เจนวิชญ์ พฤฑฒิกุล 2555: การแสดงออกและสมบัติของเอนไซม์เคราติเนส จากเซลล์ลูกผสมสายพันธุ์ *Escherichia* และสายพันธุ์ *Pichia* ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, Ph.D. 108 หน้า

Bacillus licheniformis KUB-K0006 เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์เคราติเนสที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายขนไก่ได้สูง ซึ่งสามารถนำไปใช้ในกระบวนการผลิตขนไก่ป่นเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ แต่อย่างไรก็ตามเชื้อ *B. licheniformis* KUB-K0006 มีการสร้างเมือกในระหว่างการเจริญทำให้ผลผลิตเอนไซม์ลดลง ดังนั้นจึงศึกษาการโคลนและแสดงออกของยีนเคราติเนสจากเชื้อ *B. licheniformis* KUB-K0006 ในเซลล์เจ้าบ้านอื่น เพื่อสร้างเซลล์ลูกผสมที่สามารถผลิตและหลั่งเอนไซม์เคราติเนสออกสู่ภายนอกเซลล์ได้ในระดับสูง โดยออกแบบไพรเมอร์เพื่อเพิ่มจำนวนยีนเคราติเนสและเชื่อมต่อยีนเข้ากับเวคเตอร์สำหรับการแสดงออก คือ pFLAG-CTS และ pPICZα B ถ่ายโอนเข้าสู่ *Escherichia coli* Rosetta และ TOP10 และ *Pichia pastoris* Y11430 ตามลำดับ พบว่ายีนเคราติเนสสามารถแสดงออกในระบบ *E. coli* และ *P. pastoris* ได้ ผลการตรวจสอบรีคอมบิแนนท์เคราติเนสจากเซลล์ลูกผสม *E. coli* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ด้วยวิธี SDS-PAGE พบรีคอมบิแนนท์เคราติเนสขนาด 54 กิโลดาลตัน แต่ไม่สามารถหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสและค่ากิจกรรมของเอนไซม์เคราติเนสได้ ในขณะที่เซลล์ลูกผสม *P. pastoris* สามารถผลิตรีคอมบิแนนท์เคราติเนสที่มีขนาด 47 กิโลดาลตัน รีคอมบิแนนท์เคราติเนสที่ผลิตสามารถหลั่งออกสู่ภายนอกเซลล์ และแสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส 10.46 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่ไม่สามารถหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เคราติเนสจากการใช้ขนไก่บดเป็นสับสเทรต

_____ / ____ / ____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์