

ณริดา อารีย์ 2551: การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์รีคอมบิแนนต์เบต้า-กลูโคซิเดส กลายพันธุ์ โดยวิธีทาคุชิ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประมุข กระกูลสุขสถิตย์, Ph.D. 150 หน้า

การศึกษาผลของเมทานอลต่อการเพาะเลี้ยงรีคอมบิแนนต์ *Pichia pastoris* เพื่อการผลิตเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส กลายพันธุ์ (A454N) พบลักษณะการยับยั้งการเจริญเติบโตแบบสับสเตรดความเข้มข้นสูงที่ความเข้มข้นของเมทานอลมากกว่า 5 กรัม/ลิตร ดังนั้นจึงเลือกเมทานอลความเข้มข้น 4 กรัม/ลิตร เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการศึกษาลำดับต่อไป

การออกแบบการทดลองด้วยวิธีทาคุชิโดยศึกษา 3 ปัจจัย คือ ค่าออกซิเจนละลาย ค่าความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิ จำนวน 2 ระดับ แบบ $L_4 (2^3)$ Orthogonal Array พบว่าสภาวะที่ให้กิจกรรมเอนไซม์และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์สูงสุด (Q_p) คือ ค่าออกซิเจนละลาย 50 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรดด่าง 5.5 และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง 28 องศาเซลเซียส ขณะที่สภาวะที่ให้ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อเมทานอลสูงสุด ($Y_{p/m}$) คือ ค่าออกซิเจนละลาย 25 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรดด่าง 5.5 และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง 28 องศาเซลเซียส และพบว่าค่าความเป็นกรดด่างมีอิทธิพลต่อกิจกรรมเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส อัตราการผลิตเอนไซม์เชิงปริมาตร และค่าผลได้ของเอนไซม์ต่อเมทานอลมากที่สุด ส่วนผลของออกซิเจนละลายพบว่ามีอิทธิพลมากกว่าอุณหภูมิต่อกิจกรรมเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสและอัตราการผลิตเอนไซม์เชิงปริมาตร ขณะที่อุณหภูมิกลับมีอิทธิพลมากกว่าค่าออกซิเจนละลายต่อค่าผลได้ของเอนไซม์ต่อเมทานอล

การศึกษาวិธีการเติมเมทานอลเป็นระยะแบบขั้นบันไดโดยพิจารณาถึงปริมาณของเซลล์ในขณะทำการหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมที่ได้จากวิธีทาคุชิ พบว่าสามารถให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุด อัตราการผลิตเอนไซม์เชิงปริมาตรและค่าผลได้ของเอนไซม์ต่อเมทานอล เท่ากับ 2,681 ยูนิต/ลิตร 36 ยูนิต/ลิตร. ชั่วโมง และ 6 ยูนิต/ลิตร. กรัม ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเติมเมทานอลเป็นระยะแบบคงที่ ณ เวลาการหมักที่เท่ากันพบว่า กิจกรรมเอนไซม์สูงสุด อัตราการผลิตเอนไซม์เชิงปริมาตร ค่าผลได้ของเอนไซม์ต่อเมทานอล และอัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะสูงขึ้น 7 เท่า 7 เท่า 3 เท่า และ 3 เท่า ตามลำดับ ดังนั้นวิธีทาคุชิจึงเป็นวิธีการออกแบบการทดลองที่มีประสิทธิภาพเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมและเมื่อพัฒนาวิธีการเติมเมทานอลเป็นระยะแบบขั้นบันได พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส กลายพันธุ์ (A454N) ให้ดียิ่งขึ้น

ณริดา อารีย์

ลายมือชื่อนิติ

ณริดา อารีย์

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

23 / 5 / 51