สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ง
บทคัดย่อ	จ
Abstract	ฉ
Executive Summary	ช
สารบัญเรื่อง	ณ
สารบัญภาพ	ญ
สารบัญตาราง	ฐ
รายชื่อคณะผู้ร่วมวิจัย	80
Output จากโครงการ	83
ภาคผนวก	89

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทนำ	1
โครงการย่อย A: การโคลนนิ่งแสดงออก และศึกษาคุณสมบัติของ โปรตีนที่ทำให้เกิดการแพ้ตัวใหม่จากยางพารา	2
โครงการย่อย B: การศึกษาองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับชีวสังเคราะห์ยาง	9
-ขนาดของพอลิเมอร์ยางที่สังเคราะห์โดยเมมเบรนโปรตีนของ อนุภาคต่างๆในเครือข่ายร่างแห	11
-คุณสมบัติของอนุภาค เฟรวีสลิ่งที่อยู่ในเครือค่ายร่างแห	18
การโคลนนิ่ง 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase	18
การโคลนนิ่งเอนไซม์ solanesyl diphosphate synthase	24
โครงการย่อย C:การทำบริสุทธิ์และศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนต้าน เชื้อแคนดิด้าจากน้ำยางพารา	34
โครงการย่อย D:การศึกษาสารออกฤทธิ์ของโปรตีนยับยั้งโปรตีเอส ต่อเชื้อก่อโรค และการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์	46
-คุณสมบัติของโปรตีนยับยั้งโปรตีเอสจากน้ำยางพารา (HPI)	46
-อิทธิพลของ HPI ต่อการยับยั้ง gingipain ของเชื้อ *P. gingivalis*	52
-อิทธิพลของ HPI ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ hepatitis B virus	57
-อิทธิพลของ HPI ต่อการเสริมฤทธิ์ hevein ในการยับยั้งแคนดิด้า	61
โครงการย่อย E:การเตรียม สารยับยั้งแคนดิด้าและ HPIในปริมาณสูงจาก น้ำยางพาราและการทดสอบระดับพรีคลินิก	63
โครงการย่อย F:การพัฒนาชุดทดสอบ ELISA เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ การไหลของน้ำยาง	68

ภาพที่ หน้า

C.2 SDS-PAGE ของโปรตีนที่ได้หลังการนำ bottom fraction ไปตกตะกอนด้วย acetone ที่ความเข้มข้นต่างๆ 37
C.3 การทำบริสุทธิ์สาร anti-candida protein ผ่านคอลัมน์ DEAE-Sephadex G-25 37
C.4 SDS-PAGE ของ สาร anti-candida protein บริสุทธิ์ 38
C.5 Mass spectrum ของ anti-candida protein ที่ได้จากการตกตะกอนด้วย acetone 39
C.6 Mass spectrum ของ purified anti-candida protein 39
C.7 ฤทธิ์ของ hevein ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ candida species ต่างๆ 42
C.8 การเหนี่ยวนำการเกาะกลุ่มของ candida โดย hevein 43
C.9 ความเสถียรของ hevein ที่อุณหภูมิต่างๆ 44
C.10 ความเสถียรของ hevein ที่ pH ต่างๆ 44
C.11 อิทธิพลของ hevein ในการยับยั้งการเจริญเติบโต ของแคนดิด้า 45
D.1 SDS-PAGE และ Tricine SDS-PAGE ของ HPI ที่ได้จากการตกตะกอน C-serum ด้วย acetone 48
D.2 การทำบริสุทธิ์ HPI ผ่านคอลัมน์ Sephadex G-75 48
D.3 การทำบริสุทธิ์ HPI-1 และ HPI-2 โดยการแยกผ่าน HPLCคอลัมน์ 49
D.4 ตารางเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนระหว่าง protease inhibitor จากน้ำยาง HPI กับพืชอื่นๆ 50
D.5 Titration of the three purified isoinhibitor forms of HPI with trypsin and chymotrypsin 51
D.6 SDS-PAGE ของโปรตีนในน้ำเลี้ยงของเชื้อ *P. gingivalis* หลังตกตะกอนด้วย acetone ที่ความอิ่มตัว 60% 54
D.7 กราฟการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ Arg- และ Lys-gingipain ด้วย HPI 55
D.8 Monolisa Ag HBs Assay :แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง OD450 กับสัดส่วนการเจือจางสารละลาย HPI 60
D.9 Anti-proliferation assay: แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง OD450 สัดส่วนการเจือจางสารละลาย HPI 60
D.10 การเสริมฤทธิ์ anti-candida ของ hevein โดย HPI 62
E.1 ขั้นตอนการเตรียมสารยับยั้งโปรตีเอส HPI ในปริมาณสูงจากน้ำยางพารา 65

ภาพที่ หน้า

C.2 SDS-PAGE ของโปรตีนที่ได้หลังการนำ bottom fraction ไปตกตะกอนด้วย acetone ที่ความเข้มข้นต่างๆ 37
C.3 การทำบริสุทธิ์สาร anti-candida protein ผ่านคอลัมน์ DEAE-Sephadex G-25 37
C.4 SDS-PAGE ของ สาร anti-candida protein บริสุทธิ์ 38
C.5 Mass spectrum ของ anti-candida protein ที่ได้จากการตกตะกอนด้วย acetone 39
C.6 Mass spectrum ของ purified anti-candida protein 39
C.7 ฤทธิ์ของ hevein ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ candida species ต่างๆ 42
C.8 การเหนี่ยวนำการเกาะกลุ่มของ candida โดย hevein 43
C.9 ความเสถียรของ hevein ที่อุณหภูมิต่างๆ 44
C.10 ความเสถียรของ hevein ที่ pH ต่างๆ 44
C.11 อิทธิพลของ hevein ในการยับยั้งการเจริญเติบโต ของแคนดิด้า 45
D.1 SDS-PAGE และ Tricine SDS-PAGE ของ HPI ที่ได้จากการตกตะกอน C-serum ด้วย acetone 48
D.2 การทำบริสุทธิ์ HPI ผ่านคอลัมน์ Sephadex G-75 48
D.3 การทำบริสุทธิ์ HPI-1 และ HPI-2 โดยการแยกผ่าน HPLCคอลัมน์ 49
D.4 ตารางเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนระหว่าง protease inhibitor จากน้ำยาง HPI กับพืชอื่นๆ 50
D.5 Titration of the three purified isoinhibitor forms of HPI with trypsin and chymotrypsin 51
D.6 SDS-PAGE ของโปรตีนในน้ำเลี้ยงของเชื้อ *P. gingivalis* หลังตกตะกอนด้วย acetone ที่ความอิ่มตัว 60% 54
D.7 กราฟการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ Arg- และ Lys-gingipain ด้วย HPI 55
D.8 Monolisa Ag HBs Assay :แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง OD450 กับสัดส่วนการเจือจางสารละลาย HPI 60
D.9 Anti-proliferation assay: แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง OD450 สัดส่วนการเจือจางสารละลาย HPI 60
D.10 การเสริมฤทธิ์ anti-candida ของ hevein โดย HPI 62
E.1 ขั้นตอนการเตรียมสารยับยั้งโปรตีเอส HPI ในปริมาณสูงจากน้ำยางพารา 65

ภาพที่	หน้า
E.2 SDS-PAGE ของ HPI บริสุทธิ์ ซึ่งได้จากการนำสารละลายผงแห้ง F-serum ไปตกตะกอนด้วยอะซิโตน	66
E.3 SDS-PAGE ของ PI บริสุทธิ์ ซึ่งได้จากการนำ C-serum ไปตกตะกอนด้วยอะซิโตน	66
F.1 Proposed model for rubber latex coagulation	69
F.2 Correlation between rubber yield and CS-HLLBP activity per tapping	70
F.3. SDS-PAGE ของโปรตีนจากขั้นตอนต่าง ๆของการทำบริสุทธิ์ CS-HLLBP	75
F.4 ไตเตอร์ของแอนติบอดีในซีรัมเลือด	76
F.5 ระดับไตเตอร์ของแอนติบอดีในซีรัมเลือดกระต่ายต่าง ๆ	76
F.6 ความจำเพาะของแอนตีบอดี ต่อโปรตีน CS-HLLBP ใน C-serum	77
F.7. การตอบสนองของแอนตีบอดี ต่อโปรตีน CS-HLLBP บริสุทธิ์และที่อยู่ใน C-serum	78
F.8. ผลของระยะเวลาการเคลือบหลุมด้วยโปรตีนจาก CS-HLLBP และC-serum ในการทำ indirect ELISA	78
F.9. ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตยางแห้ง กับปริมาณโปรตีน CS-HLLBP ที่ได้ต่อครั้งกรีด	79

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
C.1 Purification of anti-candida protein	38
C.2 Amino acid composition ของ anti-candida protein	40
C.3 อิทธิพลของน้ำตาล chitotriose ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ hevein	41
D.1 ระดับการออกฤทธิ์ยับยั้ง protease ชนิดต่างๆโดย HPI	47
D.2 การยับยั้งแอคติวิตี ของ arg- และ lys-gingipain โดย HPI	56
D.3 การยับยั้งที่ร้อยละ 50 ของตัวยับยั้งต่างๆต่อเอนไซม์ gingipain	56
D.4 การยับยั้งการผลิต HBsAg ของเซลล์ PLC/PRF/5 โดย HPI	58
D.5 Anti-proliferation activity ต่อเซลล์ PLC/PRF/5 โดย HPI	59
E.1 ปริมาณ activity ของ HPI ที่เตรียมได้จากน้ำยางสด	67