รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ธัญนุช เกรียงไกรพิพัฒน์. 2544. การสร้างสายพันธุ์กลายที่สะสมสารมัธยันต์จากการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนและการติดฉลากด้วยโปรตีนเรืองแสงสีเขียวของ *Rhizobium* sp. CU-A1. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศรัลยา แพงไตร. 2543. การย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนโดยแบคทีเรียที่ออกซิไดซ์อะซีแนพธิลีน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Ausubel, F. A., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A., and Struhl, K. 1999. Current Protocols in Molecular Biology. 4th ed. New York: John Wiley & Sons.

Bahar, M., de Majnik, J., Wexler, M., Fry, J., Poole, P. S., and Murphy, P. J. 1998. A model for the catabolism of rhizopine in *Rhizobium leguminosarum* involves a ferredoxin oxygenase complex and the inositol degradation pathway. Mol. Plant Microbe Interact. 11(11): 1057-1068.

Bosch, R., Garcia-Valdes, E., and Moore, E. R. B. 1999. Genetic characterization and evolutionary implications of a chromosomally encoded naphthalene-degradation upper pathway from *Pseudomonas stutzeri* AN10. Gene. 236: 149-157.

Cerniglia, C. E. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Biodegradation. 3: 351-368.

Churchill, S. A., Harper, J. P., and Churchill, P. F. 1999. Isolation and characterization of a *Mycobacterium* species capable of degrading three- and four-ring aromatic and aliphatic hydrocarbons. Appl. Environ. Microbiol. 65(2): 549-552.

Davies, J. I., and Evans, W. C. 1964. Oxidative metabolism of naphthalene by soil pseudomonads: The ring-fission mechanism. Biochem. J. 91: 251-261.

Denome, S. A., Stanley, D. C., Olson, E. S., and Young, K. D. 1993. Metabolism of dibenzothiophene and naphthalene in *Pseudomonas* strains: complete DNA sequence of an upper naphthalene catabolic pathway. J. Bacteriol. 175: 6890-6901.

Eaton, R. W., and Chapman, P. J. 1992. Bacterial metabolism of naphthalene: Construction and use of recombinant bacteria to study ring cleavage of 1,2-dihydroxynaphthalene and subsequent reactions. J. Bacteriol. 174: 7542-7554.

Eggink, G., Engel, H., Vriend, G., Terpstra, P., and Witholt, B. 1990. Rubredoxin reductase of *Pseudomonas oleovorans*: structural relationship to other flavoprotein oxidoreductases based on one NAD and two FAD fingerprints. J. Mol. Biol. 212: 135-142.

Ellis, B., Harold, P., and Kronberg, H. 1991. Bioremediation of a creosote contaminated site. Environ. Technol. 12: 447-459.

Ensley, B. D., and Gibson, D. T. 1983. Naphthalene dioxygenase: Purification and properties of a terminal oxygenase component. J. Bacteriol. 155: 505-511.

Ensley, B. D., Gibson, D. T. and Laborde, A. L. 1982. Oxidation of naphthalene by a multicomponent enzyme system from *Peudomonas* sp. strain NCIB 9816. J. Bacteriol. 149: 948-954.

Ensley, B. D., Ratzkin, B. J., Osslund, T. D., Simon, M. J., Wackett, L. P., and Gibson, D. T. 1983. Expression of naphthalene oxidation genes in *Escherichia coli* results in the biosynthesis of indigo. Science. 222: 167-169.

Fieser, L. F., and Fieser, M. 1961. Advanced organic chemistry. New York: Reinhold Publishing.

Foght, J. M., and Westlake, D. W.S. 1996. Transposon and spontaneous deletion mutants of plasmid-borne genes encoding polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by a strain of *Pseudomonas fluorescens*. Biodegradation. 7: 353-366.

Gibson, D. T., and Subramanian, V. 1984. Microbial degradation of aromatic hydrocarbons. In: Microbial Degradation of Organic Compounds. pp. 181-252. Gibson, D. T. (ed.). New York: Marcel Dekker.

Goyal, A. K., and Zylstra, G. J. 1996. Molecular cloning of novel genes for polycyclic aromatic hydrocarbon degradation from *Comamonas testosteroni* GZ39. Appl. Environ. Microbiol. 62: 230-236.

Hamann, C., Hegemann, J., and Hildebrandt, A. 1999. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation genes in different soil bacteria by polymerase chain reaction and DNA hybridization. FEMS Microbiol. Lett. 173: 255-263.

Hanahan, D. 1983. Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmids. J. Mol. Biol. 166: 557-580.

Harayama, S. 1997. Polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation design. Curr. Opin. Biotechnol. 8: 268-273.

Harwood, C. S., Nichols, N. N., Kim, M, Ditty, J. L., and Parales, R. E. 1994. Identification of the *pcaRKF* gene cluster from *Pseudomonas putida:* involvement in chemotaxis, biodegradation, and transport of 4-hydroxybezoate. J. Bacteriol. 176 (21): 6479-6488.

Herrick, J. B., Madsen, E. L., Batt, C. A., and Ghiorse, W. C. 1993. Polymerase chian reaction amplification of naphthalene-catabolic and 16S rRNA gene sequences from indigenous sediment bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 59(3): 687-694.

Horn, J. M., Harayama, S., and Timmis, K. N. 1991. DNA sequence determination of the TOL plasmid (pWWO) *xylGFJ* genes of *Pseudomonas putida*: implications for the evolution of aromatic catabolism. Mol. Microbiol. 5: 2459-2474.

Iurescia, S., Marconi, A. M., Tofani, D., Gambacorta, A., Paterno, A., Devirgilliis, C., van der Werf, M. J., and Zennaro, E. 1999. Identification and sequencing of β-myrcene catabolism genes from *Pseudomonas* sp. strain M1. Appl. Environ. Microbiol. 65 (7): 2871-2876.

Iwabuchi, T., and Harayama, S. 1997. Biochemical and genetic characterization of 2-carboxybenzaldehyde dehydrogenase, an enzyme involved in phenanthrene degradation by *Nocardioides* sp. strain KP7. J. Bacteriol. 179(20): 6488-6494.

Kaneko, T., Nakamura, Y., Sato, S., Asamizu, E., Kato, T., Sasamoto, S., Watanabe, A., Idesawa, K., Ishikawa, A., Kawashima, K., Kimura, T., Kishida, Y., Kiyokawa, C., Kohara, M., Matsumoto, M., Matsuno, A., Mochizuki, Y., Nakayama, S., Nakazaki, N., Shimpo, S., Sugimoto, M., Takeuchi, C., Yamada, M., and Tabata, S. 2000.

Complete genome structure of the nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Mesorhizobium loti*. DNA Res. 7(6): 331-8.

Kasuga, K., Nojiri, H., Yamane, H., Kodama, T., and Omori, T. 1997. Cloning and characterization of the genes involved in the degradation of dibenzofuran by *Terrabacter* sp. strain DBF63. J. Ferment. Bioeng. 84(5): 387-399.

Keith, L. H., and Telliard, W. A. 1979. Priority pollutants. I. A perspective view. Environ. Sci. Technol. 13: 416-423.

Kim, E., Zylstra, G. J., Freeman, J. P., Heinze, T. M., Deck, J., and Cerniglia, C. E. 1997. Evidence for the role of 2-hydroxychromene-2-carboxylate isomerase in the degradation of anthracene by *Sphingomonas yanoikuyae* B1. FEMS Microbiol. Lett. 153: 479-484.

Kiyohara, H., Torigoe, S., Kaida, N., Asaki, T., Iida, T., Hayashi, H., and Takizawa, N. 1994. Cloning and characterization of a chromosomal gene cluster, *pah*, that encodes the upper pathway for phenanthrene and naphthalene utilization by *Pseudomonas putida* OUS82. J. Bacteriol. 176(8): 2439-2443.

Komatsu, T, Omori, T., and Kodama, T. 1993. Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons acenaphthene and acenaphthylene by a pure bacterial culture. Biosci. Biotech. Biochem. 57(5): 864-865.

Kurkela, S., Lehväslaiho, H., Palva, E. T., and Teeri, T. H. 1988. Cloning, nucleotide sequence and characterization of genes encoding naphthalene dioxygenase of *Pseudomonas putida* strain NCIB 9816. Gene. 73: 355-362.

LaFlamme, R. E., and Hites, R. A. 1978. The global distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediment. Geochim. Cosmochim. Acta. 42: 289-303.

Laurie, A. D., and Lloyd-Jones, G. 1999. The *phn* genes of *Burkholderia* sp. strain RP007 constitute a divergent gene cluster for polycyclic aromatic hydrocarbon catabolism. J. Bacteriol. 181(2): 531-540.

Laurie, A. D., and Lloyd-Jones, G. 2000. Quantification of *phnAc* and *nahAc* in contaminated New Zealand soils by competitive PCR. Appl. Environ. Microbiol. 66 (5): 1814-1817.

LaVoie, E. J. and Rice, J. E. 1988. Structure-activity relationships among tricyclic polynuclear aromatic hydrocarbons. In: Polycyclic Aromatic Hydrocarbon

Carcinogenesis: Structure-Activity Relationships. pp. 151-156. vol. 1. Yang, S. K., and Silverman, B. D. (eds.). (n.p.): CRC Press.

Lederer, W. H. 1985. Acenaphthylene. In: Regulatory Chemicals of Health and Environmental Concern. p.1. Lederer, W. H. (ed.). (n.p.): Van Nostrand Reinhold Company.

Lijinsky, W. 1991. The formation and occurrence of polynuclear aromatic hydrocarbons associated with food. Mutat. Res. 259: 251-261.

Mattox, C. F., and Humennick, M. J. 1980. Organic groundwater contaminants from UCG. In Situ. 4: 129-151.

Monticello, D. J., Bakker, D., Schell, M., and Finnerty, W. R. 1985. Plasmid-borne Tn*5* insertion mutation resulting in accumulation of gentisate from salicylate. Appl. Environ. Microbiol. 49 (4): 761-764.

Neurath, G. B. 1972. Recent advances in knowledge of the chemical composition of tobacco smoke. In: The Chemistry of Tobacco and Tobacco smoke. pp. 77-97. Schmeltz, I. (ed.). New York: Plenum Publishing.

Reznikoff, W. S. 1993. The Tn*5* transposon. Annu. Rev. Microbiol. 47: 945-63.

Rich, J. J., and Willis, D. K. 1990. A single oligonucleotide can be used to rapidly isolate DNA sequences flanking a transposon Tn*5* insertion by the polymerase chian reaction. Nucleic Acids Res. 18(22): 6673-6676.

Romine, M. F., Still Well, L. C., Wong, K.-K., Thurston, S. J., Sisk, E. C., Sensen, C., Gaasterland, T., Fredrickson, J. K., and Saffer, J. D. 1999. Complete sequence of a 184-kilobase catabolic plasmid form *Sphingomonas aromaticivorans* F199. J. Bacteriol. 181(5): 1585-1602.

Sambrook, J., and Russell, D. W. 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Sanseverino, J., Applegate, B. M., Henry King, J. M., and Sayler, G. S. 1993. Plasmid-mediated mineralization of naphthalene, phenanthrene, and anthracene. Appl. Environ. Microbiol. 59(6): 1931-1937.

Schell, M. A. 1983. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the naphthalene degradation genes from plasmid NAH7. J. Bacteriol. 153: 822-829.

Schocken, M. J., and Gibson, D. T. 1984. Bacterial oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons acenaphthene and acenaphthylene. Appl. Environ. Microbiol. 48(1): 10-16.

Selifonov, S. A., Grifoll, M., Eaton, R. W., and Chapman, P. J. 1996. Oxidation of naphthenoaromatic and methyl-substituted aromatic compounds by naphthalene 1,2-dioxygenase. Appl. Environ. Microbiol. 62(2): 507-514.

Sims, J. L., Sims, R. C., and Matthews, J. E. 1990. Approach to bioremediation of contaminated soil. Haz. Waste Haz. Matter. 7: 117-149.

Simon, M. J., Osslund, T. D., Saunders, R., Ensley, B. D., Suggs, S., Harcourt, A., Suen, W., Cruden, D. L., Gibson, D. T., and Zylstra, G. J. 1993. Sequences of genes encoding naphthalene dioxygenase in *Pseudomonas putida* strains G7 and NCIB 9816-4. Gene. 127: 31-37.

Simon, R., Priefer, U., and Puehler, A. 1983. A broad host range mobilization system for *in vivo* genetic engineering: transposon mutagenesis in gram negative bacteria. Bio/Thecnol. 1: 784-791.

Stover, C. K., Pham, X. Q., Erwin, A. L., Mizoguchi, S. D., Warrener, P., Hickey, M. J., Brinkman, F. S. L., Hufnagle, W. O., Kowalik, D. J., Lagrou, M., and Garber, R. L. 2000. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. Nature. 406: 959-964.

Takizawa, N., Kaida, N., Torigoe, S., Moritani, T., Sawada, T., Satoh, S., and Kiyohara, H. 1994. Identification and characterization of genes encoding polycyclic aromatic hydrocarbon dioxygenase and polycyclic aromatic hydrocarbon dihydrodiol dehydrogenase in *Pseudomonas putida* OUS82. J. Bacteriol. 176: 2444-2449.

Werwath, J., Arfmann, H., Pieper, D. H., Timmis, K. N., and Wittich, R. 1998. Biochemical and genetic characterization of a gentisate 1,2-dioxygenase from *Sphingomonas* sp. strain RW5. J. Bacteriol. 180(16): 4171-4176.

Wilson, M. S., Bakermans, C., and Madsen, E. L. 1999. In situ, real-time catabolic gene expression: extraction and characterization of naphthalene dioxygenase mRNA transcripts from groundwater. Appl. Environ. Microbiol. 65(1): 80-87.

Yang, Y., Chen, R. F., and Shiaris, M. P. 1994. Metabolism of naphthalene, fluorene, and phenanthrene: preliminary characterization of a cloned gene cluster from *Pseudomonas putida* NCIB 9816. J. Bacteriol. 176(8): 2158-2164.

Yanisch-Perron, C., Vieira, J., and Messing, J. 1985. Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. Gene. 33: 103-119.

Yen, K. M., and Gunsalus, I. C. 1982. Plasmid gene organization: Naphthalene/salicylate oxidation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 79: 874-878.

Yen, K. M., and Serdar, C. M. 1988. Genetics of naphthalene catabolism in *Pseudomonas*. Crit. Rev. Microbiol. 15: 247-268.

Zhou, N., Fuenmayor, S. L., and Williams, P. A. 2001. *nag* Genes of *Ralstonia* (formerly *Pseudomonas*) sp. strain U2 encoding enzymes for gentisate catabolism. J. Bacteriol. 183(2): 700-708.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Luria-Bertani (LB broth)

ทริปโตน (tryptone)	10.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	5.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม

ละลายสารสามชนิดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 7.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Luria-Bertani (LB agar)

เตรียมอาหารด้วยวิธีเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB แต่ละลายวุ้น 15 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร เพิ่มลงไป จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 2YT (2YT broth)

ทริปโตน (tryptone)	16.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม

ละลายสารสามชนิดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 7.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

ภาคผนวก ข

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. กลีเซอรอล

นำกลีเซอรอลมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำอีกรอบหนึ่ง

2. สารปฏิชีวนะ

สารปฏิชีวนะ	ความเข้มข้นของสารละลาย
กานามัยซิน	50 มก./น้ำ 1 มล.
แอมพิซิลลิน	100 มก./น้ำ 1 มล.

กานามัยซินและแอมพิซิลลินทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองสารละลายผ่านชุดกรองสำเร็จรูปชนิดเซลลูโลสอะซีเตทขนาดรูกว้าง 0.45 ไมโครเมตร เก็บรักษาไว้ในหลอดไมโครฟิวจ์ที่อุณหภูมิ -20 ^{o}ซ เมื่อนำมาใช้แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ ได้นาน 1 เดือน

3. ชุดสกัดพลาสมิดปริมาณน้อย QIAprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Germany)

ประกอบด้วย

- Buffer P1
- Buffer P2
- Buffer N3
- Buffer PB
- Buffer PE
- Rnase A
- Collection tube
- QIAprep Spin colum

ก่อนใช้ชุดสกัดพลาสมิดครั้งแรกให้เติม RNase A ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน Buffer P1 และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ และเติมเอธานอลปริมาตร 24 มล. ลงใน Buffer PE

4. **ชุดสกัดดีเอ็นเอออกจากอะกาโรสเจล** Geneclean II Kit (BIO101, USA)

ประกอบด้วย

NaI solution

Glassmilk

New wash

ทำการสกัดพลาสมิดตามกรรมวิธีที่ให้โดยบริษัทผู้ผลิต

5. **สารละลาย** 10%SDS

ชั่ง sodium dodecyl sulfate น้ำหนัก 10 กรัม ค่อยๆ ละลายในน้ำปลอดประจุที่อุณหภูมิ 60 ^{o}ซ ปริมาตร 80 มล. เมื่อละลายหมดเติมน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 100 มล. . นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที (หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อครั้งแรกแล้วจะไม่สามารถนำไปนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำได้อีกเพราะสารละลาย SDS จะเสียสภาพ)

6. Denaturation buffer

โซเดียมไฮดรอกไซด์	0.5 โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	1.5 โมลาร์

ละลายโซเดียมคลอไรด์ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. จนหมดแล้วจึงละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เติมน้ำน้ำปลอดประจุจนครบปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

7. Neutralization buffer

Trismabase	0.5 โมลาร์

โซเดียมคลอไรด์	3.0 โมลาร์

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น เติมน้ำปลอดประจุจนครบปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

8. สารละลาย 20XSSC

โซเดียมคลอไรด์	3.0 โมลาร์
โซเดียมอะซีเตต (CH_3COONa)	0.3 โมลาร์

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

9. สารละลาย 2XSSC

ละลาย 20XSSC ปริมาตร 10 มล. ในน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 100 มล. ผสมให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

10. สารละลาย 2XSSC/0.1%SDS

ละลาย 20XSSC ปริมาตร 10 มล. ในน้ำปลอดประจุ 89 มล. ผสมให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 10%SDS ปริมาตร 1 มล. ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดลอง

11. สารละลาย 0.5XSSC/0.1%SDS

ละลาย 20XSSC ปริมาตร 2.5 มล. ในน้ำปลอดประจุ 96.5 มล. ผสมให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 10%SDS ปริมาตร 1 มล. ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดลอง

12. **ชุดติดฉลากและติดตามตำแหน่งดีเอ็นเอ** DIG High Prime DNA labeling and detection starter kit I (Roche, Germany)

ประกอบด้วย

หลอดหมายเลข 1. DIG-High Prime, 5X conc.

หลอดหมายเลข 2. DIG-labeled control DNA 5 µg/ml

หลอดหมายเลข 3. DNA dilution buffer

หลอดหมายเลข 4. Anti-Digoxygenin-AP Conjugate 750 U/ml

หลอดหมายเลข 5. NBT/BCIP, 50X conc.

ขวดหมายเลข 6. Blocking solution, 10X conc.

ขวดหมายเลข 7. DIG Easy Hyb Granules (add 64 ml sterile double distilled water, dissolve at 37 ^{o}C)

และสารละลายที่ต้องเตรียมเพิ่มในการทดลองเป็นดังนี้

Maleic acid buffer

กรดมาเลอิก	0.1 โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	0.15 โมลาร์

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็น 7.5 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

Blocking solution

ละลาย 10X blocking solution ใน Maleic acid buffer ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วด้วยอัตราส่วน 1 ต่อ 9 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดลอง

Detection buffer

Trismabase	0.1	โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	0.1	โมลาร์

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 9.5 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

13. สารละลาย Tris-HCl เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0

Trismabase ($C_4H_{11}NO_3$)	121.1	กรัม
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	42	มล.

ละลาย Trismabase ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น คนให้เข้ากันรอให้เย็นลงแล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 8.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

14. สารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0

EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \bullet 2H_2O$)	186.1	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	20	กรัม

ละลาย EDTA ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. จากนั้นเติมเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์ คนให้เข้ากันรอให้เย็นลงแล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 8.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

15. บัฟเฟอร์ TE ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0

Tris-HCl	10.0	มิลลิโมลาร์
EDTA	1.0	มิลลิโมลาร์

ผสมสารละลาย Tris-HCl เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ปริมาตร 10 มล. เข้ากับสารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ปริมาตร 2 มล. เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

16. บัฟเฟอร์ 50X Tris-acetate (TAE)

Tris base	242	กรัม
กรดอะซีติกเข้มข้น	57.1	มล.
สารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 8.0	100	มล.

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. แล้วเติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

17. สารละลาย CTAB/NaCl (10%CTAB ใน 0.7 M NaCl)

CTAB	10	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	0.7	โมลาร์

ละลาย CTAB ในน้ำปลอดประจุที่อุณหภูมิ 60 ^{o}ซ ปริมาตร 80 มล. จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เมื่อละลายหมดแล้วเติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 100 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

18. สารละลายฟีนอล (phenol)

นำฟีนอลในรูปเกล็ดของแข็งมาหลอมเหลวในน้ำอุ่นที่ 68 °ซ จากนั้นเติมผง Hydroxy quinoline .ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.1% แล้วเติม Tris-HCl เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ใช้ magnetic stirrer ค่อยๆคนเป็นเวลาประมาณ 15 นาที ดูดน้ำใสส่วนบนทิ้ง เติม Tris-HCl เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ลงไปอีกครั้ง ค่อยๆคนเป็นเวลาประมาณ 15 นาที แล้วดูดน้ำใสส่วนบนทิ้ง ทำเช่นนี้ต่อไปเรื่อยๆจนกระทั่งได้สารละลายที่ความเป็นกรด-ด่างมากกว่า 7.8 (ใช้ pH paper วัด) สุดท้ายเติม Tris-HCl เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ที่ผสม β-mercaptoethanol ปริมาตร 0.1 เท่าของสารละลายที่ได้ เก็บที่อุณหภูมิ 4 °ซ ในขวดสีชาที่ปิดฝาแน่นได้ประมาณ 1 เดือน

19. สารละลายฟีนอล/คลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

ผสมสารละลายฟีนอลอิ่มตัวด้วย Tris-HCl เข้ากับคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ เป็น 25 : 24 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร) ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °ซ

20. สารละลายคลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

ผสมคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์เข้าด้วยกันในอัตราส่วน 24 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ

21. สารละลายสำหรับการสกัดพลาสมิด

สารละลาย I

กลูโคส	50	มิลลิโมลาร์
สารละลาย Tris-HCl ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0	25	มิลลิโมลาร์
สารละลาย EDTA ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0	10	มิลลิโมลาร์

ผสมส่วนผสมทั้งหมดข้าด้วยกันแล้วเติมน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที

สารละลาย II

ผสมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 10 นอร์มัล ปริมาตร 0.2 มล. เข้ากับน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อปริมาตร 8.8 มล. แล้วเติมสารละลาย 10%SDS ปริมาตร 1.0 มล. เตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง

สารละลาย III

ผสมสารละลายโพแทสเซียมอะซีเตทเข้มข้น 5.0 โมลาร์ ปริมาตร 50 มล. กับกรดอะซีติกเข้มข้นปริมาตร 11.50 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

22. Loading dye

Bromphenolblue	0.025 %
ซูโครส	40 %

ละลายส่วนผสมในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ

23. **สารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ในบัฟเฟอร์** TAE

ละลายผงเอธิเดียมโบรไมด์ในบัฟเฟอร์ TAE ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทในที่มืด

24. **สารละลายโซเดียมอะซีเตท เข้มข้น 3 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ** 5.2

ละลายโซเดียมอะซีเตท น้ำหนัก 204 กรัม ในน้ำปลอดประจุให้ได้ปริมาตรประมาณ 400 มล. นำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 5.2 ด้วยกรดอะซีติกปริมาตรประมาณ 57 มล. เติมน้ำปลอดประจุให้ได้ปริมาตรครบ 500 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

25. สารละลายโปรตีเนสเค (proteinaseK) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผงโปรตีนเนสเคน้ำหนัก 20 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ -20 ^{o}ซ

26. สารละลาย RNase A เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผง RNase A น้ำหนัก 10 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ -20 ^{o}ซ

27. สารละลาย X-gal ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผง X-gal น้ำหนัก 500 มก. ในสารละลาย dimethylformamide ให้ครบปริมาตร 10 มล. เก็บที่อุณหภูมิ -20 ^{o}ซ ในหลอดปิดสนิทและมืด

28. สารละลาย IPTG ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

ละลายผง IPTG น้ำหนัก 0.2 กรัม ในน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 10 มล. กรองผ่านหัวกรองฆ่าเชื้อ เก็บที่อุณหภูมิ -20 ^{o}ซ

29. สารละลายผสม dNTP ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (ของแต่ละตัว)

ผสม dATP, dGTP, dCTP และ dTTP ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ด้วยปริมาตรสารละ 10 ไมโครลิตร เข้าด้วยกันแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้เป็น 100 ไมโครลิตร เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ –20 ^{o}C

ภาคผนวก ค

การเปรียบเทียบความเหมือนของกรดอะมิโนโดยโปรแกรม BlastX version 2.2.1

Query หมายถึง ลำดับกรดอะมิโนในงานวิจัยนี้

Sbjct หมายถึง ลำดับกรดอะมิโนที่เปรียบเทียบใน GenBank

\+ หมายถึง กรดอะมิโนในกลุ่มเดียวกัน

1. ผลจากการเทียบความเหมือนของ ORF1

```
gi|3411185|gb|AAC31188.1|  (AF076240) putative ferredoxin reductase MocF
[Rhizobium leguminosarum bv. viciae]   Length = 421

 Score = 67.8 bits (164), Expect = 1e-10
 Identities = 47/142 (33%), Positives = 66/142 (46%), Gaps = 8/142 (5%)
 Frame = +2

Query: 1   DPAIFSAGDCTRFPGP---TGPVRLENWMHALDHGTVAGANAAGGDIAYEAKPSFWSEQY 57
           DP IF+AGDC  FP        VRLE W +A D G +  AN  G  +A  + P FWS+QY
Sbjct: 278 DPDIFAAGDCCSFPLSHYRERRVRLEAWRNAQDQGMLVAANLLGRGLAIASVPWFWSDQY 337

Query: 58  DLYIQGIGWPDPDASRVTRPLDGNRALVVEMK-NGLIQSALGIN----VSXXXXXXXXXX 112
           +L +Q  G  D  A+ V R LD    ++  +     + +A GI     V+
Sbjct: 338 ELTLQIAGLSDGAATTVRRDLDQGAFILFHLDGEDRLIAASGIGPGNAVARDIRLAEMLI 397

Query: 113 XXXXEVDPVAVADPERPFADML 134
               +DP A+A P+     +L
Sbjct: 398 AAKRRLDPEALASPKTNLKKLL 419
```

2. ผลจากการเทียบความเหมือนของ ORF2

```
gi|3820516|gb|AAD09869.1|  (AF061751) hydratase/aldolase PhnE [Burkholderia
sp. RP007]   Length = 330

 Score =  218 bits (554), Expect = 7e-56
 Identities = 127/329 (38%), Positives = 181/329 (54%), Gaps = 7/329 (2%)
 Frame = +2

Query: -2   KTMLTAADIHGMYAIIATPAKPHAGRLDAKDTVDLAETERLINKLILDGCDGLIITGTTG 58
           K  L   D++G + I+ TPAKP A    A DTVDL ET R++  LI  G +G++  GT G
Sbjct: 6    KQRLGTEDVNGAWVIMPTPAKPEASDWRATDTVDLDETARIVEALIDSGVNGILSLGTFG 65

Query: 59   ECATLSESDYRAFVDCALSTVNRRIPTIVGATAMGGHEVVRRLTFIREQGADATLLGLPM 118
           ECATL+  + +AF+   + T   R+P   G TA+   EVVR+     + G D T+LG+PM
Sbjct: 66   ECATLTWEEKQAFIGAVVETTRGRVPFFCGTTALNTREVVRQTRAALDIGVDGTMLGVPM 125

Query: 119  WQPVTTRMAVDYYAGISELFPDLAIMAYANARAFRFSFPLEFWSAVAQAAPTVTSAKYSR 178
           W  +    AV +Y  ++E  P+ AI  YANA AF+F FP  FW+ VAQ  P V +AKY
Sbjct: 126  WSRMEVPAAVQFYRDVAEACPEAAIAVYANADAFKFEFPRAFWAQVAQ-IPQVVTAKYLG 184
```

```
Query: 179  TQGLKELIAATGGRINFMPNEMVVQDFFA---IAPNTTTACWATASGMNPAPAIALMRAI 235
              G+ +L       I F+P+E    D++A   +AP   TA W++ +   PA AI L   +
Sbjct: 185  I-GMLDLDLTLAPGIRFLPHE---DDYYAAARVAPERVTAFWSSGAMCGPATAIRLRDEV 240

Query: 236  EARNQDA----IHTLTAAIGWANEPIQPMLADADLFAQYNIQMEKTRINAAGYSQCGPVR 291
                 Q         L+ A+  A+  + P   D   F++YNI +EK R+NAAG+ + GP R
Sbjct: 241  AKAKQTGDWRLAKELSDAMRRADATLFPR-GDFAEFSKYNIAIEKERMNAAGWLRAGPCR 299

Query: 292  PPYQDFPEDYAAQARECGQRWHRICDAYA 320
             PPY   PE+Y   AR+ G+ W  +   Y+
Sbjct: 300  PPYHIAPEEYLDGARQSGRAWAELHQQYS 328
```

3. ผลจากการเทียบความเหมือนของ ORF3

gi|2588986|dbj|BAA23265.1| (AB000735) 2-carboxybenzaldehyde dehydrogenase [Nocardioides sp.]
gi|3288683|dbj|BAA31236.1| (D89989) 2-carboxybenzaldehyde dehydrogenase [Nocardioides sp. KP7] Length = 485

Score = 402 bits (1032), Expect = e-111
Identities = 214/456 (46%), Positives = 290/456 (62%), Gaps = 1/456 (0%)
Frame = +2

```
Query: 29   NPADETAIGRVPAGTREDVDRXXXXXXXXXXXXXSKTPKERGETMRAFGEKIRARATEIL 88
             +P+    + +VP     DVDR             +  P+ R   +R     +R    E
Sbjct: 31   DPSTGRYLTQVPDCAEADVDRAVQASRQAQAEWGALPPRARAAKLRELITLLREHREEFA 90

Query: 89   HVEVADTGNTITPMRGDVGHAVDSLNYYAGIAHELKGETIPATPDHLHLTIREPYGVVAR 148
              ++  D G  I+ MR DV  A++ ++ +A +A +L G+TIP + + LH T  EP+GVVAR
Sbjct: 91   MLDAIDGGFPISMMRNDVDAALELMDIFADMALDLGGKTIPVSTN-LHFTTHEPFGVVAR 149

Query: 149  IVPFNHPLMFXXXXXXXXXXXXXXVIVKPPETSPLSAMVLAEIAREALPPGVFNIVTGTG 208
             I  FNHP  F               VI+K P+ +PLS++ LAE+A E LP  +   ++G G
Sbjct: 150  IGAFNHPFFFAASKVAAPLMAGNSVILKAPDQTPLSSLRLAEVAAEVLPQNLLITISGRG 209

Query: 209  PSVGEAIVRHPEIKRIAFIGSAATGRAIQRTAAEVSVKHVTLELGGKNPMIVFPDNDPDE 268
                G AIVRHP+IKRI FIGS  TGR+IQR AAEV+VKH++LELGGKN  IVF D D ++
Sbjct: 210  RVAGRAIVRHPQIKRIGFIGSTDTGRSIQRDAAEVAVKHISLELGGKNAQIVFADADLEQ 269

Query: 269  IAQAAVKGMNFTW-QGQSCGSTSRLMVHEDLYDAVLERVANIVASLRVGDPMRDDSDMGP 327
              A  AV GMNFTW  GQSCGSTSRL+VHE + D V+ RV  +V+++ VG P+ +++ MGP
Sbjct: 270  AALGAVNGMNFTWTAGQSCGSTSRLLVHESVADQVIARVVELVSAIAVGPPLDENAQMGP 329

Query: 328  INSAGQYRKVMGYIESGNAEGARLVTGGNRPDGQAFAKGYWVRPTVFADVDPHMRIWREE 387
             + S  QY K +  I  G  EGA++V GG RP+G      G+++ PTV ADV P   I + E
Sbjct: 330  LVSQAQYDKSVHAIGEGIREGAKVVAGGGRPEGVG-EGGWYLAPTVLADVRPGSFIEQNE 388

Query: 388  IFGPVLSVSKWHSVDEAIRLANGVEYGLTASIWTKDIKNALNTARRIDAGHIWINGVGPH 447
             IFGPVLSV  + + DEA+ +ANGVEYGLTAS+WT DI  A   ARR++AG++ +NG   H
Sbjct: 389  IFGPVLSVIIFATDDEAVAIANGVEYGLTASVWTSDITRAHLIARRVEAGYVLVNGGSRH 448

Query: 448  YLGVPYGGMKNSGVGREEGIEEMLSYTETKVLNIVL 483
             Y G+P+GG+K+SGVG EE +EE++SYTETK   +VL
Sbjct: 449  YWGLPFGGVKSSGVGSEESMEELISYTETKTTTVVL 484
```

4. ผลจากการเทียบความเหมือนของ ORF4

```
gi|13475667|ref|NP_107234.1|  (NC_002678) similar to adducins [Mesorhizobium
loti]
gi|14026423|dbj|BAB53020.1|  (AP003010) similar to adducins [Mesorhizobium
loti]   Length = 234

 Score =  164 bits (414), Expect = 7e-40
 Identities = 89/230 (38%), Positives = 133/230 (57%)
 Frame = +3

Query: 31  DLVAANHILFDQGVVDAFGHVSVRHDKQQDRYLLARNMAPGQVSADDIIEFTFDGEAVNG 90
           +LV A  IL ++G++D FGH+S R  +    + LA+ +AP  ++ DDI  F  DGE  +
Sbjct: 8   ELVTATKILLNEGIMDTFGHISARDPEDPASFFLAQKLAPSLITVDDIQRFNLDGETSDN 67

Query: 91  RERRVYLERFIHAELYRARPDVIAVVHSHSHSILPLTISKSVRLRSVFHMAGFIGQDAPL 150
           R    YLER+IH+E+Y+ RPDV  V+H+HS ++LP     +  LR V HM  FIG+  P+
Sbjct: 68  RPS--YLERYIHSEIYKTRPDVQCVLHTHSPAVLPYCFVDTP-LRPVTHMGAFIGESVPV 124

Query: 151 FEIRDHGGPATDLLISNSELGHALAACCGERNIVLMRGHGSTVVADSLPRAVYRAVYAEL 210
           +EIRD  G  TDL   + ++   +A   G + +VLM  HG   V  S+   V+RA Y E
Sbjct: 125 YEIRDKHGDETDLFGGSPDVCADIAESLGSQTVVLMARHGVVNVGKSVREVVFRAFYLEQ 184

Query: 211 NARYQCDAIGLGDVEYLTEAECETSVRNVEAQWHRPWALWKEQAAERRAG 260
            A      + +G+V+YL+  E +T+ + V AQ  R W  W ++   R+AG
Sbjct: 185 EAAALTAGLKIGNVKYLSPGEIKTAGKLVGAQIDRGWNHWSQRL--RQAG 232
```

5. ผลจากการเทียบความเหมือนของ ORF5

```
gi|15596846|ref|NP_250340.1|  (NC_002516) probable short-chain dehydrogenase
[Pseudomonas aeruginosa]
gi|11351847|pir||F83440  probable short-chain dehydrogenase PA1649
[imported] - Pseudomonas aeruginosa (strain PAO1)
gi|9947618|gb|AAG05038.1|AE004592_9  (AE004592) probable short-chain
dehydrogenase [Pseudomonas aeruginosa]  Length = 253

 Score = 64.7 bits (156), Expect = 5e-10
 Identities = 32/73 (43%), Positives = 46/73 (62%)
 Frame = +2

Query: 1   MGNRLDEKVCVITGAAQGIGQGCALEMAVQGGRIVVSDRNVAGGEETVRQIVELGGEAIF 60
           M   L  +V ++TG A GIG+  AL  A  G ++VV+D + AGGE TV  I + GGEA+F
Sbjct: 1   MSKLLSGQVALVTGGAAGIGRATALAFAAAGVKVVVADLDSAGGEGTVEAIRQAGGEALF 60

Query: 61  VACDVRNRDDLEA 73
           + CDV    +++A
Sbjct: 61  IRCDVTRDAEVKA 73
```

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวทิพวรรณ ล้อรัตนไชยยงค์ เกิดเมื่อวันที่ 24 สิงหาคม พ.ศ. 2520 ที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิตเกียรตินิยมอันดับสอง สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2541 และเข้ารับการศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2542