โคลนิงและการแสดงออกของไซแลเนสยีนจาก *Streptomyces* sp.42-9 ใน *Streptomyces* sp.190-1

นางสาว อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ.2533

ISBN 974-577-843-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

016539

Cloning and Expression of Xylanase Gene from *Streptomyces* sp.42-9 in *Streptomyces* sp.190-1

Miss Arinthip Thamchaipenet

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Microbiology
Graduate School
Chulalongkorn University
1990

ISBN 974-577-843-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์ โคลนิงและการแสดงออกของไซแลเนสยีนจาก *Streptomyces* sp. 42-9 ใน *Streptomyces* sp.190-1

โดย นางสาวอรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต

ภาควิชา จุลชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตติ์สิน สีหนนทน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร สิทธิประณีต)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต์ : โคลนิงและการแสดงออกของไซแลเนส์ยีนจาก Streptomyces sp.42-9 ใน Streptomyces sp.190-1 (CLONING AND EXPRESSION OF XYLANASE GENE FROM STREPTOMYCES SP.42-9 IN STREPTOMYCES SP.190-1) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ, 102 หน้า. ISBN 974-577-843-5

ได้ทำการโคลนไซแลเนส์ยีนจาก Streptomyces sp.42-9 โดยใช้ยีนส่วนขนาด 5 กิโลเบส์ของพลาส์มิด pIJ699 และพลาส์มิด pIJ702 เป็นดีเอนเอพาหะผ่าน S. lividans TK64 ซึ่งเป็นสายพันธุ์มาตรฐาน เข้าสู่ Streptomyces sp.190-1 ทั้งนี้เพราะ S. lividans TK64 มีประสิทธิภาพในการทรานส์ฟอร์มพลาส์มิดพาหะสูงกว่า Streptomyces sp.190-1 ประมาณ 100 เท่า

ผลการโคลนโดยใช้ยีนส่วนของพลาส์มิด pIJ699 เป็นดีเอนเอพาหะ พบว่าได้ 3 โคลนที่มีไซแลเนส์แอคติวิตี ซึ่งได้รีคอมบิแนนท์พลาส์มิด คือ pPT6C, pPT6E และ pPT6G เมื่อนำเซลล์เจ้าบ้านที่มีพลาส์มิดทั้ง 3 นี้ มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ พบว่าเมื่อใช้ S. lividans TK64 เป็นเซลล์เจ้าบ้าน จะได้ไซแลเนส์แอคติวิตีเท่ากับ 5.19, 4.85 และ 4.28 หน่วย/มล.ตามลำดับ และเมื่อใช้ Streptomyces sp.190-1 เป็นเซลล์เจ้าบ้าน จะได้ไซแลเนส์แอคติวิตีเท่ากับ 2.93, 2.82 และ 2.73 หน่วย/มล. ตามลำดับ จากการหาขนาดของยีนส่วนดีเอนเอที่มีไซแลเนส์ยีนซึ่งใส่เข้าไป (inserted DNA) ในดีเอนเอพาหะในพลาส์มิด pPT6C, pPT6E และ pPT6G โดยการทำอิเลคโตรโฟรีซีสบนอะกาโรส์เจล พบว่ามีขนาด 4.8, 14.2 และ 9.4 กิโลเบส์ ตามลำดับ

เมื่อใช้ pIJ702 เป็นดีเอนเอพาหะ พบว่าได้ 5 โคลนที่มีไซแลเนส์แอคติวิตี ซึ่งได้รีคอมบิแนนท์พลาส์มิดคือ pPT7-1, pPT7-2, pPT7-3, pPT7-4 และ pPT7-5 เมื่อนำเซลล์เจ้าบ้านที่มีพลาส์มิดทั้ง 5 นี้ มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ พบว่าเมื่อใช้ S. lividans TK64 เป็นเซลล์เจ้าบ้าน จะได้ไซแลเนส์แอคติวิตีเท่ากับ 0.79, 0.73, 0.35, 0.32 และ 0.32 หน่วย/มล. ตามลำดับ และเมื่อใช้ Streptomyces sp.190-1 เป็นเซลล์เจ้าบ้าน จะได้ไซแลเนส์แอคติวิตีเท่ากับ 3.22, 3.13, 2.73, 1.92 และ 2.32 หน่วย/มล. ตามลำดับ จากการหาขนาดของยีนส่วนดีเอนเอที่มีไซแลเนส์ยีนในพลาส์มิด pPT7-1, pPT7-2, pPT7-3, pPT7-4 และ pPT7-5 โดยการทำอิเลคโตรโฟรีซีสบนอะกาโรส์เจล พบว่ามีขนาด 0.5, 4.4, 0.5, 6.4 และ 4.4 กิโลเบส์ ตามลำดับ

ผลการโคลนไซแลเนส์ยีนจาก Streptomyces sp.42-9 ด้วยพลาส์มิดพาหะ pIJ699 และ pIJ702 เข้าสู่ Streptomyces sp.190-1 พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างไซแลเนส์ของ Streptomyces sp.190-1 ขึ้นจากเดิม 7-12 เท่า นอกจากนั้น Streptomyces sp.190-1 ที่ได้รับพลาส์มิดซึ่งมีไซแลเนส์ยีนยังคงสามารถผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์ได้ 800-1000 หน่วย/กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2532 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นิพนธ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวแผ่นเดียว

ARINTHIP THAMCHAIPENET : CLONING AND EXPRESSION OF XYLANASE GENE FROM STREPTOMYCES SP.42-9 IN STREPTOMYCES SP.190-1. THESIS ADVISOR : ASSO.PROF.PAIROH PINPHANICHAKARN , Ph.D. 102 PP.

Xylanase gene had been cloned from Streptomyces sp.42-9 through S. lividans TK64 , a standard strain , in Streptomyces sp.190-1 by using a 5-Kb fragment of plasmid pIJ699 and plasmid pIJ702 as cloning vectors. S. lividans TK64 was used as an intermediate host cell for this gene cloning because it had approximately 100 folds higher transformation efficiency than that of Streptomyces sp.190-1.

Three clones containing xylanase activity were obtained when a 5-Kb fragment from pIJ699 was used as a cloning vector. Recombinant plasmids pPT6C , pPT6E and pPT6G were isolated from these clones. Cultivation of S. lividans TK64 harboring pPT6C , pPT6E and pPT6G in a medium containing xylan yielded 5.19 , 4.85 and 4.28 units of xylanase/ml of culture broth , respectively , while using Streptomyces sp.190-1 as a host yielded 2.93 , 2.82 and 2.73 units of xylanase/ml , respectively. Size of the inserts in pPT6C , pPT6E and pPT6G were determined by agarose gel electrophoresis to be 4.8 , 14.2 and 9.4 Kb , respectively.

When pIJ702 was used as a cloning vector , five clones containing xylanase activity were obtained yielding five recombinant plasmids namely , pPT7-1 , pPT7-2 , pPT7-3 , pPT7-4 and pPT7-5. Xylanase activity of S. lividans TK64 harboring pPT7-1 , pPT7-2 , pPT7-3 , pPT7-4 and pPT7-5 when cultivated in xylan containing medium were 0.79 , 0.73 , 0.35 , 0.32 unit/ml, respectively , but when Streptomyces sp.190-1 was used as a host for the corresponding plasmids 3.22 , 3.13 , 2.73 , 1.92 and 2.32 units of xylanase/ml were produced , respectively. Size of the inserts in pPT7-1 , pPT7-2 , pPT7-3 , pPT7-4 and pPT7-5 were determined to be 0.5 ,4.4 , 0.5 , 6.4 and 4.4 Kb , respectively.

Cloning of xylanase gene from Streptomyces sp.42-9 by using pIJ699 and pIJ702 as cloning vectors in Streptomyces sp. 190-1 could increase xylanase producing ability of Streptomyces sp.190-1 to about 7-12 folds. Furthermore , Streptomyces sp.190-1 harboring plasmids containing xylanase gene were still able to produce about 800-1000 units of glucose isomerase per gram of dried cells.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา จุลชีววิทยา

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2532

ลายมือชื่อนิสิต .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ของการวิจัย รวมทั้งการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์เป็นอย่างดี ซึ่งข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตติ์ลิน สีหนนทน์ รองศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล และ รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร สิทธิประณีต ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ Dr. D. A. Hopwood แห่ง John Innes Institute, Norwich, UK. ที่เอื้อเฟื้อให้จุลินทรีย์ S. *lividans* TK64, S. *lividans* TK64/pIJ702 และ S. *lividans* TK64/pIJ699 และ Dr. S. J. Lucania แห่ง E.R.Squibb and Sons Inc., N.J.,USA. ที่เอื้อเฟื้อให้ยาปฏิชีวนะไธโอสเตรพตอนสำหรับใช้ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณบริษัทน้ำมันบริโภคไทย ที่ให้กากรำข้าวสำหรับใช้ในการวิจัยครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน ในภาควิชาจุลชีววิทยาที่ได้กรุณาให้กำลังใจในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคน ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ได้ช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้ทุนวิจัยบางส่วนสำหรับทำการวิจัย

ท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้อง ที่ได้ช่วยเหลือสนับสนุนและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยในการทำวิทยานิพนธ์เสร็จอย่างสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ญ

คำย่อ ..... ฑ

บทที่

1. บทนำ 1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย 13
3. ผลการวิจัย 27
4. วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย 71

เอกสารอ้างอิง 80

ภาคผนวก 90

ประวัติผู้เขียน 102

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ผลของอายุเชื้อต่อการสร้างและการรีเจนเนอเรทโปรโตพลาสต์ ของ *Streptomyces* sp.190-1..... 30

2 ผลของการเติมไกลซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการสร้าง และการรีเจนเนอเรทโปรโตพลาสต์ของ *Streptomyces* sp.190-1..... 33

3 ประสิทธิภาพในการทรานสฟอร์มพลาสมิดพาหะ pIJ702 และ pIJ699 เข้าสู่ *Streptomyces* sp.190-1 และ S. *lividans* TK64..... 36

4 ผลของความเข้มข้นของ PEG ต่อประสิทธิภาพ ในการทรานสฟอร์มพลาสมิด pIJ702 เข้าสู่โปรโตพลาสต์ของ *Streptomyces* sp.190-1..... 37

5 ผลของอุณหภูมิในการบ่มโปรโตพลาสต์ของ *Streptomyces* sp. 190-1 ก่อนนำไปทำทรานสฟอร์เมชัน..... 39

6 ประสิทธิภาพในการทรานสฟอร์มพลาสมิดพาหะ pIJ702 และ pIJ699 ที่ยังไม่ผ่านการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์เทียบกับรีคอมบิแนนท์พลาสมิดของพลาสมิดพาหะทั้งสองเข้าสู่โปรโตพลาสต์ของ S. *lividans* TK64... 47

7 เปรียบเทียบแอคติวิตีสูงสุดของไซแลเนสจากโคลนที่คัดได้จากรูปที่ 12 ซึ่งแสดงออกใน S. *lividans* TK64 กับ *Streptomyces* sp.42-9 และ S. *lividans* TK64 โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีไซแลน และกากรำข้าวเป็นองค์ประกอบ..... 51

8 เปรียบเทียบแอคติวิตีสูงสุดของไซแลนเนสจากโคลนที่คัดได้จาก รูปที่ 15 ซึ่งแสดงออกใน S. *lividans* TK64 กับ *Streptomyces* sp.42-9 และ S. *lividans* TK64 โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ..... 54

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

9 เปรียบเทียบแอคติวิตีสูงสุดของไซแลเนส *Streptomyces* sp.190-1 ที่รับพลาสมิด pPT6C , pPT6E และ pPT6G กับ *Streptomyces* sp.42-9 และ *Streptomyces* sp.190-1 โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีไซแลน และกากรำข้าวเป็นองค์ประกอบ..... 57

10 เปรียบเทียบแอคติวิตีสูงสุดของไซแลนเนสจาก *Streptomyces* sp.190-1 ที่รับพลาสมิด pPT7-1 ,pPT7-2 ,pPT7-3,pPT7-4 และ pPT7-5 กับ *Streptomyces* sp.42-9 และ *Streptomyces* sp.190-1 โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีไซแลนและกากรำข้าว เป็นองค์ประกอบ..... 61

11 ขนาดของชิ้นส่วนดีเอนเอที่มีไซแลเนสยีน (inserted DNA) ที่ได้จากการตัดรีคอมบิแนนท์พลาสมิด pPT6C , pPT6E และ pPT6G ด้วย HindIII..... 65

12 ขนาดของชิ้นส่วนดีเอนเอที่มีไซแลเนสยีน (inserted DNA) ที่ได้จากการตัดรีคอมบิแนนท์พลาสมิด pPT7-1 , pPT7-2 , pPT7-4 และ pPT7-5 ด้วย BamHI ยกเว้น pPT7-3 ตัดด้วย PstI..... 67

13 เปรียบเทียบแอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย *Streptomyces* sp.190-1 ที่รับพลาสมิดซึ่งมีไซแลเนสยีนกับ *Streptomyces* sp.42-9 และ *Streptomyces* sp.190-1..... 70

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แผนที่เรสทริกชันของพลาสมิดพาหะ pIJ702.....	4
2	แผนที่เรสทริกชันของพลาสมิดพาหะ pIJ699.....	6
3	ลักษณะโปรโตพลาสต์ของ *Streptomyces* sp.190-1.....	28
4	ผลของการรีเจนเนอเรทโปรโตพลาสต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ R2YE โดยแขวนในบัฟเฟอร์ P(MP) เปรียบเทียบกับแขวนลอยใน 0.01% SDS โดยเจือจาง 10^4 เท่า.....	29
5	ผลของอายุเชื้อต่อการสร้างและการรีเจนเนอเรทของโปรโตพลาสต์ *Streptomyces* sp.190-1.....	31
6	ผลของการเติมไกลซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการสร้างและการรีเจนเนอเรทของโปรโตพลาสต์ *Streptomyces* sp.190-1.....	34
7	ผลของการย่อยโครโมโซมมอลดีเอนเอของ *Streptomyces* sp.42-9 ด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ Sau3A1 แบบกึ่งสมบูรณ์ (partial digestion).....	41
8	แผนที่เรสทริกชันของพลาสมิดพาหะ pIJ702 เมื่อถูกตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII.....	42
9	แผนที่เรสทริกชันของพลาสมิดพาหะ pIJ699 เมื่อถูกตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII และ BamHI.....	43
10	ภาพแสดงการตัดพลาสมิด pIJ702 ด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII แล้วทดสอบการเชื่อมกันด้วยตัวเอง (self ligation) หลังจากกำจัดหมู่ฟอสเฟตแล้ว และแสดงรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่ผ่านการเชื่อมด้วย T_4 DNA ligase บนอะกาโรสเจล.....	44

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

11 ภาพแสดงการตัดพลาสมิด pIJ699 ด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII แล้วทดสอบการเชื่อมกันด้วยตัวเอง (self ligation) หลังจากกำจัดหมู่ฟอสเฟตแล้ว และแสดงรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่ผ่านการเชื่อมด้วย T_4 DNA ไลเกส บนอะกาโรสเจล..... 45

12 ลักษณะวงใสรอบโคโลนีของ S. *lividans* TK64/pPT6C,S. *lividans* TK64/pPT6E และ S. *lividans* TK64/pPT6G เปรียบเทียบกับ *Streptomyces* sp.42-9 และ S. *lividans* TK64 ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ..... 49

13 แอคติวิตีของไซแลเนสที่เวลาต่างๆ ของโคลนที่คัดเลือกได้จากรูปที่ 12 เปรียบเทียบกับ *Streptomyces* sp.42-9 และ S. *lividans* TK64 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ..... 50

14 แอคติวิตีของไซแลนเนสที่เวลาต่างๆ ของโคลนที่คัดเลือกได้จากรูปที่ 12 เปรียบเทียบกับ *Streptomyces* sp.42-9 และ S. *lividans* TK64 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีกากรำข้าวเป็นองค์ประกอบ..... 52

15 ลักษณะวงใสรอบโคโลนีของ S. *lividans* TK64/pPT7-1 , S. *lividans* TK64/pPT7-2 , S. *lividans* TK64/pPT7-3 , S. *lividans* TK64/pPT7-4 และ S. *lividans* TK64/pPT7-5 เปรียบเทียบกับ *Streptomyces* sp.42-9 และ S. *lividans* TK64 ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ..... 53

16 แอตติวิตีของไซแลเนสที่เวลาต่าง ๆ ของ *Streptomyces* sp.190-1/pPT6C , *Streptomyces* sp.190-1/pPT6E และ *Streptomyces* sp.190-1/pPT6G เปรียบเทียบกับ *Streptomyces* sp.190-1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ..... 56

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

17 แอคติวิตีของไซแลเนสที่เวลาต่าง ๆ ของ *Streptomyces* sp. 190-1/pPT6C , *Streptomyces* sp.190-1/pPT6E และ *Streptomyces* sp.190-1/pPT6G เปรียบเทียบกับ *Streptomyces* sp.42-9 และ *Streptomyces* sp.190-1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีกากรำข้าวเป็นองค์ประกอบ..... 58

18 แอคติวิตีของไซแลเนสที่เวลาต่าง ๆ ของ *Streptomyces* sp.190-1/pPT7-1 , *Streptomyces* sp.190-1/pPT7-2 , *Streptomyces* sp.190-1/pPT7-3 , *Streptomyces* sp. 190-1/pPT7-4 และ *Streptomyces* sp.190-1/pPT7-5 เปรียบเทียบกับ *Streptomyces* sp.42-9 และ *Streptomyces* sp.190-1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ..... 60

19 แอคติวิตีของไซแลเนสที่เวลาต่าง ๆ ของ *Streptomyces* sp.190-1/pPT7-1 , *Streptomyces* sp.190-1/pPT7-2 , *Streptomyces* sp.190-1/pPT7-3 , *Streptomyces* sp.190-1 /pPT7-4 , และ *Streptomyces* sp.190-1/pPT7-5 เปรียบเทียบกับ *Streptomyces* sp.42-9 และ *Streptomyces* sp.190-1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีกากรำข้าวเป็นองค์ประกอบ..... 62

20 ภาพแสดงขนาดของชิ้นส่วนดีเอนเอที่มีไซแลเนสยีน (inserted DNA) ในรีคอมบิแนนท์พลาสมิด pPT6C , pPT6E และ pPT6G เมื่อตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ HindIII บนอะกาโรสเจล..... 64

21 ก.ภาพแสดงขนาดของชิ้นส่วนดีเอนเอที่มีไซแลเนสยีน (inserted DNA) ในรีคอมบิแนนท์พลาสมิด pPT7-1 , pPT7-2 , pPT7-3 , pPT7-4 และ pPT7-5 เมื่อตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI บนอะกาโรสเจล.... 66

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

21 ข.ภาพแสดงขนาดของชิ้นส่วนดีเอนเอที่มีไซแลเนสยีน (inserted DNA) ในรีคอมบิแนนท์พลาสมิด pPT7-1 , pPT7-2 , pPT7-4 และ pPT7-5 เมื่อตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI ยกเว้น pPT7-3 ตัดด้วย PstI บนอะกาโรสเจล..... 68

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

มล.	=	มิลลิลิตร
มก.	=	มิลลิกรัม
ซม.	=	เซนติเมตร
°ซ	=	องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย