

การตรวจหายีน *phaE* ของอาร์เคียชอบเค็ม  
โดยวิธี PCR

นางสาวสุกัญญา มะลิวัลย์  
นางสาวสุธาน บัวใหญ่

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต  
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
พ.ศ. 2558

DETECTION OF *phaE* GENE OF HALOARCHAEA  
BY PCR METHOD

MS. SUKANYA MALIWAN

MS. SUTAN BUAYAI

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY  
FACULTY OF PHARMACY  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2015

โครงการพิเศษ

เรื่อง การตรวจหายีน *phaE* ของอาร์เคียชอบเค็มโดยวิธี PCR

.....  
(นางสาวสุกัญญา มะลิวัลย์)

.....  
(นางสาวสุธาน บัวใหญ่)

.....  
(อาจารย์มนตรี ยะสาวงษ์)  
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....  
(อาจารย์คณิสต์ เส็งี่ยมสุนทร)  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

## บทคัดย่อ

### การตรวจหายีน *phaE* ของอาร์เคียชอบเค็มโดยวิธี PCR

สุกัญญา มะลิวัลย์, สุธาน บัวใหญ่

อาจารย์ที่ปรึกษา: มนตรี ยะสาวงษ์\*, คณิสส์ เสงี่ยมสุนทร\*

\*ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ: PHA synthase, Bioplastic, haloarchaea, ยีน *phaE*, วิธี PCR

เอนไซม์ PHA synthase เป็นเอนไซม์หลักในกระบวนการสร้างพลาสติกชีวภาพ ประกอบด้วยสายของ hydroxyalkanoate เรียงต่อกันซึ่งจะได้เป็น polyhydroxyalkanoates (PHAs) ยีน *phaC* เป็นยีนที่จำเป็นในการสร้างเอนไซม์ PHA synthase ทุกกลุ่ม แต่ยีน *phaE* จำเป็นในการสร้างเอนไซม์ PHA synthase กลุ่ม 3 ซึ่งตรวจพบได้ในอาร์เคียชอบเค็มบางชนิด วัตถุประสงค์ของงานวิจัยชิ้นนี้เพื่อทำการคัดเลือกแหล่งดินที่มียีน *phaE* โดยเก็บตัวอย่างดินจาก คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร ดินตะกอนจากป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี ดินนาเกลือจากจังหวัดจันทบุรี ดินจากภูลังกา จังหวัดพะเยา และดิน solar lake จาก Inner Mongolia ประเทศจีน แล้วนำมาสกัด DNA ด้วย Isolation kit จากนั้นนำไปศึกษา ยีน *phaE* ด้วยวิธีการทำ PCR โดยใช้อุณหภูมิ annealing 60°C แล้วนำไปตรวจสอบด้วยวิธี gel electrophoresis โดยการใช้ *Haloquadratum walsbyi* เป็นตัวควบคุม จากผลการทดลองพบแถบ DNA ของยีน *phaE* ขึ้นที่ 224bp ในตัวอย่างดินจากจันทบุรี และดินจาก inner Mongolia ประเทศจีน สำหรับ ตัวอย่างดินอื่นๆ ที่ไม่พบยีน *phaE* อาจเนื่องมาจากมีปริมาณอาร์เคียชอบเค็มน้อยจนไม่สามารถตรวจสอบได้ ดังนั้นตัวอย่างดินจากจันทบุรี และดินจาก inner Mongolia ประเทศจีน เป็นตัวอย่างที่มีความเป็นไปได้สูงที่จะพบอาร์เคียชอบเค็มที่มีความสามารถในการสร้างพลาสติกชีวภาพอาศัยอยู่ได้

## Abstract

### Detection of *phaE* gene of haloarchaea by PCR method

SukanyaMaliwan, SutanBuayai

Project advisor: MontriYasawong\*, KanitSangeamsunthorn\*

\*Department of Biochemical, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword: PHA synthase, Bioplastic, haloarchaea, *phaE* gene, PCR method

PHA synthases are major enzymes for bioplastic production. The bioplastic are polymerized by hydroxyalkanoate monomer. All classes of the PHA synthases are encoded by *phaC* gene. However *phaE* gene is a biomarker for microorganisms that possess PHA synthase class III. The PHA synthase class III is found in some haloarchaeal strains. The objective of this study is to sort out the soil samples contained PHA-producing haloarchaea that have *phaE* gene. The soil samples were collected from garden soil of Faculty of Pharmacy (Mahidol University, Bangkok), mangrove sediment (ChonBuri), sediment of salt-farm (Chantaburi), garden soil of Phu Lanka (Phayao) and sediment of solar-lake of Inner Mongolia (China). The metagenomic DNA was isolated from the samples by isolation kit and detected *phaE* gene by PCR (annealing 60°C) and gel electrophoresis method (*Haloquadratum walsbyi* is used to be positive control). From the result, *phaE* gene bands from sediment of salt-farm (Chantaburi) and solar-lake of Inner Mongolia (China) were detected at 224 bp. However, the other soil samples have undetectable *phaE* gene. Accordingly the soil samples from sediment of salt-farm (Chantaburi) and solar-lake of Inner Mongolia (China) sediment of salt-farm (Chantaburi) and solar-lake of Inner Mongolia (China) that contained PHA-producing haloarchaea have high tendency to produce bioplastic.