

การศึกษาคุณสมบัติ การโคลนนิ่ง และการแสดงออกของเอนไซม์เบต้า-แมนนาเนสจาก *Bacillus subtilis* ที่เจริญได้ดีในที่  
อุณหภูมิสูง

พิจักษณ์ สัมพันธ์<sup>1,2</sup>, สุทธิคารักษ์ ชัยจันทร์<sup>2</sup>, ดวงเนตร อิศรางกูร ณ อยุธยา<sup>1</sup>, สุเทพ ไวยครุฑาชา<sup>2</sup>, วิทยา มีวุฒิสม<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ และ <sup>2</sup>ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

*Bacillus subtilis* BCC41051 เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เบต้า-แมนนาเนสทนร้อน ซึ่งคัดแยกได้จากดินที่อุ้มไปด้วยกาก  
ถั่วเหลืองและที่สำคัญเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยังเป็นชนิดที่เจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิสูง เอนไซม์เบต้า-แมนนาเนสที่หลั่งออกนอก  
เซลล์เป็นชนิดที่ละลายน้ำได้ดี เนื่องจากไม่สามารถตกตะกอนได้แม้จะใช้แอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวถึงร้อยละ 80 ก็ตาม เอนไซม์  
นี้มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 38.0 kDa ซึ่งวัดโดยวิธี SDS-PAGE และมีค่า pI เท่ากับ 5.3 เอนไซม์นี้สามารถย่อยแมนแนนได้ดี  
ที่สุดที่ค่าความเป็นกรด - ค่าเท่ากับ 7.0 และที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เอนไซม์มีความเสถียรในช่วงความเป็นกรด- ค่า  
ระหว่าง 5.0 - 11.5 และที่อุณหภูมิสูงถึง 60 องศาเซลเซียส โดยยังคงเหลือค่ากิจกรรมมากกว่าร้อยละ 80 เอนไซม์จะถูกยับยั้งอย่าง  
มากโดย  $Hg^{2+}$  (1 mM) แต่จะถูกยับยั้งเพียงเล็กน้อยด้วยอิมูนอนชนิดอื่นๆ ที่มีอิเล็กตรอนวงนอก 2 ตัว ขึ้นเบต้า-แมนนาเนสจะแปร  
รหัสได้โปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 362 ตัว โดยที่ 26 ตัวแรกจะทำหน้าที่เป็น signal peptide เอนไซม์รีคอมบิแนนเบต้า-  
แมนนาเนสสามารถแสดงออกได้ในระดับสูงทั้งใน *Escherichia coli* BL21(DE3) (415.18 U/ml) และ *B. megaterium* UNcat  
(359 U/ml)

คำสำคัญภาษาไทย: เบต้า-แมนนาเนส, บาซิลลัส ซับทิลิส, การศึกษาคุณสมบัติ, การแสดงออกของยีน, เทอร์โมฟิลิก