เอกสารอ้างอิง

1. Berdy, J., "Recent Advances in and Prospects of Antibiotic Reserch." Process Biochemistry, Oct./Nov., 28-35,1980.

2. Williams, S. T., Goodfellow, M., Alderson, G., Willington, E. M. H., Sneath, P. H. A., and Sackin, M. J., "Numerical Classification of *Streptomyces* and Related Genera," J. Gen. Microbiol., 129, 1743-1813, 1983.

3. Bucke, C., "Industrial Glucose Isomerase," Topics in Enzyme and Fermentation Biotechnology (Wiseman, A., ed.), Vol I, pp. 147-171, Ellis Horwood Ltd., Chichester, UK., 1977.

4. Hopwood, D. A., Malpartida, F., Kieser, H. M., Ikeda, H., Duncan, J., Fujii,I., Rudd, B. A. M., Eloss, H.G., and Omara, S., "Production of Hybrid Antibiotics by Genetic Engineering," Nature, 314, 642-644, 1985.

5. Kendall, K., and Cullum, J., "Cloning and Expression of an Extracellular-Agarase Gene from *Streptomyces coeli color* A3(2) in *Streptomyces lividans* 66," Gene, 29, 315-321, 1984.

6. Mondou, F., Shareck, F., Morosoli, R., and Kluepfel, D., "Cloning of the Xylanase Gene of *Streptomyces lividans*," Gene, 49, 323-329, 1986.

7. Iwasaki, A., Keshida, H., and Okanishi, M., "Molecular Cloning of a Xylanase Gene from *Streptomyces* sp.No.36a and Its Expression in Streptomycetes, "J.Antibiotics, 39, 985-993, 1986.

8. Marcel, T., Drocourt, D., and Tiraby, G., "Cloning of the Glocose Isomerase (D-Xylose Isomerase) and Xylulose Kinase Genes of *Streptomyces violaceoniger*," Mol. Gen. Genet., 208, 121-126, 1987.

9. Hunter, I. S., "Gene Cloning on *Streptomyces*," DNA cloning (Glover, D. M. ed.),Vol 2, pp.19-44, London, UK.,1985.

10. Hopwood, D, A., "Genetic Studies with Bacterial Protoplasts," Ann.Rev.Microbiol., 35, 237-72, 1981.

11. Hopwood, D, A., Kieser, T., Lydiate, D. J., and Bibb, M. J., "*Streptomyces* Plasmids : Their Biology and Use as Cloning Vectors," The Bacteria : A Treatise an Structure and Function : Antibiotic - Producing *Streptomyces* (Queener, S. W., and Day, L. E., eds.), Vol 4, pp.159-229, Academic Press, U.S.A., 1986.

12. Hopwood, D, A., "Gene Cloning in *Streptomyces* spp.," Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology (Demain, A. L., and Solomon, N. A., eds.), pp.198-203, ASM, WC., U.S.A., 1986.

13. Hopwood, D, A., Bibb, M. J., Chater, K. F., Kieser, T., Bruton, C. J., Kieser, H. M., Lydiate, D. J., Smith, C. P., Ward, J. M., and Schrempf, H., Genetic Manipulation of *Streptomyces* : A Laboratory Manual, The John Innes Foundation, Norwick, UK, 1985.

14. Kieser, T., Hopwood, D, A., Wright, H. M., and Thomson, C. J., "pIJ101 a Multi-Copy Broad Host-Range *Streptomyces* Plasmid : Functional Analysis and

Development of DNA Cloning Vectors." Mol. Gen. Genet., 185, 223-238 ,1982.

15. Katz, E., Thompson, C. J., and Hopwood, D, A., "Cloning and Expression of the Tyrosinase Gene from *Streptomyces antibioticus* in *Streptomyces lividans*," J. Gen. Microbiol., 129, 2703-2714, 1983.

16. Thompson, C. J., Kieser, T., Ward, J. M., and Hopwood, D, A., "Physical Analysis of Antibiotic Resistance Genes from *Streptomyces* and Their Use in Vector Construction." Gene, 20, 51-62, 1982.

17. Bibb, M. J., Freeman, R. F., and Hopwood, D, A., "Physical and Genetical Characterization of a Second Sex Factor, SCP2 , for *Streptomyces coelicolor* A3(2)," Mol.Gen. Genet., 154, 155-166, 1977.

18. Schrempf, H., and Goefel, W., "Characterization of a Plasmid from *Streptomyces coelicolor* A3(2)," J.Bacteriol., 131, 251-258, 1977.

19. Bibb, M. J., Ward, J. M., Kieser, T., Cohen, S. N., and Hopwood, D, A., "Excision of Chromosomal DNA Sequences from *Streptomyces coelicolor* Forms a Novel Family of Plasmids Detectable in *Streptomyces lividans*," Mol. Gen. Genet., 184, 230-240, 1981.

20. Thompson, C. J., Ward, J. M., and Hopwood, D. A.,"DNA Cloning in *Streptomyces* : Resistance Genes from Antibiotic-Producing Species," Nature, 286, 525-527, 1980.

21. Thompson, C. J., Ward, J. M., and Hopwood, D. A., "Cloning of Antibiotic Resistance and Nutritional Genes in Streptomycetes," J.Bacteriol., 157(2), 668-677, 1982.

22. Malpartida, F., Zalacain, M., Junenez, A., and Davies, J., "Molecular Cloning and Expression in *Streptomyces lividans* of a Hygromycin B Phosphotransferase Gene from *Streptomyces hygroscopicus*,"Biochem. Biophys.Res. Commun., 117, 6-12, 1983.

23. Kieser, T., and Melton, R. E., "Plasmid pIJ699, a Multi-Copy Positive-Selection Vector for *Streptomyces*," Gene, 65, 83-91, 1988.

24. Imanaka, T., "Application of Recombinant DNA Technology to the Production of Useful Biomaterials," Advance in Biochemical Engineering / Biotechnology (Fiechter, A., ed.), pp.1-27, Springer-Verlag Berlin. Heidelberg, GDR., 1986.

25. Mandel, M., and Higa, A., "Calcium - Dependent Bacteriophage DNA Infection," J. Mol. Biol., 53, 159-162, 1970.

26. Fodor, K., and Alfoldi, L., "Fusion of Protoplasts of *Bacillus megaterium*," Proc. Natl. Acad. Sci, 73(6), 2147-2150, 1976.

27. Schaeffer, P., Cami, B., and Hotchkiss, R. D., "Fusion of Bacterial Protoplasts," Proc. Natl. Acad. Sci., 73(6), 2151-2155, 1976.

28. Romano, A. H., and Nickerson, W. J., "The Biochemistry of the Actimonycetales. I Studies on the Cell Wall of *Streptomyces fradiae*," J.Bacteriol., 72, 478-482,1956.

29. Romano, A. H., and Sohler, A., "The Biochemistry of the Actimonycetales. II Comparison of the Cell Wall Composition of Spicies of the Genera *Streptomyces* and *Norcadia*," J.Bacteriol., 72, 865-868, 1956.

30. Mutsushima, P., and Baltz, R. H., "Protoplast Fusion," Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology (Demain, A. L., and Solomon, N. A., eds.), pp.170-183, ASM, WC., U.S.A., 1986.

31. Okanishi, M., Suzuki, K., and Umezawa, H., "Formation and Reversion of Streptomycete Protoplasts : Cultural Condition and Morphological Study," J.Gen. Microbiol., 80, 389-400, 1974.

32. Baltz, R. H., "Genetic Recombination in *Streptomyces fradiae* by Protoplast Fusion and Cell Regeneration," J. Gen. Microbiol., 107, 93-102, 1978.

33. Hammes, W., Schleifer, H., and Kandler, O., "Mode of Action of Glycine on the Biosynthesis of Peptidoglycan," J. Bacteriol., 116(2), 1029-1053, 1973.

34. Sagara, Y., Fukui, K., Ota, F., Yoshida, N., Kashiyama, T., and Fujimoto, M., "Rapid Formation of Protoplasts of *Streptomyces griseoflavus* and Their Fine Sructure," Japan. J. Microbiol., 15(1), 13-84, 1971.

35. Hopwood, D. A., Wright, H. M., Bibb, M. J., and Cohen, S. M., "Genetic Recombination Through Protoplast Fusion in *Streptomyces*," Nature, 268, 171-174, 1977.

36. Pigac, J., Hranueli, D., Smokvina, T. and Alacevic, M., "Optimal Cultural and Physiological Conditions for Handling *Streptomyces rimosus* Protoplasts," Appl. Environ. Microbiol., 44, 1178-1186, 1982.

37. Mirdamadi-Tehrani, J., Mitchell, J. I., Williams, S. T., and Ritchie, D. A., "Factors Affecting Protoplast Formation and Regeneration by Four Species of *Streptomyces*," Lett. Appl. Microbiol., 3, 27-30, 1986.

38. Baltz, R. H., and Matsushima, P., "Protoplast Fusion in *Streptomyces* : Conditions for Efficient Genetic Recombination and Cell Regeneration," J. Gen. Microbiol., 127, 137-146, 1981.

39. Bibb, M. J., Ward, J. M., and Hopwood, D. A., "Transformation of Plasmid DNA into *Streptomyces* at High Frequency," Nature, 274, 398-400, 1978.

40. Matsushima, P., and Baltz, R. H., "Efficient Plasmid Transformation of *Streptomyces ambofaciens* and *Streptomyces fradiae* Protoplasts." J. Bacteriol., 163(1), 180-185, 1985.

41. Okanishi, M., Katajiri, K., Furumai, T., Takeda, K., Kawagushi, K., Saitoh, M., and Nabeshima, S., "Basic Techniques for DNA Cloning and Conditions Required for Streptomycetes as a Host," J. Antibiotics, 36(2), 99-108, 1983.

42. Bibb, A. J., Schottel, J. L., and Cohen, S. N., "A DNA Cloning System for Interspecies Gene Transfer in Antibiotic-Producing *Streptomyces*," Nature, 284, 256-260, 1980.

43. Bailey, C. R., and Winstanley, D. J., "Inhibition of Restriction in *Streptomyces clavuligerus* by Heat Treatment," J. Gen. Microbiol., 132, 2945-2947, 1986.

44. Engel, P., "Plasmid Transformation of *Streptomyces tendae* after Heat Attenuation of Restriction," Appl. Environ. Microbiol., 53(1), 1-3, 1987.

45. Nakano, M. M., Mashiko, H., and Ogawara, H., "Cloning of the Kanamycin Resistance Gene from a Kanamycin-Producing *Streptomyces* Species," J. Bacteriol., 157(1), 79-83, 1984.

46. Malpartida, F., and Hopwood, D. A., "Molecolar Cloning of the Whole Biosynthetic Pathway of a *Streptomyces* Antibiotic and Its Expression in a Heterologous," Nature, 309, 462-464, 1984.

47. Ghangas, G. S., Hu, Y., and Wilson, D. B., "Cloning of a *Thermomonospora fusca* Xylanase Gene and Its Expression in *Escherichia coli* and *Streptomyces lividans*," J. Bacteriol., 171(6), 2963-2969, 1989.

48. นฤมล ศุภจรรยา, "การศึกษากลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ 190-1," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2526.

49. กาญจนา วรวิทย์วัฒนะ, "การผลิตไซแลนแนสจากสเตรปโตมัยซีส สายพันธุ์ 42-9," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2530.

50. Morosoli, R., Bertrand, J., Mondou, F., Shareck, F., and Kluepfel, D., "Purification and Properties of a Xylanase from *Streptomyces lividans*," J. Gen. Microbiol., 239, 587-592, 1986.

51. Birch, A. W., and Cullum, J., "Temperative-Sensitive Mutants of the *Streptomyces* Plasmid pIJ702," J. Gen. Microbiol., 131, 1299-1303, 1985.

52. Kieser, T., "Factors Affecting the Isolation of cccDNA from *Streptomyces lividans* and *Escherichia coli*," Plasmid, 12, 19-36, 1984.

53. Maniatis, T., Fritsch, E. F., and Sambrook, J., Molecular Cloning : A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1982.

54. ศิริพร สิทธิประณีต, พันธุวิศวกรรมปฏิบัติการเบื้องต้น, ส.วิชาญการพิมพ์, กรุงเทพฯ, 2531.

55. Nakajima, T., Tsukamota, T., Watanabe, T., Kainuma, K., and Malsuda, K., "Purification and Some Properties of an Endo-1,4-β-D-Xylanase from *Streptomyces* sp.," J. Ferment. Technol., 62(3), 269-276, 1984.

56. Somogyi, M., "Notes on Sugar Determination," J. Biol. Chem., 195, 19-23, 1952.

57. Nelson, N., "A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose," J. Biol. Chem., 153, 375-380, 1954.

58. ศิริลักษณ์ ธีระดากร, "การศึกษากลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ 190-1," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2529.

59. Takasaki, Y., Kosugi, Y., and Kanbayashi, A., "*Streptomyces* Glucose Isomerase," Fermentation Advance, (Perlman, D., ed.) pp.561-570, Academic Press Inc., New York, 1969.

60. Marshall, R. O., and Kooi, E. R., "Enzyme Conversion of D-Glucose to D-Fructose," Science, 125, 648-649, 1957.

61. Dische, Z., and Borenfreund, E., "A New Spectrophotometric Method for the Detection and Determination of Keto Sugars and Trioses," J. Biol. Chem., 192, 583-587, 1951.

62. Dekker, R. F. H., "Biodegradation of the Hemiclluloses," Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components (Higuschi, T., ed.,) pp.505-533, Academic Place, Inc., Orlando, Fla, 1985.

63. Marui, M., Nakanishi, K., and Yasui, T., "Purification and Properties of Three Types of Xylanases Induce by Methyl β-Xyloside from *Streptomyces* sp.," Agic. Biol. Chem., 49, 3399-3407, 1985.

64. Wong, K. K. Y., Tan, L. U. L., and Faddler, J. N., "Multiplicity of β-1,4-Xylanase in Microorganisms : Functions and Applications," Microbiol. Rev., 52(3), 305-317, 1988.

65. Biely, P., Markopic, O., and Mislovicova, D., "Sensitive Detection of Endo-1,4-β-Glucanases and Endo-1,4-β-Xylanases in Gel," Anal. Biochem., 144, 147-151, 1985.

66. Kudo, T., Ohkoshi, A., and Horikoshi, K., "Molecular Cloning and Expression of a Xylanase Gene of Alkalophilic *Aeromonas* sp.No.212 in *Escherichia coli*," J. Gen. Microbiol., 131, 2825-2830, 1985.

67. Biely, P., "Microbiol. Xylanotic System," Trends in Biotechnology, 3(1), 286-289, 1985.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสูตร MS

มานิทอล (manitol)	20	กรัม
ถั่วเขียวบดละเอียด	20	กรัม
วุ้น (agar)	18	กรัม

เติมน้ำประปาและน้ำกลั่น 2 ส่วน เท่า ๆ กันจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

ก.2 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YEME

ซูโครส (sucrose)	340	กรัม
กลูโคส (glucose)	10	กรัม
เปปโตน (peptone)	5	กรัม
ยีสต์เอกซ์แทรค (yeast extract)	3	กรัม
มอล์ตเอกซ์แทรค (malt extract)	3	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

ก.3 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB

กลูโคส (glucose)	1	กรัม
ทริปโตน (tryptone)	10	กรัม
ยีสต์เอกซ์แทรค (yeast extract)	5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.4 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสำหรับตรวจสอบแอคติวิตีของไซแลเนส โดยมีไซแลนเป็นองค์ประกอบ

ไซแลน (xylan)	10	กรัม
โปรตีโอสเปปโตน (proteose peptone)	1	กรัม
ยีสต์แอกซ์แทรค (yeast extract)	2	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)	1.4	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2.5	กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.3	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)*	0.3	กรัม
trace metal solution**	1	มล.

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ปรับ pH ให้เท่ากับ 7.0

* แยกนึ่งฆ่าเชื้อ

** trace metal solution 100 มล.

โคบอล์ตคลอไรด์ ($CoCl_2.6H_2O$)	200	มก.
เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)	500	มก.
แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4.H_2O$)	160	มก.
ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4.7H_2O$)	140	มก.

ปรับ pH ให้เท่ากับ 3.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.5 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสำหรับตรวจสอบแอคติวิตีของไซแลเนส โดยมีกากรำข้าวเป็นองค์ประกอบ

กากรำข้าว*	5	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.3	กรัม
โปตัสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.03	กรัม
เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)	0.002	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล. ปรับ pH ให้เท่ากับ 7.0

* กากรำข้าวจากบริษัทน้ำมันบริโภคไทย

ความชื้น	12.1	%
น้ำมัน	1.3	%

ก.6 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสำหรับตรวจสอบแอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรส

ไซโลส (xylose)	6	กรัม
เปปโตน (peptone)	10	กรัม
ยีสต์แอกซ์แทรค (yeast extract)	5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	1	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

ก.7 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสำหรับรีเจนเนอเรทโปรโตพลาสต์ R2YE

ส่วนที่ 1 R2A

กลูโคส (glucose)	20	กรัม
กรดคาซามิโน (casamino acids)	0.2	กรัม
โปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)	0.5	กรัม
แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2.7H_2O$)	20.2	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	5.9	กรัม
วุ้น (agar)	44	กรัม
trace element solution*	4	มล.

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

* trace element solution

ซิงค์คลอไรด์ ($ZnCl_2$)	40	มก.
เฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$)	200	มก.
คิวปริกคลอไรด์ ($CuCl_2.2H_2O$)	10	มก.
แมงกานีสคลอไรด์ ($MnCl_2.4H_2O$)	10	มก.
โซเดียมเตตราบอเรท ($Na_2B_4O_7.10H_2O$)	10	มก.
แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$)	10	มก.

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

ส่วนที่ 2 R2B

ซูโครส (sucrose)	203	กรัม
ยีสต์แอกซ์แทรค (yeast extract)	10	กรัม
TES (N-tris (Hydroxymethyl) methyl-2-aminoethane sulfonic acid)	11.5	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

หลังจากนึ่งอบฆ่าเชื้อแล้ว ผสมส่วนที่ 1 และ 2 ปริมาตรเท่า ๆ กัน แล้วเติม 0.5% โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 1 มล./สารละลาย 200 มล.

ก.8 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสำหรับตรวจสอบแอคติวิตีของไซแลเนส

ไซแลน (xylan)	1	กรัม
ยีสต์เอกซ์แทรค (yeast extract)	1	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.4	กรัม
โปตัสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.02	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.02	กรัม
เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)	0.002	กรัม
วุ้น (agar)	2	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล. ปรับ pH ให้เท่ากับ 7.0

ภาคผนวก ข

บัฟเฟอร์

ข.1 บัฟเฟอร์ P

ซูโครส (sucrose)	103	กรัม
โปตัสเซียมซัสเฟต (K_2SO_4)	0.25	กรัม
แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2.6H_2O$)	2.02	กรัม
trace element solution (ภาคผนวก ก.7)	2	มล.

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 800 มล. หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เติม

0.5% โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1	มล.
3.68% แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	10	มล.
5.73% TES (N-tris(Hydroxymethyl) methyl-2-aminoethane sulfonic acid)	10	มล.

ข.2 สารละลายสำหรับไลโซไซม์ (lysozyme solution)

ซูโครส (sucrose)	0.3	โมลาร์
ทริสมาเบส (trisma base)(pH 8.0)	25	มิลลิโมลาร์
EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) (pH 8.0)	0.25	มิลลิโมลาร์

ข.3 บัฟเฟอร์ TE

ทริสมาไฮโดรคลอไรด์ (trisma hydrochloride)	10	มิลลิโมลาร์
EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) (pH 8.0)	1	มิลลิโมลาร์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข.4 บัฟเฟอร์ TB

เตรียมเข้มข้น 5 เท่า

ทริสมาเบส (trisma base)	54	กรัม
กรดบอริค (boric acid)	27.5	กรัม
0.5 โมลาร์ EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) (pH 8.0)	20	มล.

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ก่อนใช้เจือจางด้วยน้ำกลั่น 5 เท่า

ข.5 บัฟเฟอร์ชะดีเอนเอ (DNA elution buffer)

ทริสมาไฮโดรคลอไรด์ (trisma hydrochloride) (pH 7.5)	20	มิลลิโมลาร์
EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)	1	มิลลิโมลาร์
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	1.5	โมลาร์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

สารเคมี (reagent)

ค.1 <u>ฟีนอลคลอโรฟอร์ม</u>

ฟีนอล (phenol)	5	กรัม
คลอโรฟอร์ม (chloroform)	5	มล.
น้ำกลั่น	1	มล.
ไฮดรอกซีควิโนลิน (8-hydroxyquinoline)	5	มก.

ค.2 <u>สีติดตาม (tracking dye)</u>

เตรียมเข้มข้น 5 เท่า

ซูโครส (sucrose)	60	%
โบรโมฟีนอลบลู (bromophenol blue)	0.25	%
ทริสมาไฮโดรคลอไรด์ (trisma hydrochloride) pH 8.0	100	มิลลิโมลาร์
Na_2EDTA (disodium ethylenediaminetetraacetic acid)	0.5	มิลลิโมลาร์
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	100	มิลลิโมลาร์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค.3 อัลคาไลน์ คอปเปอร์ รีเอเจนท์ (alkaline copper reagent)

ละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4.12H_2O$) 71 กรัม และโรเชล ซอล์ท (Rochelle salt) 40 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มล. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 N 100 มล. แล้วเติมสารละลายของคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) ความเข้มข้น 10% 80 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วทำให้ร้อน จากนั้นเติมโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) จำนวน 180 กรัม ละลายให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนกรองออกแล้วจึงนำไปใช้

ค.4 เนลสัน รีเอเจนท์ (Nelson reagent)

ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต [$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$] 53.2 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มล. แล้วเติมกรดซัลฟูริคเข้มข้นปริมาตร 21 มล. ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายของโซเดียมอาซิเนท ($NaHAsO_4.7H_2O$) ความเข้มข้น 12% 50 มล. ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนกรองออกแล้วจึงนำไปใช้

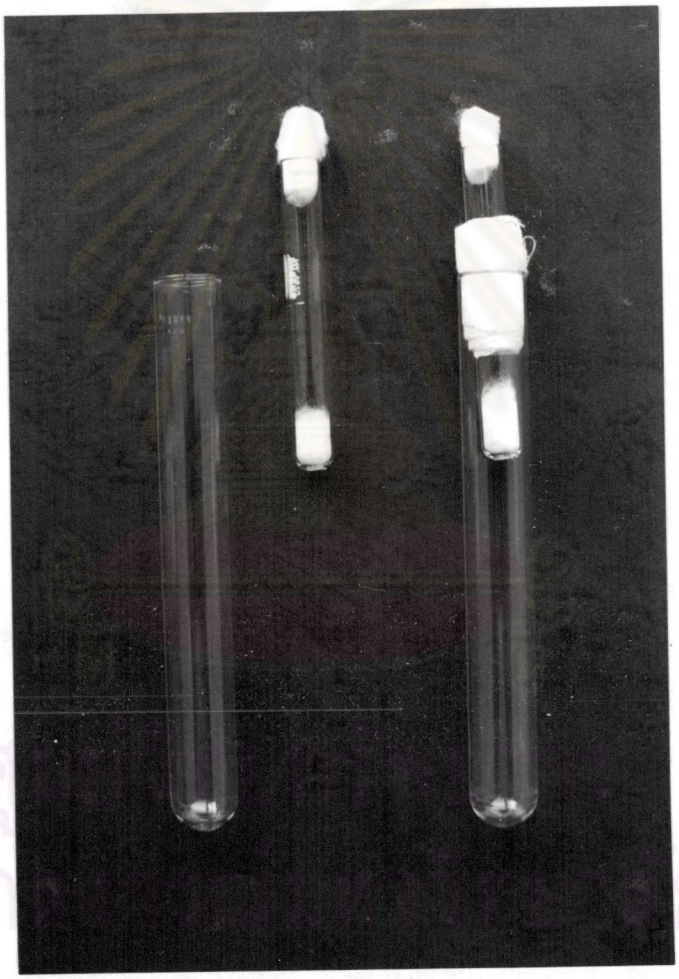
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

อุปกรณ์อื่น ๆ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

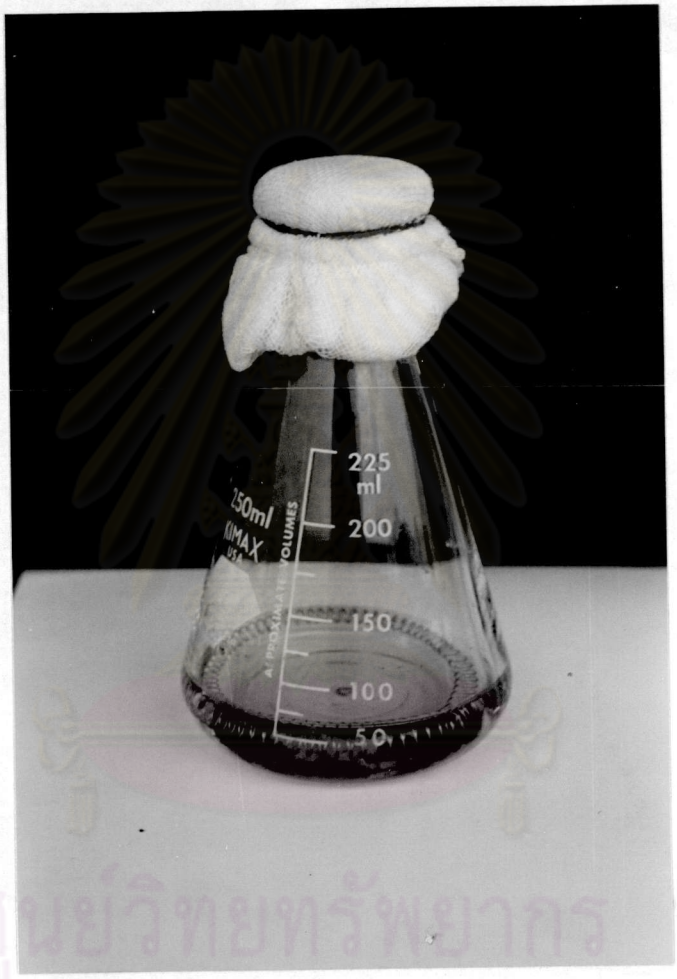
ง.1 ชุดกรองสปอร์และโปรโตพลาสต์ของ *Streptomyces*



หลอดใหญ่ขนาด 17.5 X 2.0 ซม.

หลอดเล็กขนาด 10.0 X 1.0 ซม.

ง.2 ลักษณะการวางขดลวดสปริงที่ก้นขวดสำหรับการเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ง.3 แผ่น DEAE-cellulose สำหรับจับดีเอนเอ

ตัดกระดาษ DEAE-cellulose ขนาด 5X1 ซม. ประมาณ 5 ชิ้น แช่ใน 2.5 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์ ประมาณ 2 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่นไร้เชื้อหลาย ๆ ครั้ง จนแน่ใจว่า โซเดียมคลอไรด์ออกหมด แช่กระดาษใน 1 มิลลิโมลาร์ EDTA เก็บไว้ที่ 4°ซ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาว อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต เกิดเมื่อวันที่ 9 พฤศจิกายน 2508 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2529

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย