

การศึกษาวิธีการสกัดโปรตีนจาก *Bombyx mori* ด้วยตัวทำละลายตกตะกอนดัดแปลงเพื่อการวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE

THE STUDY OF PROTEIN EXTRACTION METHOD FROM *Bombyx mori* USING MODIFIED PRECIPITATION SOLVENTS FOR SDS-PAGE ANALYSIS

กรรณิกา คนขาว¹, อัจฉรา แก้วกล้า^{1*}, เอกวิทย์ ตรีเนตร¹ และ สิริวัฒน์ บุญชัยศรี²

Kannika Khonkao¹, Achara Kleawkla^{1*}, Ekawit Threenet¹ and Siriwat Boochaisri²

¹ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

² สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

* ผู้มีพันธะประสานงาน: อัจฉรา แก้วกล้า อีเมล: achara_kleawkla@yahoo.co.uk

บทคัดย่อ:

Bombyx mori เป็นแหล่งโปรตีนที่มีความหลากหลายทางชีวภาพและมีศักยภาพสูงในการประยุกต์ใช้ด้านเคมีและชีววิทยา ระดับโมเลกุล อย่างไรก็ตามการสกัดโปรตีนจาก *Bombyx mori* ยังคงเป็นความท้าทายเนื่องจากองค์ประกอบที่ซับซ้อนและสิ่งรบกวนทางเคมีที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการแยกโปรตีน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนจาก *Bombyx mori* ด้วยตัวทำละลายตกตะกอนดัดแปลง 4 วิธี ได้แก่ (1) 7 โมลาร์ ยูเรีย 2 โมลาร์ ไทโอยูเรีย และ 4% แซปส์ (2) โซเดียมโดเดซิล ซัลเฟต (3) 20 มิลลิโมลาร์ ทริส ไฮโดรคลอไรด์ และ 100 มิลลิโมลาร์ โซเดียมคลอไรด์ พีเอช 7.5 และ (4) 2% ดีทีที และ 2% เอ็นพี-40 โปรตีนที่สกัดได้นำมาวิเคราะห์ด้วยเอสดีเอส-เพจ เพื่อประเมินปริมาณ คุณภาพ และรูปแบบการกระจายตัวของโปรตีน เพื่อค้นหาวิธีการที่เหมาะสมที่สุด ผลการทดลองพบว่า ปริมาณโปรตีนเฉลี่ย วิธีที่ 1 (21.23 ± 7.34) และ วิธีที่ 4 (18.02 ± 4.70) มีค่าสูงกว่า วิธีที่ 2 (5.63 ± 2.01) และ วิธีที่ 3 (7.13 ± 0.69) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อวิเคราะห์ด้วยเอสดีเอส-เพจ ปรากฏว่าตัวทำละลายตกตะกอนดัดแปลง วิธีที่ 1 ให้ประสิทธิภาพสูงสุด โดยตรวจพบแถบโปรตีนจำนวน 20 แถบ ครอบคลุมช่วงน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ต่ำถึงสูง (20.0, 22.9, 28.4, 36.0, 38.0, 39.1, 45.9, 49.7, 55.3, 58.3, 61.5, 64.9, 68.9, 72.6, 99.5, 104.9, 110.8, 116.8, 140.8 และ 156.6 kDa) ขณะที่วิธีที่ 2, 3 และ 4 ไม่พบการแสดงออกของแถบโปรตีน จากนั้นนำตัวทำละลายตกตะกอนดัดแปลงวิธีที่ 1 มาศึกษาผลของความเข้มข้นที่ระดับ 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 และ 4.00 เท่า พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของตัวทำละลายดังกล่าวไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดและความชัดเจนของแถบโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ โดยรูปแบบและความคมชัดของแถบโปรตีนไม่แตกต่างกันเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลาย ซึ่งชี้ให้เห็นว่าตัวทำละลายตกตะกอนดัดแปลงวิธีที่ 1 มีความเหมาะสมและเสถียรสำหรับการสกัดโปรตีนจาก *Bombyx mori*

คำสำคัญ : การสกัดโปรตีน ตัวทำละลายตกตะกอนดัดแปลง เอสดีเอส-เพจ

Abstract:

Bombyx mori represent a biologically diverse source of proteins with high potential for applications in chemistry and molecular biology. However, protein extraction from *Bombyx mori* remains challenging due to its complex composition and the presence of chemical contaminants that interfere with protein separation efficiency. This study aimed to investigate and compare the efficiency of four modified precipitation solvents for *Bombyx*

mori protein extraction (1) 7 M urea, 2 M thiourea and 4% CHAPS (2) sodium dodecyl sulfate (3) 20 mM Tris-HCl and 100 mM sodium chloride pH 7.5 and (4) 2% DTT and 2% NP-40. The extracted proteins were analyzed using SDS-PAGE to evaluate protein yield, quality and band distribution patterns to identify the most suitable extraction method. The average protein concentrations obtained from method 1 (21.23 ± 7.34) and method 4 (18.02 ± 4.70) were significantly higher than those of method 2 (5.63 ± 2.01) and method 3 (7.13 ± 0.69). The results of SDS-PAGE demonstrated that the modified precipitation solvent method 1 provided the highest extraction efficiency, yielding 20 distinct protein bands spanning a broad molecular weight range from low to high (20.0, 22.9, 28.4, 36.0, 38.0, 39.1, 45.9, 49.7, 55.3, 58.3, 61.5, 64.9, 68.9, 72.6, 99.5, 104.9, 110.8, 116.8, 140.8 and 156.6 kDa). In contrast, methods 2, 3 and 4 showed no detectable protein band expression. Subsequently, modified precipitation solvent method 1 was further evaluated at concentration levels of 0.25x, 0.50x, 1.00x, 2.00x, and 4.00x. Variations in solvent concentration did not significantly affect extraction efficiency or band clarity, as the protein band patterns and sharpness remained consistent across concentrations. These findings indicate that modified precipitation solvent method 1 is a suitable and stable method for protein extraction from *Bombyx mori*.

Keywords: Protein extraction, modified precipitation solvent, SDS-PAGE