

หัวข้อการค้นคว้าแบบอิสระ การคัดกรองเอนไซม์ตัดจำเพาะจากไซยาโนแบคทีเรียทนร้อน
บางชนิด

ผู้เขียน นาย ชยากร ภูมาศ

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบการค้นคว้าแบบอิสระ

อาจารย์ ดร. ป่านมุก วัชรปิยะโสภณ	ประธานกรรมการ
รศ. ดร. ชูดี พิรพรพิศาล	กรรมการ
ผศ. ดร. ภาณุวรรณ จันทวรรณกุล	กรรมการ

บทคัดย่อ

การคัดกรองเอนไซม์ตัดจำเพาะเอนโคนิวคลีเอส ทั่วไป II จากไซยาโนแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Synechococcus lividus* Copeland SK50, *S. lividus* SK70, *S. bigranulatus* Skuja PD55, *Cyanosarcina* sp. SK 40, *Phormidium* sp. PD 40-1 และ *Scytonema* sp. TP 40 เมื่อทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ตัดจำเพาะ โดยการบ่มกับ *dam*⁺ λ DNA ที่อุณหภูมิ 37 และ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชม. พบกิจกรรมของเอนไซม์ตัดจำเพาะจากเชื้อ *Synechococcus* spp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ตัดจำเพาะที่ 55 องศาเซลเซียสดีกว่า ที่ 37 องศาเซลเซียสซึ่งเชื้อชนิด *S. bigranulatus* Skuja S55 มีกิจกรรมของเอนไซม์ตัดจำเพาะดีที่สุด จากการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์บางส่วน โดยใช้ anion exchange chromatography โดยใช้ cellulose phosphate เป็นตัวกลาง และชะด้วย EB บัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้นเกลือเพิ่มขึ้นในช่วง 0 – 1 M พบเอนไซม์ถูกชะออกมา 2 ช่วง ได้แก่ ช่วงความเข้มข้นเกลือ 0.083 – 0.096 M และ 0.153 – 0.280 M เอนไซม์ที่ถูกชะออกมาในช่วงแรกมีกิจกรรมดีที่สุดที่ 65 องศาเซลเซียส และสามารถคงกิจกรรมได้ที่ 65 °C เป็นเวลา 30 นาที จากการบ่มเอนไซม์กับ DNA ชนิดอื่นคือ Vector Col E1 Vector pUC 19 Vector pBR 322 และ ΦX 174 RF I DNA พบว่าเอนไซม์ชนิดนี้นี้เป็น ไอโซไซโซเมอร์ของ *Bsp119I*

Independent Study Title Screening of Restriction Enzymes from Some Thermophilic
Cyanobacteria

Author Mr. Chayakorn Purnas

M. S. Biology

Examining Committee

Lecturer Dr. Panmuk Vacharapiyasophon	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Yuwadee Peerapornpisal	Member
Asst. Prof. Dr. Panuwan Chantawannakul	Member

Abstract

Six cyanobacterial strains: *Synechococcus lividus* Copeland SK50, *S. lividus* SK70, *S. bigranulatus* Skuja PD55, *Cyanosarcina* sp. SK 40, *Phormidium* sp. PD 40-1 and *Scytonema* sp. TP 40 were screened for restriction endonuclease type II activity. Cell lysates were incubated with λ DNA at 37 and 55 °C for 1 hr. Endonuclease activities were found in three strains of *Synechococcus*. Their restriction activities at 55 °C were better than at 37 °C and the best activity was found in *S. bigranulatus* Skuja S55. Restriction endonuclease from *S. bigranulatus* Skuja S55 was partial purified by anion exchange chromatography using cellulose phosphate as resin and eluted with a linear gradient of EB buffer containing 0 -1 M NaCl. Endonuclease activities were found in 2 ranges of salt concentrations: 0.083 – 0.096 M and 0.153 -0.280 M. Enzyme from the first range had optimum temperature at 65 °C and stable up to 30 min at 65 °C. After incubation with other substrates: Vector Col E1, Vector pUC 19, Vector pBR 322 and Φ X 174 RF I DNA, this enzyme was found to be an isoschizomer of *Bsp*119I.