187766

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือกำหนดตำแหน่งของแบคทิริโอซินโอเปอรอน และศึกษาคุณลักษณะของแบคทิริโอซินที่สร้างในเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์สเตร็ปโตคอกคัส แซนเควียส เอทีซีซี 10556 เนื่องจากไม่มีข้อมูลใดๆ เกี่ยวกับแบคทิริโอซินของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ จึงต้องดำเนินการวิจัยในสองแนวทางพร้อมๆ กันคือ หาลำดับกรดอะมิโนในโปรตีนแบคทิริโอซินที่บริสุทธิ์และออกแบบ Degenerated primer เพื่อเพิ่มปริมาณยีนแบคทิริโอซินด้วย multiplex PCR หรือทำ DNA hybridization โดยใช้ probe ที่มีลำดับเบสเหมือนกับยีน ABC transporter ซึ่งกำหนดการสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งแบคทิริโอซินออกภายนอกเซลล์ คณะผู้วิจัยไม่ประสบความสำเร็จตามวัตถุประสงค์จากทั้งสองแนวทาง

ผลจากการทำ DNA hybridization พบว่ายีนที่เกิด hybrid กับ probe เป็นยีน acetoin dehydrogenes (*AceD*) ซึ่งกำหนดการสร้างเอนไซม์ acetoin dehydrogenes (AceD) ในเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Streptococcus pyogens* เอนไซม์นี้ช่วยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน acetoin ไปเป็น 2,3-butanediol อย่างไรก็ตามพบว่าในเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม streptococci มีเอนไซม์หลายตัวที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของ น้ำตาลกลูโครส และที่น่าสนใจคือมียีนที่สร้างเอนไซม์ pyruvate dehydrogenase (PDH) และ alcohol dehydrogenase (ADH) ซึ่งเร่งการเปลี่ยน pyruvate ไปเป็น acetaldehyde และจาก acetaldehyde ไปเป็นเอทานอลตามลำดับ

ปัจจุบันปัญหาการขาดแคลนแหล่งพลังงานได้ทวีขึ้นเรื่อยๆ เอธานอลจึงเป็นแหล่งพลังงานทดแทนที่น่าสนใจเนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปลดปล่อยสู่บรรยากาศจากการเผาไหม้เอธานอลมีปริมาณต่ำกว่าจากการเผาไหม้น้ำมันปิโตเลียม นอกจากนั้นการผลิตเอธานอลจากเศษวัสดุทางการเกษตรเช่น ซังข้าวโพด วัชพืช โดยใช้แบคทีเรียในการย่อยสลายมีต้นทุนที่ต่ำกว่าการใช้พืชผลทางการเกษตรเช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง ที่ใช้กระบวนการผลิตเดียวกัน พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็น streptococci ตัวหนึ่งสามารถย่อยแป้งและน้ำตาลหลายชนิดได้ รวมทั้งมียีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยนแป้งและน้ำตาลไปเป็นเอทานอลอย่างครบถ้วน จึงคาดว่าการ knockout ยีนที่เป็น paralleled pathway กับการสร้างเอธานอลน่าจะได้ mutant-*S. mutans* ที่สร้างเอทานอลได้เพิ่มขึ้น

187766

Abstract

Aims of the present study were to identify and characterize bacteriocin operon of *Streptococcus sanguis* ATCC 10556. To date, no information relating bacteriocin was apparent for this strain. According to the objectives, two experimental procedures have been performed simultaneously. One was purification of bacteriocin protein. Degenerated primers were then designed for amplification of bacteriocin gene by multiplex PCR. Another one was doing DNA hybridization using ABC transporter's gene sequence for any bacteriocins as a probe. However, we did not success in obtaining the bacteriocin gene by these experiments.

Results from DNA hybridization, however, showed that the probe hybridized with acetoin dehydrogenes (AceD) encoding gene of *Streptococcus pyogens*. AceD enzyme catalyzes the transformation of acetoin to 2,3-butanediol. However, additional information was found in that there are several enzymes of streptococci involving in glucose metabolism such as pyruvate dehydrogenase (PDH) and alcohol dehydrogenase (ADH). Both catalyze the transformation of pyruvate to acetaldehyde and then to ethanol, respectively.

In recent years, technological development on manufacturing and utilizing bioethanol as a transport fuel has received considerable attention because of continually rising petroleum prices and its limiting availability. Agricultural residues such as corn stover, molasses, rice straw, etc., can be converted giving both pentoses and hexoses. Fermentation of these sugars by particular strains of bacteria yields ethanol. In this study, *S. mutans* 25175 was used as a bacterium of choice for producing bioethanol because it enables to metabolize a wider variety of carbohydrates than any other used organisms. As a result, almost all of sugar present in plant hydrolysates can be converted to ethanol by *S. mutans*. Upon ethanol fermentation, however, acetic acid and lactic acid were constantly produced. Conversion of sugar precursor to these acids is found to be catalyzed by phosphotransacetylase (PTA) and lactate dehydrogenase (LDH) enzyme, respectively. There is promising to increase ethanol yield by knocking out the genes encoding PTA and LDH enzymes of this bacterium.