ปาณิสรา เหมินทร์ 2551: การโคลนและการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์แมนนาเนส จาก *Bacillus amyloliquefaciens* NT 6.3 และ *Bacillus circulans* NT 6.7. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, Ph.D. 92 หน้า

เอนไซม์แมนนาเนสสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตแมนโน-โอลิโกแซคคาไรด์เพื่อใช้เป็นสารพรีไบโอติกที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียในลำไส้ที่เป็นประโยชน์ (Probiotic) เอนไซม์แมนนาเนสสามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายแหล่งโดยเฉพาะแบคทีเรีย ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์ได้ปริมาณมาก ควบคุมการผลิตได้ง่าย การวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะโคลนยีนที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์แมนนาเนสจากแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* NT 6.3 และ *Bacillus circulans* NT 6.7 เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน และลักษณะของเอนไซม์ที่ผลิตได้จากเซลล์ลูกผสม (Recombinant cells) โดยใช้ *Escherichia coli* DH5α เป็นเซลล์เจ้าบ้าน พบเซลล์ลูกผสมจำนวน 3 โคลนที่แสดงกิจกรรมเอนไซม์แมนนาเนส ได้แก่เซลล์ลูกผสม 6.3-379, 6.7-33 และ 6.7-780 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์จำเพาะเป็น 0.080, 0.132 และ 0.304 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน รวมทั้งแสดงกิจกรรมการย่อยบนสับสเตรตชนิดแข็งทำให้เกิดวงใส (Clear zone) ขนาด 1.3, 1.4 และ 1.7 ซม. ตามลำดับ เอนไซม์ที่ได้มีความจำเพาะสูงต่อสับสเตรตประเภทกลูโคแมนแนน และกาแลคโตแมนแนนเช่นเดียวกับจุลินทรีย์ต้นแบบ เมื่อศึกษา Zymogram ของเอนไซม์จากเซลล์ลูกผสมทั้ง 3 พบว่าเอนไซม์ดังกล่าวปรากฏแถบของโปรตีนที่แสดงกิจกรรมต่อสับสเตรต Locust bean gum (LBG) ในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกับจุลินทรีย์ต้นแบบ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ลูกผสมซ้ำอีกครั้งเพื่อตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนเบต้า-แมนนาเนส โดยการสกัดดีเอ็นเอและตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*HI และ *Xba*I และทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะนั้นไม่ปรากฏชิ้นส่วนของยีนเบต้า-แมนนาเนสทั้งบนพลาสมิดลูกผสม และโครโมโซมจากเซลล์ลูกผสมทั้ง 3 ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องจากความไม่เสถียรของพลาสมิด pHT43 ที่นำมาใช้ในการทดลอง

ปาณิสรา เหมินทร์ — ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อประธานกรรมการ — 23 / พ.ค. / 51