

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ .....	(3)
Abstract .....	(5)
กิตติกรรมประกาศ.....	(7)
สารบัญ.....	(8)
รายการตาราง.....	(9)
รายการรูป.....	(11)
ตัวย่อและสัญลักษณ์.....	(13)
1. บทนำ.....	1
บทนำต้นเรื่อง.....	1
การตรวจเอกสาร.....	3
วัตถุประสงค์.....	34
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	35
วัสดุ.....	35
อุปกรณ์.....	37
วิธีการทดลอง.....	38
3. ผลการทดลอง.....	55
4. วิจารณ์ผลการทดลอง.....	94
5. สรุปผลการทดลอง.....	104
เอกสารอ้างอิง.....	106
ภาคผนวก.....	128
ประวัติผู้เขียน.....	131

## รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ตัวอย่างของ SOD จากแบคทีเรีย .....	5
2. ตัวอย่างของ SOD จากเห็ดและรา .....	6
3. ตัวอย่างของ SOD จากสัตว์ .....	7
4. ตัวอย่างของ SOD จากพืช .....	8
5. SOD ในใบยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ระยะต่าง ๆ .....	56
6. SOD ในใบยางและก้านใบยางพาราพื้นเมืองและพันธุ์ RRIM600 .....	56
7. ผลการทำให้ SOD จากใบยางพารา 100 กรัม ให้บริสุทธิ์ขึ้นในขั้นตอนต่าง ๆ โดยวิธีที่ 1.....	61
8. ผลการทำให้ SOD จากใบยางพารา 50 กรัม ให้บริสุทธิ์ขึ้นในขั้นตอนต่าง ๆ โดยวิธีที่ 1.....	66
9. ผลการทำให้ SOD จากใบยางพารา 25 กรัม ให้บริสุทธิ์ขึ้นในขั้นตอนต่าง ๆ โดยวิธีที่ 1.....	68
10. ผลการทำให้ SOD จากใบยางพารา 25 กรัม ให้บริสุทธิ์ขึ้นในขั้นตอนต่าง ๆ โดยวิธีที่ 2.....	70
11. ผลการทำให้ SOD จากใบยางพารา 100 กรัม ให้บริสุทธิ์ขึ้นในขั้นตอนต่าง ๆ โดยวิธีที่ 2 (NBT method).....	74
12. ผลการทำให้ SOD จากใบยางพารา 100 กรัม ให้บริสุทธิ์ขึ้นในขั้นตอนต่าง ๆ โดยวิธีที่ 2 (cytochrome c method).....	75
13. ผลของอุณหภูมิต่อความว่องไวของ SOD ในสารสกัดใบยาง.....	86
14. ผลของการต้ม SOD ในน้ำเดือด (100 °C) เป็นเวลาต่าง ๆ .....	86
15. ผลของ NaCN ต่อความว่องไวของ SOD ในสารสกัดใบยาง.....	88
16. ผลของ KCN ต่อความว่องไวของ SOD ในสารสกัดใบยาง.....	88
17. ผลของ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ต่อความว่องไวของ SOD ในสารสกัดใบยาง.....	89

## รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
18. ผลของ SDS ต่อความว่องไวของ SOD ในสารสกัดใบยาง.....	89
19. ผลของ $\beta$ -mercaptoethanol ต่อความว่องไวของ SOD ในสารสกัดใบยาง.....	91
20. ผลของ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ต่อความว่องไวของ SOD ในสารสกัดใบยาง.....	91
21. ผลของการสกัดใบยางด้วย universal buffer ช่วง pH 2-12 .....	93

## รายการรูป

รูปที่	หน้า
1. ไดอะแกรมการทำให้ SOD บริสุทธิ์ขึ้นด้วยวิธีที่ 1 .....	44
2. ไดอะแกรมการทำให้ SOD บริสุทธิ์ขึ้นด้วยวิธีที่ 2 .....	48
3. อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บสารสกัดใบยาง.....	57
4. ความสัมพันธ์ระหว่าง SOD และ DRC.....	58
5. ความสัมพันธ์ระหว่าง POx และ DRC.....	59
6. ความสัมพันธ์ระหว่าง SOD และ POx.....	59
7. การแยก SOD โดยคอลัมน์ CM-Cellulose ตามวิธีที่ 1.....	62
8. การแยก SOD โดยคอลัมน์ Sephadex G-75 ตามวิธีที่ 1.....	64
9. การแยก SOD โดยคอลัมน์ DEAE-Sephacel ตามวิธีที่ 2 (ใบยาง 25 กรัม).....	71
10. การแยก SOD โดยคอลัมน์ Sephadex G-100 ตามวิธีที่ 2.....	72
11. การแยก SOD โดยคอลัมน์ DEAE-Sephacel ตามวิธีที่ 2 (ใบยาง 50 กรัม).....	76
12. การแยก SOD โดยคอลัมน์ Sephadex G-100 ตามวิธีที่ 2.....	77
13. แบบแผนโปรตีนในโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบ ND-PAGE ของ SOD ที่ทำให้บริสุทธิ์โดยคอลัมน์ Sephadex G-100 วิธีที่ 2.....	79
14. แบบแผนโปรตีนในโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบ SDS-PAGE ของ SOD ที่ทำให้บริสุทธิ์โดยคอลัมน์ Sephadex G-100 วิธีที่ 2.....	80
15. กราฟมาตรฐานการหาน้ำหนักโมเลกุลของ SOD ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ จากคอลัมน์ Sephadex G-100 โดยโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส แบบ ND-PAGE.....	81
16. กราฟมาตรฐานการหาน้ำหนักโมเลกุลของ SOD ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ จากคอลัมน์ Sephadex G-100 โดยโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส แบบ SDS-PAGE .....	82

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
17. แบบแผนโปรตีนของ SOD ที่ทำให้บริสุทธิ์ในขั้นตอนต่าง ๆ ตามวิธีที่ 2 ใน โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบ ND-PAGE ซึ่งมี CN <sup>-</sup> .....	83
18. แบบแผนโปรตีนของ SOD ที่ทำให้บริสุทธิ์โดยคอลัมน์ Sephadex G-100 วิธีที่ 2 ในโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบ SDS-PAGE ซึ่งมี $\beta$ -mercaptoethanol .....	84
19. ปริมาณ SOD ในใบยางพาราตั้งแต่วันที่ 29/03/2542 จนถึงวันที่ 23/12/2543 .....	96

## ตัวย่อและสัญลักษณ์

BSA	=	bovine serum albumin
°C	=	degree celsius
CAT	=	Catalase
CM-Cellulose	=	carboxymethyl cellulose
CuZnSOD	=	Copper and Zinc containing Superoxide Dismutase
DEAE-Sephacel	=	diethylaminoethyl-sephacel
DRC	=	total dried rubber content
ECSOD	=	CuZnSOD ที่พบภายนอกเซลล์
EDTA	=	ethylenediamine tetraacetic acid
FeSOD	=	Iron containing Superoxide Dismutase
<i>g</i>	=	acceleration (980 cm/sec <sup>2</sup> )
LMW	=	low molecular weight
M	=	molar
<i>M<sub>r</sub></i>	=	apparent molecular weight
mA	=	milliampere
mM	=	millimolar
MnSOD	=	Manganese containing Superoxide Dismutase
MWCF	=	molecular weight cut off
NBT	=	nitroblue tetrazolium
ND-PAGE	=	non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis
PAGE	=	polyacrylamide gel electrophoresis
pH	=	-log hydrogen ion concentration
pI	=	isoelectric point

### ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

PMS	=	phenazine methosulfate
POx	=	Peroxidase
ppt	=	ส่วนในพันส่วน
R <sub>f</sub>	=	relative mobility
SDS-PAGE	=	sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
SOD	=	Superoxide Dismutase
TEMED	=	N,N,N',N''-tetramethylethylenediamine
Tris-HCl	=	tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride
U	=	unit
α	=	alpha
β	=	beta
μ	=	micro
%	=	percent

## ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

### ตัวย่อสำหรับกรดอะมิโน

A	=	alanine (Ala)
C	=	cysteine (Cys)
D	=	aspartic acid (Asp)
E	=	glutamic acid (Glu)
F	=	phenylalanine (Phe)
G	=	glycine (Gly)
H	=	histidine (His)
I	=	isoleucine (Ile)
K	=	lysine (Lys)
L	=	leucine (Leu)
M	=	methionine (Met)
N	=	asparagine (Asn)
P	=	proline (Pro)
Q	=	glutamine (Gln)
R	=	arginine (Arg)
S	=	serine (Ser)
T	=	threonine (Thr)
V	=	valine (Val)
Y	=	tyrosine (Tyr)