

วิมลศิริ สีหะวงษ์ 2554: การโคลน การแสดงออกและการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

แอลฟา-อะไมเลสจากหอยนางรมสายพันธุ์ปากจีบ (*Saccostrea commercialis*)

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุวิศวกรรม) สาขาพันธุวิศวกรรม โครงการสหวิทยาการระดับ
บัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์เลิศลักษณ์ เงินศิริ, Ph.D. 79 หน้า

การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ (Full Length) ของยีน *alpha-amylase* (*ScAmy*) จากหอยนางรมสายพันธุ์ปากจีบ (*Saccostrea commercialis*) โดยใช้เทคนิค Rapid Amplification of cDNA Ends (RACEs) พบว่ายีนแอลฟาอะไมเลสของหอยนางรมสายพันธุ์ปากจีบประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์จำนวน 1,729 คู่เบส มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถถอดรหัสเป็นกรดอะมิโน (Open Reading Frame, ORF) ที่มีความยาว 1,563 คู่เบส แปลเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วย 520 เรซิดิวส์ มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 57.763 kDa และมีค่า Theoretical isoelectric point (pI) เท่ากับ 6.36 ซึ่งพบลำดับกรดอะมิโนที่เป็นบริเวณอนุรักษ์ (conserved domain) ได้แก่ FEW, GYCGVQISP, DVIINHM, HNYN, LVDLK, GFRVDTAKH, EVID, FTDNHD, GLTRVMSSY เมื่อนำลำดับกรดอะมิโนของ ScAMY มาเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของหอยนางรมสายพันธุ์ *Crassostrea gigas* (CgAMY) พบว่ามีความเหมือนกัน 88 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ (ScAMY) สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ, ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ 40 °C และ 6.00 ตามลำดับ และพบว่าความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมต่อกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์คือ น้อยกว่า 0.5 M ส่วนการศึกษาการแสดงออกของยีนแอลฟาอะไมเลสในแต่ละเนื้อเยื่อโดยใช้เทคนิค Real-time PCR พบว่ามีการแสดงออกของยีนแอลฟาอะไมเลสมากที่สุด เนื้อเยื่อส่วนของการย่อย (digestive gland) ปาก (labia Palps), เหงือก (gill), เนื้อเยื่อปกคลุม (mantle) ตามลำดับและไม่พบการแสดงออกของยีนแอลฟาอะไมเลสในเนื้อเยื่อส่วนกล้ามเนื้อยึดติด (muscle) ซึ่งผลจากการวิเคราะห์การแสดงออกโดยเทคนิค Real-time PCR มีผลตรงกับการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก