

ชื่อเรื่อง การค้นคว้าแบบอิสระเชิงวิทยาศาสตร์ การเตรียมโปรโตพลาสต์และการเปลี่ยน
โปรโตพลาสต์กลับไปเป็นเซลล์ของ Zymomonas mobilis

ชื่อผู้เขียน นายสิมมา กลางประพันธ์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาการสอนชีววิทยา

คณะกรรมการตรวจสอบการค้นคว้าแบบอิสระเชิงวิทยาศาสตร์

พศ. กำเนิด	สกุลนาม	ประธานกรรมการ
พศ. มรกด	สกุล โขติรัตน์	กรรมการ
พศ. สายสมร	ลำยอง	กรรมการ

บทคัดย่อ

การเตรียมโปรโตพลาสต์ของเชื้อ Zymomonas mobilis CM 141 และ IFO 13756 ทำได้โดยเตรียม suspension ของเชื้อ Z. mobilis ใน 0.001 M Tris-HCl buffer pH 8.0 ที่มี ซูโครส 20 % แล้วเติมไลโซไซม์ลงไปให้มีความเข้มข้นสุดท้ายในช่วง 0.5 ถึง 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °ซ เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงเติมโซเดียมคลอไรด์ลงไปให้มีความเข้มข้น 0.5 % ทำการบ่มเชื้อต่อที่อุณหภูมิ 30 °ซ เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติม 0.01 M K₂ EDTA ลงไปในอัตราส่วน 1:10 ปริมาตร EDTA ต่อปริมาตร suspension ทำการบ่มเชื้อต่อที่อุณหภูมิ 30 °ซ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะได้โปรโตพลาสต์ประมาณ 80 % โปรโตพลาสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถเปลี่ยนกลับไปเป็นเซลล์เดิมเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร YPG agar ที่มีกลีเซอรอล 0.2 M หรือ YPG agar ที่มีแลคโตส 0.5 M หลังจากบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °ซ เป็นเวลา 5 วัน โดยโปรโตพลาสต์เปลี่ยนกลับไปเป็นเซลล์เดิม 39 ถึง 47 %

Research Title Protoplast Preparation and Cell Regeneration of
Zymomonas mobilis

Author Mr.Simma Klangprapan

M.S. Teaching Biology

Examining Committee :

Assist.Prof.Kamnird	Supanwong	Chairman
Assist.Prof.Marakot	Sukchotiratana	Member
Assist.Prof.Saisamorn	Lumyong	Member

Abstract

Conditions for the preparation of protoplasts of Zymomonas mobilis CM 141 and IFO 13756 were described. Z. mobilis were suspended in 0.001 M Tris-HCl buffer pH 8.0 with 20 % sucrose. Lysozyme powder was added to give final concentration of 0.5 to 1.0 mg/ml. After incubation at 30°C for 5 minutes NaCl was added to give final concentration of 0.5 %. The suspension was again incubated at 30°C for 10 minutes and 0.01 M K₂ EDTA was added at the ratio of 1 part K₂ EDTA to 10 parts suspension. About 80 % of protoplasts were obtained after 3 hours of incubation at 30°C. Regeneration of protoplasts of the two strains were accomplished by using YPG agar with 0.2 M glycerol or YPG agar with 0.5 M lactose. The percentage of regeneration of protoplasts was 39 to 47 % after 5 day incubation at 30°C.