

Streptomyces spp: แบคทีเรียคุณค่าสูงจากธรรมชาติ

ศาสตราจารย์ ดร. วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ และหน่วยความร่วมมือการวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ชีวภาพและเทคโนโลยีชีวภาพ
แห่งมหาวิทยาลัยมหิดล และมหาวิทยาลัยโอซาก้า (MU-OU: CRC) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Streptomyces เป็นเชื้อแบคทีเรียจัดอยู่ใน phylum และ class ชื่อเดียวกัน คือ Actinobacteria อยู่ใน Order Actinomycetales ซึ่งเชื้อทั้งหมดเป็นแบคทีเรียในกลุ่มกรัมบวก *Streptomyces* เป็นกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่มี G+C content สูงมาก ใน order Actinomycetales จัดแบ่งกลุ่มแบคทีเรียออกเป็นจำนวน 40 families ตามข้อมูลของ Catalogue of life (2007) ซึ่งใน order Actinomycetales มีแบคทีเรียทั้งที่มีประโยชน์และก่อโรคแก่มนุษย์และสัตว์ แต่อาจแบ่งกลุ่มเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ กลุ่ม Coryneform (*Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Arthrobacter*, *Cellulomonas*) กลุ่ม Propionic acid bacteria (*Propionibacterium*, *Eubacterium*) , กลุ่มที่เป็น Obligate anaerobes (*Bifidobacterium*, *Acetobacterium*) และกลุ่ม Actinomycetes ซึ่งเป็นกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่อยู่เป็นสายยาว (filament) และมีเชื้อหลายชนิดในกลุ่มนี้สร้าง mycelium คล้ายเชื้อรา และอาจแตกกิ่ง (branching) เชื้อในกลุ่ม Actinomycetes แบ่งออกเป็น 8 กลุ่มย่อย ตามข้อมูลของหนังสือ Brock: Biology of Microorganism (Madigan et al, 2009) ซึ่งมีการใช้ชื่อซ้ำกัน ทำให้อาจสับสนได้ จึงขอกล่าวถึงทั้ง 8 กลุ่ม ดังนี้

1. Group I Actinomycetes เชื้อในกลุ่มนี้ไม่สร้าง mycelium ตัวอย่างเช่น *Actinomyces* (อยู่ใน Family Actinomycetaceae)
2. Group II Mycobacteria อยู่ใน Family Mycobacteriaceae ที่รู้จักกันมาก เพราะก่อโรคที่สำคัญ คือ วัณโรค ได้แก่ *Mycobacterium tuberculosis*
3. Group III Nitrogen-fixing actinomycetes ซึ่งเป็นเชื้อที่ตรึงไนโตรเจนในไม้เนื้อแข็ง อยู่ใน Family Frankiaceae ตัวอย่างเช่น *Frankia* เชื้อกลุ่มนี้สร้าง mycelium
4. Group IV Actinoplanes เชื้อในกลุ่มนี้จะสร้าง mycelium และสปอร์ภายใน sporangia ตัวอย่างเช่น *Actinoplanes* (Family Micromonosporaceae), *Streptosporangium* (อยู่ใน Family Streptosporangiaceae)
5. Group V Dermatophilus group สร้าง mycelia filament แต่ไม่สร้าง aerial mycelium ตัวอย่างเช่น *Dermatophilus* (อยู่ใน Family Dermatophilaceae), *Geodermatophilus* (อยู่ใน Family Geodermatophilaceae)
6. Group VI Nocardias ตัวอย่างเช่น Family Nocardiaceae ได้แก่ เชื้อใน Genus *Nocardia*
7. Group VII Streptomycetes เป็นเชื้อในกลุ่มที่สร้าง aerial mycelium จำนวนมาก และสร้างสปอร์ที่มักเป็นสายยาว ที่รู้จักและใช้ประโยชน์กันมาก คือ *Streptomyces*, *Streptoverticillium* และ *Kitasatospora* (ทั้งหมดอยู่ใน Family Streptomycetaceae) และ *Sporichthya* (อยู่ใน Family Sporichthyaceae)

8. Group VIII Micromonosporas group สร้าง mycelium และมักสร้างสปอร์เดี่ยว แต่ก็อาจพบสปอร์แบบคู่หรือสายสั้นๆ ตัวอย่างเช่น *Micromonospora* (Family *Micromonosporaceae*), *Microbispora* (Family *Streptosporangiaceae*), *Thermomonospora* (Family *Thermomonosporaceae*)

จะเห็นได้ว่า Actinomycetes จะหมายถึงแบคทีเรียทั้ง 8 กลุ่มใหญ่ หรืออาจหมายถึง แบคทีเรียใน Group I ซึ่งอยู่ใน Family *Actinomycetaceae* ขณะที่ Streptomycetes จะหมายถึงเชื้อใน Family *Streptomycetaceae* และ Family *Sporichthyaceae* สำหรับเชื้อที่อยู่ใน Family *Streptomycetaceae* จะมีอยู่หลาย genera ได้แก่ *Kitasatospora*, *Streptacidiphilus*, *Streptomyces* และ *Streptoverticillium* อย่างไรก็ตาม ขอให้เข้าใจว่าการจัดแบ่งกลุ่มแบคทีเรียนั้น อยู่บนพื้นฐานของข้อมูลต่างๆ ที่มีอยู่ในปัจจุบัน หากมีการพบข้อมูลด้านต่างๆ เพิ่มขึ้นอาจมีการจัดแบ่งกลุ่มเชื้อใหม่ หรือกำหนด Family หรือ genus ขึ้นใหม่ได้

เชื้อ Streptomycetes เป็นเชื้อกลุ่มใหญ่ที่สร้างสายใยที่แตกแขนงได้แบบเดียวกับเชื้อรา โดยเราเรียกเส้นใยนี้ว่า mycelium เหมือนกับในเชื้อรา โดยเชื้อจะสร้างเส้นใยที่ผิวของโคโลนีที่เรียกว่า aerial mycelium และยังสร้างเส้นใยที่เจริญลงไปในอาหารที่เรียกว่า substrate mycelium เชื้อที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ เชื้อในกลุ่ม *Streptomyces* เชื้อส่วนใหญ่ใน Genus นี้ สร้างสปอร์ ซึ่งเรียกว่า conidia ได้ การสร้าง conidia จะสร้างขณะที่อายุของเชื้อมากขึ้น โดย aerial mycelium ซึ่งสูงขึ้นบนผิวของโคโลนีจะพัฒนาเป็น sporophores ที่จะมี nuclei หลายอัน และเกิดการสร้างผนังกัน ทำให้แต่ละเซลล์พัฒนาไปเป็น conidia ซึ่งมักเป็นสายยาว และมีลักษณะหลากหลายทั้ง sporophores และ conidia มักมีสีต่างๆ กัน ทำให้สามารถแยกสายพันธุ์ของเชื้อโดยอาศัยจากทั้งลักษณะและสีของ sporophores และ conidia ร่วมกับคุณสมบัติด้านอื่นๆ เราสามารถแยกเชื้อ *Streptomyces* ได้จากดินเป็นส่วนใหญ่ บางครั้งก็สามารถพบในแหล่งน้ำได้บ้าง และยังพบ *Streptomyces* ที่อาศัยอยู่ในพืช (endophytic *Streptomyces*)

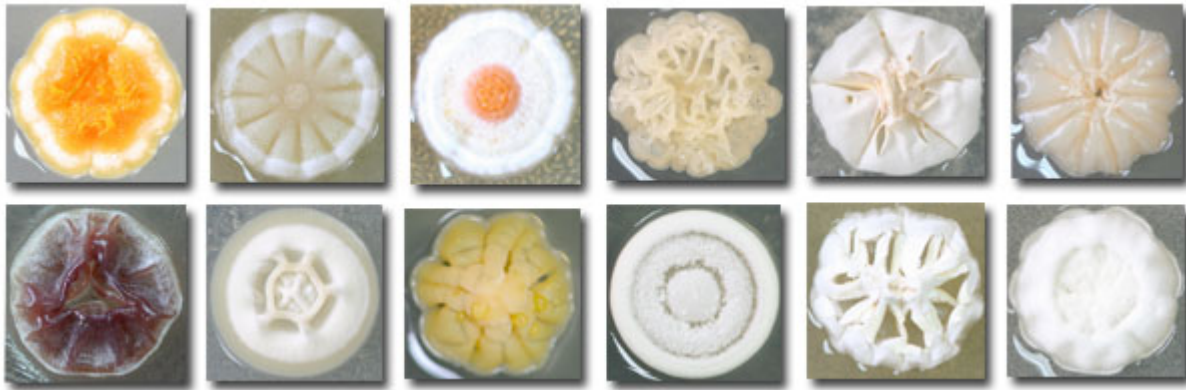
เนื่องจากเชื้อ *Streptomyces* มีมากกว่า 500 species แม้ว่าจะได้มีการจัดระบบต่างๆ เพื่อจำแนก species แต่ก็ยังเป็นการยากที่จะจำแนกเชื้อในกลุ่มนี้ จึงอาจเป็นไปได้ว่าอาจมีการจำแนกเชื้อ species เดียวกัน ออกมาเป็นมากกว่า 1 species เนื่องจากเชื้อนี้มีความสามารถในการสร้างยาปฏิชีวนะ และสารออกฤทธิ์ชีวภาพอื่นๆ ที่พัฒนาสู่อุตสาหกรรมได้ ทำให้มีการดำเนินการจดสิทธิบัตร การปกปิดข้อมูลและการหวงเชื้อ ทำให้มีความยากลำบากในการนำเชื้อมาเปรียบเทียบกัน แม้ว่าเชื้อใน genus *Streptomyces* ส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่ไม่ก่อโรค อย่างไรก็ตาม มีบาง species ที่ก่อให้เกิดโรคในพืช เช่น *S.scabies* ก่อให้เกิดโรค Potato scab และ *S.acidiscabies* ที่ก่อให้เกิดโรค acid scab ในดิน ทำให้ pH ของดินเป็นกรด (Kieser et al, 2000)

ลักษณะที่สำคัญที่ใช้แยกเชื้อใน genus *Streptomyces* คือการมี LL isomer ของ diaminopimelic acid (LL-DAP) ซึ่งเป็น diamino acid ที่เป็นส่วนประกอบของ peptidoglycan ในผนังเซลล์ อย่างไรก็ตาม พบว่าบางสายพันธุ์มี DL-DAP เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ (Kieser et al, 2000)

เชื้อในกลุ่มนี้เป็นเชื้อที่น่าสนใจ เพราะเชื้อในกลุ่มนี้สร้างสารออกฤทธิ์ชีวภาพ โดยเฉพาะยาปฏิชีวนะ โดยคาดการณ์ว่า จากสารออกฤทธิ์ชีวภาพ 22,500 ชนิด ที่สร้างโดยเชื้อจุลินทรีย์ ประมาณ 10,100 ชนิด สร้างโดยเชื้อใน order Actinomycetales โดยมีการคาดการณ์ว่า 7,630 ชนิด สร้างโดยเชื้อใน Genus *Streptomyces* ซึ่งสารส่วนใหญ่ (~ 6,550 ชนิด) จะเป็นยาปฏิชีวนะ (Berdy, 1995) ซึ่งในความเป็นจริง อาจมีสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่สร้างโดยจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ที่ยังไม่ถูกค้นพบอีกมาก มียาปฏิชีวนะมากกว่า 60 ชนิด ที่ผลิตโดยเชื้อในกลุ่ม *Streptomyces* ที่สามารถนำมาผลิตและประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ ตัวอย่างยาปฏิชีวนะที่มีขายในท้องตลาด ทั้งยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียและราหลายชนิดที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย และเป็นยาที่ผลิตจากเชื้อใน genus *Streptomyces* ได้แก่ streptomycin, spectinomycin, neomycin, tetracycline, chlorotetracycline, erythromycin, clindamycin, nystatin, amphotericin B และ chloramphenicol เป็นต้น (Madigan et al, 2009) ซึ่งในการผลิตยาปฏิชีวนะแต่ละชนิด จะมีขั้นตอนที่เกี่ยวข้องในการสร้างยาปฏิชีวนะหลายขั้น ซึ่ง genomes ของ *Streptomyces* จะมีขนาดใหญ่ 8 Mb หรือใหญ่กว่านี้ และ genome ของ *Streptomyces* จะเป็น linear ขณะที่ genome ของแบคทีเรียส่วนใหญ่จะเป็นแบบปวงปิด (circular) และขั้นตอนที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์ยาปฏิชีวนะมักอยู่รวมกันเป็นกลุ่มของยีน (Cluster) และเป็นยีนที่มี G+C content สูงมาก 68-78% ซึ่งทำให้งานด้าน gene cloning ทำได้ยากกว่าเชื้อทั่วไป

ขณะนี้กลุ่มงานวิจัยที่ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ได้เริ่มดำเนินการคัดเลือกหาเชื้อในกลุ่ม Actinomycetes จากดินและต้นไม้ เพื่อหาสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค และเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนสในพืช รวมทั้งการศึกษายีนที่ควบคุมการสร้างสารออกฤทธิ์ชีวภาพดังกล่าว เช่น *afsA*, *adpA* ซึ่งการแยกเชื้อและทดสอบคุณสมบัติทำได้ไม่ยากนัก แต่การทำให้สารบริสุทธิ์และหาโครงสร้างทางเคมีต้องการความเชี่ยวชาญทางด้านเคมีเป็นอย่างมาก เป็นที่น่ายินดีว่ากลุ่มงานวิจัยนี้ได้ค้นพบสารตัวใหม่หลายชนิดจากเชื้อที่แยกได้จากประเทศไทย

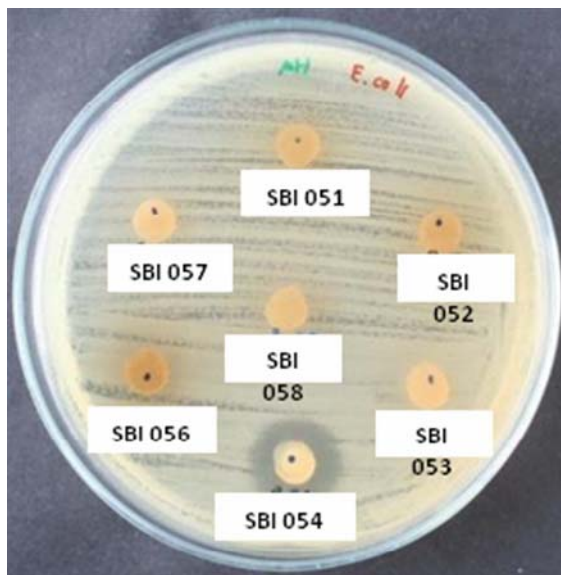
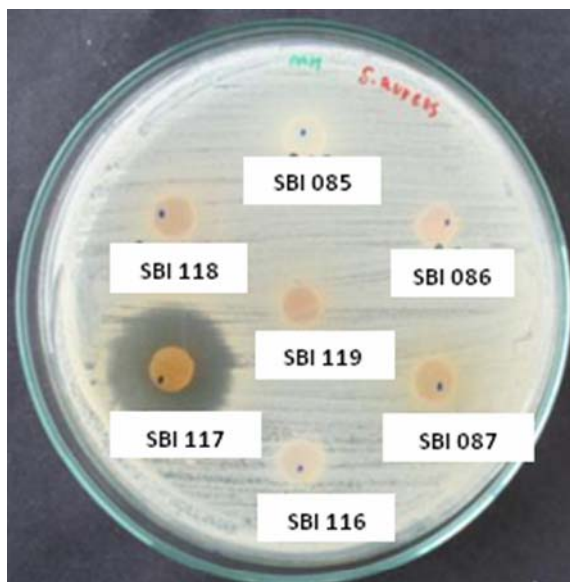
ตัวอย่างของเชื้อที่แยกได้ แสดงดังรูปที่ 1-4



รูปที่ 1 ตัวอย่างเชื้อ Actinomycetes ที่แยกได้จากดิน



รูปที่ 2 ตัวอย่างเชื้อ Actinomycetes ที่แยกได้จากพืช



รูปที่ 3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งของ Actinomycetes ที่แยกได้จากดิน ต่อเชื้อแบคทีเรีย

Staphylococcus aureus (รูปซ้าย) และ *E.coli* (รูปขวา)

เชื้อ SBI117 สามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ขณะที่เชื้อ SBI054 ยับยั้ง *E.coli* ได้



รูปที่ 4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งของ Actinomycetes ที่แยกได้จากดิน ต่อเชื้อรา *Colletotrichum* ที่ก่อโรคแอนแทรคโนส

(อยู่ตรงกลาง) เชื้อที่ยับยั้งเชื้อราทดสอบได้ จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา เช่น เชื้อสายพันธุ์ SJE038,

SBI013 และ SBI123

หนังสืออ้างอิง

1. Catalogue of life: 2007 Annual Checklist: Species of Life IT IS Catalogue Edition (2007)
2. Berdy, JC. (1995) Bioactive microbial metabolites. J. Antibiot. 58:1-28
3. Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V. and Clark, D.P. (2009) In "Brock Biology of Microorganism" Twelfth edition. Pearson, Benjamin Cummings, Pearson Education, Inc.
4. Kieser, T., Bibb, M.J., Battner, M.J., Chater, K.F., Hopwood, D.A. (2007) In "Practical Streptomyces Genetics" John Innes Centre, Norwick, England.