การผันแปรของดีเอ็นเอในเห็ดหอม *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler

นางสาวศลยา สุขสอาด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2538

ISBN 974-631-997-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I16718744X

VARIATION OF DNA IN SHIITAKE *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler

Miss Solaya Suksa-Ard

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Program of Biotechnology
Graduate School
Chulalongkorn University
1995

ISBN 974-631-997-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผันแปรของดีเอ็นเอในเห็ดหอม *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler
โดย	นางสาวศลยา สุขสอาด
สาขาวิชา	หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.วิเชียร ริมพณิชยกิจ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.วิเชียร ริมพณิชยกิจ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.กนกทิพย์ ภักดีบำรุง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศลยา สุขสอาด : การผันแปรของดีเอ็นเอในเห็ดหอม *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (VARIATION OF DNA IN SHIITAKE *LENTINULA EDODES* (BERK.) PEGLER) อ.ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร. วิเชียร ริมพณิชยกิจ, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รองศาสตราจารย์ ดร. สัณห์ พณิชยกุล, 110 หน้า
ISBN 974-631-997-3

เห็ดหอม (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) เป็นเห็ดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย สายพันธุ์เห็ดหอมที่ใช้เพาะเลี้ยงทางการค้าในปัจจุบันเป็นสายพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการคัดเลือกและผลิตสายพันธุ์ให้มีความเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงทางการค้า การวิจัยนี้ได้ศึกษาการผันแปรของดีเอ็นเอในเห็ดหอม โดยการจัดกลุ่มเห็ดหอมสายพันธุ์พ่อ-แม่และลูกผสมที่ใช้ทดลองด้วยเทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs) โดยศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ และศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำไฮบริไดเซชันกับดีเอ็นเอติดตามที่เตรียมจากชิ้นดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำของสายพันธุ์ MU12 (สายพันธุ์พื้นเมือง) ซึ่งได้จากการโคลนชิ้นส่วนดีเอ็นเอของโครโมโซมเห็ดหอมสายพันธุ์ MU12 ลงใน พลาสมิด pUC118 ที่ตำแหน่ง *Eco*RI ได้ดีเอ็นเอลูกผสม 125 โคลน สุ่มมาทำ Dot-blot hybridization กับดีเอ็นเอติดตามที่เตรียมจากโครโมโซมเห็ดหอม MU12 จำนวน 59 โคลน เลือกโคลนที่ให้สัญญานการไฮบริไดซ์เข้มได้ 10 โคลน นำไปสกัดเฉพาะชิ้นดีเอ็นเอ insert ได้ 15 ชิ้น แล้วทำ Dot-blot hybridization กับดีเอ็นเอติดตามจาก MU12 อีกครั้งหนึ่ง เลือกชิ้นดีเอ็นเอ insert ที่ให้สัญญานการไฮบริไดซ์เข้ม ซึ่งคาดว่าเป็นชิ้นดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำได้ 3 ชิ้น คือ จากโคลน #50 2 ชิ้นขนาด 5.0 และ 2.0 กิโลเบส และจากโคลน #21 1 ชิ้นขนาด 0.9 กิโลเบส นำไปสร้างเป็นดีเอ็นเอติดตามให้รหัสเป็น *50.1, *50.2 และ *21 ตามลำดับ ผลการทดลองสามารถจัดกลุ่มเห็ดหอมสายพันธุ์พ่อ-แม่ออกจากกันได้ ด้วยการศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ *Eco*RI, *Sau*3AI และ *Tag*I และสามารถจัดกลุ่มจากการศึกษาแถบสัญญานการไฮบริไดซ์กับดีเอ็นเอติดตามที่เตรียมขึ้น โดยใช้เอนไซม์และดีเอ็นเอติดตามดังนี้ คือ *Hae*III/*50.1(ดีเอ็นเอของโครโมโซมที่ถูกย่อยด้วย *Hae*III และไฮบริไดซ์กับดีเอ็นเอติดตาม *50.1), *Sau*3AI/*50.1 และ *Tag*I/*50.1 โดยรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดสัญญานการไฮบริไดซ์ของสายพันธุ์ลูกผสม (HY) ส่วนใหญ่จะเกิดจากการผสมกันระหว่างแถบสัญญานของสายพันธุ์พ่อ-แม่ (MU4xMU12) และลักษณะของแถบจะมีความคล้ายคลึงกับสายพันธุ์ MU4 มากกว่าสายพันธุ์ MU12 อย่างไรก็ตามในการศึกษาต่อไปจำเป็นต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างของสายพันธุ์พ่อ-แม่ และสายพันธุ์ลูกผสมที่ใช้ในการทดลองให้มากขึ้น เพื่อสามารถบ่งบอกการผันแปรของสายพันธุ์เห็ดหอมได้อย่างมีนัยสำคัญ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ..... ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

C326480 :MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: *LENTINULA EDODES*/ SHIITAKE/ RFLP
SOLAYA SUKSA-ARD : VARIATION OF DNA IN SHIITAKE *LENTINULA EDODES* (BERK.)PEGLER. THESIS ADVISOR : LECTURER VICHIEN RIMPHANITCHAYAKIT,Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASSO.PROF. SANHA PANICHAJAKUL,Ph.D., 110pp. ISBN 974-631-997-3

Lentinula edodes (Berk.) Pegler or Shiitake (black mushroom) is cultivated on a commercial scale in Thailand. All of the strains used come from abroad. Thus selection is necessary to find strains which are suitable for culture in Thailand. The objective of this study was to group parental strains and their hybrid by Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs) technique. Grouping was done by observing restriction patterns and hybridization signals with labelled probes. Probes were repetitive DNA sequences from the local strain, MU12, cloned into the *Eco*RI site of vector pUC118. The cloning generated 125 clones, of which 59 were randomly selected for Dot-blot hybridization with the MU12 chromosomal DNA probe. 10 clones gave strong hybridization signals with this probe. The recombinant plasmids from these 10 clones were digested with *Eco*RI and electrophoresed. 15 DNA inserts were eluted and reused for Dot-blot hybridization with the MU12 probe. 3 of these fragments which gave strong signals were selected. These DNA fragments were expected to contain repetitive sequences. 2 of the 3 fragments were from clone #50 and were 5.0 kb. and 2.0 kb. in length while the third fragment of 0.9 kb. came from clone #21. Probes were prepared from these fragment and named *50.1, *50.2 and *21, respectively. Parental strains were grouped by restriction patterns obtained from digestion of chromosomal DNA with *Eco*RI, *Sau*3AI and *Tag*I and by hybridization patterns of *Hae*III/*50.1 (*Hae*III digested chromosomal DNA hybridized with 50.1 DNA probe), *Sau*3AI/*50.1 and *Tag*I/*50.1. The hybridization patterns of the hybrid strain rerealed a combination of the hybridization patterns of the parental DNAs (MU4xMU12). The patterns are more similar to that of MU4 than that of MU12. Further work involving greater number of strains will be necessary for the grouping to be significant.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา - ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล และอาจารย์ ดร.วิเชียร ริมพณิชยกิจ เป็นอย่างสูง ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้โอกาสในการเรียนรู้ คำแนะนำ ความรัก ความเข้าใจและกำลังใจ อันมีค่ายิ่งต่อข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาที่ข้าพเจ้าได้ศึกษาอยู่ ณ ที่นี้

กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ สุทธพรรณ ตรีรัตน์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สายพันธุ์เห็ดหอมรวมทั้งกรุณาให้คำปรึกษาและกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์นี้

กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ และอาจารย์ ดร.กนกทิพย์ ภักดีบำรุง ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการสอบและให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์

กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกๆท่านในภาควิชาชีวเคมีและหน่วยปฏิบัติการพันธุวิศวกรรม ที่ได้ให้ความกรุณาชี้แนะ และให้คำปรึกษา

ขอบพระคุณหน่วยปฏิบัติการพันธุวิศวกรรมและภาควิชาชีวเคมี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ด้านสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี ในการทำการวิจัยครั้งนี้

ขอบคุณบุคลากรทุกท่านในภาควิชาชีวเคมีและหน่วยวิจัยเห็ด คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความร่วมมือช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกต่างๆตลอดการวิจัย

ขอบคุณพรรคพวก เพื่อนพ้อง และพี่ๆน้องๆทั้งหลายในภาควิชาชีวเคมี เทคโนโลยีชีวภาพและชีววิทยา ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและความร่วมมือในด้านต่างๆ

ขอบคุณคุณศาสวัต วรรคาวิสันต์ นิสิตปริญญาโท คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สละเวลา และให้ความร่วมมือในการทำรูปเล่มของวิทยานิพนธ์

ขอบคุณศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และบัณฑิตวิทยาลัย สำหรับความอนุเคราะห์ด้านทุนวิจัย

และท้ายสุดนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อและคุณแม่ที่ได้ให้ความรัก ความเข้าใจ ปัจจัย กำลังใจ และความเสียสละในหลายๆด้านแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ญ
สารบัญรูป.....ฎ
คำย่อ.....ฑ
บทที่
1. บทนำ.....1
2. เครื่องมือ วัสดุภัณฑ์ และเคมีภัณฑ์
เครื่องมือ.....8
วัสดุภัณฑ์.....9
เคมีภัณฑ์.....9
3. วิธีทดลอง
การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเส้นใยเห็ดหอม *L. edodes*
1. อาหารแข็ง (PDA, Potato Dextrose Agar).....11
2. อาหารเหลว (PDB, Potato Dextrose Broth).....11
การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงแบคทีเรียที่ใช้ทดลอง.....12
ดีเอ็นเอพาหะและดีเอ็นเอมาตรฐาน.....12
จุลินทรีย์และเส้นใยเห็ดหอม *L. edodes*.....13
วิธีการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหอม *L. edodes*.....13
วิธีติดตามการเจริญของเส้นใยเห็ดหอม *L. edodes*.....13
การสกัดดีเอ็นเอ
1. การสกัดดีเอ็นเอของโครโมโซมจากเส้นใยเห็ดหอม *L. edodes*.....14
2. การสกัดดีเอ็นเอของพลาสมิดโดยวิธีอัลคาไลน์ (Alkaline Extraction).....14
การย่อยดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ Restriction Endonuclease
1. สภาวะในการย่อยดีเอ็นเอ.....21

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

อะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซีสและการบันทึกผลของแถบดีเอ็นเอ.....22
การสกัดดีเอ็นเอที่ต้องการภายหลังการทำอิเลคโตรโฟรีซีส.....22
การทำ Molecular Cloning ของดีเอ็นเอของโครโมโซมจากเส้นใยเห็ดหอม
L. edodes ในพลาสมิด pUC118
1. การเตรียมดีเอ็นเอของโครโมโซมจากเส้นใย.....23
2. การเตรียมดีเอ็นเอของพลาสมิด pUC118.....23
3. การเชื่อมต่อสายดีเอ็นเอ (Ligation).....24
4. การทำทรานสฟอร์เมชัน (Transformation).....24
5. การตรวจสอบทรานสฟอร์แมนท์ที่ได้รับดีเอ็นเอสายผสม.....25
การคัดเลือกดีเอ็นเอสายผสมเพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอติดตาม.....25
การเตรียมดีเอ็นเอติดตาม
1. การติดฉลากดีเอ็นเอติดตาม.....26
2. การวิเคราะห์ปริมาณของดีเอ็นเอติดตาม.....26
การเตรียมดีเอ็นเอบนแผ่นไนล่อนเมมเบรน
1. Dot-blot Transfer.....26
2. Southern-blot Transfer.....27
การทำไฮบริไดเซชันกับดีเอ็นเอติดตาม (Hybridization).....27
การตรวจหาดีเอ็นเอติดตาม (Detection)
1. การตรวจหาสัญญานด้วยการเกิดสี (Colorimetric Detection).....28
2. การตรวจหาสัญญานด้วยสารเรืองแสง
(Chemiluminescent Detection).....28
การล้างดีเอ็นเอติดตามเพื่อการทำไฮบริไดเซชันใหม่
1. การตรวจสัญญานด้วยการเกิดสี.....29
2. การตรวจสัญญานด้วยสารเรืองแสง.....29
4. ผลการทดลอง
การเจริญของเส้นใยเห็ดหอม (*L. edodes*) ในอาหารเหลวสูตร PDB
1. ลักษณะการเจริญและการพัฒนาของเส้นใยเห็ดหอม (*L. edodes*).....30

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

2. การติดตามการเจริญของเส้นใยเห็ดหอม (*L. edodes*).....30
การเตรียมชิ้นดีเอ็นเอจากเส้นใยเห็ดหอม (*L. edodes*).....32
การเตรียมชิ้นดีเอ็นเอพาหะ.....32
ผลการทำทรานสฟอร์เมชัน (Transformation).....36
การคัดเลือกดีเอ็นเอลูกผสมโดยทำ Dot-blot hybridization.....36
การคัดดีเอ็นเอลูกผสมที่มีความเหมาะสมเพื่อนำไปใช้สร้างดีเอ็นเอติดตาม
สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RFLP (RFLP analysis)
1. การศึกษาขนาดของดีเอ็นเอลูกผสม.....36
2. การคัดเลือกหาชิ้นดีเอ็นเอที่เหมาะสมต่อการนำไปสร้างตัวติดตาม
สำหรับ RFLP analysis.....39
การสร้างตัวติดตามจากชิ้นดีเอ็นเอที่คัดเลือกได้.....39
การวิเคราะห์ความผันแปรของสายพันธุ์เห็ดหอม *L. edodes*
1. ผลการวิเคราะห์ความผันแปรของสายพันธุ์เห็ดหอมที่ใช้ในการทดลอง
โดยการศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ถูกย่อยด้วยเรสทริกชันเอนไซม์.....42
2. ผลการวิเคราะห์ความผันแปรของสายพันธุ์เห็ดหอมที่ใช้ในการทดลอง
จากการศึกษาการเกิดไฮบริไดเซชันกับตัวติดตามที่เตรียมได้.....60
5. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....80
รายการอ้างอิง.....89
ภาคผนวก.....95
ประวัติผู้เขียน.....110

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. แสดงมูลค่าการนำเข้าและส่งออกเห็ดแห้งระหว่างปี พ.ศ. 2531-2536....2
2. Biologically active compounds found in *Lentinula edodes*....3
3. ลักษณะของสายพันธุ์เห็ดหอมที่ใช้ในการทดลอง....15
4. แสดงการจัดกลุ่มของเห็ดหอมสายพันธุ์ที่ทำการทดลองโดยใช้ความแตกต่างของลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ต่างๆ....59
5. แสดงขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ตรวจพบสัญญานการไฮบริไดซ์ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมสายพันธุ์ที่ใช้ทดลองซึ่งถูกย่อยด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ต่างๆกับดีเอ็นเอติดตาม *50.1....72
6. แสดงขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ตรวจพบสัญญานการไฮบริไดซ์ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมสายพันธุ์ที่ใช้ทดลองซึ่งถูกย่อยด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ต่างๆกับดีเอ็นเอติดตาม *50.2....74
7. แสดงขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ตรวจพบสัญญานการไฮบริไดซ์ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมสายพันธุ์ที่ใช้ทดลองซึ่งถูกย่อยด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ต่างๆกับดีเอ็นเอติดตาม *21....76
8. แสดงการจัดกลุ่มของเห็ดหอมสายพันธุ์ที่ทำการทดลอง โดยใช้ความแตกต่างของขนาดของแถบดีเอ็นเอที่เกิดสัญญานการไฮบริไดซ์กับตัวติดตามที่สร้างขึ้น....77
9. Synonyms for *Lentinula edodes* (Shiitake)....96

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1. แสดงลักษณะดอกเห็ดหอม *L. edodes* สายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง 5 สายพันธุ์....16
2. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการเจริญ (วัน) กับน้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัม)....31
3. ผลการสกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยของเห็ดหอม *L. edodes*....33
4. ผลการหาปริมาณเอนไซม์ *Eco*RI ที่เหมาะสมในการย่อยอย่างสมบูรณ์ของดีเอ็นเอเห็ดหอมสายพันธุ์ MU12....34
5. การตรวจสอบขนาดของพลาสมิด pUC118 ตามแผนที่เรสทริกชันและการหาปริมาณเอนไซม์ *Eco*RI ที่เหมาะสม....35
6. แสดงผลความเข้มของสัญญาณการไฮบริไดซ์ระหว่างตัวติดตามที่สร้างจากดีเอ็นเอเห็ดหอมสายพันธุ์ MU12 กับดีเอ็นเอเห็ดหอมสายพันธุ์ MU12 และดีเอ็นเอชนิดอื่นๆ....37
7. ผลการวิเคราะห์หาโคลนที่ให้สัญญาณการไฮบริไดซ์กับตัวติดตามที่สร้างจากดีเอ็นเอเห็ดหอมสายพันธุ์ MU12....38
8. การวิเคราะห์ขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ insert ที่ได้จากโคลนที่ให้สัญญาณการไฮบริไดซ์ที่ชัดเจนกับตัวติดตามที่สร้างจากดีเอ็นเอเห็ดหอมสายพันธุ์ MU12....40
9. ผลการวิเคราะห์ repetitive sequences จากชิ้นดีเอ็นเอ insert ที่แยกได้จากโคลนที่คัดเลือก โดยการทำ Dot-blot hybridization กับตัวติดตามที่สร้างจากดีเอ็นเอเห็ดหอมสายพันธุ์ MU12....41
10. ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของดีเอ็นเอติดตามที่สร้างขึ้น....43
11. แสดงผลการย่อยดีเอ็นเอเพื่อศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยดีเอ็นเอเห็ดหอมอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Bam*HI....44
12. แสดงผลการย่อยดีเอ็นเอเพื่อศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยดีเอ็นเอเห็ดหอมอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Eco*RI....45
13. แสดงผลการย่อยดีเอ็นเอเพื่อศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยดีเอ็นเอเห็ดหอมอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Hae*III....46
14. แสดงผลการย่อยดีเอ็นเอเพื่อศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยดีเอ็นเอเห็ดหอมอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Hind*III....47

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

15. แสดงผลการย่อยดีเอ็นเอเพื่อศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยดีเอ็นเอเห็ดหอม อย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Alu*I....48
16. แสดงผลการย่อยดีเอ็นเอเพื่อศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยดีเอ็นเอเห็ดหอม อย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Pvu*II....49
17. แสดงผลการย่อยดีเอ็นเอเพื่อศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยดีเอ็นเอเห็ดหอม อย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Sau*3AI....50
18. การศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Alu*I....51
19. การศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Bam*HI....52
20. การศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Eco*RI....53
21. การศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Hae*III....54
22. การศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Hind*III....55
23. การศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Pvu*II....56
24. การศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Sau*3AI....57
25. การศึกษาแถบดีเอ็นเอที่ถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ *Taq*I....58
26. Southern-blot hybridization ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์ *Eco*RI และ *Pvu*II กับดีเอ็นเอติดตาม *50.1....62
27. Southern-blot hybridization ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์ *Eco*RI และ *Pvu*II กับดีเอ็นเอติดตาม *50.2....63
28. Southern-blot hybridization ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์ *Eco*RI และ *Pvu*II กับดีเอ็นเอติดตาม *21....64
29. Southern-blot hybridization ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์ *Bam*HI และ *Hind*III กับดีเอ็นเอติดตาม *50.1....65
30. Southern-blot hybridization ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์ *Bam*HI และ *Hind*III กับดีเอ็นเอติดตาม *50.2....66
31. Southern-blot hybridization ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์ *Hae*III และ *Sau*3AI กับดีเอ็นเอติดตาม *50.1....67

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

32. Southern-blot hybridization ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมที่ถูกย่อยด้วย
เอนไซม์ *Hae*III และ *Sau*3AI กับดีเอ็นเอติดตาม *50.2 68
33. Southern-blot hybridization ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมที่ถูกย่อยด้วย
เอนไซม์ *Hae*III และ *Sau*3AI กับดีเอ็นเอติดตาม *21 69
34. Southern-blot hybridization ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมที่ถูกย่อยด้วย
เอนไซม์ *Alu*I และ *Tag*I กับดีเอ็นเอติดตาม *50.1 70
35. Southern-blot hybridization ระหว่างดีเอ็นเอเห็ดหอมที่ถูกย่อยด้วย
เอนไซม์ *Alu*I และ *Tag*I กับดีเอ็นเอติดตาม *50.2 71
36. การเจริญของเบสิเดียในเห็ด Order Agaricales 99
37. การแบ่งนิวเคลียสในเส้นใยระยะที่ 2 ของ *Lentinula edodes* 100

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

ATP	=	Adenosine 5' triphosphate
BSA	=	Bovine serum albumin
$CaCl_2$	=	Calcium chloride
IPTG	=	Isopropylthio-β-galactoside
kb	=	kilobase pair (10^3 base pair)
LB	=	Luria-Bertani medium
EDTA	=	Ethylene diamine tetraacetic acid (disodium salt)
HCl	=	Hydrochloric acid
ml	=	millilitre (10^{-3} litre)
µl	=	microlitre (10^{-6} litre)
ng	=	nanogram (10^{-9} gram)
OD	=	Optical Density
RNase	=	Ribonuclease
SDS	=	Sodium dodesil sulfate
Tris	=	Tris (hydroxy methyl) aminomethane
X-gal	=	5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactoside

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย