

บทคัดย่อ

การย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสโดยเอนไซม์นั้นอาศัยระยะห่างที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์และสับสเตรทและมีเอนไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกันอย่างมีประสิทธิภาพ *Paenibacillus curdlanolyticus* B-6 ผลิตเอนไซม์เซลลูโลไลติกและไซลานโนไลติกที่หลั่งสู่ภายนอกเซลล์ในรูปแบบเอนไซม์เชิงซ้อนภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ ไซลานเนสหน่วยย่อยขนาดโมเลกุลใหญ่ซึ่งมีลักษณะคล้ายโปรตีนแกนกลางของเอนไซม์เชิงซ้อนจาก *P. curdlanolyticus* B-6 ทำให้บริสุทธิ์โดยอาศัยเทคนิคการยัดเยาะและหลุดออกอย่างจำเพาะกับเซลลูโลสที่ไม่ละลายน้ำ (อะไวเซล) ร่วมกับ size exclusion chromatography ion exchange chromatography และ hydrophobic chromatography จากการศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนบริสุทธิ์ขนาด 280 กิโลดาลตัน พบว่าแสดงกิจกรรมของไซลานเนสเมื่อย่อยสลายไซแลนจาก birch wood และ oat spelt แต่ไม่ย่อยเซลลูโลสและพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดอื่นๆ เมื่อศึกษาคุณสมบัติของไซลานเนสบริสุทธิ์ พบว่ามีพีเอชและอุณหภูมิเหมาะสมในการทำงานที่พีเอช 6.0 และ 60 องศาเซลเซียส เอนไซม์บริสุทธิ์ย่อยไซโลเอ็กโซสไดอุนกรมของน้ำตาลเป็นผลิตภัณฑ์แสดงว่าจัดอยู่ในกลุ่มเอนโดไซลานเนส นอกจากนี้ไซลานเนสบริสุทธิ์สามารถยึดเกาะกับไซแลนและเซลลูโลสที่ไม่ละลายน้ำได้ รวมถึงสามารถยึดเกาะกับผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ด้วย จากผลการทดลองพบว่าไซลานเนส ขนาด 280 กิโลดาลตันเป็นมัลติโดเมนที่ประกอบด้วยอย่างน้อยสามโดเมน ได้แก่ โดเมนซึ่งทำหน้าที่ยึดเกาะกับผนังเซลล์ และโดเมนที่ยึดเกาะกับสับสเตรท (carbohydrate binding domain) และโดเมนที่ย่อยสลายสับสเตรทที่เป็นไซแลนซึ่งจัดเป็นไซลานเนสชนิดใหม่

Keyword: Carbohydrate-binding domain, เอนไซม์เชิงซ้อน, *Paenibacillus curdlanolyticus* B-6, Scaffoldin-like protein, ไซลานเนส

Abstract

Efficient enzymatic conversion of recalcitrant lignocellulosic biomass requires a close proximity between the enzymes and their substrates, and the cooperation of multiple enzymes to enhance the hydrolysis. *Paenibacillus curdlanolyticus* strain B-6 produces extracellular xylanolytic-cellulolytic enzyme that exists as multienzyme complex under aerobic conditions. The high molecular weight xylanase subunit assembly core protein of multienzyme complex from *P. curdlanolyticus* B-6 was purified by affinity chromatography with insoluble cellulose (Avicel) followed by size exclusion chromatography, ion exchange chromatography and hydrophobic chromatography. The characterization of purified protein, 280-kDa, showed xylanase activity for birch wood xylan and oat spelt xylan, but no activities for cellulose and other polysaccharides. The 280 gene consists of 2,589 nucleotides and encodes 863 amino acids with a molecular weight of 91,000 Da, indicating that the 280 kDa subunit is highly glycosylated. did not have significant homology with any proteins in the databases except for two surface layer homology (SLH) domains in its N-terminal region. Interesting, the multifunctional protein consisted of truly xylanase activity, and cellulose- and xylan-binding ability, suggesting that the 280 kDa protein should be a novel xylanase and CBM(s) with new functions. A wide variety of enzyme subunits involved in lignocellulose degradation. Therefore, multienzyme complex of *P. curdlanolyticus* B-6 might also be a valuable tool for the effective saccharification of plant cell wall.

Keyword: Carbohydrate-binding domain, Multienzyme complex, *Paenibacillus curdlanolyticus* B-6, Scaffoldin-like protein, xylanase