

บทคัดย่อภาษาไทย

แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก เป็นโรงงานระดับเซลล์ที่น่าสนใจ ในการใช้ผลิต โปรตีน และเอนไซม์ชนิดต่างๆ เพราะ แบคทีเรียในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ได้รับการรับรองว่ามีสถานะ ปลอดภัย และเพาะเลี้ยงได้ง่าย แบคทีเรียแลคโตบาซิลัส แพลนทาร์ม เป็นแบคทีเรียที่ ปลอดภัย และมีประวัติการใช้ในอาหารมายาวนาน

ในส่วนแรกของการวิจัย เป็นการผลิตเอนไซม์ โคโตซานเนส (CsnA) และ เบต้าแมนนาเนส (ManB) จากเชื้อ บาซิลัส ออกจากแลคโตบาซิลัส แพลนทาร์ม ผลการทดลองพบว่า ทั้ง ManB และ CsnA สามารถถูกผลิต และหลั่งออกมาจากเซลล์ได้เป็นอย่างดี โดยการใช้ระบบ pSIP ในการกระตุ้นการแสดงออกของยีน เมื่อใช้ทั้ง ยีนต้านยาปฏิชีวนะ อีริโทรมัยซิน และ ยีน *clr* เป็นเครื่องหมายในการคัดเลือก

ในส่วนที่ ๒ ของโครงการวิจัย เป็นการแสดงเอนไซม์ทั้ง ๒ บนผิวของ แลคโตบาซิลัส แพลนทาร์ม เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้สำหรับเป็นตัวเร่งทางชีวภาพแบบ ทั้งเซลล์ ผลการศึกษาพบว่า เอนไซม์ สามารถยึดอยู่กับผิวเซลล์ แลคโตบาซิลัส แพลนทาร์ม โดยยังมีฤทธิ์ย่อย แมนแนน และ โคโตซาน ได้ ดังนั้นจึงอาจใช้เซลล์ประเภทนี้ ในกระบวนการผลิตต่างๆ ในอุตสาหกรรมอาหารได้

ในส่วนสุดท้ายของโครงการวิจัย เป็นการแสดงความสำเร็จในการพัฒนาและประยุกต์ใช้ระบบการแสดงออกของยีนเพื่อการผลิตโปรตีนปรับแต่งพันธุกรรม สำหรับอุตสาหกรรมอาหาร ของโครงการวิจัยนี้ โดยเป็นการใช้ เอนไซม์สำหรับอาหาร ที่ได้พัฒนาขึ้นในการผลิต คอช ที่ละลายน้ำได้ จาก โคโตซาน ที่สกัดได้จากเปลือก กุ้ง ในปฏิกิริยาที่มีกรดแลคติก ผลการศึกษาวิจัยพบว่า สามารถผลิต คอช ที่มีโครงสร้างสม่ำเสมอ ชัดเจน ด้วยระบบการผลิตเอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหารที่ได้พัฒนาขึ้นมาในห้องปฏิบัติการ ซึ่งคอชเหล่านี้สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดสำหรับอุตสาหกรรม อาหารคนและสัตว์ได้ต่อไป

ผลงานวิจัยนี้นำไปสู่การตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการระดับนานาชาติที่มีผลกระทบสูง ๒ เรื่อง และใช้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ นักศึกษาปริญญาเอก และ โท อย่างละ ๒ คน

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Lactic acid bacteria are interesting cell factories for the expression of hydrolytic enzymes as many of them are generally recognized as safe and require only a simple cultivation process. *Lactobacillus plantarum* is considered as a potential cell factory because of its GRAS (generally recognized as safe) status and long history of use in food applications.

The first part of the research project involves the overexpression of a chitosanase (CsnA) and a β -mannanase (ManB), from *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis*, respectively, in *Lactobacillus plantarum*. ManB and CsnA could be efficiently produced and secreted in *L. plantarum* using pSIP-based expression vectors containing either an erythromycin resistance or the *alr* gene as selection marker.

The second part of the research project involved the display the two enzymes on the surface of *L. plantarum* for potential application as whole-cell biocatalysis. The results indicated that mannanolytic and chitinolytic enzymes can be anchored to the cell surface of *L. plantarum* in active forms. This approach, with the enzyme of interest being displayed on the cell surface of a food-grade organism can be applied in various production processes relevant for food industry.

Finally, in the last part of the research project, we demonstrate the success in the development and application of food-grade expression system for the production of recombinant proteins, of which a food-grade enzyme technology developed in our laboratory was used for the production of soluble CHOS from chitosan, derived from chitin of shrimp and prawn shells, in a lactic acid solution. The results indicated that well-characterized chitosan oligosaccharides could be produced using well developed food-grade enzyme technology in our laboratory. The CHOS products could be further applied for food and feed industry.

The information and knowledge created from this research project were used for 2 publications in a high-impact international journal, and in 2 Ph.D. and 2 Master Thesis.