

สารบัญ

สารบัญภาพ	3
บทนำ	5
ความเป็นมา	5
วัตถุประสงค์ เฉพาะในปีที่ ๑	5
ขอบเขตการวิจัย	6
ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย (Conceptual Framework)	6
วิธีการดำเนินการวิจัย	7
เนื้อเรื่อง	9
การทบทวนวรรณกรรม (reviewed literature) / สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง	9
ก. ไคติน (chitin) และเอนไซม์ไคติเนส (chitinase)	9
ข. แหล่งที่พบเอนไซม์ไคติเนส	9
ค. คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเอนไซม์ไคติเนส	9
ง. การนำเอนไซม์ไคติเนสไปใช้ประโยชน์	10
บทความปริทรรศน์เรื่อง Chitin Research Revisited	11
วิธีการดำเนินการทดลอง	37
วัสดุและอุปกรณ์	37
วิธีการโคลนเอนไซม์	37
การแสดงออกของโปรตีนและการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์	37
การวิเคราะห์โปรตีนด้วย SDS-PAGE และไซโมแกรม	38
การวัดกิจกรรมของเอนไซม์โดยใช้ pNP-chitobiose (pNP-(GlcNAc) ₂)	38
การทดสอบผลของค่า pH และ อุณหภูมิที่มีกิจกรรมเอนไซม์	38
การทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไคติเนส	39

การวัดกิจกรรมเอนไซม์โดยใช้ colloidal chitin	39
การตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	39
การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา	39
ผลการทดลอง	40
๑. การโคลน การผลิต และการวิเคราะห์โครงสร้างเอนไซม์ไคติเนส (ChiA) จากเชื้อ <i>Bacillus licheniformis</i>	40
๒. การผลิต การทำให้บริสุทธิ์ และการวิเคราะห์คุณสมบัติ เอนไซม์ไคติเนส (ChiA) จากเชื้อ <i>Bacillus licheniformis</i>	42
๒. การศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา	44
๓. การค้นพบและการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืช โดยบังเอิญ	45
๔. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> MY-1 ตัวใหม่ ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืช	47
ข้อวิจารณ์	49
สรุป และข้อเสนอแนะ	51
บรรณานุกรม	52
ภาคผนวก	55
ก. การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการจากโครงการวิจัยนี้	55
ก.๑ การตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการระดับนานาชาติที่มี peer review (impact factor 3.471)	55
ก.๒ การนำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ	55
ข. ผลการวิเคราะห์เอกลักษณ์ของเชื้อที่คัดหามาได้ด้วยวิธีการทางชีวเคมี (๓ หน้า)	56
ประวัตินักวิจัย	61
ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้	61

สารบัญภาพ

รูปที่ ๑	รูปแสดงลำดับกรดอะมิโนของเอนไซม์ chitinase จากเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ	41
รูปที่ ๒	รูปแสดงโครงสร้าง ๓ มิติของเอนไซม์ chitinase จากเชื้อ <i>Bacillus licheniformis</i> ในโครงการวิจัยนี้	42
รูปที่ ๓	ผังแสดงโครงสร้างของ recombinant chitinase จากเชื้อ <i>Bacillus licheniformis</i> DSM 8785 ใน การวิจัยนี้	43
รูปที่ ๔	รูปแสดงเอนไซม์ จากเชื้อ <i>Bacillus licheniformis</i> DSM 8785 ในการวิจัยนี้ ที่ได้ทำให้บริสุทธิ์ แล้วจากการวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE และ HPLC	44
รูปที่ ๕	ผลแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา <i>Didymella bryoniae</i>	45
รูปที่ ๖	ภาพแสดงเชื้อแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งเชื้อรา ซึ่งถูกค้นพบโดยบังเอิญ (ศรีชัย)	46