หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาบทบาทของยีน *RDS2* และ *PDR5* ที่มีต่อการต้านทานสารสกัดจากเชื้อรา *Xylaria* ในยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*
หน่วยกิต	12
ผู้เขียน	นาวสาวพิชญดา สมบูรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. นิษก์นิภา สุนทรกุล
หลักสูตร	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวเคมี
สายวิชา	เทคโนโลยีชีวเคมี
คณะ	ทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี
พ.ศ.	2555

บทคัดย่อ

การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาใน *Saccharomyces cerevisiae* จะถูกควบคุมโดยโปรตีนในกลุ่ม zinc cluster หรือ zinc binuclear cluster เช่น โปรตีน Pdr1 และ Pdr3 ซึ่งเป็นตัวควบคุมพันธุกรรมที่สำคัญของยีนที่ทำหน้าที่ขนส่งยาหลายชนิด เช่น *PDR5, SNQ2* และ *YOR1* จากการศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ก่อนหน้านี้รายงานว่า zinc cluster Rds2 มีความเกี่ยวข้องกับการไวต่อยาต้านเชื้อรา ketoconazole นอกจากนี้ในสภาวะที่เซลล์ใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนนั้น Rds2 จับกับโปรโมเตอร์ของยีน *PDR5* ด้วย ดังนั้นในการทำวิทยานิพนธ์นี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาบทบาทของ Rds2 ในการดื้อยา และค้นหาสารจากธรรมชาติที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยใช้สารสกัดจากเชื้อราในสกุล *Xylaria* จำนวน 4 สายพันธุ์ ประกอบด้วย *Xylaria cubensis, Xylaria globosa, Xylaria obovata* และ *Xylaria* sp. มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ด้วยการวัดขนาดของบริเวณใส (clear zone of inhibition) โดยทดสอบกับยีสต์สายพันธุ์ปกติ (wild-type) และสายพันธุ์ที่ลบยีน *RDS2* (Δ*rds2*) และ/หรือ *PDR5* (Δ*pdr5*) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจาก *Xylaria* ทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้ นอกจากนี้การใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Xylaria* ร่วมกับยา ketoconazole ส่งผลให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสเพิ่มขึ้น ผลการทดลองนี้ยังแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจาก *Xylaria* sp. มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของยีสต์สายพันธุ์ปกติ, Δ*rds2* และ Δ*pdr5* ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดอื่นๆ โดยให้ค่า MIC_{50} เท่ากับ 0.10, 0.03 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และพบว่ายีสต์สายพันธุ์ Δ*pdr5* มีความไวต่อสารสกัดจาก *Xylaria* สูงกว่ายีสต์สายพันธุ์ปกติ และสายพันธุ์ Δ*rds2* การศึกษาบทบาทของ Rds2 ต่อการแสดงออกของยีน *PDR5* ด้วยเทคนิค quantitative realtime-polymerase chain reaction (qRT-PCR) ชี้ให้เห็นว่า Rds2 ไม่ได้ทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีน *PDR5* ในสภาวะที่มีสารสกัด *Xylaria* sp. อย่างไรก็ตามผลการศึกษาก่อนหน้าได้แสดงให้เห็นว่ายีสต์สายพันธุ์ Δ*rds2* มีความไวต่อสาร

สกัด *Xylaria* sp. สูงขึ้นเมื่อเทียบกับยีสต์สายพันธุ์ปกติ ดังนั้น Rds2 จึงมีบทบาทในการตอบสนองต่อสารสกัดจาก *Xylaria* sp. โดยอาจทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยายีนอื่นนอกเหนือจาก *PDR5* ขณะที่การแสดงออกของยีน *PDR5* ก็อาจถูกควบคุมด้วยตัวควบคุมพันธุกรรมตัวอื่นเช่นกัน อย่างไรก็ตามข้อสรุปที่สำคัญคือสารสกัดจากเชื้อรา *Xylaria* มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ *S. cerevisiae*

คำสำคัญ: การดื้อยา / ความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา / ตัวควบคุมพันธุกรรม Rds2 / สารสกัดจาก *Xylaria* / *PDR5* / *Saccharomyces cerevisiae*