

ศลยา สุขสอาด 2550: การโคลนยีนย่อยลิกันจาก White-rot Fungi เพื่อการปรับปรุง  
สายพันธุ์ ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขา  
เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ประชานกรรมการที่  
ปรึกษา: อาจารย์ชวลิต สงประยูร, Ph.D. 93 หน้า

เอ็นไซม์ย่อยลิกันจากจุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษรวมทั้ง  
การกำจัดสารพิษในสิ่งแวดล้อม การศึกษาเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยลิกันสามารถนำมาใช้  
ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์จุลินทรีย์ให้มีคุณสมบัติตามที่ต้องการได้ งานวิจัยนี้ได้คัดเลือกรา  
กลุ่ม white-rot ที่ผลิตเอ็นไซม์ย่อยลิกันได้สูง 1 เชื้อ จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์  
ส่วน ITS ใน ribosomal DNA กับฐานข้อมูลใน Gene Bank พบว่าเป็นเชื้อในจีนัส *Ganoderma* sp.  
เมื่อหาลองแยก cDNA ของเอ็นไซม์ย่อยลิกันของเชื้อที่ได้จาก mRNA โดยใช้ชิ้นที่ปลาย 5' ของ  
เอ็นไซม์ manganese peroxidase จาก *Ganoderma formosanum* และ *Ganoderma australe* พบ  
โคลนที่มีชิ้นส่วนของยีนในกลุ่ม peroxidase จำนวน 4 โคลน โดยโคลน E1-2 พบ promoter  
ทางด้าน 5' ประกอบด้วย TATA box ที่ตำแหน่ง 144-149 CAT box ที่ตำแหน่ง 306-311 และ  
326-330 พบ start codon (ATG) ที่ตำแหน่ง 599-601 และพบว่ามี metal response element (MRE)  
อยู่ระหว่าง TATA box และ CAT box ในตำแหน่งที่ 162-167 จากการเปรียบเทียบลำดับกรด  
อะมิโนกับฐานข้อมูลเอ็นไซม์ย่อยลิกันในรากลุ่ม white-rot ชนิดอื่น พบว่าโคลน E5-2 เป็นส่วน  
ของเอ็นไซม์ manganese peroxidase เนื่องจากพบกรดอะมิโนที่อยู่บริเวณ manganese binding site  
โดยคาดว่ากรดอะมิโน Glu62, Val65 และ Asp142 เป็นกรดอะมิโนที่จับกับ  $Mn^{2+}$  และมี Arg70,  
Arg72 และ Arg136 อยู่บริเวณ heme group

Solaya Suksa-ard 2007: Molecular Cloning of Ligninase Gene from White-rot Fungi for Strain Improvement. Doctor of Philosophy (Agricultural Biotechnology), Major Field: Agricultural Biotechnology, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Mr. Chawalit Hongprayoon, Ph.D. 93 pages.

Lignolytic enzymes play important roles in pulp and paper industry and xenobiotic compounds degradation. Molecular genetics studies of lignolytic enzymes can lead to strain improvement for desired property. In this research, lignolytic fungi were screened and selected for the highest enzyme activity strain. Based on ITS ribosomal DNA sequences comparison, the selected fungus was found to be *Ganoderma* sp. The cDNA encoding manganese peroxidase was isolated from mRNA pool of the fungus by using nucleotide sequences at 5' end of manganese peroxidase from *Ganoderma formosanum* and *Ganoderma australe* as a primer. Four clones were found to have peroxidase gene. Clone E1-2 contained promoter sequence at 5' terminal with TATA box, CAT box and start codon at 144-149, 306-311 and 326-330 and 599-601 nucleotide positions, respectively. The metal response element was found at nucleotide position 162-167 between TATA box and CAT box. Based on amino acid comparison of lignolytic enzymes from white-rot fungi, the clone E5-2 was found to be a fragment of manganese peroxidase with Glu62, Val65 and Asp142 interacted with  $Mn^{2+}$  at manganese binding site while Arg70, Arg72 and Arg136 were the residues near heme group.