บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้เป็นการวิจัยและพัฒนาเอนไซม์ ไคตินเนส เพื่อให้มีคุณสมบัติเหมาะสมในการนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม โดยเฉพาะสำหรับการย่อยสลายกากไคตินจากเปลือกกุ้งที่ถูกทิ้งออกมาเป็นจำนวนมากจากโรงงานอุตสาหกรรมส่งออกกุ้งแช่เย็ง ซึ่งเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมทางการเกษตรที่มีมูลค่าในการส่งออกสูงเป็นลำดับต้นของประเทศ โครงการเริ่มต้นจากการคัดหาแหล่งของเอนไซม์ที่ดี ซึ่งพบว่าคือเชื้อแบคทีเรีย บาซิลัส ไลเคนิฟอร์มิส ดีเอสเอ็ม ๘๗๘๕ และ ๑๓ จากนั้นใช้วิธีการทางพันธุวิศวกรรมในการโคลนยีนขึ้นมาด้วยเทคโนโลยีพีซีอาร์ แล้วจึงนำยีนที่ได้ไปแสดงออกเพื่อผลิตให้ได้เป็นเอนไซม์จำนวนมากด้วยระบบการแสดงออกที่เหมาะสมในแบคทีเรีย อี โคไล โดยผู้วิจัยสามารถพัฒนาระบบการแสดงออกที่เหมาะสม ทำให้สามารถผลิตเอนไซม์ออกมาได้เป็นจำนวนมาก และบริสุทธิ์ รวมทั้งยังมีประสิทธิภาพดีในการทำกิจกรรม จากนั้นได้ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของเอนไซม์ด้วยวิธีการทาง ชีวสารสนเทศ และ ทางชีวเคมี จากนั้นจึงนำไปทดสอบความสามารถในการย่อยไคติน ซึ่งพบว่าเอนไซม์มีคุณสมบัติดี เหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในงานทางเทคโนโลยีชีวภาพด้านต่างๆ รวมทั้งการเปลี่ยนไคตินที่เตรียมได้จากเปลือกกุ้งให้เป็นสารที่มีมูลค่าสูง คือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เอน อะเซททิล กลูโคซามีน และไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ต่อไป นอกจากนั้นแล้วผู้วิจัยยังประสบความสำเร็จในการนำเทคนิคการสลับสับเปลี่ยนดีเอนเอ ที่ได้พัฒนาขึ้นมาในห้องปฏิบัติการมาใช้ในการพัฒนาเอนไซม์ด้วยวิธีการอณูวิวัฒนาการ ให้ได้เป็นเอนไซม์ที่สามารถทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด คือมีความสามารถในการเร่งปฏิกริยาดีกว่าเอนไซม์ดั้งต้น ๒.๗ เท่า ที่ค่าความเป็นกรดด่าง ๓ ซึ่งเอนไซม์ที่พัฒนามาได้นี้จะมีประโยชน์ในการนำไปใช้ในกระบวนการย่อยสลายไคตินในระดับอุตสาหกรรมจริงต่อไป ผลสำเร็จจากโครงการวิจัยนี้ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการระดับนานาชาติ ๒ เรื่อง และ เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโทของนักศึกษา ๑ เรื่อง รวมทั้งเป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยหลังปริญญาเอกของนักวิจัย ๑ ท่าน เอนไซม์ต้นแบบทั้งหมดที่ได้พัฒนาขึ้นจะถูกนำไปต่อยอดเพื่อการวิจัยประยุกต์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ABSTRACT

This project involves the research and development of enzyme chitinase for industrial application, especially for the hydrolysis of chitin waste from shrimp shell that has been discharged in a large amount from frozen shrimp processing factory, which is one of the key agricultural sectors that generated high income for the country. The project started from identifying an appropriate source of the enzyme, i.e., bacteria *Bacillus licheniformis* strain DSM 8785 and DSM 13. Then, genetic engineering approached based on polymerase chain reaction (PCR) technique was used to clone the genes of these enzymes. Subsequently, the enzymes were produced by using *E. coli* expression system. In this research we were able to develop an efficient method for the production of high amount of pure and active enzyme. Analysis of purified recombinant enzymes both by bioinformatic method and biochemical characterization revealed that the enzymes are highly attractive for various biotechnological applications. These include bioconversion of chitin waste from shrimp shell into value-added products such as N-acetylglucosamine sugar or chito-oligosaccharides. Moreover, we also succeeded in applying DNA shuffling technique that has been developed in our laboratory for the development of enzyme property using directed evolution technique. The improved chitinase showed 2.7-fold higher activity at low pH (3.0) than the wild-type enzyme. This enzyme will also be beneficial for bioprocessing of chitin in an industrial scale in the future. In addition to three recombinant enzymes that are appropriate for industrial uses, the outcomes from this project also included two publications in international journals as well as parts of one master thesis and output of one postdoctoral researcher.