

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การโคลนยีน polyketide synthase จากรา <i>Xylaria</i> sp. BCC 1067
จำนวนหน่วยกิต	12
ผู้เขียน	นางสาว อัมพร หรั่งรอด
ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.สุภาภรณ์ ชีวะชนรัมย์ ดร.สมชาย พงศ์พัฒนกิจ โชติ
หลักสูตร	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
คณะ	ทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี
พ.ศ.	2548

บทคัดย่อ

T167928

ราในวงศ์ Xylariaceae มีความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่ม polyketide ได้หลายชนิด ซึ่งมีศักยภาพที่จะสามารถพัฒนาไปเป็นยารักษาโรคได้ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการโคลนยีน Polyketide synthase (PKS) ที่ใช้ในการสังเคราะห์สาร polyketide โดยใช้ homologous probe คัดเลือกยีนจาก genomic library ของรา *Xylaria* sp. BCC 1067 ให้ชื่อยีนว่า *pksm1* ยีนนี้มี open reading frame ขนาด 8,502 คู่เบส ถอดรหัสได้ 2, 591 อะมิโน มี intron ทั้งหมด 10 ตำแหน่ง มีขนาดเล็กที่สุด 51 คู่เบส และใหญ่ที่สุดมีขนาด 137 คู่เบส เมื่อทำการวิเคราะห์โครงสร้างของยีน *pksm1* พบว่าเป็น iterative type I PKS ชนิด highly reduced PKS ประกอบด้วย domain ทั้งหมด 6 domain มีการจัดเรียงตัวตามลำดับดังนี้ คือ KS AT MT ER KR และ ACP เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของยีน *pksm1* กับยีน PKS ที่พบในราต่าง ๆ ด้วยการวิเคราะห์ทาง phylogenetic พบว่ายีน *pksm1* จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับยีนที่สร้าง compactin ของรา *Penicillium citrinum* และยีนที่สร้าง lovastatin ของรา *Aspergillus terreus* ซึ่งสารทั้งสองมีฤทธิ์ในการลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด ดังนั้นจึงคาดว่ายีน *pksm1* น่าจะเกี่ยวข้องกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ อย่างไรก็ตามเมื่อทำการศึกษาหน้าที่ของยีนด้วยเทคนิค gene disruption แล้วเปรียบเทียบ metabolite profile ของ wild type กับ mutant โดยใช้เทคนิค HPLC ยังไม่สามารถพบความแตกต่างในการสังเคราะห์ metabolite ระหว่างทั้งสองสายพันธุ์จากผลการทดลองที่ได้นี้ยังไม่สามารถยืนยันหน้าที่ของยีน *pksm1* ได้ แต่ได้ mutant ที่มีความน่าสนใจในการนำไปศึกษาหน้าที่ของยีน *pksm1* และใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาความสามารถในการสังเคราะห์ polyketide ของราชนิดนี้ต่อไป

คำสำคัญ : Xylariaceae / *Xylaria* sp. BCC 1067 / polyketide / Polyketide synthase (PKS) /

Thesis Title	Identification of a polyketide synthase gene from <i>Xylaria</i> sp. BCC 1067
Thesis Credits	12
Candidate	Miss Amporn Rungrod
Thesis Advisors	Asst. Prof. Dr. Supapon Cheevadhanarak Dr. Somchai Pongpattanakitshote
Degree of Study	Master of Science
Field of Study	Biotechnology
Department	Biotechnology
Faculty	School of Bioresources and Technology
B.E.	2548

Abstract

T167928

The fungi in Xylariaceae family possess the capability of synthesizing various types of bioactive compounds, which could be useful for pharmaceutical development. Particularly, the bioactive compounds in polyketide group are intensively interesting. In this research, the polyketide synthase gene (PKS) was cloned using homologous probe for the genomic library screening from *Xylaria* sp. BCC1067. The obtained PKS gene named *pkfmt* has ORF at the size of 8,502 bp. This gene encoded 2,591 amino acids following removal of 10 interspersed introns, of these the shortest was 51 bp and the longest was 137 bp. From the gene structural analysis, *pkfmt* was classified as iterative type I PKS, a highly reduced PKS, consisting of 6 domains: KS, AT, MT, ER, KR and ACP, respectively. The phylogenetic tree analysis of *pkfmt* gene was revealed that *pkfmt* was most closely grouped to the compactin biosynthesis gene of *Penicillium citricum* and lovastatin biosynthesis gene of *Aspergillus terreus*, in which both of them possess cholesterol lowering activity. Subsequently, the gene was further studied using gene disruption technique and the comparison of secondary metabolite profiles between mutant and wild type utilizing HPLC. Unfortunately, no missing peak of the mutant was found, thus, the function of *pkfmt* is still unclear. Nevertheless, the mutants achieved throughout the research are interesting and could be used to prove the function of *pkfmt* including the polyketide synthesizing ability of this fungus.

Keywords : Xylariaceae / *Xylaria* sp. BCC1067 / Polyketide / Polyketide Synthase (PKS) / Methyl Transferase Domain / Bioactive Compound