

## การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

ปี 1992 Hustedede และคณะรายงานการคอลน poly(3-hydroxybutyric acid) synthase genes ของ *Rhodobacter sphaeroides* และ *Rhodospirillum rubrum* เข้าไปใน *Alcaligenes eutrophus* PHB<sup>4</sup> ซึ่งเป็นสายพันธุ์ผ่าเหลาที่ไม่มีการสร้าง PHB โดยยืนขนาด 15-kbp ที่ได้จากการตัดด้วย HindIII ของเชื้อ *R. rubrum* มีผลทำให้สายพันธุ์ผ่าเหลานี้สามารถสร้างแกรนูลของ PHB ที่มีขนาดใหญ่ ยาวถึง 3.5  $\mu\text{m}$  (Hustedede et al., 1992)

ในปี 1997 Kranz และคณะรายงานเกี่ยวกับยีน 3 ชนิด ที่จำเป็นในวิถีการสังเคราะห์ PHA ได้แก่ *phaA* ( $\beta$ -ketothiolase), *phaB* (acetoacetyl-coenzyme A reductase) และ *phaC* (PHA synthase) ซึ่งคอลนจาก *Rhodobacter capsulatus* โดยยืน *phaAB* ไม่อยู่ติดต่อกับ *phaC* ทั้ง *phaC* และ *phaA* แสดงออกโดยไม่ต้องอาศัยตัวกระตุ้น แต่เป็นการควบคุมที่ระดับของเอนไซม์ภายหลังการแปรรหัสแล้ว นอกจานนี้แหล่งอาหารในต่อเจนไม่ได้มีผลต่อการสังเคราะห์ PHA แต่แหล่งอาหารcarbonได้แก่ acetone, caproate หรือ heptanoate จะทำให้ *Rhodobacter capsulatus* สังเคราะห์ PHAs สูง ยกเว้นกรณีที่เชื้อมีการขาดหายไปของ *phaC* กล่าวคือจะไม่สามารถสร้าง PHA แต่กรณีที่เชื้อมีการขาดหายไปของ *phaA* และ *phaAB* จะยังคงสามารถสร้าง PHA ได้ แสดงให้เห็นว่าเชื้อมีวิถีอื่นในการใช้สารตั้งต้นสำหรับเอนไซม์ synthase (Kranz et al., 1997)

ปี 2000 Clemente และคณะ รายงานชิ้นส่วนของยีนขนาด 3 kb ที่แยกได้จาก *Rhodospirillum rubrum* ATCC 25903 ประกอบด้วย open reading fram (ORF) ที่มีความเหมือนสูงกับยีนต่างๆ ที่เป็น PHA synthase genes ที่เป็นที่รู้จักกันดี แต่ ORF นี้ มีความเหมือนต่ำกับ *R. rubrum* สายพันธุ์ HA เมียวจะ เป็นสปีชีส์เดียวกัน นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาการแสดงออกของ PHA synthase genes ของ *Rhodobacter sphaeroides*, *Ralstonia eutropha*, *Thiocystis violacea* และ *Nocardia corallina* โดยใช้เซลล์ผู้ให้อาชญาไม่มี PHA synthase genes คือ *R. eutropha* DSM541 และ *Pseudomonas putida* GpP104 พบว่าส่วนประกอบของ PHA ได้แก่โพลิเมอร์ที่เกิดจากโมโนเมอร์ต่อกันเป็นสายที่มีขนาดสั้น และขนาดกลาง ไม่จำเป็นต้องเป็นผลจากความจำเพาะเฉพาะเจาะจงของ PHA synthase ที่ได้จากจุลทรรศน์นิตติ่งๆ (Clemente et al. 2000)

ปี 2003 Mahishi และ คณะ ได้ทำการศึกษา *E. coli* (ATCC: PTA-1579) ลูกผสม ที่มียีน สังเคราะห์ PHB จาก *Streptomyces aureofaciens* NRRL 2209 พบร่วมกับ *E. coli* ที่มี PHB synthase genes นำมันปาล์ม และเอนานอล ช่วยส่งเสริมการสร้าง PHB แต่ถ้าเป็นโซเดียม หรือโมลัส จะไม่มีการ สะสม PHB และแหล่งในต่อเจน ได้แก่ สารสกัดเยลล์ เบปโทน และส่วนผสมของสารสกัดเยลล์และเบปโทน โดย *E. coli* (ATCC: PTA-1579) ลูกผสมนี้จะสร้าง PHB ได้ดีที่สุดภายหลังการเจริญ 48 ชั่วโมง ที่ 37°C ใน อาหารที่มีกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนและส่วนผสมของสารสกัดเยลล์และเบปโทนเป็นแหล่งในต่อเจน (Mahishi et al., 2003)

ปี 2004 มีรายงานจาก Zhang และคณะว่าแบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ชนิด *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* สามารถสะสม PHB ในสภาวะที่มีแสงและไม่มีไนโตรเจน กิจกรรมของ PHA synthase มีความสัมพันธ์กับการสะสม PHB ในเซลล์ ได้นำยืน PHA synthase ได้แก่ *phaC* และ *phaE* โคลนและคัดเลือก *E. coli* ลูกผสม แล้วสกัดเอ็นไซม์ PHA synthase จากเซลล์และทำให้บริสุทธิ์ พบว่าเอนไซม์เป็น type III PHA synthase (Zhang et al., 2004)

ในปี 2006 Agus และคณะพบว่ายืน Polyhydroxyalkanoate (PHA) synthase (*PhaC*) จาก แบคทีเรียแกรมลบคือ *Wautersia eutropha* ได้แสดงออกในเซลล์ *E. coli* XL 1-Blue ในระดับต่างๆ กัน โดย *PhaC* ถูกควบคุมโดยปริมาณของสารเคมีที่เป็นตัวกระตุ้น คือ isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactopyronoside, IPTG ที่ใส่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมถึงการถูกควบคุมโดยจำนวนชุดที่แตกต่างของพลาสมิดในการทดลองในขวดรูป矩形 กิจกรรมของ *phaC* ก็เพิ่มขึ้นในขณะที่ความเข้มข้นของ *phaC* ต่ำ และกิจกรรมของ *phaC* ไม่เพิ่มขึ้นแม้ว่าจะมีความเข้มข้นของ *phaC* สูง อาจเนื่องจาก การสร้าง inclusion body ในเซลล์ นอกจากรายงานนี้ยังพบว่า การใช้พลาสมิดที่มีจำนวนชุดที่ต่ำ จะมีผลในการกระตุ้นการแสดงออกของ *phaC* อย่างมาก กล่าวคือ ให้ผลผลิต PHB ที่สูง และน้ำหนักโมเลกุลสูง (Agus et al., 2006)