



## ประกาศศูนย์ทรัพย์สินทางปัญญา

เรื่อง ประกาศโฆษณาคำขอขึ้นทะเบียนพันธุ์พืช พันธุ์สัตว์ จุลชีพ และเซลล์เพาะเลี้ยง  
ตามประกาศมหาวิทยาลัยขอนแก่น ฉบับที่ 145/2564

ด้วยศูนย์ทรัพย์สินทางปัญญา ได้รับคำขอขึ้นทะเบียนพันธุ์พืช พันธุ์สัตว์ จุลชีพ และเซลล์  
เพาะเลี้ยง ที่ยื่นโดยนักวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น ตามประกาศมหาวิทยาลัยขอนแก่น ฉบับที่ 145/2564 เพื่อ  
ขอรับหนังสือแสดงการขึ้นทะเบียนดังกล่าว ได้แก่ ยีสต์ *Pichia kudriavzevii* สายพันธุ์ PkAc-9

ศูนย์ทรัพย์สินทางปัญญา ได้พิจารณาคำขอขึ้นทะเบียนดังกล่าว เห็นว่ามีรายละเอียดถูกต้อง  
ดังนั้น ศูนย์ฯ จึงให้มีการประกาศโฆษณาคำขอขึ้นทะเบียนดังกล่าว โดยมีรายละเอียดคำขอตามที่แนบมาทำ  
ประกาศนี้

หากผู้ใดมีสิทธิในส่วนได้เสีย หรือเห็นว่าคำขอขึ้นทะเบียนฯ ดังกล่าวไม่ถูกต้อง สามารถยื่น  
คัดค้านต่อเจ้าหน้าที่ ณ ศูนย์ทรัพย์สินทางปัญญา มหาวิทยาลัยขอนแก่น ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัด  
ขอนแก่น 40002 โทรศัพท์ 043-202733 หรือ 086-4514455 ภายในกำหนดหกสิบวัน นับตั้งแต่วันเริ่มประกาศ  
โฆษณานี้เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 8 มิถุนายน พ.ศ. 2566

นางจิราภรณ์ เหลืองไพรินทร์

รักษาการแทนผู้อำนวยการศูนย์ทรัพย์สินทางปัญญา

## แบบที่เรีย

- (1) เลขที่คำขอ : 7/2566
- (2) ชื่อพันธุ์ : PKAc-9
- (3) ชื่อผู้ขอ : นายพรเทพ ถนนแก้ว
- (4) ชื่อผู้ร่วมวิจัย/ปรับปรุงสายพันธุ์ : -
- (5) รายละเอียดที่มาของพันธุ์ :

ยีสต์ *Pichia kudriavzevii* สายพันธุ์ PKAc-9 เป็นยีสต์ที่ได้จากการนำยีสต์ *Pichia kudriavzevii* สายพันธุ์ CM4.2 มาปรับปรุงสายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะเครียดที่เกิดจากผลของกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นสูงๆ ผ่านการเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 7,992 ชั่วโมง หรือประมาณ 333 วัน ซึ่งเรียกวิธีการปรับปรุงสายพันธุ์แบบนี้ว่า Evolutional adaptation

## วิธีการคัดเลือกพันธุ์/พัฒนาสายพันธุ์

นำโคโลนีของยีสต์ *Pichia kudriavzevii* CM4.2 ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร yeast extract malt extract (YM) ที่มีส่วนประกอบของยีสต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร เปปโตน 5 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการถ่ายเชื้อยีสต์ลงสู่อาหารใหม่สูตร YM โดยให้มีความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้น  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มที่ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

จากนั้นถ่ายกล้าเชื้อยีสต์ที่ได้นี้ลงสู่อาหารเหลวสูตร YM ที่เติมกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 7 กรัมต่อลิตร โดยให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และทำการถ่ายเชื้อลงสู่อาหารใหม่ที่เติมกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 7 กรัมต่อลิตร เช่นเดิม ทำการเพาะเลี้ยงซ้ำ ๆ จนครบ 24 รอบ

ย้ายเซลล์ลงสู่อาหารใหม่ที่เติมกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นย้ายเซลล์ลงสู่อาหารใหม่ที่เติมกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบเดิม ซ้ำ ๆ เป็นจำนวนทั้งสิ้น 45 รอบ จึงย้ายเซลล์ลงสู่อาหารใหม่ที่เติมกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 9 กรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นจึงย้ายเซลล์ลงสู่อาหารใหม่ที่เติมกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 9

กรัมต่อลิตรเช่นเดิม และทำการเพาะเลี้ยงแบบเดิม ซ้ำ ๆ เป็นจำนวนทั้งสิ้น 50 รอบ จะได้เซลล์ยีสต์ *Pichia kudriavzevii* และตั้งชื่อสายพันธุ์นี้ว่า PkAc-9 (พีเคเอซี-9)

(6) ลักษณะประจำพันธุ์ :

จุดเด่นที่สำคัญของยีสต์ *Pichia kudriavzevii* สายพันธุ์ PkAc-9 คือมีความสามารถในการทนสารยับยั้งการเจริญชนิดต่าง ๆ ที่พบในสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายสารประกอบประเภทลิแกนด์ไฮดรอกซีไลต์ได้ดี รวมทั้งสามารถผลิตเอทานอลได้สูงเมื่อทำการหมักภายใต้สภาวะที่มีกรดอะซิติก โดยสามารถสรุปจุดเด่นของยีสต์ได้ดังต่อไปนี้

1. สามารถเจริญและทนกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นสูงถึง 12 กรัมต่อลิตร
2. สามารถเจริญและทนสารเพอร์ฟิวรอลที่ความเข้มข้นสูงถึง 3 กรัมต่อลิตร
3. สามารถเจริญและทนกรดฟอร์มิกที่ความเข้มข้นสูงถึง 2 กรัมต่อลิตร
4. สามารถเจริญและทนสารวานิลินที่ความเข้มข้นสูงถึง 2 กรัมต่อลิตร
5. สามารถเจริญและผลิตเอทานอลได้สูงถึง 66.25 กรัมต่อลิตร เมื่อหมักโดยใช้อาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 160 กรัมต่อลิตร และมีกรดอะซิติกเริ่มต้น 9 กรัมต่อลิตร