



1. บทนำ

สารประกอบโพลิทีไนด์ (polyketide) จัดเป็นสารสังเคราะห์ทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ที่ผลิตได้ในพืช รา ยีสต์ และแบคทีเรีย ซึ่งสารกลุ่มดังกล่าวมีความหลากหลายทั้งแง่ของโครงสร้างสารและการออกฤทธิ์ เช่น ถูกใช้เป็นสารต้านเซลล์มะเร็ง สารยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ไวรัส และแบคทีเรีย ใช้เป็นสารลดระดับคอเลสเตอรอล เป็นต้น โดยมาก สารกลุ่มโพลิทีไนด์ มักพบได้มากในสิ่งมีชีวิตจำพวกแบคทีเรีย และราเส้นใย เช่นรา *Ascomycetes* (*Neurospora crassa*, *Gibberella moniliformis*, *Cochiobolus heterostrophus* และ *Xylaria* sp.) ซึ่งจากฐานข้อมูลจีโนมของรา *Gibberella moniliformis* และรา *Cochiobolus heterostrophus* (www.ncbi.nlm.nih.gov) พบว่าราทั้งสองชนิด มียีนที่น่าเกี่ยวกับการสังเคราะห์สารโพลิทีไนด์มากถึง 15 ยีน และ 40 ยีน ตามลำดับ [1] แต่เมื่อนำราทั้งสองชนิด มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ กลับพบว่าทั้งสองชนิดสามารถสังเคราะห์สารโพลิทีไนด์ได้เพียงไม่กี่ประเภทเท่านั้น ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่า สภาวะการเลี้ยงเชื้อราทั้งสองชนิด ไม่เอื้อต่อการกระตุ้นให้เชื้อราผลิตสารโพลิทีไนด์ หรืออาจเป็นเพราะเทคนิคในการวิเคราะห์สารยังไม่มีที่เหมาะสม

รา *Xylaria* sp.BCC 1067 เป็นราที่ถูกพบและคัดแยกได้ โดยศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ศช.) ประเทศไทย จากการศึกษที่ผ่านมา คณะผู้วิจัยพบว่า ราชนิดนี้มีศักยภาพในการสังเคราะห์โพลิทีไนด์ได้หลายชนิด เช่นพบว่าราชนิดนี้สามารถสังเคราะห์สารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Plasmodium falciparum* และยังสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง และเชื้อมาลาเรีย แต่จากการศึกษาของอลงกรณ์และคณะ [2] สามารถแยกยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารโพลิทีไนด์ ด้วยเทคนิค PCR จากจีโนมของรา *Xylaria* sp.BCC 1067 ได้มากถึง 11 ยีน แต่กลับแยกสารโพลิทีไนด์ในห้องปฏิบัติการได้เพียง 2 ชนิด คือ De[udecin และ 19,20-Epoxycytochalasin Q [4] นั้นแสดงให้เห็นว่า รา *Xylaria* sp.BCC 1067 มีศักยภาพสูงต่อการนำไปใช้เป็นแหล่งข้อมูลชีวภาพ (Genetics resource) ที่สามารถนำไปศึกษาคุณสมบัติของยีนโพลิทีไนด์ว่ามีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารที่มีโครงสร้างทางเคมีลักษณะใด

รา *Aspergillus oryzae* เป็นราที่ถูกใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมานานนับพัน ๆ ปี เช่น ใช้ในการหมักซ็วอิ้ว และเต้าเจี้ยว ทำเทมเป้ เป็นต้น และมีงานวิจัยหลากหลายที่ได้นำราดังกล่าวไปใช้เป็นเซลล์เจ้าบ้านเพื่อผลิตโปรตีนหรือสารมูลค่าสูงต่าง ๆ ซึ่งราชนิดนี้มีความปลอดภัยต่อการนำไปใช้งาน โดยได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐ (FDA) และจากการวิจัยของอนุวัฒน์และคณะ [8] ได้นำราที่มีความบกพร่องต่อการสังเคราะห์เอ็นไซม์โปรติเอส มาใช้เป็นราต้นแบบ เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่สังเคราะห์สารโพลิทีไนด์ ชนิด *pksm1* ซึ่งยีนดังกล่าวถูกแยกได้จากจีโนมของรา *Xylaria* sp.BCC 1067 โดยมีขนาดของยีนประมาณ 7899 bp และเมื่อถูกรหัสโปรตีน (Open Reading Frame, ORF) พบว่ายีนดังกล่าวประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 2632 ตัว (Genbank Access Number; AY971512) และจากการทำนายบริเวณเข้าทำปฏิกิริยาของโปรตีน PKSM1 พบว่ามีบริเวณเข้าทำปฏิกิริยา 7 บริเวณ ดังนี้ Keto-synthase (KS) – Acyl-transferase (AT) – Dehydrogenase (DH) – Methyl-transferase (MT) – Enoyl reductase (ER) – Keto reductase (KR) – Acyl Carrier protein (ACP) ตามลำดับ [9] และเมื่อทำนายหน้าที่ของยีน *pksm1* ด้วยวิธี Similarity search พบว่ายีน *pksm1* มีความใกล้เคียงกับยีน *mlcB* ที่สังเคราะห์สาร Compactin จากรา *Penicillium citrinum* โดยมีค่า Similar เท่ากับ 47% และมีค่า Identity เท่ากับ 66% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่ายีน *pksm1* มีความเหมือนกับยีน *Alt5* ที่สังเคราะห์สาร Alternapyrone ในรา *Alternaria solani* [10] แต่อย่างไรก็ตาม เทคนิคที่กล่าวมาทั้งหมด ยังไม่สามารถระบุหน้าที่ที่ชัดเจนของยีน *pksm1* ว่ามีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โพลิทีไนด์ที่มีลักษณะใด

จากงานวิจัย “การวิเคราะห์หน้าที่ของยีน polyketide synthase ที่คาดว่าจะสามารถผลิตสารลดระดับคอเลสเตอรอลโดยการแสดงออกใน Heterologous fungal host” (ได้รับการสนับสนุนงานวิจัยในปีงบประมาณ 2551 – 2553) ทางคณะผู้วิจัยสามารถสร้างรา *Aspergillus oryzae* ที่ได้รับยีนในกลุ่ม polyketides ของรา *Xylaria* sp.BCC 1067 คือยีน *pksm1* (GenBank Access number; AY971512) โดยอาศัยเทคนิคทางค่านอนูพันธุวิศวกรรมในการส่งยีนดังกล่าวเข้าสู่เซลล์รา *A. oryzae* และควบคุมให้ราสายพันธุ์ใหม่ที่ได้สังเคราะห์สารโพลิทีไนด์ (รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2552 – 2553) ซึ่งคณะผู้วิจัยมีความสนใจ ที่จะค้นหาว่า