

วิทยานิพนธ์นี้เป็นการคัดเลือก และศึกษาพลาสมิดที่มีกลไกการจำลองตัวเองแบบรีตาจากแบคทีเรียแลคติก โดยศึกษาจากเชื้อ *Lactobacillus* sp. 7 สายพันธุ์ ที่คัดแยกได้จากอาหารหมัก ซึ่งตรวจสอบด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากบริเวณอนุรักษ์ของยีน *rep* ซึ่งควบคุมการสร้าง replication initiation protein ของพลาสมิดแบบรีตาจากเชื้อ *Lactococcus lactis* 11 สายพันธุ์ พบว่าพลาสมิด pFF6.3 ที่ได้จาก *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ FF6 ให้ผลผลิต DNA ที่ได้จากวิธี PCR ขนาด 520 bp ตามต้องการ เมื่อศึกษาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลผลิต DNA ที่ได้จากวิธี PCR พบว่ามีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rep* ของพลาสมิดแบบรีตาใน *L. lactis* ถึงร้อยละ 98-99 เช่น pSL2 และ pLH105 แต่เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลผลิต DNA ที่ได้จากวิธี PCR นี้กับพลาสมิดแบบ Rolling Circle ไม่พบความคล้ายคลึงกัน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าพลาสมิด pFF6.3 น่าจะมีกลไกการจำลองตัวเองแบบรีตา และสามารถนำไปพัฒนาใช้เป็น food grade cloning vector ใน *Lactobacilli* ที่ใช้ในอุตสาหกรรมได้

Screening of theta replicating plasmids from 7 *Lactobacillus* sp. was carried out by PCR. Primers were designed within an internal conserved region of *rep* gene encoding replication initiation protein of 11 lactococcal theta replicating plasmids. It was found that one out of 5 plasmids, pFF6.3 from *Lactobacillus* sp. strain FF6 gave the expected 520 bp PCR product. The nucleotide sequence of PCR product was further analyzed by DNA sequencing and demonstrated highly identity (98-99%) to *rep* gene of theta replicating plasmid from *L. lactis* such as pSL2 and pLH105. Moreover, the nucleotide sequence of PCR product did not show homology to the *rep* gene of rolling circle plasmid. All the results demonstrated that pFF6.3 probably replicates via the theta mode mechanism and this plasmid may be useful for construction of food grade cloning vector for lactobacilli.