หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการศึกษา Streptomyces sp. 42-9 โดยกาญจนา วรวิทย์วัฒนะ(2) ซึ่งแยกได้จากตัวอย่างดินในประเทศไทย จังหวัดนครราชสีมา พบว่า Streptomyces สายพันธุ์นี้ สร้างไซแลเนสได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซแลนเป็นแหล่งคาร์บอน แต่ไม่สามารถใช้น้ำตาลโมโนแซคคาไรด์และไดแซคคาไรด์ ซึ่งได้แก่ ฟรุคโตส ไซโลส แรมโนส แรฟฟิโนส อราบิโนส อินโนซิทอล แมนนิทอล และซูโครส เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตไซแลเนสได้ และนอกจากนี้ Streptomyces sp. 42-9 ยังสามารถใช้กากรำข้าวเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตเอนไซม์นี้ได้

กาญจนา วรวิทย์วัฒนะ(2)ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ในการผลิตเอนไซม์ไซแลเนสรวมทั้งได้แยกเอนไซม์ออกมาจากน้ำเลี้ยงเชื้อโดยตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 80 เปอร์เซนต์ แล้วนำเอนไซม์กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้มาศึกษาสมบัติของเอนไซม์ ดังแสดงในตารางที่ 10

สำหรับงานวิจัยนี้จะศึกษาขั้นตอนการทำไซแลเนสจาก Streptomyces sp. 42-9 ให้บริสุทธิ์โดยการตกตะกอนลำดับส่วนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต แล้วจึงนำลำดับส่วนที่มีไซแลเนสแอคติวิตีสูงสุดไปทำให้บริสุทธิ์ต่อไปโดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี ในขั้นแรกได้หาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอมโมเนียมซัลเฟตในการตกตะกอนไซแลเนส จากผลการทดลอง ดังตารางที่ 3,4 และ 5 พบว่าที่ลำดับส่วน 20-50 เปอร์เซนต์ แอมโมเนียมซัลเฟต เป็นลำดับส่วนที่โปรตีนส่วนใหญ่มีแอคติวิตีของเอนไซม์ไซแลเนส เนื่องจากให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด (ตารางที่ 6) และจากการทดลองขั้นนี้จะได้เอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 11.86 เท่าและมีปริมาณเอนไซม์เหลือถึง 71.88 เปอร์เซนต์ซึ่งช่วงความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการตกตะกอนไซแลเนสจาก Streptomyces sp. 42-9 จะแตกต่างกับ Bacillus spp.(20) และ Trichosporon cutaneum (22)ซึ่งจะตกตะกอนเอนไซม์ในช่วงแอมโมเนียมซัลเฟตที่แคบมากคือ 80-90 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 10 แสดงภาวะและปัจจัยต่าง ๆ ต่อการทำงานของเอนไซม์ไซแลเนสจาก Streptomyces sp. 42-9

สมบัติของเอนไซม์	สภาวะที่เหมาะสม
อุณหภูมิที่เหมาะสม	55-60 องศาเซลเซียส
ความเป็นกรด ด่างที่เหมาะสม	6.0
ชนิดของบัฟเฟอร์	อะซิเตทบัฟเฟอร์
ความเสถียรต่อความเป็นกรดด่าง	5.0-9.0
ความเสถียรต่ออุณหภูมิ	น้อยกว่า 60 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิที่เอนไซม์สูญเสียแอคติวิตีทั้งหมด	65 องศาเซลเซียส 30 นาที
K_m	0.67 มก./มล.

ขั้นต่อไปในการทำเอนไซม์ไซแลเนสจาก Streptomyces sp.42-9ให้บริสุทธิ์ คือ นำเอนไซม์ที่ผ่านขั้นตอนการตกตะกอนแอมโมเนียมซัลเฟตแล้วมาผ่านคอลัมน์ ดีอีเออีเซฟาเด็กซ์ เอ-50 จากนั้นชะคอลัมน์ด้วยเกรเดียนท์เส้นตรงของเกลือโซเดียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 0-500 มิลลิโมลาร์ ใน 0.1โมลาร์ ทริส-บัฟเฟอร์ pH 7.5ให้ผลดังรูปที่ 2 พบว่า โปรตีนที่มีแอคติวิตีของเอนไซม์ไซแลเนสมีเพียงยอดเดียว และจะออกมาที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 30-150 มิลลิโมลาร์ เมื่อรวมสารละลายเอนไซม์เข้าด้วยกันแล้ววัดแอคติวิตีรวมของเอนไซม์ ได้เท่ากับ 1,384 หน่วย มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 20.33 เท่า และมีปริมาณเอนไซม์เหลือ 53.23 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 6) สามารถสรุปได้ว่า เอนไซม์ไซแลเนสจาก Streptomyces sp. 42-9 มีประจุเป็นลบไม่สูงมาก เนื่องจากสามารถถูกชะออกมาที่ช่วงความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่สูงมาก(30-150 มิลลิโมลาร์) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับไซแลเนสจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ จะพบว่าเอนไซม์จะถูกชะออกมาที่ช่วงความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่างกัน เช่น ในยีสต์ Cryptococcus albidus ไซแลเนสจะถูกชะออกมาที่ความเข้มข้นของ เกลือ โซเดียมคลอไรด์ 0-0.25 โมลาร์ ใน 0.05 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 เมื่อผ่านคอลัมน์ ดีอีเออีเซลลูโลส และจะถูกชะออกมาในช่วงความเข้มข้นเกลือประมาณ 0.45-0.6 โมลาร์ ใน

0.05 โมลาร์ อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 5.1 เมื่อผ่านคอลัมน์ซีเอ็ม-เซฟาเด็กซ์ ซี-50 (CM-Sephadex C-50)(23) ส่วนไซแลเนสจาก Chaetomium thermophile var.coprophile (4)จะถูกชะออกมาในช่วงความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ประมาณ 0.03-0.3 โมลาร์ใน 0.05 โมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ pH 7.4 เมื่อผ่านคอลัมน์ดีอีเออีเซฟาเด็กซ์ เอ-50 เป็นต้น

เมื่อรวมสารละลายเอนไซม์ดังกล่าวเข้าด้วยกัน แล้วนำไปทำโครมาโตกราฟีบนเซฟาเด็กซ์ จี-150 และชะล้างคอลัมน์ด้วย 0.1 โมลาร์ อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 5.5 พบว่า ยอดของโปรตีนที่มีแอคติวิตีของเอนไซม์ไซแลเนสมีเพียงยอดเดียว และเมื่อรวมสารละลายของเอนไซม์เข้าด้วยกัน พบว่า มีแอคติวิตีรวม 986 หน่วย ซึ่งจะเห็นว่า แอคติวิตีรวมจะ ลดลงเมื่อเทียบกับหลังจากผ่านคอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาเด็กซ์ เอ-50 แต่แอคติวิตีจำเพาะจะเพิ่มจากเดิม 7.32 หน่วย/มิลลิกรัมโปรตีน เป็น 12.62 หน่วย/มิลลิกรัมโปรตีน ซึ่งความบริสุทธิ์จะเพิ่มขึ้นจากเดิม (สารสกัดของเอนไซม์) 35.06 เท่าและมีปริมาณเอนไซม์เหลือ 37.96 เปอร์เซนต์ เมื่อนำเอนไซม์จากขั้นตอนต่างๆ คือ สารสกัดเอนไซม์ , สารละลายหลังจากการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต 20-50 เปอร์เซนต์,สารละลายหลังจากผ่านคอลัมน์ เซฟาเด็กซ์ จี-150 มาตรวจสอบความบริสุทธิ์โดยทำอิเลคโตรโฟริซิสบนโพลีอะคริลาไมด์เจล พบว่า เอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น ตามลำดับ โดยจำนวนแถบโปรตีนที่ปรากฏจะลดลง และในขั้นตอนสุดท้ายจะปรากฏแถบโปรตีนเด่นชัดเพียงแถบเดียว (ดังรูปที่ 4) ซึ่งเมื่อนำแถบโปรตีนนี้มาตรวจสอบแอคติวิตีของเอนไซม์ พบว่ามีแอคติวิตีของเอนไซม์ไซแลเนส ดังแสดงในรูปที่ 5

จากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล โดยเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐานเมื่อผ่านคอลัมน์เซฟาเด็กซ์ จี-150 พบว่าไซแลเนสจาก Streptomyces sp.42-9 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 36,000 ดาลตัน (รูป 6 และ 7) จากรายงานที่ผ่านมา Morosoli และคณะ (18) พบว่าเอนไซม์ไซแลเนสจาก Streptomyces lividans มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 43,000 ดาลตัน โดยการวิเคราะห์ด้วย HPLC (โครมาโตกราฟีแบบของเหลวความดันสูง) โดยใช้คอลัมน์ Protein Pak DEAE 5 PW anion-exchange column)

Lee และคณะ(19)ได้ศึกษาเอนไซม์ไซแลเนสจาก Cl. acetobutylicum พบว่า ไซแลเนส A และ ไซแลเนส B มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 63,000 และ 29,500 ดาลตัน เมื่อวิเคราะห์โดย คอลัมน์ไบโอเจล พี-150 และ ซีเอ็ม-เซฟาโรส ตามลำดับ

Okasaki และคณะ (20) รายงานว่า เอนไซม์ไซแลเนสจาก Bacillus spp. ชนิด W1-II และ W2-II มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 48,500 และ 51,000 ดาลตัน เมื่อใช้คอลัมน์ Toyopearl HW-55 และ Trichosporon cutaneum (22) มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 45,000 ดาลตันเมื่อใช้คอลัมน์ไบโอเจล พี-100 เป็นต้น จะเห็นว่าเอนไซม์ไซแลเนสจากแหล่งต่างๆกัน จะมีขนาดโมเลกุลแตกต่างกันค่อนข้างสูง

งานวิจัยนี้ ยังได้นำไซแลเนสที่เตรียมได้ มาวิเคราะห์หน่วยย่อยของโปรตีนโดยการทำอิเลคโตรโฟริซิสบน SDS-โพลีอะคริลาไมด์เจล พบว่า ได้แถบโปรตีนที่ติดสีเข้ม 1 แถบ และมีสีจางมากอีกหนึ่งแถบซึ่งอาจเป็นโปรตีนปนเปื้อน ผลการวิเคราะห์นี้แสดงว่าไซแลเนสจาก Streptomyces sp.42-9 มีองค์ประกอบเป็นสายเปปไทด์เดี่ยว

มีรายงานการศึกษาถึงหน่วยย่อยของเอนไซม์ไซแลเนสจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เมื่อวิเคราะห์ด้วย SDS-โพลีอะคริลาไมด์เจล อิเลคโตรโฟริซิส เช่น เอนไซม์จาก Bacillus spp. (20), Cl. acetobutylicum (19), T. cutaneum (22) , I. lacteus (24), C. thermophile (4) และ H. lanuginosa (11) เป็นต้น พบว่า ไซแลเนสจากจุลินทรีย์ดังกล่าวไม่มีหน่วยย่อยเช่นเดียวกับไซแลเนสจาก Streptomyces sp. 42-9 ในงานวิจัยนี้ ดังรายละเอียดในตารางที่ 2 และจากการศึกษาถึงน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์จากจุลินทรีย์เหล่านี้โดยวิธี SDS-โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟริซิส พบว่าน้ำหนักโมเลกุลมีค่าใกล้เคียงหรือเท่ากันกับ เมื่อวิเคราะห์โดยเจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟี (gel filtration chromatography)

อนึ่ง Okasaki และคณะ (20) ได้กล่าวไว้ว่าไซแลเนสที่สร้างมาจากแบคทีเรียทุกชนิดจะมีเพียง 1 ชนิด ในขณะที่ราสามารถผลิตไซแลเนสได้หลายชนิดตั้งแต่ 1 ไปจนถึง 6 ชนิด แต่มีราบางชนิดที่ผลิตไซแลเนสได้เพียงชนิดเดียวเช่น T. cutaneum(22) และ H. lanuginosa (11)

สำหรับการศึกษาสมบัติของไซแลเนสจาก Streptomyces sp.42-9 พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เป็น 60-65 องศาเซลเซียสที่ pH 5.5 ในอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์ที่ไม่ได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ (ตารางที่ 10)พบว่าสภาวะที่เหมาะสมมีความใกล้เคียงกันมากคือช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานเป็น 55-60 องศาเซลเซียส pH 6.0 ในอะซิเตทบัฟเฟอร์ความ

เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์นี้จะใกล้เคียงกับเอนไซม์จากเชื้อ CL. acetobutylicum ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานเป็น 50 และ 60 องศาเซลเซียส (19) ส่วนเอนไซม์จาก H. lanuginosa (11)มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานเป็น 65 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ในจุลินทรีย์ชนิดต่างๆจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ใกล้เคียงกัน คือ ค่อนข้างจะสูง ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 2 และนอกจากนั้นเอนไซม์ไซแลเนสจาก Streptomyces sp.42-9 สามารถทำงานได้ดีในอะซิเตทบัฟเฟอร์ ซึ่งคล้ายคลึงกับเอนไซม์ไซแลเนสที่ผลิตจาก Streptomyces sp. KT-23 (15) , CL. acetobutylicum (18) , C. thermophile (4) , T. harzianum (21) และ C. albidus (23) เป็นต้น

จากการศึกษาความเสถียรของเอนไซม์ไซแลเนสจาก Streptomyces sp. 42-9 พบว่าเอนไซม์นี้มีความเสถียรต่ออุณหภูมิได้ดีถึง 55 องศาเซลเซียส จากนั้นแอคติวิตีจะค่อยๆ ลดลงไปช้าๆ อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เอนไซม์นี้ก็ยังคงมีแอคติวิตีเหลือถึงเกือบ 60 เปอร์เซนต์ ซึ่งจัดว่าเป็นเอนไซม์ที่มีความเสถียรต่ออุณหภูมิสูงได้ดี (รูปที่ 14)

Nakajima และคณะ(15)กล่าวว่าไซแลเนสจาก Streptomyces โดยส่วนใหญ่จะมีความเสถียรต่ออุณหภูมิค่อนข้างสูง เช่น Streptomyces sp. KT-23 มีความทนทานต่ออุณหภูมิได้ถึง 65 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงกว่านี้แอคติวิตีจะลดลงทันทีซึ่งสมบัตินี้เหมือน กับ Bacillus spp. ซึ่งมีความเสถียรต่ออุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (20) แต่ก็มีเอนไซม์ไซแลเนสจาก Streptomyces บางชนิด ที่มีความเสถียรต่ออุณหภูมิต่ำ เช่น S. lividans จะมีความเสถียรต่ออุณหภูมิได้เพียง 37 องศาเซลเซียส (18) เป็นต้น

การศึกษา pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เป็นดังนี้

แหล่งของเอนไซม์	pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซแลเนส	เอกสารอ้างอิง
Cl. acetobutylicum ATCC 824	5.0-5.5	19
S. lividans	6.0	14
T. harzianum	4.5-5.0	21
Streptomyces sp. KT-23	5.5	15
C. thermophile	5.4-6.0	4
Bacillus spp.	6.0,7.0-9.0	20
T. cutaneum	5.0	22

สำหรับการศึกษาความเสถียรต่อ pH ของไซแลเนสจาก Streptomyces sp. 42-9 พบว่า มีความเสถียรต่อ pH ค่อนข้างกว้างคือ ที่ 5.0-9.0 (รูปที่ 17) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์ไซแลเนสจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆจะแตกต่างกันไปเช่นเอนไซม์ไซแลเนสจาก H.lanuginosa มีความเสถียรต่อ pH ในช่วงกว้างคือ 5.0-8.0 (11) เช่นเดียวกับไซแลเนสจาก Streptomyces sp.42-9 (15) และ T. cutaneum(22) ซึ่งเสถียรต่อ pH ในช่วง 4.0-10.0 และ 4.5-9.0 ตามลำดับ ส่วน S. lividans (18) จะผลิตไซแลเนสที่มีความเสถียรต่อความเป็นกรดด่างที่ 6.0

ส่วนไอออนที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ คือ สังกะสี (Zn^{++}),แมกนีเซียม (Mg^{++}), แมงกานีส (Mn^{++}), แคลเซียม (Ca^{++}),ปรอท (Hg^{++}), ทองแดง (Cu^{++}) และ ดีบุก (Sn^{++}) โดยปรอทจะมีผลในการยับยั้งที่รุนแรงที่สุด (ตารางที่ 7) ซึ่งสมบัตินี้จะคล้ายกับไซแลเนสจาก Cl. acetobutylicum (19) และ Streptomyces sp. KT-23 (4) เป็นต้น นอกจากนี้ ปรอทจะมีผลกับไซแลเนสจาก H. lanuginosa (11) และไซแลเนสจาก Bacillus spp. (20) เช่นกัน ส่วนเหล็ก (Fe^{++}) และ โคบอลท์ (Co^{++}) แทบจะไม่มีผลต่อแอคติวิตีของเอนไซม์นี้เลย นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของ แอล-อะราบิโนส และ ดี-ไซโลส ต่อการทำงานของเอนไซม์นี้ เนื่องจากว่า ดี-ไซโลสเป็นผลิตภัณฑ์หนึ่งที่ได้จากการย่อยไซแลน และ แอล-อะราบิโนส มีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับไซโลส พบว่าไม่มีผลในการยับยั้งแอคติวิตีของเอนไซม์นี้ (ตารางที่ 8)

การศึกษาความจำเพาะของไซแลเนสต่อสับสเตรทคือไซแลนนั้น พบว่าไซแลนที่ได้มาจากแหล่งต่างๆ มีองค์ประกอบแตกต่างกัน โดยอาจเป็นสายโซ่ตรงที่มีเฉพาะไซโลสหลายโมเลกุล หรือมีสาขาที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆ ปนอยู่ด้วย เช่น แอล-อะราบิโนฟูราโนส (L-arabinofuranose) จะเชื่อมกับส่วนของ ดี-ไซโลสที่ตำแหน่ง 0-3 และ ดี-กลูคูโรนิค แอซิด (D-glucoronic acid) หรือ 4-0-เมทิล-กลูโคโรนิค แอซิด ซึ่งจะเชื่อมกับ ดี-ไซโลสที่ตำแหน่ง 0-2 ไซแลนของพืชต่างชนิดกันมีโครงสร้างหลักเหมือนกัน จะแตกต่างกันก็เฉพาะชนิด จำนวน และตำแหน่งของหน่วยข้างเคียง (side chain unit)(1) ดังนั้นการวิเคราะห์ค่า K_m ของไซแลเนสจากแหล่งต่างๆ จะระบุแหล่งของไซแลนที่ใช้เป็นสับสเตรท เช่น ไซแลเนสจาก Streptomyces sp. 42-9 สามารถใช้ oat spelt ไซแลน เป็นสับสเตรทได้ เช่นเดียวกับไซแลเนสจาก S. lividans (18) โดยพบว่าค่า K_m ของไซแลเนสจาก Streptomyces sp. 42-9 และ S. lividans สำหรับ oat spelt ไซแลน มีค่าเป็น 0.57 และ 0.78 มิลลิกรัมไซแลน/มิลลิลิตร ตามลำดับซึ่งแสดงว่าไซแลเนสจาก Streptomyces sp.42-9 มีความจำเพาะต่อสับสเตรทชนิดนี้สูงกว่า ไซแลเนสจาก S. lividans อย่างไรก็ตามมีรายงานอื่นอีกมากมายถึงความจำเพาะของไซแลเนสต่อไซแลนจากแหล่งอื่น เช่น Streptomyces sp. KT-23 (15) สามารถใช้ไซแลนจากฟางข้าว (rice straw) เป็นสับสเตรทได้ ซึ่งมีค่า K_m เป็น 0.2 มิลลิกรัมไซแลน/มิลลิลิตร และ Cl. acetobutylicum (19) มีค่า K_m เป็น 6.0 และ 6.7 มิลลิกรัมไซแลน/มิลลิลิตร เมื่อใช้ larchwood xylan เป็นสับสเตรท

สำหรับในงานวิจัยนี้ ไม่สามารถหาไซแลนจากแหล่งอื่นนอกเหนือจาก oat spelt ไซแลน มาใช้เป็นสับสเตรทได้ ดังนั้น จึงไม่สามารถเปรียบเทียบความจำเพาะ (K_m) ของไซแลเนสจาก Streptomyces sp.42-9 ต่อไซแลนจากแหล่งอื่น กับไซแลเนสจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้

อนึ่ง จากสมบัติต่างๆ ของเอนไซม์ไซแลเนสที่ได้จาก Streptomyces sp. 42-9 จะเป็นข้อมูลในการศึกษาการนำเอนไซม์นี้ไปใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคตหรืออาจนำมาใช้ในการปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ ในการสร้างเอนไซม์อื่นที่มีความสำคัญเชิงพาณิชย์ เช่น กลูโคสไอโซเมอเรส ซึ่งส่วนใหญ่การสร้างเอนไซม์นี้จำเป็นต้องใช้ไซโลสเป็นสารชักนำ (2) ถ้ามีการนำเทคโนโลยีขั้นสูงมาใช้ เช่น การหลอมผสมโปรโตพลาสท์ (protoplast fusion) ของจุลินทรีย์ทั้งสองเข้าด้วยกันก็จะลดต้นทุนในการผลิตเอนไซม์ดังกล่าวลงได้มาก