

**การนำพลาสติคเข้าสู่แบคทีเรียชนิดแลคโต  
บาซิลลัสโดย  
วิธีอิเล็กโตรพอเรชั่น**

**นายทรงกฤษณ์ โสภจรรย์**

**โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาตรีเกสัชศาสตร์บัณฑิต  
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
พ.ศ. 2539**

# **Transformation of Lactobacillus by eletroporation**

**Mr. Songkrit sopajarey**

**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN  
PARTIAL FULILLMENT  
OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE  
OF  
BACHELOR OF SCIENCE IN PHARMACY  
FACULTY OF PHARMACY  
MAHIDOL UNIVERCITY  
1996**

## บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำพลาสมิด pHY300-PLK ซึ่งเป็น Shuttle Vector เข้าสู่เซลล์แลคโตบาซิลลัส พลาสมิด pHY300-PLK มีคุณสมบัติดื้อยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินและเตตราไซคลิน เมื่อเพิ่มจำนวนใน *Escherichia coli* จะแสดงคุณสมบัติดื้อยาเตตราไซคลิน เมื่ออยู่ในแบคทีเรียแกรมบวก ดังนั้น จึงได้คัดเลือกเชื้อแลคโตบาซิลลา จาก Stock cultures ที่มีอยู่แล้วจำนวน 5 ชนิด แยกเชื้อโดยการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ เช่น นิโอมัยซิน, คลอกซาซิลลิน, กานามัยซิน, เตตราไซคลิน, คลอแรมเฟนิคอล, อิริโทรมัยซิน โดยวิธี disc diffusion method พบว่าเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp., *pseudopantarum* และ *L. acidophilus* ไม่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะเตตราไซคลิน ส่วนเชื้อทั้งสองดื้อต่อยาอื่น จึงใช้เชื้อทั้งสองไปเตรียมเป็นเซลล์เจ้าบ้านดังต่อไปนี้ โดยหาเวลาที่เชื้อเพิ่มจำนวนจนได้  $10^9$  เซลล์/มล. แล้วนำไปปั่นเพื่อ pack cells แล้วทำให้เป็น suspension โดย phosphate buffer จึงนำไปทดลอง transformation โดยวิธีอิเล็กโทรพอเรชัน โดยใช้สภาวะต่าง ๆ กัน พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือค่าความต่างศักย์ 2.5 KV กระแส 25 uF ค่าความต้านทาน 800 โอห์ม เวลา 8.48 msec จากนั้นนำ transformants ที่เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ผสมกับยาเตตราไซคลินมาสกัดแยกพลาสมิดเพื่อพิสูจน์ว่าการที่เชื้อดื้อยานั้นเนื่องจากได้รับพลาสมิด pHY300-PLK

## Abstract

The objective of this special project is to study the experimental conditions for transferring plasmid into *Lactobacillus* spp. by electroporation. Plasmid pHY300-PLK conferring tetracycline resistance in gram positive bacteria was selected for this study. Thus, tetracycline sensitive lactobacilli were selected from our culture collection by antibiotic disk diffusion method. There were found that *Lactobacillus casei* var. *pseudopantarum* and *L. acidophilus* were sensitive to tetracycline, therefore, they were used as hosts. Subsequently, suitable growth conditions of the selected *Lactobacillus* were studied, and various conditions of electroporation were carried out. It was found that the suitable conditions for introducing plasmid pHY300-PLK into *L. casei* var. *pseudopantarum* and *L. acidophilus* were 2.5 kV, capacitor 25 uF, resistance 800 Ohm, at 8.48 msec.