

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

เชื้อ *Malassezia furfur* เป็นยีสต์ที่พบได้ทั่วไปบนผิวหนังของคนและสัตว์ และเป็นสาเหตุของโรคผิวหนังต่าง ๆ เช่น โรคเกลื้อน (pityriasis versicolor) รังแค (dandruff) ชนิดเรื้อรัง การอักเสบของผิวหนัง และสามารถก่อภาวะพิษเหตุติดเชื้อในกระแสเลือด (sepsis) ในผู้ป่วยที่ภูมิคุ้มกันต่ำ เป็นต้น สาเหตุของการเกิดโรคยังไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าในบริเวณรอยโรคมีหลายสิ่งที่แตกต่างกันไปจากผิวหนังปกติ เช่น ปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้น, ชนิดหลักของเชื้อ (predominant species) ที่แตกต่างกันไปตามชนิดโรคและภูมิประเทศ, ลักษณะของเชื้อ, ค่า pH ของผิวหนัง เป็นต้น เนื่องจากเชื้อยีสต์ในจีนัส *Malassezia* ทุกสปีชีส์ (ยกเว้น *M. pachydermatis*) ไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันได้เอง จากการขาดเอนไซม์ Fatty acid synthase ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมัน จึงต้องพึ่งพากรดไขมันจากสิ่งแวดล้อม (lipid dependent) ในการเจริญเติบโต ซึ่งแหล่งกรดไขมันนั้นมาจากไขมันบนผิวหนัง (sebum) ของเจ้าบ้าน (host) แต่จำเป็นต้องย่อยสลายไขมันโมเลกุลใหญ่ให้กลายเป็นกรดไขมันก่อนจึงสามารถนำกรดไขมันเข้ามาใช้ภายในเซลล์ได้ ซึ่งเอนไซม์สำคัญที่ทำหน้าที่นี้คือเอนไซม์ lipase ดังนั้นเอนไซม์นี้จึงสำคัญมากต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Malassezia* จากการศึกษาพบว่าในฐานข้อมูลจีโนมของ *M. globosa* และ *M. restricta* พบยีนที่บันทึกข้อมูลของเอนไซม์ lipase ในจีโนมเป็นจำนวนมาก บ่งชี้ถึงความสำคัญของเอนไซม์ที่มีต่อเชื้อ *Malassezia* ในปัจจุบัน การศึกษาการแสดงออกของยีนกลุ่ม lipase ในเชื้อ *Malassezia* จำกัดเฉพาะในสปีชีส์ที่มีฐานข้อมูล whole genome คือ *M. globosa* และ *M. restricta* เท่านั้น โดยในเชื้อ *Malassezia* สปีชีส์อื่นพบว่ามีเพียงการศึกษาในระดับโปรตีนคืองานวิจัยที่ศึกษาเปรียบเทียบ enzyme activity ระหว่างสปีชีส์ต่าง ๆ หรือระหว่างไอโซเลทของสปีชีส์เดียวกัน และทั้งหมดเป็นเพียงการศึกษาภายใต้สภาวะใดสภาวะหนึ่งที่เชื้อเจริญเท่านั้น ไม่ได้เปรียบเทียบการสร้างเอนไซม์ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน มีรายงานเกี่ยวกับคุณสมบัติ enzyme activity ของเอนไซม์ lipase บางตัว พบว่าเอนไซม์ lipase ชนิดนั้นทำงานได้ดีที่สภาวะกรดอ่อน ๆ ซึ่งดูเหมือนจะสอดคล้องกับค่า pH ของผิวหนังทั่วไป แต่ทว่าในความเป็นจริงค่า pH บนผิวหนังของผู้ป่วยโรคผิวหนังส่วนมากกลับมีค่า pH ที่สูงกว่าปกติ และพบสภาวะเพิ่มจำนวนอย่างผิดปกติ (hyper proliferation) ของเชื้อ *Malassezia* อยู่ด้วยเสมอ จึงสันนิษฐานได้ 2 อย่างว่า เมื่อ pH เปลี่ยนไป

1. เชื้อ *Malassezia* อาจมีการสร้างเอนไซม์ lipase ที่มีอยู่แล้วในปริมาณที่เพิ่มขึ้น หรือ 2. มีการสร้าง lipase ชนิดอื่นเพิ่มขึ้น คือ lipase ชนิดที่ปกติไม่มีการสร้างในสภาวะ pH ปกติ (ไม่มีการแสดงออกของยีน) แต่เมื่อสภาวะแวดล้อมเช่น ค่า pH เปลี่ยนไป จะมีการแสดงออกของยีนให้สร้าง lipase เหล่านี้ขึ้นมา ซึ่งทั้ง 2 อย่างนี้อาจส่งผลให้ไขมันบนผิวหนังถูกย่อยกลายเป็นกรดไขมันเพิ่มขึ้น และเอื้อต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Malassezia* บนผิวหนังผู้ป่วย

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาการสร้างเอนไซม์ lipase ของเชื้อ *M. furfur* ที่ pH ต่าง ๆ ทั้งในระดับ transcription และ translation เพื่อให้ทราบข้อมูลทั้งในแง่ของปริมาณเอนไซม์ และเพื่อระบุว่าเอนไซม์ที่เชื้อสร้างมานี้เป็นเอนไซม์ที่ถอดรหัสมาจากยีนใดบ้าง โดยคาดว่าจะได้รับความรู้ความเข้าใจที่สามารถนำไปอธิบายกลไกการเกิดโรคในระดับโมเลกุลของเชื้อ *M. furfur* และเป็นข้อมูลสำคัญเพื่อนำไปต่อยอดออกแบบสารเคมีที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ lipase ตัวที่สำคัญเพื่อรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *M. furfur*

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อออกแบบ primer ที่จำเพาะต่อยีนไลเปสของ *M. furfur*
2. เพื่อศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ไลเปสของ *M. furfur* ภายใต้สภาวะ pH ต่าง ๆ ในระดับ transcription
3. เพื่อศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ไลเปสของ *M. furfur* ภายใต้สภาวะ pH ต่าง ๆ ในระดับ translation

ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ lipase ของเชื้อ *M. furfur* สายพันธุ์มาตรฐาน (standard strain) คือ *M. furfur* CBS 1878^T ภายใต้ค่า pH ระหว่าง 2-10

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. พัฒนาความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับความสัมพันธ์ pH ที่มีต่อการสร้างเอนไซม์ lipase และกลไกการก่อโรคของเชื้อ *Malassezia* ในระดับโมเลกุล
2. เพิ่มพูนฐานองค์ความรู้เกี่ยวกับการเกิดโรคจากเชื้อ *Malassezia* ที่สามารถต่อยอดไปสู่การวิจัยเพื่อหาวิธีการรักษาและป้องกันโรคได้อย่างถูกต้องตรงจุดยิ่งขึ้นในอนาคต

3. เผยแพร่งานวิจัยในการประชุมวิชาการหรือ ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติหรือนานาชาติ

4. พัฒนาคุณภาพการศึกษาของนักศึกษาที่ลงทะเบียนในรายวิชา BIO 2102 ชีววิทยาของเซลล์ BIO 3105 อนุชีววิทยา, BIOT 5301 อนุพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรมศาสตร์ และ BIO 4904 โครงการวิจัย โดยนำเทคนิคและองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอนในภาคทฤษฎีและปฏิบัติของรายวิชาดังกล่าว เช่น ให้นักศึกษาฝึกใช้เทคนิคการสกัด DNA และ RNA เทคนิคตรวจสอบการแสดงออกของยีนและกิจกรรมเอนไซม์จากตัวอย่างที่ได้จากงานวิจัย เพื่อให้นักศึกษามีความรู้และทักษะขั้นสูงที่เป็นประโยชน์ต่อการเข้าศึกษาต่อในระดับสูงขึ้นหรือการทำงานทางอนุชีววิทยาที่ต้องใช้เทคนิคปฏิบัติการขั้นสูง

