

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

แบบ สว.ว 5

แบบฟอร์มบทยย่อ

ภาษาไทย

ส่วนที่ 1

ชื่อโครงการ “การโคลนนิ่งยีนเคอราตินเนสจาก *Feridobacterium* spp. ขอบรื้อนสูงที่แยกได้จากน้ำพุร้อนในประเทศไทย สำหรับกำจัดขยะชนิดสัตว์ปีกจากโรงฆ่าสัตว์”

ชื่อผู้วิจัย 1 รองศาสตราจารย์ ดร. วิโรจน์ กนกศิลปธรรม

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2559

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ พ.ศ. 2559

ประเภทการวิจัย การวิจัยพื้นฐาน / การวิจัยประยุกต์ / การพัฒนาทดลอง

สาขาวิชา (อ้างอิงตามวช.) สาขาวิชาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา กลุ่มชีววิทยาศาสตร์ชีวภาพ แขนงวิชาจุลชีววิทยา

ส่วนที่ 2

บทยย่อ

Feridobacterium sp. FC2004 และ *Feridobacterium* sp. FA004 เป็นแบคทีเรียขอบรื้อนสูงใน order Thermotogales ที่สามารถย่อยชนิดสัตว์ปีก งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาอินผลิตเอนไซม์ทนร้อนเคอราตินเนส จากจีโนมของ *Feridobacterium* sp. และเพื่อโคลนนิ่งยีน สำหรับการประยุกต์ใช้ประโยชน์ต่อไป ในการศึกษาค้นพบยีนผลิต serine protease (522 กรดอะมิโน) จากโครโมโซมของ *Feridobacterium* sp. FC2004 ด้วยวิธี shotgun sequencing และตั้งชื่อยีนว่า “*proA1*” (เรียกโปรตีนว่า “ProA1”) การวิเคราะห์ด้วย BlastP analysis แสดงว่าโปรตีน ProA1 มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายกับ large S8_subtilase superfamilies of serine proteases (ขนาด 682 – 710 กรดอะมิโน) จาก *Feridobacterium pennivorans* DSM 9078^T (WP_064012406.1; 52 %), *F. islandicum* AW-1 (WP_052107197.1; 48 %) และ *F. nodosum* Rt17-B1T (WP_011994230.1; 48 %) แต่มีขนาดเล็กกว่า โมเดล 3 มิติของ ProA1 คล้ายกับ feridolysin (large S8_subtilase ชนิดหนึ่ง) โมเลกุล ProA1 ประกอบด้วย signal peptide (ประมาณ 20 กรดอะมิโน) โดเมน PD

(propeptide domain), CD (catalytic domain) และโดเมนที่คล้ายกับ SD หรือ SD-like (substrate binding domain) 1 ชุด แต่ไม่พบ SD2 (substrate binding domain ชุดที่ 2) บริเวณ CD ของ ProA1 มี catalytic triad คือ D169, H207 และ S379 และมี calcium binding site ประกอบด้วย E136, D178, D220, K222 และ V224 ผลการศึกษาแสดงว่า ProA1 อาจถูกสังเคราะห์เป็น ProA1 precursor (proProA, ไม่มีกิจกรรมเอนไซม์) ซึ่ง PD ถูกตัดออกก่อนเพื่อเปลี่ยนเป็น ProA1 เต็มวัย (มีกิจกรรมเอนไซม์) ในการศึกษาชิ้นนี้ ชิ้น DNA ที่มีรหัสของ ProA1, CD และ SD-like ถูกจำลองด้วยไพรเมอร์ ยืนยันการมีอยู่ของยีน *proA1* ในโครโมโซมของ *Fervidobacterium* sp. FC2004 อนุสรณ์ในการโคลนนิ่งยีนนี้เข้าสู่ expression vector อาจเนื่องมาจาก ProA1 เต็มวัยเป็นพิษต่อเซลล์ และอาจมีปัจจัยภายในที่ไม่ทราบสาเหตุต่าง ๆ จากตัวยีนและเจ้าบ้าน ถึงแม้ว่า *Fervidobacterium* sp. FC2004 สามารถย่อยขนเป็ดได้ และโดเมน SD-like ของ Pro1 คล้ายกับโดเมนที่ทำหน้าที่เกาะกับโปรตีนเป้าหมายของ collagen binding protein และ fibronectin binding protein อย่างไรก็ตามบทบาทหน้าที่ของ SD-like ในการเกาะกับ สับสเตรทเคอราติน ยังไม่ได้รับการพิสูจน์แน่ชัด

คำสำคัญ : keratinase, serine protease, thermostable, extreme thermophile, *Fervidobacterium*