วันวิสาข์ สุภาพ : การโคลนและแสดงออกของยีนไฟโคไซยานินจากไซยาโนแบคทีเรีย (CLONING AND EXPRESSION OF PHYCOCYANIN ENCODING GENE FROM CYANOBACTERIA) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มารินา เกตุทัต-คาร์นส์, 73 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณลักษณะของยีนไฟโคไซยานินของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในระดับโมเลกุล โดยการโคลนยีนไฟโคไซยานินของสาหร่าย *Anabaena siamensis* TISTR8012 ซึ่งเริ่มจากการสร้างนิวคลีโอไทด์สายสั้นจากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *A. variabilis* ATCC 29413, *Arthrospira platensis, Spirulina maxima*, *A. kisseleviana*, *A. lemmermannii*, *A. flos-aquae* และ *A. planktonica* จากนั้น ทำการโคลนแอลฟา และบีตายีนโดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR แล้วโคลนเข้าสู่โคลนนิ่งเวคเตอร์ จากนั้น ถ่ายโอนเข้าสู่เว็คเตอร์เพื่อแสดงออกของโปรตีน เมื่อได้โปรตีนแอลฟา และบีตาแล้วได้ทำการทำโปรตีนให้บริสุทธิ์โดยการใช้ โคบอลต์ แอฟฟินิตี โครมาโตรกราฟี แล้วนำโปรตีนที่บริสุทธิ์แล้วนั้น มาทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS scavenging ผลการทดลองที่ได้นำเสนอโดยค่า IC_{50} โดยวิตามินอีสังเคราะห์ โปรตีนแอลฟา และโปรตีนบีตา มีค่า IC_{50} 0.4, 13.8 และ18.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2552 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

WANWISA SUPHAP : CLONING AND EXPRESSION OF PHYCOCYANIN ENCODING GENE FROM CYANOBACTERIA. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. MARIENA KETUDAT-CAIRNS, Ph.D., 73 PP.

Anabaena siamensis TISTR8012/PHYCOCYANIN/ANTIOXIDANT PROPERTY

This research had objectives to clone and study phycoyanin properties. The genomic DNA of *Anabaena siamensis* TISTR8012 was used as a template for apo-α^{PC} and apo-β^{PC} amplification. The primers for apo-α^{PC} and apo-β^{PC} amplification were designed from the alignment of apo-α^{PC} and apo-β^{PC} of *A. variabilis* ATCC 29413, *Arthrospira platensis*, *Spirulina maxima*, *A. kisseleviana*, *A. lemmermannii*, *A. flos-aquae* and *A. planktonica*. The apo-α^{PC} and apo-β^{PC} were cloned into cloning vector by PCR reaction, subsequently sequenced and expressed using expression vector. The recombinantly expressed apo-α^{PC} and apo-β^{PC} were purified using cobalt affinity chromatography. The recombinant proteins were analyzed for antioxidant scavenging property using ABTS scavenging assay. The result showed that trolox, rTrx_apo-α^{PC} and rTrx_apo-β^{PC} proteins with IC_{50} value of 0.4, 13.8 and 18.6 mg/ml, respectively.

School of Biotechnology

Academic Year 2009

Student's Signature_____

Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____