หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

แบคเทอริโอฟาจ (Bacteriophage) หรือเรียกสั้นๆว่า ฟาจ (phage) หมายถึง ไวรัสที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ (infection) ในแบคทีเรีย โดยเข้าไปเจริญเพิ่มจำนวนในเซลล์แบคทีเรีย เป็นผลให้เซลล์แบคทีเรียแตกสลาย (Bradley, 1967 ; Maloy et al., 1994) ฟาจถูกจัดเป็นออบลิเกต พาราไซต์ (obligate parasite) ของแบคทีเรีย ซึ่งสามารถดำรงชีวิตอย่างอิสระได้ในระยะหนึ่ง แต่การเพิ่มจำนวนจะเกิดขึ้นเมื่ออยู่ในเซลล์แบคทีเรียเท่านั้น ฟาจมีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนาทางด้านพันธุวิศวกรรมศาสตร์ เนื่องจากเป็นอนุภาคที่มีความซับซ้อนน้อยกว่าแบคทีเรียและเซลล์ของสิ่งมีชีวิตชั้นสูง ดังนั้นจึงใช้ฟาจสำหรับศึกษากระบวนการต่างๆภายในเซลล์ เช่น การจำลองดีเอ็นเอ (DNA replication) การถอดรหัส (transcription) และการควบคุมการแสดงออกของยีน (gene regulation) สามารถพัฒนาฟาจเพื่อใช้เป็นพาหะ (cloning vector) สำหรับกระบวนการดีเอ็นเอรีคอมบิแนนท์ (recombinant DNA) ของแบคทีเรีย เช่น คอสมิด (cosmid) ฟาจมิด (phagemid) และแบคเทอริโอฟาจ เวคเตอร์ (bacteriophage vector) (Chauthaiwale et al., 1992) นอกจากนี้ฟาจยังสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์กลุ่มแบคทีเรียที่ก่อโรคบางชนิดได้ด้วยวิธีที่รวดเร็วด้วย (Wistrich and Lechman, 1980)

แอคติโนฟาจ (Actinophage) คือ ฟาจที่ทำให้เกิดการติดเชื้อกับแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซิทีส (actinomycetes) (Dowding, 1973 ; Ackermann et al., 1985) ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มหนึ่งที่พบมากในดิน และสามารถผลิตสารเมทาบอไลต์ที่นำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมและทางการแพทย์ เช่น สารปฏิชีวนะ เอนไซม์ และวิตามิน เป็นต้น (Labeda and Shearer, 1990) สเตรปโตมัยซิทีส (streptomycetes) เป็นแบคทีเรียกลุ่มหนึ่งของแอคติโนมัยซิทีสที่พบมากที่สุดในดิน สามารถผลิตสารเมทาบอไลต์หลายชนิดโดยเฉพาะสารปฏิชีวนะ การศึกษาทางด้านพันธุวิศวกรรมศาสตร์ของสเตรปโตมัยซิทีสจึงมุ่งเน้นทางด้านการปรับปรุงสายพันธุ์ เพื่อให้สามารถผลิตสารเมทาบอไลต์ที่ต้องการให้เพิ่มมากขึ้น รวมทั้งสามารถพัฒนาสารเมทาบอไลต์ชนิดใหม่ได้ (Howe and Smith, 1996) ดังนั้นจึงมีผู้สนใจในการนำแอคติโนฟาจที่มีความจำเพาะกับสเตรปโตมัยซิทีสมาพัฒนาเป็นพาหะ เช่น ϕC31, R4, SH10, TGI และ ϕSF1 (Diaz et al., 1989)

แอคติโนฟาจที่ได้พัฒนาเป็นพาหะที่ถูกนำมาศึกษามากที่สุด คือ ϕC31 (Hartley et al., 1994) ซึ่งเป็นเทมเพอเรตฟาจที่แยกจาก *Streptomyces coelicolor* A3(2) มีโฮสท์-เรนจ์ (host range) กว้าง รูปร่างของอนุภาคประกอบด้วยส่วนหัวรูปทรงไอโคซาฮีดรัล (icosahedral) มีส่วนหางที่ยาว และพบแผ่นฐานที่ปลายส่วนหาง เมื่อนำอนุภาคมาจัดจำแนกตามวิธีการจัด

กลุ่มของ Bradley พบว่า ϕC31 จัดอยู่ในกลุ่ม B (Lomovskaya et al., 1980) มีรายงานถึงการศึกษา ϕC31 เพื่อพัฒนาเป็นพาหะจำนวนมาก เช่น การศึกษาแผนที่ยีน การถอดรหัสและการแสดงออกของยีนของฟาจ ϕC31 ในสเตรปโตมัยซิทีส เป็นต้น (Harris et al., 1983 ; Smith et al., 1992 ; Howe and Smith, 1996)

แอคติโนฟาจยังมีประโยชน์ในการนำมาใช้จัดจำแนกแอคติโนมัยซิทีสจีนัสต่างๆ เป็นเครื่องมือตรวจสอบและอธิบายเรื่องเกี่ยวกับระบบป้องกันภายในตัวโฮสท์เซลล์ของแบคทีเรีย หรือ host controlled restriction-modification system ฟาจมีประโยชน์ใช้ในการศึกษาชีววิทยาโมเลกุล (molecular biology) แต่บางชนิดก็ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านอุตสาหกรรมการหมักของสเตรปโตมัยซิทีสด้วย (Lomovskaya et al., 1980 ; Anne et al., 1984) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาสภาพการดำรงชีวิตของแอคติโนฟาจในดินเพื่อใช้เป็นข้อมูลทำความเข้าใจเกี่ยวกับการถ่ายทอดยีนระหว่างโฮสท์เซลล์ที่อยู่ในสภาวะแวดล้อมเดียวกัน (Herron and Wellington, 1990)

จากความสำคัญของฟาจดังกล่าว ก่อให้เกิดความสนใจที่จะศึกษาแอคติโนฟาจ อีกทั้งปัจจุบันรายงานการศึกษาเบื้องต้นของแอคติโนฟาจที่แยกจากสเตรปโตมัยซิทีสมีน้อย สำหรับประเทศไทยจะมีการศึกษากันในกลุ่มคณะวิจัยของ รศ.ดร.สุรีนา ชวนิชย์ เท่านั้น งานวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาแอคติโนฟาจที่ได้จากดินแหล่งต่างๆในประเทศ โดยขั้นต้นจะทำการแยกสเตรปโตมัยซิทีสและแอคติโนฟาจจากดิน ซึ่งการแยกแอคติโนฟาจจะใช้วิธีส่งเสริมการเจริญ (enrichment method) จากนั้นทำการศึกษาลักษณะเฉพาะของแอคติโนฟาจ เช่น ลักษณะของพล๊าคซึ่งตรวจสอบด้วยวิธีการทำอาหารวุ้นสองชั้น (double agar layer method) ศึกษารูปร่างลักษณะอนุภาคของแอคติโนฟาจจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope) ด้วยวิธีการย้อมแบบเนกาทีฟ (negative staining) และศึกษาโฮสท์-เรนจ์ (host range) ของแอคติโนฟาจด้วยการตรวจสอบการก่อให้เกิดการติดเชื้อกับสเตรปโตมัยซิทีสสายพันธุ์ต่างๆ

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาลักษณะ และจัดจำแนกหมวดหมู่แอคติโนฟาจที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อกับสเตรปโตมัยซิทีสที่แยกได้จากแหล่งดินในประเทศ และศึกษาความเป็นไปได้ในการทำให้เกิดการติดเชื้อกับสเตรปโตมัยซิทีสสายพันธุ์ต่างๆ

ขั้นตอนการวิจัย

1. แยกและศึกษาลักษณะบางประการของสเตรปโตมัยซิทีสจากตัวอย่างดินต่างๆ ในประเทศไทย

2. แยกแอคติโนฟาจที่ทำให้เกิดการติดเชื้อกับสเตรปโตมัยซิทีสด้วยวิธีการส่งเสริมการเจริญ

3. ศึกษารูปร่างลักษณะอนุภาคแอคติโนฟาจที่แยกได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่าน

4. ศึกษาการทำให้เกิดการติดเชื้อของแอคติโนฟาจที่แยกได้กับสเตรปโตมัยซิทีสสายพันธุ์ต่างๆที่แยกได้จากดินและสเตรปโตมัยซิทีสสายพันธุ์อ้างอิงที่จำแนกชนิดแล้ว

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลการศึกษาลักษณะและการจัดจำแนกหมวดหมู่ของแอคติโนฟาจที่แยกได้จากดินจะเป็นข้อมูลที่สำคัญที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อการพัฒนาฟาจเวคเตอร์ ซึ่งมีประโยชน์ต่อการศึกษาทางด้านพันธุวิศวกรรมของสเตรปโตมัยซิทีส อันจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม การแพทย์และสาขาอื่นๆที่เกี่ยวข้องต่อไป