

กรณีศึกษา ทองขาว 2552: การโคลน และการแสดงออกของยีน *Salvicin K* และ antimicrobial like bacteriocin β ของเชื้อ *Lactobacillus salivarius* K4
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุวิศวกรรม) สาขาพันธุวิศวกรรม
โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
อาจารย์เกียรติทิพย์ ชูวงศ์โกมล, Ph.D. 120 หน้า

แบคทีเรียโอซินเป็นโปรตีนที่แบคทีเรียสร้างขึ้นและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่มีสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันได้ แบคทีเรียโอซิน *Salvicin K* (*sal K*) และ antimicrobial like bacteriocin β (*alb β*) เป็นแบคทีเรียโอซินที่ได้จากเชื้อ *Lactobacillus salivarius* K4 ในลำไส้ของไก่ โดยพบว่า *salvicin K* และ *alb β* มีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียโอซินที่ได้จากเชื้อ *L. salivarius* subsp. *salivarius* UCC118, *Abp118 α* และ *Abp118 β* ซึ่งจำแนกจากลำไส้ของมนุษย์ และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *L. sakei* และ *Leuconostoc* sp. การศึกษาการแสดงออกของยีน *active/sal K* และ *active/alb β* ใน *E. coli* โดยใช้พลาสมิด pGEX4T-1 ซึ่งเป็น glutathione-S-transferase (GST) fusion system pTYB1 และ pTYB12 ซึ่งเป็น intein fusion system ผลการทดลองไม่พบการแสดงออกของโปรตีน *active/sal K* เมื่อใช้ GST fusion system และพบการแสดงออกของโปรตีน *active/alb β* เมื่อใช้ GST fusion system แต่โปรตีนที่ได้มีลำดับกรดอะมิโนที่ไม่ถูกต้อง เมื่อใช้ pTYB1 และ pTYB12 เป็น expression vector ไม่พบการแสดงออกของโปรตีนที่มี *active/sal K* และพบการแสดงออกของโปรตีน *active/alb β* ที่มีแอกติวิตี้ เมื่อใส่ยีน *active/alb β* ไว้ทางปลายหมู่กรดอะมิโนของโปรตีนที่แสดงออก (pTYB1) โดยแบคทีเรียโอซิน *active/alb β* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* JCM 6124^T และพบว่า เมื่อใส่ *active/sal K* และ *active/alb β* ไว้ที่ปลายหมู่คาร์บอกซิลของโปรตีนที่มีการแสดงออก (pTYB12) ไม่พบว่าโปรตีนมีแอกติวิตี้ เนื่องจากมีการตกตะกอนของโปรตีน

ผลจากการทำ error prone PCR ของยีน *active/alb β* โดยใช้ pTYB1 เป็น expression vector พบว่าเกิดการกลายพันธุ์อย่างสุ่มบนยีน *active/alb β* และไม่พบการแสดงออกของโปรตีนเนื่องจากไม่มีการสังเคราะห์โปรตีนได้อย่างสมบูรณ์