

อภิปรายผลการวิจัย

1. การสร้างรีคอมบิแนนท์โปรตีนและการวิเคราะห์คุณสมบัติในการจับโลหะหนักของรีคอมบิแนนท์โปรตีนและ crude extract ของ *E. coli*

โปรตีนแต่ละชนิดมีความสามารถในการจับกับโลหะหนักได้แตกต่างกันการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับการจับกับโลหะหนักของ MTs ที่มี cysteine-rich motifs สามารถจับกับโลหะ zinc, copper, cadmium และ mercury (Mejäre & Bülow 2001; Das *et al.*, 2006) และ CopA, CopZ และ *mcsA* จาก *S. aureus* และโปรตีน N-WND and N-MNK ในคนที่มี CXXC motif สามารถจับ CuCl_2 , ZnCl_2 , CdCl_2 และ CoCl_2 (Lutsenko *et al.*, 1997; Sitthisak *et al.*, 2007; 2011) เช่นเดียวกับโปรตีนรีคอมบิแนนท์จาก heavy metal binding domain CXXC motif (*McsA*) ที่สามารถจับได้กับ CuCl_2 , ZnCl_2 , CdCl_2 และ CoCl_2 ปริมาณโปรตีน recombinant ที่มีคุณสมบัติในการจับกับโลหะ CuCl_2 , ZnCl_2 , CdCl_2 , CoCl_2 เทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดในเซลล์ของ *E. coli* BLR(DE3) เท่ากับ 3.53 %, 4.63 %, 3.86 % และ 3.33 % ตามลำดับ

2. ความคงทนของโปรตีนต่อความร้อน, อุณหภูมิ และ pH ที่มีผลต่อการจับโลหะหนัก

การศึกษาคงทนของโปรตีนต่อความร้อน ที่มีผลต่อการจับโลหะหนักพบว่าโปรตีนยังมีความสามารถในการจับกับโลหะหนัก Cu^{2+} และ Zn^{2+} หลังจากบ่มโปรตีนไว้ที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 30 นาที โดยที่อุณหภูมิ 55 °C จะเป็นอุณหภูมิที่การทำงานของโปรตีนเอ็นไซม์จะเสียไปส่วนที่อุณหภูมิ 85 °C จะเป็นอุณหภูมิที่โครงสร้างสามมิติของโปรตีนถูกทำลายและโปรตีน

เสี่ยสภาพ (Huang, 2010) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นแม้โปรตีน heavy metal binding domain CXXC motif (McsA) จะเสี่ยสภาพก็ไม่มีผลต่อการจับกับโลหะหนัก Cu^{2+} และ Zn^{2+} ของ heavy metal binding domain CXXC motif (McsA)

การศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการจับของโปรตีนพบว่าที่อุณหภูมิ 65 °C โปรตีนสามารถจับกับโลหะ Cu^{2+} แต่ไม่สามารถจับกับโลหะ Cd^{2+} , Co^{2+} และ Zn^{2+} ได้ขณะที่ pH 3-7 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการจับกับโลหะหนักของโปรตีน ผลจากการศึกษาคั้งนี้ใกล้เคียงกับการศึกษาก่อนหน้านี้โดย Hinc และคณะ (2010) ที่ได้ expressed CotB ที่มี metal binding domain เป็น poly-his ใน *Bacillus subtilis* spores พบว่าอุณหภูมิ 25-45 °C และ pH 5-9 ไม่มีผลต่อการจับของโลหะหนักกับรีคอมบิแนนท์โปรตีน

แบคทีเรีย *E. coli* ที่มีการ expressed heavy metal binding domain CXXC motif recombinant protein มีการเพิ่มขึ้นของความทนต่อโลหะหนัก

โปรตีนที่จับกับโลหะหนักทำหน้าที่เป็น heavy metal chaperone ในการจับและลดพิษของโลหะหนักเมื่อตอบสนองต่อ stress response จากโลหะหนัก (Jordan et al., 2001; Ettema et al., 2003) ในการศึกษาความทนต่อโลหะหนักพบว่าแบคทีเรีย *E. coli* ที่มีการ expressed heavy metal binding domain CXXC motif จะมีความทนต่อโลหะคอปเปอร์ และ แคดเมียม เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ *E. coli* ที่ไม่มีการ expressed โปรตีน ผลเช่นเดียวกับ การศึกษาก่อนหน้านี้เมื่อมีการสร้าง *E. coli* ที่มียีน *cus* system ที่เกี่ยวข้องกับการขนส่ง Cu^{2+} ให้มีการแสดงออกที่ผนังเซลล์ของ *E. coli* พบว่า *E. coli* ที่มีการแสดงออกที่ผนังเซลล์ของยีนจาก *cus* system ที่เกี่ยวข้องกับการขนส่ง Cu^{2+} มีความทนต่อโลหะหนักคอปเปอร์เพิ่มขึ้น (Ravikumar S et al., 2011)