

K 47303201 : สาขาวิชาชีววิทยา

คำสำคัญ : hyaluronan synthase gene/*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*

เกษมณี ไพธอนันตถาวร : การศึกษาการแสดงผลของ hyaluronan synthase gene (*hasA* gene) จาก *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* ใน *Escherichia coli* (Expression Cloning of hyaluronan synthase gene (*has* gene) from *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* in *Escherichia coli*) อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ : ผศ. ดร. บุญศรี จงเสรีจิตต์. 128 หน้า. ISBN 974-464-968-2

การศึกษาการแสดงออกของ hyaluronan synthase gene (*hasA* gene) จาก *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* ใน *E. coli* โดยสร้างดีเอ็นเอลูกผสมระหว่างดีเอ็นเอพาหะ pKK223-3 กับยีน *hasA* (pKHASA-1) และ นำดีเอ็นเอลูกผสม pKHASA-1 เข้าไปใน *E. coli* JM109 การวิเคราะห์หาลำดับของกรดนิวคลีอิกเพื่อตรวจสอบความถูกต้องของยีน *hasA* พบว่า ยีน *hasA* ของดีเอ็นเอลูกผสม pKHASA-1 มีความเหมือนกับยีน *hasA* จาก *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* ร้อยเปอร์เซ็นต์ (GenBank AF414053) การตรวจสอบการแสดงออกของยีน *hasA* โดยการทำเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบเอสดีเอสพบว่า *E. coli* JM109(pKHASA-1) สร้างโปรตีนขนาดประมาณ 42 KDa ซึ่งคาดว่าจะจะเป็นแถบโปรตีนของเอนไซม์ hyaluronan synthase และเมื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับของกรดอะมิโนโดยใช้ LC-MS-MS พบว่า เป็นเอนไซม์ hyaluronan synthase จาก *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกโดยวิธีคาร์บาโซล ไม่พบว่า *E. coli* JM109(pKHASA-1) มีการสังเคราะห์กรดไฮยาลูโรนิก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากใน *E. coli* JM109 ไม่สามารถผลิต glucuronic acid ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการสังเคราะห์สายโพลิเมอร์ของกรดไฮยาลูโรนิก

The expression of hyaluronan synthase gene (*hasA* gene) from *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* in *Escherichia coli* by using pKK223-3 vector systems was performed. The *hasA* gene was cloned to pKK223-3 and transformed to *E. coli* JM109. The recombinant plasmid, pKHASA-1, was sequenced and showed 100% homology to *hasA* gene from *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (GenBank AF414053). *E. coli* JM109(pKHASA-1) also produced a 42 KDa-proteins as analyzed by SDS-PAGE. Then, the protein was subsequently sequenced by LC-MS-MS technique and showed homology to hyaluronan synthase from *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. The quantitative analysis of hyaluronic acid by carbazole method was conducted and showed no hyaluronic acid produced by *E. coli* JM109(pKHASA-1). This probably due to a lack of UDP-glucuronic acid, an important substrate to produced hyaluronic acid, in *E. coli* JM109.