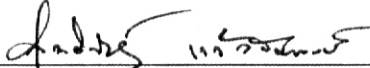


ปาณิสรา เหมินทร์ 2551: การโคลนและการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้าง
เอนไซม์แมนนาเนส จาก *Bacillus amyloliquefaciens* NT 6.3 และ *Bacillus circulans*
NT 6.7. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ปรธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิพันธุ์
แก้วสมพงษ์,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

เอนไซม์แมนนาเนสสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตแมนโน-โอลิโกแซคคาไรด์
เพื่อใช้เป็นสารพรีไบโอติกที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียในลำไส้ที่เป็นประโยชน์
(Probiotic) เอนไซม์แมนนาเนสสามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายแหล่งโดยเฉพาะแบคทีเรีย ซึ่ง
สามารถผลิตเอนไซม์ได้ปริมาณมาก ควบคุมการผลิตได้ง่าย การวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะโคลนยีน
ที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์แมนนาเนสจากแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* NT 6.3 และ
Bacillus circulans NT 6.7 เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน และลักษณะของเอนไซม์ที่ผลิตได้จาก
เซลล์ลูกผสม (Recombinant cells) โดยใช้ *Escherichia coli* DH5 α เป็นเซลล์เจ้าบ้าน พบเซลล์ลูก
ผสมจำนวน 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 และ
กาแลกโตแมนแนนเช่นเดียวกับจุลินทรีย์ต้นแบบ เมื่อศึกษา Zymogram ของเอนไซม์จากเซลล์ลูก
ผสมทั้ง 3 พบว่าเอนไซม์ดังกล่าวปรากฏแถบของโปรตีนที่แสดงกิจกรรมต่อสับสเตรต Locust
bean gum (LBG) ในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกับจุลินทรีย์ต้นแบบ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ลูกผสมซ้ำอีก
ครั้งเพื่อตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนเบต้า-แมนนาเนส โดยการสกัดดีเอ็นเอและตัดด้วย
เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*HI และ *Xba*I และทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะ
นั้นไม่ปรากฏชิ้นส่วนของยีนเบต้า-แมนนาเนสทั้งบนพลาสมิดลูกผสม และโครโมโซมจากเซลล์
ลูกผสมทั้ง 3 ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องจากความไม่เสถียรของพลาสมิด pHT43 ที่นำมาใช้ในการทดลอง

ปาณิสรา เหมินทร์
ลายมือชื่อนิสิต


ลายมือชื่อประธานกรรมการ