

ปวีณา รัตนมาศ : การสร้างดีเอ็นเอติดตามพอลิฟอสเฟตไคเนสในแบคทีเรียสะสมพอลิฟอสเฟตที่แยกได้จากระบบบำบัดน้ำเสียสี่พระยา (CONSTRUCTION OF DNA PROBE FOR POLYPHOSPHATE KINASE IN POLYPHOSPHATE ACCUMULATING BACTERIA ISOLATED FROM SI PRAYA WASTEWATER TREATMENT SYSTEM)

อ.ที่ปรึกษา: ผศ. ดร. ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์, อ.ที่ปรึกษาร่วม: ผศ.ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชช์  
จำนวน 102 หน้า. ISBN: 974-53-1011-5

**169580**

งานวิจัยนี้ได้คัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำเสียที่มีความสามารถในการสะสมพอลิฟอสเฟตไว้ในเซลล์จากโรงบำบัดน้ำเสียสี่พระยา กรุงเทพมหานคร ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อน้ำเสียจำนวน 5 สายพันธุ์ คือ CU-PK1, CU-PK2, CU-PK3, CU-PK4 และ CU-PK 5 หาความสามารถในการสังเคราะห์พอลิฟอสเฟตโดยการติดตามกิจกรรมเอนไซม์พอลิฟอสเฟตไคเนส พบว่าทั้ง 5 สายพันธุ์มีกิจกรรมของพอลิฟอสเฟตไคเนสโดยที่สายพันธุ์ CU-PK2 มีความสามารถในการสังเคราะห์พอลิฟอสเฟตสูงสุด เมื่อเพิ่มจำนวนยีน *ppk* ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน โดยใช้ดีเอ็นเอเรพอร์ทเมอร์ ที่มีความจำเพาะต่อ *ppk* พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนของยีน *ppk* ได้ใน CU-PK2, CU-PK5 และ *Escherichia coli* JM109 ซึ่งเป็นตัวควบคุมผลบวก โดยได้ผลิตภัณฑ์ขนาดประมาณ 1300 bp นำชิ้นดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้มาติดฉลากด้วย Digoxigenin และใช้เป็นดีเอ็นเอติดตามยีน *ppk* ในแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ด้วยวิธี dot blot hybridization พบว่าตัวติดตามดีเอ็นเอทั้งสามชนิดเกิดสัญญาณไฮบริดกับ จีโนมดีเอ็นเอ CU-PK2, CU-PK5 และ *E.coli* JM109 เหมือนกัน แต่ไม่เกิดสัญญาณกับสายพันธุ์ CU-PK1, CU-PK3 และ CU-PK4 การจำแนกสายพันธุ์เบื้องต้นของ CU-PK2 และ CU-PK5 โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rDNA พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของ CU-PK2 มีความคล้ายคลึงกับ *Klebsiella oxytoca* และ CU-PK 5 มีความคล้ายคลึงกับ *Enterobacter aerogenes*

## 4472325323 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: Polyphosphate / Polyphosphate kinase / Polyphosphate accumulating bacteria / probe

PAWEENA RATANAMART : CONSTRUCTION OF DNA PROBE FOR POLYPHOSPHATE KINASE IN POLYPHOSPHATE ACCUMULATING BACTERIA ISOLATED FROM SI PRAYA WASTEWATER TREATMENT SYSTEM.

THESIS ADVISOR: ASST. PROF. CHARNWIT KOSITTANONT, Ph.D., THESIS

COADVISOR: ASST. PROF. KOBCHAI PATTARAGULWANIT, Dr.rer.nat. 102 pp.

ISBN: 974-53-1011-5

**169580**

Five phosphate accumulating bacteria strains, CU-PK1, CU-PK2, CU-PK3, CU-PK4 and CU-PK 5 were isolated from wastewater samples of Si Praya wastewater treatment system by using wastewater medium. Polyphosphate synthesis activity was assessed by monitoring the activity of polyphosphate kinase. The result revealed that all five strains have polyphosphate kinase activity whereas the strain CU-PK2 shows the highest activity. After *ppk* amplification by polymerase chain reaction using degenerated primers specific to *ppk*, the 1300 bp product can be observed when using genomic DNA of CU-PK2, CU-PK5 and *Escherichia coli* JM109 as template. The PCR products were labeled with Digoxigenin and used as DNA probe for detection of *ppk* of the 5 bacterial strains using dot blot hybridization. Only genomic DNA from the strain CU-PK2, CU-PK5 and *E. coli* JM109 showed the positive hybridization signals with those synthesized probes. The strain CU-PK2 and CU-PK5 were preliminary identified based on their morphological characteristics and 16S rDNA nucleotide sequences to be *Klebsiella oxytoca* and *Enterobacter aerogenes*, respectively.