

จิราภรณ์ แดงทอง 2555: การโคลนยีน *kac5* ที่แสดงสารยับยั้งคล้ายแบคทีเรียโอซิน
KAC5 จาก *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 ปรินญาวิทยาสาสคมหาบัณฑิต
(เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ อาจารย์ที่
ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สุณีย์ นิธิสินประเสริฐ, D.Sc. 119 หน้า

โคลนดีเอ็นเอขนาด 1 – 2 กิโลเบส ที่แสดงสารยับยั้งคล้ายแบคทีเรียโอซินขนาด 4.7 กิโล
ดาลตันจากเชื้อ *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 ด้วยดีเอ็นเอพาหะ pNZ307 ที่ตัดด้วย *Bam*HI และ
ถ่ายฝากในเชื้อ *Escherichiacoli* DH5 α พบเชื้อลูกผสมจำนวน 3 โคลน แสดงกิจกรรมการยับยั้ง
10 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *Salmonella* Enteritidis S003 ซึ่งใช้เป็นเชื้อเป้าหมาย เชื้อลูกผสม
ACE-C10 ACE-C46 และ ACE-C182 ประกอบด้วยพลาสมิดลูกผสม ที่มีชิ้นดีเอ็นเอขนาด 1115
1384 และ 1581 คู่เบส ซึ่งคล้ายคลึงกับยีนโปรโมเตอร์หรือยีนโครงสร้างของ *amp^r* hypothetical
protein ของเชื้อ *Lactobacillus reuteri* MM4-1A และ hypothetical protein ของเชื้อ *Lactobacillus*
farciminis KCTC3681 ด้วยร้อยละของความเหมือนเป็น 98 , 88 และ 59 ตามลำดับ เมื่อศึกษา
กิจกรรมการยับยั้งของน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ของเชื้อลูกผสม ACE-C46 พบว่ามีกิจกรรมการ
ยับยั้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ขณะที่เชื้อลูกผสม ACE-C10 และ ACE-C182 มีกิจกรรมการยับยั้งเพียง
6 ชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกศึกษาเฉพาะเชื้อลูกผสม ACE-C46 ต่อไป น้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ของ
เชื้อลูกผสม ACE-C46 มีกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* จำนวน 8 ซีโรไทป์ ได้แก่ Albany,
Altona, Enteritidis, Infantis, Kedougou, Mbandake, Sandiego และ Wandsworth เมื่อวิเคราะห์
รูปแบบของโปรตีนจากส่วนของเพอริ พลาสมิด โดยวิธี SDS-Tricine PAGE พบโปรตีนขนาด
ประมาณใหญ่กว่า 4 และ 26 กิโลดาลตัน ให้ชื่อเป็น ACE46-I และ ACE46-II ตามลำดับ แสดง
กิจกรรมการยับยั้ง 100 AU/ml โดยวิธี spot on lawn จากข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของธนาคารยีน
พบว่าลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนทั้งสอง ไม่คล้ายคลึงกับแบคทีเรียโอซินหรือสารยับยั้งคล้าย
แบคทีเรียโอซินที่ศึกษามาก่อน ดังนั้นจึงเสนอสาร ACE46-I และ ACE46-II เป็นสารยับยั้งคล้าย
แบคทีเรียโอซินชนิดใหม่