บทคัดย่อ

180438

การศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดของเซลล์ยีสต์โดยเทคนิคลำไอออนพลังงานต่ำ ได้ใช้ไนโตรเจนไอออนที่ระดับพลังงาน 50-60 keV และปริมาณไอออนในช่วง 0.1-10 x 10^{16} ions/cm^2 ระดมยิงยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าเมื่อระดับพลังงานและปริมาณไอออนเพิ่มขึ้นมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ยีสต์ลดลง และปริมาณไอออนที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดของเซลล์ยีสต์มากคือ 4, 6, 8 และ 10 x 10^{16} ions/cm^2 ตามลำดับ ต่อมาได้เลือกพลังงานที่ 50 keV และปริมาณไอออนที่ 0.5, 1 และ 2 x 10^{16} ions/cm^2 เพื่อทดลองส่งถ่ายพลาสมิด pYES2 เข้าสู่ยีสต์ พบว่าทุกปริมาณไอออนสามารถส่งถ่ายพลาสมิด pYES2 ได้

ในการศึกษาระยะเวลาเพื่อใช้บ่มพลาสมิด pYES2 สำหรับส่งถ่ายเข้ายีสต์ด้วยระยะเวลาบ่ม 5, 10, 30, และ 60 นาที ปริมาณพลาสมิดที่ใช้คือ 1 μg/ml ผลการทดลองพบว่าที่ระยะเวลา 10, 30 และ 60 นาที จะส่งถ่าย pYES2 เข้าสู่ยีสต์ได้ โดยที่ระยะเวลาการบ่ม 5 นาทีไม่สามารถส่งถ่าย pYES2 เข้าสู่ยีสต์ได้ ต่อมาได้ศึกษาปริมาณของพลาสมิด pYES2 ที่สามารถส่งถ่ายเข้าสู่ยีสต์ได้โดยใช้ 50, 100, 300, 500 และ 700 ng/ml และใช้ระยะเวลาบ่ม 30 นาที ผลการทดลองพบว่าที่ปริมาณ 300, 500 และ 700 ng/ml สามารถให้ผลการส่งถ่าย pYES2 เข้าสู่ยีสต์ได้ ในขณะที่ใช้ความเข้มข้นของพลาสมิด 50 และ 100 ng/ml พบว่าไม่สามารถส่งถ่ายได้

ในการศึกษาถึงแสดงออกของ *GFP* และ *lipoic acid synthetase* gene ในยีสต์ โดยโคลน *GFP* gene จาก pGFP ขนาด 716 bp ตรงตำแหน่ง *Hin*dIII กับ *Eco*RI เข้าสู่ pYES2 (pYGFP) และ *lipase* gene ขนาด 900 bp จาก *Bacillus licheniformis* ที่มีใน database ด้วยวิธี PCR เข้าสู่ pYES2 (pYlip1) ภายหลังจากนั้นส่งถ่ายเข้าสู่ยีสต์และชักนำให้ *GFP* และ *lipoic acid synthetase* gene แสดงออกโดยเลี้ยงในอาหาร induce medium เป็นเวลา 10 ชั่วโมง พบการแสดงออกของ pYGFP เรืองแสงสีเขียวภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต ส่วน pYlip1 ตรวจพบแถบโปรตีนขนาด 34 kDa ด้วยเทคนิค polyacrylamide gel electrophoresis

Abstract

180438

Low energy ion beam technique at energy range 50-60 keV with ions fluences of 0.1-10 x 10^{16} ions/cm^2 was applied to bombard the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) using nitrogen ions. With increasing of energy level and ion fluence, percentages of survival decreased. At the 4, 6 and 8 x 10^{16} ions/cm^2 provided greater percentages of survival than other fluences. Then at 50 keV energy with ion fluences at 0.5, 1 and 2 x 10^{16} ions/cm^2 were chosen to transfer pYES2 into *S. cerevisiae*. All the ion fluences were able to introduce pYES2 into *S. cerevisiae*

Consequently, incubation time of pYES2 transfering was investigated. At the 1 μg/ml of pYES2 was used to transfer at different incubation times of 5, 10, 30 and 60 minutes respectively. At the incubate time at 10, 30 and 60 minutes showed the positive result whereas at 5 minutes did not. In addition, different plasmid concentrations of pYES2 at 50, 100, 300, 500 and 700 ng/ml were analyzed for plasmid transfering at incubation time of 30 minutes. At the higher concentrations of 300, 500 and 700 ng/ml provided a better plasmid transfer into yeast cells than of 50 and 100 ng/ml

Finally, both *GFP* and *lipoic acid synthetase* gene from pGFP and *Bacillus licheniformis* respectively were subcloned into pYES2 and designed pYGFP and pYlip, subsequently transfromed into the yeast cells. After 10 hour of induction, the expression of both genes were analyzed. pYGFP exhibited high intensity of GFP protein in yeast cells whereas pYLip1 showed additional band at 34 kDa analyzed by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis