ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ เอนไซม์เอนโดนิวคลีเอส ไทป์ II จากแบคทีเรียทนร้อนที่ได้จากดินบริเวณน้ำพุร้อนในจังหวัดเชียงราย และ แม่ฮ่องสอน

ผู้เขียน นาย วุฒิชัย นาชัยเวียง

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สกุณณี บวรสมบัติ

บทคัดย่อ

เอนไซม์ตัดจำเพาะเอนโดนิวคลีเอส เป็นเอนไซม์ที่สามารถจดจำและตัดดีเอ็นเอสายคู่ที่ตำแหน่งจำเพาะ เอนไซม์ตัดจำเพาะ ไทป์ II เป็นเอนไซม์ตัดจำเพาะที่มีความจำเพาะเจาะจงมากที่สุด กล่าวคือสามารถตัดดีเอ็นเอที่ตำแหน่งจดจำ ในขณะที่เอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดอื่นไม่สามารถตัดดีเอ็นเอที่ตำแหน่งจดจำได้ จึงได้คัดกรองเพื่อหาเอนไซม์ตัดจำเพาะ ไทป์ II ชนิดใหม่ หรือไอโซชิโซเมอร์ จากเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินบริเวณน้ำพุร้อน ในจังหวัดเชียงราย และ แม่ฮ่องสอน จำนวนทั้งสิ้น 47 ไอโซเลต เชื้อทั้งหมดได้จากการนำตัวอย่างดินใส่ลงใน half strength nutrient broth บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน และเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 3 วัน ปรากฏว่าได้แบคทีเรียที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ตัดจำเพาะ ไทป์ II ทั้งหมด 9 ไอโซเลต เมื่อนำเอนไซม์ตัดจำเพาะ ไทป์ II เหล่านี้ไปทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟี ชนิด phosphocellulose และ sephacryl S-200 ตามลำดับ พบว่าได้เอนไซม์ตัดจำเพาะไทป์ II ที่มีลักษณะต่างกันทั้งสิ้น 2 รูปแบบ โดยรูปแบบแรกได้จากไอโซเลต TP011NA ซึ่งเป็นไอโซชิโซเมอร์ของเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Cla*I โดยการคาดคะเนตำแหน่งตัดด้วยวิธี double digestion และรูปแบบที่ 2 ได้จากไอโซเลต KJ012 ซึ่งเป็นไอโซชิโซเมอร์ของเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Nsp*V นอกจากนี้ยังพบว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้ สามารถทนอุณหภูมิสูง และ ทำงานได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 55-70 องศาเซลเซียส การตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลต โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA พบว่า TP011NA คือ *Bacillus sp.* และ KJ012 คือ *Aneurinibacillus thermoaerophilus* ด้วยความคล้ายของยีน 99 % ทั้งสองสายพันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Enzyme Endonuclease Type II from Thermotolerant Soil Bacteria Obtained from Hot Springs in Chiang Rai and Mae Hong Son Provinces
Author	Mr. Woottichai Nachaiwieng
Degree	Master of Science (Biology)
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr. Sakunnee Bovonsombut

Abstract

Restriction endonuclease is an enzyme that recognizes and cleaves a double strand DNA at a specific location. Restriction endonuclease type II is the most specific restriction enzyme that cleaves DNA at the recognized sequence but the others can not. The screening for novel restriction endonuclease type II or isoshizomer was carried out from 47 isolates of bacteria from some hot spring soils in Chiang Rai and Mae Hong Son provinces. The isolates were obtained after the soil samples were enriched in half strength nutrient broth at 55 °C for 9 days with 3 subsequent changes for fresh medium. Nine isolates were found to show restriction endonuclease type II activities. These enzymes were partially purified with column chromatography using phosphocellulose and sephacryl–S 200 columns respectively. Two different restriction endonuclease patterns were observed. The first pattern was derived from isolate TP011NA which is an isoshizomer of *Cla*I when the recognition sequence was estimated by double digestion method. The second pattern was from isolate KJ012 which is an isoshizomer of *Nsp*V. Moreover, both enzymes from TP011NA and KJ012 were heat stable and active at 55-70 °C. Determination of the two isolates with 16S rRNA nucleotide sequence comparison indicated that TP011NA was a *Bacillus* sp. and KJ012 was *Aneurinibacillus thermoaerophilus* with 99% identity.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved