

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด PHA synthase ออกจากเซลล์และการวิเคราะห์ PHA synthase ทำให้ทราบค่ากิจกรรมของ PHA synthase ใน *Rhodopseudomonas palustris* CH72 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองที่สามารถผลิตเม็ดแกรนูลขึ้นภายในเซลล์ได้ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ PHA synthase จากเซลล์ คือการทำให้เซลล์แตกด้วย sonicator โดยใช้ช่วงเวลา 5 นาที โดยให้หยุดทุกๆ 15 วินาที เป็นเวลา 5 วินาที หลังจากนั้นจึงนำเซลล์แตกเหล่านี้ไปปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 10,000 rpm 4°C เป็นเวลา 5 นาที เก็บสารละลายส่วนใสที่ 4°C เพื่อหาค่ากิจกรรมสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ มีค่ากิจกรรมภายหลังการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ได้เท่ากับ 0.111 หรือ 24.57 unit/ml เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐาน ซึ่งช่วงเวลาที่น้อยกว่า 5 นาทีอาจไม่เพียงพอที่จะทำให้เซลล์แตกและขับเอนไซม์ออกมา และที่ช่วงเวลามากกว่า 5 นาที อาจมีผลไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังทำการเพิ่มจำนวน PHA synthase gene ด้วยวิธี PCR โดยทำการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะกับ PHA synthase gene โดยทำการเลือกบริเวณที่ conserve จาก PHA synthase gene (class I) ในแบคทีเรียกลุ่ม *Rhodopseudomonas palustris* ที่สายพันธุ์ใกล้เคียงกัน เมื่อทำการเพิ่มปริมาณยีนดังกล่าวโดยการใช้ chromosomal DNA ของ *Rhodopseudomonas palustris* CH72 เป็น template พบว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบสามารถจับกับ chromosomal DNA ได้โดยมีขนาดประมาณ 538 bp ซึ่งมีขนาดตรงกับ PCR product ของไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้ แต่อย่างไรก็ตาม การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนตลอดจนการทำ ligation และ transformation ยังไม่สามารถได้ *E. coli* JM109 ที่มี PHA synthase gene ดังกล่าว