

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การศึกษาโปรตีนนอกเซลล์ที่ผลิตโดยยีสต์ Saccharomyces cerevisiae สายพันธุ์ CC 359 OL2 ($his^- leu^- ura^-$)

ชื่อผู้เขียน นางสาวบำรุง พวงศิริ

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ :

รศ.ดร.สุรีย์ พุทธระกุล ประธานกรรมการ

อ.ดร.ไพโรจน์ กิจจนะพานิช กรรมการ

อ.ดร.บัณฑิต ลีละศาสตร์ กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์ Saccharomyces cerevisiae CC 359 OL2 ($his^- leu^- ura^-$) ภายใต้อุณหภูมิ 30 °C ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (pH 7.0) ที่มีสูตรต่างกัน (สูตรที่ 1-4) พบว่ายีสต์ดังกล่าวมีอัตราการเจริญเติบโตในอาหารสูตรที่ 1 ต่ำที่สุด โดยมี specific growth rate 0.165 hr⁻¹ เมื่อเทียบกับอัตราการเจริญเติบโตในอาหารอีก 3 ชนิด ซึ่งมี specific growth rate ใกล้เคียงกัน คือ 0.300, 0.289 และ 0.294 hr⁻¹ ในอาหารสูตรที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ และยีสต์ดังกล่าวสามารถผลิตโปรตีนนอกเซลล์ในน้ำเลี้ยงสูตรที่ 1 ได้ต่ำที่สุดโดยพบว่าปริมาณโปรตีนนอกเซลล์ในน้ำเลี้ยงสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าเป็น 0.007, 0.014, 0.013 และ 0.015 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์จำนวนชนิดของโปรตีนนอกเซลล์ในน้ำเลี้ยงดังกล่าว โดยโพลีอะครีลาไมด์เจลอิเล็กโตรฟอริซิสแล้ว พบว่า ประกอบด้วยโปรตีนอย่างน้อย 9, 13, 11 และ 12 ชนิดตามลำดับ โดยมีไกลโคโปรตีนประกอบอยู่ด้วยอย่างน้อย 5, 6, 6 และ 6 ชนิดตามลำดับ และโปรตีนนอกเซลล์ที่ถูกผลิตโดยไม่ขึ้นอยู่กับชนิดของ

อาหารเลี้ยงเชื้อมีประมาณ 5 ชนิด ซึ่งมี Rm(เฉลี่ย) เป็น 0.05, 0.17, 0.28, 0.33 และ 0.75 โปรตีนนอกเซลล์ที่ผลิตโดยยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวนี้มีมวลโมเลกุล ซึ่งหาโดย SDS-polyacrylamide gel electrophoresis อยู่ในช่วง 21,000-430,000 จากการทดลองวัดแอกติวิตีของเอนไซม์บางชนิดในโปรตีนนอกเซลล์ทั้งหมดจากน้ำเลี้ยงทั้ง 4 ชนิด พบว่ามีแอกติวิตีของอินเวอร์เทส (ยกเว้นในน้ำเลี้ยงสูตรที่ 1 ไม่มีแอกติวิตีของอินเวอร์เทส) ค่อนข้างสูง และมีแอกติวิตีของไกลโคซิเดสซึ่งประกอบด้วย แอลฟา-แมนโนซิเดส, เบต้า-แมนโนซิเดส และเบต้า-กลูโคสอะมิเนส เล็กน้อย แต่ไม่พบแอกติวิตีของโปรตีเอส, ไลเปส และเซลลูเลส อย่างไรก็ตาม พบว่าการที่ยีสต์ดังกล่าวเจริญเติบโตในอาหารต่างกัน แม้ว่าจำนวนชนิดของโปรตีนนอกเซลล์ที่ถูกผลิตขึ้นจะไม่ต่างกันมากนัก แต่ปริมาณโปรตีนนอกเซลล์และแอกติวิตีของเอนไซม์นอกเซลล์ที่พบในน้ำเลี้ยงที่ต่างกันมีค่าต่างกัน ดังนั้นในการที่จะสรุปว่า อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใดเหมาะสมมากกว่ากันต้องขึ้นอยู่กับว่า ต้องการศึกษาโปรตีนหรือเอนไซม์นอกเซลล์ชนิดใด ซึ่งต้องมีการศึกษารายละเอียดของโปรตีนหรือเอนไซม์แต่ละชนิดดังกล่าวต่อไป

Thesis Title Study of Extracellular Proteins Produced
by Saccharomyces cerevisiae Strain CC 359

OL2 ($his^- leu^- ura^-$)

Author Ms. Bumrung Paungsiri

M.S. Chemistry

Examining Committee

Assoc. Prof. Dr.Suree Phutrakul Chairman

Lecturer Dr.Piroj Kijjanapanich Member

Lecturer Dr.Bundit Leelasart Member

Abstract

Study of growth rate of yeast Saccharomyces cerevisiae CC 359 OL2 ($his^- leu^- ura^-$) in four different media (formular 1-4) pH 7.0 at 30°C found that the growth rate in medium 1 was lowest which had specific growth rate 0.165 hr^{-1} with respect to the other media which had specific growth rate 0.300, 0.289 and 0.294 hr^{-1} for media 2, 3 and 4 respectively. The amount of extracellular proteins found in the cell-free cultures formular 1, 2, 3 and 4 were 0.007, 0.014, 0.013 and 0.015 mg/ml respectively. Analysis of extracellular proteins by polyacrylamide gel electrophoresis showed that there were at least 9, 13, 11 and 12 types of extracellular proteins which were at least 5, 6, 6 and 6 kinds of glycoprotein in the cell-free

cultures 1, 2, 3 and 4 respectively. About five extracellular proteins which had average R_m 0.05, 0.17, 0.28, 0.33 and 0.75 were produced in all media. These extracellular proteins had molecular weight range of 21,000-430,000 as estimated by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Analysis of some enzyme activities in these cell-free cultures found relatively high invertase activity in cultures 2, 3 and 4 but none of this activity in culture 1. The glycosidase activities which consisted of α -mannosidase, β -mannosidase and β -glucosaminidase activities were low. None of the protease, lipase and cellulase activities were found. However, when the yeast was cultured in the different media, different extracellular protein contents and activities of extracellular enzymes were produced although the number of protein types were not big different. Therefore, the suitable medium for this strain of yeast depends on extracellular proteins or enzymes wanted to study and more specific detail of such protein or enzyme is needed.