บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ เป็นการนำลูกผสมต่างๆ ที่ได้จากการหลอมโปรโตพลาสท์และการทำคอนจูเกชันระหว่าง *Streptomyces sp.*190-1 และ *Streptomyces sp.*42-9 โดย Pinphanichakarn (1990) และวรางคณา อินทรเสน (2534) จากตารางที่ 1 มาวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสและเอนไซม์ไซแลเนส โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อ และแม่ พบว่าลูกผสมส่วนใหญ่ผลิตได้ทั้งเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสและเอนไซม์ไซแลเนสในปริมาณที่แตกต่างกันไป นั่นแสดงถึงว่าการหลอมโปรโตพลาสท์และการทำคอนจูเกชันระหว่าง *Streptomyces sp.*190-1 และ *Streptomyces sp.*42-9 ทำให้เกิดลูกผสมที่มีการรวมกันของสารพันธุกรรมระหว่าง *Streptomyces* ทั้งสองนี้โดยที่ยีนของลูกผสมนี้จะสามารถแสดงออกทั้งเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสและเอนไซม์ไซแลเนส แต่ในกรณีที่ลูกผสมมีแอคติวิตีของเอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่งต่ำ แสดงว่าการรวมกันของสารพันธุกรรมของ *Streptomyces* ทั้งสองนี้ไม่ได้รวมกันในช่วงที่เป็นยีนที่แสดงออกของเอนไซม์นั้นๆ หรือรวมเฉพาะบางส่วนของยีนที่แสดงออกของเอนไซม์ เพราะการหลอมโปรโตพลาสท์ และการทำคอนจูเกชันเป็นการรวมกันของสารพันธุกรรมแบบสุ่ม ไม่สามารถกำหนดได้ตามต้องการ การรวมกันทางพันธุกรรมจะเกิดได้ดีเมื่อดีเอ็นเอที่นำมารวมกันมีบางส่วนของลำดับเบสที่ค่อนข้างเหมือนกัน (homologous sequence) (Ferenczy, 1981) และจากการที่ลูกผสมต่างๆ ที่นำมาทดสอบนี้มีความสามารถผลิตเอนไซม์ทั้งสองจากสายพันธุ์พ่อและแม่ได้แสดงว่าสายพันธุ์เหล่านั้นน่าจะเป็นลูกผสมจริง ดังนั้นเพื่อการยืนยันให้แน่ชัดจึงได้ทำการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมอลดีเอ็นเอของสายพันธุ์เหล่านั้น โดย การวิเคราะห์รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสซึ่งคาดว่ารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนของลูกผสมจะแตกต่างจากสายพันธุ์พ่อและแม่อย่างเด่นชัด หรือปรากฏแถบดีเอ็นเอที่เป็นแถบดีเอ็นเอผสมระหว่าง *Streptomyces sp.*190-1 และ *Streptomyces sp.*42-9

ในการวิเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ให้ผลแม่นยำนั้น การแยกชิ้นส่วนเหล่านั้นออกจากกันอย่างมีประสิทธิภาพโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสเป็นปัจจัยสำคัญ ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงได้เริ่มศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมที่จะทำให้การทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสมีประสิทธิภาพสูงสุดในการแยกความแตกต่างของชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้อย่างเด่นชัดที่สุด ดังจะกล่าวถึงรายละเอียดของปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้

ในขั้นแรกโครโมโซมอลดีเอ็นเอที่จะทดสอบต้องมีความสมบูรณ์ และความบริสุทธิ์สูง ซึ่งจากตารางที่ 3 และรูปที่ 1ก และ 1ข จะเห็นว่าโครโมโซมอลดีเอ็นเอที่สกัดแยกได้มีความบริสุทธิ์สูง ซึ่งแตกต่างจาก Simor และ คณะ (1990) ที่ได้จำแนกชนิดของ *Campylobacter pylori* โดยใช้การวิเคราะห์รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ ซึ่งพบว่าจากการที่ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของโครโมโซมอลดีเอ็นเอที่สกัดแยกได้ จะมีแถบของพลาสมิดปรากฏขึ้นทำให้ต้องนำมาทำบริสุทธิ์ซ้ำโดยชะเฉพาะแถบโครโมโซมอลดีเอ็นเอออกจากอะกาโรสเจลแล้วสกัดซ้ำด้วยฟีนอลต่อคลอโรฟอร์ม ทั้งนี้ เพราะถ้าโครโมโซมอลดีเอ็นเอที่จะนำมาศึกษาไม่มีความบริสุทธิ์จะทำให้เกิดความยุ่งยากในการแปลผล

การย่อยโครโมโซมอลดีเอ็นเอด้วยเรสตริกชันเอนไซม์อย่างสมบูรณ์นั้น มีปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องคือ ชนิดและปริมาณของเรสตริกชันเอนไซม์ที่ใช้ และเวลาในการย่อย ซึ่งการที่จะเลือกชนิดของเรสตริกชันเอนไซม์นั้นขึ้นกับจีโนมของจุลินทรีย์ สำหรับโครโมโซมอลดีเอ็นเอของ *Streptomyces*นั้น Hintermannและคณะ(1981)ได้รายงานไว้ว่าการที่จะย่อยโครโมโซมอลดีเอ็นเอของ *Streptomyces glaucescens* ได้อย่างสมบูรณ์นั้นควรใช้ BamHI หรือ EcoRI* ด้วยปริมาณเรสตริกชันเอนไซม์ 10 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม และพบว่า BamHI แสดงรูปแบบของชิ้นส่วนดีเอ็นเอเฉพาะตัวที่เด่นชัด จากงานวิจัยของสมพร ต๊นสกุล (2534) ได้ย่อยโครโมโซมอลดีเอ็นเอของ *Streptomyces spp.* 5 สายพันธุ์ ด้วยปริมาณเรสตริกชันเอนไซม์ 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม พบว่าเรสตริกชันเอนไซม์ที่เหมาะสมเรียงตามลำดับคือ PstI, BamHI, BglII และ EcoRI สำหรับในงานวิจัยนี้ก็ได้ใช้ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ในการศึกษาชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ของ *Streptomyces sp.*190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ โดยใช้เวลาในการย่อยนาน 1 คืน ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจากคำแนะนำของ

บริษัทผู้ผลิตเอนไซม์การย่อยของเรสตริกชันเอนไซม์จะใช้เวลานานเพียง 1 ชม. แต่พบว่าไม่เสมอไปทุกการทดลอง เช่น ในรายงานของ Ley (1989) ได้ทดลองย่อยดีเอ็นเอด้วย RsrII (1 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม) พบว่าการย่อยด้วย RsrII จะสมบูรณ์เมื่อใช้เวลานานกว่า 8 ชม. และเมื่อเพิ่มปริมาณ RsrII ที่ใช้เป็น 5 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ก็ยังพบว่าในเวลา 1 ชม. การย่อยยังไม่สมบูรณ์ ดังนั้นสำหรับการใช้ RsrII ภายใต้สภาวะนี้จะใช้เวลานาน 1 คืน

ในงานวิจัยนี้ การวิเคราะห์ลูกผสมต่างๆ นั้น เมื่อทดลองหาความต่างศักย์ที่เหมาะสมในการทำอิเลคโตรโฟรีซิส พบว่าความต่างศักย์ที่เหมาะสมคือ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร นาน 1 ชม.45 นาที ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานของสมพร ตั๊นสกุล (2534) ที่ได้ศึกษารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ต่างๆ ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส จาก *Streptomyces spp.* 5 สายพันธุ์ พบว่าเมื่อใช้สภาวะที่เหมาะสมในการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส คือความเข้มข้นอะกาโรสเจล 0.7 เปอร์เซนต์ ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร นาน 1ชม. 30 นาที จะให้รูปแบบเฉพาะตัวที่เด่นชัดที่สุด นอกจากนั้นในการทดลองนี้ได้ทดลองใช้ความเข้มข้นเจลและความต่างศักย์ต่ำ คือ ความเข้มข้นเจล 0.4 เปอร์เซนต์ ความต่างศักย์ 2 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร จะเห็นว่าไม่ทำให้เห็นความแตกต่างของรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากลูกผสมกับสายพันธุ์พ่อและแม่อย่างเด่นชัด และมีข้อเสีย คือ ภาพที่ได้ไม่คมชัด และใช้เวลานานมาก ซึ่งต่างจากในรายงานของ Kakoyiannis, Winter และ Marshall (1984) ที่ได้ใช้ความต่างศักย์ 5 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร บนอะกาโรสเจล 0.7 เปอร์เซนต์ในการจำแนก *Campylobacter coli* ซึ่งจะให้รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่แตกต่างกันออกไป

ในการใช้อะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสมาวิเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอต่างๆ นั้น ความแตกต่างของรูปแบบการเรียงตัวจะเด่นชัดนั้นส่วนใหญ่พบในกรณีที่นำมาจำแนกดีเอ็นเอของไวรัส เพราะมีขนาดที่เล็กกว่าจีโนมของแบคทีเรีย เช่น การวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วย EcoRI จากแบคเทอริโอฟาจและไวรัสอื่นๆ โดยใช้อะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสจะเห็นความแตกต่างอย่างชัดเจน (Helling, Goodman and Boyer, 1974) แต่ในขณะที่รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากแบคทีเรียจะซับซ้อนกว่า เช่น ดีเอ็นเอของ

Bacilius subtillis (Harris-Warrick et al., 1975) เป็นต้น ส่วนในกรณีจีโนมของ *Streptomyces* ซึ่งเป็นดีเอ็นเอขนาดใหญ่ 10^4 กิโลเบส (Hunter, 1985) จึงค่อนข้างจะยุ่งยาก ซึ่งได้มีรายงานถึงการศึกษารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสของ *Streptomyces glaucescens* โดย Hintermann และ คณะ (1981) พบว่าแต่ละสายพันธุ์จะให้รูปแบบเฉพาะตัวที่แตกต่างกัน แต่เมื่อศึกษาในสายพันธุ์ที่กลายพันธุ์จะไม่สามารถจำแนกสายพันธุ์ที่กลายพันธุ์ออกจากสายพันธุ์เดิมได้ทุกกรณี มีบางสายพันธุ์เท่านั้นที่ให้ความแตกต่างได้อย่างชัดเจน

เมื่อนำเทคนิคนี้มาศึกษาดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ของลูกผสมต่างๆ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อและแม่ จะเห็นว่าจากการพิจารณาด้วยตารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของลูกผสมไม่สามารถแยกความแตกต่างได้อย่างเด่นชัด โดยที่รูปแบบเฉพาะตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอ็นเอของลูกผสมจะคล้ายคลึงกับรูปแบบเฉพาะตัวของ *Streptomyces sp.*42-9 ยกเว้นลูกผสม D_3 เท่านั้นที่ให้รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอแตกต่างจาก *Streptomyces sp.*190-1 และ *Streptomyces sp.*42-9 อย่างเด่นชัด อาจเป็นเพราะว่า โดยส่วนมากดีเอ็นเอของลูกผสมไม่ได้เปลี่ยนแปลงจากดีเอ็นเอของสายพันธุ์พ่อและแม่ในระหว่างจุดที่เรสตริกชันเอนไซม์ตัด ดังในรายงานการทดลองของเชื้อ *Leptospira interrogans* serovars *icterohaemorrhagiae* และ *hebdomadis* (Marshall, Winter, and Yanagawa, 1984) แต่ดีเอ็นเอของ D_3 มีการเปลี่ยนแปลงตรงบริเวณจุดจำของ BamHI จึงทำให้เกิดแถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ชัดเจนแตกต่างออกไป ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานของ Mielenz และคณะ (1979) ที่ได้ใช้รูปแบบเฉพาะตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วย EcoRI มาเปรียบเทียบ *Rhizobium spp.* และจำแนกสายพันธุ์ที่กลายพันธุ์ ซึ่งจะพบว่าสามารถแยก *Rhizobium* แต่ละสายพันธุ์ออกจากกันได้อย่างชัดเจน แต่ไม่สามารถจำแนกสายพันธุ์ที่กลายพันธุ์ออกจากสายพันธุ์ดั้งเดิมได้ จะได้รูปแบบที่คล้ายคลึงกัน และรายงานของ Marshall และคณะ (1984)ได้ใช้เทคนิคนี้วิเคราะห์ *Leptospira interrogans* serovars *icterohaemorrhagiae* และ *hebdomadis* และสายพันธุ์ที่กลายพันธุ์ พบว่าได้รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่คล้ายคลึงกันมาก และไม่สามารถแยกสายพันธุ์ที่กลายพันธุ์ออกจากสายพันธุ์ดั้งเดิมได้

แต่อย่างไรก็ตาม การแปลผลรูปแบบเฉพาะตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ผ่านการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสโดยการดูแผ่นฟิล์มด้วยตาเปล่าโดยตรงอาจทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจน ดังนั้นต้องอาศัยการอ่านค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนแผ่นฟิล์มได้แก่ อุปกรณ์ densitometer ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่มีความไวสูงช่วยทำให้ผลการอ่านสามารถบอกตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอต่างๆ ได้ค่อนข้างแน่นอนกว่าการดูด้วยตาเปล่า และเมื่อนำมาคำนวณเป็นค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (S_D)(Sneath and Sokal, 1973) ตามวิธีคำนวณที่ระบุไว้ในวิธีการทดลอง จะสามารถนำมาเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกับ *Streptomyces sp.*190-1 หรือ *Streptomyces sp.*42-9 ได้โดยพบว่าที่ค่า S_D ของลูกผสมสัมพัทธ์กับ *Streptomyces sp.*190-1 สูง ลูกผสมนั้นจะมีเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสสูง และถ้าค่า S_D ของลูกผสมสัมพัทธ์กับ *Streptomyces sp.*42-9 สูง ลูกผสมนั้นจะมีเอนไซม์ไซแลเนสสูงเช่นเดียวกัน (ดังตารางที่ 4) แสดงว่าการแปลผลโดยใช้การอ่านค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอนี้ จะช่วยให้สามารถบอกความแตกต่างได้แน่นอนกว่าการดูด้วยตาเปล่า ดังเช่นในรายงานของ Razin และคณะ (1983) ที่ได้ใช้เทคนิคการตัดดีเอ็นเอด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ แล้วผ่านการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสมาจำแนกสายพันธุ์ต่างๆของ *Acholeplasma* และ *Mycoplasma* โดยอาศัยการแปลผลอย่างรวดเร็วจากการดูด้วยตาเปล่าควบคู่ไปกับการอ่านค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอ และ Innocenti และคณะ (1990) ได้จัดจำแนกสายพันธุ์ *Zymomonas* โดยอาศัยค่า S_D ในการจัดกลุ่มของ *Zymomonas* ด้วย

จากผลการวิจัยนี้ ถึงแม้ว่าการวิเคราะห์ดีเอ็นเอโดยใช้อะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสนี้จะสามารถนำมาใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอได้ แต่ยังไม่เด่นชัดในทุกกรณี การอาศัยการอ่านค่าความเข้ม และคำนวณเป็นค่า S_D นั้นจะช่วยในการแปลผลได้มาก

นอกจากนี้ข้อดีของเทคนิคนี้ คือ การใช้จุลินทรีย์ในปริมาณน้อย เพราะว่าในแต่ละการทดลองใช้ปริมาณดีเอ็นเอน้อย(ในหน่วยของไมโครกรัม) รวมถึงความสะดวก ง่าย และรวดเร็วในแต่ละการทดลอง และสำหรับในงานวิจัยนี้ พบว่ารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เฉพาะตัวของ D_3 ยังคงไม่มีการเปลี่ยนแปลงหลังจากได้ทำการวิเคราะห์รูปแบบเฉพาะตัวจาก D_3 หลายๆ เจเนอเรชัน โดยที่แต่ละเจเนอเรชันห่างกัน ประมาณ

3-5 เดือน เช่นเดียวกับที่ Hall และคณะ (1992)ได้จำแนกสปีซีส์ของ *Enterococcus* โดยวิเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ และรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอจะไม่เปลี่ยนแปลงภายหลังจากการถ่ายเชื้อไป 25 ครั้ง

นอกจากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอแล้ว งานวิจัยนี้ยังได้วิเคราะห์ผลผลิตจากการแปลรหัสเพื่อยืนยันถึงการเกิดลูกผสมจริงอีกด้วย โดยได้สกัดแยกเอนไซม์กลูโคสไอโซ-เมอเรส และเอนไซม์ไซแลเนสจากลูกผสมมาทำให้บริสุทธิ์เปรียบเทียบกับรูปแบบโปรตีนโดยวิธี โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซิส กับเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสจาก *Streptomyces sp.*190-1และเอนไซม์ไซแลเนสจาก *Streptomyces sp.*42-9 โดยคาดว่าการที่ลูกผสมได้รับสารพันธุกรรมจากสายพันธุ์ทั้ง 2 จึงน่าจะมีเอนไซม์ทั้งสองเป็นผลผลิตจากการแปลรหัสของยีนที่ได้รับมา ผลการทดลองดังรูปที่ 9ก และ 9ค จากรูปที่ 9ก ยืนยันว่าลูกผสมมีเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส เพราะมีแถบโปรตีนหลักในตำแหน่งเดียวกับแถบโปรตีนของเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสจาก *Streptomyces sp.*190-1 ที่ประมาณ 46,000 ดาลตัน (เทียบจากโปรตีนมาตรฐาน) ดังรูปที่ 9ข ซึ่งสอดคล้องกับ รายงานของขจีนาฏ จรรยาอุดม (2528) ส่วนรูปที่ 9ค แสดงว่าลูกผสมมีเอนไซม์ไซแลเนสเช่นเดียวกัน เพราะมีแถบโปรตีนหลักในตำแหน่งเดียวกับแถบโปรตีนของเอนไซม์ไซแลเนสใน *Streptomyces sp.*42-9 ที่ประมาณ 48,000 ดาลตัน (เทียบจากโปรตีนมาตรฐาน) ดังรูปที่ 9ง อย่างไรก็ตามน้ำหนักโมเลกุลของไซแลเนสที่ได้จากการทดลองนี้แตกต่างจากรายงานของกมลวรรณ มั่นภักดี (2534) ที่พบว่าไซแลเนสจาก *Streptomyces sp.*42-9 มีขนาดประมาณ 28,000 ดาลตัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในการทดลองนี้ การสกัดแยกไซแลเนสพบว่าเอนไซม์นี้ส่วนใหญ่อยู่ในส่วนที่ไม่เกาะติดคอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาเดกซ์ ที่ pH 8.0 และพบน้อยมากในส่วนที่เกาะติดคอลัมน์ ในขณะที่รายงานของกมลวรรณ มั่นภักดี เป็นเอนไซม์ที่ได้จากส่วนที่เกาะติดคอลัมน์ที่ pH ค่าเดียวกับการทดลองนี้ ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่า *Streptomyces sp.*42-9 ผลิตไซแลเนส 2 ชนิด

ดังนั้น จากผลการศึกษาถึงแอคติวิตีของเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส ไซแลเนส และการเปลี่ยนแปลงดีเอ็นเอ รวมถึงลักษณะของเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสและไซแลเนสจากลูกผสมต่างๆ เทียบสายพันธุ์พ่อและแม่ จึงยืนยันได้ว่าลูกผสมเหล่านี้เกิดจากการรวมกันของสารพันธุกรรมระหว่าง *Streptomyces sp.*190-1 และ *Streptomyces sp.*42-9

นอกจากนี้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของลูกผสมที่คล้ายคลึงกับสายพันธุ์พ่อและแม่ อาจจะแสดงให้เห็นว่าแอคติวิตีของเอนไซม์ และรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของลูกผสมมีความใกล้เคียงกับสายพันธุ์พ่อและแม่ด้วย

สรุป

สำหรับในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาลูกผสมต่างๆ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อและแม่ ใน 3 กรณี คือ

1. ศึกษาปริมาณเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสและเอนไซม์ไซแลเนส พบว่าลูกผสมสามารถผลิตได้ทั้งเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสและเอนไซม์ไซแลเนส

2. ศึกษาดีเอ็นเอจากลูกผสมต่างๆโดยเปรียบเทียบรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส พบว่าที่สภาวะเหมาะสมคือ ใช้ปริมาณเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม และความเข้มข้นอะกาโรสเจล 0.7 เปอร์เซนต์ ความต่างศักย์คงที่ที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร ใช้เวลานาน 1 ชม.45 นาที จะให้รูปแบบการเรียงตัวที่เฉพาะตัวของลูกผสม D_3 เด่นชัดที่สุด ส่วนลูกผสมอื่นๆ ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ด้วยตาเปล่าต้องอาศัยการอ่านค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง densitometer และคำนวณเป็นค่า S_D พบว่า ถ้าค่า S_D สัมพัทธ์กับ *Streptomyces sp.*42-9 สูงลูกผสมจะมีเอนไซม์ไซแลเนสสูงและถ้าค่า S_D สัมพัทธ์กับ *Streptomyces sp.*190-1 สูง ลูกผสมจะมีเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสสูง

3. วิเคราะห์ลักษณะโปรตีนของกลูโคสไอโซเมอเรส และไซแลเนสที่ผลิตจากลูกผสมเปรียบเทียบกับ *Streptomyces sp.*190-1 และ *Streptomyces sp.*42-9 โดยวิธี SDS-PAGE พบว่าลูกผสมแสดงแถบโปรตีนของกลูโคสไอโซเมอเรสตรงกับแถบกลูโคสไอโซเมอเรสของ *Streptomyces sp.*190-1 และ แถบโปรตีนของไซแลเนสตรงกับแถบไซแลเนสของ *Streptomyces sp.*42-9