

บทคัดย่อ

๒๕๖๖

โปรตีนที่มีความสามารถในการจับกับโลหะหลายชนิดถูกนำมาใช้ในการศึกษาเพื่อนำไปกำจัดโลหะหนักจากสิ่งแวดล้อม โปรตีนที่มี CXXC motif เป็นโปรตีนโดเมนที่สามารถจับกับโลหะหนักได้หลายชนิด และพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิดรวมทั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ในงานวิจัยนี้ได้ทำการโคลนและ overexpressed โปรตีนที่มี CXXC motif ที่มีคุณสมบัติจับกับโลหะหนักจาก *mcsA* gene ของ *S. aureus* ใน *Escherichia coli* และศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการจับโลหะหนักของรีคอมบิแนนท์โปรตีนในสภาวะต่าง ๆ เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้โปรตีนหรือเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีนในการกำจัดโลหะหนักจากสิ่งแวดล้อม ผลการศึกษาพบว่าโปรตีนที่มี CXXC motif มีคุณสมบัติจับกับโลหะหนัก Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} และ Zn^{2+} การศึกษาความคงทนของโปรตีนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 37 °C, 45 °C, 65 °C และ 85 °C ที่มีผลต่อการจับโลหะหนักพบว่าโปรตีนยังมีความสามารถในการจับกับโลหะหนัก Cu^{2+} และ Zn^{2+} หลังจากบ่มโปรตีนไว้ที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 30 นาที การศึกษาอุณหภูมิที่มีผลระหว่างการจัดของโปรตีนกับโลหะหนักพบว่าที่อุณหภูมิ 65 °C โปรตีนสามารถจับกับโลหะ Cu^{2+} แต่ไม่สามารถจับกับโลหะ Cd^{2+} , Co^{2+} และ Zn^{2+} ได้ขณะที่ pH 3-7 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการจับกับโลหะหนักของโปรตีน เซลล์ *E. coli* ที่มีการแสดงออกของโปรตีนที่มี CXXC motif พบมีความทนต่อโลหะหนัก $CuSO_4$ และ $CdCl_2$ เพิ่มขึ้น ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงว่าโปรตีนที่มี metal binding domain (CxxC motif) มีความสามารถกับการจับโลหะหนักได้หลายชนิดและคุณสมบัติในการจับโลหะหนักมีความทนต่อสภาวะแวดล้อมเช่น pH และอุณหภูมิ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการนำโปรตีนไปใช้ในการศึกษาเพื่อกำจัดโลหะหนัก ต่อไปในอนาคต

Abstract

210960

A number of heavy metal-binding protein in microorganisms has been used to study bioremediation. CxxC motif metal binding domain is the protein that contained Cys-X-X-Cys motif which are capable to bind various type of heavy metals. We have cloned and overexpressed the heavy metal binding domain CxxC motif recombinant protein from *mcsA* gene of *Staphylococcus aureus* in *Escherichia coli*. We study the factors involving the metal binding activity in different condition in order to analyze the potential of the recombinant protein for bioremediation. The recombinant protein can bound to Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} . Thermal stability of the recombinant protein was tested at 37 °C, 45 °C, 65 °C and 85 °C. The results shown that the metal binding activity to Cu^{2+} and Zn^{2+} still present after treatment the protein at 85 °C for 30 min. Temperature and pH that affect the metal binding activity was tested and the results showed that recombinant protein bound to Cu^{2+} at 65 °C whereas the pH 3-7 do not affect the metal binding. *E. coli* harboring pRset with heavy metal binding domain CXXC motif increased heavy metal resistance against CuSO_4 and CdCl_2 . The results from our study shown that metal binding domain (CxxC motif) recombinant protein can bind effectively to various types of heavy metals and this metal binding domain may be used as a potential tool for study bioremediation.