ระบาดวิทยาระดับโมเลกุลของ Herpes Simplex Virus (HSV) โดยวิธี Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

นางสาวสุธิดา วิสาพรหม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์ (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-3668-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I21170332

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF HERPES SIMPLEX VIRUS (HSV) BY RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP)

Miss Sutida Visaprom

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medical Microbiology
(Inter-Department)
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2003

ISBN 974-17-3668-1

This thesis	Molecular Epidemiology of Herpes Simplex Virus (HSV) by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)
By	Miss Sutida Visaprom
Field of Study	Medical Microbiology
Thesis Advisor	Associate Professor Parvapan Bhattarakosol, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Associate Professor Ariya Chindamporn, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Associate Professor Wasun Chantratita, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

Suchada Kiranandana
.....Dean of The Graduate School
(Professor Suchada Kiranandana, Ph.D.)

Thesis Committee:

Somatat Wongsawang
.....Chairman
(Associate Professor Somatat Wongsawang, Dr. med. vet.)

Parvapan Bhattarakosol
.....Thesis Advisor
(Associate Professor Parvapan Bhattarakosol, Ph.D.)

Ariya Chindamporn
.....Thesis Co-advisor
(Associate Professor Ariya Chindamporn, Ph.D.)

Wasun Chantratita
.....Thesis Co-advisor
(Associate Professor Wasun Chantratita, Ph.D.)

Chalobon Yoosook
.....Member
(Professor Chalobon Yoosook, Ph.D.)

สุธิดา วิสาพรหม : ระบาดวิทยาระดับโมเลกุลของ Herpes Simplex Virus (HSV) โดยวิธี Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) [Molecular Epidemiology of Herpes Simplex Virus by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)] อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. ภาวพันธ์ ภัทรโกศล, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รองศาสตราจารย์ ดร. อริยา จินดามพร, รองศาสตราจารย์ ดร. วสันต์ จันทราทิตย์; 165 หน้า. ISBN 974-17-3668-1

Herpes simplex virus (HSV) แบ่งเป็น 2 ไทป์ คือ HSV-1 และ HSV-2 เป็นสาเหตุทำให้เกิดการแสดงของอาการติดเชื้อที่สำคัญได้หลายแบบ ถึงแม้ว่า HSV-1 และ HSV-2 จะมีการเรียงตัวของลำดับเบสที่คล้ายกันประมาณร้อยละ 50 แต่ก็มีความแตกต่างกันในส่วนของคุณสมบัติทางชีวภาพ ความรุนแรงของโรคขึ้นกับตำแหน่งของการติดเชื้อเข้าสู่ร่างกายของไวรัส โดยทั่วไปการติดเชื้อของ HSV-1 พบสัมพันธ์กับการติดเชื้อที่บริเวณเหนือเอว ส่วน HSV-2 พบว่าสัมพันธ์กับการติดเชื้อที่อวัยวะสืบพันธุ์ อย่างไรก็ตามทั้งสองไทป์สามารถก่อโรคได้เหมือนกัน ถึงแม้ว่าการจำแนกไทป์ของ HSV จากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจะไม่มีประโยชน์ต่อการรักษาผู้ป่วย แต่เป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาพยาธิกำเนิดและระบาดวิทยาของเชื้อ นอกจากการจำแนกไทป์แล้ว การศึกษาความแตกต่างของสายพันธุ์แต่ละไทป์ในระดับโมเลกุลจะทำให้เข้าใจเกี่ยวกับพยาธิกำเนิดของโรคและการพัฒนาของตัวเชื้อมากขึ้น

ทำการเพิ่มจำนวนไวรัสจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ HSV ทั้งหมด 121 ตัวอย่าง สามารถเพิ่มจำนวนได้ 86 ตัวอย่าง ตัวอย่างดังกล่าวมาจากผู้ป่วยชาย 16 (18.60%) ตัวอย่าง และหญิง 70 (81.40%) ตัวอย่าง ส่วนใหญ่ของตัวอย่างมาจาก genital lesions (74.42%) ทำการไทป์ด้วยวิธี PCR พบว่า 20 ตัวอย่างใน 22 ตัวอย่างจาก nongenital lesions เป็น HSV-1 (90.90%), 2 ตัวอย่างเป็น HSV-2 (9.09%) ตัวอย่างจาก genital lesions พบ 34 (53.12%) ตัวอย่างใน 64 ตัวอย่างเป็น HSV-1, 28 (43.75%) ตัวอย่างเป็น HSV-2 และ 2 ตัวอย่างพบการติดเชื้อร่วมกันระหว่าง HSV-1 และ HSV-2 (3.13%) ในการศึกษานี้พบว่าตำแหน่งของ nongenital lesions พบการติดเชื้อของ HSV-1 ได้สูงกว่า HSV-2 ขณะที่บริเวณตำแหน่ง genital lesions ทั้ง HSV-1 และ HSV-2 พบการติดเชื้อได้เกือบเท่าๆ กัน เป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งว่า มีการเพิ่มขึ้นของความชุกของการติดเชื้อจาก genital HSV-1

การศึกษาระบาดวิทยาระดับโมเลกุลของการเปลี่ยนแปลงของ HSV DNA โดยวิธี RFLP ด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ (restriction endonuclease, RE) 4 ชนิด, *Bam*HI, *Kpn*I, *Hind*III, และ *Eco*RI เปรียบเทียบกับไวรัสมาตรฐาน HSV-1 (KOS) และ HSV-2 (Baylor 186) โดยทำการเลือกแบบสุ่มตัวอย่างจำนวน 20 ตัวอย่างของแต่ละไทป์จาก nongenital lesions และ genital lesions ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมโดยวิธีที่สามารถระบุความแตกต่างของรูปแบบการตัดโดยอาศัยการเพิ่มขึ้นหรือขาดหายไปของตำแหน่งชิ้นส่วนของ DNA ที่ถูกตัดด้วยเอ็นไซม์ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าส่วนใหญ่ของ HSV-1 จำนวน 20 ตัวอย่างที่ถูกตัดด้วยเอ็นไซม์ *Bam*HI, *Kpn*I, *Hind*III และ *Eco*RI, พบว่า 70%, 50%, 75%, และ 70% ของตัวอย่างมีรูปแบบการตัดเหมือนกับไวรัสมาตรฐาน HSV-1 (KOS) ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจของ HSV-2 จำนวน 20 ตัวอย่าง พบรูปแบบเหมือนกับไวรัสมาตรฐาน HSV-2 (Baylor 186) ถึง 85% หลังจากการตัดด้วย *Bam*HI, *Hind*III, และ *Eco*RI แต่ไม่พบความแตกต่างของรูปแบบการตัดเมื่อทำการตัดด้วย *Kpn*I (100%) ความหลากหลายของรูปแบบการตัดด้วย RE ในตัวอย่าง HSV โดยดูความหลากหลายร่วมกันของเอ็นไซม์ 4 ชนิด พบว่ารูปแบบของ $B_1K_1H_1E_1$ (35%) ซึ่งเหมือนกับไวรัสมาตรฐาน HSV-1 (KOS) พบมากที่สุด เช่นเดียวกับตัวอย่างของ HSV-2 พบรูปแบบของ $B_1K_1H_1E_1$ (70%) เหมือนกับ HSV-2 (Baylor 186) ความหลากหลายของรูปแบบพบใน HSV-1 (10 รูปแบบ) มากกว่า HSV-2 (7 รูปแบบ)

จากการศึกษานี้พบว่าตำแหน่งของการเปลี่ยนแปลงพบในส่วนของ L และ S component ของ HSV-1 ขณะที่พบการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในส่วนของ L component และ S-L junction ของ HSV-2 เมื่อทำการเปรียบเทียบกับแผนที่ gene products พบว่าการเปลี่ยนแปลงทั้งสองไทป์เกิดขึ้นในส่วนของ structural proteins เป็นส่วนใหญ่ และพบส่วนของ regulatory protein (ICP22) ได้ด้วย การวิเคราะห์ความแตกต่างของสายพันธุ์ HSV ด้วย RFLP จะเห็นว่าการใช้เอ็นไซม์จำนวนมากจะพบความหลากหลายมากขึ้น ซึ่งผลที่ได้สามารถนำไปทำนายหรือคาดการณ์คุณสมบัติทางชีวภาพที่เปลี่ยนแปลงภายในสายพันธุ์นั้นๆ ซึ่งอาจเป็นปัจจัยทำให้เกิดอาการของโรคที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคล

สหสาขาวิชา.....สหสาขาจุลชีววิทยาทางการแพทย์...ลายมือชื่อนิสิต.....สุธิดา วิสาพรหม.....

สาขาวิชา.....จุลชีววิทยา.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....ภาวพันธ์ ภัทรโกศล.....

ปีการศึกษา.....2546.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....อริยา จินดามพร.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....วสันต์.....

##4389109020 : MAJOR MEDICAL MICROBIOLOGY
KEYWORD: HERPES SIMPLEX VIRUS/ RFLP/ TYPING/ RESTRICTION ENDONUCLEASE/ INTRATYPIC
SUTIDA VISAPROM : THESIS TITLE : MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF HERPES SIMPLEX VIRUS (HSV) BY RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP). THESIS ADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR PARVAPAN BHATTARAKOSOL, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR ARIYA CHINDAMPORN, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR WASUN CHANTRATITA. Ph.D. 165 pp. ISBN 974-17-3668-1

Herpes simplex virus (HSV) is divided into HSV-1 and HSV-2 which are responsible for several clinically important infections. Although HSV-1 and HSV-2 have 50% related in their DNA sequence but there are distinct differences in the biological properties. The severity of the disease depends on infection site of the virus. HSV-1 is more frequently associated with nongenital infection, while HSV-2 is associated with genital infection, however, both type can cause similar disease. Although the typing of HSV isolates brings no benefit for treatment the patient but it is a useful test for study the pathogenesis and epidemiology of the virus. Beside typing, intratypic variation of the viruses studied by molecular biology may be help in understanding the pathogenesis of disease and development of the viruses.

Attempt to propagate the virus from 121 HSV clinical isolates was done. 86 isolates were successfully propagated, which were 16 (18.60%) from male and 70 (81.40%) from female. Most of the samples (74.42%) were collected from genital lesions. The results of PCR typing among 86 clinical isolates, 20 of 22 nongenital isolates were HSV-1 (90.90%), two isolates were HSV-2 (9.09%). In genital lesions, 34 of 64 were HSV-1 (53.12%), 28 (43.75%) were HSV-2, and two isolates were mix-infection of HSV-1 and HSV-2 (3.13%). In this study, nongenital lesions were found HSV-1 infection higher than HSV-2 infection, whereas in genital lesions both HSV-1 and HSV-2 were equally detection. Interestingly, nowadays an increasing prevalence of genital HSV-1 infection has been reported.

To study molecular epidemiology of genetic variation of HSV DNAs by RFLP using four restriction endonucleases (RE), *Bam*HI, *Kpn*I, *Hin*dIII, and *Eco*RI, the patterns were compared to standard HSV-1 (KOS) and HSV-2 (Baylor 186). 20 clinical isolates were randomly selected from each HSV-1 and HSV-2 isolates. They were from both nongenital lesions and genital lesions. Genomic variations are reflected as differences in cleavage patterns and identified based on the gain or loss of restriction maps. The results showed that the great majority of each 20 clinical isolates of HSV-1 distinguished by digestion with *Bam*HI, *Kpn*I, *Hin*dIII, and *Eco*RI, were 70%, 50%, 75%, and 70%, respectively, found to be the same pattern as standard HSV-1 (KOS). Among those 20 clinical isolates of HSV-2, 85% were similar to standard HSV-2 (Baylor 186) after digestion with *Bam*HI, *Hin*dIII, and *Eco*RI but no difference was observed with *Kpn*I (100%) digestion. To study diversity of RE cleavage patterns among HSV isolates by combination with four enzymes, the patterns of $B_1K_1H_1E_1$ (35%) which is the same as standard HSV-1 (KOS) showed the combination frequency higher than other patterns. In HSV-2 clinical isolates, the pattern of $B_1K_1H_1E_1$ (70%) showed highly frequency expressed when compared to standard HSV-2 (Baylor 186). The diversity of patterns was found in HSV-1 isolates (10 patterns) higher than that of HSV-2 isolates (7 patterns).

To study restriction enzyme cleavage patterns related to viral gene products, our study indicated that the variation sites were observed on L and S component of HSV-1 whereas few variations were found in L component and S-L junction of HSV-2. Analysis of HSV patterns after mapping back to gene products, the predicted proteins were found to be mainly structural proteins in both HSV-1 and HSV-2. Some regulatory protein (ICP22) was also demonstrated. HSV strains are differentiated by analysis of RFLP and HSV strains can also be classified into genotype, which the number of enzyme can extend the diversity of genetic variation. The intratypic variation on RE sites can predict HSV gene products and functions. This genotypic difference may possible be one factor involving in differences of pathogenesis and disease development in each person.

Inter-Department...Medical..Microbiology.....**Student's signature**.....Sutida Visaprom

Field of study.....Medical..Microbiology.....**Advisor's signature**.....Parvapan Bhattarakosol

Academic year.....2003.....**Co- Advisor's signature**.....Ariya Chindamporn

Co- Advisor's signature.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deep gratitude to the following individuals who have helped marking this thesis possible:

I would like to express my sincere appreciation to my advisor, Associate Professor Dr. Parvapan Bhattarakosol, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for her advice, guidance, kindness, devotion and encouragement throughout the course of my study.

I am particularly grateful to Associate Professor Dr. Ariya Chindampon, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, and Associate Professor Dr. Wasun Chantratita, Virology and Molecular Microbiology Unit, Department of Pathology, Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand, my co-advisor, for their valuable suggestions and comments for completeness of the thesis.

I am indebted to the Graduate School and Research Affairs, Chulalongkorn University, Molecular Biology Research Fund, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for funding of my study.

My sincere thanks for staff members and graduate students of Inter-Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for their helps in providing facilities during the period of this study and also many thanks for their kindness, wonderful friendship and understanding.

Finally, I would like to express deepest gratitude to my family for their love, patience, supporting, encouragement and understanding.

CONTENTS

Page

THAI ABSTRACT..... .iv
ENGLISH ABSTRACT.....v
ACKNOWLEDGEMENTS.....vi
CONTENTS.....vii
LIST OF TABLES.....x
LIST OF FIGURES.....xii
ABBREVIATIONS.....xiv
CHAPTER
I. INTRODUCTION.....1
II. OBJECTIVES.....5
III. REVIEW OF LITERATURE.....6
1. History.....6
2. General characteristics of herpes simplex virus.....9
3. Viral DNAs.....12
4. HSV replication cycle.....15
5. HSV proteins..... 18
6. Pathogenesis, latency and immune response..... .22
7. Molecular epidemiology of HSV.....27
8. Detection and identification of HSV.....29
9. Intratypic polymorphism of HSV.....35
10. Variability in restriction enzyme cleavage sites of HSV.....36
IV. MATERIALS AND METHODS.....42
Part I. Preparation of cells and stock seeds viruses.....42
1. Cell culture.....42
2. Viruses.....42
3. Plaque titration assay.....43

CONTENTS (continued)

Page

Part II. Preparation of viral DNAs.....45
1. Preparation of viral DNAs for HSV PCR typing by QIAamp®DNA mini kit.....45
2. Preparation of viral DNAs for molecular epidemiology study of HSV by RFLP.....46
3. Quantitation the amount of DNA or RNA.....47
Part III. Study typing of HSV by PCR.....48
1. PCR typing of HSV.....48
2. Restriction enzyme digestion.....48
3. Detection of DNA by agarose gel electrophoresis.....49
4. Interpretation species identification by restriction enzyme digestion of PCR typing of HSV.....49
Part IV. Molecular epidemiology study of genetic variation of HSV by RFLP.....51
1. Restriction endonuclease digestion and agarose gel electrophoresis.....51
2. Photography of DNA fragments.....52
V. RESULTS.....53
1. Clinical isolates.....53
2. Sensitivity of HSV-PCR.....54
3. HSV-PCR typing.....56
4. Molecular epidemiology of genetic variation by restriction fragment length polymorphism (RFLP).....60
4.1 HSV-1 isolates.....64
4.2 HSV-2 isolates.....74

CONTENTS (continued)

Page

5. Diversity of RE cleavage patterns of HSV.....86
V. DISCUSSION.....93
REFERENCES.....110
APPENDICES.....157
APPENDIX I.....158
APPENDIX II.....160
BIOGRAPHY.....165

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table page

1. Human herpesvirus of family Herpesviridae.....8
2. Characteristic of amplicons as predicted by DNA Sequencing.....50
3. The number of successive propagated isolates among 121 samples.....53
4. The number of HSV isolates distributed by sex and site of infection.....54
5. The results of HSV-PCR typing.....60
6. Characteristics of HSV-1 clinical isolates for study molecular epidemiology of genetic variation.....61
7. Characteristics of HSV-2 clinical isolates for study molecular epidemiology of genetic variation.....62
8. The variable restriction endonuclease cleavage sites of HSV-1 clinical isolates.....73
9. The variable restriction endonuclease cleavage sites of HSV-2 clinical isolates.....83
10. The variable RE cleavage patterns of HSV-1 clinical isolates.....84
11. The variable RE cleavage patterns of HSV-2 clinical isolates.....85
12. The frequency of *Bam*HI patterns in HSV-1 clinical isolates.....86

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES (continued)

Table page

13. The frequency of *Bam*HI+*Kpn*l patterns in HSV-1 clinical isolates.....87
14. The frequency of *Bam*HI+*Kpn*I+*Hin*dIII patterns in HSV-1 clinical isolates.....87
15. The frequency of *Bam*HI+*Kpn*I+*Hin*dIII+*Eco*RI patterns in HSV-1 clinical isolates.....88
16. The variation patterns of HSV-1 isolates by RE cleavage (*Bam*HI+*Kpn*I+*Hin*dIII+*Eco*RI) patterns.....89
17. The frequency of *Bam*HI patterns in HSV-2 clinical isolates.....90
18. The frequency of *Bam*HI+*Kpn*I patterns in HSV-2 clinical isolates.....90
19. The frequency of *Bam*HI+*Kpn*I+*Hin*dIII patterns in HSV-2 clinical isolates.....91
20. The frequency of *Bam*HI+*Kpn*I+*Hin*dIII+*Eco*RI patterns in HSV-2 clinical isolates.....91
21. The variation patterns of HSV-2 isolates by RE cleavage (*Bam*HI+*Kpn*I+*Hin*dIII+*Eco*RI) patterns.....92
22. Identification of the variation sites on RE map of HSV-1 related to the gene products and functions.....103
23. Identification of the variation sites on RE map of HSV-2 related to the gene products and functions.....105

LIST OF FIGURES

Figures page

1. The morphology of herpesviruses.....10
2. Schematic representation of the arrangement of DNA sequence in the HSV genome.....14
3. Sequence of events in the multiplication of HSV from entry of the virus into cell.....17
4. Functional organization of the HSV-1 genome.....20
5. Topology of the DNA of HSV.....38
6. Sensitivity of the standard HSV-1 (KOS) by PCR.....55
7. Determination of HSV-1 (KOS) and HSV-2 (Baylor 186) by PCR.....57
8. Detection and identification of HSV clinical isolates (I).....58
9. Detection and identification of HSV clinical isolates (II).....59
10. Cleavage patterns of HSV-1 (KOS) and HSV-2 (Baylor 186).....63
11. *Bam*HI profiles in HSV-1 clinical isolates.....65
12. *Kpn*I profiles in HSV-1 clinical isolates.....66
13. *Hin*dIII profiles in HSV-1 clinical isolates.....67
14. *Eco*RI profiles in HSV-1 clinical isolates.....68
15. Five distinct patterns of HSV-1 DNA after *Bam*HI digestion.....69
16. Three distinct patterns of HSV-1 DNA after *Kpn*I digestion.....70

LIST OF FIGURES (continued)

Figures page

17. Three distinct patterns of HSV-1 DNA after *Hin*dIII digestion.....71
18. Four distinct patterns of HSV-1 DNA after *Eco*RI digestion 72
19. *Bam*HI profiles in HSV-2 clinical isolates.....75
20. *Kpn*I profiles in HSV-2 clinical isolates.....76
21. *Hin*dIII profiles in HSV-2 clinical isolates.....77
22. *Eco*RI profiles in HSV-2 clinical isolates.....78
23. Four distinct patterns of HSV-2 DNA after *Bam*HI digestion.....79
24. One distinct pattern of HSV-2 DNA after *Kpn*I digestion.....80
25. Two distinct patterns of HSV-2 DNA after *Hin*dIII digestion.....81
26. Three distinct patterns of HSV-2 DNA after *Eco*RI.....82
27. Map position of restriction site variation in the genome of HSV-1 DNA used for comparison among isolates.....98
28. Map position of restriction site variation in the genome of HSV-2 DNA used for comparison among isolates.....99
29. The functional HSV-1 genome.....100
30. The functional HSV-2 genome.....101

ABBREVIATIONS

bp	Base pair
°C	Degree celsius
CPE	Cytopathic effects
dNTP	Deoxynucleotide triphosphate
DDW	Deionized distilled water
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DNA	Deoxyribonucleic acid
DW	Distilled water
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
et al	et alii
FBS	Fetal bovine serum
GE	Gel electrophoresis
GM	Growth medium
kb	Kilobase
KH_2PO_4	Potassium dihydrogen phosphate
KCl	Potassium chloride
M	Molar
mg	Milligram
ml	Milliliter
mM	Millimolar
$MgCl_2$	Magnesium chloride
NaCl	Sodium chloride
$NaHCO_3$	Sodium hydrogen carbonate
NaOH	Sodium hydroxide
OD	Optical density
PCR	Polymerase chain reaction
pmole	Picomole
rpm	Round per minute
RE	Restriction endonuclease
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
SDS	Sodium dodecyl sulphate

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ABBREVIATIONS (continued)

Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminoethane
µg	Microgram
µl	Microliter
UV	Ultraviolet

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย