บทคัดย่อ

174208

polyketide จากรา เป็นสารประกอบ secondary metabolite ที่สำคัญชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น lovastatin เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การค้นหา polyketides ชนิดใหม่จากราที่เจริญยากในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการคัดเลือกทางเคมีมีข้อจำกัดหลายประการ ในการศึกษานี้จึงได้พัฒนาวิธีทางชีวโมเลกุล เพื่อใช้ในการค้นหาศักยภาพของราที่แยกได้ในประเทศไทยในการสร้างสารประกอบในกลุ่ม polyketide โดยการโคลนยีน polyketide synthase type I (PKS) ด้วยวิธี PCR โดยใช้ KA-series primer ที่ออกแบบให้จำเพาะต่อยีน reducing PKS และใช้เทคนิคทางด้าน phylogenetic ในการศึกษาคุณสมบัติของยีนที่โคลนได้ ราที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ insect pathogenic fungi marine fungi และ lichenized fungi ทั้งหมด 20 ชนิด ผลการศึกษาพบว่า สามารถโคลนยีน PKS ได้ 65 ยีน และนำยีนมาจัดกลุ่มได้ 7 กลุ่ม ด้วยวิธี neighbor joining ได้แก่ กลุ่ม HRA HRB HRC HRD HRE HRF และ HRG โดยกลุ่ม HRE และ HRG เป็นกลุ่มใหม่ ซึ่งยีนที่โคลนได้ถูกจัดให้ใกล้เคียงกับยีนที่ยังไม่ทราบหน้าที่ในการสังเคราะห์ polyketide นอกจากนี้ยังสามารถพบยีน PKS ที่น่าจะมีลักษณะจำเพาะกับราในกลุ่มต่างๆ ได้แก่ ยีน PKS จาก insect pathogenic fungi ซึ่งจัดอยู่ใกล้เคียงกันในกลุ่ม HRC ยีน PKS จาก marine fungi ซึ่งพบได้ในกลุ่ม HRE และเป็นที่น่าสนใจว่า เมื่อเปรียบเทียบการจัดจำแนกยีน PKS กับ internal transcribed spacer (ITS) phylogenetic tree แล้ว พบว่ายีนในกลุ่ม HRC พบเฉพาะราในชั้น Sordariomycetes เท่านั้น ผลที่ได้จากการศึกษานี้ สามารถค้นพบยีน PKS ในกลุ่มใหม่ๆ และยีนในกลุ่มที่น่าสนใจ ซึ่งสามารถนำมาใช้ศึกษาศักยภาพของราในการสังเคราะห์สารประกอบ polyketide ที่มีค่าในอนาคตได้

Abstract

174208

Fungi produce a great variety of secondary metabolite compounds. These include a large number of polyketides of different structure. Fungal type I polyketides are synthesized by the enzyme polyketide synthases (PKS) and their value has been recognized by pharmaceutical companies such as the anti-cholesterol drug, lovastatin. However, unculturable fungi from natural sources limit the discovery of novel polyketides by conventional screening methods. Alternatively, a molecular screening method using PCR has been used for screening of diverse and novel polyketide synthase genes in fungi. In this study, 20 fungal isolates from Thailand, in which polyketide producing potential has not been described, were determined for their availability of diverse reducing PKS genes. These fungi were distributed in 3 groups; insect pathogenic fungi, marine fungi, and lichenized fungi. Using PCR amplification with KA-series primer pairs, 65 PKS gene fragments were identified from these fungi. Phylogenetic analysis of these cloned PKS sequences with other fungal PKS in the NCBI database using neighbor joining method revealed 7 groups of reducing PKS. Among these groups, some PKS in 5 groups were identified for functions. There are 2 novel groups: HRE and HRG with unknown functions. Interestingly, many PKS genes from marine fungi were clustered together in the group HRE, whereas those from insect pathogenic fungi were in group HRC. Furthermore, comparison between the PKS phylogenetic tree and the ITS-derived fungal species tree indicated that group HRC PKS are solely identified in Sordariomycetes. The use of unexploited resources in Thailand and use of different PKS regions for phylogenetic analysis (from KS domain to KS-AT interdomain) in this study lead to the identification of many novel genes and groups within the fungal reducing PKS.