

พิมพ์พรรณ ขวนขยัน : การศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติของบีตา-กลูโคซิเดสที่สกัดจาก  
เมล็ดถั่ว (STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION  
OF  $\beta$ -GLUCOSIDASE FROM *DALBERGIA NIGRESCENS* KURZ. SEEDS.)  
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจมส์ เกตุทัต-คาร์นส์, 209 หน้า.  
ISBN 974-533-392-1

ได้ทำให้เอนไซม์บีตา-กลูโคซิเดสจากเมล็ดถั่ว (*Dalbergia nigrescens* Kurz.)  
บริสุทธิ์และศึกษาสมบัติของเอนไซม์ ได้เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของถั่ว คือ *Dnbglu1* และ  
*Dnbglu2* และหาลำดับของนิวคลีโอไทด์ พบว่าลำดับของกรดอะมิโนที่ได้จาก *Dnbglu1* และ  
*Dnbglu2* เหมือนกับเอนไซม์บีตา-กลูโคซิเดสจาก *D. cochinchinensis* มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์  
ได้ทำให้ยับยั้งสเตรคทรามาติของเอนไซม์กลูโคซิเดสจากเมล็ดถั่ว 2 ชนิด คือ S1, dalpatein 7-  
*O*-[ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside] และ S2, dalnigreïn 7-*O*-[ $\beta$ -D-  
apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside] บริสุทธิ์ และได้หาโครงสร้าง พบว่าเอนไซม์นี้  
สามารถตัดน้ำตาลออกจาก S1 และ S2 ยับยั้งสเตรค ได้น้ำตาลไดแซคคาไรด์ ได้ทำให้สารพันธุกรรม  
*Dnbglu2* แสดงออกใน *Pichia pastoris* พบว่าค่า  $K_m$  ของเอนไซม์จากธรรมชาติและลูกผสมต่อ  
*pNP*- $\beta$ -D-glucoside และ *pNP*- $\beta$ -D-fucoside มีค่าใกล้เคียงกัน และค่า  $K_m$  ต่อ S1 และ S2  
เท่ากัน คือ 0.5 mM และ 0.7 mM ตามลำดับ ในขณะที่บีตา-กลูโคซิเดสจากต้นพยูงสามารถย่อย  
สลายยับยั้งสเตรคทั้งสองได้เพียงเล็กน้อย

สาขาวิชาชีวเคมี  
ปีการศึกษา 2547

ลายมือชื่อนักศึกษา พิมพ์พรรณ ขวนขยัน

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา James R. McLean

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

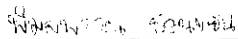
PHIMONPHAN CHUANKHAYAN : STRUCTURAL AND FUNCTIONAL  
CHARACTERIZATION OF  $\beta$ -GLUCOSIDASE FROM *DALBERGIA*  
*NIGRESCENS* KURZ. SEEDS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. JAMES  
R. KETUDAT-CAIRNS, Ph.D. 209 PP. ISBN 974-533-392-1

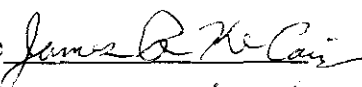
$\beta$ -GLUCOSIDASE AND *DALBERGIA NIGRESCENS* KURZ.

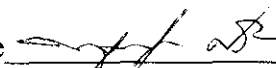
A  $\beta$ -glucosidase from seeds of *Dalbergia nigrescens* Kurz. was purified and characterized. *Dnbglu1* and *Dnbglu2* cDNAs which encode *D. nigrescens* glycosidases, were cloned and sequenced. The derived amino acid sequences of *Dnbglu1* and *Dnbglu2* were over 80% identical to *D. cochinchinensis*  $\beta$ -glucosidase. The natural substrates of the glycosidase were isolated from seeds of *D. nigrescens* Kurz. and their structures determined as compound S1, dalpatein 7-O-[ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside] and compound S2, dalnigreïn 7-O-[ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside]. The enzyme was found to cleave the sugar from these substrates as a disaccharide. The *Dnbglu2* cDNA was expressed in *Pichia pastoris*. The native enzyme and the recombinant *Dnbglu2* have similar  $K_m$  values for *pNP*- $\beta$ -D-glucoside, and *pNP*- $\beta$ -D-fucoside and the same  $K_m$  values of 0.5 mM for S1 and 0.7 mM for S2, respectively, while *D. cochinchinensis*  $\beta$ -glucosidase showed little activity towards these substrates.

School of Biochemistry

Academic Year 2004

Student's Signature 

Advisor's Signature 

Co-advisor's Signature 

Co-advisor's Signature 