

การโคลนและลักษณะสมบัติของยีนกลุ่ม *rhl* ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์
แรมโนลิพิดของ *Pseudomonas aeruginosa* A41



นางสาวชนิษฐา วงษ์นิกร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-17-6094-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CLONING AND CHARACTERIZATION OF *rhl* GENES INVOLVING IN RHAMNOLIPID
BIOSYNTHESIS OF *Pseudomonas aeruginosa* A41

Miss Kanitta Wongnikorn

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN 974-17-6094-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การโคลนและลักษณะสมบัติของยีนกลุ่ม *rhl* ที่เกี่ยวข้องกับ
การสังเคราะห์แรมโนลิพิดของ *Pseudomonas aeruginosa* A41

โดย

นางสาวชนิษฐา วงษ์นิกร

สาขาวิชา

จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม


อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน

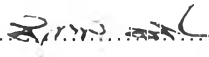
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

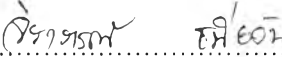
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

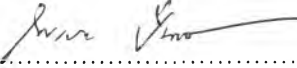

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมณะเศวต)


คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุตัน เจริญพรวัฒนา)

ชินษฐา วงษ์นิกร : การโคลนและลักษณะสมบัติของยีนกลุ่ม *rhl* ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์
 แรมโนลิพิดของ *Pseudomonas aeruginosa* A41 (CLONING AND CHARACTERIZATION
 OF *rhl* GENES INVOLVING IN RHAMNOLIPID BIOSYNTHESIS OF *Pseudomonas*
aeruginosa A41) อ.ที่ปรึกษา: ผศ. จิราภรณ์ ธนียวัน อ.ที่ปรึกษาร่วม: ผศ.ดร. กอบชัย
 ภัทรกุลวณิชย์ 150 หน้า. ISBN: 974-17-6094-9

Pseudomonas sp. A41 ที่แยกจากอ่าวไทย มีความสามารถในการผลิตแรมโนลิพิด
 จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสมบัติทางชีวเคมีร่วมกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rDNA
 สามารถจำแนกสายพันธุ์ A41 เป็น *Pseudomonas aeruginosa* แยกยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์
 แรมโนลิพิดจาก *Pseudomonas aeruginosa* A41 โดยเทคนิคเซาท์เธอร์นไฮบริดเชชันจีโนมดีเอ็นเอกับ
 ดีเอ็นเอติดตาม *rhIR* หรือ *rhIA* โคลนขึ้นดีเอ็นเอที่ให้ผลบวกเข้าในพลาสมิดเวกเตอร์และหาลำดับ
 นิวคลีโอไทด์ของขึ้นดีเอ็นเอแทรกสอด จากลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสิ้น 4,965 bp พบกรอบอ่านรหัสเปิด
 (ORF) ที่สมบูรณ์จำนวน 4 แห่ง และไม่สมบูรณ์ 1 แห่ง กรอบอ่านรหัสเปิดทั้งหมดมีทิศทางในการถอดรหัส
 ไปในทางเดียวกันตามลำดับดังต่อไปนี้ ORF1 (*dcd*) เป็นกรอบอ่านรหัสเปิดที่ไม่สมบูรณ์ ลำดับกรด
 อะมิโนมีความคล้ายกับ deoxycytidine triphosphate deaminase ของ *Pseudomonas aeruginosa*
 PAO1 เท่ากับ 100% ORF2 (*rhIA*) ลำดับกรดอะมิโนมีความคล้ายกับ rhamnosyltransferase 1 chain A
 ของ *Pseudomonas aeruginosa* PG201 เท่ากับ 100% ORF3 (*rhIB*) ลำดับกรดอะมิโนมีความคล้าย
 กับ rhamnosyltransferase 1 chain B ของ *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 เท่ากับ 100% ORF4
 (*rhIR*) ลำดับกรดอะมิโนมีความคล้ายกับ transcriptional regulator RhIR ของ *Pseudomonas*
aeruginosa PAO1 และ *Pseudomonas aeruginosa* PG201 เท่ากับ 100% ORF5 (*rhII*) ลำดับกรด
 อะมิโนมีความคล้ายกับ autoinducer synthetase protein RhII ของ *Pseudomonas aeruginosa* PG201
 เท่ากับ 94% นอกจากนี้ยังพบบริเวณโปรโมเตอร์ บริเวณจับเกาะของโรโบโซม และบริเวณอนุรักษ์
las box ซึ่งเป็นบริเวณจับเกาะของ regulatory protein เหนือกรอบอ่านรหัสเปิด ORF2 ORF4 และ
 ORF5

ภาควิชา จุลชีววิทยาลายมือชื่อนิสิต.....ชินษฐา วงษ์นิกร
 สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรมลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา.....จิราภรณ์ ธนียวัน
 ปีการศึกษา 2547ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์

4472223023 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: Rhamnolipid biosynthesis / *Pseudomonas aeruginosa* / *rhl* genes

KANITTA WONGNIKORN : CLONING AND CHARACTERIZATION OF *rhl* GENES INVOLVING IN RHAMNOLIPID BIOSYNTHESIS OF *Pseudomonas aeruginosa* A41. THESIS ADVISOR: ASSIST. PROF. JIRAPORN THANİYAVARN, THESIS COADVISOR: ASSIST. PROF. KOBCHAI PATTARAGULWANIT, Dr.rer.nat. 150 pp. ISBN:974-17-6094-9

Pseudomonas sp. A41, isolated from Gulf of Thailand is capable of producing rhamnolipid. Morphological and biochemical characteristics together with 16S rDNA nucleotide sequence enable to classify strain A41 as *Pseudomonas aeruginosa*. Genes involving rhamnolipid biosynthesis were isolated from *Pseudomonas aeruginosa* A41 by southern hybridization of genomic DNA with *rhIR*- or *rhIA*-probe. Positive DNA fragments were cloned into plasmid vectors and nucleotide sequences of insert DNA were determined. From total nucleotide sequence of 4,965 bp, four complete and one incomplete open reading frames (ORFs) were revealed. All ORFs are in the same orientation as following; ORF1 is an incomplete ORF with 100% homology to deoxycytidine triphosphate deaminase of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1; ORF2 (*rhIA*) shows 100% homology to rhamnosyltransferase 1 chain A of *Pseudomonas aeruginosa* PG201; ORF3 (*rhIB*) shows 100% homology to rhamnosyltransferase 1 chain B of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1; ORF4 (*rhIR*) shows 100% homology to transcriptional regulator RhIR of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and PG201 and ORF5 (*rhII*) shows 94% homology to autoinducer synthetase protein RhII of *Pseudomonas aeruginosa* PG201. Moreover, the putative promoters, Shine-Dalgarno (SD) sequences and conserve regions of *las* box were found upstream of ORF2 ORF4 and ORF5.

Department..... Microbiology..... Student's signature.....

Field of study..... Industrial Microbiology..... Advisor's signature..... Jiraporn Thaniyavarn

Academic year..... 2004..... Co-advisor's signature..... K. Pattaragulwanit

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างยิ่งของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธานีวัน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนตรวจแก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธานีวัน ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการ ในการสอบ ตลอดจนให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา ที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบตลอดจนให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆ และช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยาที่กรุณาให้ความรู้ และคำแนะนำ ต่างๆ แก่ผู้วิจัย

กราบขอบพระคุณที่ห้องวิจัย 403 ที่กรุณาเอื้อเฟื้อสารเคมีและเรสทริคชันเอนไซม์บางชนิด ที่ใช้ในงานวิจัย ขอบคุณคุณวิชุดา เหล่าเรืองธนา คุณศิริเพ็ญ สังข์ชัย คุณเวฬุรีย์ ทองคำ คุณปัทมาพร ประชุมรัตน์ คุณสิริภัทร พฤกษ์ไพบุลย์ คุณวิษรี ชุณห์กุล และคุณจันทร์นารถ พลขำนิ ที่อยู่เคียงข้าง ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังในเสมอมา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ตลอดจนพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคน ที่มีส่วนในการช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือ ตลอดจน ให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฅ
คำย่อ	ฎ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. ปรัชศน์วรรณกรรม	4
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	31
4. ผลการทดลอง	62
5. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	97
รายการอ้างอิง	105
ภาคผนวก	122
ภาคผนวก ก	123
ภาคผนวก ข	124
ภาคผนวก ค	134
ภาคผนวก ง	143
ภาคผนวก จ	144
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	150

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ	13
3.1 แบคทีเรีย	34
3.2 พลาสมีด	35
3.3 โอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์	37
3.4 สารละลายที่ใช้เป็นส่วนผสมในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสสำหรับการเพิ่มจำนวน 16S ribosomal DNA ของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41	41
3.5 สารละลายที่ใช้เป็นส่วนผสมในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสสำหรับการเพิ่มจำนวน <i>rhA</i> ..	44
3.6 สารละลายที่ใช้เป็นส่วนผสมในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสสำหรับการเพิ่มจำนวน <i>rhIR</i> ..	45
3.7 วิธีเจือจางสารละลายดีเอ็นเอสำหรับหาปริมาณดีเอ็นเอที่ติดฉลากแล้ว	47
3.8 ขั้นตอนการหาปริมาณดีเอ็นเอติดตามที่ถูกติดฉลาก	48
4.1 สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S ribosomal RNA คล้ายกับ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S ribosomal DNA ของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41.....	63
4.2 ข้อมูลของแต่ละกรอบอ่านรหัสเปิดและเปอร์เซ็นต์ความคล้ายกับยีนอ้างอิง.....	95

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1	ลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของสารลดแรงตึงผิว 6
2.2	การเกิดโครงสร้างไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำเมื่อเพิ่มความเข้มข้น ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจนถึงจุด Critical Micelle concentration (CMC) 7
2.3	โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 8
2.4	การรวมตัวของโครงสร้างเมื่อสารลดแรงตึงผิวโมโนเมอร์มีโครงสร้างต่างๆ9
2.5	โครงสร้างของแรมโนลิพิด ชนิด R1, R2, R3, R4, A และ B จาก <i>Pseudomonas aeruginosa</i>15
2.6	กระบวนการสังเคราะห์แรมโนลิพิดชนิด R1 และ R2 ซึ่งผลิตจาก <i>Pseudomonas aeruginosa</i>16
2.7	กลไกการควบคุมและการผลิตแรมโนลิพิดใน <i>P. aeruginosa</i>19
2.8	กลไกการควบคุมของ quorum sensing ใน <i>Pseudomonas aeruginosa</i>20
2.9	ลักษณะการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ในดิน24
2.10	กลไกการเกิดโครงสร้างไมเซลล์ emulsion droplet hemimicelle และ admicelle25
2.11	ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ ดิน และสารปนเปื้อน และสารลดแรงตึงผิว26
3.1	แผนภาพแสดงการจัดวางชั้นต่างๆ ของการย้ายดีเอ็นเอจากอะกาโรสเจลไปยัง ไนลอนเมมเบรน โดยวิธี Capillary transfer50
3.2	ลักษณะการฉีกถุงพลาสติกสำหรับทำไฮบริดเซชัน51
4.1	อะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสของผลิตภัณฑ์ PCR ที่จะนำไปสร้างเป็นดีเอ็นเอ ติดตาม (probe)64
4.2	ก) อะกาโรสเจลที่มีดีเอ็นเอของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41 ที่ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ ชนิดต่างๆ ข) สัญญาณจากเซาท์เธอร์นไฮบริดเซชันด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIR</i> 66
4.3	ก) Dot blot hybridization ของรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่มีชิ้นดีเอ็นเอของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41 ขนาด 1.5 กิโลเบสอยู่ ด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIR</i> ข) Dot blot hybridization ของรีคอมบิแนนท์พลาสมิดของโคลนจากตัวอย่างกลุ่ม E2 ด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIR</i> 67

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.4	
ก) Dot blot hybridization ของรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่มีชิ้นดีเอ็นเอของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41 ขนาด 0.5 กิโลเบสอยู่ ด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIR</i>	
ข) Dot blot hybridization ของรีคอมบิแนนท์พลาสมิดของโคลนจากตัวอย่างกลุ่ม A9 ด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIR</i>	68
4.5	
ภาพอะกาโรสที่มีดีเอ็นเอของพลาสมิด pBR123 ที่ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ชนิดต่างๆ เพื่อหาดำแหน่งการจัดเรียงตัวของชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรก	69
4.6	
ก) แผนที่เรสทริกชัน (Restriction map) ของพลาสมิด pBR530 ข) รีคอมบิแนนท์พลาสมิดของ pBR123 ค) รีคอมบิแนนท์พลาสมิด pBBG8	
ง) พลาสมิด pBP1 ได้มาจากการสับโคลนชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรกของพลาสมิด pBR123 จ) แผนที่เรสทริกชันเอนไซม์ของพลาสมิด pBR157	70
4.7	
ก) อะกาโรสเจลที่มีดีเอ็นเอของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41 ที่ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ชนิดต่างๆ ข) สัญญาณจากเซาท์เธอร์นไฮบริโดเซชันด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIR</i> ..	73
4.8	
ก) Dot blot hybridization ของรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่มีชิ้นดีเอ็นเอ <i>XhoI</i> -Bg/II ของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41 ขนาด 1.0 กิโลเบส ด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIR</i>	
ข) Dot blot hybridization ของรีคอมบิแนนท์พลาสมิดของโคลนจากตัวอย่างกลุ่ม B2 ด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIR</i>	74
4.9	
ก) อะกาโรสเจลที่มีดีเอ็นเอของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41 ที่ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ชนิดต่างๆ ข) สัญญาณจากเซาท์เธอร์นไฮบริโดเซชันด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIA</i> .	76
4.10	
ก) Dot blot hybridization ของรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่มีชิ้นดีเอ็นเอของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41 ขนาด 1.5 กิโลเบสอยู่ ด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIA</i>	
ข) Dot blot hybridization ของรีคอมบิแนนท์พลาสมิดของโคลนจากตัวอย่างกลุ่ม D7 ด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhIA</i>	77
4.11	
ภาพอะกาโรสที่มีดีเอ็นเอของพลาสมิด pGA396 ที่ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ชนิดต่างๆ เพื่อหาดำแหน่งการจัดเรียงตัวของชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรก	78
4.12	
ก) แผนที่เรสทริกชัน (Restriction map) ของพลาสมิด pGA396 ข) แสดงรีคอมบิแนนท์พลาสมิด pN9 ที่ได้จากการสับโคลนชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรกของพลาสมิด pGA396 เพื่อนำไปใช้ในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์	79

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.13 ก) อะกาโรสเจลที่มีดีเอ็นเอของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41 ที่ตัดด้วยเรสทริกชัน เอนไซม์บางชนิด ข) สัญญาณจากเซาท์เธอร์นไฮบริโดเซชันด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhlA</i> ...	81
4.14 ก) Dot blot hybridization ของรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่มีชิ้นดีเอ็นเอของ <i>Pseudomonas</i> sp. A41 ขนาด 2.0 กิโลเบสอยู่ ด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhlA</i> ข) Dot blot hybridization ของรีคอมบิแนนท์พลาสมิดของโคลนจากตัวอย่าง กลุ่ม A11 ด้วยดีเอ็นเอติดตาม <i>rhlA</i>	82
4.15 ภาพอะกาโรสที่มีดีเอ็นเอของพลาสมิด pKB261 ที่ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ ชนิดต่างๆ เพื่อหาตำแหน่งการจัดเรียงตัวของชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรก	83
4.16 แผนที่เรสทริกชัน (Restriction map) ของพลาสมิด pKB261	84
4.17 ลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่ถอดรหัสจากลำดับนิวคลีโอไทด์ ของชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรกในพลาสมิด pGA396 pKB261 pBR530 และ pBR123 รวมกันมีขนาด 4965 bp ลูกศรแสดงทิศทางการถอดรหัสเป็นกรดอะมิโนของยีน ตัวอักษร M แสดงกรดอะมิโนเมธิโอนีนซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นการถอดรหัส (start codon) เครื่องหมาย * แสดงรหัสสิ้นสุดการถอดรหัส(stop codon) ของบริเวณที่เป็นกรอบ อ่านรหัสเปิด บริเวณโปรโมเตอร์แสดงด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้หนึ่งเส้น และบริเวณ Shine-Dalgarno (S/D) sequence แสดงด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ขีด เส้นใต้สองเส้น กรดอะมิโนที่อยู่ในกรอบอ่านรหัสเปิดเดียวกันแสดงด้วยอักษรสีเดียวกัน (ตัวอักษรสีน้ำเงินและแดง) กรดอะมิโนในบริเวณอนุรักษ์ของโปรตีนแสดงไว้ในกรอบ สีเหลี่ยม บริเวณ <i>las</i> box แสดงเป็นตัวอักษรสีม่วงอยู่หน้าโปรโมเตอร์.....	90
4.18 Consensus sequence ของโปรโมเตอร์.....	93
4.19 แผนที่เรสทริกชันของชิ้นดีเอ็นเอสอดแทรกจากพลาสมิด pGA396 pKB261 pBR530 และ pBR123 ขนาด 4,965 bp	96
5.1 การทำงานของเอนไซม์ dCTP deaminase และ dUTP diphosphatase ใน แบคทีเรียและเอนไซม์ <i>Methanococcus jannaschii</i> dCTP deaminas (MjDCD-DUT)ใน <i>Methanococcus jannaschii</i>	99
5.2 การจัดเรียงตัวของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แรมโนลิพิดภายใน <i>rhl</i> operon	103

คำย่อ

°๓	=	องศาเซลเซียส
%	=	เปอร์เซ็นต์
μg	=	ไมโครกรัม
μM	=	ไมโครโมลาร์
μl	=	ไมโครลิตร
bp	=	คู่เบส
CMC	=	ค่าความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์
mN/m	=	มิลลินิวตันต่อเมตร
mM	=	มิลลิโมลาร์
pg	=	พิโคกรัม
U	=	ยูนิต (หน่วยของเอนไซม์)