตอร์ โดยใช้ 1JOT จากฐานข้อมูลเป็นแม่แบบในการเตรียม homology modeling ของ LMLL แล้วนำโครงสร้างสามมิติที่ได้มาศึกษาการจับกับ GalNAc, Galβ1,3GalNAc และ Neu5Gc ด้วยโปรแกรม AutoDock 3.0.5 และดูผลด้วย Discovery Studio 2.1 พบว่า LMLL สามารถจับกับ Neu5Gc ได้ดีที่สุด สอดคล้องกับการทดลองในห้องปฏิบัติการ หลังจากนั้นศึกษาด้วย molecular dynamics simulation แล้วทำให้เข้าใจแรงที่จับกับน้ำตาล เพื่อที่จะหา LMLL ที่กลายพันธุ์แล้วจับกับ Neu5Gc ได้แรงขึ้น โดยเปลี่ยนกรดอะมิโนในบริเวณจับจำเพาะซึ่งทำในคอมพิวเตอร์ เมื่อได้ LMLL ที่กลายพันธุ์ทั้งหมดจึงทำการ docking กับ Neu5Gc และ GalNAc พบว่าเมื่อเปลี่ยนฟีนิลอะลานีนตำแหน่งที่ 47 เปลี่ยนเป็นแอสพาราจีน (F47N) แล้วทำให้ค่าพลังงานที่ใช้ในการจับระหว่าง LMLL กับ Neu5Gc แตกต่างจากการจับระหว่าง LMLL กับ GalNAc มากที่สุด ซึ่งสามารถนำความรู้ที่ได้ปรับปรุงเลคตินเพื่อให้ได้โปรตีนที่มีประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไป

_____ _____ ___/___/___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์