

วรรณิกา ปะนา : การประเมินฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพที่ผลิตโดยเชื้อสเตรปโตมัยซีทที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสม (EVALUATION OF ANTIBACTERIAL COMPOUND PRODUCED BY STREPTOMYCETES CULTURED IN OPTIMIZED CONDITION) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นวรรตน์ นันทพงษ์, 67 หน้า.

คำสำคัญ: สเตรปโตมัยซีท, การออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ, สภาวะการเพาะเลี้ยงเชื้อ

การพัฒนาของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาเป็นปัญหาสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการใช้ยาปฏิชีวนะซึ่งเกิดจากการที่เชื้อแบคทีเรียสามารถเรียนรู้ที่จะทนต่อยาปฏิชีวนะที่จะทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของมันได้ ดังนั้นการเกิดโรคติดเชื้ออุบัติใหม่และการดื้อยาที่เพิ่มมากขึ้น เป็นแรงบันดาลใจให้นักวิจัยศึกษาชนิดใหม่จากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นที่รู้กันดีว่าประมาณสองในสามของยาปฏิชีวนะผลิตได้จากเชื้อสเตรปโตมัยซีท ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ คือการแยกและระบุเชื้อสเตรปโตมัยซีทในดินที่สามารถผลิตยาปฏิชีวนะได้ เชื้อสเตรปโตมัยซีททั้งหมด 44 ตัว ประกอบด้วย WPN1-WPN44 ที่ได้จากการคัดแยกและเก็บรวบรวมดินจากสวนพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้ถูกทดสอบหาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ ประกอบด้วย เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 5 สายพันธุ์ และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 8 สายพันธุ์ พบว่าการคัดกรองปฐมภูมิโดยใช้เทคนิคการขีดเชื้อแบบ Perpendicular พบว่า 9% มีขอบเขตในการออกฤทธิ์แคบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น และอีก 1% พบว่ามีขอบเขตในการออกฤทธิ์กว้าง สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และอีก 90% ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ ในการศึกษาครั้งนี้ WPN32 ได้รับการคัดเลือกมาเพื่อศึกษาการประเมินฤทธิ์และลักษณะของสารต้านจุลชีพ สายพันธุ์ WPN32 แสดงความคล้ายคลึง 99.45% กับ *Streptomyces cyaneochromogenes* ซึ่งเป็นเชื้อสเตรปโตมัยซีทที่แยกได้จากดินที่ปนเปื้อนแมงกานีสในประเทศจีน การศึกษาการผลิตสารต้านเชื้อจุลชีพของสายพันธุ์ WPN32 ถูกศึกษาในอาหาร อุณหภูมิ และระยะพักตัวที่แตกต่างกัน ส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อที่มีสารต้านจุลชีพจะถูกประเมินสารออกฤทธิ์โดยใช้วิธี agar-well diffusion ผลการศึกษาพบว่าการผลิตสารต้านจุลชีพสูงสุดของสายพันธุ์ WPN32 สามารถเก็บได้มาจากอาหารเหลว SC ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และบ่มเป็นระยะเวลา 5 วัน สารประกอบของสารต้านจุลชีพที่ผลิตโดย WPN32 จะถูกสกัดด้วย ethyl acetate โดยสารออกฤทธิ์จะถูกทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี thin-layer chromatography (TLC) column chromatography (CC) และศึกษาลักษณะของสารประกอบโดย LC-MS จากผลการศึกษาสารออกฤทธิ์ของเชื้อสายพันธุ์ WPN32 สามารถแยกออกเป็นสารประกอบหลัก 2 ชนิด โดยประกอบแรกถูกระบุว่าเป็น Anisomycin ในขณะที่สารประกอบที่ 2 ถูกระบุว่าเป็น Actinomycin D

ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ ถือว่าเป็นการศึกษาแรกของการศึกษาสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม และ
ศึกษาลักษณะของสารออกฤทธิ์ที่แยกได้จากเชื้อสายพันธุ์ *Streptomyces cyaneochromogenes*



สาขาวิชาปรีคลินิก
ปีการศึกษา 2564

ลายมือชื่อนักศึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

อรอนงค์ กงเท

WANNIKA PANA : EVALUATION OF ANTIBACTERIAL COMPOUND PRODUCED BY
STREPTOMYCETES CULTURED IN OPTIMIZED CONDITION. THESIS ADVISOR :
ASST. PROF. NAWARAT NANTAPONG, Ph.D. 67 PP.

Keyword: Streptomyces, Antibacterial activity, Culture conditions

The development of drug-resistant bacteria is a major problem related to antibiotic usage. Microorganisms evolve the ability to tolerate antibiotics made to kill or inhibit them. Therefore, the emergence of new infectious diseases and drug resistance inspired the researcher to study a new drug derived from microorganisms. Streptomyces are well known for producing around two-thirds of all antibiotics. The aim of this study was to isolate and identify the antibiotic-producing soil streptomyces. A total of 44 streptomyces strains (WPN1-WPN44) were isolated from botanical garden soil at Suranaree University of Technology. They were tested for antibacterial activity against 5 Gram-positive and 8 Gram-negative bacteria. From the primary screening using perpendicular streak method, 9% of the isolates showed narrow spectrum against only Gram-positive bacteria, 1% showed broad spectrum against both Gram-positive and Gram-negative bacteria, and 90% showed no antibacterial activity. In this study, the strain WPN32 was chosen to evaluate and characterize its antimicrobial compounds. The strain WPN32 showed 99.45% similarity to *Streptomyces cyaneochromogenes*, a novel streptomyces isolated from manganese-contaminated soil in China. The antibacterial production of strain WPN32 was studied on different medium, temperatures, and incubation periods. The supernatant contained antibacterial metabolites were evaluated for antibacterial activity using agar-well diffusion method. The results showed that the highest antibacterial compound of WPN32 was obtained with SC broth at 30°C for 5 days of incubation. The antibacterial compounds produced by WPN32 were extracted with ethyl acetate. The active compounds were partially purified by using thin-layer chromatography (TLC), column chromatography (CC) and characterized by using liquid chromatography and mass spectrum (LC-MS). The result showed that active compounds of WPN32 could be separated to 2 major compounds. The first compound

was identified as anisomysin, while the second was actinomycin D. To date, this is the first study of optimization of culture conditions and characterization of active compounds derived from *Streptomyces cyaneochromogenes*.



School of Preclinical Sciences
Academic Year 2021

Student's Signature

อรอนิมา ปลูก

Advisor's Signature

[Handwritten Signature]