รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เกษม พงษ์มณี. 2536. การผลิตเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสโดย *Bacillus subtilis* TISTR 25. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

กำเนิด สุภัณวงษ์. 2534. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ปกรณ์ จิโรจน์กุลกิจ. 2532. การแยกให้บริสุทธิ์และการศึกษาสมบัติของแอลคาไลน์โปรตีเอสจากเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR 25. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สนธยา ศรีเมฆ. 2533. ผลของสารคั้นดอคาร์บอนและไนโตรเจนต่อการผลิตโปรตีเอสและเอนไซม์ในไนโตรเจนเมทาบอลิซึมของ *Bacillus subtilis* TISTR 25. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุพจน์ ใช้เทียมวงศ์. 2530. โภชนาการที่จำเป็นต่อการหมัก. เทคโนโลยีการหมัก. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

อุดมลักษณ์ ชิดิรักษ์พาณิชย์. 2534. การทำให้บริสุทธิ์และการศึกษาสมบัติของเอนไซม์นิวทรัลโปรตีเอสจาก *Bacillus subtilis* TISTR 25. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาษาอังกฤษ

Aiyappa , P.S. , Traficante , L.T. , and Lampen , O.J. 1977. Penicillinase -Releasing Protease of *Bacillus licheniformis*.: Purification and General Properties. J. Bacteriol. 129 : 191 - 197.

Aunstrup , K. 1979. Proteolytic Enzymes. Appl. Biochem. And Bioeng. 2 : 49 - 53.

Aunstrup , K. 1980. Proteinase. In Rose, A.H. (eds.) , Economic Microbiology , 114 : 49 - 77.

Baltz , R. 1986. Strain improvement. In Demain , A.L., and Solomon , N.A. (eds.) , Manual of Industrial Microbiology and Biotecnology , pp.154 - 169. New York : The United States of America Press.

Barrett , F.F. 1979. Enzyme Uses in Milling and Baking Industries. In Reed , G. (eds) , Enzyme in Food Processing , pp.301 - 330. New York : Academic Press.

Bernlohr , W.R. 1964. Postlogarithmic Phase Metabolism of Sporulating Microorganism I. Protease of *Bacillus licheniformis*. J. Biol. Chem. Vol. 239. No. 2 : 538 - 543.

Bradford , M.M. , 1976. A Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram quantities of Protein Utilizing The Principle Dye Binding. Anal. Biochem. 72 : 248 - 254.

Chaloupka , J., and Kreckova , P. 1968. Protease Repression in *Bacillus megaterium* KM. Biochem. Biophys. Res. Comm. 8: 120 - 124.

Coleman, G. 1967. Studies on The Regulation of Extracellular Enzyme Formation by *Bacillus subtilis*. J. Gen. Microbiol. 49 : 421 - 431.

Dancer, B.N., and Mandelstam, J. 1975. Production and Possible Function of Serine Protease During Sporulatiion of *Bacillus subtilis*. J .Bacteriol. 121 : 406 - 410.

Doi, J.W. 1973. Role of Protease in Sporulation. Current Topics in cellular regulation. 7 :1 - 20.

Endo, S. 1962. Studies on Protease Produced by Thermophili Bacteria. J. Ferment. Technol. 40 : 346 - 353.

Fantini, A.A. 1975. Strain Development. Methods in Enzymology. Vol. 43. pp. 24 - 41. New York : Academic Press.

Fox, J.W. , Shannon, J.D., and Bjarnason , J.B. 1991. Protease and Their Inhibitors in Biotechnology. In Leatbam, G.F. & Himmel , M.E. , Enzymes in Biomass Conversion. pp. 62 - 79. Washington DC : American Chemical Society.

Fujiwara , N. , and Yamamoto, K. 1987. Production of Alkaline Protease in Low - Cost Medium by Alkalophillic *Bacillus sp.* and Properties of The Enzyme. J. Ferment. Technol. 65. 3 : 345 - 348.

Giesecke, U.E. , Bierbaum, G. , Rudde, H. , Spohn, U. , and Wandrey, C. 1991. Production of Alkaline Protease with *Bacillus licheniformis* in a controlled Fed - Batch Process. Appl. Microbiol. Biotechnol. 35 : 720 - 724.

Godfrey , T. 1983. Flavouring and Coloring. In Godfrey , T., and Reichelt, J. (eds.), Industrial Enzyme , pp. 305 - 314. London : Macmillan.

Griffin , P.L., and Fogarty, W.M. 1973. Production and Purification of The Metalloprotease of *Bacillus Polymyxa*. Appl . Microbiol. Biotechnol 26 : 185 - 190.

Hartley , B.S. 1960. Proteolytic Enzymes. Annu. Rev. Biochem. 29 : 45 - 72.

Heineken , F.B. , and O' Connor , R.J. 1972. Continuous Culture Studies on the Biosynthesis of Alkaline Protease , Neutral Protease and α-Amylase by *Bacillus subtilis* NRRL-B3411. J. of Gen. Microbiol. 73 : 35 - 44.

Hepner, I., and Male, C. 1986. Report : Industrial Enzyme by 1990. L. Hepner and Assoc. London.

Hidato , T. Teruhiko , A., and Koki , H. 1990. Characterization of an Alkaline Protease from *Bacillus sp.* No. AH - 101. Appl. Microbiol Biotechnol. 33 : 519 - 523.

Horikoshi , K. 1971. Production of Alkaline Enzymes by Alkalophillic Microorganism. Part. I Alkaline Protease Produced by *Bacillus* No. 221. Agri. Biol Chem. 35 : 1783 - 1791.

Hubner , U., Bock , U., and Schugerl , K. 1993. Production of alkaline Serine Protease Subtilisin Carlsberg by *Bacillus Licheniformis* on Complex Medium in a Stirred Tank Reactor. Appl. Microbiol. Biotechnol. 40 : 182 - 188.

Janssen , P.H., Peek , K.K., and Morgan , H.W. 1994. Effect of culture Conditions on The Production of an Extracellular Protease by *Thermus sp.* Rt 41A. Appl. Microbiol. Biotechnol. 41 : 400 - 406.

Jaroslav , V. et. al. 1987. External Factor Involved in the Regulation of Synthesis of an Extracellular Proteinase in *Bacillus megaterium* : The Effect of Glucose and Amino Acids. Appl. Microbiol. Biotechnol. 26 : 373-377

Jaroslav , V. et. al. 1991. External Factor Involved in the Regulation of Synthesis of an Extracellular Proteinase in *Bacillus megaterium* :Effect of Temperature. Appl. Microbiol. Biotechnol. 35 : 352 - 357

John , D.H. , and David , G.C. 1991. The Response of *Bacillus subtillis* ATCC 21332 to Manganese During Continuous - Phase Growth. Appl. Microbiol. Biotechnnol. 35 : 72 - 76.

Keay , L., and Wildi , B.S. 1970 a. Protease of the Genus *Bacillus*. Biotech. Bioeng. XII : 179 - 212.

Keay , L., and Wildi , B.S. 1970 b. Protease of The Genus *Bacillus*. Biotech. Bioeng. XII : 213 - 249.

Kitada , M. , and Horikoshi , K. 1976. Alkaline Proteinase Production from Methyl Acetate by Alkalophilic *Bacillus sp.* . J. Ferment. Technol. Vol.54 , No.6. : 383 - 392.

Kole. , M.M. , Daper. , I. and Gerson. ,F.G. 1988. Production of Protease by *Bacillus subtilis* Using Simultaneous Control of Glucose and Ammonium Concentrations. J. Chem. Tech. Biotechnol. 41 : 197 - 206.

Leonard , W.A., Woods , A.E. , and Well , M.R. 1987. Protein Analysis. Food Composition and Analysis. An AVI Book. 275 - 276. New York : Van Nostrand Reinhold.

Matsubara , H., and Feder , J. Other Bacterial , Mold and Yeast Protease. 1971. In Boyce, P.D. (eds.), The Enzymes. Vol. 3. New York : Academic Press.

MG Halpern. 1981. Production from *Bacillus subtilis* ATCC 21415 Through 1418. Industrial Enzyme from Microbial Source (Recent Advance) : 53 - 58. Chemical Technology Review 186. New Jersey : NOYES DATA Corporation.

Mihalyai , E. 1972. Proteolytic Enzyme. Application of Proteolytic Enzyme to Protein Structure Studies. pp. 39 - 41. Chemical Robber Co.

Miller , B.M., and Listky , W. 1976. Microbial Enzymes. Industrial Microbiology. Mc.Graw - Hill, Inc.

Millet , J., Archer , R. and Aubert , J.P. 1969. Biochemical and Physiological properties of an Extracellular Protease Produced by *Bacillus megaterium*. Biotech. Bioeng. 11 : 1233.

Mizybe , F., Takahashi , K., and Ando , T. 1973. The Structure and Function of Acid Protease I. Specific Inactivation of an Acid Protease from *Rhizopus chinersis* by Diazoacetyl - DL - Norleucine Methyl Ester. J. Biochem. 73 : 61.

Moon , S.H., and Parulekar , S.J. 1991. A Parametric Study of Protease Production in Batch and Fed - Batch Cultures of *Bacillus firmus*. Biotechnology and Bioengineering. 37 : 467 - 483.

Nehete , P.N., Shah , V.D., and Kothari , R.M. 1985. Profiles of Alkaline Protease Production as a Function of Composition of the Slant, Age, Transfer and Isolate Number and Physiological State of Culture. Biotechnology Letters. 7. 6 : 413 - 418.

Nelson , N. 1944. A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the determination of glucose. J. Bio. Chem., 153 : 375 - 380.

Ohta , T. 1966. Thermostable Protease from Thermophilic Bacteria III. Studies on The Stability of The Protease. J. Biochem. 242 : 509.

O' Reilly , T. and Day , D.F. 1983. Effect of Culture Conditions on Protease Productiion by *Aeromonas hydrophila*. Appl. And Environ. Microbiol. 45. 3 : 1132 - 1135.

Outtrup , H., and Boyce , C.O. 1990. Microbial Protease and Biotechnology. In Fogarty. W.M. & Kelly, C.T., Microbial Enzymes and Biotechnology. 2nd ed. pp. 227 - 254. New York : Elseveir Applied Science.

Pero , J., and Sloma , A. 1993. Protease. In Sonenshien, A.L. (eds.), *Bacillus subtilis* and Other Gram - Positive Bacteria, pp. 939 - 952. New York : The United State of America.

Priest , F.G. 1977. Extracellular Enzyme Synthesis in The Genus *Bacillus*. Bateriol. Rev. 41 : 711 - 753.

Putten , A.B .,et.al. 1996. Improvement of the production of Subtilisin Carlsberg alkaline protease by *Bacillus licheniformis* by on-line process monitoring and control in a stirred tank reactor. J. of Biotechnol. 49 : 83 - 93.

Richardson , B.C., and Te Whaiti , I.E. 1978. Partial Characterization of Heat Stable Extracellular Protease of some Psychrotropic Bacteria from Raw Milk. N.Z.JI. Daily Sci. Technol. 13. 173 - 176.

Roger , R.B., and Bernard , O. 1972. Process for The Preparation of Protease Active in Alkaline Medium. US. Patent 3, 661, 715. May 9.

Sadannobu, T., Yoshihiro, N., and Koji, M. 1975. Microbial Protease and Preparation Thereof. U.S. Patent 3,871,963. Mar. 18.

Takami , H., Akiba , T., and Horokoshi , K. 1989. Production of Extremely Thermostable Alkaline Protease from *Bacillus sp.* No. AH - 101. Appl. Microbiol. Biotechnol. 30 : 120 - 124.

Takii , Y., Kuriyama , N., and Suzuki , Y. 1990. Alkaline Serine Protease Produced from Citric Acid by *Bacillus alcalophilus subsp. halodurans* KP 1239. Appl. Microbiol. Biotechnol. 34 : 57 - 62.

Tange , T., Tanguchi , S. , Kojima , S. , Miura , K. , and Momose , H. 1994. Improvement of A Useful Enzyme (Subtilisin BPN') by An Experimental Evolution System. Appl. Microbiol. Bioechnol. 41 : 239 - 244.

Votruba , J. , et al. 1987. External Factors Involved in The Regulation of an Extracellular Proteinase Synthesis in *Bacillus megaterium.* The Effect of Glucose and Amino Acids. Appl. Microbiol. Biotechnol. 26 : 373 - 377.

Votruba , J. , et al. 1991. External Factors Involved in The Regulation of an Extracellular Proteinase in *Bacillus megaterium* : Effect of Temperature. Appl. Microbiol. Biotechnol. 35 : 352 - 357.

Ward , O.P. 1983. Proteinase. In Fogarty , W.M. (eds.) , Microbial Enzymes and Biotechnology , pp. 251 - 317. London and New York : Applied Science Publishers.

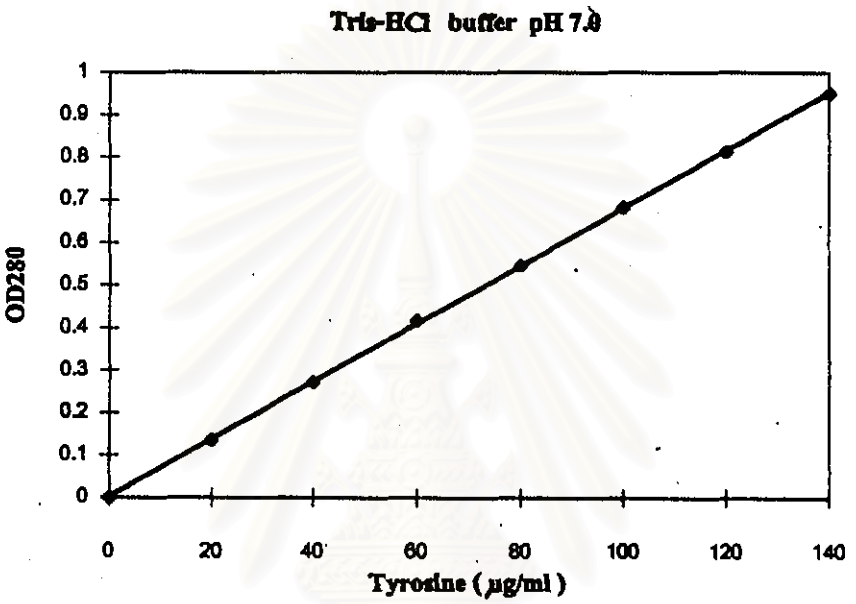
Webb , M. 1949. The Influence of Magnesium on Cell Division of Various Bacterial Species in Complex Media. J. Gen. Microbiol. 3 : 410 - 417.

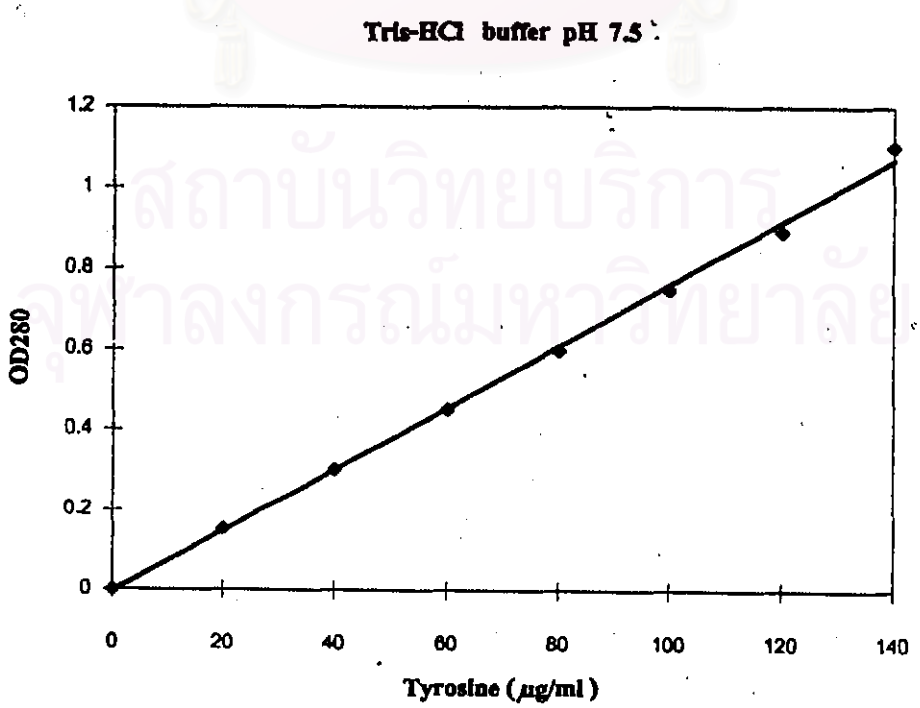
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

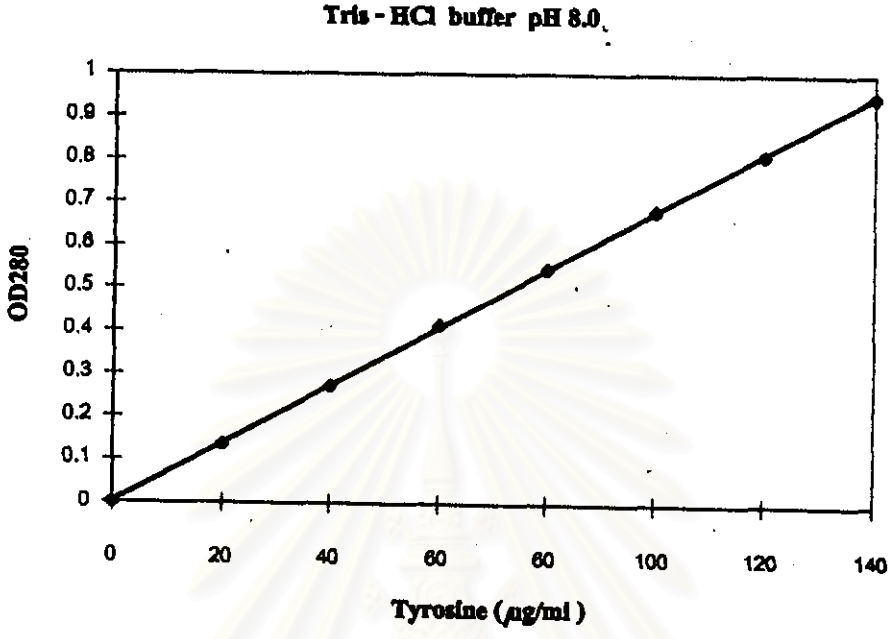
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

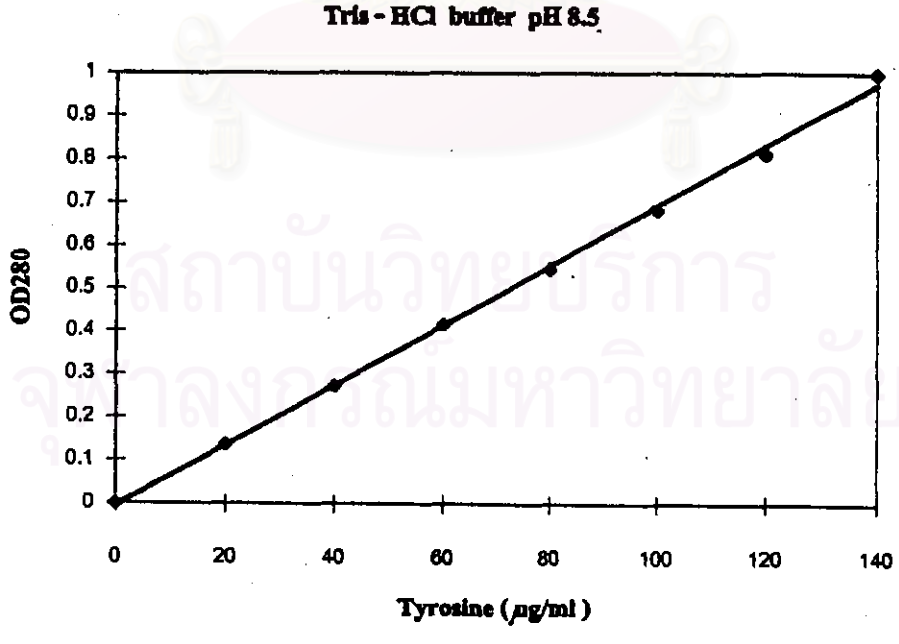
ภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ของสารละลายไทโรซีน ที่มีความเข้มข้น 0 - 140 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ค่า pH ต่างๆ กัน



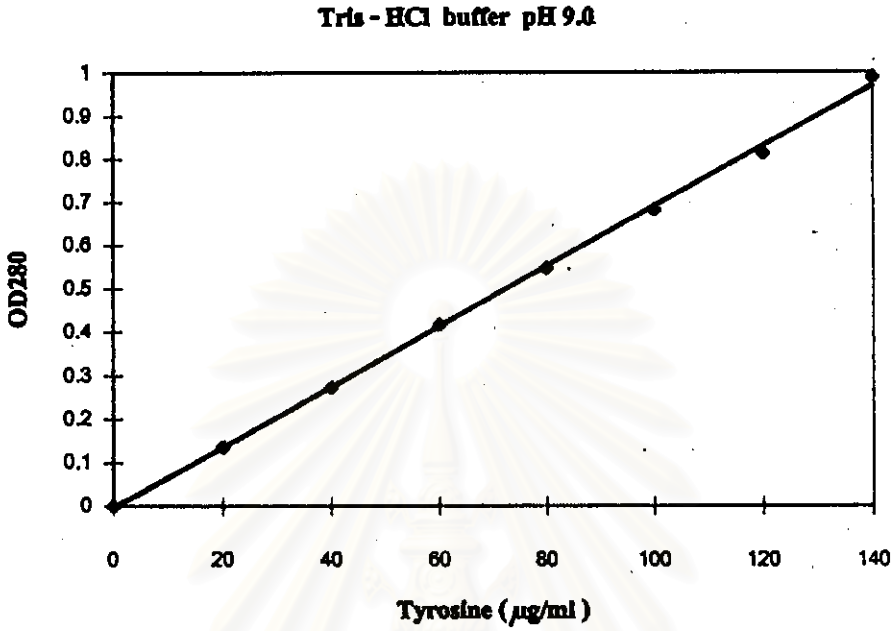


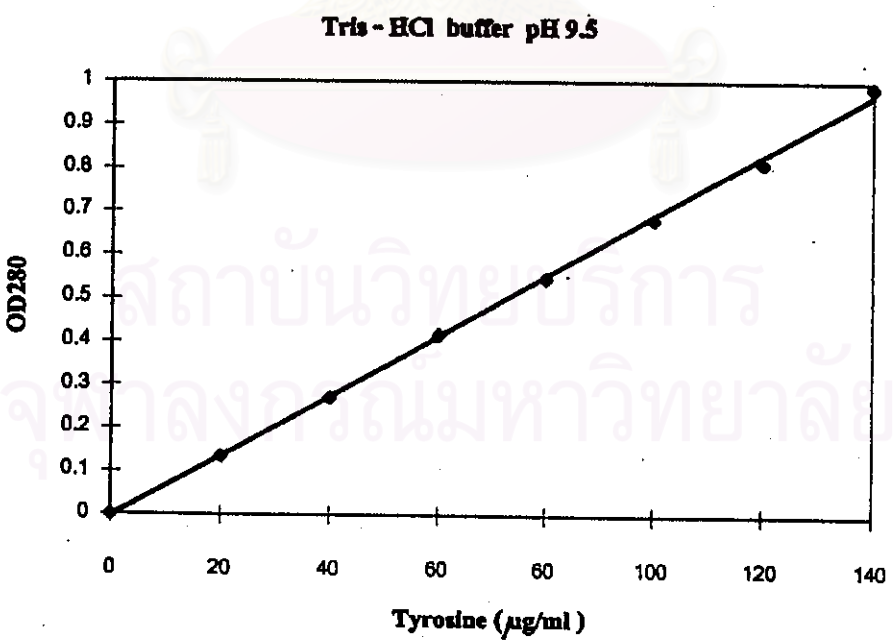
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

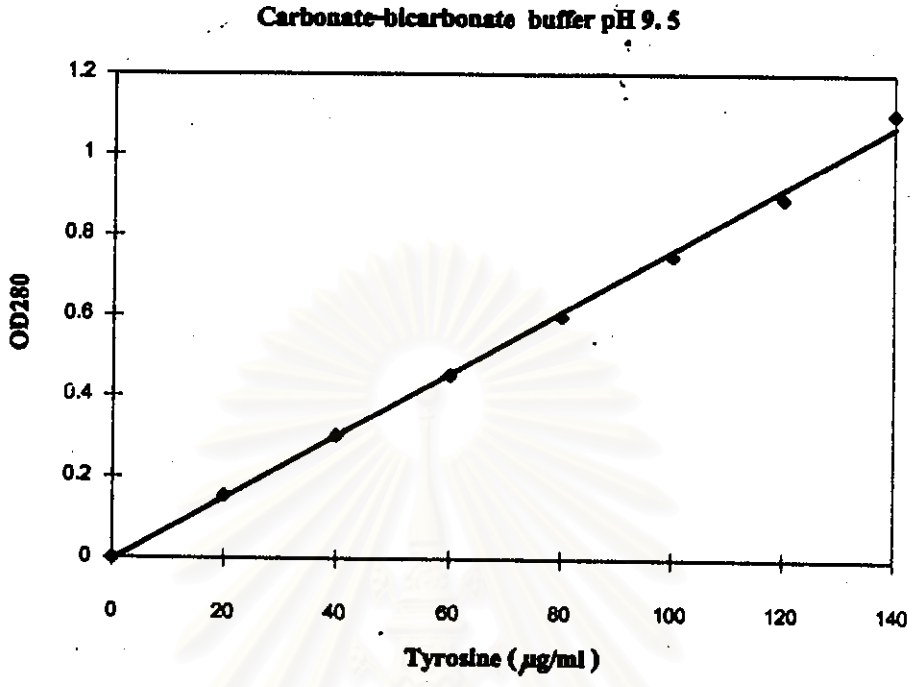


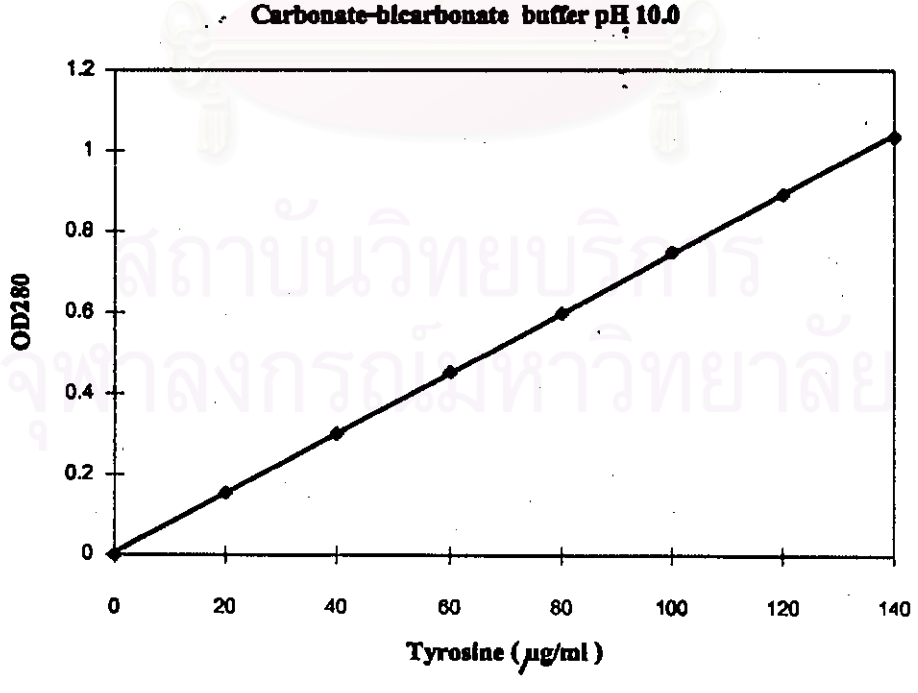


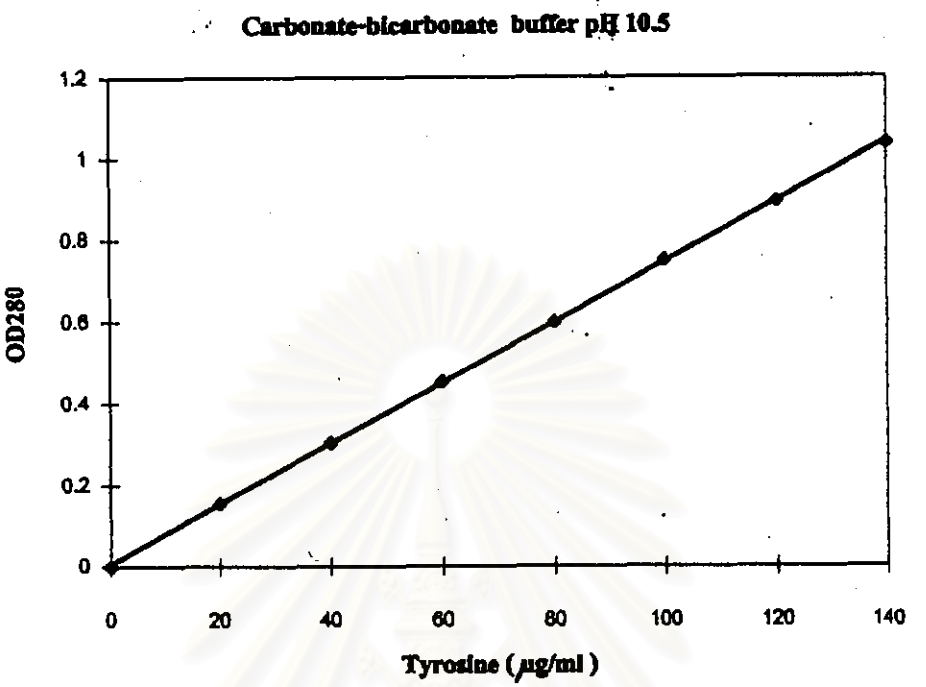
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

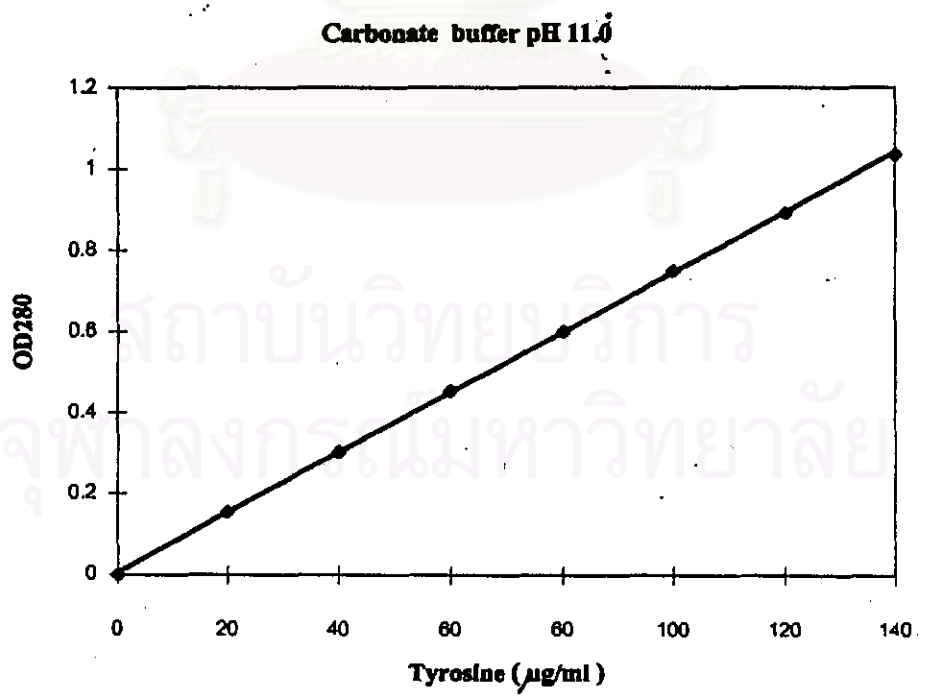

Tris - HCl buffer pH 9.0
OD280
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
20
40
60
80
100
120
140
Tyrosine (µg/ml)


Tris - HCl buffer pH 9.5
OD280
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
20
40
60
60
100
120
140
Tyrosine (µg/ml)


Carbonate-bicarbonate buffer pH 9. 5
OD280
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
20
40
60
80
100
120
140
Tyrosine (µg/ml)

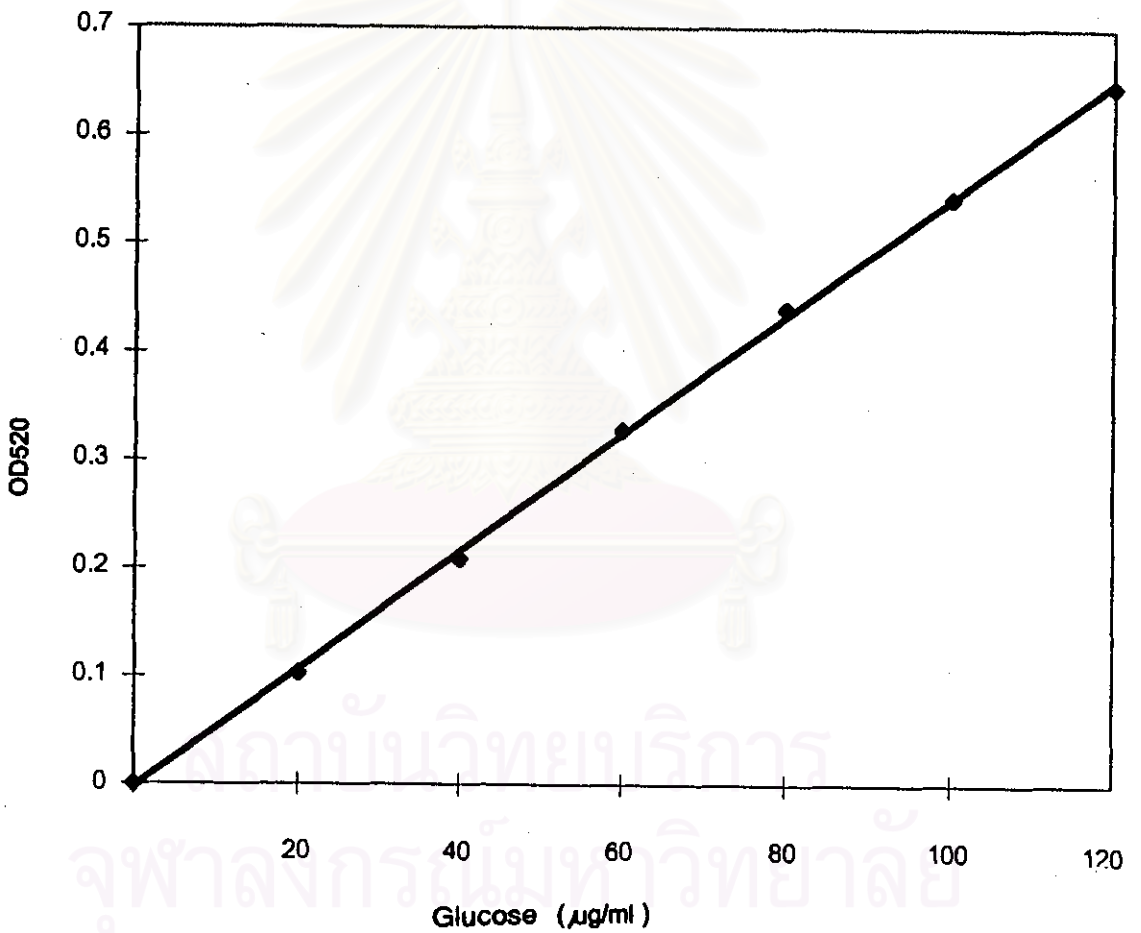

Carbonate-bicarbonate buffer pH 10.0
OD280
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
20
40
60
80
100
120
140
Tyrosine (µg/ml)



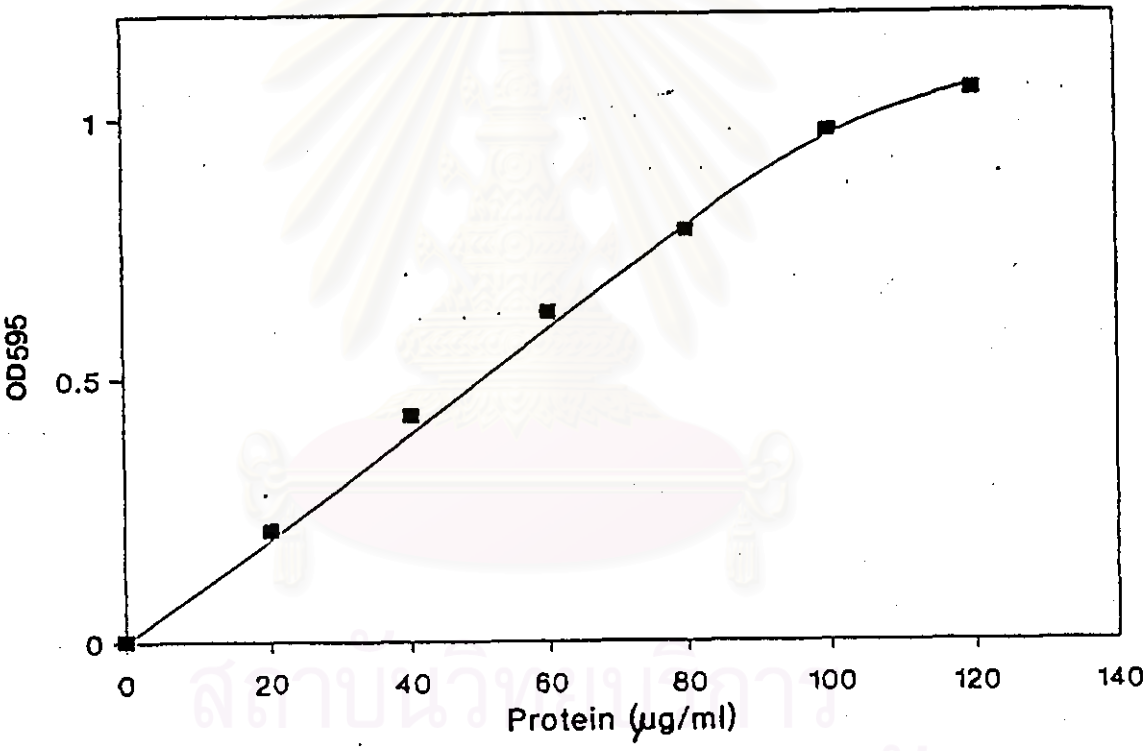


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ โดยวิธีของ Nelson แปรผันความเข้มข้นของกลูโคส 0-120 ไมโครกรัม วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร



ภาคผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีแบรดฟอร์ด แปรผันความเข้มข้นของ Bovine Serum Albumin (BSA) 0-120 ไมโครกรัม วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 4 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับตรวจวัดโปรตีเอสแอคติวิตี

สารละลาย Tris - HCl บัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ pH 7.0 , 7.5 , 8.0 , 8.5 , 9.0 และ 9.5

ชั่ง Tris (hydroxymethyl)- aminomethane จำนวน 12.11 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ให้ได้ตามต้องการ แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

สารละลายคาร์บอเนต - ไบคาร์บอเนตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ pH 9.5 , 10.0 และ 10.5

ก. เตรียมสารละลาย 0.2 โมลาร์ Na_2CO_3 (x) จำนวน 1,000 มิลลิลิตร โดยชั่ง

$Na_2CO_3.10H_2O$ (น้ำหนักโมเลกุล 286.2) 57.24 กรัม/ลิตร หรือ

Na_2CO_3 (น้ำหนักโมเลกุล 106.2) 21.20 กรัม/ลิตร

ข. เตรียมสารละลาย 0.2 โมลาร์ $NaHCO_3$ (y) จำนวน 1,000 มิลลิลิตร โดยชั่ง

$NaHCO_3$ (น้ำหนักโมเลกุล 84.0) 16.80 กรัม/ลิตร

แล้วผสมสารละลายในข้อ ก. และ ข. ดังกล่าวตาม pH ที่ต้องการ

pH , 25 ^{0}C	x (ml)	y (ml)
9.5	65	185
10.0	137	112.5
10.5	202.5	47.5

และปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารละลายคาร์บอเนตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ , pH 11.0

ชั่ง Na_2CO_3 10.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับด้วย 0.1 N NaOH เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร

สารละลาย EDTA 0.5 โมลาร์ , pH 8.0

เตรียมสารละลายจำนวน 100 มิลลิลิตร โดยชั่ง disodium ethylenediaminetetraacetate $2H_2O$ จำนวน 18.61 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ปรับค่า pH ให้เป็น 8.0 ด้วย 1 N NaOH ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

การศึกษาการยับยั้งการทำงานโดย EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)

นำเอนไซม์ผงมาละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ต้องการศึกษา จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับบัฟเฟอร์เดียวกัน ปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 8.0 จำนวน 0.2 มิลลิลิตร เพื่อให้ความเข้มข้นสุดท้ายของ EDTA เป็น 0.5 มิลลิโมลาร์ เติมสารละลายเคซีนที่เตรียมในบัฟเฟอร์เดียวกันปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 45 $^{\circ}C$ นาน 20 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยการแช่ในอ่างน้ำแข็ง แล้วเติม 10 เปอร์เซ็นต์ กรดไตรคลอโรอะซีติก ที่เย็นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องเซ็นตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที นำส่วนน้ำใสมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร โดยทำ แบลงค์และหลอดควบคุม ที่มี EDTA ผสมอยู่เช่นเดียวกัน นำค่าที่ได้มาคำนวณหาแอคติวิตีของโปรตีเอส ทำการวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบกับค่าแอคติวิตีของโปรตีเอสที่ค่า pH ต่างๆ

ประวัติผู้เขียน

นางสาว วรรณวิมล ทรัพย์ดี เกิดเมื่อวันที่ 11 สิงหาคม พ.ศ. 2508 ที่จังหวัดราชบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2530 และได้เข้าศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2537 ปัจจุบันรับราชการในตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย