



รายงานการวิจัย

การศึกษาเบื้องต้นในการมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำยางจากต้น

Artocarpus heterophyllus

(Preliminary study of antibacterial property from

Artocarpus heterophyllus latex)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

b 00251932

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



247553

รหัสโครงการ SU 11 102534-14-33



รายงานการวิจัย

การศึกษาเบื้องต้นในการมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำยางจากต้น

Artocarpus heterophyllus

(Preliminary study of antibacterial property from

Artocarpus heterophyllus latex)



ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

การศึกษาเบื้องต้นในการมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำยางจากต้น

Artocarpus heterophyllus

(Preliminary study of antibacterial property from

Artocarpus heterophyllus latex)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เทคนิคการแพทย์หญิง ดร. จารุวรรณ สิริเทพทวี

สาขาวิชาชีวเคมี

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2554

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ธันวาคม 2554

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 ผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการศึกษาการออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดโปรตีนที่ได้ สถาบันอนุชีววิทยา และพันธุศาสตร์ (Molecular Biology and Genetics) มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการศึกษาการ folding ของโปรตีนด้วยเทคนิค circular dichroism spectroscopy ขอขอบคุณกลุ่มวิจัย Protein and Proteomic ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นในการให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการศึกษา 2D gel electrophoresis และขอขอบคุณบริษัท Coax Group Corporation ที่อนุเคราะห์เครื่องมือในการศึกษารูปร่างของแบคทีเรียด้วยเทคนิค atomic force microscopy

บทคัดย่อ

247553

โปรตีนขนาด 48 kDa สามารถแยกและทำให้บริสุทธิ์จากน้ำยางของต้น *Artocarpus heterophyllus* (ขนุน) ด้วยการตกตะกอนด้วยกรด และโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนไอออน โปรตีนนี้มีคุณสมบัติเป็นโปรตีเอสเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีเจลาตินและเคซีนไซโมกราฟี เนื่องจากโปรตีนนี้มีขนาดโมเลกุลเมื่อวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE ประมาณ 48 กิโลดาลตัน จึงเรียกโปรตีนนี้ว่า antimicrobial protease-48kDa หรือ AMP48 โปรตีน AMP48 มีค่า isoelectric point (pI) ประมาณ 4.2 นอกจากนี้พบว่าโปรตีน AMP48 มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียได้โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุด (MIC) เท่ากับ 2.2 mg/ml และสามารถเชื้อแบคทีเรียได้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุด (MBC) เท่ากับ 8.8 mg/ml ผลการวิเคราะห์ AFM image ช่วยในการสนับสนุนว่า AMP48 มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยแบคทีเรียที่ได้รับโปรตีนจะมีรูปร่างและขนาดที่ผิดปกติไปจากสภาวะที่ไม่ได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญ

Abstract**247553**

A 48-kDa protein was isolated and purified from crude latex of *Artocarpus heterophyllus* (jackfruit) by acid precipitation and ion exchange chromatography. This protein contained protease activity by gelatin- and casein-zymography. The protease was designated as antimicrobial protease-48 kDa or AMP48 due to its molecular mass on SDS-PAGE was approximately 48 kDa. The isoelectric point (pI) of AMP48 was approximately 4.2. In addition, AMP48 contained antimicrobial activities by it could inhibit the growths of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 at minimum inhibitory concentration (MIC) 2.2 mg/ml and Minimum bactericidal concentration (MBC) 8.8 mg/ml. AFM image also supported the antimicrobial activities of AMP48 by the treated bacterial morphology and size were altered from normal.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
กรอบแนวคิดของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	3
บทที่ 2 เอกสารและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
ชุนน	4
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการมีฤทธิ์เป็น antibacteria ของน้ำยางจากพืช	5
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัยและผลการทดลอง	6
บทที่ 4 วิเคราะห์ผลการทดลอง	13
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	15
บรรณานุกรม	16
ภาคผนวก	18
ประวัติผู้วิจัย	22

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงขั้นตอนการ purify โปรตีนจากน้ำยางของขมุนและ % yield ที่ได้	7
ตารางที่ 2 Minimal inhibitory concentration (MIC) และ minimal bactericidal concentration (MBC) ของโปรตีน AMP48	11

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 โปรตีนขนาด 48 kDa ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เมื่อแยกด้วย เทคนิค 12.5% gel SDS-PAGE	7
รูปที่ 2 ผล 2D gel electrophoresis ของโปรตีน AMP48 จากยางขนุน	8
รูปที่ 3 CD spectra ของโปรตีน AMP48.....	9
รูปที่ 4 คุณสมบัติการเป็นเอนไซม์ protease ของโปรตีน AMP48 ด้วยเทคนิค zymography	10
รูปที่ 5 ภาพพื้นผิว (surface) ของแบคทีเรีย <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 เมื่อวิเคราะห์ด้วย AFM	12