จันทร์จิรา มณีสาร : การศึกษาโครงสร้างสารตั้งต้นธรรมชาติของบีตากลูโคซิเดสของข้าว (STUDY OF THE NATURAL SUBSTRATE STRUCTURE OF RICE β-GLUCOSIDASE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร. รจนา โอภาสศิริ, 150 หน้า

บีตากลูโคซิเดส ไอโซไซม์ Os4bglu12 เป็นเอนไซม์ในไกลโคซิลไฮโดรเลสกลุ่มที่ 1 ก่อนหน้านี้ดีเอ็นเอซึ่งบรรจุรหัสพันธุกรรมของเอนไซม์นี้ได้ถูกแยกออกมาจากต้นอ่อนข้าว และได้นำมาใช้ผลิตโปรตีนซึ่งอยู่ในสภาพที่ทำงานได้ใน *Escherichai coli* การศึกษาการแสดงออกของยีนพบว่า *Os4bglu12* ถูกสังเคราะห์มากที่ส่วนยอดของต้นอ่อนข้าว และที่กาบใบและลำต้นของข้าวที่อยู่ในระยะออกดอก การแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้นในต้นอ่อนข้าวที่เกิดบาดแผลและที่ได้รับฮอร์โมนเมทิลจัสโมเนทและอีเทฟอน การตรวจหาสารตั้งต้นในธรรมชาติของ Os4bglu12 ได้นำมาใช้อธิบายถึงบทบาทของเอนไซม์นี้ในข้าว พบว่า Os4bglu12 ที่ถูกผลิตขึ้นใน *E. coli* สามารถย่อยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยผนังเซลล์ข้าวด้วย endo-1,3;1,4-β-glucanase ได้ นอกจากนี้เอนไซม์ยังย่อยสารประกอบที่สกัดจากต้นอ่อนข้าว และต้นข้าวที่อยู่ในระยะออกดอก สารตั้งต้นในธรรมชาติของ Os2bglu12 ที่พบที่ส่วนใบและลำต้นของข้าวระยะออกดอกซึ่งได้ให้ชื่อว่า C1/sD ถูกแยกออกมาให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการต่างๆ จากการวิเคราะห์โครงสร้างด้วย ^{1}H-NMR พบว่ามีอะตอมไฮโดรเจนของหมู่อโรมาติกและอโนเมอร์คาร์บอนของน้ำตาลในโครงสร้างของสารประกอบดังกล่าว จากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบ C1/sD1 พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุล 492 ซึ่งตรงกับน้ำหนักโมเลกุลของ flavonoid glycosides หลายชนิด

สาขาวิชาชีวเคมี ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2550 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

JANJIRA MANEESAN : STUDY OF THE NATURAL SUBSTRATE STRUCTURE OF RICE β-GLUCOSIDASE. THESIS ADVISOR : RODJANA OPASSIRI, Ph.D. 150 PP.

β-GLUCOSIDASE/RICE/NATURAL SUBSTRATES/STRESS RESPONSE

Os4bglu12 is a glycosyl hydrolase family 1 β-glucosidase. The full-coding cDNA of *Os4glu12* was previously isolated from rice seedlings by RT-PCR and its recombinant protein was expressed as soluble active form in *Escherichai coli*. Northern blot analysis revealed that *Os4bglu12* is highly expressed in rice seedling shoot and in the leaf sheath and stem of rice at flowering stage. *Os4bglu12* transcript levels increased in rice seedlings in response to wounding, methyl jasmonate and ethephon. The function of Os4bglu12 was confirmed by identifying its natural substrates. Recombinant Os4bglu12 protein expressed in *E. coli* could hydrolyze the products of rice cell wall hydrolysis by endo-1,3-1,4-β-glucanase. In addition, the enzyme could hydrolyze compounds extracted with methanol from 7-day old rice seedlings and rice plants at flowering stage. The substrates of Os4bglu12 found in rice leaf and stem at flowering stage, namely C1/sD, were purified using various chromatographic techniques. ^{1}H-NMR analysis indicated the presence of aromatic groups and anomer protons of sugar molecules in C1/sD structures. The mass of one compound C1/sD1 glycoside was estimated to be 492, which matches many flavonoid glycosides.

School of Biochemistry Student's Signature_____

Academic Year 2007 Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____