พิมลพรรณ ชวนขยัน : การศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติของบีตา-กลูโคซิเดสที่สกัดจากเมล็ดฉนวน (STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF β-GLUCOSIDASE FROM *DALBERGIA NIGRESCENS* KURZ. SEEDS.) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร.เจมส์ เกตุทัต-คาร์นส์, 209 หน้า.
ISBN 974-533-392-1

ได้ทำให้เอนไซม์บีตา-กลูโคซิเดสจากเมล็ดฉนวน (*Dalbergia nigrescens* Kurz.) บริสุทธิ์และศึกษาสมบัติของเอนไซม์ ได้เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของฉนวน คือ *Dnbglu1* และ *Dnbglu2* และหาลำดับของนิวคลีโอไทด์ พบว่าลำดับของกรดอะมิโนที่ได้จาก Dnbglu1 และ Dnbglu2 เหมือนกับเอนไซม์บีตา-กลูโคซิเดสจาก *D. cochinchinensis* มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ได้ทำให้ซับสเตรตธรรมชาติของเอนไซม์กลูโคซิเดสจากเมล็ดฉนวน 2 ชนิด คือ S1, dalpatein 7-*O*-[β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside] และ S2, dalnigrein 7-*O*-[β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside] บริสุทธิ์ และได้หาโครงสร้าง พบว่าเอนไซม์นี้สามารถตัดน้ำตาลออกจาก S1และ S2 ซับสเตรต ได้น้ำตาลไดแซคคาไรด์ ได้ทำให้สารพันธุกรรม *Dnbglu2* แสดงออกใน *Pichia pastoris* พบว่าค่า K_m ของเอนไซม์จากธรรมชาติและลูกผสมต่อ *p*NP-β-D-glucoside และ *p*NP-β-D-fucoside มีค่าใกล้เคียงกัน และค่า K_m ต่อ S1 และ S2 เท่ากัน คือ 0.5 mM และ 0.7 mM ตามลำดับ ในขณะที่บีตา-กลูโคซิเดสจากต้นพยูงสามารถย่อยสลายซับสเตรตทั้งสองได้เพียงเล็กน้อย

สาขาวิชาชีวเคมี
ปีการศึกษา 2547

ลายมือชื่อนักศึกษา พิมลพรรณ ชวนขยัน
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

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

β-GLUCOSIDASE AND *DALBERGIA NIGRESCENS* KURZ.

A β-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* β-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*-[β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside] and compound S2, dalnigrein 7-*O*-[β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-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 *p*NP-β-D-glucoside, and *p*NP-β-D-fucoside and the same K_m values of 0.5 mM for S1 and 0.7 mM for S2, respectively, while *D. cochinchinensis* β-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 _____