

2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 รวบรวมยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายทอดยีน

รวบรวมยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายทอดยีน (natural transformation) ของ Cyanobacteria และแบคทีเรียต่างๆ อาทิเช่น *Synechocystis sp.*, *Thermosynechococcus elongatus*, *Anabaena sp.*, *Bacillus subtilis*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas stutzeri*, and *Streptococcus pneumonia* เป็นต้น เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการค้นหายีนที่เกี่ยวข้องในจีโนมของ *Spirulina platensis* สายพันธุ์ C1

2.2 การวิเคราะห์และค้นหายีน (โปรตีน) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายทอดยีนด้วยวิธีการเปรียบเทียบความคล้ายคลึงของลำดับกรดอะมิโน (homology-based method)

ทำการเปรียบเทียบยีนลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายทอดยีนด้วยเทคนิคที่เรียกว่า "local alignment" โดยเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์เปรียบเทียบที่รู้จักกันดีคือ BLAST (**B**asic **L**ocal **A**lignment **S**earch **T**ool, ที่ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) ซึ่งโปรแกรมนี้จะถูกใช้ทำการค้นหาในฐานข้อมูล (จากข้อ 13.1) เพื่อหาโปรตีนที่มีความคล้ายคลึงกับยีน (homologous genes) ที่เราสนใจ (ของ *Spirulina platensis* สายพันธุ์ C1) ออกมา

2.3 การวิเคราะห์เปรียบเทียบความคล้ายคลึงของลำดับกรดอะมิโนแบบหลายโปรตีน (multiple sequence alignment)

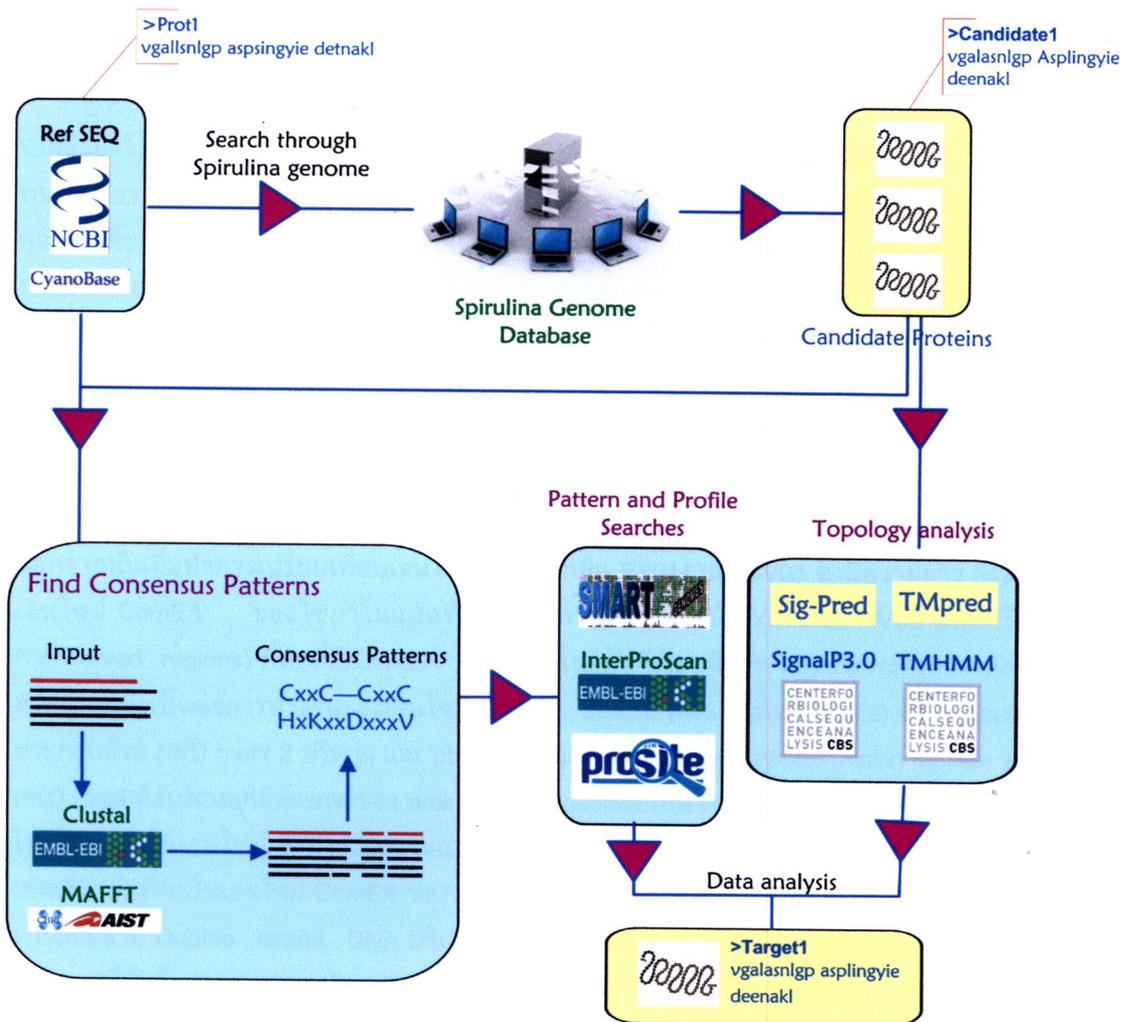
ทำการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของกลุ่มโปรตีนที่สนใจโดยอาศัยโปรแกรม clustalW2 [Larkin, et al., 2007] เพื่อหาบริเวณอนุรักษ์ (consensus regions) ของกลุ่มโปรตีนที่สนใจออกมา ดังนั้นถ้าโปรตีนใน *Spirulina* มีหน้าที่เดียวกันกับกลุ่มโปรตีนนั้นจริง จะต้องพบบริเวณอนุรักษ์บนโปรตีนของ *Spirulina* เช่นเดียวกับโปรตีนเหล่านั้น

2.4 การวิเคราะห์ Domain และ Motif ของโปรตีนที่สนใจ

การวิเคราะห์หา domain regions และ motif regions สามารถทำได้โดยเริ่มจากการเปรียบเทียบลำดับของลำดับของกรดอะมิโนของกลุ่มโปรตีน ที่คาดว่าจะมีหน้าที่เดียวกับโปรตีนที่เราสนใจ (query protein) โดยเทคนิคที่เรียกว่า "multiple sequences alignment" จะทำให้พบบริเวณที่เป็นบริเวณอนุรักษ์ (consensus regions) ซึ่งบริเวณเหล่านี้จะถูกเรียกว่า "motif" หลังจากนั้นจึงนำรูปแบบของ motif ที่พบไปทำการค้นหาเทียบกับโปรตีนที่เราสนใจ (query protein) ถ้าพบรูปแบบของ motif ดังกล่าวในโปรตีนที่เราสนใจ ดังนั้นโปรตีนที่เราสนใจจึงน่าจะมีหน้าที่ (predicted function) เดียวกันกับกลุ่มโปรตีนเหล่านั้น โดยสามารถวิเคราะห์หน้าที่ของ domain และ motif ได้จาก web browser ดังต่อไปนี้ เช่น Pfam, Prosite, SMART, and MOTIF Search (<http://motif.genome.jp/>) เป็นต้น

2.5 การวิเคราะห์หา transmembrane regions ของโปรตีนที่สนใจ

เนื่องจากกลไกการนำเอา DNA จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์จะเกิดขึ้นบริเวณ cell membrane ดังนั้นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายทอดยีนจึงมักจะเป็น transmembrane proteins โดยสามารถวิเคราะห์หา transmembrane regions ได้จาก web browser ดังต่อไปนี้ เช่น TMHMM และ TMpred เป็นต้น



รูปที่ 2.1: แสดงภาพรวมของขั้นตอนการหาโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ในสาหร่าย *Spirulina*