การวิเคราะห์ฟิวแซนท์ของ *Streptomyces* โดยรูปแบบการเรียงต้า
ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์

นางสาว วลัยรัตน์ เหล่าสินชัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2535

ISBN 974-582-039-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Analysis of *Streptomyces* Fusants by DNA Restriction Fingerprint

Miss Walairat Laosinchai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Program of Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

1992

ISBN 974-582-039-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์ฟิวแซนท์ของ *Streptomyces* โดยรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์
โดย	นางสาว วลัยรัตน์ เหล่าสินชัย
ภาควิชา	หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดี บัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนียวัน)

วลัยรัตน์ เหล่าสินชัย : การวิเคราะห์ฟิวแซนท์ของ *Streptomyces* โดยรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ (ANALYSIS OF *Streptomyces* FUSANTS BY DNA RESTRICTION FINGERPRINT) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ, 96 หน้า. ISBN 974-582-039-3

งานวิจัยนี้ รายงานการวิเคราะห์ลูกผสมที่ได้มาจากการหลอมโปรโตพลาสท์ ระหว่าง *Streptomyces sp.* 42-9 ที่ผลิตเอนไซม์ไซแลเนสกับ *Streptomyces sp.* 190-1 ที่ผลิตเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส พบว่าลูกผสมสามารถผลิตเอนไซม์ทั้งสองได้ในปริมาณที่แตกต่างกันไปและจากการวิเคราะห์โดยใช้รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของลูกผสมที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ แล้วผ่านการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส พบว่า D_3 แสดงรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่แตกต่างอย่างเด่นชัด จากลูกผสมอื่น ๆ ภายใต้สภาวะเหมาะสม คือ ใช้เรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ความเข้มข้นอะกาโรสเจล 0.7 เปอร์เซนต์ ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม. 45 นาที และเมื่อวิเคราะห์รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของลูกผสมต่าง ๆ โดยการอ่านค่าความเข้ม พบว่าจะได้ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนที่สัมพันธ์กับแอคติวิตีของเอนไซม์ไซแลเนสและกลูโคสไอโซเมอเรส

เมื่อนำเอนไซม์ไซแลเนสและกลูโคสไอโซเมอเรสจาก *Streptomyces sp.* 42-9, 190-1 และลูกผสม ไปทำให้บริสุทธิ์แล้วนำไปวิเคราะห์โดยวิธีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซิส พบว่าลูกผสมให้แถบไซแลเนสตรงกับแถบที่ได้จาก *Streptomyces sp.* 42-9 และแถบของกลูโคสไอโซเมอเรสตรงกับแถบที่ได้จาก *Streptomyces sp.* 190-1 ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 48,000 และ 46,000 ดาลตัน ตามลำดับ

ภาควิชา หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต วลัยรัตน์ เหล่าสินชัย

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา [signature]

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

C226153 : MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: *Streptomyces*/PROTOPLAST FUSION/DNA RESTRICTION FINGERPRINT

WALAIRAT LAOSINCHAI : ANALYSIS OF *Streptomyces* FUSANTS BY DNA RESTRICTION FINGERPRINT. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PAIROH PINPHANICHAKARN, Ph.D. 96 pp. ISBN 974-582-039-3

Fusants obtained through protoplast fusion between *Streptomyces sp.* 42-9, a xylanase producing strain, and *Streptomyces sp.* 190-1, a glucose isomerase producing strain were analysed. Fusants were able to produce both xylanase and glucose isomerase but at various extents among them. DNA restriction fingerprints from these fusants were compared to those of parental strains. Only D_3 produced unique banding pattern under suitable conditions upon restriction cut with BamHI, 6 unit/µg of DNA, and electrophoresed on 0.7% agarose gel at 14 volt/cm.gel for 1 $\frac{3}{4}$ hr. Analysis of DNA restriction patterns by densitometer showed certain degree of similarity of these fusants to each parent. Furthermore, the degree of similarity in restriction fingerprints seemed to be related to both xylanase and glucose isomerase activities.

Xylanase and glucose isomerase from *Streptomyces sp.* 42-9, 190-1 and some fusants were partially purified. SDS-PAGE analysis of these proteins showed that fusants possessed both xylanase and glucose isomerase. Both enzymes had similar molecular weight to those obtained from the corresponding parental strains which were 48,000 and 46,000 daltons for xylanase and glucose isomerase, respectively.

ภาควิชา หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต วลัยรัตน์ เหล่าสินชัย

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี ด้วยความช่วยเหลือจาก รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆ และ ความช่วยเหลือในทุกๆด้าน ตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์นี้ รวมทั้งช่วยแก้ไขให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ดียิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงสุดไว้ ณ.ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล ผู้อำนวยการสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และสารเคมีจนงานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่ได้กรุณาเป็นเป็นประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนียวัน ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ดร.มานะ ศรียุทธศักดิ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ และความช่วยเหลือในการทำอิเลคโตรโพรีซิส อย่างดียิ่ง และ ดร.นิคม ชัยศิริ คณะสัตวแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์การทำอิเลคโตรโพรีซิส

ขอขอบคุณ คุณเอก แสงวิเชียร คุณวาสนา โตเลี้ยง คุณวรางคณา อินทรเสน คุณสมพร ตั้นสกุล และคุณขจีนาฏ โพธิเวชกุล ที่ให้คำแนะนำเทคนิคต่างๆ และให้ความช่วยเหลือด้านเชื้อที่นำมาใช้ในการทำวิจัยนี้

ขอขอบคุณ นักวิจัย ช่างเทคนิค และเจ้าหน้าที่บรรจำสกาบันฯ ทุกๆคน ที่ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในทุกๆด้านเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ โดยเฉพาะผู้ร่วมขบวนการทุกคน เป็นอย่างมากที่ให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจ ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณ ฝ่ายวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ และ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนสำหรับการเรียน และการทำวิจัยในครั้งนี้

ท้ายสุดนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ แม่ พี่ และน้อง ที่ได้สนับสนุน ให้ความช่วยเหลือ ความเข้าใจ และเป็นกำลังใจ แก่ข้าพเจ้าตลอดมาจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ฌ

คำย่อ ..... ต

บทที่

1. บทนำ 1

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 13

3. ผลการทดลอง 27

4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 72

เอกสารอ้างอิง 79

ภาคผนวก 87

ประวัติผู้เขียน 96

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 *Streptomyces sp.*190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ 15

2 แอคติวิตีของเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสและเอนไซม์ไซแลเนสใน *Streptomyces sp.*190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ 28

3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 และ 280 นาโนเมตร ของโครโมโซมอลดีเอ็นเอ 31

4 ค่า S_D ของลูกผสมสัมพันธ์กับ *Streptomyces sp.*190-1 และ 42-9 และปริมาณเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส และเอนไซม์ไซแลเนสเป็นเปอร์เซนต์ 65

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1ก แถบโครโมโซมอลดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.*190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสที่ความเข้มข้นอะกาโรสเจล 0.7 เปอร์เซนต์ ความต่างศักย์คงที่ที่ 7 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตรเป็นเวลานาน 3 ชม.....34

1ข แถบโครโมโซมอลดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.*190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสที่ความเข้มข้นอะกาโรสเจล 0.7 เปอร์เซนต์ ความต่างศักย์คงที่ที่ 7 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตรเป็นเวลานาน 3 ชม.....34

2 รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน คือ 3,5,6 และ 8 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสที่ความต่างศักย์คงที่ 3 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร นาน 12-16 ชม. บนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยแต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 36

3ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร นาน 3 ชม. บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 38

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

3ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสที่ความต่างศักย์คงที่ 8 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร นาน 3 ชม. บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 39

3ค รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสที่ความต่างศักย์คงที่ 10 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร นาน 3 ชม. บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 40

3ง รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 12 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตรเป็นเวลานาน 1ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 41

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

3จ รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 42

3ฉ รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.และต่อด้วย 2 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร นาน 11 ชม. บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 45

3ช ผลของความต่างศักย์ที่มีการเคลื่อนที่ของชิ้นส่วน λ ดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วย HindIII ในการทำอิเลคโตรโฟรีซิส บนอะกาโรสเจลเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ 46

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

4 รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 2 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 47

5ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 49

5ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ PstI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 50

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

5ค รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ EcoRI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 51

5ง รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BglII 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 52

6ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 54

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

6ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 55

6ค รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 56

6ง รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 57

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

6จ รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสมต่างๆ ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 58

6ฉ รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสม D_3 ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร เป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 59

7ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสม D_3 ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ PstI ร่วมกับ BamHI โดยที่แต่ละชนิดมีปริมาณ 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตรเป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 61

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

7ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *Streptomyces sp.* 190-1, 42-9 และลูกผสม D_3 ที่ถูกตัดด้วยเรสตริกชันเอนไซม์ EcoRI ร่วมกับ BamHI โดยที่แต่ละชนิดมีปริมาณ 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอหนึ่งไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซิสที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตรเป็นเวลานาน 1 ชม.45 นาที บนแผ่นอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 400 นาโนกรัม 62

8 ตัวอย่าง การวิเคราะห์รูปแบบการเรียงต้าของดีเอ็นเอลูกผสมโดยเปรียบเทียบกับ *Streptomyces sp.*42-9 และ *Streptomyces sp.*190-1 จากเครื่องวัดความเข้ม 64

9ก การวิเคราะห์กลูโคสไอโซเมอเรสที่สกัดจาก *Streptomyces sp.* 190-1 , *Streptomyces sp.* 42-9 และลูกผสมต่างๆ โดยวิธีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะครีลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซิส โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณโปรตีน 100 ไมโครกรัม 68

9ข กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าลอการิทึมของน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน และค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ โดยการทำโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะครีลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซิส โดยที่แต่ละชนิดมีปริมาณโปรตีน 100 ไมโครกรัม 69

9ค การวิเคราะห์โซแลเนสที่สกัดจาก *Streptomyces sp.*190-1 *Streptomyces sp.* 42-9 และลูกผสมต่างๆ โดยวิธีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะครีลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซิส โดยที่แต่ละชนิดมีปริมาณโปรตีน 100 ไมโครกรัม 70

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

9ง กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าลอการิทึมของน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน และค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ โดยการทำโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซิส 71

คำย่อ

มก.	=	มิลลิกรัม
มล.	=	มิลลิลิตร
ชม.	=	ชั่วโมง
°ซ	=	อาศาเซลเซียส