หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

นพรัตน์ วานิชสุขสมบัติ. 2545. การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp.สายพันธุ์ A41 โดยใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อารีย์ กังฉิน. 2542. การแยกจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Abalos, A., Pinazo, A., Infante, M.R., Casals, M., Garcia, F. and Manresa, A. 2001. Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes. Langmuir. 17: 1367-1371.

Achenbach, L.A., Carey, J. and Madigan, M.T. 2001. Photosynthetic and phylogenetic primers for detection of anoxygenic phototrophs in natural environments. Appl. Environ. Microbiol. 67: 2922-2926.

Adhya, S., and Garges, S. 1990. Positive control. Minireview. J. Biol. Chem. 265: 10797-10800.

Al-Tahhan, R.A., Sandrin, T.R., Bodour, A.A and Maier, R.M. 2000. Rhamnolipid-induced removal of lipopolysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa*: effect on cell surface properties and interaction with hydrophobic substrates. Appl. Environ. Microbiol. 66: 3262-3268.

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.

Babu, P.S., Vaidya, A.N., Bal, A.S., Kapur, R., Juwarkar, A. and Khanna, P. 1996. Kenetics of biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* strain BS2 from industrial waste. Biotechnol Lett. 18: 263 – 268.

Bai, G., Brusseau, M.L. and Miller, R.M. 1997. Influence of a rhamnolipid biosurfactant on the transport of bacteria through a sandy soil. Appl. Environ. Microbiol. 63: 1866-1873.

Banat, I.M., Makkar, R.S. and Cameotra, S. S. 2000. Potential commercial applications of microbial surfactants. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2000. 53: 495-508.

Baath, E. 1989. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations. Water Air Soil Pollut. 47: 335-379.

Beal, R. and Betts, W.B. 2000. Role of rhamnolipid biosurfactants in the uptake and mineralization of hexadecane in *Pseudomonas aeruginosa*. J. Appl. Microbiol. 89: 158-168.

Bergstrom, S., Theorell, H. and Davide, H. 1946. On a metabolic product of *Ps Pyocyanea*, pyolipic acid, active against *Myobact. tuberculosis*. Ark Kem Mineral Geol 23A: 1-12.

Bertrand, J.C., Bonin, P., Goutex, M. and Mille, G. 1994. The potential application of biosurfactant in combating hydrocarbon pollution in marine environments. Res. Microbiol. 145: 53-56.

Bloomberg, G. 1991. Designing proteins as emulsifiers. Lebensmitteltechnologie. 24: 130-131.

Bodour, A.A., Drees, K.P. and Maier, R.M. 2003. Distribution of biosurfactant-producing bacteria in undisturbed and contaminated arid southwestern soils. Appl. Environ. Microbiol. 69: 3280-3287.

Borgman, U. and Norwood, W.P. 1995. EDTA toxicity and background concentrations of copper and zinc in Hyalella-Azteca. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 52: 875-881.

Bourret, R.B., Borkovich, K.A. and Simon, M.I. 1991. Signal transduction pathways involving protein phosphorylation in prokaryotes. Annu. Rev. Biochem. 60: 401-441.

Brown, M.J. 1991. Biosurfactants for cosmetic applications. Int. J. Cosmet. Sci. 13: 61-64.

Buell,C.R., Joardar,V., Lindeberg,M., Selengut,J., Paulsen,I.T., Gwinn,M.L., Dodson,R.J., Deboy,R.T., Durkin,A.S., Kolonay,J.F., Madupu,R., Daugherty,S., Brinkac,L., Beanan,M.J., Haft,D.H., Nelson,W.C., Davidsen,T., Zafar,N., Zhou,L., Liu,J., Yuan,Q., Khouri,H., Fedorova,N., Tran,B., Russell,D., Berry,K., Utterback,T., Van Aken,S.E., Feldblyum,T.V., D'Ascenzo,M., Deng,W.L., Ramos,A.R., Alfano,J.R., Cartinhour,S., Chatterjee,A.K., Delaney,T.P., Lazarowitz,S.G., Martin,G.B., Schneider,D.J., Tang,X., Bender,C.L., White,O., Fraser,C.M. and Collmer,A. 2003. The complete genome sequence of the arabidopsis and tomato pathogen *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100: 10181-10186.

Bunster, L., Fokkema, N.J. and Schippers, B. 1989. Effect of surface-active *Pseudomonas* spp. on leaf wetability. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1340-1345.

Burger, M.M., Glaser. L. and Burton. R.M. 1963. The enzymatic synthesis of rhamnose-containing glycolipids by extracts of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Biol. Chem. 238: 2595-2602.

Burger, M.M., Glaser, L. and Burton, R.M. 1966. Formation of rhamnolipids of *Pseudomonas aeruginosa*. Methods Enzymol. 8: 441-445.

Busscher, H.J., Vanderkuijbooij, M. and Van der Mei, H.C. 1996. Biosurfactants from thermophilic dairy *Streptococci* and their potential role in the fouling control of heat exchanger plates. J. Ind. Microbiol. 16: 15-21.

Cameotra, S.S. and Makkar, R.S. 1998. Synthesis of biosurfactants in extreme conditions. Appl Microbiol Biotechnol. 50: 520-529.

Clint, J.H. 1992. Micelle formation. Surfactant aggregation pp. 82-129. New York: Chapman and Hall.

Collado-Vides, J., Magasanik, B. and Gralla, J.D. 1991. Control site location and transcriptional regulation in *Escherichia coli*. Microbiol. Rev. 55: 371-394.

Cooper, D.G. 1986. Biosurfactants. Microbiol. Sci. 3: 145-1459.

Cooper, D.G. and Zajic, J.E. 1980. Surface-active compounds from microorganisms. Adv. Appl. Microbiol. 26: 229-256.

Daniel, H.J., Otto, R.T., Binder, M. and Syldatk, C. 1998. Sophorolipid production with high yields on whey concentrated and rape seed oil without consumption of lactose. Biotechnol. Lett. 20: 805-807.

Deretic, V., Gill, J.F. and Chakrabarty, A.M. 1987. BioTechnology. 5: 469-477.

Deretic, V., Konyecsni, W.M., Nohr, C.D., Martin, D.W. and Hibler, N.S. 1989. BioTechnology. 7: 1249-1254.

Desai, J.D. and Banat, I.M. 1997. Microbial production of surfactants and their commercial potential. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61:47-64.

Devine, J.H., Shadel, G.S. and Baldwin, T.O. 1989. Identification of the operator of the *lux* regulon from the *Vibrio fischeri* strain ATCC 7744. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86: 5688-5692.

Duxbury, T. 1981. Toxicity of heavy metals to soil bacteria. FEMS Microbiol. Lett. 11: 217-220.

Edwards, J.R. and Hayashi, J.A. 1965. Structure of a rhamnolipid from *Pseudomonas aeruginosa.* Arch. Biochem. Biophys. 111: 415-421.

Fiechter, A. 1992. Biosurfactants: moving towards industrial application. Trends. Biotechnol. 10: 208-217.

Finnerty, W.R. and Singer, M.E. 1985. Membranes of hydrocarbon-utilizing microorganisms. In: Ghosh BK (ed) Organization of prokaryotic cell membranes. vol 3. CRC Press, Boca Raton,Fla., pp 1-44.

Fuqua, W.C. and Greenberg, E.P. 1998. Self perception in bacteria: molecular mechanisms of stimulus-response coupling. Curr Opin Microbiol. 1:183-189.

Fuqua, C., Parsek, M.R. and Greenberg, E.P. 2001. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum-sensing. Annu. Rev. Genet. 35: 439-468.

Fuqua, W.C., Winans, S.C. and Greenberg, E. P. 1994. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density- responsive transcriptional regulators. J. Bacteriol. 176: 269-275.

Fuqua, W.C., Winans, S.C. and Greenberg, E. P. 1996. Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum sensing transcriptional regulators. Annu. Rev. Microbiol. 50:727-751.

Gambello, M.J. and Iglewski, B.H. 1991. Colning and characterization of the *Pseudomonas aeruginosa lasR* gene: a transcriptional activator of elastase expression. J. Bacteriol. 173: 3000-3009.

Gambello, M.J., Kaye, S. And Iglewski, B.H. 1993. LasR of *Pseudomonas aeruginosa* is a transcriptional activator of the alkaline protease gene (*apr*) and an enhancer of exotoxin A expression. Infect. Immun. 61: 1180-1184.

Gerson, D.F. 1993. The biophysics of microbial surfactants : growth on insoluble substrates. In N. Kosaric (ed), Biosurfactant : production, properties, applications. pp. 169-286. New York : Marcel Dekker.

Gilman, L.B. 1993. A review of instruments for static and dynamicsurface and interfacial tension measurement. Present at the seminar by Kruss Gmbtt and Scientific promotion Co., Ltd, at Indra Regent Hotel, BK. Thailand, October 30, 1997.

Haba, E., Espuny, M.J., Busquets, M. and Manresa, A. 2000. Screening and production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste frying oils. J. Appl. Microbiol. 88: 379-387.

Haferburg, D., Hommel, R., Kleber, H-P., Kluge, S., Schuster, G. and Zschiegner, H-J. 1987. Antiphytovirale Aktivitat von rhamnolipid aus *Pseudomonas aeruginosa*. Acta. Biotechnol. 7: 353-356.

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

Hasanuzzaman, M., Umadhay-Briones, K.M., Zsiros, S.M., Morita, N., Nodasaka, Y., Yumoto, I. and Okuyama, H. 2004. Isolation, identification, and characterization of a novel, oil-degrading bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* T1. Curr. Microbiol. 49: 108-114.

Hauser, G. and Karnovsky, M.L. 1957. Rhamnose and rhamnolipid biosynthesis by *Pseudomonas aeruginosa*. J. Biol. Chem. 224: 91-105.

Hauser, G. and Karnovsky, M.L. 1958. Studies on biosynthesis of L-rhamnose. J. Biol. Chem. 233: 287-291.

Hayes, M.E., Nestaas, E. and Hrebenar, K.R. 1986. Microbial surfactants. Chemtech. 4: 239-243.

Head, I.M. 1998. Bioremediation: towards a credible technology. Microbiol. 144: 599-608.

Henikolf, S., Wallace, J.C. and Brown, J.P. 1989. Finding protein similarities with nucleotide sequence databases. Methods Enzymol. 183 : 111-132.

Herman, D.C., Artiola, J.F. and Miller, R.M. 1995. Removal of cadmium, lead and zinc from soil by a rhamnolipid biosurfactant. Environ. Sci. Technol. 29: 2280-2285.

Herman, D.C., Zhang, Y. and Miller, R.M. 1997. Rhamnolipid (biosurfactant) effects on cell aggregation and biodegradation of residual hexadecane under saturated flow conditions. Appl. Environ. Microbiol. 63: 3622-3627.

Hirayama, T. and Kato, I. 1982. Novel methyl rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa*. FEBS. Lett. 139: 81-85.

Hisatuska, K., Nakahare, T., Sano, N. and Yamada, K. 1971. Formation of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa* and function in hydrocarbon fermentation. Agr. Biol. Chem. 35: 686-692.

Hisatuska, K., Nakahara, T. and Yamada, K. 1972. Protein-like activator for n-alkane oxidation by *Pseudomonas aeruginosa* S_7B_1. Agr. Biol. Chem. 36: 1361-1369.

Hori, K., Marsudi, S. and Unno, H. 2002. Simultaneous production of polyhydroxyalkanoates and rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa*. Biotechnol. Bioengineer. 78: 699-707.

Huffman, J.L., Li, H., White, R.H. and Tainer, J.A. 2003. Structural basis for recognition and catalysis by the bifunctional dCTP deaminase and dUTPase from *Methanococcus jannaschii*. J. Mol. Biol. 331: 885-896.

Hughes, M.N. and Poole, R.K. 1989. Metal mimicry and metal limitations in studies of metal-microbe interactions In Poole R.K. and Gadd G.M. (eds) Metal-microbe interactions. Society for General Microbilogy. IRL. Oxford.

Ishigami. 1997. Characterization of biosurfactants. In: Esumi, L. and Ueno, M. (ed) Structure-performance relationships in surfactants. New York: Dekker: pp 197-226.

Ishigami, Y., Gama, Y., Nagahara, H., Motomiya, T. and Yamaguchi, M. 1988a. Liposome containing rhamnolipids. Japanese Patent Kokai. 63-182, 029.

Ishigami, Y., Gama, Y., Uji, Y., Nasui, K. and Shibayama, Y. 1988b. Japanese Patent Kokai. 63-77, 535.

Ishigami, Y. and Suzuki, S. 1997. Development of biochemicals-functionlization of biosurfactants and natural dyes. Prog. Org. Coat. 31: 51-61.

Itoh, A., Honda, H., Tomato, F. and Suzuki, T. 1971. Rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* grown on n-paraffin. J. Antibiot. 24: 855-859.

Itoh, S. and Suzuki, T. 1972. Effect of rhamnolipids on growth of *Pseudomonas aeruginosa* mutant deficient in n-paraffin-utilizing ability. Agr. Biol. Chem. 36: 2233-2235.

Jarvis, F.G. and Johnson, M.J. 1949. A glycolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa*. J. Am. Chem. Soc. 71: 4124-4126. Cited in Desai, J. D. and Banat, I. M. 1997. in Microbial production of surfactants and their commercial potential. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61: 47-64.

Jeneil biosurfactant Co., LLC. Data product. [Online]. 400N Dekora Woods Blvd. Saukville. WI. USA: 2001. Available from: http://www.biosurfactant.com [2002,august 26].

Jeong, H-S., Lim, D-J., Hwang, S-H., Ha, S-D. and Kong, J-Y. 2004. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* immobilized in polyvinyl alcohol beads. Biotechnol. Lett. 26: 35-39.

Kaweshima, H., Nakahara, T., Oogaki, M. and Tabuchi, T. 1983. Extracellular production of a mannosylerythritol lipid of a mutant of *Candida* sp. From *n*-alkane and triglycerides. J. Ferment. Technol. 61: 143-149.

Kitamoto, D., Yanagishita, H., Shinbo, T., Makane, T., Kanmisawa, C. and Nakahora, T. 1993. Surface active properties and antimicrobial activities of mannosylerythritol lipids as biosurfactant produced be *Candida antarctica*. J. Biotechnol. 29: 91-96.

Kleckner, V. and Kosaric, N. 1993. Biosurfactants for cosmetics. In: Kosaric N (ed) Biosurfactants, production, properties, applications. Surfactant science series: vol 48. New York: Dekker. pp. 373-389.

Knoche, H.W. and Shiveley, J.M. 1972. The structure of an ornithine-containing lipids from *Thiobacillus thiooxidans*. J. Biol. Chem. 247: 170-178.

Koch, A.K., Reiser, J., Kappeli, O. and Fiechter, A. 1988. Genetic construction of lactose-utilizing stains of *Pseudomonas aeruginosa* and their application in biosurfactant production. Bio./ Technology 51: 1335-1339.

Koch, A.K., Kappeli, O., Fiechter, A. and Reiser, J. 1991. Hydrocarbon assimilation and biosurfactant production in *Pseudomonas aeruginosa* mutants. J. Bacteriol. 173: 4212-4219.

Kosaric, N. 1993. Biosurfactant *Production *Property *Application. Surfactant Science Series: vol 48. New York: Marcel Dekker.

Kosaric, N. 2001. Biosurfactants and their application for soil bioremediation. Food. Technol. Biotechnol. 39: 295-304.

Kosaric, N., Cairns, W.L., Gray, N.C.C., Stechey, D. and Wood, J. 1984. The role of nitrogen in multiorganism strategies for biosurfactant production. J. Am Oil Chem. Soc. 61: 1735-1743.

Kovalick, W. 1991. Perspective on health and environmental risks of soil pollution and experiences with innovative remediation technologies. In Abstracts of the 4th world Congress of Chemical Engineering. abstract 3.3-1. Karlsruhe, Germanny.

Lafrance, P. and Lapointe, M. 1998. Mobilization and co-transport of pyrene in the presence of *Pseudomonas aeruginosa* UG2 biosurfactants in sandy soil columns. Ground Water Monit Rev. 18: 139-147.

Lamb, J.R., Patel, H., Montminy, T., Wagner, V.E. and Iglewski, B.H. 2003. Functional domains of the RhlR transcriptional regulator of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol. 185: 7129-7139.

Lang, S. and Wullbrandt, D. 1999. Rhamnose lipid-biosynthesis, microbial production and application potential. Appl. Microbiol Biotechnol. 51: 22-32.

Latifi, A., Foglino, M., Tanaka, K., Williams, P. and Lazdunski. 1996. A hierarchical quorum-sensing cascade in *Pseudomonas aeruginosa* links the transcriptional activators LasR and RhlR to expression of the stationary phase sigma factor RpoS. Mol. Microbiol. 21: 1137-1146.

Latifi,A., Winson,M.K., Foglino,M., Bycroft,B.W., Stewart,G.S., Lazdunski,A. and Williams,P. 1995. Multiple homologues of LuxR and LuxI control expression of virulence determinants and secondary metabolites through quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Mol. Microbiol. 17: 333-343.

Leenhouts, J.M., Van der Winingard, P.W.J., De Kroon, A.I.P.M. and Der Kruijff, B. 1995. Anionic phospholipids can mediate membrane insertion of the anionic part of a bound peptide. FEBS Lett. 370: 361-369.

Li, H., Xu, H., Graham, D.E. and White, R.H. 2003. The *Methanococcus jannaschii* dCTP deaminase is a bifunctional deaminase and diphosphatase. J. Biological Chemistry. 278: 11100-11106.

Lin, S.C. 1996. Biosurfactants: recent advances. J. Chem. Tech. Biotechnol.66: 109-120.

Linhardt, R.J., Bakhit, R., Daniels, L., Mayerl, F. and Pickenhagen, W. 1989. Microbially produce rhamnolipid as a source of rhamnose. Biotechnol. Bioeng. 33: 365-368.

Linos, A., Reichelt, R., Keller, U. and Steinbüchel, A. 2000. A gram-negative bacterium, identified as *Pseudomonas aeruginosa* AL98, is a potent degrader of natural rubber and synthetic *cis*-1,4-polyisoprene. FEMS Microbiol. Lett. 182: 155-161.

Lisser, S. and Margalit, H. 1993. Compilation of *E. coli* mRNA promoter sequences. Nucleic acids Res. 21(7): 1507-1516.

Maier, R.M. and Soberon-Chavez, G. 2000. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 54: 625-633.

Makkar, R.S. and Cameotra, S.S. 1999a. Biosurfactant production by microorganisms on unconventional carbon sources-a review. J Surf Det. 2: 237-241.

Makkar, R.S. and Cameotra, S.S. 1999b. Biochemical and structural characterization of biosurfactant produced by Bacillus subtilis at thermophilic conditions. J. Surf. Det. 2: 371-376.

Martell, A.E. and Smith, R.M. 1976. Critical stability constants, vol 1 and 3. Plenum. New York.

Matsuyama, T., Kaneda, L., Ishizuka, I., Toida, T. and Yano, I. 1990. Surface-active novel extracellular cyclic lipopeptide which promotes flagellum-dependent and independent spreading growth of *Serratia marcescens*. J. Bacteriol. 174: 1769-1776.

Matsuyama, T.K, Kaneda, K. and Yoshimoto, A. 1997. High production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* growing on ethanol. Biotechnol. Lett. 19: 1213-1215.

Medina, G., Juarez, K., Balderrama, B. and Soberon-Chavez. G. 2003. Mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* RhlR transcriptional regulation of the rhlAB promoter. J. Bacteriol. 185: 5976-5983.

Medina, G., Juarez, K., Diaz, R. And Soberon-Chavez, G. 2003. Transcriptional regulation of *Pseudomonas aeruginosa rhlR*, encoding a quorum-sensing regulatory protein. Microbiology. 149: 3073-3081.

Mercade, M.E., Manresa, A., Robert, M., Espuny, M.J., de Andres, C. and Guinea, J. 1993. Olive oil mill effluent (OOME). New substrate for biosurfactant production. Bioresource Technol. 43: 1 – 6

Miller, R.M. 1995. Surfactant-enchanced bioavailability of slightly soluble organic compounds. In Skopper H. and Turco R. (eds) Bioremediation-science and applications. Soil Science Socity of America special publication. Madision. Wis. pp. 33-54.

Morett , E. and Segovia, L. 1993. J. Bacteriol. 175: 6067-6074.

Morona, R., Mavris, M., Fallarino, A. And Manning, P.A. 1994. Characterization of the *rfc* region of *Shigella flexneri*. J. Bacteriol. 176: 733-747.

Mueller, J.G., Devereux, R., Santavy, D.L., Lantz, S.E., Willis, S.G. and Pritchard, P.H. 1997. Phylogenetic and physiological comparisons of PAH-degrading bacteria from geographically diverse soils. Antonie van Lecuwenhoek. 71: 329-343.

Mulligan, C.N., Chow, T.Y.K. and Gibbs, B.F. 1989. Enhanced biosurfactant production by a mutant *Bacillus subtilis* strain. Appl. Microbiol. Biotechnol. 31: 486-489.

Mulligan, C.N. and Gibbs, B.F. 1993. Factors influencing the economics of biosurfactants, p. 329-371, In Kosaric N. (ed.) Biosurfactants: production, properties, applications. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.

Mulligan, C.N., Yong, R.N. and Gibbs, B.F. 1999. On the use of biosurfactants for the removal of the removal of heavy metal from oil-contaminated soil. Environ. Prog. 18: 50-54.

National Research Council. 1994. Alternatives for ground water clean up. Washington, DC: National Academy Press.

Nayyar, S.P., Sabatini, D.A. and Harwell, J.A. 1994. Surfactant adsolubiulization and modified admicellar sorption nonpolar, polar and ionizabli organic contaminants. Environ. Sci. Technol. 28: 1874-1881.

Neuhard, J. 1968. J. Biol. Chem. 96: 1519-1527.

Nelson,K., Paulsen,I., Weinel,C., Dodson,R., Hilbert,H., Fouts,D., Gill,S., Pop,M., Martins Dos Santos,V., Holmes,M., Brinkac,L., Beanan,M., DeBoy,R., Daugherty,S., Kolonay,J., Madupu,R., Nelson,W., White,O., Peterson,J., Khouri,H., Hance,I., Lee,P., Holtzapple,E., Scanlan,D., Tran,K., Moazzez,A., Utterback,T., Rizzo,M., Lee,K., Kosack,D., Moestl,D., Wedler,H., Lauber,J., Hoheisel,J., Straetz,M., im,S., Kiewitz,C., Eisen,J., Timmis,K., Duesterhoft,A., Tummler,B. and Fraser,C. 2002. Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile Pseudomonas putida KT2440. Environ. Microbiol. 4: 799-808.

Nielsen, T.H., Sørensen, D., Tobiasen, C., Andersen, J.B., Christophersen, C., Givskov, M. and Sørensen, J. 2002. Antibiotic and biosurfactant properties of cyclic lipopeptides produced by fluorescent *Pseudomonas* spp. from the sugar beet rhizosphere. Appl. Environ. Microbiol. 68: 3416-3423.

Noordoman, W.M., Ji, W., Brusseau, M.L. and Janssen, D.B. 1998. Effect of rhamnolipid biosurfactants on removal of phenanthrene from soil. Environ. Sci. Technol. 32: 1806-1812.

Ochoa-Loza, F. 1998. Physico-chemical factor affecting rhamnolipid biosurfactant application for removal of metal contaminants from soil. Ph.D. dissertation. University of Arizona. Tucson.

Ochsner, U.A., Fiechter,A. and Reiser,J. 1994a. Isolation, characterization, and expression in *Escherichia coli* of the *Pseudomonas aeruginosa rhlAB* genes encoding a rhamnosyltransferase involved in rhamnolipid biosurfactant synthesis. J. Biol. Chem. 269: 19787-19795.

Ochsner, U.A., Hembach, T. and Fiechter, A. 1996. Production of rhamnolipid biosurfactant. In Fiechter A. (ed) Advances in biochemical engineering biotechnology. vol 53. Springer, Berlim Heidelberg. New York. Pp. 89-118.

Ochsner, U.A., Koch, A.K., Fiechter, A. and Reiser, J. 1994b. Isolation and characterization of a regulatory gene affecting rhamnolipid biosurfactant synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol. 176:2044-2054.

Ochsner,U.A. and Reiser,J. 1995. Autoinducer-mediated regulation of rhamnolipid biosurfactant synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 92: 6424-6428.

Ochsner, U.A., Reiser, J., Fiechter, A. and Witholt, B. 1995. Production of *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipid biosurfactants in heterologous hosts. Appl. Environ. Microbiol. 61:3503-3506.

Ohno, A., Ano, T. and Shoda, M. 1995. Production of a lipopeptide antibiotic, surfactin, by recombinant *Bacillus subtilis* in solid state fermentation. Biotechnol. Bioeng. 47: 209-214.

Passador, L., Cook, J.M., Gambello, M.J., Rust, L. and Iglewski, B.H. 1993. Expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes requires cell-to-cell communication. Science. 260: 1127-1130.

Patel, R.M. and Desai, A.J. 1997a. Biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* GS3 from molasses. Lett. Appl Microbiol. 25: 91-94.

Patel, R.M. and Desai, A.J. 1997b. Surface-active properties of rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* GS3. J. Basic. Microbiol. 37: 281-286.

Pearson, J.P., Gray, K.M., Passador, L., Tucker, K.D., Eberhard, A., Iglewski, B.H. and Greenberg, E.P. 1994. Structure of the autoinducer required for expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91: 197-201.

Pearson, J.P., Passador, L., Iglewski, B.H. and Greenberg, P. 1995. A second *N* acylhomoserine lactone signal produced by *Pseudomonas aeruginosa*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 92: 1490-1494.

Pearson, J.P., Pesci, E.C. and Iglewski, B.H. 1997. Roles of *Pseudomonas aeruginosa las* and *rhl* quorum-sensing systems in control of elastase and rhamnolipid biosynthesis. J. Bacteriol. 179: 5756-5767.

Pesci, E.C., Pearson, J.P. Seed, P.C. and Iglewski, B.H. 1997. Regulation of *las* and *rhlI* quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol. 179: 3127-3132.

Pugsley, A. P. 1993. The complete general secretory pathway in gram-negative bacteria. Microbiol. Rev. 57: 50-108.

Rahim, R., Ochsner, U.A., Olvera, C., Graninger, M., Messner, P., Lam, J.S. and Soberon-Chavez, G. 2001. Cloning and functional characterization of the *Pseudomonas aeruginosa rhlC* gene that encodes rhamnosyltransferase 2, an enzyme responsible for di-rhamnolipid biosynthesis. Mol. Microbiol. 40: 708-718.

Rehm,B.H., Kruger,N. and Steinbuchel, A. 1998. A new metabolic link between fatty acid de novo synthesis and polyhydroxyalkanoic acid synthesis. 1998. J. Biol. Chem. 273: 24044-24051.

Rendell, N.B., Taylor, G.W., Somerville, M., Todd, H., Wilson, R. and Cole, P.J. 1990. Characterisation of *Pseudomonas* rhamnolipids. Biochemica et Biophysica Acta. 1045: 189-193.

Robert, M., Mercade, M.E., Bosch, M.P., Parra, J.L. Espuny, M.J., Manresa, M.A. and Guinea, J. 1989. Effect of the carbon source on biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T.Biotechnol. Lett. 11: 871-874.

Rosenberg, E. 1993. Exploiting microbial growth on hydrocarbon: new markets. Trends. Biotechnol. 11: 419-424.

Rosenberg, E. and Ron, E.Z. 1999. High- and low-molecular-mass microbial surfactants. Appl. Microbiol. Biotechnol. 52: 154-162.

Salmond, G.P.C., Bycroft, B.W., Stewart, G.S.A.B. and Williams, P. 1995. The bacterial enigma: cracking the code of cell-cell communication. Mol. Microbiol. 16: 615-624.

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

Sandrin, C., Peypoux, F. and Michel, G. 1990. Coproduction of surfactin and iturin A lipopeptides with surfactant and antifungal properties by *Bacillus subtilis*. Biotechnol. Appl. Biochem. 12: 370-375.

Sandrin, T.D., Chech, A.M. and Maier, R.M. 2000. A rhamnolipid biosurfactant reduces cadmium toxicity during naphthalene biodegradation. Appl. Environ. Microbiol. 66: 4585-4588.

Seed, P.C., Passador, L. and Iglewski, B.H. 1995. Activation of the *Pseudomonas aeruginosa lasI* gene by LasR and the *Pseudomonas* autoinducer PAI: an autoinduction regulatory hierarchy. J. Bacteriol. 177: 654-659.

Scheibenbogen, K., Zytner, R.G., Lee, H. and Trevors, J.T. 1994. Enhanced removal of selected hydrocarbons from soil by *Pseudomonas aeruginosa* UG2 biosurfactant and some chemical surfactants. J. Chem. Tech. Biotechnol. 59: 53-59.

Shabtai, Y. and Gutnick, D.L. 1986. Enhanced emulsan production in mutants of *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 selected for resistance to cetyltrimethylammonium bromide. Appl. Environ. Microbiol. 52: 146-151.

Shine, J. and Dalgarno, L. 1974. The 3'-terminal sequence of *Escherichia coli* 16S ribosomal RNA: complementarity to nonsense triplets and ribosome binding sites. Proc. Natl. Acad. Sci. 71: 1342-1346.

Shlomai, J. and Kornberg, A. 1978. J. Biol. Chem. 253: 3305-3312.

Shreve, G.S., Inguva, S. and Gunnam, S. 1995. Rhamnolipid biosurfactant enhancement of hexadecane biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa*. Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 4: 331-337.

Sikkema, J., De Bont, J.A.M. and Poolman, B. 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiol. Rev. 59: 201-222.

Spilker, T., Coenye, T., Vandamme, P. And Li Puma, J.J. 2004. PCR-based assay for differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* from other *Pseudomonas* species recovered from cystic fibrosis patients. J. Clinical. Microbiol. 42: 2074-2079.

Stanghellini, M.E., Rasmussen, S.L., Kim, D.H. and Rorabaugh, P.A. 1996. Efficacy of nonionic surfactants in the control of zoospore spread of *Pythium aphanidermatum* in a recirculating hydroponic system. Plant. Dis. 80: 422-428.

Stock, J.B., Ninfa, A.J. and Stock, A.M. 1989. Protein phophorylation and regulation of adaptive responses in bacteria. Microbiol. Rev. 53: 450-490.

Stock, J.B., Stock, A.M. and Nottonen, J.M. 1990. Signal transduction in bacteria. Nature (London). 344: 395-400.

Stover,C.K., Pham,X.-Q.T., Erwin,A.L., Mizoguchi,S.D., Warrener,P., Hickey,M.J., Brinkman,F.S.L., Hufnagle,W.O., Kowalik,D.J., Lagrou,M., Garber,R.L., Goltry,L., Tolentino,E., Westbrock-Wadman,S., Yuan,Y., Brody,L.L., Coulter,S.N., Folger,K.R., Kas,A., Larbig,K., Lim,R.M., Smith,K.A., Spencer,D.H., Wong,G.K.-S., Wu,Z. and Paulsen,I.T. 2000. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. Nature 406: 959-964.

Syldatk, C., Lang, S., Wagner, F., Wray, V. and Witte, L. 1985. Chemical and physical characterization of four interfacial-active rhamnolipids from *Pseudomonas* spec. DSM 2874 grown on n-alkane. Z. Naturforsch. 40: 51-60.

Tahara, Y., Yamada, Y. and Kondo, K. 1976a. A new lipids; the ornithine and taurine containing'cerilipin'. Agric. Biol. Chem. 40: 243-244.

Tahara, Y.K, Yamada, Y. and Kondo, K. 1976b. A new lysine containing lipids isolates from *Agrobacterium tumefaciens*. Agric. Biol. Chem. 40: 1440-1450.

Tahzibi, A., Kamal, F. and Assadi, M.M. 2004. Improved production of rhamnolipids by a *Pseudomonas aeruginosa* mutant. Iran. Biomed. J. 8: 25-31.

Tan, H., Champion, J.T., Artiola, J.F., Brusseau, M.L. and Miller, R.M. 1994. Complexation of cadmium by a rhamnolipid biosurfactant. Environ. Sci. Technol. 28: 2402-2406.

Thai, L.T. and Maier, W.J. 1992. Solubilization and biodegradation of octadecane in the presence of two commercial surfactants. Proceedings of the 47th Annual Purdue University Industrial waste Conference. Ann. Arbor. Press. Chelsea. Mich

Thangamani, S. and Shreve, G.S. 1994. Effect of anionic biosurfactant on hexadecane partitioning in multiphase systems. Environ. Sci. Technol. 28; 1993-2000.

Toder, D.S., Gambello, M.J. and Iglewski, B.H. 1991. *Pseudomonas aeruginosa* LasA; a second elastase gene under transcriptional control of *lasR*. Mol. Microbiol. 5: 2003-2010.

Torrens, J.L., Herman, D.C. and Miller-Maier, R.M. 1998. Biosurfactant (rhamnolipid) sorption and the impact on rhamnolipid-facilitated removal of cadmium from various soils. Environ. Sci. Technol. 32: 776-781.

Van Dam, R.A., Barry, M.J., Ahokas, J.T. and Holdway, D.A. 1999. Investigating mechanisms of diethylenetiramine pentaacetic acid (DTPA) toxicity to the cladoceran, Daphnia carinata. Aqua Toxicol. 46: 191-210.

Van Dyke, M.I., Couture, P., Brauer, M., Lee, H. and Trevors, J.T. 1993. *Pseudomonas aeruginosa* UG2 rhamnolipid biosurfactants: structural characterization and their use in removing hydrophobic compounds from soil. Can. J. Microbiol. 39: 1071-1078.

Van Dyke, M.I., Lee, H. and Trevors, J.T. 1991. Application of microbial surfactants. Biotechnol Adv. 9: 241-252.

Volkering, F. 1996. Bioavailability and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Ph.D. Thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands.

Volkering, F., Breure, A.M. and Rulkens, W.H. 1998. Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation. Biodegradation 8: 401-417.

Vollenbroich, D., Pauli, G., Ozel, M. and Vater, J., 1997. Antimycoplasma properties and application on cell cultures of surfactin, a lipopeptide antibiotic from *Bacillus subtilis*. Appl. Environ. Microbiol. 63: 44-49.

Wagner, F., Kim, J.S., Lang, S., Li, Z.Y., Mawede, G., Matulovic, U., Ristau, E. and Syldatk, C. 1984. Production of surface active compounds by resting and immobilized microbial cells. p. 1-8.

West, C.C. and Harwell, J.H. 1992. Surfactants and subsurface remediation. Environ. Sci. Technol. 26: 2324-2330.

Whiteley, M. and Greenberg, E.P. 2001. Promoter specificity elements in *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing-controlled genes. 183: 5529-5534.

Whiteley, M., Lee, K.M. and Greenberg, E.P. 1999. Identification of genes controlled by quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. Proc. Natt. Acad. Sci. USA. 96: 13904-13909.

Widada, J., Nojiri, H., Kasuga, K., Yoshida, T., Habe, H. and Omori, T. 2002. Molecular detection and diversity of polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacteria isolated from geographically diverse sites. Appl. Microbiol. Biotechnol. 58: 202-209.

Wintzingerode, F., Landt, O., Ehrlich, A. and Göbel, U.B. 2000. Peptide nucleic acid-mediated PCR clamping as a useful supplement in the determination of microbial diversity. Appl. Environ. Microbiol. 66: 549-557.

Woods, D.R. and Reid, S.J. 1993. FEMS Microbiol. Rev. 11: 273-284.

Yamagushi, M., Sato, A. and Yukuyama, A. 1976. Microbial production of sugar-lipids. Chem. Ind. 4: 741-742.

Zhang, Y. and Miller, R.M. 1992. Enhanced Octadecane dispersion and biodegradation by a *Pseudomonas* rhamnolipids surfactant (Biosurfactant). Appl. Environ. Microbiol. 58: 3276-3282.

Zhang, Y. and Miller, R.M. 1994. Effect of a *Pseudomonas* rhamnolipid biosurfactant on cell hydrophobicity and biodegradation of octadecane. Appl. Environ. Microbiol. 60: 2101-2106.

Zhang,Z. and Pierson,L.S. 2001. A second quorum-sensing system regulates cell surface properties but not phenazine antibiotic production in *Pseudomonas aureofaciens*. Appl. Environ. Microbiol. 67: 4305-4315.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว** Luria-Bertani (LB broth)

ทริปโตน (trytone)	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 °ซ เป็นเวลา 20 นาที

2. **อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง** Luria-Bertani (LB agar)

เตรียมอาหารด้วยวิธีเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB แต่ละลายวุ้น 15 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร เพิ่มลงไป จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที

3. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว** 2YT (2YT broth)

ทริปโตน (trytone)	160	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 °ซ เป็นเวลา 20 นาที

ภาคผนวก ข

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. กลีเซอรอล

นำกลีเซอรอลมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำอีกรอบหนึ่ง

2. สารปฏิชีวนะ

แอมพิซิลลินความเข้มข้น 100 มก./น้ำ 1 มล. ทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองสารละลายผ่านชุดกรองสำเร็จรูปชนิดเซลลูโลสอะซีเตทขนาดรูกว้าง 0.45 ไมโครเมตร เก็บรักษาไว้ในหลอดไมโครฟิวจ์ที่อุณหภูมิ –20°ซ เมื่อนำมาใช้แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4°ซ ได้นาน 1 เดือน

3. ชุดสกัดพลาสมิดปริมาณน้อย QIAprep Spin Miniprep Kit

ประกอบด้วย

- Buffer P1
- Buffer P2
- Buffer N3
- Buffer PB
- Buffer PE (concentrate)
- Buffer EB
- Rnase A
- Collection tube
- QIAprep Spin column

ก่อนใช้ชุดสกัดพลาสมิดครั้งแรกให้เติม Rnase A ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน Buffer P1 และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ และเติมเอธานอลปริมาตร 24 มล. ลงใน Buffer PE

4. **ชุดสกัดดีเอ็นเอออกจากอะกาโรสเจล** QIAquick® Gel Extraction kit

ประกอบด้วย

Buffer QG

Buffer PE (concentrate)

Buffer EB

Collection tube

QIAquick Spin colum

ก่อนใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอออกจากอะกาโรสเจลให้เติมเอธานอลปริมาตร 24 มล. ลงใน Buffer PE ทำการสกัดดีเอ็นเอตามกรรมวิธีที่ให้โดยบริษัทผู้ผลิต

5. **สารละลาย** 10%SDS

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

6. Denaturation buffer

โซเดียมไฮดรอกไซด์	0.5	โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	1.5	โมลาร์

ละลายโซเดียมคลอไรด์ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. จนหมดแล้วจึงละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เติมน้ำปลอดประจุจนครบปริมาตร 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. นำไปไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 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. นำไปไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 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 °ซ เป็นเวลา 20 นาที

10. สารละลาย 2XSSC/0.1% SDS

ละลาย 20XSSC ปริมาตร 10 มล. ในน้ำปลอดประจุ 89 มล. ผสมให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 0.1% 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 °ซ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 0.1% 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, 5Xconc.
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°C)

และสารละลายที่ต้องเตรียมเพิ่มในการทดลองเป็นดังนี้

Maleic acid buffer

กรดมาเลอิก	0.1	โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	0.15	โมลาร์

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็น 7.5 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°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-ด่าง ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 9.5 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°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. จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นคนให้เข้ากันรอให้เย็นลงแล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 8.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 $^{\circ}$ซ เป็นเวลา 20 นาที

14. **สารละลาย EDTA เข้มข้น** 0.5 **โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น** 8.0

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

ละลาย EDTA ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. จากนั้นเติมเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์คนให้เข้ากันรอให้เย็นลงแล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 8.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 $^{\circ}$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 $^{\circ}$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 °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 °ซ ปริมาตร 80 มล. จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เมื่อละลายหมดแล้วเติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 100 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที

18. สารละลายฟีนอล (phenol)

นำฟีนอลในรูปเกล็ดของแข็งมาหลอมเหลวในน้ำอุ่นที่ 68 °ซ จากนั้นเติมผง Hydroxy quinoline ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.1% แล้วเติม Tris-HCl เข้มข้น 1 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ในอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลาข้ามคืน ดูชั้นฟีนอลมาวัดความเป็นกรด-ด่างให้ได้เท่ากับมากกว่า 7.8 (ใช้ pH paper วัด) ถ้ายังไม่ได้ให้ดูดสารละลายชั้นบนทิ้งแล้วเติม Tris-HCl เข้มข้น 1 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ลงไปอีกครั้ง ทำเช่นนี้ต่อไปเรื่อยๆจนกระทั่งชั้นฟีนอลมีความเป็นกรด-ด่างมากกว่าหรือเท่ากับ 7.8 สุดท้ายเติมบัฟเฟอร์ TE ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ในอัตราส่วน 1:1 อีกครั้ง เก็บที่อุณหภูมิ 4°ซ ในขวดสีชาที่ปิดฝาแน่น

19. **สารละลายฟีนอล/คลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์**

ผสมสารละลายฟีนอลอิ่มตัวด้วย Tris-HCl เข้ากับคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ในอัตราส่วน 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

ผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วเติมน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 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

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารละลาย III

ผสมสารละลายโพแทสเซียมอะซีเตทเข้มข้น 5.0 โมลาร์ ปริมาตร 50 มล. กับกรดอะซีติกเข้มข้นปริมาตร 11.50 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°ซ เป็นเวลา 20 นาที

22. Loading dye

Bromphenolblue	0.025%
ซูโคส	40 %

ละลายส่วนผสมในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°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°ซ เป็นเวลา 20 นาที

25. **สารละลายโปรตีเนสเค** (proteinaseK) **ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

ละลายผงโปรตีนเนสเคน้ำหนัก 20 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ –20°ซ

26. สารละลาย RNase A เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผง RNase A น้ำหนัก 10 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ –20°ซ

27. สารละลาย X-gal ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผง X-gal น้ำหนัก 500 มก. ในสารละลาย dimethylformamide ให้ครบปริมาตร 10 มล. เก็บที่อุณหภูมิ -20°ซ ในหลอดปิดสนิทและมืด

28. สารละลาย IPTG ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

ละลายผง IPTG น้ำหนัก 0.2 กรัม ในน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 10 มล. กรองผ่านหัวกรองฆ่าเชื้อ เก็บที่อุณหภูมิ -20°ซ

29. สารละลายผสม dNTP ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (ของแต่ละตัว)

ผสม dNTP, dGTP, dCTP และ dTTP ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ด้วยปริมาตรสารละ 10 ไมโครลิตร เข้าด้วยกันแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้เป็น 100 ไมโครลิตร เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°ซ

30. ถุงไดแอลิซิสสำหรับทำ Electroelution

แช่ถุงไดแอลิซิสที่ตัดให้ยาวประมาณ 6 เซนติเมตร ในสารละลาย 3% โซเดียมไบคาร์บอเนท ใน 1 mM EDTA ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างถุงไดแอลิซิสด้วยน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อ ย้ายถุงไดแอลิซิสไปแช่ในสารละลาย 1 mM EDTA ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาทีอีกครั้ง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °ซ

ภาคผนวก ค

การเปรียบเทียบความเหมือนและหาบริเวณอนุรักษ์โดยโปรแกรม BlastN

1. ผลจากการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ 16 เอส ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (16S rDNA) ของ *Pseudomonas* sp. A41 โดยโปรแกรม BlastN

Query หมายถึง 16 เอสไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (16S rDNA) ของ *P. aeruginosa* A41

Sbjct หมายถึง 16 เอสไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (16S rDNA) ของ *P. aeruginosa* PAO1

```
gi|9946537|gb|AE004501.1| Pseudomonas aeruginosa PAO1, section 62 of 529 of the
complete genome   Length = 10832

 Score = 2835 bits (1430), Expect = 0.0
 Identities = 1430/1430 (100%)
 Strand = Plus / Plus

Query: 1    ggcaggcctaacacatgcaagtcgagcggatgaagggagcttgctcctggattcagcggc 60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 8949 ggcaggcctaacacatgcaagtcgagcggatgaagggagcttgctcctggattcagcggc 9008

Query: 61   ggacgggtgagtaatgcctaggaatctgcctggtagtgggggataacgtccggaaacggg 120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9009 ggacgggtgagtaatgcctaggaatctgcctggtagtgggggataacgtccggaaacggg 9068

Query: 121  cgctaataccgcatacgtcctgagggagaaagtgggggatcttcggacctcacgctatca 180
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9069 cgctaataccgcatacgtcctgagggagaaagtgggggatcttcggacctcacgctatca 9128

Query: 181  gatgagcctaggtcggattagctagttggtggggtaaaggcctaccaaggcgacgatccg 240
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9129 gatgagcctaggtcggattagctagttggtggggtaaaggcctaccaaggcgacgatccg 9188

Query: 241  taactggtctgagaggatgatcagtcacactggaactgagacacggtccagactcctacg 300
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9189 taactggtctgagaggatgatcagtcacactggaactgagacacggtccagactcctacg 9248

Query: 301  ggaggcagcagtggggaatattggacaatgggcgaaagcctgatccagccatgccgcgtg 360
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9249 ggaggcagcagtggggaatattggacaatgggcgaaagcctgatccagccatgccgcgtg 9308

Query: 361  tgtgaagaaggtcttcggattgtaaagcactttaagttgggaggaagggcagtaagttaa 420
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9309 tgtgaagaaggtcttcggattgtaaagcactttaagttgggaggaagggcagtaagttaa 9368

Query: 421  taccttgctgttttgacgttaccaacagaataagcaccggctaacttcgtgccagcagcc 480
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9369 taccttgctgttttgacgttaccaacagaataagcaccggctaacttcgtgccagcagcc 9428

Query: 481  gcggtaatacgaagggtgcaagcgttaatcggaattactgggcgtaaagcgcgcgtaggt 540
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9429 gcggtaatacgaagggtgcaagcgttaatcggaattactgggcgtaaagcgcgcgtaggt 9488
```

```
Query: 541   ggttcagcaagttggatgtgaaatccccgggctcaacctgggaactgcatccaaaactac 600
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9489  ggttcagcaagttggatgtgaaatccccgggctcaacctgggaactgcatccaaaactac 9548

Query: 601   tgagctagagtacggtagagggtggtggaatttcctgtgtagcggtgaaatgcgtagata 660
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9549  tgagctagagtacggtagagggtggtggaatttcctgtgtagcggtgaaatgcgtagata 9608

Query: 661   taggaaggaacaccagtggcgaaggcgaccacctggactgatactgacactgaggtgcga 720
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9609  taggaaggaacaccagtggcgaaggcgaccacctggactgatactgacactgaggtgcga 9668

Query: 721   aagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccacgccgtaaacgatgtcgac 780
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9669  aagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccacgccgtaaacgatgtcgac 9728

Query: 781   tagccgttgggatccttgagatcttagtggcgcagctaacgcgataagtcgaccgcctgg 840
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9729  tagccgttgggatccttgagatcttagtggcgcagctaacgcgataagtcgaccgcctgg 9788

Query: 841   ggagtacggccgcaaggttaaaactcaaatgaattgacgggggcccgcacaagcggtgga 900
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9789  ggagtacggccgcaaggttaaaactcaaatgaattgacgggggcccgcacaagcggtgga 9848

Query: 901   gcatgtggtttaattcgaagcaacgcgaagaaccttacctggccttgacatgctgagaac 960
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9849  gcatgtggtttaattcgaagcaacgcgaagaaccttacctggccttgacatgctgagaac 9908

Query: 961   tttccagagatggattggtgccttcgggaactcagacacaggtgctgcatggctgtcgtc 1020
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9909  tttccagagatggattggtgccttcgggaactcagacacaggtgctgcatggctgtcgtc 9968

Query: 1021  agctcgtgtcgtgagatgttgggttaagtcccgtaacgagcgcaacccttgtccttagtt 1080
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 9969  agctcgtgtcgtgagatgttgggttaagtcccgtaacgagcgcaacccttgtccttagtt 10028

Query: 1081   accagcacctcgggtgggcactctaaggagactgccggtgacaaaccggaggaaggtggg 1140
              ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 10029 accagcacctcgggtgggcactctaaggagactgccggtgacaaaccggaggaaggtggg 10088

Query: 1141   gatgacgtcaagtcatcatggcccttacggccagggctacacacgtgctacaatggtcgg 1200
              ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 10089 gatgacgtcaagtcatcatggcccttacggccagggctacacacgtgctacaatggtcgg 10148

Query: 1201   tacaaagggttgccaagccgcgaggtggagctaatcccataaaaccgatcgtagtccgga 1260
              ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 10149 tacaaagggttgccaagccgcgaggtggagctaatcccataaaaccgatcgtagtccgga 10208

Query: 1261   tcgcagtctgcaactcgactgcgtgaagtcggaatcgctagtaatcgtgaatcagaatgt 1320
              ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 10209 tcgcagtctgcaactcgactgcgtgaagtcggaatcgctagtaatcgtgaatcagaatgt 10268

Query: 1321   cacggtgaatacgttcccgggccttgtacacaccgcccgtcacaccatgggagtgggttg 1380
              ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 10269 cacggtgaatacgttcccgggccttgtacacaccgcccgtcacaccatgggagtgggttg 10328

Query: 1381   ctccagaagtagctagtctaaccgcaagggggacggttaccacggagtga 1430
              ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 10329 ctccagaagtagctagtctaaccgcaagggggacggttaccacggagtga 10378
```

2. การเปรียบเทียบหาบริเวณอนุรักษ์ของ *rhlA* ของ *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (Stover และคณะ, 2000) กับ *Pseudomonas aeruginosa* PG201 (Ochsner และคณะ, 1994a)

```
Score = 1679 bits (873), Expect = 0.0, Identities = 881/885 (99%), Strand = Plus / Plus

                RA-F --->
PAO1 : 1    atgcggcgcgaaagtctgttggtatcggtttgcaagggcctgcgggtacatgtcgagcgc 60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 1    atgcggcgcgaaagtctgttggtatcggtttgcaagggcctgcgggtacatgtcgagcgc 60

PAO1 : 61   gttgggcaggatcccgggcgcagcacggtgatgctggtcaacggcgcgatggcgaccacc 120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 61   gttgggcaggatcccgggcgcagcacggtgatgctggtcaacggcgcgatggcgaccacc 120

PAO1 : 121  gcctcgttcgcccggacctgcaagtgcctggccgaacatttcaacgtggtgctgttcgac 180
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 121  gcctcgttcgcccggacctgcaagtgcctggccgaacatttcaacgtggtgctgttcgac 180

PAO1 : 181  ctgcccttcgccgggcagtcgcgtcagcacaacccgcagcgcgggttgatcaccaaggac 240
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||||
PG201: 181  ctgcccttcgccgggcagtcgcgtcagcacaacccgcagcgggggttgatcaccaaggac 240

PAO1 : 241  gacgaggtggaaatcctcctggcgctgatcgagcgcttcgaggtcaatcacctggtctcc 300
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 241  gacgaggtggaaatcctcctggcgctgatcgagcgcttcgaggtcaatcacctggtctcc 300

PAO1 : 301  gcgtcctggggcggtatctccacgctgctggcgctgtcgcgcaatccgcgcggcatccgc 360
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 301  gcgtcctggggcggtatctccacgctgctggcgctgtcgcgcaatccgcgcggcatccgc 360

PAO1 : 361  agctcggtggtgatggcattcgcccctggactgaaccaggcgatgctcgactacgtcggg 420
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 361  agctcggtggtgatggcattcgcccctggactgaaccaggcgatgctcgactacgtcggg 420

PAO1 : 421  cgggcgcaggcgctgatcgagctggacgacaagtcggcgatcggccatctgctcaacgag 480
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 421  cgggcgcaggcgctgatcgagctggacgacaagtcggcgatcggccatctgctcaacgag 480

PAO1 : 481  accgtcggcaaatacctgccgcagcgcctgaaagccagcaaccatcagcacatggcttcg 540
            |||||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 481  accgtcggcaaatacctgccgccgcgcctgaaagccagcaaccatcagcacatggcttcg 540

PAO1 : 541  ctggccaccggcgaatacgagcaggcgcgctttcacatcgaccaggtgctggcgctcaac 600
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 541  ctggccaccggcgaatacgagcaggcgcgctttcacatcgaccaggtgctggcgctcaac 600

PAO1 : 601  gatcggggctacttggcttgcctggagcggatccagagccacgtgcatttcatcaacggc 660
            ||||||||||| ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 601  gatcggggctacctggcttgcctggagcggatccagagccacgtgcatttcatcaacggc 660

PAO1 : 661  agctgggacgaatacaccaccgccgaggacgcccgccagttccgcgactacctgccgcac 720
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 661  agctgggacgaatacaccaccgccgaggacgcccgccagttccgcgactacctgccgcac 720

PAO1 : 721  tgcagtttctcgcgggtggagggcaccgggcatttcctcgacctggagtccaagctggca 780
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||| 
PG201: 721  tgcagtttctcgcgggtggagggcaccgggcatttcctcgacctggagtccaagctggcc 780

                                              <--- RA-R
PAO1 : 781  gcggtacgcgtgcaccgcgccctgctcgagcacctgctgaagcaaccggagccgcagcgg 840
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 781  gcggtacgcgtgcaccgcgccctgctcgagcacctgctgaagcaaccggagccgcagcgg 840

PAO1 : 841  gcggaacgcgcggcgggattccacgagatggccatcggctacgcctga 888
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 841  gcggaacgcgcggcgggattccacgagatggccatcggctacgcctga 888
```

3. **การเปรียบเทียบหาบริเวณอนุรักษ์ของ** *rhlR* **ของ** *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (Stover **และคณะ**, 2000) **กับ** *Pseudomonas aeruginosa* PG201 (Ochsner **และคณะ**, 1994b)

```
Score = 1356 bits (705), Expect = 0.0,Identities = 717/723 (99%), Strand = Plus / Plus

                RR-F ──→
PAO1 : 1   atgaggaatgacggaggcttttgctgtggtgggacggtttgcgtagcgagatgcagccg 60
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 1   atgaggaatgacggaggcttttgctgtggtgggacggtttgcgtagcgagatgcagccg 60

PAO1 : 61  atccacgacagccagggcgtgttcgccgtcctggaaaaggaagtgcggcgcctgggcttc 120
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 61  atccacgacagccagggcgtgttcgccgtcctggaaaaggaagtgcggcgcctgggcttc 120

PAO1 : 121 gattactacgcctatggcgtgcgccacacgattcccttcacccggccgaagaccgaggtc 180
           |||||||||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 121 gattactacgcctatggcgtgcgccatacgattcccttcacccggccgaagaccgaggtc 180

PAO1 : 181 catggcacctatcccaaggcctggctggagcgataccagatgcagaactacggggccgtg 240
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 181 catggcacctatcccaaggcctggctggagcgataccagatgcagaactacggggccgtg 240

PAO1 : 241 gatccggcgatcctcaacggcctgcgctcctcggaaatggtggtctggagcgacagcctg 300
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 241 gatccggcgatcctcaacggcctgcgctcctcggaaatggtggtctggagcgacagcctg 300

PAO1 : 301 ttcgaccagagccggatgctctggaacgaggctcgcgattggggcctctgtgtcggcgcg 360
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 301 ttcgaccagagccggatgctctggaacgaggctcgcgattggggcctctgtgtcggcgcg 360

PAO1 : 361 accttgccgatccgcgcgccgaacaatttgctcagcgtgctttccgtggcgcgcgaccag 420
           || |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 361 actttgccgatccgcgcgccgaacaatttgctcagcgtgctttccgtggcgcgcgaccag 420

PAO1 : 421 cagaacatctccagcttcgagcgcgaggaaatccgcctgcggctgcgttgcatgatcgag 480
           |||||||||||||||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||
PG201: 421 cagaacatctccagcttcgagcgcgaggaaatacgcctgcggctgcgttgcatgatcgag 480

PAO1 : 481 ttgctgacccagaagctgaccgacctggagcatccgatgctgatgtccaacccggtctgc 540
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 481 ttgctgacccagaagctgaccgacctggagcatccgatgctgatgtccaacccggtctgc 540

PAO1 : 541 ctgagccatcgcgaacgcgagatcctgcaatggaccgccgacggcaagagttccggggaa 600
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||| ||||||||
PG201: 541 ctgagccatcgcgaacgcgagatcctgcaatggaccgccgacggcaagagctccggggaa 600

PAO1 : 601 atcgccatcatcctgagcatctccgagagcacggtgaacttccaccacaagaacatccag 660
           |||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
PG201: 601 atcgccatcatcctgagcatttccgagagcacggtgaacttccaccacaagaacatccag 660
                                       ←── RR-R
PAO1 : 661 aagaagttcgacgcgccgaacaagacgctggctgccgcctacgccgcggcgctgggtctc 720
           |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||| |||
PG201: 661 aagaagttcgacgcgccgaacaagacgctggctgccgcctacgccgcggcgctgggcctc 720

PAO1 : 721 atc 723
           |||
PG201: 721 atc 723
```

การเปรียบเทียบความคล้ายของกรดอะมิโนโดยโปรแกรม

BlastX version 2.2.9

Query หมายถึง ลำดับกรดอะมิโนในงานวิจัยนี้

Sbjct หมายถึง ลำดับกรดอะมิโนที่เปรียบเทียบใน GenBank

\+ หมายถึง กรดอะมิโนในกลุ่มเดียวกัน

4. ผลจากการเทียบความคล้ายของกรดอะมิโนบางส่วนของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสของ *rhlA* จากจีโนมิกดีเอ็นเอของ *Pseudomonas* sp. A41 โดยใช้ไพร์เมอร์ RA-F และ RA-R

```
gi|9949623|gb|AAG06867.1|   rhamnosyltransferase chain A [Pseudomonas aeruginosa
PAO1]  Length = 295

 Score =  251 bits (640), Expect = 4e-66
 Identities = 126/126 (100%), Positives = 126/126 (100%)
 Frame = +2

Query: 2   LRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFDLPFAGQSRQHNPQ 181
            LRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFDLPFAGQSRQHNPQ
Sbjct: 14  LRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFDLPFAGQSRQHNPQ 73

Query: 182 RGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIRSSVVMAFAPGLNQ 361
            RGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIRSSVVMAFAPGLNQ
Sbjct: 74  RGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIRSSVVMAFAPGLNQ 133

Query: 362 AMLDYV 379
            AMLDYV
Sbjct: 134 AMLDYV 139


gi|452503|gb|AAA62128.1|   rhamnosyl transferase [Pseudomonas aeruginosa PG201]
, Length = 295

 Score =  251 bits (640), Expect = 4e-66
 Identities = 126/126 (100%), Positives = 126/126 (100%)
 Frame = +2

Query: 2   LRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFDLPFAGQSRQHNPQ 181
            LRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFDLPFAGQSRQHNPQ
Sbjct: 14  LRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFDLPFAGQSRQHNPQ 73

Query: 182 RGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIRSSVVMAFAPGLNQ 361
            RGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIRSSVVMAFAPGLNQ
Sbjct: 74  RGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIRSSVVMAFAPGLNQ 133

Query: 362 AMLDYV 379
            AMLDYV
Sbjct: 134 AMLDYV 139
```

5. ผลจากการเทียบความคล้ายของกรดอะมิโนบางส่วนของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสของ *rhlR* จากจีโนมิกดีเอ็นเอของ *Pseudomonas* sp. A41 โดยใช้ไพร์เมอร์ RR-F และ RR-R

```
gi|452505|gb|AAA62130.1|   regulatory protein [Pseudomonas aeruginosa PG201]
gi|9949621|gb|AAG06865.1|   transcriptional regulator RhlR [Pseudomonas
aeruginosa PAO1]   Length = 241

 Score =  146 bits (369), Expect = 1e-34
 Identities = 66/66 (100%), Positives = 66/66 (100%)
 Frame = +2

Query: 2   FLLWWDGLRSEMQPIHDSQGVFAVLEKEVRRLGFDYYAYGVRHTIPFTRPKTEVHGTYPK 181
            FLLWWDGLRSEMQPIHDSQGVFAVLEKEVRRLGFDYYAYGVRHTIPFTRPKTEVHGTYPK
Sbjct: 7   FLLWWDGLRSEMQPIHDSQGVFAVLEKEVRRLGFDYYAYGVRHTIPFTRPKTEVHGTYPK 66

Query: 182 AWLERY 199
            AWLERY
Sbjct: 67  AWLERY 72
```

6. ผลจากการเทียบความคล้ายของ ORF1

```
gi|9949625|gb|AAG06868.1|   probable deoxycytidine triphosphate deaminase
[Pseudomonas  aeruginosa PAO1]  Length = 188

 Score =  282 bits (722), Expect = 1e-74
 Identities = 137/137 (100%), Positives = 137/137 (100%)
 Frame = +1

Query: 1   EFKVFTNIHSAVVDPKNFDEKSFVDINSDVCIIPPNSFALARTVEYFRIPRDVLTICLGK 180
            EFKVFTNIHSAVVDPKNFDEKSFVDINSDVCIIPPNSFALARTVEYFRIPRDVLTICLGK
Sbjct: 52  EFKVFTNIHSAVVDPKNFDEKSFVDINSDVCIIPPNSFALARTVEYFRIPRDVLTICLGK 111

Query: 181 STYARCGIIVNVTPLEPEWEGHVTLEFSNTTNLPAKIYANEGVAQMLFLQSDEACEVSYK 360
            STYARCGIIVNVTPLEPEWEGHVTLEFSNTTNLPAKIYANEGVAQMLFLQSDEACEVSYK
Sbjct: 112 STYARCGIIVNVTPLEPEWEGHVTLEFSNTTNLPAKIYANEGVAQMLFLQSDEACEVSYK 171

Query: 361 DRGGKYQGQRGVTLPKA 411
            DRGGKYQGQRGVTLPKA
Sbjct: 172 DRGGKYQGQRGVTLPKA 188
```

7. ผลจากการเทียบความคล้ายของ ORF 2

```
gi|452503|gb|AAA62128.1|   rhamnosyl transferase  [Pseudomonas aeruginosa PG201]
Length = 295

 Score =  591 bits (1523), Expect = e-167
 Identities = 295/295 (100%), Positives = 295/295 (100%)
 Frame = +1

Query: 838  MRRESLLVSVCKGLRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFD 1017
             MRRESLLVSVCKGLRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFD
Sbjct: 1    MRRESLLVSVCKGLRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFD 60
```

```
Query: 1018 LPFAGQSRQHNPQRGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIR 1197
            LPFAGQSRQHNPQRGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIR
Sbjct: 61   LPFAGQSRQHNPQRGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIR 120

Query: 1198 SSVVMAFAPGLNQAMLDYVGRAQALIELDDKSAIGHLLNETVGKYLPPRLKASNHQHMAS 1377
            SSVVMAFAPGLNQAMLDYVGRAQALIELDDKSAIGHLLNETVGKYLPPRLKASNHQHMAS
Sbjct: 121  SSVVMAFAPGLNQAMLDYVGRAQALIELDDKSAIGHLLNETVGKYLPPRLKASNHQHMAS 180

Query: 1378 LATGEYEQARFHIDQVLALNDRGYLACLERIQSHVHFINGSWDEYTTAEDARQFRDYLPH 1557
            LATGEYEQARFHIDQVLALNDRGYLACLERIQSHVHFINGSWDEYTTAEDARQFRDYLPH
Sbjct: 181  LATGEYEQARFHIDQVLALNDRGYLACLERIQSHVHFINGSWDEYTTAEDARQFRDYLPH 240

Query: 1558 CSFSRVEGTGHFLDLESKLAAVRVHRALLEHLLKQPEPQRAERAAGFHEMAIGYA 1722
            CSFSRVEGTGHFLDLESKLAAVRVHRALLEHLLKQPEPQRAERAAGFHEMAIGYA
Sbjct: 241  CSFSRVEGTGHFLDLESKLAAVRVHRALLEHLLKQPEPQRAERAAGFHEMAIGYA 295
```

gi|9949623|gb|AAG06867.1| rhamnosyltransferase chain A [*Pseudomonas aeruginosa* PAO1] Length = 295

Score = 588 bits (1515), Expect = e-166
Identities = 294/295 (99%), Positives = 294/295 (99%)
Frame = +1

```
Query: 838  MRRESLLVSVCKGLRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFD 1017
            MRRESLLVSVCKGLRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFD
Sbjct: 1    MRRESLLVSVCKGLRVHVERVGQDPGRSTVMLVNGAMATTASFARTCKCLAEHFNVVLFD 60

Query: 1018 LPFAGQSRQHNPQRGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIR 1197
            LPFAGQSRQHNPQRGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIR
Sbjct: 61   LPFAGQSRQHNPQRGLITKDDEVEILLALIERFEVNHLVSASWGGISTLLALSRNPRGIR 120

Query: 1198 SSVVMAFAPGLNQAMLDYVGRAQALIELDDKSAIGHLLNETVGKYLPPRLKASNHQHMAS 1377
            SSVVMAFAPGLNQAMLDYVGRAQALIELDDKSAIGHLLNETVGKYLP RLKASNHQHMAS
Sbjct: 121  SSVVMAFAPGLNQAMLDYVGRAQALIELDDKSAIGHLLNETVGKYLPQRLKASNHQHMAS 180

Query: 1378 LATGEYEQARFHIDQVLALNDRGYLACLERIQSHVHFINGSWDEYTTAEDARQFRDYLPH 1557
            LATGEYEQARFHIDQVLALNDRGYLACLERIQSHVHFINGSWDEYTTAEDARQFRDYLPH
Sbjct: 181  LATGEYEQARFHIDQVLALNDRGYLACLERIQSHVHFINGSWDEYTTAEDARQFRDYLPH 240

Query: 1558 CSFSRVEGTGHFLDLESKLAAVRVHRALLEHLLKQPEPQRAERAAGFHEMAIGYA 1722
            CSFSRVEGTGHFLDLESKLAAVRVHRALLEHLLKQPEPQRAERAAGFHEMAIGYA
Sbjct: 241  CSFSRVEGTGHFLDLESKLAAVRVHRALLEHLLKQPEPQRAERAAGFHEMAIGYA 295
```

8. ผลจากการเทียบความคล้ายของORF 3

gi|9949622|gb|AAG06866.1| rhamnosyltransferase chain B [*Pseudomonas aeruginosa* PAO1] Length = 426

Score = 877 bits (2266), Expect = 0.0
Identities = 426/426 (100%), Positives = 426/426 (100%)
Frame = +3

```
Query: 1791 MHAILIAIGSAGDVFPFIGLARTLKLRGHRVSLCTIPVFRDAVEQHGIAFVPLSDELTYR 1970
            MHAILIAIGSAGDVFPFIGLARTLKLRGHRVSLCTIPVFRDAVEQHGIAFVPLSDELTYR
Sbjct: 1    MHAILIAIGSAGDVFPFIGLARTLKLRGHRVSLCTIPVFRDAVEQHGIAFVPLSDELTYR 60

Query: 1971 RTMGDPRLWDPKTSFGVLWQAIAGMIEPVYEYVSAQRHDDIVVVGSLWALGARIAHEKYG 2150
            RTMGDPRLWDPKTSFGVLWQAIAGMIEPVYEYVSAQRHDDIVVVGSLWALGARIAHEKYG
Sbjct: 61   RTMGDPRLWDPKTSFGVLWQAIAGMIEPVYEYVSAQRHDDIVVVGSLWALGARIAHEKYG 120
```

```
Query: 2151 IPYLSAQVSPSTLLSAHLPPVHPKFNVPEQMPLAMRKLLWRCIERFKLDRTCAPEINAVR 2330
            IPYLSAQVSPSTLLSAHLPPVHPKFNVPEQMPLAMRKLLWRCIERFKLDRTCAPEINAVR
Sbjct: 121  IPYLSAQVSPSTLLSAHLPPVHPKFNVPEQMPLAMRKLLWRCIERFKLDRTCAPEINAVR 180

Query: 2331 RKVGLETPVKRIFTQWMHSPQGVVCLFPAWFAPPQQDWPQPLHMTGFPLFDGSIPGTPLD 2510
            RKVGLETPVKRIFTQWMHSPQGVVCLFPAWFAPPQQDWPQPLHMTGFPLFDGSIPGTPLD
Sbjct: 181  RKVGLETPVKRIFTQWMHSPQGVVCLFPAWFAPPQQDWPQPLHMTGFPLFDGSIPGTPLD 240

Query: 2511 DELQRFLDQGSRPLVFTQGSTEHLQGDFYAMALRALERLGARGIFLTGAGQEPLRGLPNH 2690
            DELQRFLDQGSRPLVFTQGSTEHLQGDFYAMALRALERLGARGIFLTGAGQEPLRGLPNH
Sbjct: 241  DELQRFLDQGSRPLVFTQGSTEHLQGDFYAMALRALERLGARGIFLTGAGQEPLRGLPNH 300

Query: 2691 VLQRAYAPLGALLPSCAGLVHPGGIGAMSLALAAGVPQVLLPCAHDQFDNAERLVRLGCG 2870
            VLQRAYAPLGALLPSCAGLVHPGGIGAMSLALAAGVPQVLLPCAHDQFDNAERLVRLGCG
Sbjct: 301  VLQRAYAPLGALLPSCAGLVHPGGIGAMSLALAAGVPQVLLPCAHDQFDNAERLVRLGCG 360

Query: 2871 MRLGVPLREQELRGALWRLLEDPAMAAACRRFMELSQPHSIACGKAAQVVERCHREGDAR 3050
            MRLGVPLREQELRGALWRLLEDPAMAAACRRFMELSQPHSIACGKAAQVVERCHREGDAR
Sbjct: 361  MRLGVPLREQELRGALWRLLEDPAMAAACRRFMELSQPHSIACGKAAQVVERCHREGDAR 420

Query: 3051 WLKAAS 3068
            WLKAAS
Sbjct: 421  WLKAAS 426
```

gi|452504|gb|AAA62129.1| rhamnosyl transferase [*Pseudomonas aeruginosa* PG201], Length = 426

```
 Score =  874 bits (2259), Expect = 0.0
 Identities = 424/426 (99%), Positives = 425/426 (99%)
 Frame = +3

Query: 1791 MHAILIAIGSAGDVFPFIGLARTLKLRGHRVSLCTIPVFRDAVEQHGIAFVPLSDELTYR 1970
            MHAILIAIGSAGDVFPFIGLARTLKLRGHRVSLCTIPVFRDAVEQHGIAFVPLSDELTYR
Sbjct: 1    MHAILIAIGSAGDVFPFIGLARTLKLRGHRVSLCTIPVFRDAVEQHGIAFVPLSDELTYR 60

Query: 1971 RTMGDPRLWDPKTSFGVLWQAIAGMIEPVYEYVSAQRHDDIVVVGSLWALGARIAHEKYG 2150
            RTMGDPRLWDPKTSFGVLWQ IAGMIEPVYEYVSAQRHDDIVVVGSLWALGARIAHEKYG
Sbjct: 61   RTMGDPRLWDPKTSFGVLWQTIAGMIEPVYEYVSAQRHDDIVVVGSLWALGARIAHEKYG 120

Query: 2151 IPYLSAQVSPSTLLSAHLPPVHPKFNVPEQMPLAMRKLLWRCIERFKLDRTCAPEINAVR 2330
            IPYLSAQVSPSTLLSAHLPPVHPKFNVPEQMPLAMRKLLWRCIERFKLDRTCAP+INAVR
Sbjct: 121  IPYLSAQVSPSTLLSAHLPPVHPKFNVPEQMPLAMRKLLWRCIERFKLDRTCAPDINAVR 180

Query: 2331 RKVGLETPVKRIFTQWMHSPQGVVCLFPAWFAPPQQDWPQPLHMTGFPLFDGSIPGTPLD 2510
            RKVGLETPVKRIFTQWMHSPQGVVCLFPAWFAPPQQDWPQPLHMTGFPLFDGSIPGTPLD
Sbjct: 181  RKVGLETPVKRIFTQWMHSPQGVVCLFPAWFAPPQQDWPQPLHMTGFPLFDGSIPGTPLD 240

Query: 2511 DELQRFLDQGSRPLVFTQGSTEHLQGDFYAMALRALERLGARGIFLTGAGQEPLRGLPNH 2690
            DELQRFLDQGSRPLVFTQGSTEHLQGDFYAMALRALERLGARGIFLTGAGQEPLRGLPNH
Sbjct: 241  DELQRFLDQGSRPLVFTQGSTEHLQGDFYAMALRALERLGARGIFLTGAGQEPLRGLPNH 300

Query: 2691 VLQRAYAPLGALLPSCAGLVHPGGIGAMSLALAAGVPQVLLPCAHDQFDNAERLVRLGCG 2870
            VLQRAYAPLGALLPSCAGLVHPGGIGAMSLALAAGVPQVLLPCAHDQFDNAERLVRLGCG
Sbjct: 301  VLQRAYAPLGALLPSCAGLVHPGGIGAMSLALAAGVPQVLLPCAHDQFDNAERLVRLGCG 360

Query: 2871 MRLGVPLREQELRGALWRLLEDPAMAAACRRFMELSQPHSIACGKAAQVVERCHREGDAR 3050
            MRLGVPLREQELRGALWRLLEDPAMAAACRRFMELSQPHSIACGKAAQVVERCHREGDAR
Sbjct: 361  MRLGVPLREQELRGALWRLLEDPAMAAACRRFMELSQPHSIACGKAAQVVERCHREGDAR 420

Query: 3051 WLKAAS 3068
            WLKAAS
Sbjct: 421  WLKAAS 426
```

9. ผลจากการเทียบความคล้ายของ ORF 4

gi|452505|gb|AAA62130.1| regulatory protein [*Pseudomonas aeruginosa* PG201]
gi|9949621|gb|AAG06865.1| transcriptional regulator RhlR [*Pseudomonas aeruginosa* PAO1] Length = 241

```
 Score =  472 bits (1215), Expect = e-131
 Identities = 229/229 (100%), Positives = 229/229 (100%)
 Frame = +1

Query: 3196 MRNDGGFLLWWDGLRSEMQPIHDSQGVFAVLEKEVRRLGFDYYAYGVRHTIPFTRPKTEV 3375
            MRNDGGFLLWWDGLRSEMQPIHDSQGVFAVLEKEVRRLGFDYYAYGVRHTIPFTRPKTEV
Sbjct: 1    MRNDGGFLLWWDGLRSEMQPIHDSQGVFAVLEKEVRRLGFDYYAYGVRHTIPFTRPKTEV 60

Query: 3376 HGTYPKAWLERYQMQNYGAVDPAILNGLRSSEMVVWSDSLFDQSRMLWNEARDWGLCVGA 3555
            HGTYPKAWLERYQMQNYGAVDPAILNGLRSSEMVVWSDSLFDQSRMLWNEARDWGLCVGA
Sbjct: 61   HGTYPKAWLERYQMQNYGAVDPAILNGLRSSEMVVWSDSLFDQSRMLWNEARDWGLCVGA 120

Query: 3556 TLPIRAPNNLLSVLSVARDQQNISSFEREEIRLRLRCMIELLTQKLTDLEHPMLMSNPVC 3735
            TLPIRAPNNLLSVLSVARDQQNISSFEREEIRLRLRCMIELLTQKLTDLEHPMLMSNPVC
Sbjct: 121  TLPIRAPNNLLSVLSVARDQQNISSFEREEIRLRLRCMIELLTQKLTDLEHPMLMSNPVC 180

Query: 3736 LSHREREILQWTADGKSSGEIAIILSISESTVNFHHKNIQKKFDAPNKT 3882
            LSHREREILQWTADGKSSGEIAIILSISESTVNFHHKNIQKKFDAPNKT
Sbjct: 181  LSHREREILQWTADGKSSGEIAIILSISESTVNFHHKNIQKKFDAPNKT 229
```

10. ผลจากการเทียบความคล้ายของ ORF 5

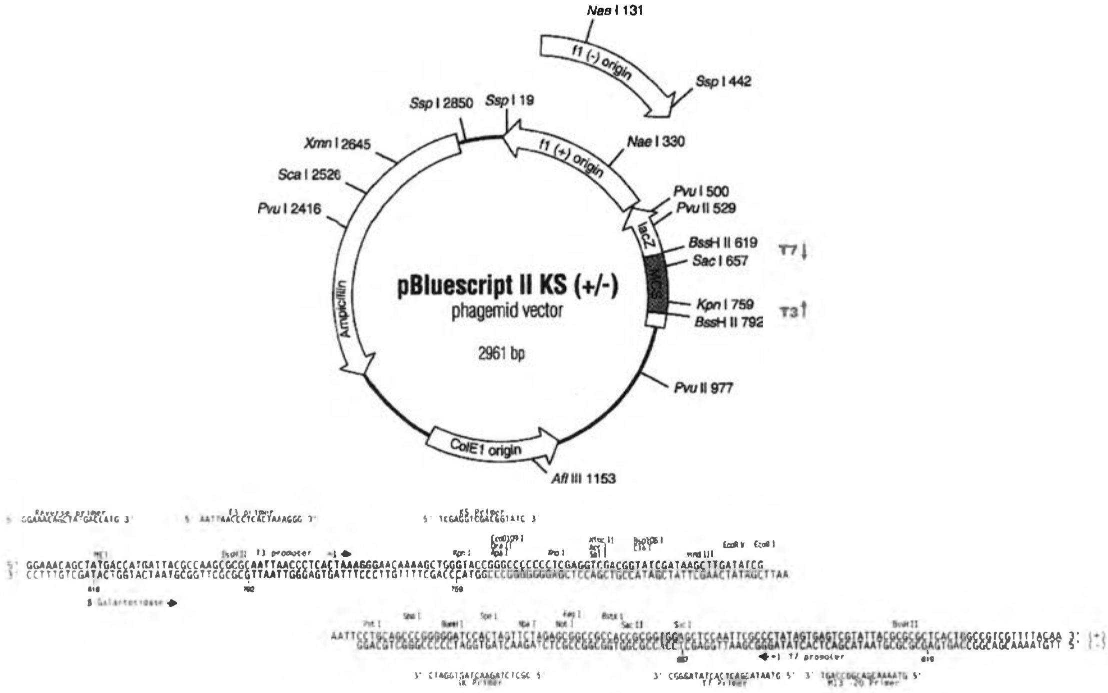
gi|511478|gb|AAA82725.1| putative autoinducer synthetase (PG201)
Length = 201

```
 Score =  385 bits (989), Expect = e-105
 Identities = 190/201 (94%), Positives = 190/201 (94%)
 Frame = +3

Query: 4101 MIXXXXXXXXXXXAAMIAELGRYRHQVFIEKLGWDVVSTSRVRDQEFDQFDHPQTRYIVA 4280
            MI           AAMIAELGRYRHQVFIEKLGWDVVSTSRVRDQEFDQFDHPQTRYIVA
Sbjct: 1    MIELLSESLEGLSAAMIAELGRYRHQVFIEKLGWDVVSTSRVRDQEFDQFDHPQTRYIVA 60

Query: 4281 MGRQGICGCARLLPTTDAYLLKEVFAYLCSETPPSDPSVWELSRYAASAADDPQLAMKIF 4460
            MGRQGICGCARLLPTTDAYLLKEVFAYLCSETPPSDPSVWELSRYAASAADDPQLAMKIF
Sbjct: 61   MGRQGICGCARLLPTTDAYLLKEVFAYLCSETPPSDPSVWELSRYAASAADDPQLAMKIF 120

Query: 4461 WSSLQCAWYLGASSVVAVTTTAMERYFVRNGVILQRLGPPQKVKGETLVAISFPAYQERG 4640
            WSSLQCAWYLGASSVVAVTTTAMERYFVRNGVILQRLGPPQKVKGETLVAISFPAYQERG
Sbjct: 121  WSSLQCAWYLGASSVVAVTTTAMERYFVRNGVILQRLGPPQKVKGETLVAISFPAYQERG 180

Query: 4641 LEMLLRYHPEWLQGVPLSMAV 4703
            LEMLLRYHPEWLQGVPLSMAV
Sbjct: 181  LEMLLRYHPEWLQGVPLSMAV 201
```

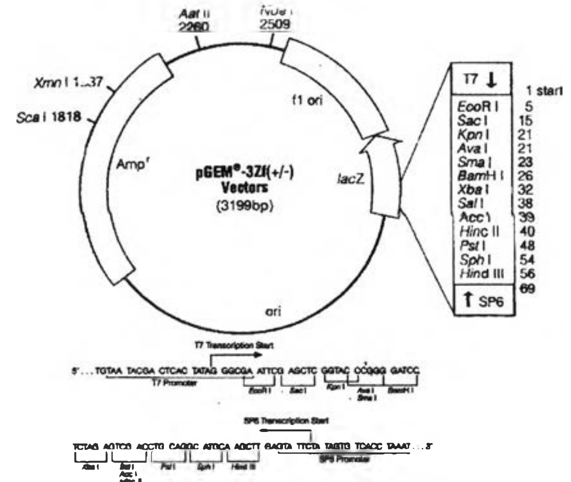
ภาคผนวก ง

พลาสมิดพาหะ

1. **พลาสมิด** pBluescript KS(+/-)



2. **พลาสมิด** pGEM-3Zf(+/-)



ภาคผนวก จ

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ16 เอส ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (16S rDNA) และชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรกในรีคอมบิแนนท์พลาสมิด

1. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ16เอสไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (16S ribosomal DNA)

```
16S ribosomal DNA of A41 1430 bp, 364 A  325 C  452 G  289 T

           10         20         30         40         50
5' GGCAGGCCTA ACACATGCAA GTCGAGCGGA TGAAGGGAGC TTGCTCCTGG
           60         70         80         90        100
   ATTCAGCGGC GGACGGGTGA GTAATGCCTA GGAATCTGCC TGGTAGTGGG
          110        120        130        140        150
   GGATAACGTC CGGAAACGGG CGCTAATACC GCATACGTCC TGAGGGAGAA
          160        170        180        190        200
   AGTGGGGGAT CTTCGGACCT CACGCTATCA GATGAGCCTA GGTCGGATTA
          210        220        230        240        250
   GCTAGTTGGT GGGGTAAAGG CCTACCAAGG CGACGATCCG TAACTGGTCT
          260        270        280        290        300
   GAGAGGATGA TCAGTCACAC TGGAACTGAG ACACGGTCCA GACTCCTACG
          310        320        330        340        350
   GGAGGCAGCA GTGGGGAATA TTGGACAATG GGCGAAAGCC TGATCCAGCC
          360        370        380        390        400
   ATGCCGCGTG TGTGAAGAAG GTCTTCGGAT TGTAAAGCAC TTTAAGTTGG
          410        420        430        440        450
   GAGGAAGGGC AGTAAGTTAA TACCTTGCTG TTTTGACGTT ACCAACAGAA
          460        470        480        490        500
   TAAGCACCGG CTAACTTCGT GCCAGCAGCC GCGGTAATAC GAAGGGTGCA
          510        520        530        540        550
   AGCGTTAATC GGAATTACTG GGCGTAAAGC GCGCGTAGGT GGTTCAGCAA
          560        570        580        590        600
   GTTGGATGTG AAATCCCCGG GCTCAACCTG GGAACTGCAT CCAAAACTAC
          610        620        630        640        650
   TGAGCTAGAG TACGGTAGAG GGTGGTGGAA TTTCCTGTGT AGCGGTGAAA
          660        670        680        690        700
   TGCGTAGATA TAGGAAGGAA CACCAGTGGC GAAGGCGACC ACCTGGACTG
          710        720        730        740        750
   ATACTGACAC TGAGGTGCGA AAGCGTGGGG AGCAAACAGG ATTAGATACC
          760        770        780        790        800
   CTGGTAGTCC ACGCCGTAAA CGATGTCGAC TAGCCGTTGG GATCCTTGAG
          810        820        830        840        850
   ATCTTAGTGG CGCAGCTAAC GCGATAAGTC GACCGCCTGG GGAGTACGGC
          860        870        880        890        900
   CGCAAGGTTA AAACTCAAAT GAATTGACGG GGGCCCGCAC AAGCGGTGGA
          910        920        930        940        950
   GCATGTGGTT TAATTCGAAG CAACGCGAAG AACCTTACCT GGCCTTGACA
          960        970        980        990       1000
   TGCTGAGAAC TTTCCAGAGA TGGATTGGTG CCTTCGGGAA CTCAGACACA
         1010       1020       1030       1040       1050
   GGTGCTGCAT GGCTGTCGTC AGCTCGTGTC GTGAGATGTT GGGTTAAGTC
         1060       1070       1080       1090       1100
   CCGTAACGAG CGCAACCCTT GTCCTTAGTT ACCAGCACCT CGGGTGGGCA
         1110       1120       1130       1140       1150
   CTCTAAGGAG ACTGCCGGTG ACAAACCGGA GGAAGGTGGG GATGACGTCA
         1160       1170       1180       1190       1200
   AGTCATCATG GCCCTTACGG CCAGGGCTAC ACACGTGCTA CAATGGTCGG
```

```
      1210       1220       1230       1240       1250
TACAAAGGGT TGCCAAGCCG CGAGGTGGAG CTAATCCCAT AAAACCGATC
      1260       1270       1280       1290       1300
GTAGTCCGGA TCGCAGTCTG CAACTCGACT GCGTGAAGTC GGAATCGCTA
      1310       1320       1330       1340       1350
GTAATCGTGA ATCAGAATGT CACGGTGAAT ACGTTCCCGG GCCTTGTACA
      1360       1370       1380       1390       1400
CACCGCCCGT CACACCATGG GAGTGGGTTG CTCCAGAAGT AGCTAGTCTA
      1410       1420       1430
ACCGCAAGGG GGACGGTTAC CACGGAGTGA 3'
```

2. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรกใน pBR123

```
pBR123  1531 bp   , 247 A    511 C    472 G    301 T

         10         20         30         40         50
5' GGATCCGGCG ATCCTCAACG GCCTGCGCTC CTCGGAAATG GTGGTTTGGA
         60         70         80         90        100
   GCGACAGCCT GTTCGACCAG AGCCGGATGC TCTGGAACGA GGCTCGCGAT
        110        120        130        140        150
   TGGGGCCTCT GTGTCGGCGC GACCTTGCCG ATCCGCGCGC CGAACAATTT
        160        170        180        190        200
   GCTCAGCGTG CTTTCCGTGG CGCGCGACCA GCAGAATATC TCCAGCTTCG
        210        220        230        240        250
   AGCGCGAGGA AATACGCCTG CGGCTGCGTT GCATGATCGA GTTGCTGACC
        260        270        280        290        300
   CAGAAGCTGA CCGACCTGGA GCATCCGATG CTGATGTCCA ACCCGGTCTG
        310        320        330        340        350
   CCTGAGCCAT CGCGAGCGCG AGATCCTGCA ATGGACCGCC GACGGCAAGA
        360        370        380        390        400
   GTTCCGGGGA AATCGCCATC ATCCTGAGCA TCTCCGAGAG CACGGTGAAC
        410        420        430        440        450
   TTCCACCACA AGAACATCCA GAAGAAGTTC GACGCGCCGA ACAAGACGCT
        460        470        480        490        500
   GGCTGCCGCC TACGCCGCGG CGCTGGGCCT CATCTGATGC TTAGGGCGCG
        510        520        530        540        550
   CCGGCTGGCG CGCCCTACCA GATCTGGCAG GTTGCCTGCC GTTCATCCTC
        560        570        580        590        600
   CTTTAGTCTT CCCCCTCATG TGTGTGCTGG TATGTCCTCC GACTGAGAGG
        610        620        630        640        650
   GCCCAGGAGT ATCAGGGTAG GGATGCCGCC TTTTTTTCTC GGCCGGCACG
        660        670        680        690        700
   ACACGGGGAC TTGGTCATGA TCGAATTGCT CTCTGAATCG CTGGAAGGGC
        710        720        730        740        750
   TTTCCGCCGC CATGATCGCC GAGCTGGGAC GCTACCGGCA TCAGGTCTTC
        760        770        780        790        800
   ATCGAGAAGC TGGGCTGGGA TGTGGTCTCC ACCTCCAGGG TCCGCGACCA
        810        820        830        840        850
   GGAGTTCGAC CAGTTCGACC ATCCGCAAAC CCGCTACATC GTCGCCATGG
        860        870        880        890        900
   GCCGCCAGGG TATCTGCGGT TGTGCCCGCC TGTTGCCGAC GACCGACGCC
        910        920        930        940        950
   TACCTGCTCA AGGAAGTCTT CGCCTACCTG TGCAGCGAAA CCCCGCCCAG
        960        970        980        990       1000
   CGATCCGTCG GTCTGGGAGC TTTCGCGTTA CGCCGCCAGC GCGGCGGACG
       1010       1020       1030       1040       1050
   ATCCGCAACT GGCGATGAAG ATATTCTGGT CCAGCCTGCA ATGCGCCTGG
       1060       1070       1080       1090       1100
   TACCTGGGCG CCAGTTCGGT GGTGGCGGTG ACCACCACGG CCATGGAGCG
       1110       1120       1130       1140       1150
   CTATTTCGTT CGCAACGGCG TGATCCTCCA GCGCCTCGGC CCGCCGCAGA
```

```
        1160       1170       1180       1190       1200
AGGTCAAGGG CGAGACGCTG GTCGCGATCA GCTTCCCGGC CTACCAGGAG
        1210       1220       1230       1240       1250
CGCGGCCTGG AGATGCTGCT GCGCTACCAC CCGGAATGGC TGCAGGGCGT
        1260       1270       1280       1290       1300
ACCGCTGTCG ATGGCGGTGT GAGGTCGTCA GCCGTTTCGC GCACTTTTTT
        1310       1320       1330       1340       1350
CCGCTTCTCC TGCCGCATGC TCGGCCCGCG CCCCGGCGTC ATCGGGCGTT
        1360       1370       1380       1390       1400
CCCCTGCATT CCGGGATTTG GCCGCGGCTG CCGACTTGCG TAGTCTCTCT
        1410       1420       1430       1440       1450
GCGGTCCGCC ATCCCGAGGA GTCGCCATGC CGAAGTCATT CCGCCATCTC
        1460       1470       1480       1490       1500
GTCCAGGCCC TGGCCTGCCT TGCGCTGCTG GCCAGCGCCA GCCTCCAGGC
        1510       1520       1530
GCAGGAGAGC CGCCTCGACC GCATCCTCGA G 3'
```

3. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรกใน pBR530

```
pBR530  513 bp, 100 A    136 C    169 G    108 T

           10         20         30         40         50
5' CTCGAGGACC CGGCCATGGC GGCGGCCTGT CGGCGTTTCA TGGAATTGTC
           60         70         80         90        100
   ACAACCGCAC AGTATCGCTT GCGGTAAAGC GGCCCAGGTG GTCGAACGTT
          110        120        130        140        150
   GTCATAGGGA GGGGGATGCG CGATGGCTGA AGGCTGCGTC CTGAACGGTG
          160        170        180        190        200
   CTGGCATAAC AGATAGGGTT GCCATGATTT TGCCGTATCG GCAAGGCTGC
          210        220        230        240        250
   GCGCTTGACA GCGTCATACC CCGGGCCAAT TCTGCTGTGA TGCATTTTAT
          260        270        280        290        300
   CGATCAGGGC TTACTGCAAT GAGGAATGAC GGAGGCTTTT TGCTGTGGTG
          310        320        330        340        350
   GGACGGTTTG CGTAGCGAGA TGCAGCCGAT CCACGACAGC CAGGGCGTGT
          360        370        380        390        400
   TCGCCGTCCT GGAAAAGGAA GTGCGGCGCC TGGGCTTCGA TTACTACGCC
          410        420        430        440        450
   TATGGCGTGC GCCATACGAT TCCCTTCACC CGGCCGAAGA CCGAGGTCCA
          460        470        480        490        500
   TGGCACCTAT CCCAAGGCCT GGCTGGAGCG ATACCAGATG CAGAACTACG
          510
   GGGCCGTGGA TCC 3'
```

4. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรกใน pGA396

```
pGA396  1562 bp, 299 A  503 C    470 G    290 T

           10         20         30         40         50
5' GAATTCAAGG TGTTCACCAA CATCCATTCG GCGGTGGTCG ATCCGAAGAA
           60         70         80         90        100
   CTTCGACGAG AAAAGCTTCG TCGACATCAA CAGCGACGTC TGCATCATCC
          110        120        130        140        150
   CGCCGAACTC CTTCGCCCTG GCGCGCACCG TCGAGTACTT CCGCATCCCG
          160        170        180        190        200
   CGCGACGTCC TGACCATCTG CCTGGGCAAG AGCACCTACG CGCGTTGCGG
          210        220        230        240        250
   CATCATCGTC AACGTCACCC CGCTGGAGCC GGAGTGGGAA GGCCATGTGA
          260        270        280        290        300
   CCCTCGAGTT CTCCAATACC ACCAACCTGC CGGCGAAGAT CTACGCCAAT
```

```
       310        320        330        340        350
GAAGGCGTGG CGCAGATGCT CTTCCTGCAA TCCGACGAGG CCTGCGAAGT
       360        370        380        390        400
GTCCTATAAG GACCGTGGCG GCAAATACCA GGGTCAGCGC GGCGTGACCC
       410        420        430        440        450
TGCCAAAAGC CTGACGCCAG AGCGTTTCGA CACCGGAAAC CGGGCCTGGC
       460        470        480        490        500
GCCCGGTTTT TTCATGCCTT TTCCGCCAAC CCCTCGCTGT TCCCCGCCGG
       510        520        530        540        550
CCGCTCTGGC ACGCCTTATC GCGGGCGGGC AGGGGCTTAT GCGCAGGCGG
       560        570        580        590        600
CCGCCCGTCC TGTGAAATCT GGCAGTTACC GTTAGCTTTC GAATTGGCTA
       610        620        630        640        650
AAAAGTGTTC ATCGGCTACG CGTGAACACG GACGCCAATC GTTTGCGCAG
       660        670        680        690        700
GCCGATCTGC AAGACCCACA CAAGCCCCTC GCCTGAAGGG GTACGCATCC
       710        720        730        740        750
GCCGTGGCTG GTCCGCGCGG ATGGCCGCTG AGTTACTTGT CTGCCGTTCG
       760        770        780        790        800
AACAATAAGA ACGAACTCTA CGTAATGCCG GGATACCCGT GGCAGCGATA
       810        820        830        840        850
GCTGTTTGCC TGTTCGAAAA TTTTTGGGAG GTGTGAAATG CGGCGCGAAA
       860        870        880        890        900
GTCTGTTGGT ATCGGTTTGC AAGGGCCTGC GGGTACATGT CGAGCGCGTT
       910        920        930        940        950
GGGCAGGATC CCGGGCGCAG CACGGTGATG CTGGTCAACG GCGCGATGGC
       960        970        980        990       1000
GACCACCGCC TCGTTCGCCC GGACCTGCAA GTGCCTGGCC GAACATTTCA
      1010       1020       1030       1040       1050
ACGTGGTGCT GTTCGACCTG CCCTTCGCCG GGCAGTCGCG TCAGCACAAC
      1060       1070       1080       1090       1100
CCGCAGCGCG GGTTGATCAC CAAGGACGAC GAGGTGGAAA TCCTCCTGGC
      1110       1120       1130       1140       1150
GCTGATCGAG CGCTTCGAGG TCAATCACCT GGTCTCCGCG TCGTGGGGCG
      1160       1170       1180       1190       1200
GTATCTCCAC GCTGCTGGCG CTGTCGCGCA ATCCGCGCGG CATCCGCAGC
      1210       1220       1230       1240       1250
TCGGTGGTGA TGGCATTCGC CCCTGGACTG AACCAGGCGA TGCTCGACTA
      1260       1270       1280       1290       1300
CGTCGGGCGG GCGCAGGCGC TGATCGAGCT GGACGACAAG TCGGCGATCG
      1310       1320       1330       1340       1350
GCCATCTGCT CAACGAGACC GTCGGCAAAT ACCTGCCGCC GCGCCTGAAA
      1360       1370       1380       1390       1400
GCCAGCAACC ATCAGCACAT GGCTTCGCTG GCCACCGGCG AATACGAGCA
      1410       1420       1430       1440       1450
GGCGCGCTTT CACATCGACC AGGTGCTGGC GCTCAACGAT CGGGGCTACC
      1460       1470       1480       1490       1500
TGGCTTGCCT GGAGCGGATC CAGAGCCACG TGCATTTCAT CAACGGCAGC
      1510       1520       1530       1540       1550
TGGGACGAAT ACACCACCGC CGAGGACGCC CGCCAGTTCC GCGACTACCT
      1560
GCCGCACTGC AG 3'
```

5. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรกใน pKB261

```
pKB261 1975 bp, 319 A    653 C    650 G    353 T

          10         20         30         40         50
5' GGATCCAGAG CCACGTGCAT TTCATCAACG GCAGCTGGGA CGAATACACC
          60         70         80         90        100
   ACCGCCGAGG ACGCCCGCCA GTTCCGCGAC TACCTGCCGC ACTGCAGTTT
         110        120        130        140        150
   CTCGCGGGTG GAGGGCACCG GGCATTTCCT CGACCTGGAG TCCAAGCTGG
         160        170        180        190        200
   CCGCGGTACG CGTGCACCGC GCCCTGCTCG AGCACCTGCT GAAGCAACCG
         210        220        230        240        250
   GAGCCGCAGC GGGCGGAACG CGCGGCGGGA TTCCACGAGA TGGCCATCGG
         260        270        280        290        300
   CTACGCCTGA ACCCTTGACC TGCGAAGACC CGGCCTGGCC GGGCTTTGCG
         310        320        330        340        350
   GTTGCATAAC GCACGGAGTA GCCCCATGCA CGCCATCCTC ATCGCCATCG
         360        370        380        390        400
   GCTCGGCCGG CGACGTATTT CCCTTCATCG GCTTGGCCCG GACCCTGAAA
         410        420        430        440        450
   TTGCGCGGGC ACCGCGTGAG CCTCTGCACC ATCCCGGTGT TTCGCGACGC
         460        470        480        490        500
   GGTGGAGCAG CACGGCATCG CGTTCGTCCC GCTGAGCGAC GAACTGACCT
         510        520        530        540        550
   ACCGCCGGAC CATGGGCGAT CCGCGCCTGT GGGACCCCAA GACGTCCTTC
         560        570        580        590        600
   GGCGTGCTCT GGCAAGCCAT CGCCGGGATG ATCGAGCCGG TCTACGAGTA
         610        620        630        640        650
   CGTCTCGGCG CAGCGCCATG ACGACATCGT GGTGGTCGGC TCGCTCTGGG
         660        670        680        690        700
   CGCTGGGCGC ACGCATCGCT CACGAGAAGT ACGGGATTCC CTACCTGTCC
         710        720        730        740        750
   GCGCAGGTCT CGCCATCGAC CTTGTTGTCG GCGCACCTGC CGCCGGTACA
         760        770        780        790        800
   CCCCAAGTTC AACGTGCCCG AGCAGATGCC GCTGGCGATG CGCAAGCTGC
         810        820        830        840        850
   TCTGGCGCTG CATCGAGCGC TTCAAGCTGG ATCGCACCTG CGCGCCGGAG
         860        870        880        890        900
   ATCAACGCGG TGCGCCGCAA GGTCGGCCTG GAGACGCCGG TGAAGCGCAT
         910        920        930        940        950
   CTTCACCCAA TGGATGCATT CGCCGCAGGG CGTGGTCTGC CTGTTCCCGG
         960        970        980        990       1000
   CCTGGTTCGC GCCGCCCCAG CAGGATTGGC CGCAACCCCT GCACATGACC
        1010       1020       1030       1040       1050
   GGCTTCCCGC TGTTCGACGG CAGTATCCCG GGGACCCCGC TCGACGACGA
        1060       1070       1080       1090       1100
   ACTGCAACGC TTTCTCGATC AGGGCAGCCG GCCGCTGGTG TTCACCCAGG
        1110       1120       1130       1140       1150
   GCTCGACCGA ACACCTGCAG GGCGACTTCT ACGCCATGGC CCTGCGCGCG
        1160       1170       1180       1190       1200
   CTGGAACGCC TCGGCGCGCG TGGGATCTTC CTCACCGGCG CCGGCCAGGA
        1210       1220       1230       1240       1250
   ACCGCTGCGC GGCTTGCCGA ATCACGTGCT GCAGCGCGCC TACGCGCCAC
        1260       1270       1280       1290       1300
   TGGGAGCCTT GCTGCCATCG TGCGCCGGGC TGGTCCATCC GGGCGGTATC
        1310       1320       1330       1340       1350
   GGCGCCATGA GCCTGGCCTT GGCGGCGGGG GTGCCGCAGG TGCTGCTGCC
        1360       1370       1380       1390       1400
   CTGCGCCCAC GACCAGTTCG ACAATGCCGA ACGGCTGGTC CGGCTCGGCT
        1410       1420       1430       1440       1450
   GCGGGATGCG CCTGGGCGTG CCATTGCGCG AGCAGGAGTT GCGCGGGGCG
```

```
      1460       1470       1480       1490       1500
CTGTGGCGCT TGCTCGAGGA CCCGGCCATG GCGGCGGCCT GTCGGCGTTT
      1510       1520       1530       1540       1550
CATGGAATTG TCACAACCGC ACAGTATCGC TTGCGGTAAA GCGGCCCAGG
      1560       1570       1580       1590       1600
TGGTCGAACG TTGTCATAGG GAGGGGGATG CGCGATGGCT GAAGGCTGCG
      1610       1620       1630       1640       1650
TCCTGAACGG TGCTGGCATA ACAGATAGGG TTGCCATGAT TTTGCCGTAT
      1660       1670       1680       1690       1700
CGGCAAGGCT GCGCGCTTGA CAGCGTCATA CCCCGGGCCA ATTCTGCTGT
      1710       1720       1730       1740       1750
GATGCATTTT ATCGATCAGG GCTTACTGCA ATGAGGAATG ACGGAGGCTT
      1760       1770       1780       1790       1800
TTTGCTGTGG TGGGACGGTT TGCGTAGCGA GATGCAGCCG ATCCACGACA
      1810       1820       1830       1840       1850
GCCAGGGCGT GTTCGCCGTC CTGGAAAAGG AAGTGCGGCG CCTGGGCTTC
      1860       1870       1880       1890       1900
GATTACTACG CCTATGGCGT GCGCCATACG ATTCCCTTCA CCCGGCCGAA
      1910       1920       1930       1940       1950
GACCGAGGTC CATGGCACCT ATCCCAAGGC CTGGCTGGAG CGATACCAGA
      1960       1970
TGCAGAACTA CGGGGCCGTG GATCC 3'
```

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวขนิษฐา วงษ์นิกร เกิดเมื่อวันที่ 1 พฤศจิกายน พ.ศ. 2521 ที่กรุงเทพ ฯ สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2543 และเข้ารับการศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2544