หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

Streptomyces เป็นจุลชีพที่แยกได้จากดิน ซึ่งมีมากมายหลายชนิด (species) การที่จุลินทรีย์นี้จะนำสารอาหารจากอินทรีย์วัตถุต่าง ๆ ในดินไปใช้ได้ต้องอาศัยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ โปรตีเอส (proteases) นิวคลีเอส (nucleases) ไลเกส (ligases) อะไมเลส (amylases) ไคติเนส (chitinases) และไซแลเนส (xylanases) (1) เป็นต้น ดังนั้นจึงพบว่า Streptomyces หลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์เหล่านี้ได้ นอกจากนี้ Streptomyces บางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ชนิดอื่นได้ด้วย เช่น กลูโคสไอโซเมอเรส (glucose isomerase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทส (2) ไทโรซิเนส (tyrosinase) เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนไทโรซีน (tyrosine) ไปเป็นเมลานิน (3) อะกาเรส (agarase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายวุ้น (agar) (4) ไลโซไซม์ (lysozyme) ซึ่งสามารถทำลายพันธะ β -1, 4-glycosidic bond ของเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) (5) ตัวอย่างเอนไซม์ที่ผลิตโดย Streptomyces ชนิดต่าง ๆ ได้ แสดงไว้ในตารางที่ 1 นอกเหนือจากความสามารถในการผลิตเอนไซม์ต่าง ๆ แล้ว ยังพบว่า 70-80% ของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในปัจจุบัน ผลิตมาจาก Streptomyces (7) ยาปฏิชีวนะเหล่านี้มีความสำคัญต่อวงการแพทย์ การปศุสัตว์ และการเกษตรกรรมเป็นอย่างมาก ตัวอย่างยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ที่ผลิตโดย Streptomyces ได้แก่ streptomycins (8) oxytetracycline (9) cyclohexamide cycloserine kanamycin lincomycin (10) และ tetracenomycins (11) เป็นต้น

นอกจากความสามารถในการผลิตยาปฏิชีวนะแล้ว Streptomyces ยังมีความสามารถในการผลิตสารยับยั้งเอนไซม์ เช่น ผลิตสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ซัคซิเนทดีไฮโดรจีเนส (succinate dehydrogenase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อขั้นตอนแรกของการงอกของถั่วเขียว ผลิตสารยับยั้งการทำงานของ

เอนไซม์ทริพซิน (trypsin) (6) นอกจากนี้ Streptomyces ยังสามารถผลิตสารที่คล้ายกับสารที่ฆ่าแบคทีเรีย (bacteriocin-like substance) คือ glaucescin (12) และสามารถผลิตวิตามินบี 12 (B_{12}) (13) ได้ด้วย ดังนั้น Streptomyces จึงเป็นจุลชีพที่น่าสนใจมาก และมีประโยชน์สูงต่อวงการอุตสาหกรรมที่ใช้เทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งถ้าหากได้มีการศึกษาวิธีการที่จะสามารถบอกความแตกต่างระหว่างชนิดของ Streptomyces ได้ด้วยวิธีที่รวดเร็วและแม่นยำก็จะเป็นประโยชน์ในการจำแนกและจัดเป็นหมวดหมู่

ตารางที่ 1 เอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ที่ผลิตได้โดย Streptomyces spp. (6)

เอนไซม์	ชนิดของ Streptomyces
glucose isomerase	S. antibioticus
	S. flavogriseus
	S. phaeochromogenes
	S. lividans
	S. albus
∝- Amylase	Streptomyces sp. HA-40
protease	S. alboniger
penicillinase	S. bobili
cellulase	Streptomyces sp. YS-83-1
chitinase	Streptomyces sp. 115-5

ในช่วงระยะเวลาประมาณ 10-20 ปีที่ผ่านมานี้ การจำแนกและจัดหมวดหมู่ Streptomyces จะทำโดยอาศัยลักษณะและโครงสร้างภายนอก (morphology) ได้แก่ การแยกกิ่งก้านสาขาของสายใย ลักษณะของสปอร์ที่ต่อเป็นสายยาวที่เรียกโคนีเดีย(conidia) หรือ อาร์โทรสปอร์ (arthrospores) แต่ก็ยังมีความซ้ำซ้อนกันกับสกุล Nocardia ซึ่งอยู่ในกลุ่ม actinomycetes นี้ (14) ดังนั้นการใช้ลักษณะและโครงสร้างภายนอกยังไม่เหมาะสมต่อการจำแนกและจัดหมวดหมู่

Cummins และ Harris (15, 16) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการจำแนกและจัดหมวดหมู่ของ actinomycetes โดยทำการศึกษาชีวเคมีของผนังเซล พบว่า ผนังเซลของ Streptomyces ประกอบด้วย LL - diaminopimelic acid (DAP) ในเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) แต่ใน actinomycetes อื่น ๆ จะมี DL-DAP ต่อมามี

การพบ actinomycetes ชนิดอื่น ๆ เพิ่มขึ้นโดยการจำแนกและจัดหมวดหมู่ด้วยการใช้ความแตกต่างทางด้านชีวเคมีของผนังเซล พบว่า ผนังเซลของจีนัส Arachnia และพวกสกุลที่ไม่มีวงศ์ (Genera without a family) ก็ประกอบด้วย LL-DAP เช่นเดียวกับของ Streptomyces แต่จะมีคุณสมบัติทางชีวเคมีอื่น ๆ ที่แตกต่างกัน ดังตารางที่2 ซึ่งต่อมานักอนุกรมวิธานสมัยใหม่ ได้ทดลองใช้ปริมาณกัวนีนและไซโตซีน (G+C) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของดีเอนเอ ร่วมกับการวิเคราะห์ชนิดน้ำตาลในเซลที่ถูกย่อยแล้ว (cell hydrolysate) เช่น น้ำตาลอะราบิโนส (arabinose) แมดูโรส (madurose) และฟูโคส(fucose) สำหรับจำแนกชนิดของ Streptomyces ดังแสดงในตารางที่ 2 นอกจากนี้ยังมีผู้จำแนก Streptomyces โดยการอาศัยสมบัติในการย่อยสลายเคซีน (casein) แซนทีน (xanthine) และไทโรซีน (tyrosine) ร่วมกัน (17)

การจำแนกและจัดหมวดหมู่ของ Streptomyces spp. นอกจากจะทำโดยดูจากลักษณะและโครงสร้างภายนอกอันประกอบด้วย การสร้างสี (1) การทดสอบทางด้านชีวเคมีแล้วยังดูจากถิ่นที่อยู่ (habitat) การทำให้เกิดโรคในพืช (14) การผลิตสารอินทรีย์บางชนิดในช่วงการเจริญขั้นทุติยภูมิ (secondary metabolites) (19) เช่นการผลิตยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ซึ่งการจำแนกและจัดหมวดหมู่ดังกล่าว เป็นวิธีการที่ต้องใช้เวลาค่อนข้างมาก และบางครั้งอาจเกิดความผิดพลาดได้ ดังตัวอย่างการจำแนกและจัดหมวดหมู่ของ Aspergillus sp. IMI 96209 ซึ่งในปี 1962 นักอนุกรมวิธานได้จัดให้เป็น Aspergillus flavus แต่ปัจจุบันลักษณะและโครงสร้างภายนอกเหมือนกันกับ Aspergillus oryzae โดยสายพันธุ์นี้เก็บอยู่ในอาหารแข็งเอียง (slant culture) เป็นเวลา 19 ปี ก่อนที่จะนำมาทำ lyophilization (20)

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางชีวเคมีของบางสกุลของ Streptomycetaceae และ actinomycete อื่นๆ (14)

วงศ์และสกุล	G+C (mol%)	ชนิดน้ำตาลในเซลที่ถูกย่อยแล้ว			
		DAP	Arabinose + Galactose	Madurose	Fucose
Streptomycetaceae					
Streptomyces	69-73	LL	-	-	-
Actinomycetaceae					
Arachnia	70-72	LL	-	-	ND
Nocardiaceae					
Nocardia	67-69	DL	+	-	ND
Thermomonosporaceae					
Actinomadura	77	DL	-	+	ND
Genera without a family					
Nocardioides	67	LL	-	-	ND

เครื่องหมาย + หมายถึง ผลการวิเคราะห์พบน้ำตาลชนิดดังกล่าวในเซลที่ถูกย่อยแล้ว

\- หมายถึง ผลการวิเคราะห์ไม่พบน้ำตาลชนิดดังกล่าวในเซลที่ถูกย่อยแล้ว

ND หมายถึง ไม่มีรายงานการตรวจสอบ

ต่อมาได้มีผู้นำลักษณะการเรียงตัวของแถบดีเอนเอที่ถูกตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์บนแผ่นอะกาโรสเจลที่ผ่านการทำอิเลกโทรโฟรีซีสมาประกอบการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ ซึ่งช่วยทำให้การจำแนกและจัดหมวดหมู่จุลินทรีย์เร็วและแม่นยำขึ้น ดังมีรายงานต่อไปนี้

Wadell และ Jong (21) ทดลองตัดดีเอนเอของ Adenovirus type 19 (Ad19) ที่ทำให้เกิดโรคระบาดของเยื่อบุตาอักเสบ (keratoconjunctivitis) ในปี 1973 ในยุโรปและอเมริกาเหนือด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI BglI และ SmaI ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส พบว่ารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอของ Ad19 สายพันธุ์ต่าง ๆ นั้นเหมือนกัน แต่ต่างจากสายพันธุ์ดั้งเดิม (prototype) พบว่าชิ้นส่วนดีเอนเอของสายพันธุ์ดั้งเดิมของ Ad19 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI BglI และ SmaI มี 31 ชิ้น โดยชิ้นส่วนดีเอนเอของ Ad19 ที่ทำให้เกิดโรคเยื่อบุตาอักเสบมี 17 ชิ้น

Signer และคณะ (22) ได้ทดลองหารอยพิมพ์เฉพาะตัว (fingerprint) ของดีเอนเอที่สกัดจากเลือดมนุษย์และเลือดหนูที่มีปริมาตรเพียงเล็กน้อย พบว่ารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอของเลือดคนภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ HinfI และของเลือดหนูภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ HaeIII และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส จะมีรอยพิมพ์เฉพาะตัวที่แตกต่างกันไป นอกจากนี้ยังได้ทดลองแปรเปอร์เซ็นต์ของอะกาโรสเจลเพื่อให้การแยกชิ้นส่วนดีเอนเอมีรอยพิมพ์เฉพาะที่ดียิ่งขึ้น(23) พบว่าภายหลังการตัดดีเอนเอที่สกัดจากเลือดของหนู 2 ตัว ซึ่งเกิดจากการผสมพันธุ์กันในสายพันธุ์เดียวกันด้วย HaeIII แล้วทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสโดยใช้อะกาโรสที่ความเข้มข้น 0.8 % และที่ความเข้มข้นลักษณะเกรเดียนท์ 2 ระดับ คือ 0.8% และ 1.5% โดยให้ 0.8% อยู่ในช่วงต้นของความยาวอะกาโรสเจลและ 1.5% อยู่ในช่วงปลาย พบว่ารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอบนอะกาโรสเจลที่ความเข้มข้นเดียวคือ 0.8% จะแยกชิ้นส่วนของดีเอนเอที่มีขนาดใหญ่ได้ดี แต่ชิ้นส่วนขนาดเล็กบางชิ้นส่วนจะหลุดออกไปจากเจลระหว่างการทำอิเลคโทรโฟรีซีส ส่วนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 0.8% และ 1.5% จะสามารถแยกชิ้นส่วนดีเอนเอขนาดใหญ่ได้ดีในช่วง 0.8 % และในช่วง 1.5% จะแยกชิ้นส่วนขนาดเล็กได้ดีและยังคงอยู่บนเจลมากกว่าที่จะหลุดออกไป

Fujii และคณะ (24) จำแนก adenovirus type 8 โดยการศึกษารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอของ adenovirus type 8 จากผู้ป่วยเป็นโรคเยื่อบุตาอักเสบ (keratoconjunctivitis) ซึ่งอยู่ในช่วงการระบาดของโรค

โดยนำดีเอนเอของ adenovirus type 8 25 สายพันธุ์ที่เก็บสะสมไว้ตั้งแต่ ปี 1975 - 1981 มาตัดด้วย PstI BamHI HindIII และ SalI แล้วทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส ทำให้สามารถแยกได้เป็น 2 ชนิดย่อย (subtypes) คือ A และ B พบว่า ชนิดย่อย A ได้จากกรณีคนป่วยเป็นโรคนี้ในช่วงปี 1975-1978 แต่ชนิดย่อย B ได้จากคนป่วยเป็นโรคนี้ในช่วงปี 1976-1981

Marshall และคณะ (25) วิเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอนเอของสายพันธุ์ Leptospira interrogans ภายหลังการตัดด้วย EcoRI พบว่า Leptospira interrogans ชนิด seravars hardjo และ balcanica ซึ่งอยู่ในกลุ่ม serogroup Hebdomadis จะมีรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอที่ต่างกันและต่างจากสมาชิกตัวอื่นของกลุ่ม Hebdomadis และสมาชิกของกลุ่มอื่น วิธีนี้เป็นประโยชน์สำหรับการจำแนกและจัดหมวดหมู่ของ leptospires

Hintermann และคณะ (26) วิเคราะห์ชิ้นส่วนของดีเอนเอทั้งหมด (total DNA) ของ Streptomyces glaucescens โดยการนำดีเอนเอทั้งหมดมาตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์แล้วแยกชิ้นส่วนดีเอนเอโดยทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส (Restriction Fragment Fingerprint) พบว่าแต่ละสายพันธุ์ดั้งเดิม (wild type) จะมีรูปแบบเฉพาะตัวในการเรียงตัว (typical banding pattern) ของแถบดีเอนเอ ซึ่งรูปแบบการเรียงตัวนี้จะเป็นอิสระต่อสภาวะการเจริญและอายุของเชื้อ และจากการศึกษากับสายพันธุ์ผ่าเหล่าก็พบว่า ส่วนใหญ่จะมีรูปแบบการเรียงตัวของแถบดีเอนเอคล้ายคลึงกับสายพันธุ์ดั้งเดิม

Kozlowski และ Stepien (27) ได้ศึกษารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนของ mitochondrial DNA ของ Aspergillus 7 ชนิด (A. nidulans A. wentii A. awamori A. niger A. oryzae A. tamarii และ A. echinulatus) ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ 2 ชนิดคือ EcoRI และ HindIII โดยทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส เปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางด้านพันธุศาสตร์ (phylogenetic relationships) พร้อมการคำนวณ พบว่าทั้ง A. nidulans และ A. echinulatus ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของ A. nidulans มีความสัมพันธ์กัน

อย่างใกล้ชิด A. oryzae และ A. tamarii ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ A. flavus ทั้งคู่มีลักษณะที่คล้ายกันมาก และที่น่าแปลกคือ A. wentii ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ A. wentii ก็ยังมีรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอที่คล้ายกันมากกับ A. tamarii แสดงว่าแม้เชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้จะต่างชนิดกันก็ยังมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด สำหรับเชื้อที่อยู่ในกลุ่ม A. flavus และ A. nidulans พบว่าให้แถบดีเอนเอที่คล้ายคลึงกันประมาณ 25% แต่มีความคล้ายกันน้อยมากกับเชื้อที่อยู่ในกลุ่ม A. niger

Collins และ De Lisle (28) ศึกษาความแตกต่างของรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอบนอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสของ Mycobacterium bovis BCG และ Mycobacterium tuberculosis 4 สายพันธุ์ ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ 17 ชนิดคือ ApaI BamHI BclI BglI BstEII BstXI EcoRI HindIII KpnI NaeI PstI SacI SalI SmaI Tth111I XbaI และ XhoI พบว่ารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอชัดเจนที่สุดเมื่อตัดดีเอนเอด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BstEII โดยพบว่า M. tuberculosis H37Rv และ H37Ra มีรูปแบบไม่แตกต่างกัน M. tuberculosis T1 มีรูปแบบคล้ายกันกับ M. tuberculosis H37Rv และ H37Ra แต่มีบางชิ้นส่วนที่ต่างกัน M. tuberculosis T2 มีรูปแบบที่ต่างจาก M. tuberculosis T1 M. tuberculosis H37Rv และ H37Ra นอกจากนั้นยังพบว่า M. tuberculosis T2 มีรูปแบบที่แตกต่างจาก M. bovis BCG ค่อนข้างสูงมาก

Vincent และคณะ (29) ได้แบ่งกลุ่มของ Histoplasma capsulatum ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรค 20 สายพันธุ์เป็น 3 กลุ่ม โดยอาศัยความแตกต่างของรูปแบบการเรียงตัวของแถบดีเอนเอของไมโตคอนเดรียลดีเอนเอ (mitochondrial DNA) และไรโบโซมอลดีเอนเอ (ribosomal DNA) ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์บนอะกาโรสเจลที่ผ่านการทำอิเลกโทรโฟรีซีส

Klich และ Mullaney (20) ได้ใช้รูปแบบการเรียงตัวของแถบดีเอนเอโดยการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสในการระบุชนิดของ Aspergillus flavus

และ Aspergillus oryzae โดยพบว่า รูปแบบการเรียงตัวของแถบดีเอนเอที่ผ่านการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ SmaI สามารถบอกความแตกต่างระหว่าง Aspergillus 2 ชนิดนี้ได้ดีกว่าเมื่อตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI HindIII BamHI BanIII XhoI SphI XbaI AccI KpnI และ PstI

ดังนั้นจากการศึกษาต่าง ๆ ดังกล่าว จึงมีแนวโน้มที่จะนำ Restriction Fragment Fingerprint มาใช้ในการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ได้

ความสำคัญและที่มาของหัวข้อวิจัย

งานวิจัยเกี่ยวกับ Streptomyces ที่แยกได้จากแหล่งดินในประเทศไทยซึ่งสามารถสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรมได้ดำเนินการในคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยมานานแล้ว โดยในปี 2526 นฤมล ศุภจรรยา (30) ได้ศึกษากลูโคสไอไซเมอเมสที่ผลิตโดย Streptomyces spp. จำนวน 132 สายพันธุ์พบว่า Streptomyces sp. 190-1 สามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้ปริมาณสูงสุดภายใต้สภาวะการทดลองที่ใช้ และภายหลังการปรับปรุงสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรสและปรับปรุงอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์ดังกล่าว พบว่า Streptomyces sp. 190-1 สามารถผลิตเอนไซม์นี้ได้ 171-299 หน่วยต่อ 1 กรัมของเซล (น้ำหนักแห้ง) ต่อมา ขจีนาฏ จรรยาอุดม (31) ได้สกัดแยกและทำกลูโคสไอโซเมอเรสจาก Streptomyces sp. 190-1 ให้บริสุทธิ์พร้อมทั้งศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์ดังกล่าว

ในปี 2530 กาญจนา วรวิทย์วัฒนะ (32) ได้ศึกษาการผลิตไซแลเนสจาก Streptomyces sp. 42-9 พบว่า สามารถผลิตไซแลเนสได้ปริมาณสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซแลนเป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้ยังพบว่ากากรำข้าวที่มีความเข้มข้น 5% เหมาะสมที่จะเป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนในการเจริญของเชื้อและการผลิตไซแลเนส

ในปี 2532 อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต (33) ได้โคลนไซแลเนสยีนจาก Streptomyces sp. 42-9 เข้าสู่ Streptomyces sp. 190-1 ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำในการสร้างไซแลเนส พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างไซแลเนสของ Streptomyces sp. 190-1 ขึ้นจากเดิม 7-12 เท่า และยังคงสามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้

นอกจากนี้การศึกษาเกี่ยวกับ Streptomyces ชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากดินในประเทศไทยมีแนวโน้มสูงขึ้นในอนาคต อย่างไรก็ตามดังได้กล่าวมาแล้วในบทนำว่าการจำแนกและจัดหมวดหมู่ Streptomyces spp. โดยวิธีที่ใช้อยู่ใช้เวลาค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องหาวิธีการใหม่ ๆ ที่ให้ความรวดเร็วและแม่นยำในการจำแนกชนิด Streptomyces spp. และจากรายงานข้างต้นที่กล่าวถึงการนำเทคนิค Restriction Fragment Fingerprint มาเป็นแนวทางในการจำแนกและจัดหมวดหมู่ชนิดของจุลินทรีย์ได้นั้น พบว่ารายงานการศึกษาใน Streptomyces ยังมีไม่แพร่หลายนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจสอบรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ที่เหมาะสมบนอะกาโรสเจลโดยจะศึกษาเปรียบเทียบใน Streptomyces ที่ทราบชนิดแล้วบางชนิดรวมทั้ง Streptomyces อื่น ๆ ที่แยกได้จากดินในประเทศไทย

ขั้นตอนการวิจัย

1. สกัดโครโมโซมอลดีเอนเอจาก Streptomyces ชนิดต่างๆ
2. เลือกชนิดของเรสทริกชันเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตัดดีเอนเอ
3. ตรวจสอบลักษณะการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอที่ถูกตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ที่เหมาะสมโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส
4. วิเคราะห์รูปแบบการเรียงตัวบนอะกาโรสเจลของชิ้นส่วนดีเอนเอของ Streptomyces spp. หลังจากการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส
5. วิเคราะห์ข้อมูลและเขียนวิทยานิพนธ์

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาลักษณะการเรียงตัวบนอะกาโรสเจลของชิ้นส่วนดีเอนเอซึ่งถูกตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์หลังจากการทำอิเลกโทรโฟรีซีส (Restriction Fragment Fingerprint) เพื่อประกอบการจำแนกชนิดของ Streptomyces spp.