ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การส่งถ่ายพลาสมิดเข้าสู่แบคทีเรีย *Escherichia coli* โดยไอออนบีมพลังงานต่ำ
ชื่อผู้เขียน	นางสาว สุกัญญา พิทักษ์รัตนานุกูล
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย	ประธานกรรมการ
	รศ. ดร. ถิรพัฒน์ วิลัยทอง	กรรมการ
	อ. ดร. ยิ่งมณี ตระกูลพัว	กรรมการ

บทคัดย่อ

พลาสมิดที่ใช้ในการส่งถ่ายเข้าสู่แบคทีเรีย *E. coli* โดยการชักนำด้วยไอออนบีมพลังงานต่ำ คือ pUC19 , pGEM-2 , pGEM®-T Easy , pGFP , pJC3 , pBI121 และ pKIWI105 ซึ่งมีขนาด 2.7 , 2.8 , 3.0 , 3.3 , 4.2 , 13.0 และ 21.0 kb ตามลำดับ โดยเลือกใช้ไอออนของก๊าซอาร์กอน (Ar) และ ไนโตรเจน (N) ที่ระดับพลังงาน 25 , 26 และ 31 keV จำนวนของไอออนต่อตารางเซ็นติเมตร (fluence) ที่ใช้อยู่ในช่วง 0.5 - 4 x 10^{15} ions/cm^2 โดยมีระยะเวลาบ่ม (incubation time) ในช่วง 2 - 30 นาที สำหรับการตรวจสอบความสำเร็จหลังการส่งถ่ายพลาสมิดเข้าสู่แบคทีเรีย จะพิจารณาจาก ความสามารถในการต้านทานสารปฏิชีวนะของแบคทีเรียที่ได้รับการส่งถ่ายพลาสมิด การตรวจสอบการแสดงออกของยีน *lacZ* และยีน *GFP* การตรวจสอบขนาดของพลาสมิดภายหลังการส่งถ่าย และการตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR ผลการทดลองพบว่า เมื่อใช้อาร์กอนไอออนที่ระดับพลังงาน 25 และ 26 keV ที่จำนวนไอออน 1 x 10^{15} และ 2 x 10^{15} ions/cm^2 สามารถส่งถ่ายพลาสมิด pUC19 , pGEM-2 , pGEM®-T Easy และ pGFP เข้าสู่แบคทีเรีย *E. coli* ได้ โดยพลาสมิดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในการทดลองนี้ คือ pGFP ที่มีขนาด 3.3 kb และเมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาบ่มที่ใช้ในการส่งถ่ายพลาสมิด pUC19 เข้าสู่แบคทีเรีย โดยใช้จำนวนไอออนดังกล่าว พบว่าการส่งถ่ายพลาสมิดโดยใช้จำนวนไอออนที่ 2 x 10^{15} ions/cm^2 จะใช้ระยะเวลาบ่มน้อยกว่าที่จำนวนไอออน 1x 10^{15} ions/cm^2 แต่การระดมยิงด้วยอาร์กอนไอออนที่พลังงาน 31 keV และ ไนโตรเจนไอออนที่พลังงาน 26 keV ในทุกจำนวนของไอออนไม่สามารถส่งถ่าย

พลาสมิดเข้าสู่แบคทีเรียได้ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของพลาสมิด pUC19 , pGEM-2 และ pGFP ที่สามารถส่งถ่ายเข้าสู่แบคทีเรีย คือ 50 ng ใช้ระยะเวลาบ่มเท่ากับ 2 , 5 และ 2 นาที ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Thesis Title	Transfer of Plasmids into *Escherichia coli* by Low Energy Ion Beam
Author	Miss Sugunya Pitakrattananukool
M.S.	Biology
Examining Committee	Assoc. Prof. Dr. Somboon Anuntalabhochai — Chairperson Assoc. Prof. Dr. Thiraphat Vilaithong — Member Lecturer Dr. Yingmanee Tragoolpua — Member

Abstract

The aim of this study was to transfer plasmids DNA into *E. coli* induced by low energy ion beam. Seven plasmids named pUC19 (2.7 kb), pGEM-2 (2.8 kb), pGEM® -T Easy (3.0 kb), pGFP (3.3 kb), pJC3 (4.2 kb), pBI121 (13.0 kb) and pKIWI105 (21.0 kb) were chosen to transfer (separately) into the bombarded bacteria. Argon and nitrogen ions were used to bombard the bacteria with energy of 25 , 26 and 31 keV, and in range of 0.5 - 4 x 10^{15} ions/cm^2 fluences. And incubation time was 2 - 30 minutes in range. The successful of transferring plasmids was considered by resistance of transformed bacteria to antibiotic , expression of *lacZ* and *GFP* genes in the transformed bacteria , molecular size of the transformed plasmids and PCR analysis . Our results indicated that Ar-ion at 25 and 26 keV with fluences of 1 x 10^{15} and 2 x 10^{15} ions/cm^2 could transfer pUC19 , pGEM-2 , pGEM® -T Easy and pGFP into *E. coli*. In this study, maximum size of the plasmid being transferred into *E. coli* is pGFP with 3.3 kb. Consideration for incubation time, the bombarded bacteria at fluence of 2 x 10^{15} ions/cm^2 spent less incubation time than the bombarded bacteria at 1 x 10^{15} ions/cm^2 for pUC19 transfer. Bombardment of bacteria with Ar-ion at 31 keV and N-ion at 26 keV in all fluences were not successful for the plasmids transferring. In addition at minimal amount

of 50 ng of pUC19, pGEM-2 and pGFP were able to transfer into bombarded bacteria at incubation time of 2, 5 and 2 minutes respectively.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University