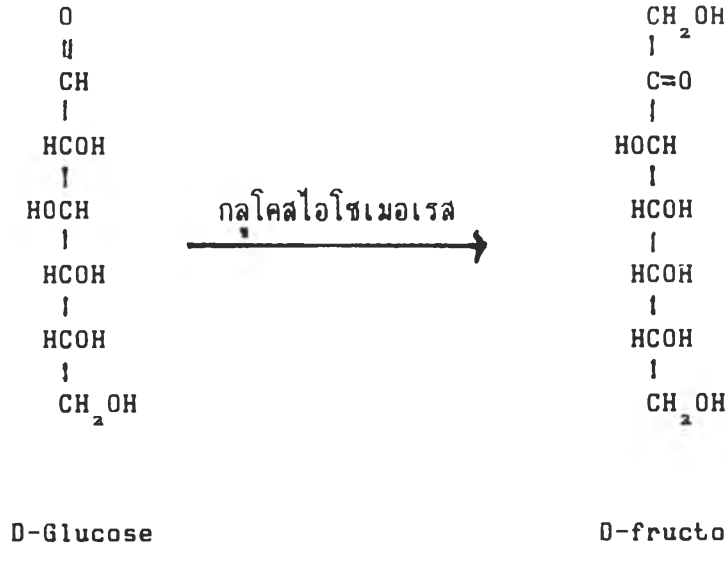
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

เอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส (glucose isomerase) หรือ ไซโลสไอโซเมอเรส (xylose isomerase) เป็นเอนไซม์ที่ให้ปฏิกิริยาจำเพาะในการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทส (Tsumura 1965) หรือ ไซโลสไปเป็นไซลูโลส (Mortlock 1964) ดังแสดงในรูปที่ 1 โดยมีปฏิกิริยาคาตาบอลิสมดังนี้ ในกรณีน้ำตาลไซโลส (xylose) เป็นซับสเทรต (substrate) ไซโลสจะถูกนำเข้าเซลล์โดยโปรตีนจำเพาะ จากนั้นเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรสจะเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลูโลส (xylulose) และน้ำตาลไซลูโลสจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟต (xylulose-5-phosphate) โดยเอนไซม์ไซลูโลไคเนส (xylulo-kinaes) และเข้าสู่ pentose phosphate และ Embden Meyerhoff pathways (Tiraby 1990) ดังแสดงในรูปที่ 2 Shamamna และ Sanderson, 1979 ได้รายงานว่ายีนที่เป็นรหัสของเอนไซม์เหล่านี้ใน *Salmonella typhimurium* จะอยู่เป็นกลุ่ม (cluster) และเรียงตามลำดับดังนี้ *xylT-xylR-xylB-xylA* โดยที่ *xylT* คือยีนที่เป็นรหัสของโปรตีนจำเพาะ, *xylR* คือยีนที่เป็นรหัส Regulatory, *xylB* คือยีนที่เป็นรหัสของเอนไซม์ไซลูโลไคเนส และ *xylA* คือยีนที่เป็นรหัสของเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรส ซึ่งลักษณะการอยู่เป็นกลุ่มนี้จะเหมือนกับที่พบในแบคทีเรียชนิดอื่นๆ เช่น *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces violaceoniger* แต่ลำดับการเรียงตัวของยีนเหล่านี้จะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของแบคทีเรีย

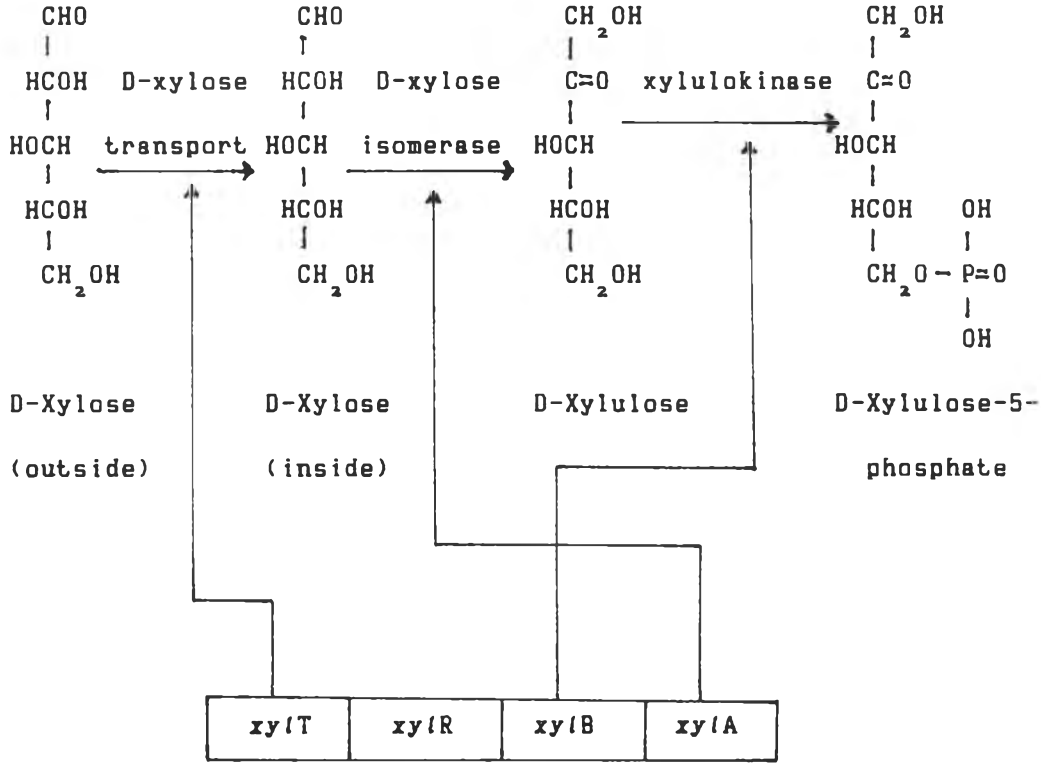
จากความสามารถในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทส และไซโลสเป็นไซลูโลสได้ จึงทำให้เอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสมีความสำคัญในทางอุตสาหกรรมอาหาร คือใช้ในการผลิตฟรักโทสจากกลูโคส เนื่องจากน้ำตาลฟรักโทสเป็นน้ำตาลธรรมชาติที่มีความหวานสูงกว่าน้ำตาลชนิดอื่น จึงทำให้นิยมใช้น้ำตาลฟรักโทสในทางอุตสาหกรรมมากขึ้น ดังนั้นอุตสาหกรรมการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทส (fructose syrup) จึงมีแนวโน้มต้องการของตลาดเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ อีกด้วย (Bucke, 1977 และ Chen, 1980)

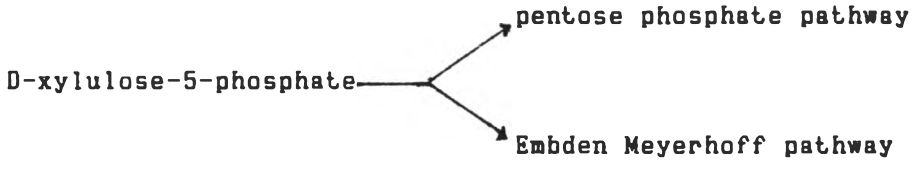


D-Glucose D-fructose

D-Xylose D-Xylulose

รูปที่ 1 แสดงปฏิกิริยาในการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทส และไซโลสไปเป็นไซลูโลส โดยเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส หรือ ไซโลสไอโซเมอเรส





รูปที่ 2 ปฏิกิริยาคาตาบอลิสม ของไซโลส (Shamanna และ Sanderson 1979)

ในปัจจุบันทางด้านอุตสาหกรรมได้ให้ความสนใจที่จะนำเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส หรือ ไซโลสไอโซเมอเรสมาใช้ในการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรร่วมกับยีสต์ (Jeffries,1983) ดังนั้นรายงานวิจัยที่ออกมาในระยะหลังๆ จะศึกษาเกี่ยวกับการนำเอนไซม์ไปใช้ในการผลิตเอทานอลเป็นส่วนมาก ดังรายงานของ Gong และคณะ (1981) ได้ศึกษาถึงการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลไซโลสโดยใช้เอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรสและยีสต์ พบว่าสามารถผลิตเอทานอลจากไซโลสได้ในปริมาณ 80% โดยมี 2 ขั้นตอนในการผลิต คือไซโลสถูกเปลี่ยนไปเป็นไซลูโลสโดยเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรส ไซลูโลสที่ได้จะนำมาเป็นซับสเทรตในการผลิตเอทานอลโดยยีสต์

จากรายงานต่างๆ พบว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสได้เช่น *Bacillus coagulans* (Vaheri และ Kauppinen 1977), *Bacillus subtilis* (Wilhem และ Hollenbery 1985), *Streptomyces violaceoniger* (Marcel และคณะ 1987), *Streptomyces rubiginosus* (Wong และคณะ 1991), *Escherichia coli* (Lawlis และคณะ 1984), *Salmonella typhimurium* (Shamanna และ Sanderson 1979), *Klebsiella pneumoniae* (Feldmann และคณะ 1992) เป็นต้น

Streptomyces เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Actinomyces* ที่มีความสำคัญมากในทางอุตสาหกรรมกลุ่มหนึ่ง เนื่องจากสามารถผลิตสารที่เป็นประโยชน์หลายชนิด โดยเฉพาะทางด้านการแพทย์ ซึ่งพบว่า 70-80% ของยาปฏิชีวนะในปัจจุบันนี้ผลิตมาจาก *Streptomyces* (Berdy 1980) เช่น เททราไซคลิน (tetracycline), กานามัยซิน (kanamycin), สเตรปโตมัยซิน(streptomycin) เป็นต้น นอกจากนี้ *Streptomyces* ยังสามารถผลิตเอนไซม์หลายชนิดที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม (Williams 1983) เช่น โปรเนส (pronase), ไซแลเนส (xy-lanase), กลูโคสไอโซเมอเรส (glucose isomerase) เป็นต้น จากตัวอย่างข้างต้นจะเห็นได้ว่า *Streptomyces* มีบทบาทสำคัญในด้านต่างๆจึงทำให้ได้รับความสนใจมีการศึกษาถึงในด้านต่างๆ ดังจะได้กล่าวต่อไป

Streptomyces เป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่สามารถผลิตเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสได้ จึงได้รับการศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์นี้ ดังรายงานต่อไปนี้

Supajunya และ Pinphanichakarn (1984) ทำการศึกษาจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Streptomyces* ที่แยกได้จากแหล่งดินในประเทศไทย และพบว่า *Streptomyces sp.* สายพันธุ์ 190-1 สามารถผลิตเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสได้สูง เอนไซม์นี้มีประสิทธิภาพสูงสุดในการทำงานที่อุณหภูมิ 80°ซ การทำงานของเอนไซม์ต้องการ Mg^{2+} และ Co^{2+} นอกจากนี้ *Streptomyces sp.* สายพันธุ์ 190-1 สามารถผลิตเอนไซม์นี้ได้เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี น้ำตาลไซโลส เป็นตัวเหนี่ยวนำ

อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต (2533)ได้ทำการปรับปรุงสายพันธุ์ *Streptomyces sp.*สายพันธุ์ 190-1 โดยวิธีการทางพันธุวิศวกรรม โดยการโคลนไซแลเนสยีนขนาดประมาณ 3-8 กิโลเบส จาก *Streptomyces sp.*สายพันธุ์ 42-9 เข้ากับพลาสมิดพาหะ pIJ702 และ pIJ699 แล้วทรานสฟอร์มรีคอมบิแนนต์พลาสมิดที่ได้เข้าสู่ *Streptomyces sp.* สายพันธุ์ 190-1 ทำให้ได้ *Streptomyces sp.* สายพันธุ์ 190-1 สายพันธุ์ใหม่ที่ผลิตได้ทั้งเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส และ ไซแลเนสในปริมาณสูงขึ้น โดยสามารถผลิตเอนไซม์ไซแลเนสได้ 2-3 หน่วย/มล.ของน้ำหนัก ขณะที่สายพันธุ์เดิมผลิตไซแลเนสได้ประมาณ 0.3 หน่วย /มล. ของน้ำหนัก

Marcel และคณะ (1987)ได้ศึกษาการโคลนยีนกลูโคสไอโซเมอเรส และยีนไซลูโลไคเนส ใน *Streptomyces violaceoniger* โดยใช้พลาสมิดพาหะ pUT206 ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของ pIJ702 พบว่าสามารถเพิ่มแอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรส และไซลูโลไคเนสได้ 5-20 เท่า และ 10-14 เท่า ตามลำดับ

Wong และคณะ (1991)ได้รายงานการโคลนยีนไซโลสไอโซเมอเรส (*xylA*) และไซลูโลไคเนส (*xylB*) จาก *Streptomyces rubiginosus* ใน *E. coli* MM294 ซึ่งขาดความสามารถในการใช้น้ำตาลไซโลส (*xyl*$^-$ mutant) โดยใช้ pBR322 เป็นพลาสมิดพาหะในการนำเข้า เมื่อทำการคัดเลือกโคลนโดยการไอบริไดเซชัน (hybridization) พบว่ายีนจาก *Streptomyces* สามารถโคลนเข้าสู่ *E. coli* ได้สำเร็จ

นอกจากนี้ได้มีรายงานเกี่ยวกับการโคลนยีนกลูโคสไอโซเมอเรส หรือ ไซโลสไอโซเมอเรส จากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆนอกจาก *Streptomyces* ดังนี้

Rosenfeld และคณะ (1984) ได้ศึกษาลักษณะของยีน *xyl* ของ *E. coli* ซึ่งเป็นยีนที่เป็นรหัสของเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส หรือ ไซโลสไอโซเมอเรส พบว่าลักษณะของยีนอยู่กันเป็นกลุ่มประกอบด้วยยีนของ xylose isomerase (*xylA*) xylulo

kinase (*xyl*B), regulatory (*xyl*R) และ xylose transport activities (*xyl* T) ซึ่งลักษณะที่พบใน *E. coli* นี้เหมือนกับลักษณะของยีน *xyl* ใน *Salmonella typhimurium*

Briggs และคณะ (1984) ได้โคลนยีนไซโลสไอโซเมอเรสที่มีขนาด 1.6 กิโลเบส จาก *E. coli* (xyl^+) เข้าสู่ *E. coli* (xyl^-) ที่ขาดความสามารถในการใช้ไซโลส พบว่ารีคอมบิแนนต์พลาสมิดสามารถแสดงออก (expression) ได้ใน *E. coli* ที่เลี้ยงบนอาหารที่มีไซโลส แต่บนอาหารที่มีกลูโคสไม่สามารถแสดงออกได้นอกจากนี้ยังได้ทำการทรานสฟอร์มรีคอมบิแนนต์พลาสมิดเข้าสู่ Yeast ซึ่งไม่พบการแสดงออกใน Yeast คณะผู้วิจัยได้ให้เหตุผลว่า ยีนไซโลสไอโซเมอเรส ไม่เสถียรใน Yeast

Ueng และคณะ(1985) โคลนยีนไซโลสไอโซเมอเรส จาก *E. coli* ที่มีขนาด 2.4 กิโลเบส โดยใช้ pDB248 เป็นพลาสมิดพาหะ ซึ่งเป็น shuttle plasmid ที่เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านที่เป็นได้ทั้ง *E. coli* และ *Schizosaccharomyces pombe* พบว่ารีคอมบิแนนต์พลาสมิดสามารถแสดงออกและคงอยู่ได้ใน S. *pombe* และให้แอคติวิตีของเอนไซม์เพิ่มขึ้นจากเดิม

Lee และคณะ (1990) ทำการโคลนและศึกษาการแสดงออกของยีนกลูโคสไอโซเมอเรสของ *Clostridium thermosulfurogenes* ใน *E. coli* และ *B. subtilis* พบว่า สามารถแสดงออกและผลิตเอนไซม์ได้ใน *E. coli* และ *B. subtilis* ในปริมาณ 0.46 และ 1.54 หน่วย/มก.ของโปรตีน ตามลำดับ ซึ่งพบว่าเพิ่มจากเดิม 2 และ 7 เท่า ตามลำดับ ทั้งนี้เพราะ *C. thermosulfurogenes* สามารถผลิตเอนไซม์นี้ได้ในปริมาณ 0.29 หน่วย/มก.ของโปรตีน

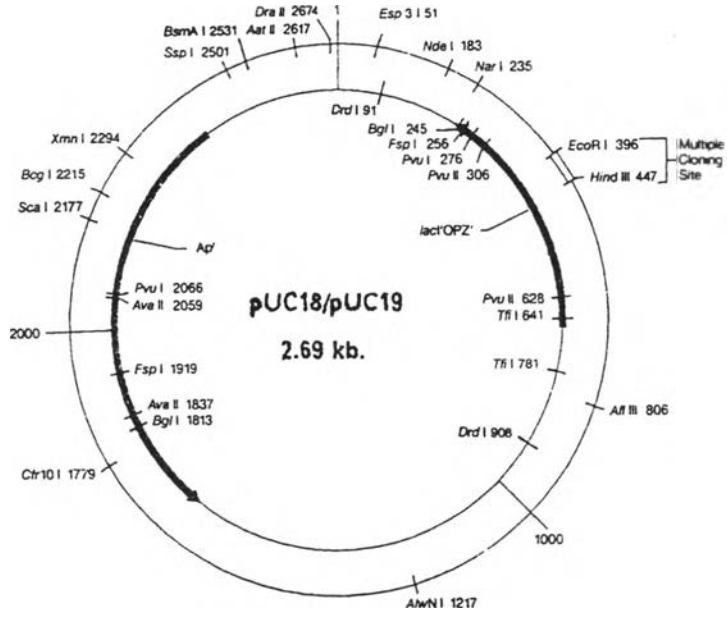
Wilhelm และ Hollenberg (1985) โคลนยีนไซโลสไอโซเมอเรส จาก *B. subtilis* เข้าสู่ *E. coli* ที่กลายพันธุ์ (xyl^-) โดยเทคนิคทางด้านพันธุวิศวกรรม (Genetic engineering) พบว่ายีนที่เป็นรหัสของเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรสมีขนาดประมาณ 1.3 กิโลเบส และเมื่อทำการหาลำดับเบสของยีนไซโลสไอโซเมอเรส จาก *B. subtilis* เปรียบเทียบกับยีนไซโลสไอโซเมอเรสของ *E. coli* (xyl^+) พบว่ามีความคล้ายคลึงกันมากกว่า 50 %

จากรายงานที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส หรือ ไซโลสไอโซเมอเรสได้รับความสนใจให้การศึกษามานาน และมีการศึกษากว้างขวางใน การปรับ

ปรุงสายพันธุ์เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตเอนไซม์ และให้มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ทางด้านอุตสาหกรรม เทคนิคทางด้านพันธุวิศวกรรม (Genetic engineering) หรือยีนเทคโนโลยี (Gene technology) จึงเข้ามามีบทบาทในการศึกษา ซึ่งเทคนิคนี้จะต่างจากวิธีการปรับปรุงสายพันธุ์แบบเก่า แต่เป็นการนำสารพันธุกรรม (ยีน หรือ ดีเอ็นเอ) ที่มีลักษณะที่ต้องการเข้าสู่เซลล์ใหม่เพื่อให้สารพันธุกรรมนั้นแสดงออกและเปลี่ยนคุณสมบัติของเซลล์ที่ได้รับสารพันธุกรรมตัวใหม่เข้าไป ซึ่งการที่จะนำยีนจากเซลล์หนึ่งเข้าสู่เซลล์หนึ่งต้องมียีนที่ต้องการ แล้วจึงนำเข้าสู่เซลล์โดยอาศัยดีเอ็นเออีกชนิดหนึ่งเป็นพาหะ(vector) นำยีนที่ต้องการเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน (host cell) ดีเอ็นเอพาหะที่ใช้ในงานนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและลักษณะของเซลล์เจ้าบ้าน

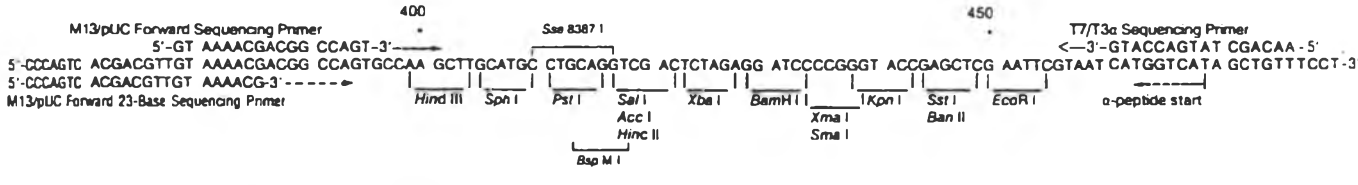
เซลล์เจ้าบ้านที่นิยมนำมาใช้ในการศึกษาทางด้านพันธุวิศวกรรมคือ *E. coli* เนื่องจากมีสมบัติที่เหมาะสมหลายประการ เช่น สมบัติ และลักษณะของเชื้อมีการศึกษามานานเป็นที่รู้จักกันดีทำให้ง่ายต่อการศึกษา มีช่วงระยะเวลาในการเจริญเติบโตเร็วทำให้ผลผลิตที่ได้มีปริมาณสูง มีความสามารถในการรับพลาสมิดพาหะได้หลายชนิด ทำให้เหมาะที่จะใช้เป็นเซลล์เจ้าบ้านและ *E. coli* แต่ละสายพันธุ์จะมีสมบัติทางจีโนไทป์ (genotype) ที่สามารถนำมาใช้เป็นยีนเครื่องหมาย (gene marker) ในการศึกษาทางด้านการโคลนดีเอ็นเอได้ ซึ่งทำให้การคัดเลือกโคลนเป็นไปได้อย่างรวดเร็วให้ผลที่แน่นอน นอกจากนั้นการเพิ่มปริมาณพลาสมิดใน *E. coli* สามารถทำได้โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมต่อพลาสมิดชนิดนั้นๆ (Maniatis และคณะ 1982)

พลาสมิดพาหะ pUC18 และ pUC19 ดังแสดงในรูปที่ 3 เป็นพลาสมิดพาหะชนิดหนึ่งที่มี *E. coli* เป็นเซลล์เจ้าบ้านสามารถเพิ่มจำนวนได้หลายชุดในเซลล์ (multicopy plasmid) มีขนาด 2.69 กิโลเบส ประกอบด้วยยีน β-lactamase ซึ่งมีสมบัติต้านยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน (Ampicillin resistant, Ap^r), มีจุดเริ่มต้นการถ่ายแบบ (origin of replication) จากพลาสมิด pBR322 และยีน *LacZ* จาก Lac operon ของ *E. coli* ซึ่งเป็นยีนที่เป็นรหัสของเอนไซม์ β-galactosidase และบริเวณยีน *LacZ* ของ pUC18 และ pUC19 จะมีตำแหน่งตัดของเอนไซม์ตัดจำเพาะหลายตำแหน่ง (polycloning site) ซึ่งใช้เป็นบริเวณสำหรับสอดแทรกชิ้นดีเอ็นเอที่ต้องการโคลนเข้าไป จะทำให้ *LacZ* แสดงออกไม่ได้เมื่อมีชิ้นดีเอ็นเอเข้าไปที่บริเวณนี้ ในสภาวะปกติการ

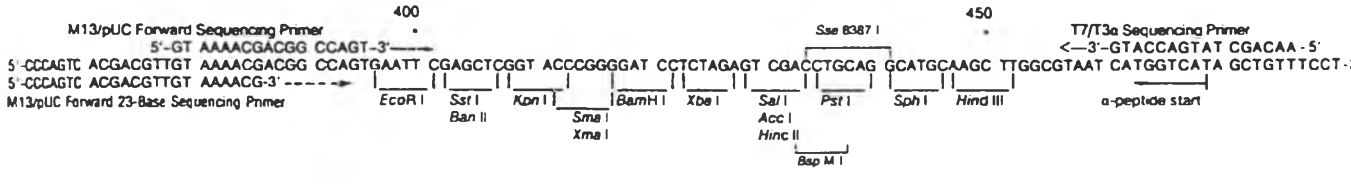


รูปที่ 3 แผนที่เรสทริกชันของพลาสมิด pUC18 และ pUC19 (Maniatis และคณะ 1982)

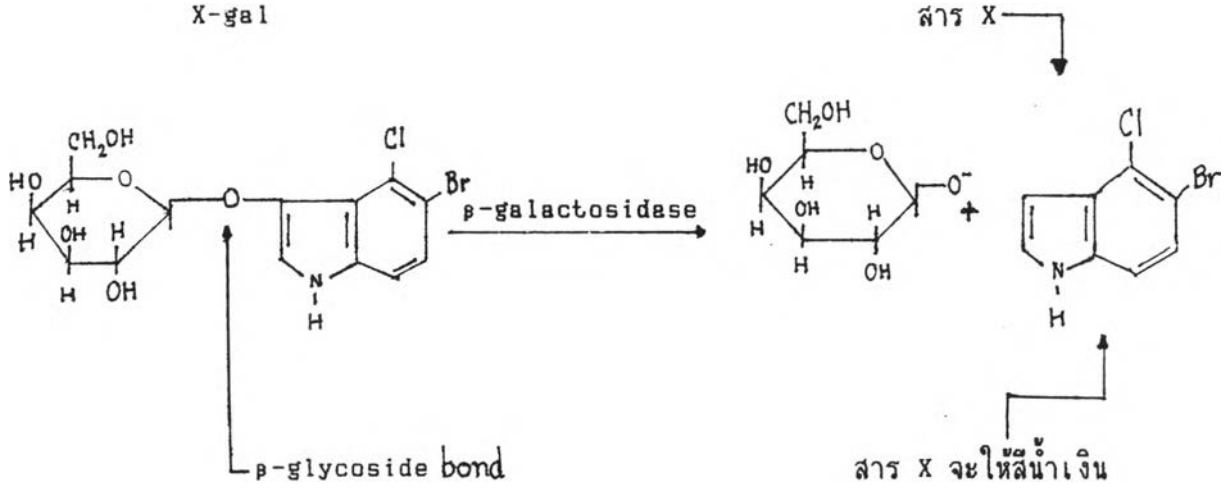
pUC18 multiple cloning site and primer binding regions: 364–480



pUC19 multiple cloning site and primer binding regions: 364–480



แสดงออกของยีน *LacZ* ในอาหารที่มี IPTG (isopropylthio-β-D-galactoside) เป็นตัวเหนี่ยวนำและมี X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactoside) เป็น chromogenic substrate ซึ่งมีสูตรโครงสร้างที่มีพันธะ β-glycoside เช่นเดียวกับของแลคโตส เมื่อมีการแสดงออกของยีน *LacZ* จะได้ เอนไซม์ β-galactosidase ที่เร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะ β-glycoside ใน X-gal ซึ่งปกติเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี ทำให้ได้สาร X ซึ่งมีสีน้ำเงิน ดังสมการข้างล่างนี้



ดังนั้นเมื่อมีชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรกบน *LacZ* ก็จะทำให้ *LacZ* ไม่แสดงออกดังนั้นจึงไม่มีการสร้างเอนไซม์ β-galactosidase มาย่อยสลายสารประกอบ X-gal จึงทำให้โคโลนีที่รับเอาริคอมบิแนนต์พลาสมิดเข้าไปจะมีสีขาว ในขณะที่โคโลนีที่ไม่ได้รับรีคอมบิแนนต์พลาสมิดจะให้โคโลนีสีน้ำเงิน นอกจากนั้นพลาสมิดพาหะนี้ยังมียีนต้านยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินทำให้การคัดเลือกรีคอมบิแนนต์พลาสมิดทำได้สะดวกขึ้น โดยตรวจสอบโคโลนีที่ต้านยาแอมพิซิลลินควบคู่ไปด้วย

Goeddel และคณะ (1979) รายงานว่าเมื่อทำการเชื่อมยีนที่ผลิตฮอร์โมนควบคุมการเจริญเข้ากับโปรโมเตอร์ของยีน *LacZ* พบว่า สามารถสร้างฮอร์โมนเพิ่มขึ้น 1-20 เท่า นอกจากนี้ Dekker และคณะ (1991) ได้โคลนยีนกลูโคสไอโซเมอเรสจาก *Clostridium thermohydrosulfuricum* เข้าสู่ *E. coli* โดยใช้พลาสมิดพาหะ pUC118 พบว่ายีนสามารถแสดงออกใน *E. coli* ภายใต้การควบคุมของโปรโมเตอร์ของยีน *LacZ* และให้ระดับของเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส เพิ่มสูงจากเดิมถึง 4 เท่า

มีตัวอย่างการนำระบบเซลล์เจ้าบ้านของ *E. coli* และพลาสมิดพาหะ pUC18 pUC19 มาใช้ในการโคลนยีนจาก *Streptomyces* และได้ผลสำเร็จเป็นที่น่าพอใจ ดังนี้

Vara และคณะ (1985) ศึกษาการโคลน และ การแสดงออกของยีน puromycin N-acyetyl transferase จาก *Streptomyces alboniger* เข้าสู่ *Streptomyces lividans* และ *E. coli* พบว่าเมื่อโคลนเข้า *E. coli* ตรงตำแหน่งถัดจากโปรโมเตอร์ของยีน *LacZ* บนพลาสมิดพาหะ pUC19 การแสดงออกของยีนจะอยู่ภายใต้อิทธิพลของโปรโมเตอร์ของยีน *LacZ* ดังนั้น IPTG จึงมีผลเหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออกของยีน ซึ่งให้ปริมาณเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้น 7.8 เท่า เมื่อเทียบกับไม่ได้ใช้ IPTG เป็นตัวเหนี่ยวนำ

Miyashita และคณะ (1991) ทำการศึกษาลักษณะ และโคลนยีน ไคตินเนส (chitinase) จาก *Streptomyces lividans* สายพันธุ์ 66 เข้าสู่ *Streptomyces coelicolor* และ *E. coli* โดยใช้พลาสมิดพาหะ pUC18 และ pUC19 ในการนำเข้า *E. coli* พบว่ายีนไคตินเนสสามารถแสดงออกได้ใน *E. coli* นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Robbins และคณะ (1986) ได้โคลนยีน chitinase 63 จาก *Streptomyces plicatus* เข้าสู่ *E. coli* พบว่ามีการแสดงออกของยีนใน *E. coli* เช่นกัน Robbins และคณะ (1981) ยังได้รายงานการโคลนยีน endoglycosidase H จาก *Streptomyces* ใน *E. coli* พบว่า มีการแสดงของยีนใน *E. coli* แต่ว่าประสิทธิภาพไม่สูงนัก นอกจากนี้ยังมีรายงานหลายฉบับที่ได้รายงานถึงความสำเร็จในการนำ *E. coli* มาใช้เป็นเซลล์เจ้าบ้านในการโคลน และถอดรหัสยีนต่างๆของ *Streptomyces* เช่น Gil และคณะ 1985, Zalacain และคณะ 1987 และ Ono และคณะ 1982 เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีรายงานหลายฉบับได้รายงานว่าโปรโมเตอร์ของยีนใน *E. coli* สามารถแสดงออกได้ใน *Streptomyces* เช่น Bibb และ Cohen 1984, Jaurin และ Cohen 1984, Horinnouchi และ Beppu 1985, Jaurin และ Cohen 1985 และ King และ Chater 1986 เป็นต้น

Jaurin และ Cohen (1984) ทำการศึกษาและพบว่า transcriptional signal ของยีน ampC ของ *E. coli* สามารถทำงานได้ใน *Streptomyces lividans* ซึ่งแสดงว่า RNA polymerase ของ จุลินทรีย์ทั้งสองสามารถจดจำ และใช้ transcription signal ร่วมกันได้

King และ Chater (1986) ได้รายงานว่ายีน *LacZ* ของ *E. coli* สามารถทำงานได้ใน *Streptomyces*

จากรายงานที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่ายีนของ *Streptomyces* สามารถแสดงออกได้ใน *E. coli* และยีนของ *E. coli* ก็สามารถแสดงออกได้ใน *Streptomyces* เช่นกัน ที่เป็นเช่นนั้นเนื่องจากจุลินทรีย์ทั้งสองมีโปรโมเตอร์ที่มีลำดับเบสคล้าย และ/หรือ มี RNA polymerase ที่สามารถทำงานได้ในจุลินทรีย์ทั้งสอง ซึ่งมีรายงานการวิจัยที่สนับสนุนเหตุผลข้างต้นดังนี้

Burnett และคณะ (1987) ทำการหาลำดับเบส (nucleotide sequencing ของยีน XP55 จาก *S.lividans* พบว่าโปรโมเตอร์ของยีน XP55 สามารถทำงานได้ใน *E. coli*

Burttner และ Brown (1987) ได้รายงานว่าโปรโมเตอร์ของพลาสมิด pIJ101A และ B ซึ่งเป็นพลาสมิดจำเพาะสำหรับเซลล์เจ้าบ้าน *Streptomyces* สามารถแสดงออกได้ใน *E. coli* เนื่องจากมี RNA polymerase ที่ recognized ต่อ โปรโมเตอร์ที่คล้ายคลึงกัน

Jaurin และ Cohen (1985) ได้แยกและศึกษาลักษณะของโปรโมเตอร์จาก *Streptomyces* ที่มีลักษณะคล้ายของ *E. coli* [The *Streptomyces-E. coli*-type promotors(SEP)] ที่สามารถแสดงออกได้ในทั้ง *E. coli* และ S. *lividans*

จากรายงานข้างต้นสนับสนุนเหตุผลที่ว่า *Streptomyces* มี RNA polymerase ที่คล้ายกันกับของ *E. coli* หรืออีกนัยหนึ่งมีโปรโมเตอร์ของยีนที่คล้ายคลึงกัน จึงทำให้ยีนจากจุลินทรีย์ทั้งสองสามารถแสดงออกในกันและกันได้ ซึ่ง Hopwood และคณะ 1986 และ Deng และคณะ 1986 ได้รายงานว่าขณะนี้มีโปรโมเตอร์ของ *Streptomyces* อย่างน้อย 11 ชนิด ที่มีลำดับเบสคล้ายคลึงกับโปรโมเตอร์ของ *E. coli*

จากรายงานถึงความสำเร็จในการนำ *E. coli* มาใช้เป็นเซลล์เจ้าบ้าน ในการโคลนยีนจาก *Streptomyces* ดังกล่าวข้างต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงจะนำ *E. coli* HB101 มาใช้เป็นเซลล์เจ้าบ้านในการโคลนยีนกลูโคสไอโซเมอเรสจาก *Streptomyces* sp.190-1 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการถอดรหัสของยีนนี้โดยใช้พลาสมิด pUC18 และ pUC19 เป็นพลาสมิดพาหะในการนำเข้าเซลล์เจ้าบ้าน