ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การสลายของเซลล์ยีสต์โดยเอนไซม์ที่แยกจากมิกโซแบคทีเรีย

ชื่อผู้เขียน นายวัชรชัย เจริญมาก

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

ผศ.สายสมร	ลำยอง	ประธานกรรมการ
รศ.ดร.ชูนสุข	ศรีโยชา	กรรมการ
อ.ดร.อรัญ	หันพงศ์กิตติกุล	กรรมการ

บทคัดย่อ

ได้ทำการแยกเชื้อมิกโซแบคทีเรียที่สามารถสลายเซลล์ยีสต์จากตัวอย่างดิน มูลสัตว์ ไม้ผุ และซากใบไม้ จำนวน 120 ตัวอย่าง โดยใช้ Saccharomyces cerevisiae ที่ป้ายบน Salt agar medium เป็นอาหาร พบมิกโซแบคทีเรียที่สร้างฟรุตติ้งบอดี 24 ไอโซเลต เป็น Myxococcus xanthus 6 ไอโซเลต, Myxococcus fulvus 4 ไอโซเลต, Myxococcus virescens 8 ไอโซเลต, Chondromyces apiculatus 2 ไอโซเลต และ Chondromyces crocatus 4 ไอโซเลต เชื้อมิกโซแบคทีเรียทุกชนิดที่แยกได้สามารถสลายเซลล์ยีสต์ Sacch. cerevisiae, Sacch. carlsbergensis, Sacch. sake, Candida utilis, C.albican, C.krusei, Hensenula anomala IFO 0122, Pichia membranaefaciens IFO 0128 และ Debaryomyces hensenii IFO 0032 ได้ แต่สลายเซลล์ยีสต์ Rhodotorula sp KY 83 ไม่ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อนำเชื้อมิกโซแบคทีเรียทั้งหมดไปทดสอบประสิทธิภาพในการสลายเซลล์ยีสต์ พบว่า Myxococcus fulvus CM 24 สามารถสลายเซลล์ยีสต์ได้สูงที่สุด crude enzymeจากมิกโซแบคทีเรียสายพันธุ์นี้มี lytic activity ต่อ Sacch. carlsbergensis 0.290 unit/ml และสามารถไฮโดรไลซ์ casein ได้ดีกว่า p-nitrophenyl, β-D-N acetylglucosaminide และ p-nitrophenyl, β-D manoside ตามลำดับ

เมื่อทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์โดยผ่าน CM-cellulose column chromatography แล้วตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต 75 % ของจุดอิ่มตัว จะได้ lytic enzyme และ protease ที่มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นเป็น 2.9 และ 3.2 เท่า ตามลำดับ และเมื่อนำสารละลายเอนไซม์ที่ได้ผ่านลงใน Sephadex G-50 column chromatography จะได้สารละลายเอนไซม์แยกออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแรกเป็น protease และส่วนหลังเป็น lytic enzyme

จากการศึกษาผลของระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย พบว่า M. fulvus CM 24 สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 3 วัน ใน SP broth ที่อุณหภูมิ 30 °ซ. pH 7.2 และเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที สภาวะที่เหมาะสมต่อ activity ของเอนไซม์คือ ที่อุณหภูมิ 35 °ซ. pH 7.5 เอนไซม์ของ M. fulvus CM 24 ที่ผ่าน Sephadex G-50 Column สามารถทำให้เกิดโปรโตพลาสต์ของยีสต์ Sacch. carlsbergensis เร็วกว่า Zymolyase 20T ในสภาวะและความเข้มข้นเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Lysis of Yeast Cells by Enzyme Isolated from Myxobacteria

Author Mr.Watcharachai Charoenmak

M.S. Biology

Examining Committee : Assist.Prof.Saisamorn Lymyong Chairman
Assoc.Prof.Dr.Poonsook Sriyotha Member
Lecturer.Dr.Aran H-kittikun Member

Abstract

Myxobacteria capable of causing yeast cell lysis were isolated from 120 samples of soil, dung, rotten stems and rotten leaves by using Salt agar medium inoculated with the cell paste of Saccharomyces cerevisiae. Twenty-four isolates of fruiting body forming myxobacteria were found including 6 isolates of Myxococcus xanthus, 4 isolates of Myxococcus fulvus, 8 isolates of Myxococcus virescens, 2 isolates of Chondromyces apiculatus and 4 isolates of Chondromyces crocatus. All the isolates were capable of lysing cell cultures of Sacch. cerevisiae. Sacch. carlsbergensis, Sacch. sake, Candida utilis, C.albican, C.krusei, Hensenula anomala IFO 0122, Pichia membranaefaciens IFO 0128 and Debaryomyces hensenii IFO 0032, but not Rhodotorula sp KY 83.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

The enzyme ability to cause lysis of yeast cells was tested. Myxococcus fulvus CM 24 showed the highest activity. Crude enzyme from this strain had lytic activity on Sacch. carlsbergensis of 0.290 unit/ml. and could hydrolyse casein better than p-nitrophenyl, β-D-N acetylglucosaminide and p-nitrophenyl, β-D manoside respectively.

Upon purification by CM-cellulose column chromatography and precipitation with 75 % saturated ammonium sulphate, lytic enzyme and protease were obtained with increased purity of 2.9 and 3.2 times respectively. When the enzyme solution was passed through Sephadex G-50 column chromatography, two fractions of the enzyme were obtained, the first fraction had a high protease activity and the second fraction had a high lytic activity.

M.fulvus CM 24 produced enzyme with the highest lytic activity when grown in SP broth for 3 days at 30°C pH 7.2 with shaking at 200 rpm. The optimum temperature and pH for enzyme activity were 35°C and 7.5 respectively. The purified enzyme of M.fulvus CM 24 was able to cause protoplast formation in Sacch. carlsbergensis faster than zymolyase 20T under the same condition and concentration.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved