

ศโรชา ปัญจนวพร 2551: การคัดกรองเชื้อราที่ผลิตเปปไทไบโอติกส์โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, Ph.D. 96 หน้า

เปปไทไบโอติกส์ (peptaibiotics) เป็นสารปฏิชีวนะในกลุ่มเปปไทด์สายยาว 5 – 21 เรซิดิวส์ ประกอบด้วย α -aminoisobutyric acid (Aib) และกรดอะมิโนไม่มาตรฐาน การสังเคราะห์เปปไทไบโอติกส์เป็นระบบ non – ribosomal system โดยกลุ่มเอนไซม์ non – ribosomal peptide synthetases (NRPSs) ที่ควบคุมโดยยีน *nrps* การค้นพบและศึกษาสารกลุ่มนี้ที่มีรายงานมาก่อน นิยมใช้เทคนิคทางเคมี งานวิจัยนี้มีเป้าหมายในการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการพัฒนาไพรเมอร์จำเพาะสำหรับกระบวนการพีซีอาร์เพื่อคัดกรองเชื้อราที่ผลิตเปปไทไบโอติกส์ ตลอดจนการศึกษามีเชื้อควบคุมการทดลอง คือ *Trichoderma asperellum* BCC12530 การทดสอบกระบวนการคัดกรองเชื้อราที่ผลิตเปปไทไบโอติกส์โดยมีตัวอย่างเชื้อราทั้งหมด 57 สายพันธุ์ พบว่าเทคนิคพีซีอาร์กับไพรเมอร์จำเพาะสามารถใช้คัดกรองเชื้อราได้ในระดับเบื้องต้นเท่านั้น โดยเชื้อที่พบยีนมีมากกว่าเชื้อที่ผลิตเปปไทไบโอติกส์ได้จริง 1.87 เท่าและอาจบอกได้ว่าเทคนิคพีซีอาร์กับไพรเมอร์มีความจำเพาะน้อยกว่าเทคนิคอื่นที่ใช้ในการศึกษานี้ ซึ่งการคัดกรองจะมีประสิทธิภาพสูงขึ้นเมื่อวิเคราะห์ควบคู่กับการตรวจสอบกรดอะมิโน Aib ด้วย Thin Layer Chromatography (TLC) และการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งทางชีวภาพ ซึ่งพบว่าสามารถจัดกลุ่มเชื้อราที่คาดว่ามีการสังเคราะห์เปปไทไบโอติกส์ได้ และพบเชื้อที่น่าสนใจควรศึกษาในลำดับต่อไป ได้แก่ *Clonostachys rogersoniana* BCC4862 และ *Mariannaea camptospora* BCC12193 จากงานวิจัยนี้สามารถกล่าวได้ว่าเทคนิคพีซีอาร์และไพรเมอร์มีประสิทธิภาพเพียงพอ ใช้คัดกรองและค้นหาเชื้อราสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่อาจมีความสามารถในการผลิตเปปไทไบโอติกส์ได้ในระดับเบื้องต้น

Sarocho Panchanawaporn 2008: Molecular Screening for Peptaibiotics Producing Fungi. Master of Science (Biotechnology), Major Field: Biotechnology, Department of Biotechnology. Thesis Advisor: Assistant Professor Suttipun Keawsompong, Ph.D. 96 pages.

Peptaibiotics are defined as a group of polypeptide antibiotics that contain the α -aminoisobutyric acid (Aib) and have been shown to have a wide spectrum of biological activities. The synthesis of peptaibiotic compound involves a non-ribosomal system based on peptide synthase (*nrps*) genes. A wide variety of novel forms of these compounds have been discovered and identified solely on chemical techniques. The present work used established PCR strategies in a screening for peptaibiotic producing fungi. The putative peptaibiotics producing strain, *Trichoderma asperellum* BCC12530, was used to identify the relevant genes and prove the peptaibiotics producing, and compared with TLC analysis and bioassays. These protocols were adapted to screen 57 strains of various filamentous fungi. Molecular screening by PCR with specific primers was less specific to target the peptaibiotic producing fungi than other methods used in this study. The strains presenting *nrps* gene from the total fungal isolates were 1.87 times more than another two screening methods. Chemical and bioassay analyses could be used, together with the molecular approach for the efficient screening of peptaibiotic producing fungi, some of which have been previously reported to produce peptaibiotics. *Clonostachys rogersoniana* BCC4862 and *Mariannaea camptospora* BCC12193 showed interesting results indicating the gene and Aib related to peptaibiotic production. This capability will be used for further primary screening of peptaibiotics from other sources and the results validated as the potential screening protocols.