สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

Restriction enzyme เป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการส่งถ่ายดีเอ็นเอในไซยาโนแบคทีเรียหลายสายพันธุ์รวมถึง *Spirulina* เพื่อปรับปรุงระบบการส่งถ่ายดีเอ็นเอของ *Spirulina* ให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ในงานวิจัยได้ทำการสร้างพลาสมิดที่มียีน *Ban*I และ *Hind*VP methylase ของ *Spirulina* ที่สามารถป้องกันการถูกย่อยจาก restriction enzyme *Ban*I และ *Hind*VP และมี expression cassette ของยีนต้านยา spectinomycin และยีน *gfp* อยู่ภายใต้การควบคุมของ *Spirulina* promoter แทรกอยู่ระหว่างยีนสร้าง restriction enzyme *Ava*I ที่ใช้เป็น homologous sequence ทำให้พลาสมิดมีคุณสมบัติที่สามารถแทรกเข้าไปยับยั้งการทำงานของยีนสร้าง restriction enzyme *Ava*I ในโครโมโซมของ *Spirulina* ได้แบบ double homologous recombination แล้วทำการส่งถ่ายพลาสมิดเข้าสู่ *Spirulina* ด้วยวิธี electroporation จากผลการทดลองพบว่า ไม่สามารถคัดเลือก transformant บนอาหารแข็งที่มียา spectinomycin ได้ แต่สามารถคัดเลือก transformant ในอาหารเหลวที่มียา spectinomycin ความเข้มข้น 0.5 μg/ml ได้ และเมื่อนำ transformant ที่คัดเลือกได้ไปตรวจหายีนต้านยา spectinomycin ด้วยวิธี PCR พบว่า ไม่ตรวจพบดีเอ็นเอของยีนต้านยา spectinomycin ซึ่งอาจเกิดจากสภาวะที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR ยังไม่เหมาะสม และเมื่อนำ transformant ที่ได้ไป subculture บนอาหารที่มียา spectinomycin ความเข้มข้น 0.5 μg/ml ก็พบว่า transformant ไม่สามารถอยู่รอดได้ แสดงให้เห็นว่า transformant ที่ได้ไม่เสถียร ซึ่งอาจเกิดจาก *Spirulina* ยังคงถูกย่อยด้วย restriction enzyme อื่น ๆ ที่มีอยู่ภายในเซล จึงทำให้ transformant สามารถเจริญบนอาหารที่มียา spectinomycin ได้ระยะหนึ่ง แล้วตายไปในที่สุด ซึ่งถึงแม้ในการทดลองนี้จะไม่ได้ transformant ที่เสถียร แต่วิธีการสร้างพลาสมิดที่ได้พัฒนาขึ้นมาในการทดลองนี้จะเป็นแนวทางในการปรับปรุงระบบการส่งถ่ายดีเอ็นเอให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น และนำไปสู่การพัฒนาระบบการส่งถ่ายดีเอ็นเอที่มีความเสถียร ซึ่งการมีระบบการส่งถ่ายดีเอ็นเอที่มีความเสถียรจะช่วยในการปรับปรุงสายพันธุ์ของ *Spirulina* ให้มีคุณสมบัติตามต้องการ รวมทั้งการใช้ *Spirulina* เป็นเซลเจ้าบ้านสำหรับการผลิตสารชีวเคมีมูลค่าสูงได้ต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจาก *Spirulina* มี restriction enzymes อยู่หลายชนิด ดังนั้นควรมีการศึกษาการแสดงออกของยีนสร้างเอนไซม์ restriction และ methylase ภายใต้สภาวะที่ใช้สำหรับการส่งถ่ายดีเอ็นเอเข้าสู่ *Spirulina* เพื่อตรวจสอบว่า ภายใต้สภาวะดังกล่าว ยีนสร้าง restriction enzymes มีการแสดงออกหรือไม่ และยีนสร้าง restriction enzyme ชนิดใดที่มีการแสดงออกได้มากที่สุด ซึ่งน่าจะมีผลต่อประสิทธิภาพการส่งถ่ายดีเอ็นเอได้มากที่สุด แล้วจึงทำการโคลนยีนสร้างเอนไซม์ methylase enzyme มาใช้ในการป้องกัน restriction enzyme ที่มีการแสดงออกสูง ซึ่งจะมีผลช่วยทำให้การส่งถ่ายดีเอ็นเอของ *Spirulina* มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น