

54401203 : สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำสำคัญ : แก่นตะวัน/ 1- ฟรุคแตน: ฟรุคแตน ฟรุคโตซิลทรานสเฟอเรสสายผสม/ ยีสต์

เกรียงศักดิ์ บุญชู : การโคลนยีน 1- ฟรุคแตน: ฟรุคแตน ฟรุคโตซิลทรานสเฟอเรสและการแสดงออกของเอ็นไซม์ 1- ฟรุคแตน: ฟรุคแตน ฟรุคโตซิลทรานสเฟอเรสสายผสมในยีสต์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ.ดร. บุษราภรณ์ งามปัญญา, ผศ.ดร. พิมพ์ชนก จตุรพีริย์ และ อ.ดร. รุจิกาญจน์ นาสนิท. 60 หน้า

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาแนวทางการผลิตเอ็นไซม์ 1- ฟรุคแตน: ฟรุคแตน ฟรุคโตซิลทรานสเฟอเรสรูปสายผสมในยีสต์ โดยการสับโคลนยีน 1- ฟรุคแตน: ฟรุคแตน ฟรุคโตซิลทรานสเฟอเรสที่โคลนได้จากหัวแก่นตะวันอายุ 105 วัน (จุฬามาศ, 2556) ไปยังเวกเตอร์สำหรับแสดงออก pPICZ $\alpha$  B ด้วยการเพิ่มตำแหน่งเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ *Pst*I และ *Sac*II และถ่ายโอนเวกเตอร์สำหรับแสดงออก pPICZ $\alpha$  B ที่มียีน 1- ฟรุคแตน: ฟรุคแตน ฟรุคโตซิลทรานสเฟอเรสไปยังยีสต์ *Pichia pastoris* X-33 ด้วยวิธี lithium chloride transformation จากผลการทดลองพบว่า *P. pastoris* X-33 PF1 สามารถผลิตเอ็นไซม์ 1- ฟรุคแตน: ฟรุคแตน ฟรุคโตซิลทรานสเฟอเรสรูปสายผสมได้โดยแสดงค่ากิจกรรมของเอ็นไซม์ที่อยู่ในเซลล์และหลั่งออกนอกเซลล์เท่ากับ 3.57 และ 3.33 ยูนิตต่อลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า เอ็นไซม์ 1- ฟรุคแตน: ฟรุคแตน ฟรุคโตซิลทรานสเฟอเรสรูปสายผสมที่ผลิตใน *P. pastoris* X-33 PF1 สามารถสังเคราะห์ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้เมื่อใช้ 1- คิสโตสและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์สังเคราะห์เป็นสารตั้งต้น แต่ไม่สามารถสังเคราะห์ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้เมื่อใช้ซูโครสเป็นสารตั้งต้น

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. .... 2. .... 3. ....

54401203 : MAJOR : BIOTECHNOLOGY

KEY WORD : KAENTAWAN/ RECOMBINANT 1- FRUCTAN: FRUCTAN  
FRUCTOSYLTRANSFERASE/ YEAST

KRIENGSAK BOONCHOO : CLONING OF 1- FRUCTAN: FRUCTAN  
FRUCTOSYLTRANSFERASE GENE AND EXPRESSION OF RECOMBINANT 1- FRUCTAN:  
FRUCTAN FRUCTOSYLTRANSFERASE IN YEAST. THESIS ADVISORS: ASST. PROF.  
BUDSARAPORN NGAMPANYA, Ph.D., ASST. PROF. PHIMCHANOK JATURAPIREE, Ph.D.  
AND RUJIKAN NASANIT, Ph.D. 60 pp

The production of recombinant 1- fructan: fructan fructosyltransferase (1- FFT) in yeast system was conducted in this research. The 1- fructan: fructan fructosyltransferase gene (1- *fft*) cloned from 105 days old tuber of Kaentawan (*Helianthus tuberosus* L.) was subcloned to expression vector, pPICZ $\alpha$  B by adding *Pst*I and *Sac*II sites. The cloned gene was successfully transformed to yeast *Pichia pastoris* X-33 by lithium chloride transformation method. The yeast transformant; *P. pastoris* X- 33 PF1 showed the ability to produce recombinant 1- FFT. The enzyme activity at 3.57 and 3.33 unit/L was determined in cell and culture medium. It was also found that fructooligosaccharide (FOS) was synthesized when recombinant 1- FFT was incubated with 1- kestose and synthesized FOS as substrates. The synthesis of FOS was not detected when sucrose was used as substrate of recombinant 1- FFT.



---

Department of Biotechnology

Graduate School, Silpakorn University

Student's signature.....

Academic Year 2013

Thesis Advisor's signature 1. .... 2. .... 3. ....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งของ ผศ. ดร. บุษราภรณ์ งามปัญญา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้ความรู้ คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ พร้อมทั้งตรวจทานแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องจนสำเร็จสมบูรณ์ และประสบผลสำเร็จไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างยิ่งไว้ ณ ที่โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. พิมพ์ชนก จตุรพิริย์ อาจารย์ ดร. รุจิกาญจน์ นาสนิท ผศ. ดร. สุวัฒนา พุกกะศรี และ อาจารย์ ดร. อติศักดิ์ จตุรพิริย์ ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการในการสอบและให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะ เพิ่มเติมในการแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากรทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่านที่ให้ความสะดวกและให้ความช่วยเหลือในด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณภาคีวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องแตกเซลล์ด้วยความถี่สูง ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ผู้มีพระคุณทุกท่าน และคณาจารย์ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้กับผู้วิจัยทั้งในอดีตและปัจจุบัน

ขอบคุณเพื่อน พี่ และน้องๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการทำวิจัยนี้