

วาเฮนี ริชกี อาพริลเลีย : การสร้างโปรตีนที่เชื่อมต่อระหว่างโปรตีนที่จับกับมัลโตสกับ
เอนไซม์ไคโตซานเนส และการประยุกต์ใช้ในการผลิต ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีฤทธิ์ด้านการ
อักเสบ (CONSTRUCTION OF A MALTOSE BINDING PROTEIN-CHITOSANASE
FUSION PROTEIN AND ITS APPLICATION IN THE FORMATION OF ANTI-
INFLAMMATORY CHITO-OLIGOSACCHARIDES) อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ :
ศาสตราจารย์ ดร.มณฑารพ ยมาภัย, 46 หน้า.

คำสำคัญ: ไคโตซาน/ไคโตซานเนส/ไคโตซาน-โอลิโกแซคคาไรด์/โปรตีนจับมัลโตส

ไคโตซานเนสเป็นเอนไซม์ที่สลายพันธะ เบต้า-1,4 ไกลโคซิดิกในไคโตซาน เพื่อผลิตไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (คอกซ์) ที่มีมูลค่าทางอุตสาหกรรม การศึกษาก่อนหน้านี้ได้ทำการเปลี่ยนไคโตซานเป็นคอกซ์ โดยใช้เอนไซม์ไคโตซานเนสที่ผลิตจากเชื้อ บาซิลลัส ซับซิลิส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มี กรดอะมิโน ฮิสติดีน 10 ตัว เชื่อมอยู่ที่ปลายคาร์บอกซิล (*BsCsnA*-10xHis) ทำให้สามารถทำเอนไซม์นี้ให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบ ไอแมค (IMAC) ส่วนในการศึกษานี้ เราใช้ไคโตซานเนสในรูปแบบ ที่เชื่อมต่อกับโปรตีนที่จับกับมัลโตส (MBP-*BsCsnA*) สำหรับกระบวนการเปลี่ยนไคโตซานเป็น คอกซ์ ในขนาดใหญ่ขึ้น ข้อดีของการใช้ MBP-*BsCsnA* คือขั้นตอนการชะล้าง (Elution) นั้นจะใช้น้ำตาล มอลโตสแทนนิกเกิล จึงสามารถหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของนิกเกิลกับเอนไซม์ ในขั้นตอนการชะล้างได้ ผลการวิจัยพบว่าค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ไคโตซานเนสที่ผลิตด้วย MBP-*BsCsnA* และ *BsCsnA*-10xHis นั้นคล้ายคลึงกัน อย่างไรก็ตามความทนทานต่ออุณหภูมิสูงของเอนไซม์ในรูปแบบ MBP-*BsCsnA* นั้นดีกว่าแบบ *BsCsnA*-10xHis ทั้งนี้สามารถผลิตเอนไซม์ออกมาน้ำเลี้ยงเชื้อ ได้เฉลี่ย 150,000 ยูนิต ต่อการเพาะเลี้ยงโดยการเขย่าในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 1 ลิตร นอกจากนี้ ยังพบว่า คอกซ์ ที่ผลิตทั้งจาก MBP-*BsCsnA* และ *BsCsnA*-10xHis มีฤทธิ์ด้านการอักเสบด้วย ดังนั้นผลการวิจัยนี้จึงแสดงให้เห็นว่า MBP-*BsCsnA* นั้นมีความน่าสนใจในการนำไปใช้สำหรับการเพิ่มมูลค่าไคโตซานในอุตสาหกรรมต่อไป

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

WAHANI RIZKI APRILIA : CONSTRUCTION OF A MALTOSE BINDING PROTEIN-
CHITOSANASE FUSION PROTEIN AND ITS APPLICATION IN THE FORMATION OF
ANTI-INFLAMMATORY CHITO-OLIGOSACCHARIDES. THESIS ADVISOR : PROF.
MONTAROP YAMABHAI, Ph.D. 46 PP.

Keyword: CHITOSAN/CHITOSANASE/CHITOSAN-OLIGOSACCHARIDE/MALTOSE BINDING
PROTEIN

Chitosanase catalyzes the hydrolysis of the β -1,4 glycosidic bonds of chitosan to produce value-added chito-oligosaccharides (CHOS). Previously, we used C-terminal-10xhistidine-tagged *Bacillus subtilis* chitosanase (*BsCsnA*-10xHis), purified via Immobilized Metal-Ion Affinity Chromatography (IMAC), to bio convert chitosan to CHOS. In this study, we explored the possibility of using Maltose binding protein (MBP)-*BsCsnA* fusion for large-scale bioconversion of chitosan. The advantage of using MBP fusion is the elution step, of which maltose is used instead of Nickel, thus metal ion leaching can be avoided. Analysis of the MBP-*BsCsnA* enzyme fusion indicated that the specific activity of MBP-*BsCsnA* and *BsCsnA*-10xHis is comparable. However, the thermostability of MBP-*BsCsnA* construct is superior to that of *BsCsnA*-10xHis. Routinely, about 150000 U of crude enzyme can be obtained from a 1-L culture in a shake flask. The CHOS generated by both constructs possessed anti-inflammatory activity, suggesting that MBP-*BsCsnA* is an attractive format for industrial valorization of chitosan.

School of Biotechnology
Academic Year 2024

Student's Signature
Advisor's Signature

