

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่องโครงการวิจัย การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์บิโตรีบินออกซิเดสจากเชื้อ *Myrothecium verrucaria* สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย

ผู้ทำการวิจัย นายขจรศักดิ์ ตระกูลพั่ว¹, นส.กัญญา ปรีชาสุทธิ¹ และนางรจนาภา นิมสังข์²

หน่วยงานที่สังกัด ¹ ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

² ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การศึกษาเอนไซม์บิโตรีบินออกซิเดสจากเชื้อ *Myrothecium verrucaria* จำนวน 2 สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย คือ *M. verrucaria* BCC 112 และ BCC 9162 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์บิโตรีบินออกซิเดสจากเชื้อคือ การเพาะเลี้ยงในอาหาร potato dextrose broth ที่มีน้ำตาลกลูโคส 2%, pH 7.0, อุณหภูมิ 25 °C โดยทำการเขย่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 3 วัน จากนั้นนำน้ำกรองจากการเลี้ยงเชื้อรามาทำให้บริสุทธิ์ 2 ครั้ง โดยใช้ activated charcoal ที่ความเข้มข้น 1.0 และ 0.2 % พบว่ามีค่า specific BOD activity ของเชื้อ *M. verrucaria* BCC 112 และ BCC 9162 สูงสุดเป็น 13.48 และ 10.63 U/gของโปรตีน ตามลำดับ เมื่อทำการพิสูจน์ชนิดของเอนไซม์ที่แยกได้โดยวิธี SDS-PAGE พบว่า ขนาดมวลโมเลกุลที่ได้จากการคำนวณมีขนาด 65 และ 50 kDa เท่ากับบิโตรีบินออกซิเดสมาตรฐานที่นำมาใช้เปรียบเทียบ ดังนั้นเชื้อ *M. verrucaria* ทั้งสองสายพันธุ์ที่นำมาวิจัยในครั้งนี้ มีคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์บิโตรีบินออกซิเดส ซึ่งควรมีการศึกษาพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพของเอนไซม์ที่ผลิตได้ต่อไปในอนาคต เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการทางคลินิก จะทำให้มีประโยชน์อย่างยิ่งในการตรวจบิโตรีบินในซีรัมด้วยวิธีใช้เอนไซม์

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

This study is to determine Bilirubin oxidase (BOD, EC 1.3.3.5) enzyme produced from *Myrothecium verrucaria* isolates in Thailand. *M. verrucaria* were cultured in different conditions and the culture filtrate is analyzed for BOD enzyme. The optimum conditions of enzyme production were investigated and the results were as follows. The suitable medium was cultured on a rotating shaker potato dextrose broth with 2% glucose, at pH 7.0. *M. verrucaria* BCC 112 and BCC 9162 were cultured at 25 °C on rotating shaker (150 r/min) for 3 days. Bilirubin oxidase was purified from a culture filtrate of both strains by two times treatment with activated charcoal at 1.0 % and follow by 0.2%, respectively. The purified enzyme from culture filtrate of *M. verrucaria* BCC 112 and BCC 9162 demonstrated highest specific activities of 13.48 and 10.63 U/g proteins, respectively. They also showed two bands on SDS-PAGE. The molecular weights of the bilirubin oxidase isolated from culture filtrate were calculated to be 50 and 65 kDa, which were the same as standard bilirubin oxidase. Therefore, bilirubin oxidase was produced from two isolates of *M. verrucaria* in this study. Further analysis of BOD properties should be carried on in order to improve the enzyme property and apply this research to clinical approach by detection of bilirubin in serum using enzymatic method in diagnostic laboratory.