

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : PDF/29/2542
ชื่อโครงการ : การสะสมซิลิเนียมโดยเมทิลโลโทรฟิกยีสต์ที่แยกได้ในประเทศไทย
ชื่อนักวิจัย : ดร. นันทนา สีสุข ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
E-mail Address : fscints@ku.ac.th
ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี (1 กรกฎาคม 2542 – 30 มิถุนายน 2544)

การแยกเชื้อและคัดเลือกเมทิลโลโทรฟิกยีสต์จำนวน 60 ไอโซเลท พบว่าไอโซเลท N007 มีเมทไธโอเนอินอิสระภายในเซลล์สูงที่สุด คือ 0.52 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีเมทานอล 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน ซึ่งเมื่อเหนี่ยวนำให้ยีสต์ N007 เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสาร NTG แล้วคัดเลือกยีสต์กลายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อเอทไธโอเนอินและมีเมทไธโอเนอินอิสระภายในเซลล์สูงขึ้น ได้ยีสต์กลายพันธุ์ MN007-67 ที่มีเมทไธโอเนอินอิสระภายในเซลล์สูงที่สุด คือ 1.06 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ครั้งที่สองด้วยสาร NTG ได้ยีสต์กลายพันธุ์ ND035 และ ND213 ที่มีเมทไธโอเนอินอิสระภายในเซลล์สูง 2.37 และ 1.55 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อทำการผันแปรปริมาณเมทานอลและแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่ายีสต์กลายพันธุ์ ND035 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีเมทานอล 3 เปอร์เซ็นต์ และแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.15 เปอร์เซ็นต์ สะสมเมทไธโอเนอินได้สูงกว่าสภาวะอื่น ขณะที่ยีสต์กลายพันธุ์ ND213 สะสมเมทไธโอเนอินได้สูงกว่าสภาวะอื่น เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีเมทานอล 2 เปอร์เซ็นต์ และแอมโมเนียมซัลเฟต 0.94 เปอร์เซ็นต์ แต่ยังคงพบว่าปริมาณเมทไธโอเนอินอิสระภายในเซลล์มีค่าค่อนข้างต่ำ การทดลองเติมสารประกอบอินทรีย์ซิลิเนียมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่ายีสต์กลายพันธุ์ ND035 ที่เลี้ยงในอาหารที่เติมโซเดียมซิลิเนต 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สะสมซิลิเนียมภายในเซลล์ได้สูงสุด เท่ากับ 760 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ขณะที่เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมโซเดียมซิลิเนต 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบซิลิเนียมสะสมภายในเซลล์สูงสุด เท่ากับ 590 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีโซเดียมซิลิเนต 10 และ 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่พบการเจริญของยีสต์ ND035 เลย ส่วนยีสต์กลายพันธุ์ ND213 ที่เลี้ยงในอาหารที่เติมโซเดียมซิลิเนต 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบการสะสมซิลิเนียมภายในเซลล์สูงสุด เท่ากับ 150 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ขณะที่เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมโซเดียมซิลิเนต 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตรวจพบซิลิเนียมภายในเซลล์สูงถึง 2720 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเซลล์

คำหลัก : เมทิลโลโทรฟิกยีสต์ การกลายพันธุ์ เมทไธโอเนอินอิสระ การสะสมซิลิเนียม

Abstract

Project Code : PDF/29/2542
Project Title : Selenium Accumulation by Methylophilic Yeasts Isolated in Thailand
Investigator : Dr. Nantana Srisuk Department of Microbiology Faculty of Science
Kasetsart University
E-mail Address : fscints@ku.ac.th
Project Period : 2 years (1 July 1999 – 30 June 2001)

Isolation and screening of 60 isolates of methylophilic yeasts revealed that the isolate N007 possesses the highest free methionine content as 0.52 milligram per gram dry weight when cultivated in the culture medium containing 1% (v/v) methanol as sole carbon and energy sources. To increase free methionine content of the isolate N007, NTG induced mutation was carried out and the mutant namely MN007-67 was found to be the best methionine producer. The mutant possesses methionine content of 1.06 milligram per gram dry weight. Second NTG mutation was induced to the mutant MN007-67 in order to obtain higher level of methionine content. The second mutants designated as ND035 and ND213 were selected for further studies according to their high methionine content of 2.37 and 1.55 milligram per gram dry weight respectively. Methanol concentration as well as nitrogen source contained in the medium culture was optimized for each individual mutant. Results showed that the mutant ND035 preferred 3% (v/v) methanol and 0.15% ammonium chloride whereas the medium contains 2% (v/v) methanol and 0.94% ammonium sulphate was found to be favorable to the mutant ND213. However, free methionine content observed under these conditions was unexpectedly low. Accumulation of selenium in the mutant cells was investigated. The mutant ND035 showed maximum selenium accumulation of 760 microgram per gram dry weight when cultivated under the supplement of 15 microgram of sodium selenate per milliliter of medium. This mutant also showed selenium accumulation of 590 microgram per gram dry weight when grown under the supplement of 5 microgram of sodium selenite per milliliter of medium. Growth of the mutant ND035 was obviously inhibited by 10 microgram of sodium selenite per milliliter of medium. The mutant ND213 showed maximum selenium accumulation of 150 and 2720 microgram per gram dry weight when cultivated under under the supplement of 30 microgram of sodium selenate and 15 microgram of sodium selenite per milliliter of medium, respectively.

Keywords : methylophilic yeast, mutation, free methionine, selenium accumulation