กรัณต์ โล่ห์มณีรัตนา 2554: การวิเคราะห์เอนไซม์และยีนที่เกี่ยวข้องกับการย่อย poly (L-lactic acid) จาก *Micromonospora* ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต, Ph.D. 107 หน้า

แอคติโนมัยสีทเอนโดไฟต์ 3 สายพันธุ์จาก Genetic-Microbiology Kasetsart University (GMKU) culture collection จำนวน 164 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ GMKU 353 GMKU 358 และ GMKU 362 มีความสามารถในการย่อย poly(L-lactic acid) (PLA) บนอาหารแข็ง และสามารถย่อยแผ่นฟิล์ม PLA ในอาหารเหลว โดยพบการเสียสภาพของแผ่นฟิล์มเมื่อตรวจสอบภายใต้กล้อง scanning electron microscope เมื่อวิเคราะห์การย่อย PLA ด้วยวิธี surface plasmon resonance (SPR) พบว่า GMKU 358 มีความสามารถในการย่อย PLA ได้สูงสุดที่ pH 8-10 ในสภาวะที่ไม่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ด้วยค่า specific activity เท่ากับ 0.22 mg $hr^{-1}mg^{-1}$ crude enzyme เมื่อนำแอคติโนมัยสีท 3 สายพันธุ์นี้มาหาลำดับเบสของยีน 16S rRNA แล้วเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล พบว่าอยู่ในสกุล *Micromonospora* จากนั้นออกแบบไพรเมอร์เพื่อเพิ่มปริมาณยีนที่เกี่ยวข้องกับการย่อย PLA โดยเลือกยีนในกลุ่ม serine protease เมื่อหาลำดับเบสจากผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของ *Micromonospora* sp. GMKU 358 พบว่ามีความคล้ายคลึงกับยีน peptidase S8 และ S53 subtilisin kexin sedolisin จาก *Micromonospora* sp. L5 (ความเหมือน 84 % ความคล้าย 92 %) และ serine protease จาก *Micromonospora* sp. ATCC 39149 (ความเหมือน 66 % ความคล้าย 79 %) เมื่อตรวจสอบหน้าที่ของยีนดังกล่าวด้วยการทำยีนดิสรับชัน โดยเชื่อมยีนเข้าพลาสมิด pIJ8671 (pIJ8671-SER) แล้วทรานฟอร์มเข้าสู่ *E. coli* ET12567/pUZ8002 แล้วส่ง pIJ8671-SER เข้าสู่ *Micromonospora* sp. GMKU 358 ด้วยวิธีคอนจูเกชันต่างสกุล พบว่าสายพันธุ์กลายที่ได้ยังสามารถย่อย PLA บนอาหารแข็งได้ แสดงว่า *Micromonospora* sp. GMKU 358 ผลิตเอนไซม์ PLA depolymerase ในกลุ่มเอนไซม์อื่นที่ไม่ใช่ serine protease ชนิดนี้ หรือมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยมากกว่าหนึ่งชนิด

_____ / ___ / ____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์